

پیش بینی تاثیر اجزاء موجود در شیر خام بر بازیافت و استخراج ژنوم ویروس‌های روده‌ای با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

محمود صادقی¹ - مسعود یاورمنش^{2*} - مصطفی شهیدی نوقابی³

تاریخ دریافت: 1392/1/26

تاریخ پذیرش: 1392/9/28

چکیده

در میان مواد غذایی که می‌تواند به صورت بالقوه ناقل ویروس‌های بیماری‌زا باشد شیر خام قرار دارد. بر همین اساس نحوه قرارگیری ویروس‌های بیماری‌زا در شیر خام به شدت وابسته به حضور ترکیبات شیر بوده و دستیابی به هرگونه روش جهت استخراج و بازیافت ویروس‌ها و ژنوم آن‌ها از شیر خام وابسته به شناسایی رفتار دقیق این ترکیبات در برابر ویروس‌ها می‌باشد. از روش‌های قابل استفاده در تخمین و پیش‌بینی بازیافت ویروس می‌توان از شبکه عصبی مصنوعی یا استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) نام برد. در این تحقیق مدل‌سازی‌های جعبه سیاه به نام مدل‌سازی شبکه‌های عصبی مصنوعی به همراه استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) به منظور پیش‌بینی اثر اجزاء موجود در شیر خام بر بازیافت و استخراج ژنوم ویروسی به کار گرفته شده است. همچنین درصد داده‌های مورد استفاده برای تربیت، ارزیابی و آزمون شبکه عصبی، تعداد لایه‌های پنهان، تعداد نرون، نوع تابع انتقال و نوع قانون یادگیری و دیگر پارامترهای موثر بر شبکه به عنوان متغیرهای شبکه در نظر گرفته شد. در نهایت بر اساس داده‌های حاصل از مدل‌سازی، شبکه‌ای با کمترین خطا و بالاترین ضریب همبستگی انتخاب و گزارش گردید. براساس این تحقیق در شبکه عصبی مصنوعی مدل تلقیح شده با تابع انتقال سیگموئید خطی و الگوریتم یادگیری لونیگ با ضریب همبستگی $r = 0/919$ و مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) با تابع انتقال سیگموئید خطی و الگوریتم یادگیری لونیگ با ضریب همبستگی $r = 0/956$ انتخاب شد. همچنین در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) تابع عضویت گاوسی و مدل فازی TSK برای هر دو مدل تلقیح شده و (تلقیح نشده-تلقیح شده) انتخاب و سپس در مدل تلقیح شده تابع انتقال تانژانت هائپربولیک اکسون خطی و قاعده یادگیری مومنتوم با $r = 0/879$ و در مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) تابع انتقال اکسون خطی و الگوریتم یادگیری Step با $r = 0/889$ به عنوان بهترین مدل برای پیش‌بینی بازیافت و استخراج ژنوم ویروس معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: شیر خام، RNA ویروسی، اجزاء شیر، شبکه عصبی مصنوعی، استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

مقدمه

'شبکه عصبی' در حالت کلی به دو مفهوم مختلف اشاره دارد (سلطانی، 1389).

1. شبکه عصبی زیستی
2. شبکه عصبی مصنوعی

نام سیستم عصبی از اعصاب گرفته می‌شود. در حالت کلی، یک شبکه عصبی زیستی از مجموعه یا مجموعه‌ای از نورون‌های به هم متصل به صورت فیزیکی یا به هم وابسته از لحاظ عملکردی تشکیل شده است. هر نورون می‌تواند به تعداد بسیار زیادی از نورون‌ها وصل باشد و تعداد کل نورون‌ها و اتصالات بین آن‌ها می‌تواند بسیار زیاد باشد. اتصالات، که به آن‌ها سیناپس گفته می‌شود، معمولاً از آکسون‌ها و دندریت‌ها تشکیل شده‌اند (سلطانی، 1389).

در هوش مصنوعی و مدل‌سازی سعی بر این است که بعضی از

شبکه عصبی یک سیستم ارگانی شامل نورونها می‌باشد که اعمال و واکنش جانداران را هماهنگ می‌سازد و سیگنال‌ها را به بخش‌های متفاوت بدن می‌فرستد. در بیشتر جانداران سیستم عصبی شامل 2 بخش است: بخش مرکزی و بخش جانبی استفاده از این عبارت در علوم کاربردی جدید به شبکه عصبی مصنوعی که از نورون‌هایی مصنوعی ساخته شده است اشاره دارد. بنابراین عبارت

1 و 4- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد شاهرود، گروه مهندسی شیمی
2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول: Email: yavarmanesh@um.ac.ir)

3- استادیار گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی

دستگاه هموژنایزر ایکا¹ استفاده شد.

- محلول‌های مدل مورد استفاده در این پژوهش عبارت است از:
- الف- لاکتوز (L):
- ب- لاکتوز + پروتئین‌های آب پنیر (L+W):
- پ- لاکتوز + پروتئین‌های آب پنیر + کازئین (L+W+C):
- ت- لاکتوز + پروتئین‌های آب پنیر + کازئین + چربی (L+W+C+F) (Yavarmanesh et al., 2010):

آماده‌سازی باکتریوفاز MS2

از یک عدد ویال² حاوی کشت خالص باکتریوفاز MS2 (ATCC#15597-B1) جهت آماده‌سازی باکتریوفاز MS2 استفاده شد (دانشگاه ایالتی آریزونا، ایالات متحده آمریکا³). به منظور آماده‌سازی کشت خالص مراحل زیر صورت پذیرفت (EPA 1601, 2001).

- 1- آب مقطر را به ویال حاوی کشت خالص باکتریوفاز MS2 اضافه می‌کنیم؛
- 2- محیط کشت⁴ TSB حاوی باکتری میزبان (*E.ColiF_{amp}*) را برای رشد لگاریتمی آماده می‌کنیم؛
- 3- محیط کشت TSB حاوی باکتری میزبان به مدت 2 ساعت در دمای $36/5 \pm 2^\circ\text{C}$ گرم نگه می‌داریم؛
- 4- 1 میلی لیتر از فاز خالص به محیط کشت می‌کنیم و به مدت 4 ساعت در دمای $36/5 \pm 2^\circ\text{C}$ گرم نگه می‌داریم؛
- 5- محیط کشت را از میان یک فیلتر (قطر منافذ 0/22 میکرون) تیمار شده با عصاره گوشت گاو⁵ عبور می‌دهیم؛
- 6- نگهداری محلول عبوری از فیلتر به عنوان باکتریوفاز MS2 فعال؛

آماده‌سازی محلول‌های تلقیح شده (دانه‌گذاری شده⁶)

تیتراسیون باکتریوفاز MS2

به منظور اندازه‌گیری تعداد دقیق باکتریوفاز در کشت خالص حاوی باکتریوفاز MS2 برحسب پلاگ در هر میلی لیتر حداقل از چهار رقت⁷ متوالی، استفاده شد. برای رقیق کردن کشت خالص از محیط کشت TSB فاقد آنتی بیوتیک و برای شمارش پلاک‌ها از روش DAL⁸ استفاده شد (EPA 1601, 2001).

خصوصیات شبکه‌های عصبی شبیه‌سازی شود. اگرچه این دو روش به هم شبیه هستند اما هدف اصلی هوش مصنوعی حل مسائل مشخص بوده در حالی که هدف مدل‌سازی ساخت مدل‌های ریاضی بر اساس سامانه‌های نورونی زیستی است (کارتالوپوس، 1390).

شبکه‌های عصبی مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) به خوبی با هم کار می‌روند. شبکه‌های عصبی مصنوعی، قوانین فازی را دسته بندی می‌کنند و یاد می‌گیرند. استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) قادر به استنتاج از پارامترهای نامعین شبکه‌های عصبی می‌باشد. توانایی یادگیری سریع شبکه‌های عصبی مصنوعی، آنها را قادر می‌سازد تا از داده‌های فازی و یا پارامترهای فازی، پاسخ قطعی و هوشمندانه استخراج کنند و از محاسبات پیچیده وقت گیر اجتناب نمایند (کارتالوپوس، 1390).

ادغام قواعد استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) در یک شبکه عصبی، موجب افزایش انعطاف پذیری کاری آنها و باعث به وجود آمدن شبکه‌ای بسیار نیرومند خواهد شد. فازی بودن در این حالت، موجب انعطاف پذیری بیشتر در تعریف سیستم خواهد بود. در این سیستم آستانه‌ها به صورت کلی تعیین شده و تعلق قطعی وجود نخواهد داشت. اگر چه امکان ایجاد داده‌ها مبهم افزایش می‌یابد ولی کنترل بهتری حاصل خواهد شد (کارتالوپوس، 1390).

با توجه به اینکه ماده خشک شیر خام گاو و همچنین محتوی چربی آن بر اساس نژادهای متنوع، نحوه تغذیه و مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت بوده و بر اساس تحقیقات صورت گرفته اثر گذاری پارامترهای مذکور در بازیافت و همچنین استخراج ژنوم ویروس (RNA) به اثبات رسیده است (Yavarmanesh et al., 2010). لذا در این مطالعه مدل‌سازی شبکه‌های عصبی مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) در پیش بینی بازیافت ویروس به همراه استخراج ژنوم آن بر اساس محتوی شیر خام گاو (ماده خشک، میزان چربی) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی محلول‌های مدل شیرخام

برای آماده‌سازی محلول‌های مدل از اجزای اصلی طبیعی شیر و ترکیب آنها استفاده شد (جدول 1). در طراحی این محلول‌های مدل اضافه شدن اجزا در هر مدل مطابق با معکوس روش‌های متداول جداسازی شیر می‌باشد. به طوری که اولین محلول مدل آخرین جزء قابل جداسازی از شیر در روش‌های متداول تفکیک ترکیبات شیر می‌باشد (Swaisgood, 1996).

همچنین به منظور دستیابی به محلول‌هایی پایا و یکنواخت از

1- IKA homogenizer (Ultraturrax, T25, Germany)

2- Vial

3- USEPA

4- Tryptic soy broth

5- Beef extract

6- Seeded model solution or Spiked model solution

7- Dilution

8- Double agar layer procedure

جدول 1- ترکیب و نسبت اجزاء تشکیل دهنده محلول‌های مدل شیر خام

اجزاء	نسبت (درصد وزنی حجمی)	شرکت (نوع محصول)
لاکتوز	4/8	لاکتوز آلفا، ساپلکو (U47287)
پروتئین‌های آب پنیر	0/7	پروتئین‌های آب پنیر گاوی، سیگما (W1500)
کازئین	2/75	کازئینات سدیم گاوی، سیگما (C8654)
چربی	3/5	چربی کره، فولکا (BCR519)

مدل‌سازی

مدل‌سازی دینامیکی استخراج ژنوم ویروسی و بازیافت آن توسط یکی از پر کاربردترین شبکه‌های عصبی یعنی شبکه‌های عصبی چند لایه پرسپترون پیشخور³ انجام شد.

داده‌های مدل‌سازی در این پژوهش عبارتست از 1413 داده، که

شامل:

- 342 داده تجربی مربوط به میزان *RNA* استخراج شده در نمونه‌های محلول مدل تلقیح شده و 342 داده مربوط به میزان *RNA* استخراج شده در نمونه‌های محلول مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) بر مبنای پیکوگرم بر میلی لیتر و

- همچنین 360 داده مربوط به کیفیت *RNA* استخراج شده در نمونه‌های محلول مدل تلقیح شده و 369 داده مربوط به کیفیت *RNA* استخراج شده در نمونه‌های محلول مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) بر مبنای نسبت جذب در 260/280 نانومتر بود.

در مدل‌سازی بر مبنای استنتاج فازی - عصبی تطابقی (ANFIS) برای داده‌های تجربی محلول تلقیح شده و محلول (تلقیح نشده - تلقیح شده)، از بین تابع عضویت گاوسی و بل و همچنین مدل فازی *Tsukamoto* و *TSK* تابع عضویت گاوسی و مدل فازی *TSK* که دارای بیشترین ضریب همبستگی بود، انتخاب شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجربی

بر اساس شمارش باکتریوفاژ *MS2* در محلول‌های مدل مختلف با افزایش میزان اجزاء ضریب بازیافت بیشتری مشاهده گردید (شکل 1) با توجه به شکل 1 با افزایش میزان اجزاء، ضریب بازیافت بیشتری مشاهده گردید. نتایج حاکی از آن است که مدل (لاکتوز+پروتئین‌های آب پنیر+کازئین+چربی) دارای بیشترین ضریب بازیافت *RNA* می باشد.

آماده سازی محلول‌های مدل تلقیح شده به همراه نمونه های شیر فرادمای تلقیح شده (دانه گذاری شده)

بعد از تیتراسیون کشت خالص باکتریوفاژ *MS2*، یک محلول حاوی $1/3 \times 10^5$ پلاک در میلی لیتر از باکتریوفاژ *MS2* درون محلول بافر فسفات (PH=7/2) آماده شد. سپس با افزودن محلول حاوی باکتریوفاژ به محلول‌های مدل شیر خام و شیر فرادما، پنج رقت (لگاریتمی) با غلظت‌های $1/3 \times 10^4$ ، $1/3 \times 10^2$ ، $1/3$ ، $1/3 \times 10^{-2}$ و $1/3 \times 10^{-4}$ پلاک در هر میلی لیتر تهیه شد (Yavarmanesh et al., 2013).

آماده سازی محلول‌های مدل به همراه شیر فرادمای تلقیح شده (دانه گذاری شده) برای استخراج RNA

محلول‌های مدل پس از تلقیح یا دانه گذاری به مدت یک شبانه روز در دمای 4°C نگهداری شدند. سپس *RNA* ویروسی هر محلول مدل در 12 تکرار توسط روش فنل - تیوسیانات گوانیدن - کلروفورم¹ استخراج شد (Chomczynski et al., 1987).

اندازه گیری میزان RNA تام

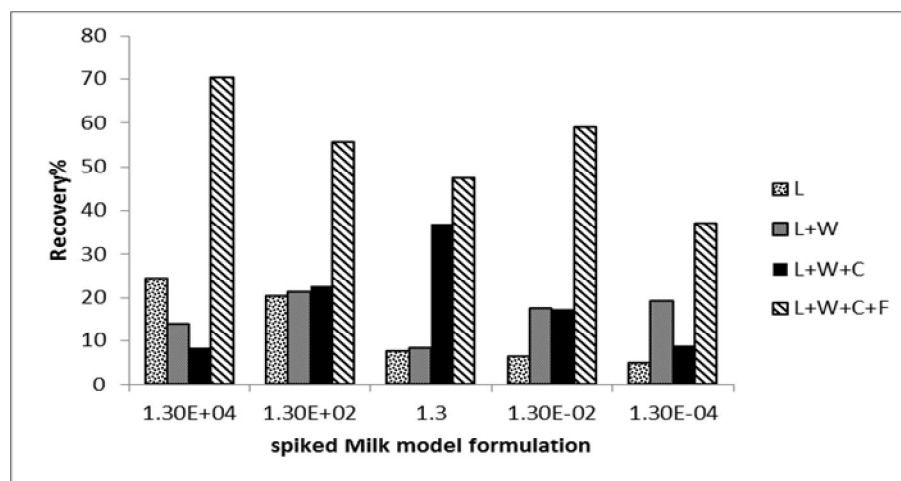
با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانو دراپ² (USA و Delaware و Thermo Scientific و ND1000) می توان *RNA* تام استخراج شده از باکتریوفاژ *MS2* در هر محلول مدل و شیر فرادما را بر اساس پیکوگرم بر میکرولیتر اندازه گیری کرد. قبل از اندازه گیری مقدار *RNA* تام، *RNA* ذاتی (اولیه) محلول‌های مدل و شیر فرادمای بدون تلقیح اندازه گیری و مقدار واقعی *RNA* تام استخراج شده باکتریوفاژ *MS2* در هر محلول مدل و شیر فرادما بر اساس معادله زیر تعیین گردید (یاورمنش، 1388):

همچنین کیفیت *RNA* تام استخراج شده در هر محلول مدل و شیر فرادمای تلقیح شده به منظور انجام *RT-PCR* (بر اساس تقسیم میزان جذب نوری در طول موج 260 نانومتر بر میزان جذب نوری در طول موج 280 نانومتر) اندازه گیری شد (یاورمنش، 1388).

1- Phenol-guanidine thiocyanat- chloroform
2- Nanodrop

3- Feedforward multi-layer Perceptron Neural Network

$$\begin{array}{|c|} \hline \text{مقدار RNA حقیقی تام} \\ \text{باکتریوفاژ MS2 بر} \\ \text{حسب پیکو گرم در میکرولیتر} \\ \hline \end{array} = \begin{array}{|c|} \hline \text{مقدار RNA در نمونه های تلقیح شده} \\ \text{(دانه گذاری شده) بر حسب پیکوگرم} \\ \text{در میکرولیتر} \\ \hline \end{array} - \begin{array}{|c|} \hline \text{مقدار RNA در نمونه های بدون} \\ \text{تلقیح بر حسب پیکو گرم در میکرولیتر} \\ \hline \end{array}$$



شکل 1- درصد بازیافت RNA ژنومی از باکتریوفاژ MS2 در محلول های مدل

همکنش هیدروفوبیک (آب گریز) با RNA تک رشته ای باکتریوفاژ MS2 می باشد (Dewettinck *et al.*, 2007, *et al.*, 2001) Michalski. هموژنیزاسیون و کاهش PH محیط سبب افزایش پتانسیل گشاء گلبولهای چربی و در نتیجه تشدید بر هم کنشهای هیدروفوبیک (آب گریز) آن می گردد (Michalski *et al.*, 2001). در تأیید بر همکنش هیدروفوبیک (آب گریز) چربی شیر با RNA، ذرات حاوی اسید نوکلئیک-چربی در فناوری زیستی از طریق یک بر هم کنش هیدروفوبیک (آب گریز) واسطه دست می آیند، در این مجموعه هیدروفوبیک، از حلال های آلی مشابه حلال های این مطالعه استفاده شده است. این ذرات می توانند در انتقال ژن در فناوری زیستی به کار گرفته شوند (Wheeler *et al.*, 2004).

نتایج مدل سازی

مهمترین عواملی که در مدل سازی شبکه های عصبی بر روی خروجی مدل تاثیر مستقیم دارند متغیرهای اصلی (تعداد لایه های مخفی و تعداد نرون ها) می باشند. بدین منظور برای مدل سازی ابتدا از یک لایه مخفی شروع و در آن تعداد نرون ها را از 2 تا 20 تغییر می دهیم. همچنین برای نرون های لایه دوم مخفی نیز دامنه 2 تا 20 را انتخاب می نماییم. ذکر این نکته ضروری است که انتخاب بیشتر تعداد نرون ها باعث پیچیده تر شدن شبکه و نیازمند زمان بیشتر برای انجام محاسبات و دستیابی به شبکه مناسب می باشد. در مدل سازی توابع انتقال تانژانت هایپربولیک اکسون، سیگموئید

بحث نتایج تجربی

باکتریوفاژ RNA (MS2) جزو ویروس های هستند که خاصیت ورود آنها به سایر میکروارگانیسم ها، (عفونت زایی) با شرایطی که به ناپودی سایر ویروس ها منجر می گردد، کاهش نمی یابد. شرایط می تواند شامل خشک شدن و یا تیمار با شوینده های شیمیایی باشد. مهمترین عامل مقاومت این فاژ در برابر محلول های آلی فقدان پوشش لیپیدی در باکتریوفاژ MS2 می باشد، مقاومتی که در ویروس های روده ای مشاهده می شود. این خصوصیات مهمترین عامل در انتخاب باکتریوفاژ MS2 به عنوان ویروس مدل (جایگزین ویروس های روده ای) در این پژوهش است (Mathews, 1971).

در بین محلول های مدل شیر خام تلقیح شده، آخرین مدل (L+W+C+F) که حاوی چربی شیر می باشد، بیشترین مقدار RNA تام استخراج شده را دارا است (شکل 1). افزایش در مقدار استخراج RNA می تواند مرتبط با بر همکنش هیدروفوبیک (آب گریز) باکتریوفاژ MS2 و بر همکنش هیدروفوبیک - هیدروفوبیک (آب دوست - آب گریز) RNA تک رشته حس مثبت آن با گلبولهای چربی شیر باشد (Hadad, 2002 and Wheeler *et al.*, 2004). این توانایی RNA ویروس در داشتن هم زمان این خواص، مرتبط با بازهای آلی، گروههای فسفات و قند ریوز موجود در آن می باشد (Eichler, 2006). از سوی دیگر غشاء گلبولهای چربی شیر، حاوی مواد فعال سطحی با ظرفیت امولسیون کنندگی بالا می باشد. این غشاء همچنین حاوی پتانسیل گشاء منفی است که به نوعی تسهیل کننده بر

عضویت گاوسی و مدل فازی *TSK* و تابع انتقال تانژانت هایپربولیک اکسون خطی و الگوریتم یادگیری مونتوم به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. این مدل با $MSE: 140/902/424$ و $NMSE: 0/5344$ و $MAE: 9/392$ و همچنین ضریب همبستگی $r: 0/864$ در بین سایر مدل‌ها دارای کمترین ضریب خطا و بالاترین ضریب همبستگی بود. در این مدل برگزیده درصد یادگیری 45 درصد و برای هر یک از زیر گروه‌های ارزیابی و آزمایش درصد داده 27/5 درصد انتخاب گردید (جدول 4).

پیش بینی مقادیر غلظت RNA برای محلول مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) بر اساس بهترین مدل شبکه مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

بر اساس داده‌های غلظت RNA محلول مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) مدلی با یک لایه مخفی، با تابع انتقال سیگموئید خطی، بر اساس الگوریتم یادگیری لونیگ و تعداد 16 نرون به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. این مدل با مقادیر خطا $MSE: 182/331$ ، $MAE: 0/3545$ و $NMSE: 10/6643$ و ضریب همبستگی $r: 0/956$ در بین سایر مدل‌ها دارای کمترین خطا و بیشترین ضریب همبستگی بود (جدول 5). در این مدل بهترین درصد داده یادگیری 50 درصد و برای هر یک از زیر گروه‌های ارزیابی و آزمایش درصد داده 25 درصد انتخاب گردید (جدول 6).

همچنین در مدل استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) تابع عضویت گاوسی و مدل فازی *TSK* و تابع انتقال اکسون خطی و الگوریتم یادگیری *step* به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. این مدل با $MSE: 381/318$ و $NMSE: 0/5573$ و $MAE: 16/436$ و همچنین ضریب همبستگی $r: 0/889$ در بین سایر مدل‌ها دارای کمترین ضریب خطا و بالاترین ضریب همبستگی بود.

اکسون، تانژانت هایپربولیک خطی اکسون، سیگموئید اکسون خطی، و همچنین اکسون و قواعد یادگیری *step*، *Momentum*، *Levenberg*، *Delta-Bar-Delta*، *Quick prob*، گرفتند که در مدل سازی توابع انتقال یادگیری و قواعد یادگیری که دارای بیشترین ضریب همبستگی بین داده بود به عنوان بهترین مدل انتخاب شد.

در مجموع برای یافتن بهترین مدل با یک لایه مخفی تعداد 109 مرحله محاسبه برای محلول‌های مدل تلقیح شده و (تلقیح نشده - تلقیح شده) به صورت جداگانه انجام شد.

در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) تابع عضویت گاوسی و بل و مدل فازی *TSK* و *Tsukamoto* علاوه بر تابع انتقال والگوریتم یادگیری بر مدل سازی موثر هستند که در این مدل سازی استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) تابع عضویت و مدل فازی نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

پیش بینی مقادیر غلظت RNA برای محلول مدل تلقیح شده بر اساس بهترین مدل شبکه مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

بر مبنای داده‌های غلظت RNA محلول مدل تلقیح شده مدلی با یک لایه مخفی، با تابع انتقال سیگموئید خطی، با الگوریتم یادگیری لونیگ و همچنین تعداد 12 نرون به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. این مدل با مقادیر خطا $MSE: 137/316$ ، $NMSE: 0/2266$ و $MAE: 9/6311$ و همچنین ضریب همبستگی $r: 0/919$ در بین سایر مدل‌ها دارای کمترین خطا و بیشترین ضریب همبستگی بود (جدول 2). در این مدل برگزیده درصد داده یادگیری 50 درصد و برای هر یک از زیر گروه‌های ارزیابی و آزمایش درصد داده 25 درصد انتخاب گردید (جدول 3).

همچنین در مدل استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) تابع

جدول 2- مقادیر بهینه ضریب همبستگی و خطا در پیش بینی‌های مدل شبکه عصبی تک لایه براساس توابع انتقال

linearaxon					Linear sigmoid				
Neuron	MSE	NMSE	MAE	R	Neuron	MSE	NMSE	MAE	R
19	711.737	2.8643	18.1622	0.667	12	137.316	0.2266	9.6311	0.919

جدول 3- درصد بهینه برای زیرگروه‌های یادگیری، ارزیابی و آزمایش برای داده‌های مورد استفاده در شبکه‌های عصبی

Training%	Validation%	Testing%	MSE	NMSE	MAE	R
50	25	25	137.316	0.2266	9.6311	0.919

جدول 4- درصد بهینه برای زیرگروه‌های یادگیری، ارزیابی و آزمایش برای داده‌های مورد استفاده در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

Training	Validation	Testing	MSE	NMSE	MAE	R
50	25	25	140.9026	0.3544	9.3922	0.864
45	27.5	27.5	335.4244	0.9066	16.6635	0.879

جدول 5- مقادیر بهینه ضریب همبستگی و خطا در پیش بینی‌های مدل شبکه عصبی تک لایه براساس توابع انتقال

tanh axon					linear sigmoid				
Neuron	MSE	NMSE	MAE	R	Neuron	MSE	NMSE	MAE	R
23	130.345	0.2534	9.3409	0.938	16	182.331	0.3545	10.6643	0.956

جدول 6- درصد بهینه برای زیرگروه‌های یادگیری و ارزیابی و آزمایش برای داده‌های مورد استفاده در شبکه‌های عصبی

Training%	Validation%	Testing%	MSE	NMSE	MAE	R
50	25	25	182.331	0.3545	10.6643	0.956

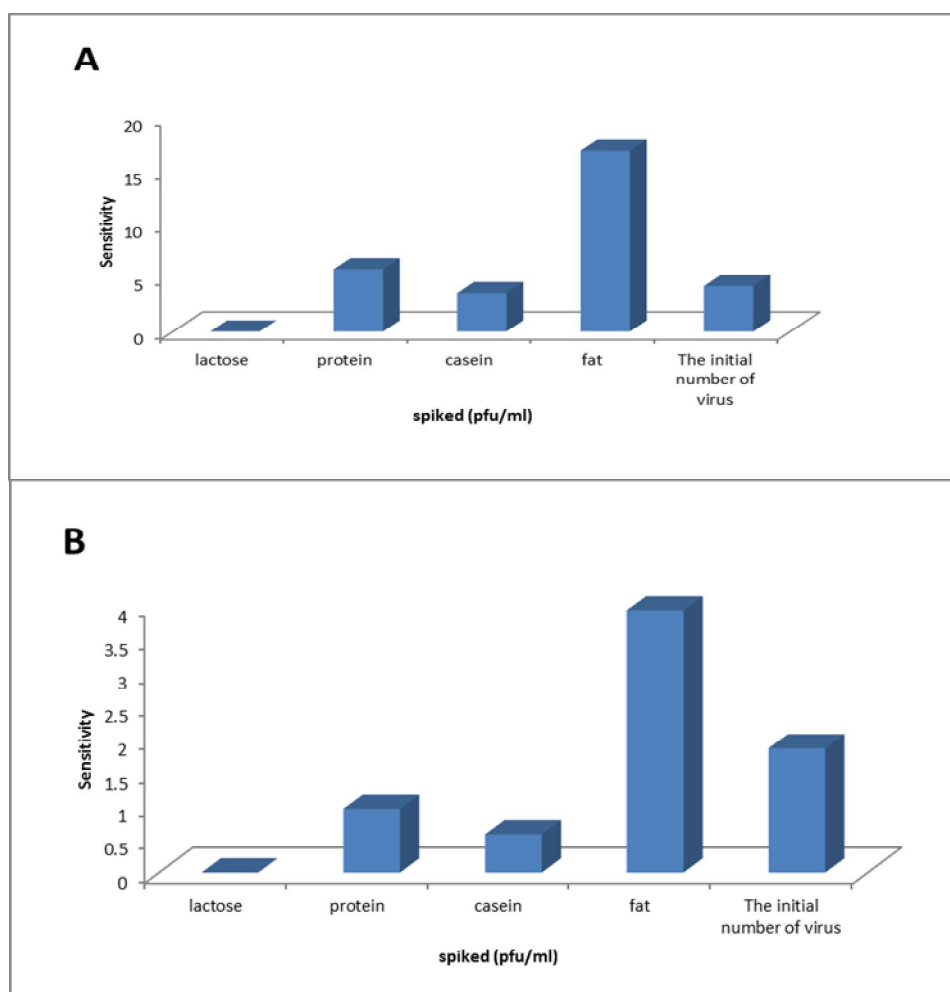
جدول 7- درصد بهینه برای زیرگروه‌های یادگیری و ارزیابی و آزمایش برای داده‌های مورد استفاده در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS)

Training	Validation	Testing	MSE	NMSE	MAE	R
50	25	25	381.3185	0.5573	16.436	0.889

مدل شیرخام به نسبت به مدل‌سازی برای دو محلول مدل تلقیح شده و (تلقیح نشده - تلقیح شده) قابل مشاهده است.

در این مدل برگزیده درصد یادگیری 50 درصد و برای هر یک از زیر گروه‌های ارزیابی و آزمایش درصد داده 25 درصد انتخاب گردید (جدول 7).

در شکل های 2 و 3 نمودارهای حساسیت هر یک از اجزاء محلول



شکل 2- حساسیت مدل شبکه عصبی مصنوعی بهینه نسبت به اجزاء مختلف سیستم مدل تلقیح شده در پیش بینی غلظت ژنوم ویروسی (A: شبکه عصبی، B: منطق فازی)

قبول می باشند (شکل 4).

با رسم نمودار داده‌های مدل‌سازی نسبت به داده‌های تجربی در مدل تلقیح شده نیز مشخص شد که داده‌های مدل‌سازی از همبستگی بالایی با داده‌های تجربی برخوردار می باشند (شکل 5).

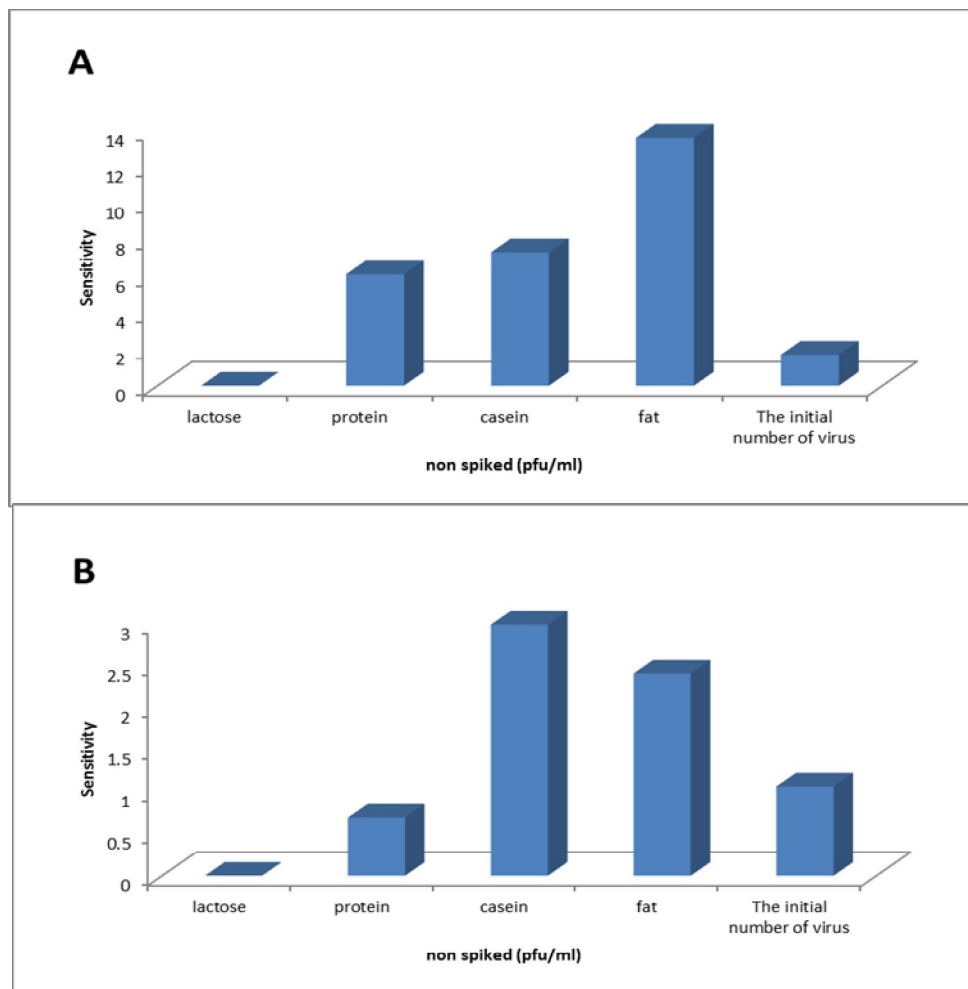
نتیجه‌گیری

بر مبنای داده‌ها در مدل تلقیح شده مدل‌سازی در شبکه عصبی با یک لایه پنهان و با تعداد 12 نرون و تابع انتقال سیگموئید خطی، با الگوریتم یادگیری لونیگ به عنوان بهترین مدل و در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) با تابع عضویت گاوسی و مدل فازی TSK و تابع انتقال تانژانت هایپربولیک اکسون خطی، قاعده یادگیری مومنتوم به عنوان بهترین مدل انتخاب شده است.

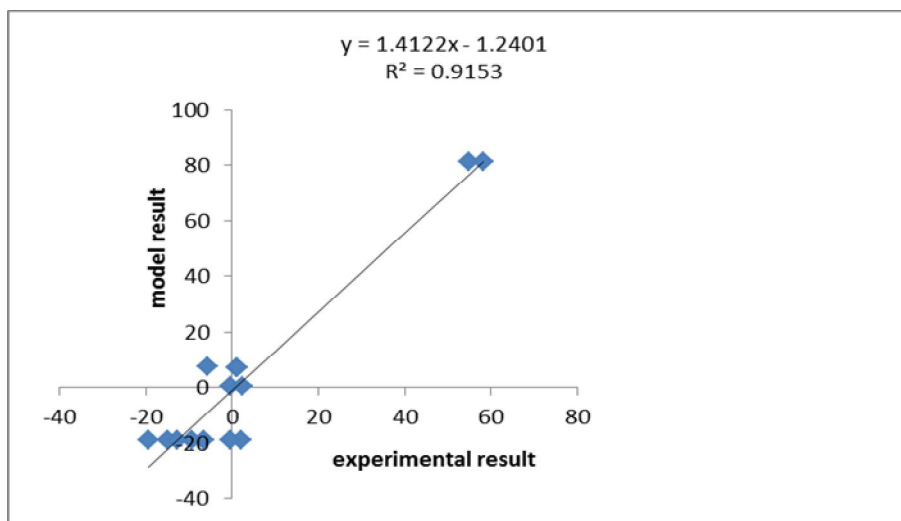
برای پی بردن به این موضوع که کدامیک از اجزاء موجود در سیستم شیر مدل بر پیش بینی نتایج توسط شبکه عصبی مصنوعی و استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) بیشترین تاثیر را داشته است آزمایش حساسیت انجام پذیرفت. نتایج آزمایش نشان داد که با توجه به شکل 2 در مدل تلقیح شده حساسیت چربی در مدل‌سازی نسبت به اجزاء دیگر بیشتر است.

همچنین بر اساس شکل 3 آزمایش حساسیت نشان داد که در محلول مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) چربی در شبکه عصبی مصنوعی و کازئین در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) دارای بیشترین تاثیر در مدل‌سازی نسبت به اجزاء دیگر بود.

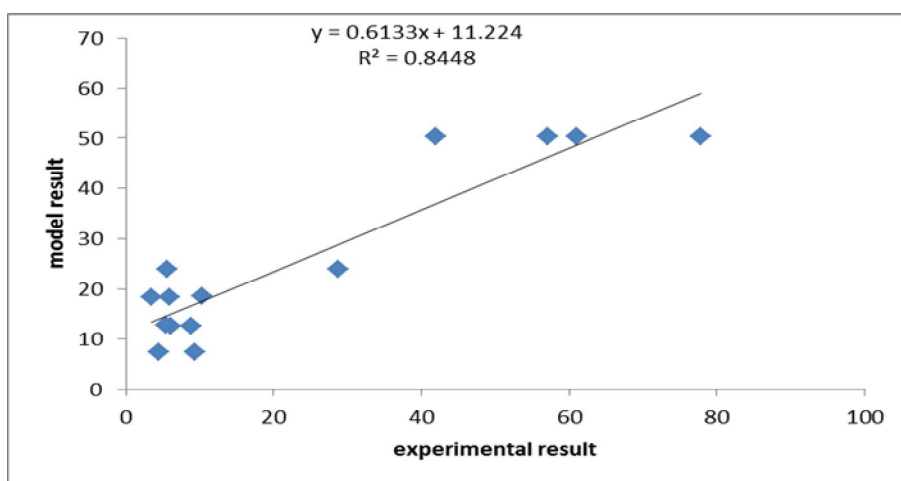
با رسم نمودار داده‌های مدل‌سازی نسبت به داده‌های تجربی در مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) مشخص شد داده‌های مدل‌سازی از همبستگی بالایی با داده‌های تجربی برخوردار بوده و داده‌هایی قابل



شکل 3 - حساسیت مدل شبکه عصبی مصنوعی بهینه نسبت به اجزاء مختلف سیستم مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) در پیش بینی غلظت زئوم ویروسی (A: شبکه عصبی، B: منطق فازی)



شکل 4 - نمودار برازش داده‌های مدل‌سازی بر حسب داده‌های تجربی محلول‌های مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده)



شکل 5- نمودار برازش داده‌های مدل‌سازی بر حسب داده‌های تجربی محلول‌های مدل تلقیح شده

در استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS) با تابع عضویت گاوسی و مدل فازی TSK و تابع انتقال اکسون خطی، الگوریتم یادگیری step به عنوان بهترین مدل انتخاب شده است.

شبکه عصبی: $MSE= 182/331$, $r= 0/956$, $10/6643$
 $NMSE= 0/3545, MAE=$

استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS): $MSE= 381/318$,
 $NMSE= 0/5573, MAE= 16/436$, $r= 0/889$

شبکه عصبی: $MSE= 137/316$, $r= 0/919$, $MAE= 9/6311$,
 $NMSE= 0/2266$

استنتاج فازی-عصبی تطابقی (ANFIS): $MSE= 140/902$,
 $NMSE= 0/5344$, $MAE= 9/392$, $r= 0/864$

بر مبنای داده‌ها در مدل (تلقیح نشده - تلقیح شده) مدل‌سازی در شبکه عصبی با یک لایه پنهان و با تعداد 16 نرون و تابع انتقال سیگموئید خطی، با الگوریتم یادگیری لوبرگ به عنوان بهترین مدل و

منابع

سلطانی، س.، 1389، شبکه‌های عصبی مصنوعی، چاپ اول، نشر نص، 130-158.
 کارتالوپوس، اس. وی.، 1390، منطق فازی و شبکه‌های عصبی. جورابیان، م. هوشمند، ر. چاپ پنجم. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز،

یاورمنش، م.، 1388. مدل سازی استخراج و خالص سازی ویروس های روده ای در شیر خام، رساله دکترای تخصصی مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

Chomczynski, P., and Sacchi, M., 1987, Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thocyanat-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem*, 162:156-159.

Dewettinck, K., Rombaut, R., Thienport, N., Le, T. T., Messens, K., and Camp, J. V., 2007, Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material (Review). *I.Dairy.J*, 18:436-457.

Eichler, D., 2006, *Medical Biochemistry*. Jones and Bartlett. Sudbury. P.11-20.

Environmental Protection Agency, 2001. Male-specific (F+) and Somatic Coliphage in Water by Two-step Enrichment Procedure. Method1601. Office of Water, Washington, DC.

Hadad, L. C., 2002, Nucleic acid isolation by adhering to hydrophobic solid phase and removing with nonionic surfactant. United States Patent.6383783.

Mathews, C. K., 1971, *Bacteriophage Biochemistry*. Van Nostrand Reinhold Ltd.New York. P.290-291.

Michalski, M. C., Michel, F., Sainmont, D., and Briard, V., 2001, Apparent ζ potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane. *Colloids and surface B: Biointerfaces*, 23:23-30.

Swaigood, H. E., 1982, Chemistry of milk proteins. In: *Developments in Dairy Chemistry .I.proteins*. In P.F.Fox (ed.), Applied science, London. P.1-59.

Wheeler, J., Bally, M., Zhang, Y., Reimer, D., Hope, M., Cullis, P., and Schrrer, P., 2004, Lipid-nucleic acid particles prepared via a hydrophobic lipid-nucleic acid complex intermediate and use for gene transfer. European Patent. EP0832271.

Yavarmanesh, M., Abbaszadegan, M., Mortazavi, A., Habibi Najafi, M. B., Bassami, M. R., Nassiri, M. R., 2010, Impact of milk components in recovery of the MS2 bacteriophage as an indicator of enteric viruses. *Journal of Virological Methods*, 168 : 103–107.

Yavarmanesh, M., Abbaszadegan, M., Alum, A., Mortazavi, A., Habibi Najafi, M. B., Bassami M. R., and Nassiri, M. R. 2013. Impact of milk components on recovery of viral RNA. *Food and Environmental Virology*. 5:103-109.