

ارزیابی الگوی کینتیک و دینامیک جمعیت باکتری‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* در فرآورده گوشتی (سوسیس) با استفاده از مدل‌های نوین تجربی

علی الغونه^۱، فطانه بهروزیان^۱، **فریده طباطبایی یزدی**^{۱*}، سید محمدباقر هاشمی^۲، سید محمدعلی رضوی^۱، بهروز علیزاده بهبهانی^۳

^۱ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران

^۳ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۳

چکیده

در این پژوهش برای اولین بار از سه مدل نیمه تجربی کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n ام برای بررسی دینامیک و الگوی کینتیکی جمعیت میکروبی *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* استفاده شد. برای اثبات تعمیم پذیری این روش مدل‌سازی، دینامیک جمعیت باکتری‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس) طی ۱۷ روز در دو سطح دمایی (۴°C و ۳۵°C) و چهار سطح عصاره قره قات (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) بررسی گردید. نتایج نشان داد هر سه مدل ارائه شده دارای توانایی قابل قبولی جهت مدل‌سازی دینامیکی داشتند، اما مدل کینتیک هموگرافیک با ضریب تبیین (۰/۹۶ تا ۰/۹۸)، ضریب تبیین اصلاح شده (۰/۹۵ تا ۰/۹۷)، ضریب تبیین ارزیابی شده متقابل (۰/۸۷ تا ۰/۹۰) و ریشه مربع میانگین خطا (۰/۱۲ تا ۰/۴۲) بهترین انتخاب جهت بررسی دینامیک و الگوی کینتیکی برای باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* و مدل کینتیک مرتبه n ام با ضریب تبیین (۰/۹۴ تا ۰/۹۸)، ضریب تبیین اصلاح شده (۰/۹۲ تا ۰/۹۶)، ضریب تبیین ارزیابی شده متقابل (۰/۸۸ تا ۰/۹۰) و ریشه مربع میانگین خطا (۰/۲۶ تا ۰/۵۲) بهترین انتخاب جهت بررسی دینامیک و الگوی کینتیکی برای باکتری *شیگلا دیسانتری* بود. جهت بررسی توانایی مدل‌های نوین ارائه شده، نتایج به دست آمده با این مدل‌ها با نتایج مدل‌سازی به روش سیستم‌های استنتاج فازی-عصبی سازگار بررسی شد. با مقایسه نتایج شاخص‌های آماری می‌توان چنین برداشت کرد که مدل‌های نوین ارائه شده دارای کارایی بهتری نسبت به مدل نوروفازی در جهت پیشگویی دینامیک میکروبی بود.

کلمات کلیدی: *شیگلا دیسانتری*، فرآورده گوشتی، قره قات، مدل‌های نوین تجربی، *یرسینیا انتروکولیتیکا*

* tabatabai@um.ac.ir

مقدمه

حجیم و وقت گیر، عدم همگرایی مدل و پیچیدگی آن درحالتی که ابعاد داده‌ها بزرگ باشد (نفرین ابعاد)، سبب انحراف از رفتار طبیعی سیستم و تولید خطای بالا می‌شود (۶). با توجه به نقایص ارائه شده در ارتباط با مدل‌های فیزیکی و تجربی، نیاز به ارائه یک شیوه جدید در مدل‌سازی دینامیک جمعیت میکروبی ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش سه مدل نوین نیمه تجربی شامل مدل کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n ام برای بررسی دینامیک و الگوی کینتیک جمعیت میکروبی ارائه شد. این مدل‌ها دارای قدرت پیش‌بینی بالا بوده و همچنین حاوی پارامترهای معنی‌دار بیولوژیکی برای بررسی علت تغییرات در میزان جمعیت میکروبی به ازای شرایط فرآیندی و محیطی متفاوت می‌باشند.

امروزه تولیدات فرآورده‌های گوشتی به دلیل داشتن ویژگی‌های حسی، بافتی و قیمت مناسب در مقایسه با گوشت تازه به صورت گسترده مورد توجه مصرف کنندگان قرار گرفته است (۷). اغلب رابط‌های فرآورده‌های گوشتی حاوی نیتريت هستند. نیتريت در ایجاد، توسعه طعم و بوی مخصوص فرآورده، جلوگیری از اکسیداسیون لیپید و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا موثر است (۸). با وجود مزایای ذکر شده در بالا، مقدار بالای نیتريت در محصولات گوشتی از جنبه سلامتی به دلیل تولید نیتروزآمین مضر و زیان بخش است (۹-۱۱). لذا یافتن ترکیبات جدید (جایگزین با نیتريت) با کم‌ترین اثر جانبی امری مهم و ضروری است.

قره قات^۵ بومی اروپای غربی و شمال کشورهای ایتالیا، اسپانیا، لهستان و پرتغال است. در ایران قره قات در جنگل‌های منطقه ارسباران نیز به فراوانی یافت می‌شود (۱۱). طبق پژوهشی که توسط طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۵)، انجام شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قره قات تایید شد (۱۱). از آنجا که ترکیبات موجود در گیاه قره قات کاملاً طبیعی هستند، زیان آن‌ها برای سلامت انسان بسیار کم‌تر از نگهدارنده شیمیایی است.

مدل نمایش ساده‌ای از یک سیستم پیچیده است. اصولاً با مدل‌سازی می‌توان حرکات و واکنش‌های یک سیستم حقیقی را به سادگی در اختیار گرفت. یک مدل با پیش‌بینی خوب به کاربر اجازه به دست آوردن ویژگی‌ها، پیش‌بینی کارایی فرآیند و هم چنین بهینه‌سازی فرآیند را می‌دهد. توسعه تکنیک‌های موفق مدل‌سازی، منجر به کاهش لزوم آزمایش‌های تجربی و در نتیجه صرفه‌جویی در زمان و هزینه در توسعه مراحل فرآیند می‌گردد. بنابراین مدل‌سازی و شبیه‌سازی فرآیندهای بیولوژیکی به منظور توصیف پدیده‌های فیزیکوشیمیایی کنترل کننده آن، بهینه‌سازی فرآیند موجود و یا طراحی یک فرآیند جدید مزیت‌های اقتصادی و عملی فراوانی خواهد داشت. به طور کلی برای مدل‌سازی یک فرآیند بیولوژیک می‌توان از سه الگوی، مدل‌های فیزیکی، تجربی و نیمه تجربی استفاده کرد (۱).

تاکنون هیچ مدل فیزیکی برای بررسی دینامیک جمعیت میکروبی ارائه نشده است، دلیل این پدیده را می‌توان به پیچیدگی و غیر خطی بودن ماهیت فرآیند ارتباط داد. از طرفی دیگر پژوهشگران بسیاری همانند: فرنادر^۱ و همکاران (۲)، یلمه^۲ و همکاران (۳)، الغونه^۳ و همکاران (۱)، سلیمان زاده^۴ و همکاران (۴) و علیزاده بهبهانی^۵ و همکاران (۵)، با استفاده از مدل‌های تجربی (سیستم‌های نوروفازی، شبکه عصبی مصنوعی و الگوریتم ژنتیک) به بررسی دینامیک جمعیت میکروبی پرداختند. در روش مدل‌سازی تجربی برخلاف مدل‌های فیزیکی هیچ گونه اطلاعاتی درباره اتفاقات داخل سیستم در اختیار کاربر قرار داده 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. به خاطر عدم دقتی که در داده‌های تجربی وجود دارد، مدل‌هایی که صرفاً بر اساس داده‌های تجربی می‌باشند دارای مشکلاتی در پیش‌بینی رفتار سیستم می‌شوند. از طرفی دیگر محاسبات

5. Alizadeh Behbahani

6. Cuesse of dimensionality

7. *Ribes rubrum*

1. Fernandes

2. Yolmeh

3. Alghooneh

4. Soleimanzadeh

انتروکولیتیکا و *شیگلا دیسانتری* میزان 10^{10} CFU/mL به هریک از نمونه‌های سوسیس عمل تلقیح در شرایط استریل انجام شد. به هریک از نمونه‌های تولید شده به میزان صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد عصاره قره قات اضافه گردید. جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره، هر یک از نمونه‌های سوسیس در دو دمای 4°C و 35°C به مدت ۱۷ روز نگهداری شده اند. جهت بررسی روند اثر ضد میکروبی عصاره قره قات، هر ۲۴ h یک نمونه ۵ g از هر تیمار با ۴۵ mL آب پپتونه (مرک آلمان) استریل سرد به مدت ۵ min توسط دستگاه استوماچر^۳ (Circulator400) همگن شد. رقت‌سازی متوالی در ۹ mL آب پپتونه انجام گردید و تهیه رقت 10^{-8} ادامه یافت و پس از کشت رقت‌های مختلف بر محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) و عمل انکوباسیون در 37°C درجه سانتی‌گراد، شمارش میکروبی توسط کلنی کانتور (Sana SL-902) انجام گرفت. نتایج مشاهده شده به صورت واحد لگاریتمی تعداد باکتری گزارش شد (۱۳).

تئوری مدل‌سازی

مدل کینتیک هموگرافیک

یک مدل مناسب باید دارای ویژگی‌های زیر باشد:

- (۱) فرم ریاضی مدل تا حد ممکن ساده باشد؛
- (۲) مدل دارای پارامترهای با معنای فیزیکی معین باشد؛
- (۳) تعداد ثابت‌ها در مدل باید کمینه باشد؛
- (۴) پارامترهای مدل باید به تغییرات محیطی و فرآیندی سیستم حساسیت بالایی داشته باشند.

برای ایجاد این ویژگی‌ها در مدل‌سازی دینامیک جمعیت میکروبی، روش ریاضی زیر پیشنهاد می‌گردد. ابتدا داده‌های مربوط به جمعیت میکروبی در برابر زمان را با استفاده از معادله ۱، نرمالیزه کرده:

$$Z(t) = \frac{(P_0 - P_t)}{P_0} \quad (1) \text{ معادله}$$

در این معادله P_0 جمعیت اولیه میکروبی، P_t جمعیت لحظه‌ای میکروبی می‌باشد.

در این پژوهش برای بررسی کارایی مدل‌های نوین ارائه شده، دینامیک جمعیت دو نوع باکتری بیماری‌زا (*یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری*) در فرآورده گوشتی (سوسیس) تحت اثر غلظت‌های مختلف عصاره قره قات (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) در دو سطح دمایی (4°C و 35°C) بررسی شد. در انتها نیز جهت بررسی توانایی مدل‌های نوین ارائه شده، نتایج به دست آمده با این مدل‌ها با نتایج مدل‌سازی به روش سیستم‌های استنتاج فازی-عصبی سازگار^۱ مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و عصاره‌گیری قره قات

گیاه قره قات از مناطق محلی علی‌آباد کتول (گلستان) جمع‌آوری شد. نام علمی گیاه توسط کارشناسان پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد تایید گردید. عمل عصاره‌گیری گیاه مطابق با روش طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۵)، انجام شد. به طور خلاصه، ۱۰۰ g از گیاه پودر شده قره قات با ۵۰۰ mL حلال به مدت ۷۲ h در دمای اتاق روی دستگاه شیکردار قرار گرفت. پس از طی ۷۲ h و اختلاط مناسب حلال و گیاه، مخلوط از پارچه توری و کاغذ صافی عبور داده شد. محلول حاصل شده از مرحله قبل سانتریفوژ گردید و در انتها توسط روتاری حلال حذف گردید. عصاره گیاه قره قات تا انجام آزمایش‌ها در ظروف استریل تیره رنگ در یخچال نگهداری شد (۱۱).

تهیه سوسیس

طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۳ تولید فرآورده گوشتی (سوسیس) انجام شد (۱۲).

آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی، تلقیح میکروبی و شمارش سویه‌های بیماری‌زا در طی زمان نگهداری

بعد از تهیه سوسیس طبق استاندارد ملی ایران و استریل نمودن آن، از کشت تازه باکتری‌های بیماری‌زا *یرسینیا*

³. Stomacher

¹. Adaptive neuro fuzzy inference system

². Colony forming unit

در این معادله P_t نشان دهنده جمعیت میکروبی در زمان t ، P_{∞} نشان دهنده جمعیت میکروبی در حالت تعادلی و t_0 نشان دهنده ثابت زمانی می باشد.

در صورتی که شرایط مرزی معادله (۵)، به صورت ذیل در نظر گرفت شود:

$$\begin{aligned} \text{Time} = 0 & \rightarrow \text{Population} = p_0 \\ \text{Time} \rightarrow \infty & \rightarrow \text{Population} = p_{\infty} \end{aligned}$$

از حل معادله دیفرانسیلی (۵)، با شرایط مرزی فوق، معادله جبری کینتیک نمایی (معادله (۶))، حاصل می گردد.

$$p_t = (p_0 - p_{\infty}) \exp(-kt) + p_{\infty} \quad \text{معادله (۶)}$$

در این معادله k ($\frac{1}{h}$) نشان دهنده سرعت کاهش جمعیت میکروبی در گذر زمان می باشد.

مدل کینتیک مرتبه n ام

در این مدل پارامتر بیولوژیکی جدیدی را به نام شرایط محیطی مناسب معرفی شده، اگر فرض کنیم که دینامیک جمعیت میکروبی ارتباط معنی داری با این پارامتر داشته باشد، آنگاه الگوی کینتیک حاکم بر دینامیک جمعیت میکروبی می تواند از نوع کینتیک مرتبه n ام باشد به شرطی که نرخ تغییرات شرایط محیطی مناسب از معادله دیفرانسیلی ۷، پیروی کند:

$$\frac{dM}{dt} = -\lambda \times (M(t) - M(\infty))^n \quad \text{معادله (۷)}$$

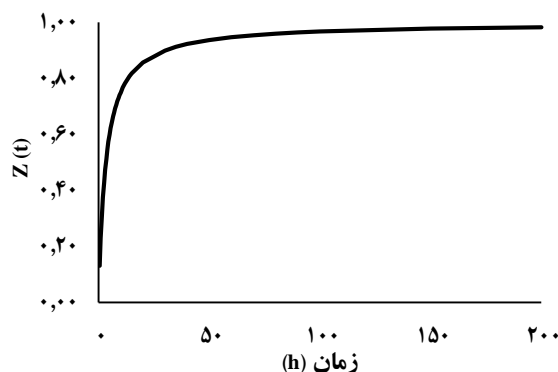
در این معادله M نشان دهنده شرایط محیطی مناسب، λ نشان دهنده سرعت کاهش جمعیت میکروبی و n نشان دهنده مرتبه واکنش می باشد.

در صورتی که شرایط مرزی معادله ۷، به صورت ذیل در نظر گرفت شود:

$$\begin{aligned} \text{Time} = 0 & \rightarrow M = M_0 \\ \text{Time} \rightarrow \infty & \rightarrow M = M_{\infty} \end{aligned}$$

از حل معادله دیفرانسیلی ۷، با شرایط مرزی فوق، معادله جبری ۸، حاصل می گردد.

$$\frac{(M(t) - M(\infty))^n}{(M_0 - M(\infty))^n} = (n - 1) \times \lambda \times t + 1 \quad \text{معادله (۸)}$$



شکل ۱. نمایش بصری از داده های نرمالیزه شده جمعیت میکروبی در برابر زمان.

سپس بر اساس روند داده های نرمالیزه شده جمعیت میکروبی در برابر زمان (شکل ۱)، معادله هموگرافیک ذیل پیشنهاد می گردد:

$$Z(t) = \frac{abt}{1+bt} \quad \text{معادله (۲)}$$

در این معادله a و b به ترتیب نشان دهنده درصد کاهش و سرعت کاهش در جمعیت میکروبی می باشند، به علاوه با معکوس کردن پارامتر b می توان پارامتر بیولوژیکی بسیار مهمی را از معادله ۲، استخراج نمود، پارامتری که نشان دهنده مدت زمان لازم برای ایجاد کاهش ۵۰ درصدی در جمعیت میکروبی می باشد.

$$P\left(\frac{1}{b}\right) = P(0) \times \left(1 - \frac{a}{2}\right) \quad \text{معادله (۳)}$$

همچنین برای به دست آوردن جمعیت تعادلی میکروبی کافیت که حد معادله ۲، در بی نهایت مشخص گردد که معادله ۴، به دست می آید.

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{P_0 - P_{\infty}}{P_0} = \frac{abt}{1+bt} \rightarrow P_{\infty} = P_0 \times (1 - a) \quad \text{معادله (۴)}$$

مدل کینتیک نمایی

الگوی کینتیک حاکم بر دینامیک جمعیت میکروبی می تواند از نوع کینتیک نمایی باشد به شرطی که نرخ تغییرات جمعیت میکروبی از معادله دیفرانسیلی ۵، پیروی کند:

$$\frac{d(P_t - P_{\infty})}{dt} + \frac{(P_t - P_{\infty})}{t_0} = 0 \quad \text{معادله (۵)}$$

آزمایشگاهی با مقدار پیش‌بینی شده) با استفاده از روش شاپیرو-ویلک^۵ در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. برای انجام عملیات برازش داده‌های تجربی و مدل‌سازی سیستم-های استنتاج فازی-عصبی سازگار از نرم افزار متلب^۶ نسخه a ۲۰۱۶ استفاده شد.

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{residual}}{(SS_{residual} + SS_{Model})} \quad (11) \text{ معادله}$$

$$R^2_{adj} = 1 - \frac{\frac{SS_{residual}}{df_{residual}}}{\left(\frac{SS_{residual}}{df_{residual}} + \frac{SS_{model}}{df_{model}}\right)} \quad (12) \text{ معادله}$$

$$Q^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (R_{model,i} - R_{exp,i})^2}{\sum_{i=1}^n (R_{exp,i} - \bar{R}_{exp})^2} \quad (13) \text{ معادله}$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (R_{model,i} - R_{exp,i})^2}{N}} \quad (14) \text{ معادله}$$

نتایج

مدل‌سازی ریاضی دینامیک جمعیت میکروبی و

تعیین الگوی کینتیک آن

شاخص‌های آماری جهت نشان دادن کارایی مدل‌های نیمه تجربی برای شبیه‌سازی دینامیک جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* در جداول ۱ و ۲، آورده شده است. بر اساس جدول ۱، (دینامیک جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا*)، میزان ضریب تبیین برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده ۰/۹۶ تا ۰/۹۸، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۸۶ تا ۰/۸۹) و برای مدل کینتیک مرتبه n ام (۰/۸۸ تا ۰/۹۲) بود. بر اساس جدول ۲، (دینامیک جمعیت *شیگلا دیسانتری*)، میزان ضریب تبیین برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده ۰/۸۴ تا ۰/۹۳، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۸۰ تا ۰/۹۱) و برای مدل کینتیک مرتبه n ام (۰/۹۴ تا ۰/۹۸) بود. شکل‌های ۲ و ۳، نشان دهنده توانایی برازش مدل‌های کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n ام

به منظور استفاده از معادله ۸ جهت پیش‌بینی دینامیک جمعیت میکروبی، نیازمند ایجاد یک رابطه ریاضی بین میزان جمعیت میکروبی و پارامتر شرایط محیطی مناسب است، بنابراین معادله ۹، ارائه می‌شود.

$$M(t) = \frac{(P(t) - P(0))}{(P(0) - P(\infty))} \quad (9) \text{ معادله}$$

جایگزین کردن معادله ۹، در معادله ۸ سبب ایجاد مدل کینتیک مرتبه n ام یا معادله ۱۰، می‌شود.

$$\left(\frac{(P(t) - P(0))}{(P(0) - P(\infty))}\right)^{1-n} = (n - 1) \times \lambda \times t + 1 \quad (10) \text{ معادله}$$

لازم به ذکر است که در دو مدل قبلی مرتبه کینتیک واکنش ثابت در نظر گرفته شده بود، اما در مدل کینتیک مرتبه n ام، مرتبه واکنش نیز به عنوان متغیر به پارامترهای مدل افزوده گردیده است.

آنالیز آماری

در این پژوهش اثر دما (۴°C و ۳۵°C)، غلظت عصاره (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد)، در طی ۱۷ روز در سه تکرار، بر دینامیک جمعیت باکتری‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس) بررسی شد. آزمایش‌ها در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی طرح‌ریزی گردید. به طور کلی از ۲۷۲ داده آزمایشگاهی جهت فرآیند مدل‌سازی با استفاده از مدل‌های نیمه‌تجربی (مدل کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n ام) و سیستم‌های نوروفازی استفاده شد. از آنجایی که مدل‌های ارائه شده در این پژوهش برای نخستین بار جهت مدل‌سازی دینامیک جمعیت میکروبی به کار می‌روند بنابراین برای نشان دادن میزان کارایی آن‌ها از شاخص‌های متفاوت آماری مانند ضریب تبیین^۱، ضریب تبیین اصلاح شده^۲، ضریب تبیین ارزیابی شده متقابل^۳ و ریشه میانگین مربع خطاها^۴ بر اساس معادله‌های ۱۱ تا ۱۴، استفاده شد (۱۴). به منظور انتخاب مدل مناسب، آزمون بررسی توزیع نرمال به روی باقیمانده‌های ناشی از هر مدل (تفاوت نتایج

4. Root mean square error (RMSE)

5. Shapiro-Wilk

6. Matlab

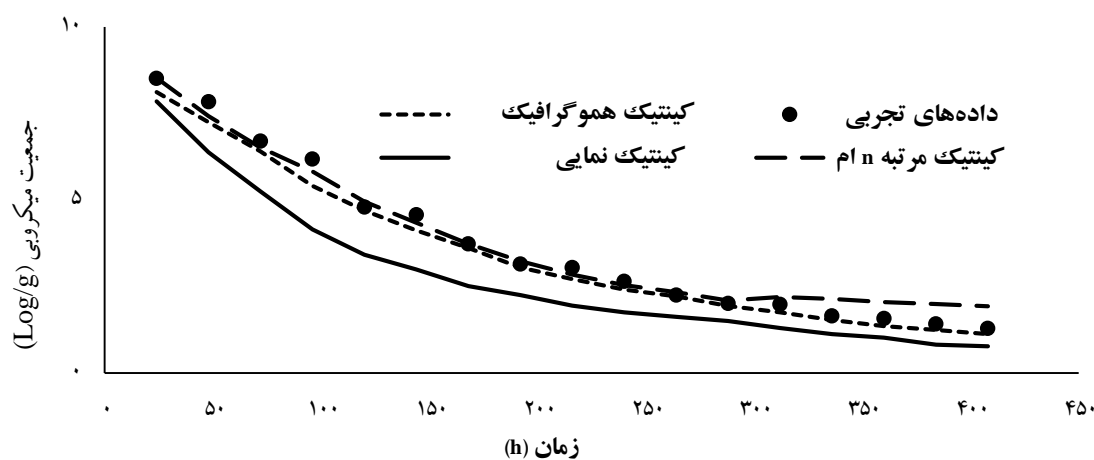
1. Coefficient of determination

2. Adjusted coefficient of determination

3. Cross validation on coefficient of determination

جدول ۱. شاخص‌های آماری جهت بررسی کارایی مدل‌های نیمه تجربی در شبیه سازی دینامیک جمعیت باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* در شرایط آزمایشی مختلف

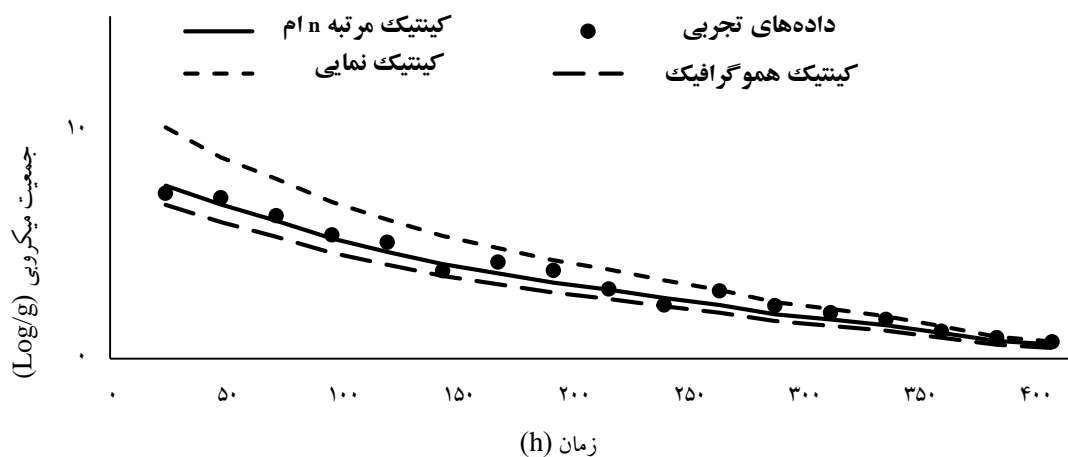
مدل کینتیک هموگرافیک	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)
R ²	۰/۹۶	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۸
R ² adj	۰/۹۵	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۷
Q ²	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۸۹	۰/۸۸
RMSE	۰/۱۲	۰/۲۱	۰/۳۹	۰/۲۶	۰/۳۰	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۳۸
RN	۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۳۵	۰/۴۲	۰/۶۵	۰/۳۸	۰/۱۶	۰/۴۹
مدل کینتیک نمایی	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)
R ²	۰/۸۶	۰/۸۹	۰/۸۶	۰/۸۸	۰/۸۹	۰/۸۷	۰/۸۸	۰/۸۹
R ² adj	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۴	۰/۸۵
Q ²	۰/۷۴	۰/۷۰	۰/۷۵	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۷۳
RMSE	۱/۰۵	۱/۱۸	۱/۴۲	۱/۱۱	۱/۱۲	۱/۶۵	۱/۴۷	۱/۸۵
RN	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۱۲
مدل کینتیک مرتبه n	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)
R ²	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۹۲
R ² adj	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۸۶	۰/۸۴	۰/۸۹	۰/۹۰
Q ²	۰/۷۹	۰/۸۱	۰/۸۰	۰/۷۷	۰/۷۵	۰/۸۰	۰/۸۲	۰/۸۲
RMSE	۰/۴۹	۰/۴۲	۰/۶۸	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۶۳	۰/۶۴	۰/۶۰
RN	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۲۲	۰/۰۶	۰/۰۳



شکل ۲. توانایی برازش مدل‌های کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n برای دینامیک جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* (دمای ۴ °C و غلظت عصاره ۰/۲ درصد).

جدول ۲. شاخص‌های آماری جهت بررسی کارایی مدل‌های نیمه تجربی در شبیه‌سازی دینامیک جمعیت باکتری *شیگلا دیسانتری* در شرایط آزمایشی

مختلف								
مدل کینتیک هموگرافیک	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۴ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (صفر درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۱ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۲ درصد)	دما (۳۵ °C) و غلظت عصاره (۰/۴ درصد)
R ²	۰/۸۴	۰/۹۰	۰/۹۱	۰/۹۰	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۹۳
R ² adj	۰/۸۱	۰/۸۶	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۲
Q ²	۰/۸۱	۰/۸۰	۰/۸۸	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۲
RMSE	۰/۲۸	۰/۴۰	۰/۹۵	۰/۸۵	۰/۸۱	۱/۲۲	۱/۱۵	۰/۸۱
RN	۰/۱۲	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۱۴
مدل کینتیک نمایی								
R ²	۰/۸۷	۰/۸۰	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۷	۰/۸۶	۰/۸۸	۰/۹۱
R ² adj	۰/۸۶	۰/۸۳	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۸۶	۰/۸۲	۰/۸۹	۰/۸۹
Q ²	۰/۸۱	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۸۲	۰/۷۴	۰/۷۶	۰/۷۶
RMSE	۱/۱۶	۰/۶۹	۰/۸۵	۰/۹۰	۱/۹۱	۱/۶۸	۱/۴۱	۱/۲۵
RN	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴
مدل کینتیک مرتبه n								
R ²	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۴	۰/۹۴
R ² adj	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۳	۰/۹۲	۰/۹۶	۰/۹۴	۰/۹۵	۰/۹۲
Q ²	۰/۸۸	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۸۹
RMSE	۰/۱۲	۰/۳۵	۰/۳۶	۰/۴۵	۰/۴۴	۰/۵۲	۰/۵۰	۰/۲۶
RN	۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۷۵	۰/۱۶	۰/۲۸	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۲۲



شکل ۳. توانایی برازش مدل‌های کینتیک هموگرافیک، کینتیک نمایی و کینتیک مرتبه n برای دینامیک جمعیت *شیگلا دیسانتری* (دمای ۳۵ °C و غلظت عصاره ۰/۱ درصد).

کاهش جمعیت میکروبی به صورت معنی دار ($p < 0/05$) افزایش یافت در حالی که زمان لازم برای کاهش ۵۰ درصدی در جمعیت میکروبی و میزان جمعیت میکروبی تعادلی کاهش یافته است.

اثر متغیرهای محیطی بر پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n ام

نتایج جدول آنالیز واریانس (جدول ۵) نشان داد که، متغیرهای محیطی دما و غلظت به طور معنی داری ($p < 0/05$) سبب تغییر تمامی پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n ام (n و $K, P_{\infty}, \frac{P_0 - P_{\infty}}{P_0}$) می شوند. نتایج نشان داد که متغیرهای دما و غلظت دارای اثر هم افزایی معنی داری ($p < 0/05$) بر تمامی پارامترهای مدل به استثنای مرتبه کینتیک دارد.

بر اساس جدول ۶، می توان چنین نتیجه گیری کرد که با افزایش غلظت عصاره قره قات در دمای ثابت درصد کاهش جمعیت میکروبی، سرعت کاهش جمعیت میکروبی، و مرتبه کینتیک به صورت معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافته در حالی که میزان جمعیت میکروبی تعادلی کاهش یافته است.

به طور بصری می باشد. بنابراین براساس شاخص های آماری مورد بررسی (ضریب تبیین، ضریب تبیین تعدیل شده، ضریب تبیین ارزیابی شده متقابل، ریشه میانگین مربع خطاها و توزیع باقی مانده) می توان نتیجه گیری کرد که الگوی کینتیکی برای دینامیک جمعیت باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا از نوع هموگرافیک و الگوی کینتیکی برای دینامیک جمعیت باکتری شیگلا دیسانتری از نوع کینتیک مرتبه n ام می باشد.

اثر متغیرهای محیطی بر پارامترهای مدل کینتیک هموگرافیک

نتایج جدول آنالیز واریانس (جدول ۳) نشان داد که متغیرهای محیطی دما و غلظت به طور معنی داری ($p < 0/05$) سبب تغییر پارامترهای $a, b, \frac{1}{b}$ و P_{∞} می شوند.

علاوه بر این نتایج نشان داد که متغیرهای دما و غلظت دارای اثر هم افزایی معنی دار بر تمامی پارامترهای مدل کینتیک هموگرافیک به استثنای پارامتر a است. بر اساس جدول ۴، می توان چنین نتیجه گیری کرد که با افزایش غلظت عصاره قره قات در دمای ثابت، سرعت کاهش و درصد

جدول ۳. آنالیز واریانس پارامترهای مدل کینتیک هموگرافیک

اندیس P	اندیس F	میانگین مربعات	درجه آزادی	پارامترهای محیطی	پارامترهای مدل کینتیک هموگرافیک
۰/۰۳	۵/۶۵	۰/۰۲	۱	دما	a
۰/۰۱	۸/۲۳	۰/۰۱	۳	غلظت	
۰/۱۶	۰/۲۱	۰/۰۰	۳	دما × غلظت	
۰/۰۰	۱۰۲۳/۲۲	۰/۰۰	۱	دما	b
۰/۰۰	۷۱/۰۲	۰/۰۰	۳	غلظت	
۰/۰۴	۱۸/۰۶	۰/۰۰	۳	دما × غلظت	
۰/۰۰	۱۰۱/۵۴	۱۴۲۱/۵۲	۱	دما	1/b (h)
۰/۰۱	۶۲/۲۱	۷۶۲/۲۰	۳	غلظت	
۰/۰۲	۳۵/۸۳	۲۵۰۳/۶۳	۳	دما × غلظت	
۰/۰۰	۱۳۶/۸۲	۰/۶۵	۱	دما	P_{∞}
۰/۰۰	۳۸۳/۴۳	۱/۷۹	۳	غلظت	
۰/۰۳	۱۵/۵۳	۰/۰۷	۳	دما × غلظت	

جدول ۴. پارامترهای مدل کینتیک هموگرافیک در تمامی شرایط محیطی مورد بررسی

P_{∞}	1/b (h)	b (1/h)	a	غلظت قره قات (درصد)	درجه حرارات (°C)
$2/10 \pm 0/10^{aA}$	$3/65 \pm 0/20^{aB}$	$0/25 \pm 0/01^{cA}$	$0/72 \pm 0/04^{cA}$	صفر	۴
$1/33 \pm 0/06^{bB}$	$2/82 \pm 0/15^{bB}$	$0/33 \pm 0/02^{cA}$	$0/81 \pm 0/04^{bA}$	۰/۱	۴
$1/25 \pm 0/07^{bB}$	$2/17 \pm 0/11^{bB}$	$0/42 \pm 0/02^{bA}$	$0/83 \pm 0/02^{bA}$	۰/۲	۴
$0/58 \pm 0/03^{cB}$	$1/58 \pm 0/08^{cB}$	$0/59 \pm 0/03^{aA}$	$0/91 \pm 0/03^{aA}$	۰/۴	۴
$1/98 \pm 0/12^{aA}$	$1/47 \pm 0/06^{aA}$	$0/81 \pm 0/04^{cB}$	$0/78 \pm 0/04^{cA}$	صفر	۳۵
$0/99 \pm 0/05^{bA}$	$0/84 \pm 0/04^{bA}$	$1/11 \pm 0/06^{bB}$	$0/88 \pm 0/04^{bA}$	۰/۱	۳۵
$0/57 \pm 0/03^{cA}$	$0/70 \pm 0/04^{bA}$	$1/34 \pm 0/07^{bB}$	$0/90 \pm 0/05^{bA}$	۰/۲	۳۵
$0/12 \pm 0/01^{dA}$	$0/61 \pm 0/03^{cA}$	$1/53 \pm 0/08^{aB}$	$0/96 \pm 0/01^{aA}$	۰/۴	۳۵

- حروف لاتین کوچک (a, b, c, d) یکسان نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) در دمای ثابت می‌باشند.
- حروف لاتین بزرگ (A و B) یکسان نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) در غلظت یکسان می‌باشند.

جدول ۵. آنالیز واریانس پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n ام

اندیس P	اندیس F	میانگین مربعات	درجه آزادی	پارامترهای محیطی	پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n
۰/۰۰	۵۴۲/۷۷	۰/۵۰	۱	دما	$\left(\frac{P_0 - P_{\infty}}{P_0}\right)$
۰/۰۱	۷۲/۴۵	۰/۱۰	۳	غلظت	
۰/۰۲	۱۶/۰۱	۰/۰۱	۳	دما × غلظت	
۰/۰۰	۵۵/۷۵	۴۲/۷۰	۱	دما	P_{∞}
۰/۰۰	۱۱۱/۳۸	۷/۱۲	۳	غلظت	
۰/۰۱	۲۶/۶۸	۲/۲۹	۳	دما × غلظت	
۰/۰۰	۴۸۲/۲۳	۰/۰۲	۱	دما	K (1/h)
۰/۰۰	۱۶۸/۲۵	۰/۰۰	۳	غلظت	
۰/۰۰	۸۵/۵۴	۰/۰۰	۳	دما × غلظت	
۰/۰۱	۲۳/۰۹	۰/۵۲	۱	دما	n
۰/۰۱	۱۸/۱۸	۰/۴۱	۳	غلظت	
۰/۲۷	۲/۴۲	۰/۰۳	۳	دما × غلظت	

جدول ۶. پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n ام در تمامی شرایط محیطی مورد بررسی

n	K (1/h)	P_{∞}	$\left(\frac{P_0 - P_{\infty}}{P_0}\right)$	غلظت قره قات (درصد)	درجه حرارات (°C)
$2/01 \pm 0/11^{aA}$	$0/06 \pm 0/00^{cB}$	$3/97 \pm 0/22^{aA}$	$0/46 \pm 0/03^{cB}$	صفر	۴
$2/80 \pm 0/15^{bA}$	$0/09 \pm 0/01^{bB}$	$0/92 \pm 0/05^{bA}$	$0/79 \pm 0/04^{bB}$	۰/۱	۴
$2/81 \pm 0/16^{bA}$	$0/15 \pm 0/01^{bB}$	$0/88 \pm 0/05^{bA}$	$0/84 \pm 0/04^{bB}$	۰/۲	۴
$2/83 \pm 0/16^{bA}$	$0/22 \pm 0/01^{aB}$	$0/45 \pm 0/03^{cA}$	$0/91 \pm 0/05^{aB}$	۰/۴	۴
$1/95 \pm 0/11^{bA}$	$0/05 \pm 0/00^{cA}$	$6/14 \pm 0/34^{aB}$	$0/24 \pm 0/01^{cA}$	صفر	۳۵
$2/40 \pm 0/13^{aA}$	$0/07 \pm 0/00^{bA}$	$5/58 \pm 0/31^{aB}$	$0/34 \pm 0/02^{bA}$	۰/۱	۳۵
$2/43 \pm 0/13^{aA}$	$0/06 \pm 0/00^{bA}$	$5/35 \pm 0/30^{aB}$	$0/36 \pm 0/02^{bA}$	۰/۲	۳۵
$2/49 \pm 0/14^{aA}$	$0/08 \pm 0/00^{aA}$	$4/07 \pm 0/22^{bB}$	$0/49 \pm 0/03^{aA}$	۰/۴	۳۵

- حروف لاتین کوچک (a, b, c) یکسان نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) در دمای ثابت می‌باشند.
- حروف لاتین بزرگ (A و B) یکسان نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) در غلظت یکسان می‌باشند.

آماري نشان دهنده كارايي اين شيوه مدل سازي آورده شده است. در شكل ۴، نمایی از همبستگی نتایج مدل نوروفازی و داده‌های تجربی بر دینامیک جمعیت باکتری یرسینیا اتروکولیتیکا نشان داده شده است.

بحث

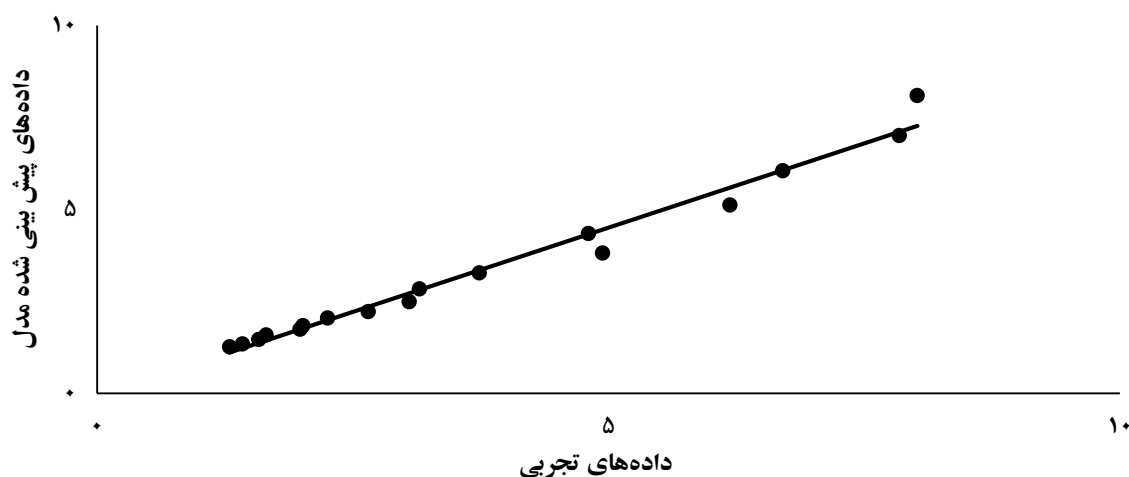
نخستین شاخص آماری که مورد بررسی قرار گرفت ضریب تبیین بود. ضریب تبیین (R^2) نشانگر درصدی از تغییرات متغیر وابسته است که به وسیله متغیر مستقل تبیین می شود. مقدار R^2 بین صفر و یک متغیر بوده و هر چقدر این شاخص به یک نزدیک تر باشد نشان دهنده مناسب بودن مدل برای برآورده داده‌ها می باشد (۱۴).

مقایسه مدل‌های نوین ارائه شده با روش سیستم‌های استنتاج فازی-عصبی سازگار

در پژوهش حاضر، برای بررسی توانایی مدل‌های نوین ارائه شده، نتایج به دست آمده با این مدل‌ها، با نتایج مدل سازی به روش سیستم‌های استنتاج فازی-عصبی سازگار به عنوان یک روش هوشمند مقایسه شد. لازم به ذکر است که برای مدل سازی دینامیک جمعیت باکتری یرسینیا اتروکولیتیکا و شیگلا دیسانتری، ۵۰ درصد داده‌ها برای آموزش، ۲۵ درصد برای ارزیابی و ۲۵ درصد برای آزمون مدل به کار گرفته شد. برای ایجاد سیستم استنتاج فازی^۱ از پیش فرض روش افراز شبکه‌ای استفاده گردید. روش بهینه سازی آموزش شبکه به صورت هیبرید^۳ بود و تعداد دوره‌های آموزشی ۲۰۰ در نظر گرفته شد. در جدول ۷، اطلاعات مربوط به ساختار بهینه شده سیستم نوروفازی و شاخص‌های

جدول ۷. اطلاعات مربوط به ساختار بهینه شده سیستم نوروفازی و شاخص‌های آماری نشان دهنده کارایی مدل سازی

مدل سازی دینامیک جمعیت	تعداد پارامترهای خطی	تعداد پارامترهای غیر خطی	تعداد قانون‌های فازی	نوع توابع عضویت	تعداد توابع عضویت برای هر ورودی	R^2	R^2_{adj}	Q^2	RMSE	RN
یرسینیا اتروکولیتیکا	۳۲	۱۲	۸	گوسین	۲	۰/۹۳	۰/۹۱	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۲۳
شیگلا دیسانتری	۱۰۸	۱۸	۲۷	گوسین	۴	۰/۹۲	۰/۹۰	۰/۸۰	۰/۵۲	۰/۴۸



شكل ۴. همبستگی بین نتایج حاصل از مدل نوروفازی و داده‌های تجربی دینامیک جمعیت باکتری یرسینیا اتروکولیتیکا ($R^2=0.93$).

³ Hybrid

¹ Fuzzy inference systems (FIS)

² Grid partition

مدل کینتیک مرتبه n (۰/۸۸ تا ۰/۹۰) می‌باشد.

به طور کلی تغییرات به دست آمده در هر آزمایش تجربی ناشی از دو عامل اساسی می‌باشد: ۱- تغییرات ناشی از تیمارهای انجام شده، ۲- تغییرات ناشی از خطا آزمایش. برای کمی کردن منبع دوم تغییرات (خطا) می‌توان از RMSE استفاده کرد. این شاخص، ابتدا اختلاف تک تک مقادیر مشاهده شده را با مقادیر پیش‌بینی شده به وسیله مدل محاسبه نموده و به توان دو می‌رساند سپس از این اختلافات میانگین گرفته و در نهایت جذر عدد میانگین را ارائه می‌دهد، لذا مقدار این شاخص هر چقدر به صفر نزدیک‌تر باشد نشان دهنده مناسب بودن مدل برای برآورده داده‌ها است (۱۴). میزان RMSE در این پژوهش جهت مدل‌سازی دینامیک جمعیت باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده (۰/۱۲ تا ۰/۴۲)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۰۵ تا ۱/۸۵) و برای مدل کینتیک مرتبه n (۰/۴۲ تا ۰/۷۱) بود. میزان این شاخص آماری جهت مدل‌سازی دینامیک جمعیت باکتری *شیگلا دیسانتری* برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده (۰/۲۸ تا ۱/۲۲)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۶۹ تا ۱/۹۱) و برای مدل کینتیک مرتبه n (۰/۱۲ تا ۰/۵۲) بود.

آخرین شاخص آماری جهت بررسی کارایی مدل‌های نیمه‌تجربی ارائه شده در این پژوهش، شاخص نرمال بودن توزیع باقیمانده‌های ناشی از هر مدل (تفاوت نتایج آزمایشگاهی با مقدار پیش‌بینی شده) می‌باشد. مدل‌های ریاضی که دارای توزیع باقی مانده نرمال هستند، مدل‌های مناسبی برای برآورده داده‌های تجربی می‌باشند (۱۵). نتایج مدل‌سازی دینامیک جمعیت باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* نشان داد که مدل کینتیک هموگرافیک، در شرایط مختلف آزمایشی، دارای باقیمانده‌های با توزیع نرمال می‌باشد. اما برای مدل کینتیک مرتبه n در شرایط آزمایشی دمای $^{\circ}\text{C}$ ۳۵ و ۰/۴ درصد عصاره قره قات توزیع باقی مانده‌های مدل به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) از حالت نرمال فاصله دارد. در مدل کینتیک نمایی در شرایط آزمایشی دمای $^{\circ}\text{C}$ ۴ و ۰/۱،

شاخص R^2 وابسته به تعداد متغیرهای سیستم بوده و در صورت بالا رفتن عامل مذکور به صورت کاذب افزایش می‌یابد، لذا برای حذف اثر تعداد متغیر بر میزان کارایی مدل از شاخص $\text{Rad}j^2$ استفاده می‌شود. به عبارت دیگر تفاوت مهم ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده در این است که ضریب تبیین فرض می‌کند که هر متغیر مستقل مشاهده شده در مدل، تغییرات موجود در متغیر وابسته را تبیین می‌کند. بنابراین درصد نشان داده شده توسط ضریب تبیین با فرض تاثیر همه متغیرهای مستقل بر متغیر وابسته می‌باشد، در صورتی که درصد نشان داده شده توسط ضریب تبیین اصلاح شده فقط حاصل از تاثیر واقعی متغیرهای مستقل مدل بر متغیر وابسته است و نه همه متغیرهای مستقل (۱۴). میزان ضریب تبیین اصلاح شده جهت مدل‌سازی دینامیک جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده (۰/۹۵ تا ۰/۹۷)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۸۱ تا ۰/۸۵) و برای مدل کینتیک مرتبه n (۰/۸۴ تا ۰/۹۲) بود. بر اساس جدول ۲، میزان ضریب تبیین اصلاح شده جهت مدل‌سازی دینامیک جمعیت *شیگلا دیسانتری* برای مدل کینتیک هموگرافیک در شرایط آزمایشی مختلف در محدوده (۰/۸۱ تا ۰/۹۲)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۸۰ تا ۰/۸۹) و برای مدل کینتیک مرتبه n (۰/۹۲ تا ۰/۹۶) بود.

یکی دیگر از شاخص‌های کارایی مدل‌های ریاضی میزان Q-squared است. Q-squared نشان می‌دهد که مدل چقدر می‌تواند پاسخ‌ها را برای شرایط آزمایشی جدید پیش‌گویی کند. مقادیر بزرگتر از ۰/۷۰ برای این شاخص نشان می‌دهد که مدل دارای توان برآورد خوبی می‌باشد (۱۴). میزان Q-squared برای دینامیک جمعیت *یرسینیا انتروکولیتیکا* در مدل کینتیک هموگرافیک در محدوده (۰/۸۷ تا ۰/۹۰)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۷۰ تا ۰/۷۵) و برای مدل کینتیک مرتبه n (۰/۷۵ تا ۰/۸۲) بود. از طرفی دیگر میزان این شاخص برای دینامیک جمعیت *شیگلا دیسانتری* در مدل کینتیک هموگرافیک در محدوده (۰/۸۰ تا ۰/۸۸)، برای مدل کینتیک نمایی (۰/۷۵ تا ۰/۸۱) و برای

سبب فاصله از دمای بهینه رشد این باکتری شده است، پدیده- ای که می‌تواند باعث کاهش مقاومت باکتری نسبت به ترکیبات ضد میکروبی عصاره قره قات شود (۱۶). نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن (جدول ۴) نشان داد که، با افزایش غلظت عصاره قره قات از ۰/۱ به ۰/۲ درصد، تنها دو پارامتر سرعت کاهش جمعیت میکروبی (در دمای ۴ °C) و جمعیت میکروبی تعادلی (در دمای ۳۵ °C) به طور معنی داری ($p < 0/05$) به ترتیب افزایش و کاهش پیدا کردند، در حالی که در سایر پارامترهای مدل در این محدوده از غلظت تغییر معنی داری رخ نداد.

مدل کینتیک مرتبه n ام نسبت به سایر مدل‌های ریاضی ارائه شده توانایی بیشتری در برآورده داده‌های مربوط به دینامیک جمعیت باکتری شیگلا دیسانتری دارد. بنابراین برای بررسی اثر متغیرهای محیطی (دما و غلظت) بر کینتیک جمعیت باکتری شیگلا دیسانتری از این مدل استفاده شد. مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره در دماهای مختلف (۴ °C و ۳۵) و سطوح غلظتی یکسان نشان داد که با افزایش دما، پارامترهای سرعت و درصد کاهش جمعیت میکروبی به طور معنی داری ($p < 0/05$) کاهش یافته، در حالی که میزان جمعیت میکروبی تعادلی افزایش یافت. به عبارت دیگر در اینجا افزایش درجه حرارت در یک مرتبه واکنش یکسان (افزایش درجه حرارتی تاثیری بر مرتبه واکنش ندارد (جدول ۶))، سبب کاهش اثر ضد میکروبی عصاره قره قات شده، نتیجه‌ای که می‌تواند به نزدیک بودن درجه حرارت محیط به دمای بهینه رشد باکتری شیگلا دیسانتری ارتباط داشته باشد (۱۶). نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن (جدول ۶) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره قره قات از ۰/۱ به ۰/۲ درصد در هیچ کدام از پارامترهای مدل کینتیک مرتبه n ام ($\frac{P_0 - P_{\infty}}{P_0}$ ، K و n) تغییر معنی داری ($p < 0/05$) رخ نداد. سیستم‌های هوشمند، ابزار مناسبی برای مدل‌سازی فرآیندهای پیچیده طبیعی می‌باشند. این سیستم‌ها با پردازش مستقیم داده‌های تجربی دانش یا قانون نهفته در ورای داده‌ها را مشخص می‌نمایند. یکی از این سیستم‌های هوشمند روش استنتاج فازی-عصبی سازگار می‌باشد. این روش تلفیقی از

۰/۲ و ۰/۴ درصد عصاره قره قات و همچنین در دمای ۳۵ °C در غلظت صفر و ۰/۱ درصد عصاره، توزیع باقی مانده‌های مدل به طور معنی داری ($p < 0/05$) از حالت نرمال فاصله دارد. بر اساس جدول ۲، نتایج مدل سازی دینامیک جمعیت باکتری شیگلا دیسانتری نشان داد که برای مدل کینتیک نمایی در شرایط آزمایشی دمای ۳۵ °C در تمامی سطوح عصاره قره قات (صفر تا ۰/۴ درصد) توزیع باقی مانده‌های مدل به طور معنی داری ($p < 0/05$) از حالت نرمال فاصله دارد. این در حالی است که برای مدل کینتیک هموگرافیک تنها در شرایط آزمایشی دمای ۳۵ °C در غلظت صفر درصد عصاره، توزیع باقی مانده‌های مدل به طور معنی داری ($p < 0/05$) از حالت نرمال فاصله دارد. همچنین نتایج نشان داد که مدل کینتیک مرتبه n ام در تمامی شرایط آزمایشی دارای باقیمانده‌های با توزیع نرمال بود.

مدل کینتیک هموگرافیک نسبت به سایر مدل‌های ریاضی ارائه شده توانایی بهتری در پیش‌بینی داده‌های مربوط به دینامیک جمعیت باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا در شرایط مختلف محیطی دارد. بنابراین برای بررسی اثر متغیرهای محیطی (دما و غلظت) بر کینتیک جمعیت یرسینیا انتروکولیتیکا از این مدل استفاده شد. مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره در دماهای متفاوت (۴ °C و ۳۵) و سطوح غلظتی یکسان، نشان داد که با افزایش دما، پارامتر سرعت کاهش جمعیت میکروبی به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافته، در حالی که پارامترهای میزان جمعیت میکروبی تعادلی و مدت زمان لازم برای کاهش ۵۰ درصدی جمعیت میکروبی به طور معنی داری ($p < 0/05$) کاهش یافتند. دلیل این پدیده را می‌توان این گونه توضیح داد که با افزایش درجه حرارت، میزان انتقال جرم ترکیبات ضد میکروبی (به دلیل افزایش ضریب نفوذ مولکول‌ها) به درون باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا افزایش یافته و در نتیجه سبب افزایش سرعت کاهش نرخ جمعیت میکروبی شده است. لازم به ذکر است که باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا، از نظر وابستگی به درجه حرارت در گروه سایکروفیل قرار دارد، در نتیجه افزایش دما

بهترین انتخاب جهت بررسی دینامیک و الگوی کینتیکی باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* بود. نتایج نشان داد در باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* با افزایش غلظت عصاره قره قات در دمای ثابت و افزایش دما در غلظت ثابت عصاره، سرعت کاهش جمعیت میکروبی به صورت معنی-داری ($p < 0/05$) افزایش یافته در حالی که زمان لازم برای کاهش ۵۰ درصدی در جمعیت میکروبی و میزان جمعیت تعادلی کاهش یافته است. برای باکتری *شیگلا دیسانتری* با افزایش غلظت عصاره قره قات در دمای ثابت، پارامترهای سرعت و درصد کاهش جمعیت میکروبی به صورت معنی-داری ($p < 0/05$) افزایش یافت، در حالی که میزان جمعیت میکروبی تعادلی کاهش پیدا کرد. با افزایش دما در غلظت ثابت عصاره شاخص‌های کینتیکی تنزل جمعیت میکروبی (سرعت و درصد کاهش جمعیت میکروبی) کاهش یافت، اما میزان جمعیت میکروبی تعادلی افزایش پیدا کرد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۲/۳۰۷۱۳ در دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Alghooneh A, Behbahani BA, Noorbakhsh H, Yazdi FT. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. *Microbial Pathogenesis*. 2015; 85:58-65.
2. Fernandes FC, Rigden DJ, Franco OL. Prediction of antimicrobial peptides based on the adaptive neuro-fuzzy inference system application. *Peptide Science*. 2012;98(4):280-7.
3. Yolmeh M, Najafi MBH, Salehi F. Genetic algorithm-artificial neural network and adaptive neuro-fuzzy inference system modeling of antibacterial activity of annatto dye on *Salmonella enteritidis*. *Microbial Pathogenesis*. 2014; 67:36-40.

شبکه‌های عصبی مصنوعی و منطق فازی می‌باشد. شبکه‌های عصبی مصنوعی به دلیل حجم محاسبات بالا و نبود یک روش مشخص در جهت بهینه‌سازی ساختار شبکه و منطق فازی به دلیل نیازمندی به فهم عمیقی از متغیرهای فازی و توابع عضویت، روابط ورودی-خروجی و به علاوه تشخیص درست در انتخاب قوانین فازی دارای کاربرد عملی محدودی می‌باشند. بنابراین مشکلات و نقاط ضعف شبکه‌های عصبی مصنوعی و منطق فازی با اعمال ترکیب مناسبی از این دو روش قابل حل است. به این صورت که منطق فازی به راحتی قابلیت اصلاح و بهینه‌سازی دارد و شبکه‌های عصبی مصنوعی قابلیت یادگیری از روی داده‌های عددی را دارا می‌باشند (۱۷ و ۱۸). سیستم‌های نوروفازی دارای سطح هوشمندی بالا و عدم پیچیدگی کاربردی می‌باشند. با مقایسه نتایج شاخص-های آماری می‌توان بیان کرد که تفاوت معنی‌داری ($p < 0/05$) بین قدرت پیشگویی سیستم‌های استنتاج فازی-عصبی سازگار با روش مدل‌سازی ارائه شده در پژوهش حاضر، برای بررسی دینامیک جمعیت میکروبی وجود داشته و مدل کینتیک هموگرافیک و کینتیک مرتبه n به ترتیب برای پیش‌بینی دینامیک جمعیت باکتری‌های *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *شیگلا دیسانتری* دارای کارایی بهتری می‌باشند. لازم به ذکر است که در روش مدل‌سازی نوروفازی هیچ گونه اطلاعاتی درباره اتفاقات داخل سیستم در اختیار کاربر قرار داده نمی‌شود و مکانیسم‌ها و ارتباطات داخلی بین متغیرهای ورودی و خروجی مورد نظر مشخص نیست در حالی که مدل‌های نوین نیمه تجربی ارائه شده دارای پارامتر-های با معنای دقیق بیولوژیکی بوده که پارامترهای آن امکان فهم بیشتری از ماهیت بیولوژیک سیستم را می‌دهند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که هر سه مدل ریاضی ارائه شده در این پژوهش دارای توانایی قابل قبولی جهت مدل‌سازی دینامیکی را دارند، اما با توجه به شاخص‌های کارایی مدل‌سازی (ضریب تبیین، ضریب تبیین تعدیل شده، ضریب تبیین ارزیابی شده متقابل، ریشه میانگین مربع خطا و توزیع باقی مانده‌ها)، مدل کینتیک هموگرافیک و کینتیک مرتبه n ام

14. Jay, J. M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Modern Food Microbiology, Springer US.
 15. Entchev E, Yang L. Application of adaptive neuro-fuzzy inference system techniques and artificial neural networks to predict solid oxide fuel cell performance in residential microgeneration installation. Journal of Power Sources. 2007;170(1):122-9.
 16. Mashrei MA, Abdulrazzaq N, Abdalla TY, Rahman M. Neural networks model and adaptive neuro-fuzzy inference system for predicting the moment capacity of ferrocement members. Engineering Structures. 2010;32(6):1723-34.
 4. Soleimanzadeh B, Hemati L, Yolmeh M, Salehi F. GA-ANN and ANFIS Models and S almonella Enteritidis Inactivation by Ultrasound. Journal of Food Safety. 2015;35(2):220-6.
 5. Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. Journal of Food Safety. 2018; 38(3):1-16.
 6. Gardson, G.D. 1998. Neural networks, SAGE Publications Ltd., London.
 7. Leistner L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. International Journal of Food Microbiology. 2000;55(1-3):181-6.
 8. Marco A, Navarro JL, Flores M. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. Meat Science. 2006;73(4):660-73.
 9. Honikel K-O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science. 2008;78(1-2):68-76.
 10. Jo C, Ahn H, Son J, Lee J, Byun M. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. Food Control. 2003;14(1):7-12.
۱۱. طباطبایی یزدی ف، الغونه ع، علیزاده بهبهانی ب، وسیعی ع. استفاده از شبکه عصبی-ژنتیک الگوریتم و نروفازی برای مدل سازی دینامیک جمعیت میکروبی اشرشیا کلی در سوسیس فرانکفورتر حاوی عصاره قره قات. علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۳۹۵؛ ۱۳(۵۳): ۳۳-۴۵.
۱۲. استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳، ۱۳۸۱. ویژگی های سوسیس و کالباس. انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
11. Alizadeh Behbahani B, Imani Fooladi AA. Shirazi balangu (*Lallemantia royleana*) seed mucilage: Chemical composition, molecular weight, biological activity and its evaluation as edible coating on beefs. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 114:882-9.
 12. Hu R. Food product design: a computer-aided statistical approach: Routledge; 2017.
 13. Razavi SM, Alghooneh A, Behrouzian F. Kinetic Modelling of Hydraulic Resistance in Colloidal System Ultrafiltration: Effect of Physiochemical and Hydrodynamic Parameters. Journal of Membrane Science and Research. 2017;3(4):296-302.

Evaluation of kinetic pattern and population dynamics *Yersinia enterocolitica* and *Shigella dysenteriae* in meat product (sausage) using a novel semi empirical models

Ali Alghooneh¹, Fatane Behrozian¹, **Farideh Tabatabaei Yazdi^{1*}**, Seyed Mohammad Bagher Hashemi², Seyed Mohammad Ali Razavi¹, Behrooz Alizadeh Behbahani³

¹ Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

² Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran

³ Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Abstract

Herein, three semi empirical kinetic models, i.e., exponential, homographic and n-order kinetic models were established to describe the microbiological population pattern and dynamic. To prove the generalizability of these models, the *Yersinia enterocolitica* and *Shigella dysenteriae* population dynamics have been investigated in sausage, as a complex food system, contained four different antimicrobial *Ribes rubrum* extract (RRE) concentrations (0, 0.1, 0.2 and 0.4 percent) at two storage temperatures (4 and 35 °C) during 17 days. Furthermore, to test the capability of these models, the results were compared with neuro-fuzzy system. Although, all three kinetic models showed a reasonable prediction accuracy, homographic kinetic model was the best for predicting antibacterial effects of RRE against *Y. enterocolitica* ($R^2 = 0.96-0.98$, $R^2_{adj} = 0.95-0.97$, Q-squared = 0.87-0.90, and RMSE = 0.12-0.42) and the n-order kinetic model did the best in describing the kinetic pattern of *S. dysenteriae* ($R^2 = 0.94-0.98$, $R^2_{adj} = 0.92-0.96$, Q-squared = 0.88-0.90, RMSE = 0.26-0.52). Semi-empirical kinetic models had better performance for predicting microbiological population dynamic than neuro-fuzzy system. Also, it's worth mentioning that the novel semi empirical models presented important biological parameters which provided a better understanding of the systems biological state than neuro-fuzzy system. These results could offer new perspectives in the field of microbiology.

Keywords: Meat product, *Ribes rubrum*, Semi empirical models, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia enterocolitica*

* tabatabai@um.ac.ir