

Study the different artificial neural network architecture in the modeling of Flocculation of *Chlorella sp.* Microalgae with ferric chloride

Farnaz Mohseni ¹, Alireza Moosavi Zenooz ²

1. Corresponding author, Department of Engineering Sciences, Faculty of Engineering Sciences, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran. Email: fmohseni@tvu.ac.ir
2. Department of Chemical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran. E-mail: a.moosavi.aut.ac.ir

Article Info

Article type: research paper

Article history:

Received: 18 August 2025

Received in revised form: 10 December 2025

Accepted: 18 December 2025

Published online 21 December 2025

Keywords:

artificial neural network
flocculation
modeling
microalgae
Chlorella sp.
Ferric chloride

ABSTRACT

Objective: Microalgae, as photosynthetic biological resources, have high potential for the production of biofuels, including biodiesel. However, the separation of biomass from the culture medium is considered one of the most costly and challenging steps in the industrial exploitation process. Among the existing methods, flocculation is recognized as an efficient, rapid, and cost-effective approach for biomass harvesting. The objective of this research is to investigate the flocculation process of the *Chlorella sp.* species using ferric chloride (FeCl₃) and to model it utilizing artificial neural networks for accurate prediction of the process yield/efficiency.

Materials and methods: In this study, the flocculation of *Chlorella sp.* was carried out under various conditions, including changes in pH, cell concentration (OD), and flocculant dosage (FeCl₃). The obtained experimental data were modeled using three different artificial neural network architectures: Multilayer Perceptron (MLP), Radial Basis Function (RBF), and Ensemble MLP model. The data were divided into training (70%) and testing (30%) sets, and the performance of the models was evaluated based on statistical indices, namely the coefficient of determination (R²) and mean squared error (MSE).

Results: The results showed that the MLP and RBF models independently were not capable of accurately predicting the process behavior, whereas the Ensemble MLP model achieved the highest prediction accuracy with R² = 96.37% and MSE = 0.0035. The R² values for the MLP models ranged from 92.5 to 94.5 percent, and for the RBF model it was 79.8 percent. The ensemble model, by significantly reducing error and increasing generalization capability, was able to reproduce the nonlinear and complex variations of the flocculation process with high accuracy.

Conclusions: The use of ensemble neural networks provides higher accuracy and better generalization capability compared to single models in predicting complex biological processes such as microalgae flocculation. The results of this study indicate that the Ensemble MLP architecture can be employed as an intelligent tool in the design, control, and optimization of biomass separation processes and biofuel production.

Citation: Mohseni, Moosavi Zenooz (2025). Study the different artificial neural network architecture in the modeling of Flocculation of *Chlorella sp.* Microalgae with ferric chloride, *Journal of Separation Science and Engineering*, 17 (2), 90-108. <http://doi.org/10.22103/jsse.2025.5215>



© The Author(s).

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman

مطالعه معماری‌های مختلف شبکه عصبی مصنوعی در مدل‌سازی لخته‌سازی سویه *Chlorella sp.* توسط کلرید آهن (III)

فرناز محسنی^۱، علیرضا موسوی زنونز^۲

۱. گروه علوم مهندسی، دانشکده علوم مهندسی، دانشگاه ملی مهارت، تهران، ایران. رایانامه: fmohseni@tvu.ac.ir

۲. دکترای مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران. رایانامه: a.moosavi@aut.ac.ir

چکیده

هدف: ریزجلبک‌ها به عنوان منابع زیستی فوتوسنتزکننده، پتانسیل بالایی برای تولید سوخت‌های زیستی از جمله بیودیزل دارند. با این حال، جداسازی زیست‌توده از محیط کشت، یکی از مراحل پرهزینه و چالش‌برانگیز در فرآیند بهره‌برداری صنعتی محسوب می‌شود. در میان روش‌های موجود، لخته‌سازی به عنوان یک روش کارآمد، سریع و مقرون به صرفه برای برداشت زیست‌توده مطرح است. هدف این پژوهش، بررسی فرآیند لخته‌سازی گونه‌ی *Chlorella sp.* با استفاده از کلرید آهن (III) و مدل‌سازی آن با بهره‌گیری از شبکه‌های عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی دقیق بازده فرآیند است. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، لخته‌سازی گونه‌ی *Chlorella sp.* در شرایط مختلف شامل تغییرات pH، غلظت سلولی (OD) و میزان ماده‌ی لخته‌کننده ($FeCl_3$) انجام شد. داده‌های تجربی حاصل با سه معماری متفاوت شبکه‌ی عصبی شامل پرسپترون چندلایه (MLP)، تابع پایه‌ی شعاعی (RBF) و مدل ترکیبی (Ensemble MLP) مدل‌سازی گردید. داده‌ها به دو بخش آموزش (۷۰٪) و آزمون (۳۰٪) تقسیم شده و عملکرد مدل‌ها بر اساس شاخص‌های آماری ضریب تعیین (R^2) و میانگین مربعات خطا (MSE) مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: مدل‌های MLP و RBF به‌صورت مستقل قادر به پیش‌بینی دقیق رفتار فرآیند نبودند، در حالی که مدل ترکیبی (Ensemble MLP) بالاترین دقت پیش‌بینی را با $R^2 = 96.37\%$ و $MSE = 0.0035$ به دست آورد. مقادیر R^2 برای مدل‌های MLP در بازه‌ی ۹۲٫۵ تا ۹۴٫۵ درصد و برای مدل RBF برابر ۷۹٫۸ درصد بود. مدل ترکیبی با کاهش قابل توجه خطا و افزایش قابلیت تعمیم، توانست تغییرات غیرخطی و پیچیده‌ی فرآیند لخته‌سازی را با دقت بالا بازتولید کند. **نتیجه‌گیری:** استفاده از شبکه‌های عصبی ترکیبی، دقت و قابلیت تعمیم بالاتری نسبت به مدل‌های منفرد در پیش‌بینی فرآیندهای زیستی پیچیده نظیر لخته‌سازی میکروجلبک‌ها دارد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که معماری Ensemble MLP می‌تواند به عنوان یک ابزار هوشمند در طراحی، کنترل و بهینه‌سازی فرآیندهای جداسازی زیست‌توده و تولید سوخت‌های زیستی مورد استفاده قرار گیرد.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۷

دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۸/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۷

انتشار: ۱۴۰۴/۰۹/۳۰

کلمات کلیدی:

شبکه عصبی مصنوعی

مدل‌سازی لخته‌سازی

ریزجلبک

Chlorella sp.

کلرید آهن (III)

استناد: محسنی، موسوی زنونز (۱۴۰۴)، مطالعه معماری‌های مختلف شبکه عصبی مصنوعی در مدل‌سازی لخته‌سازی سویه *Chlorella sp.* توسط

کلرید آهن (III)، نشریه علوم و مهندسی جداسازی، (۲) ۱۷، ۱۰۸-۹۰. <http://doi.org/10.22103/jsse.2025.5215>



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه شهید باهنر کرمان

مسئله‌ی گرمایش جهانی یا افزایش دمای زمین در طول صد سال گذشته مشاهده شده است [۱]. یکی از عوامل اصلی چنین پدیده‌ای گازهای گلخانه‌ای هستند که به طور عمده از فعالیت‌های انسانی ناشی می‌شود [۲]. تخمین زده شده که بیش از هشتاد درصد از اثر گرمایش زمین ناشی از انتشار دی‌اکسید کربن می‌باشد [۳]. سوخت‌های فسیلی مانند زغال سنگ، نفت و گاز طبیعی منابع اصلی انتشار دی‌اکسید کربن هستند [۴-۶].

امروزه بیودیزل که مخلوطی از استرهای اسیدی چرب است، به عنوان یک منبع انرژی دوست‌دار محیط زیست شناخته شده که می‌تواند جایگزینی مناسب برای سوخت‌های فسیلی باشد [۷، ۸]. تا کنون منابع مختلفی اعم از دانه‌های خوراکی، ضایعات لیگنوسلولزی و چربی‌های تولیدی توسط ریزجلبک‌ها برای تولید بیودیزل در نظر گرفته شده است. اگر چه سوزاندن بیودیزل منجر به انتشار دی‌اکسید کربن می‌شود، اما چون منبع کربن بیودیزل از زیست‌توده‌ی گیاهان و جلبک‌ها به دست می‌آید، نرخ کلی انتشار دی‌اکسید کربن در مقایسه با سوخت‌های فسیلی صفر است [۹-۱۳].

ریز جلبک‌ها مجموعه‌ی متنوعی از میکروارگانیسم‌ها هستند که دارای کلروفیل a بوده و می‌توانند عمل فتوسنتز را انجام دهند [۱۴]. این سلول‌ها می‌توانند دی‌اکسید کربن را از جو به زیست توده‌ی خود جذب کرده و تبدیل به چربی کنند [۱۵]. علاوه بر این ریز جلبک‌ها در مقایسه با محصولات زراعی سرعت رشد بالاتری داشته، نیاز به زمین کشاورزی یا آب شیرین ندارند و می‌توانند مقادیر بالایی از زیست توده را تولید نمایند [۱۶]. علاوه بر این ریز جلبک‌ها طیف وسیعی از محصولات زیستی از جمله پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، ترکیبات فعال زیستی و آنتی‌اکسیدانت‌ها را تولید می‌کنند که می‌تواند منجر به تولید محصولات مفید مختلف شود [۱۷، ۱۸].

ریزجلبک‌ها دارای خواص مفید بسیاری هستند اما بهره‌برداری از آن‌ها به دلیل هزینه‌ی بالای برداشت سلول‌ها در مقیاس بزرگ برای تولید ریزجلبک و سایر محصولات با ارزش یک کار چالش برانگیز است. ارزیابی شده است که بیست تا سی درصد از هزینه‌های تولید و فرآوری ریزجلبک‌ها صرف جداسازی آن‌ها می‌شود [۱۷، ۱۹]. روش‌های سنتی جداسازی سلول‌ها مانند سانتریفیوژ و فیلتراسیون به دلیل ماهیت رقیق محیط رشد و اندازه‌ی کوچک سلول‌ها برای برداشت سلول‌های ریزجلبک امکان‌پذیر نیست [۲۰، ۲۱]. لخته‌سازی به عنوان یک تکنیک جایگزین و مقرون به صرفه برای برداشت زیست‌توده‌ی ریز جلبک‌ها در نظر گرفته شده است. لخته‌سازی به طور کلی از سه مرحله تشکیل شده است: خنثی سازی بار سطحی سلول‌های ریز جلبک با افزودن مواد لخته کننده کننده، تشکیل توده‌ها یا لخته‌های سلولی و در نهایت ته‌نشینی لخته‌ها [۲۲-۲۵].

یکی از سویه‌های ریزجلبک با خواص مفید، *Chlorella* است. این سلول یک ریز جلبک سبز یوکاریوتی از گونه‌ی پروتیستا، تقسیم بندی *Chlorophyta*، کلاس *Trebouxiophyceae*، راسته‌ی *Chlorellales* و خانواده *Chlorellaceae* است. سلول‌های *Chlorella* محتوای پروتئین بالا (بیش از ۵۵ درصد وزن خشک) و سایر ترکیبات مفید مانند بتاکاروتن تولید می‌کند که آن را به یک مکمل غذایی مناسب تبدیل می‌کند [۲۶]. همچنین نشان داده شده که این گونه می‌تواند با کمبود نیتروژن، لیپیدهای با اسیدهای چرب مناسب برای بیودیزل را در خود انباشته کند [۲۷، ۲۸]. بنابراین *Chlorella* یکی از جالب‌ترین گونه‌ها برای مطالعه است.

از میان تمام متغیرهای موثر بر لخته‌سازی که تاکنون مورد بررسی قرار گرفته شده است، میزان ماده‌ی لخته‌کننده، pH و غلظت سلولی به عنوان مهم‌ترین پارامترها که روی فرآیند اثر می‌گذارند شناخته شده‌اند و اثر این پارامترها در بسیاری از مقالات برای یافتن شرایط بهینه مورد مطالعه قرار گرفته شده است [۲۹، ۳۰]. تاثیر هر کدام

از این پارامترها و نیز برهم‌کنش آن‌ها توسط روش سطوح پاسخ یا RSM^۱ مورد بررسی قرار گرفته شده است [۳۱]. علاوه بر یافتن تاثیر پارامترهای مختلف روی لخته‌سازی و نیز مقادیر بهینه‌ی آن‌ها، ارائه‌ی یک مدل مناسب می‌تواند در پیش‌بینی رفتار لخته‌سازی بسیار موثر باشد، که در پژوهش‌های اخیر کمبود این موضوع کاملاً محسوس می‌باشد. بنابراین در این مقاله ابتدا با هدف بررسی اثر پارامترهای pH، میزان ماده‌ی لخته‌کننده و غلظت سلولی بر لخته‌سازی *Chlorella sp.* با استفاده از روش فاکتوریل کامل آزمایشی طراحی شد تا محدوده‌ی موثر بر لخته‌سازی مشخص شود. سپس نتایج لخته‌سازی با یک روش مدل‌ساز مبتنی بر شبکه عصبی جدید که توسعه داده شده است، مدل‌سازی شد. بر خلاف مطالعات پیشین که تنها از یک معماری منفرد شبکه عصبی استفاده کرده‌اند، در این تحقیق چندین شبکه‌ی MLP با ساختارهای متفاوت آموزش داده شده و خروجی آن‌ها از طریق میانگین‌گیری ترکیب شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه‌ی گونه و شرایط محیط کشت

گونه‌ی دریایی *Chlorella sp.* با شماره‌ی سویه PTCC 6010 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROTS) تهیه شد و با توجه به نوع گونه، محیط کشت Rudic با غلظت سدیم کلراید ۳۵ گرم بر لیتر که نزدیک به غلظت نمک در دریای آزاد است، برای رشد سلول‌ها در نظر گرفته شد. ترکیبات این محیط کشت به ازای هر لیتر عبارتند از:

300 mg NaNO₃, 200 mg KH₂PO₄, 80 mg K₂HPO₄, 20 mg NaCl, 47 mg CaCl₂, 10 mg MgSO₄, 0.1 mg ZnSO₄.7H₂O, 1.5 mg MnSO₄.H₂O, 0.08 mg CuSO₄.5H₂O, 0.3 mg H₃BO₃, 0.3 mg (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O, 17 mg FeCl₃.6H₂O, 0.2 mg Co(NO₃)₂.H₂O, 7.5 mg Na₂EDTA

سلول‌های *Chlorella sp.* (PTCC 6010) درون یک فتوبیوراکتور که به طور ویژه برای این سلول طراحی شده بود، کشت داده شدند. فتوبیوراکتور شامل یک محفظه‌ی شفاف بود که قابلیت نوردهی و هوادهی دارد و دارای شیرهای مجزا برای تخلیه و نمونه‌گیری بود [۳۳، ۱۶].

میزان کافی از محیط کشت برای گندزدایی درون دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت بیست دقیقه قرار داده شد [۳۴، ۳۵]. فتوبیوراکتور مورد استفاده نیز برای استریل شدن، به مدت سی دقیقه در معرض لامپ PHILIPS, Poland) 25-W UV-C قرار گرفت. تمام شیرهای مورد استفاده در فتوبیوراکتور از قبل استریل شدند. سلول‌ها در دمای اتاق نگهداری شده و توسط جریان هوای استریل که از یک فیلتر ۰/۲۲ μm عبور می‌کرد، به طور مرتب هوادهی شدند تا هم منبع کربن کافی برای سلول‌ها در دسترس آن‌ها قرار گیرد و هم شرایط اختلاط کامل در داخل فتوبیوراکتور فراهم گردد [۳۶، ۳۷].

رشد سلول‌ها روزانه از طریق اندازه‌گیری دانسیته‌ی نوری^۲ (OD) در ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV 101 UV/VIS (JASCO Co, Japan) مورد ارزیابی قرار گرفت.

¹ Response Surface Methodology

² Optical Density

۲-۲- آزمایش لخته‌سازی

کلراید آهن (III) ساخت شرکت Merk آلمان به عنوان ماده‌ی لخته‌کننده‌ی اصلی انتخاب شده و به صورت محلول آبی (یک مولار) از قبل تهیه شد. pH سلول‌ها توسط افزودن هیدروکسید سدیم و اسید هیدروکلریک یک مولار از قبل تنظیم شد.

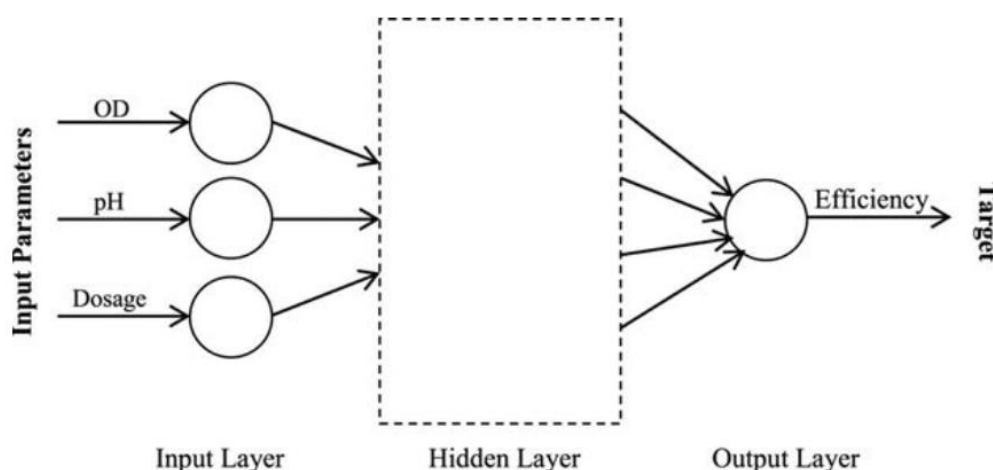
آزمایش لخته‌سازی در داخل لوله‌های آزمایش بروسلیکات استاندارد (۱۵ میلی لیتری) انجام شد. مقادیر مختلف از ماده‌ی لخته‌کننده به ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت با دانسیته‌ی نوری مشخص و تحت شرایط pH مختلف اضافه شد. برای اطمینان از اختلاط کامل ماده‌ی لخته‌کننده و محیط کشت، پس از گذاشتن درپوش لوله‌های آزمایش، لوله‌ها توسط دستگاه Vortex خوب هم زده شدند. در نهایت لوله‌ها در حالت ساکن رها شدند تا لخته‌های تشکیل شده ته نشین شوند. نمونه‌ی مورد نیاز برای اندازه‌گیری OD از یک سوم ارتفاع بالای لوله‌های آزمایش بعد از دو ساعت ته نشین شدن طبق استاندارد ASTM D-2035 گرفته شد [۳۸] و بازده لخته‌سازی بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد [۳۹]:

$$\text{Harvesting Efficiency} = \frac{OD_i - OD_f}{OD_i} \times 100 \quad (1)$$

که در فرمول بالا OD_i چگالی نوری شاهد و OD_f چگالی نوری سلول‌ها پس از انجام آزمایش می‌باشد.

۲-۳- جمع‌آوری و طبقه‌بندی داده‌ها

برای مدل‌سازی لخته‌سازی با شبکه عصبی، بازده لخته‌سازی به عنوان هدف در نظر گرفته شد و OD سلول‌ها، pH و میزان ماده‌ی لخته‌کننده به عنوان پارامترهای ورودی به مدل در نظر گرفته شدند. شمایی از مدل شبکه عصبی در شکل ۱ نشان داده شده است. لایه‌ی پنهان، معماری‌های متفاوت شبکه عصبی را تشکیل می‌دهد.



شکل ۱- شماتیک شبکه عصبی چند لایه‌ی استفاده شده برای مدل‌سازی لخته‌سازی سلول‌های *Chlorella sp*
Figure 1: Schematic of the multilayer neural network used to model the flocculation of *Chlorella sp.* cells

آزمایش لخته‌سازی در شرایط اولیه‌ی مختلف از pH، OD و میزان ماده‌ی لخته‌کننده انجام شد. برای بررسی این پارامترها، آزمایش طرح عاملی کامل انجام شد. جدول ۱ سطوح بالا و پایین هر کدام از متغیرها را نشان می‌دهد. سطوح مختلف مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. اندازه‌گیری بازده‌ی لخته‌سازی در هر نقطه سه بار تکرار شده و در نهایت میانگین آن گزارش شده است.

جدول ۱- اطلاعات آماری اولیه مربوط به پارامترهای ورودی و خروجی در لخته سازی سلول‌های *Chlorella sp.*

Table 1: Primary statistical information related to input and parameters in the flocculation of *Chlorella sp.* cells

Variable	Unit	Min	Max	Median	Mean	SD	CV%
OD	-	1.00	3.00	2.00	2.00	0.94	46.11
pH	-	4.50	12.00	8.35	8.28	2.38	28.76
Dosage	g/L	0.015	10.000	0.93750	2.907	3.503	120.500
Efficiency	%	0.00	100.00	37.18	46.37	31.53	67.99

SD: انحراف معیار، CV: ضریب تغییرات

جدول ۲- سطوح پارامترهای مورد بررسی در آزمایش طرح عاملی کامل برای لخته سازی سلول‌های *Chlorella sp.*

Table 2: Levels of parameters studied in a full factorial design experiment for the flocculation of *Chlorella sp.* cells

Parameter	Number of Levels	Parameter Levels
OD	3	1, 2, 3
pH	7	4.5, 6.0, 7.5, 8.0, 9.0, 10.5, 12.0
Dosage (g/L)	16	0.015, 0.031, 0.062, 0.125, 0.156, 0.187, 0.312, 0.625, 1.250, 2.500, 3.750, 5.000, 6.25, 7.500, 8.750, 10.000

۲-۴- آنالیز شبکه عصبی

ضریب تغییرات^۳ (CV)، که از طریق تقسیم انحراف استاندارد^۴ بر میانگین به دست می‌آید، میانگین انحراف استاندارد نرمال داده‌ها را برای هر پارامتر ارائه می‌دهد [۴۰]. جدول ۱ مقادیر بزرگی در CV برای متغیرهای ورودی و خروجی نشان می‌دهد که به معنای تفاوت زیاد بین محدوده‌ها برای هر پارامتر است. برای کاهش این تفاوت، تمام داده‌ها به صورت زیر نرمال سازی شدند:

$$P_{normalized}^i = \frac{x_i - x_{min}}{x_{max} - x_{min}} \quad (2)$$

که $P_{normalized}^i$ معادل نرمال شده‌ی داده‌ی i ام در مجموعه‌ی داده را نشان می‌دهد و x_{max} و x_{min} مقادیر حداقل و حداکثر مجموعه‌ی داده است.

۲-۵- مدل سازی شبکه عصبی

برای مدل سازی فرآیند لخته سازی سه رویکرد متفاوت دنبال شد.

³ The coefficient of variation

⁴ standard deviation

۱-۵-۲- پرسپترون چندلایه^۵

در رویکرد اول، یک شبکه‌ی چند لایه‌ی پیش‌خور^۶ استفاده شد که یک اتصال متقابل پرسپترون^۷ است که در آن داده‌ها و محاسبات در یک جهت واحد از نورون‌های ورودی به خروجی‌ها جریان می‌یابد. هر ورودی با یک w مناسب وزن می‌شود. مجموع ورودی‌های وزن‌دار و بایاس^۸ b از تابع فعال‌سازی^۹ f عبور داده می‌شود و خروجی نورون را تشکیل می‌دهد، که در رابطه ۳ و ۴ نشان داده شده است:

$$a = f(w_i + b) \quad (۳)$$

$$a = f(\sum_{i=1}^n w_i x_i + b) \quad (۴)$$

که در آن x بردار داده‌های ورودی، w بردار وزن‌ها، b بایاس اضافه شده به نورون و a خروجی نورون است. شبکه‌های پرسپترون چند لایه (MLP) دارای تابع فعال‌سازی خاص برای لایه‌های مخفی و خروجی خود هستند. در این کار، توابع تانژانت هذلولی^{۱۰} و فعال‌سازی خطی^{۱۱} به ترتیب برای لایه‌های پنهان و خروجی تنظیم شدند.

۲-۵-۲- تابع پایه‌ی شعاعی

برای رویکرد دوم، شبکه‌ی تابع پایه‌ی شعاعی (RBF) استفاده شد، که یک شبکه‌ی عصبی سه لایه است که از یک لایه‌ی ورودی، یک لایه‌ی پنهان و یک خروجی تشکیل شده است. بردار ورودی X با بردار وزن wh در لایه‌ی پنهان وزن می‌شود. لایه‌ی پنهان از نورون‌ها با تابع فعال‌سازی به شکل توابع شعاعی تشکیل شده است. این توابع به گونه‌ای انتخاب می‌شوند که مقدار آن‌ها نسبت به فاصله از یک نقطه‌ی مرکزی کاهش یا افزایش می‌یابد. محاسبه‌ی لایه‌ی پنهان در رابطه ۵ و ۶ ارائه شده است:

$$s_1 = [x_1 w_{1,l}^h, x_2 w_{2,l}^h, \dots, x_3 w_{i,l}^h, \dots, x_N w_{N,l}^h] \quad (۵)$$

$$\varphi_l(s_l) = \exp\left(-\frac{\|s_l - c_l\|^2}{\sigma_l}\right) \quad (۶)$$

که s_1 ورودی نورون l ، φ_l تابع فعال‌سازی و c_l نقطه‌ی مرکزی نورون l و σ_l فاصله‌ی عرض پنهان می‌باشد. خروجی شبکه توسط رابطه ۷ محاسبه می‌شود:

$$a = f(\sum_{i=1}^n w_i x_i + b) \quad (۷)$$

که m شاخص خروجی و $w_{l,m}$ وزن خروجی بین واحد پنهان و واحد خروجی m است.

۳-۵-۲- ترکیب شبکه‌های عصبی

رویکرد سوم شامل ترکیب شبکه‌های عصبی است. در شبکه‌های عصبی، یک شبکه‌ی مناسب باید ویژگی یادگیری و تعمیم را با هم داشته باشد. یادگیری، توانایی پیش‌بینی رفتار مورد نظر از داده‌های آموزشی است، در حالی که

⁵ Multilayer perceptron

⁶ feed forward multilayer network

⁷ perceptrons

⁸ bias

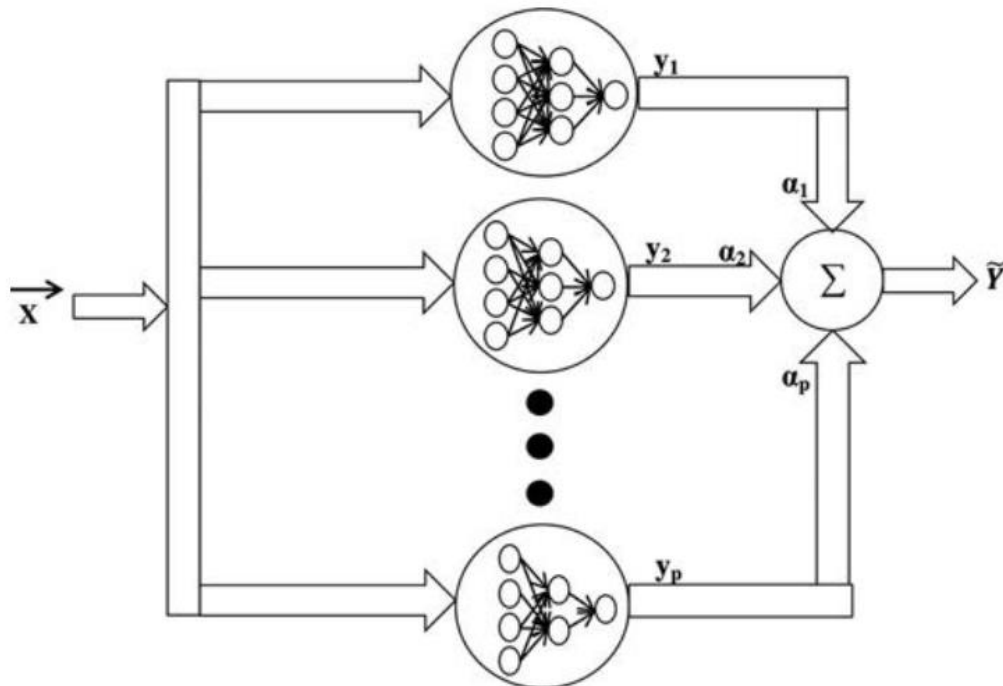
⁹ activation function

¹⁰ hyperbolic tangent function

¹¹ linear activation function

تعمیم، توانایی شبکه برای پیش‌بینی فراتر از داده‌های آموزشی است. مشکلاتی که در طول آموزش یک شبکه باید با آن‌ها دست و پنجه نرم کرد، بیش‌برازش^{۱۲} و یا تعمیم ضعیف^{۱۳} است. در بیش‌برازش، خروجی به خوبی با اهداف آموزشی مطابقت دارد. با این حال، شبکه عملکرد پیش‌بینی ضعیفی دارد. تعمیم ویژگی مهم‌تری است که باید در نظر گرفته شود. زیرا انتظار می‌رود که شبکه داده‌های خارج از مجموعه‌ی آموزشی را به درستی پیش‌بینی کند. بیش‌برازش شبکه‌ی عصبی به واریانس بالای داده‌های آموزشی نسبت داده می‌شود، به طوری که تغییر کوچک در داده‌های آموزشی منجر به تغییرات زیادی در مقادیر پیش‌بینی شده می‌شود. روش‌های پیشنهادی زیادی برای جلوگیری از بیش‌برازش وجود دارد که یکی از آن‌ها شبکه‌های گروهی است.

شبکه‌ی گروهی^{۱۴}، ترکیبی از یک گروه از شبکه‌های عصبی است که هیچ‌یک از آن‌ها پیش‌بینی دقیق و عملکرد مناسبی با توجه به داده‌ها ندارند. از نظر تئوری، نشان داده شده است که عملکرد یک شبکه‌ی گروهی نمی‌تواند بدتر از زمانی باشد که هر مدل واحد به صورت جداگانه استفاده می‌شود [۴۱، ۴۲]. محبوب‌ترین رویکرد برای ترکیب شبکه‌های عصبی، متوسط کردن خروجی‌ها از شبکه‌های جداگانه است. همچنین، ترکیب کردن آن‌ها می‌تواند با میانگین وزنی انجام داد که به ترکیب خطی شبکه‌ها معروف است. علاوه بر این‌ها، طیف گسترده‌ای از روش‌های ترکیب غیر خطی وجود دارد [۴۳-۴۶]. شکل ۲ شماتیکی از شبکه‌ی گروهی را نشان می‌دهد.



شکل ۲- شبکه عصبی گروهی

Figure 2: Group neural network

۴-۵-۲- طراحی و آموزش شبکه عصبی

معماری‌های مختلف شبکه عصبی از طراحی MLP و RBF برای داده‌های آموزشی استفاده شد. یک کد بر اساس نرم افزار متلب (MathWorks, Inc.) برای طراحی معماری‌های مختلف، آموزش آن‌ها و ارزیابی عملکرد آن‌ها تهیه

¹² overfitting

¹³ poor generalization

¹⁴ ensemble network

شد. اعتبار سنجی متقاطع^{۱۵} ۱۰ برابری برای جزءبندی تصادفی داده‌ها^{۱۶}، هم برای آموزش و هم برای ارزیابی عملکرد آن‌ها استفاده شد. هدف آموزش شبکه این بود که مشخص شود آیا یک ساختار خاص برای پیش‌بینی اهداف مورد نظر مناسب است یا خیر، و در صورت مناسب بودن ساختار، وزن‌ها و بایاس‌ها محاسبه شود. در این مطالعه، ارزیابی عملکرد شبکه با ابزارهای مختلفی مانند مجموع مربعات خطا^{۱۷} (SSE)، میانگین مربعات خطا^{۱۸} (MSE)، میانگین خطای مطلق^{۱۹} (MAE) و مقادیر R-squared انجام شد. روابط بین این مقادیر در معادلات ۸ تا ۱۱ نشان داده شده است:

$$SSE = \sum_{i=1}^n (t_i - a_i)^2 \quad (8)$$

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - a_i)^2 \quad (9)$$

$$MAE = \sum_{i=1}^n |t_i - a_i| \quad (10)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (t_i - a_i)^2}{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2} \quad (11)$$

در معادلات بالا N تعداد کل داده‌ها، t_i مقدار هدف، t میانگین داده‌های تجربی و a_i مقدار خروجی شبکه است. برای طراحی شبکه عصبی گروهی، ترکیبی از معماری‌های شبکه عصبی مختلف با بهترین عملکرد از طریق روش میانگین‌گیری خروجی شبکه که ساده‌ترین روش است، استفاده شد. برای جلوگیری از محاسبات گسترده، روش‌های دیگری برای طراحی شبکه‌های گروهی در این کار در نظر گرفته نشده است.

۵-۲- تحلیل آماری

اهمیت آماری پارامترهای مورد مطالعه که عبارتند از pH، OD و میزان ماده لخته‌کننده، از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) توسط نرم افزار Design-Expert 8.0.0 (Stat-Ease, Inc., USA) مورد بررسی قرار گرفت.

۳- بحث و نتیجه‌گیری

۳-۱- نتایج تحلیل آماری

جدول ۳ نتیجه‌ی تحلیل ANOVA را برای لخته‌سازی ریزجلبک‌ها نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، تمام پارامترهای مورد مطالعه از نظر آماری معنادار بوده و روی راندمان لخته‌سازی اثر گذار هستند. این پارامترها بعداً در مدل‌سازی سلول‌های *Chlorella sp.* استفاده شدند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که OD-pH اثر متقابل ندارند اما pH-Dosage و OD-Dosage برهمکنش قابل توجهی دارند.

¹⁵ cross validation

¹⁶ random data partitioning

¹⁷ sum of squared error

¹⁸ mean squared error

¹⁹ mean absolute error

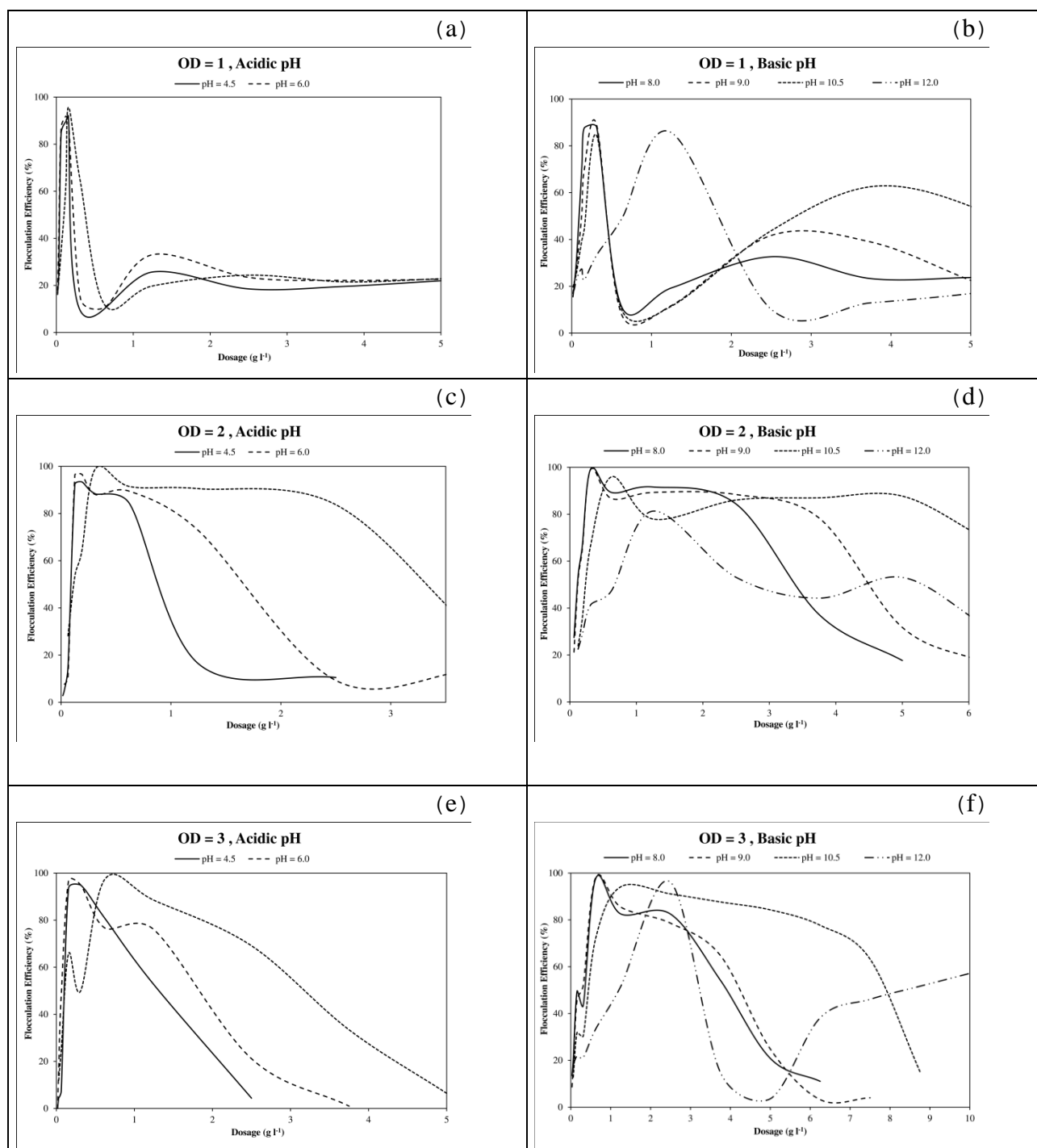
جدول ۳- نتایج تحلیل واریانس (ANOVA) برای بررسی اثر پارامترهای موثر بر راندمان لخته‌سازی سلول‌های *Chlorella sp.*

Table 3 Results of analysis of variance (ANOVA) to investigate the effect of effective parameters on the flocculation efficiency of *Chlorella sp.* Cells

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value
Statistical Model	1.719E+005	122	1408.74	3.73	< 0.0001
A-OD	8883.39	2	4441.70	11.77	< 0.0001
B-pH	6613.97	6	1102.33	2.92	0.0120
C-Dosage	50436.74	14	3602.62	9.55	< 0.0001
A*B	2511.99	12	209.33	0.55	0.8721
A*C	33539.12	22	1524.51	4.04	< 0.0001
B*C	59073.71	66	895.06	2.37	< 0.0001
Error	33575.54	89	377.25		
Total	2.054E+005	211			

۳-۲- نتایج آزمایش لخته‌سازی

شکل ۳ نتایج لخته‌سازی را برای مقادیر مختلف غلظت سلولی تحت pH های متفاوت نشان می‌دهد. کلراید آهن III در شرایط اسیدی و خنثی (pH های ۴/۵ تا ۷/۵) به شکل یون‌های Fe^{3+} و Fe^{2+} و $FeOH^{2+}$ وجود دارد. اما در شرایط قلیایی (pH های ۸ تا ۱۲) یون‌های آهن به فرم $FeOH^+$ و $Fe(OH)_3$ در محلول موجود هستند [۴۷]. بنابراین در محدوده‌ی اسیدی کلراید آهن III به یون‌های کاتیونی با بار مثبت‌تر وجود دارند و این دلیلی است برای این که در محدوده‌ی اسیدی نیاز به میزان ماده‌ی لخته‌کننده‌ی کم‌تری در مقایسه با pH قلیایی است (شکل ۳-الف تا ۳-ه).



شکل ۳- راندمان لخته سازی سلول‌های *Chlorella sp.* در مقابل میزان ماده لخته کننده کلراید آهن (III) تحت شرایط مختلف OD و محدوده‌ی pH، (الف) : pH اسیدی و OD=1، (ب) : pH قلیایی و OD=1، (ج) : pH اسیدی و OD=2، (د) : pH قلیایی و OD=2، (ه) : pH اسیدی و OD=3 و (ف) : pH قلیایی و OD=3

Figure 3: Flocculation efficiency of *Chlorella sp.* cells versus the amount of iron (III) chloride flocculant under different OD conditions and pH ranges, (a): acidic pH and OD=1, (b): alkaline pH and OD=1, (c): acidic pH and OD=2, (d): alkaline pH and OD=2, (e): acidic pH and OD=3 and (f): alkaline pH and OD=3

همان‌طور که در شکل ۳ مشخص است با افزایش میزان ماده لخته‌کننده، راندمان لخته‌سازی به دلیل افزایش یون‌های بار مثبت در محیط و خنثی سازی بار سطحی منفی سلول‌ها توسط آن‌ها در ابتدا می‌یابد تا به حداکثر میزان خود برسد. با افزایش بیش‌تر ماده‌ی لخته کننده به دلیل تجمع بارهای مثبت در محیط لخته‌های تشکیل شده

دوباره پراکنده شده و راندمان کاهش می‌یابد. نتایج تجربی به دست آمده در این قسمت در بخش بعدی برای مدل‌سازی شبکه‌ی عصبی مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۳- معماری شبکه عصبی

جدول ۴ معماری‌های شبکه را با بهترین عملکرد در مدل‌سازی لخته‌سازی سلول‌ها نشان می‌دهد. این شبکه‌ها شامل پنج MLP، یک RBF و یک مجموعه از بهترین شبکه‌های انجام شده بود (N1-N5).

جدول ۴- مشخصات معماری شبکه‌های عصبی با بهترین عملکرد در مدل‌سازی لخته‌سازی سلول‌های *Chlorella sp.*

Table 4: Architectural characteristics of neural networks with the best performance in modeling the flocculation of *Chlorella sp.* cells

Network Name	Type of network	Number of hidden Layers	Number of Neurons in Hidden Layer 1	Number of Neurons in Hidden Layer 2	Number of Neurons in Hidden Layer 3
N1	MLP	3	25	30	20
N2	MLP	3	5	30	25
N3	MLP	3	10	30	15
N4	MLP	3	20	15	10
N5	MLP	3	15	10	25
N6	RBF	1	213	---	
N7	Ensemble	Average of N1 to N5 network outputs			

۳-۴- عملکرد شبکه عصبی

بهترین عملکرد شبکه‌های عصبی آموزش دیده در جدول ۴ ارائه شده است. این شبکه‌ها N1 تا N7 نام گذاری شده اند و ساختار آن‌ها در جدول ۵ آمده است.

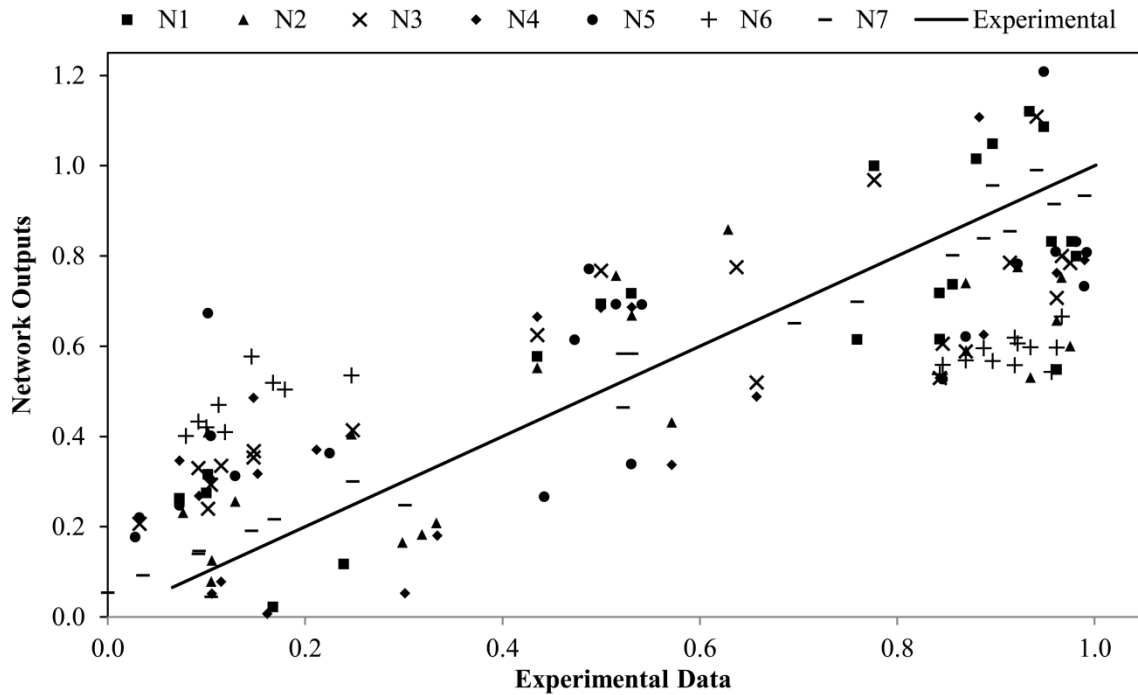
جدول ۵- مقایسه شاخص‌های ارزیابی عملکرد (R^2 , SSE, MSE, MAE) برای شبکه‌های عصبی مختلف مورد استفاده در مدل‌سازی لخته‌سازی

Table 5: Comparison of performance evaluation indices (R^2 , SSE, MSE, MAE) for different neural networks used in coagulation modeling

Network Name	R-Squared Values (%)	SSE ¹	MSE ²	MAE ³
N1	94.54	1.1332	0.0053	0.4292
N2	93.07	1.4396	0.0067	0.5961
N3	92.96	1.4615	0.0068	0.6169
N4	92.52	1.5534	0.0072	0.5536
N5	92.47	1.5635	0.0073	0.5949
N6	79.81	4.1937	0.0197	1.5136
N7	96.37	0.7536	0.0035	0.4696

شبکه‌ی RBF (N_6) ضعیف‌ترین عملکرد با بیش‌ترین مقدار SSE، MSE و MAE همراه با کم‌ترین مقدار R-squared را نشان داد. از طرف دیگر در MLP (N_1 - N_5) عملکرد بهتر شد و مقادیر R-squared بالاتر بوده و تفاوت کم‌تری با داده‌های تجربی داشت. اگر چه طراحی شبکه‌ی MLP مقادیر بالایی از R-squared را ارائه می‌دهد، عملکرد این شبکه‌ها می‌تواند با ترکیب آن‌ها و توسعه‌ی مجموعه‌ای از آن‌ها (N_1 - N_5) بهبود یابد. عملکرد معماری گروهی (N_7) کم‌ترین مقادیر SSE، MSE و MAE را نشان داد و مقادیر R-squared نیز بهبود یافته است. چنین رفتارهایی از شبکه‌ها به معماری و الگوریتم‌های آموزشی آن‌ها نسبت داده می‌شود. RBF (N_6) از ۲۱۳ نرون استفاده می‌کند که هر کدام دارای یک تابع فعال‌سازی به شکل تابع شعاعی هستند. در طراحی RBF، معمولاً تغییر ساختار با توجه به یک مجموعه داده‌ی خاص دشوار به نظر می‌رسد. هر چند که آن‌ها توانایی مقابله با داده‌ای نوسانی را دارند. با این حال در این مورد، برای مدل‌سازی لخته‌سازی داده‌ها دارای نوسان زیادی هستند و این منجر به عملکرد ضعیف شبکه می‌شود. علاوه بر این، طرح‌های MLP (N_1 - N_5) عملکرد بهتری در مقایسه با RBF نشان می‌دهند. این امر به طور عمده به دلیل انعطاف‌پذیری آن‌ها در ساختار آن‌ها از جمله لایه‌های مختلف و تعداد متفاوت نرون‌ها است. در نهایت، بهترین عملکرد با ترکیبی از بهترین شبکه‌های انجام شده (N_1 تا N_5) به دست آمد. همان‌طور که قبلاً اظهار شد، میانگین‌گیری به دلیل سادگی و کاهش خطای هر شبکه، برای ترکیب انتخاب شد. بهبود عملکرد ترکیب گروهی از بهترین شبکه‌های عصبی آموزش دیده حاکی از این است که به دلیل ادغام دانش به دست آمده توسط هر کدام از شبکه‌های عصبی MLP، شبکه‌ی گروهی می‌تواند دقت و عملکرد مدل برتر را نشان دهد [۴۸، ۴۲].

شکل ۴ نمودار پراکندگی خروجی شبکه‌ی عصبی در مقابل مقادیر تجربی را نشان می‌دهد. خروجی‌های شبکه توسط بخشی از داده‌های اعتبار سنجی متقابل ۱۰ برابری که در ارزیابی عملکرد شبکه استفاده می‌شوند، محاسبه شدند. برای شبکه‌ی گروهی (N_7)، یک توزیع خوب با اشتقاق ۲۰ کم از داده‌های تجربی، نشان دهنده‌ی مدل‌سازی خوب با قابلیت تعمیم است. شبکه‌ی RBF (N_6) یک توزیع غیر یکنواخت به دلیل مدل‌سازی ضعیف را نشان می‌دهد. سایر شبکه‌ها (N_1 تا N_5) در مدل‌سازی و تعمیم دقت کم‌تری نسبت به شبکه‌ی گروهی (N_7) دارند. علاوه بر این، جدول ۶ مقادیر SSE، MSE، MAE و R-squared را ارائه می‌دهد که حاکی از این است که بدترین عملکرد تعمیم برای معماری شبکه‌ی RBF و بهترین عملکرد با کم‌ترین میزان خطا توسط مدل‌سازی با معماری شبکه‌ی عصبی گروهی ارائه شده است. در "داده‌های تکمیلی" و برای نشان دادن امکان‌سنجی این روش، مدل‌سازی ریزجلبک‌ها مجدداً برای لخته‌سازی *Chlorella sp.* با ماده‌ی لخته‌کننده‌ی آلوم با ترکیب‌های متفاوت پارامترها انجام شد که نشان می‌دهد امکان استفاده از معماری شبکه‌های عصبی MLP گروهی را نشان می‌دهد.



شکل ۴- عملکرد معماری‌های مختلف شبکه عصبی برای داده‌های آزمایش معتبر در مقابل داده‌های تجربی

Figure 4: Performance of different neural network architectures for validated test data versus experimental data

جدول ۶- عملکرد تعمیم (generalization) معماری‌های مختلف شبکه عصبی در پیش بینی داده‌های آزمون تایید متقابل

Table 6: Generalization performance of different neural network architectures in predicting cross-validation test data

	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7
SSE	0.7282	0.9358	0.8988	0.9184	1.1723	2.3219	0.0603
MSE	0.0347	0.0446	0.0428	0.0437	0.0558	0.1106	0.0029
MAE	0.1753	0.1861	0.2008	0.1969	0.2156	0.3303	0.0533

۴- نتیجه‌گیری

مدل‌سازی فرآیند لخته‌سازی ریزجلبک‌ها به دلیل رفتار پیچیده و نوسانات زیاد در پارامترهای موثر و مقادیر خروجی یک چالش بزرگ به شمار می‌رود. در این پژوهش با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی تلاش شده تا یک مدل دقیق و قابل تعمیم برای پیش‌بینی راندمان لخته‌سازی گونه‌ی *Chlorella sp.* (PTCC 6010) ارائه شود. نتایج نشان داد که شبکه‌های عصبی متدوال نظیر MLP و RBF به تنهایی توانایی مطلوبی در پیش‌بینی داده‌های تجربی تعمیم آن‌ها نداشته‌اند. در مقابل استفاده از معماری ترکیبی شبکه‌های MLP به صورت گروهی توانست به طور چشمگیری دقت مدل را بهبود دهد و مقادیر SSE ، MSE و MAE را کاهش دهد. مقدار بالای ضریب تعیین در مدل ترکیبی نیز نشان‌دهنده توان پیش‌بینی بالا و تعمیم بالای آن است.

در مجموع می توان نتیجه گرفت که بهره گیری از شبکه های مصنوعی عصبی گروهی رویکردی کارآمد و نوین برای مدلسازی فرآیندهای پیچیده مانند لخته سازی ریزجلبک ها به شمار می رود. استفاده از این رویکرد در مطالعات آتی برای سایر مواد لخته کننده و گونه های مختلف ریزجلبک توصیه می شود.

در این مطالعه هر چند مدل سازی مبتنی بر شبکه های عصبی گروهی توانست. عملکرد قابل قبولی در پیش بینی راندمان لخته سازی ارائه دهد، اما باید به چند محدودیت اساسی در این باره نیز اشاره کرد. نخست داده های مورد استفاده محدود به شرایط آزمایشگاهی خاص (محدود به معینی از pH، غلظت سلولی و میزان ماده لخته کننده) بوده و ممکن است در مقیاس صنعتی و یا در حضور سایر ترکیبات شیمیایی نتایج متفاوتی حاصل شود. دوم این که شبکه های عصبی مورد استفاده تنها بر اساس داده های کمی طراحی شده اند و اثرات کیفی مانند شکل، اندازه یا ساختار سطح سلول ها در مدل لحاظ نشده است. همچنین با وجود کارایی مدل گروهی تعیین ساختار بهینه و جلوگیری از بیش برآزش در شبکه های پیچیده، همچنان چالشی قبل توجه است. بنابراین پیشنهاد می شود در مطالعات آینده از نتایج تجربی گسترده تر استفاده شود تا قابلیت تعمیم مدل افزایش یابد و پیش بینی دقیق تری از فرآیند لخته سازی فراهم گردد.

References

- 1) C.E. Richards, R.C. Lupton, J.M. Allwood, Re-framing the threat of global warming: an empirical causal loop diagram of climate change, food insecurity and societal collapse, *Climatic Change* 164 (3) (2021) 49. <https://doi.org/10.1007/s10584-021-02957-w>.
- 2) S.A. Montzka, E.J. Dlugokencky, J.H. Butler, Non-CO2 greenhouse gases and climate change, *Nature* 476(7358) (2011) 43-50. <https://doi.org/10.1038/nature10322>.
- 3) W. Zhou, Concept and Framework of the East Asian Low-Carbon Community, in: W. Zhou, X. Qian, K.i. Nakagami (Eds.), *East Asian Low-Carbon Community: Realizing a Sustainable Decarbonized Society from Technology and Social Systems*, Springer Singapore, Singapore, 2021, pp. 61-81. https://doi.org/10.1007/978-981-33-4339-9_3.
- 4) R.E.H. Sims, H.-H. Rogner, K. Gregory, Carbon emission and mitigation cost comparisons between fossil fuel, nuclear and renewable energy resources for electricity generation, *Energy Policy* 31(13) (2003) 1315-1326. [https://doi.org/10.1016/S0301-4215\(02\)00192-1](https://doi.org/10.1016/S0301-4215(02)00192-1).
- 5) H. Cheng, Y. Liu, Z. Deng, C. Yang, X. Xie, H. Baloch, W. Xu, H. Zhang, J. Gao, Z. Qin, A. Jaleel, M. Ren, The potential microalgae-based strategy for attaining carbon neutrality and mitigating climate change: a critical review, *Frontiers in Marine Science* Volume 12 - 2025 (2025). <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1644390>.
- 6) H. Wang, J. Liu, K. Phyu, Y.a. Cao, X. Xu, J. Liang, C.-C. Chang, K. Zhang, S. Zhi, Microalgae create a highway for carbon sequestration in livestock wastewater: Carbon sequestration capacity, sequestration mechanisms, influencing factors, and prospects, *Science of The Total Environment* 956 (2024) 177282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177282>.
- 7) M. Gharabaghi, H. Delavai Amrei, A. Moosavi Zenooz, J. Shahrivar Guzullo, F. Zokae Ashtiani, Biofuels: Bioethanol, Biodiesel, Biogas, Biohydrogen from Plants and Microalgae, in: E. Lichtfouse, J. Schwarzbauer, D. Robert (Eds.), *CO2 Sequestration, Biofuels and Depollution*, Springer International Publishing, Cham, 2015, pp. 233-274. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11906-9_6.
- 8) F. Kanwal, A. Aslam, A.A.J. Torriero, Microalgae-based biodiesel: integrating AI, CRISPR and nanotechnology for sustainable biofuel development, *Emerging Topics in Life Sciences* 131-143(2025) (3) 8. <https://doi.org/10.1042/etls20240004>.
- 9) R.H. Wijffels, M.J. Barbosa, An outlook on microalgal biofuels, *Science* 329(5993) (2010) 796-9.
- 10) B. Barati, K. Zeng, J. Baeyens, S. Wang, M. Addy, S.-Y. Gan, A. El-Fatah Abomohra, Recent progress in genetically modified microalgae for enhanced carbon dioxide sequestration, *Biomass and Bioenergy* 145 (2021) 105927. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105927>.
- 11) D.P. Krishna Samal, L.B. Sukla, Unveiling the dual potential of microalgae and seaweed biomass for sustainable biofuel production: a review, *RSC Advances* 15(41) (2025) 34160-34175. <https://doi.org/10.1039/D5RA04845A>.
- 12) P.P. Borthakur, P. Sarmah, *Emerging Catalysts and Techniques in Microalgae-Based Biodiesel Production*, *Chemistry Proceedings* 17(1) (2025) 9.
- 13) A.I. Adetunji, S.f.T. Gumbi, M. Erasmus, Harnessing the potential of microalgae in sequestration of CO2 emissions: Removal mechanisms, optimization strategies, and bioenergy production, *Journal of Hazardous Materials Advances* 18 (2025) 100722. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100722>.

- 14) G. Torzillo, A. Vonshak, Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition, 2013, pp. 90-113. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch6>.
- 15) A.S. Japar, M.S. Takriff, N.H. Mohd Yasin, Microalgae acclimatization in industrial wastewater and its effect on growth and primary metabolite composition, Algal Research 53 (2021) 102163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102163>.
- 16) A. Moosavi Zenooz, F. Zokae Ashtiani, R. Ranjbar, N. Javadi, Synechococcus sp. (PTCC 6021) cultivation under different light irradiances-Modeling of growth rate-light response, Prep Biochem Biotechnol 46(6) (2016) 567-74.
- 17) M.I. Khan, J.H. Shin, J.D. Kim, The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products, Microbial Cell Factories 17(1) (2018) 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>.
- 18) K. Heeley, R.L. Orozco, L.E. Macaskie, J. Love, B. Al-Duri, Supercritical water gasification of microalgal biomass for hydrogen production-A review, International Journal of Hydrogen Energy 49 (2024) 310-336. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.08.081>.
- 19) G. Muhammad, M.A. Alam, M. Mofijur, M.I. Jahirul, Y. Lv, W. Xiong, H.C. Ong, J. Xu, Modern developmental aspects in the field of economical harvesting and biodiesel production from microalgae biomass ,Renewable and Sustainable Energy Reviews 135 (2021) 110209. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110209>.
- 20)chloride coupled with polysilicate aluminum ferrite, Environ Technol 39(1) (2018) 83-90.
- 21) X. Álvarez, A. Jiménez, Á. Cancela, E. Valero, Á. Sánchez, Harvesting freshwater algae with tannins from the bark of forest species: Comparison of methods and pelletization of the biomass obtained, Chemosphere 268 (2021) 129313. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129313>.
- 22) D. Vandamme, I. Foubert, K. Muylaert, Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production, Trends in Biotechnology 31(4) (2013) 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.005>.
- 23) S. Malik, F. Khan, Z. Atta, N. Habib, M. Haider, N. Wang, M.A. Alam, E. Jambi, M. Gull, M. Mehmood, H. Zhu, Microalgal flocculation: Global research progress and prospects for algal biorefinery, Biotechnology and Applied Biochemistry 67 (2019). <https://doi.org/10.1002/bab.1828>.
- 24) C.N. Ogbonna, E.G. Nwoba, Bio-based flocculants for sustainable harvesting of microalgae for biofuel production. A review ,Renewable and Sustainable Energy Reviews 139 (2021) 110690. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110690>.
- 25) Z. Gojkovic, A. Skrobonja, V. Radojicic, B. Mattei, The Use of Flocculation as a Preconcentration Step in the Microalgae Harvesting Process, Physiologia Plantarum 177 (4) (2025) e70366. <https://doi.org/10.1111/ppl.70366>.
- 26) I. Rodriguez-Garcia, J.L. Guil-Guerrero, Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods, Food Chemistry 108(3) (2008) 1023-1026. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.059>.

- 27) H. Delavari Amrei, R. Ranjbar, S. Rastegar, B. Nasernejad, A. Nejadebrahim, Using fluorescent material for enhancing microalgae growth rate in photobioreactors, *Journal of Applied Phycology* 27(1) (2015) 67-74. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0305-7>.
- 28) G. Mujtaba, W. Choi, C.-G. Lee, K. Lee, Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions, *Bioresource Technology* 123 (2012) 279-283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.057>.
- 29) R. Eldridge, D. Hill, B. Gladman, A comparative study of the coagulation behaviour of marine microalgae, *Journal of Applied Phycology* 24 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9830-4>.
- 30) R.K. Henderson, S.A. Parsons, B. Jefferson, Successful Removal of Algae through the Control of Zeta Potential, *Separation Science and Technology* 43(7) (2008) 1653-1666. <https://doi.org/10.1080/01496390801973771>.
- 31) Y. Shen, Y. Cui, W. Yuan, Flocculation optimization of microalga *Nannochloropsis oculata*, *Appl Biochem Biotechnol* 169(7) (2013) 2049-63.
- 32) F. Mohseni, A. Moosavi Zenooz, Flocculation of *Chlorella vulgaris* with alum and pH adjustment, *Biotechnology and Applied Biochemistry* n/a(n/a) (2021). <https://doi.org/10.1002/bab.2182>.
- 33) M. Trovão, A. Barros, A. Machado, A. Reis, H. Pedroso, G. Espírito Santo, N. Correia, M. Costa, S. Ferreira, H. Cardoso, J. Varela, J. Silva, H. Pereira, F. Freitas, Heterotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* yellow mutant on sidestreams: Medium formulation and process scale-up, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 13(2) (2025) 115361. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.115361>.
- 34) S.H. CHO, S.-C. JI, S.B. HUR, J. BAE, I.-S. PARK, Y.-C. SONG, Optimum temperature and salinity conditions for growth of green algae *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata*, *Fisheries Science* 73(5) (2007) 1050-1056 -<https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2007.01435.x>.
- 35) A. Converti, A.A. Casazza, E.Y. Ortiz, P. Perego, M. Del Borghi, Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48(6) (2009) 1146-1151. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006>.
- 36) R.L. Taylor, J.D. Rand, G.S. Caldwell, Treatment with Algae Extracts Promotes Flocculation, and Enhances Growth and Neutral Lipid Content in *Nannochloropsis oculata*—a Candidate for Biofuel Production, *Marine Biotechnology* 14(6) (2012) 774-781. <https://doi.org/10.1007/s10126-012-9441-8>.
- 37) Y. Jiang, T. Yoshida, A. Quigg, Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae, *Plant Physiology and Biochemistry* 54 (2012) 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.02.012>.
- 38) Standard Practice for Coagulation-Flocculation Jar Test of Water, ASTM D-2035, 1999, pp. 1-4.
- 39) A.M. Zenooz, F.Z. Ashtiani, R. Ranjbar, F. Nikbakht, O. Bolouri, Comparison of different artificial neural network architectures in modeling of *Chlorella* sp. flocculation, *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 47(6) (2017) 570-577. <https://doi.org/10.1080/10826068.2016.1275013>.
- 40) W. Brostow, H. Hagg Lobland, R. Singh, Polymeric flocculants for wastewater and industrial effluent treatment, *Journal of Materials Education Pal and Singh Journal of Materials Education* 31 (2009) 3-4.

- 41) Z.-H. Zhou, J. Wu, W. Tang, Ensembling neural networks: Many could be better than all, Artificial Intelligence 137(1) (2002) 239-263. [https://doi.org/10.1016/S0004-3702\(02\)00190-X](https://doi.org/10.1016/S0004-3702(02)00190-X).
- 42) S. Hashem, Optimal Linear Combinations of Neural Networks, Neural Networks 10(4) (1997) 599-614. [https://doi.org/10.1016/S0893-6080\(96\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0893-6080(96)00098-6).
- 43) T.G. Dietterich, Ensemble Methods in Machine Learning, Multiple Classifier Systems, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2000, pp. 1-15.
- 44) J.S. Jaganathan, S.R.S. Abdullah, S.N.A. Sanusi, N.N. Ramli, J. Alias, S.V. Subramaniam, N.M. Daud, F.A. Buslima, N.S.M. Said, J. Buhari, S.S.N. Sharuddin, S.B .Kurniawan, Machine learning and explainable artificial intelligence in coagulation–flocculation: A contemporary review, Journal of Environmental Chemical Engineering 13(6) (2025) 119664. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.119664>.
- 45) A.O. Bankole, R. Moruzzi, R.G. Negri, J. Bridgeman, S. Sharifi, Image-based machine learning applications for flocculation modelling in water treatment: Prospects towards automation, Journal of Hazardous Materials Advances 19 (2025) 100870. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100870>.
- 46) T. Syed, F. Krujatz, Y. Ihdjadene, G. Mühlstädt, H. Hamedi, J. Mädler, L. Urbas, A review on machine learning approaches for microalgae cultivation systems, Computers in Biology and Medicine 172 (2024),108248 .<https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.108248>.
- 47) M.D. Lind, Crystal Structure of Ferric Chloride Hexahydrate, Journal of Chemical Physics 47 (1967) 990-993.
- 48) S. Hashem, B. Schmeiser, Improving Model Accuracy using Optimal Linear Combinations of Trained Neural Networks, Neural Networks, IEEE Transactions on 6 (1995) 792-794. <https://doi.org/10.1109/72.377990>.