

Feasibility of Optimum Temperature for Growth of *Nannochloropsis Oculata* Microalga by Using Image Processing System

Zahedi A.R.* PhD, Rashvand M.¹ MSc

*Energy Systems Department, New Technologies Faculty, Iran University of Science & Technology, Tehran, Iran

¹Agricultural Machinery Department, Agricultural Engineering & Technology Faculty, Tehran University, Karaj, Iran

Abstract

Aims: Biodiesel is considered as a clean fuel, because it is free of any aromatic compound. In recent years, in order to reduce the cost of production of Biodiesel, many studies have been conducted on the extraction of biofuels from microalgae around the world. Thus, this study was conducted with the aim of investigating the feasibility of optimum temperature for growth of *Nannochloropsis Oculata* microalga by using image processing system.

Materials & Methods: In this experimental study, a piece of *Nannochloropsis Oculata* microalga containing 100,000 cells per ml was cultured in 15°C, 20°C, and 25°C. In order to evaluate the growth rate, active microalgae were sampled at 24-hour intervals, and their growth was studied, using machine vision systems. The data were analyzed, using Matlab 2012 and Weka 3 software by multivariable analysis of variance, linear regression algorithm, multilayer perceptron, Gaussian processing and simple linear regression analysis.

Findings: The maximum cell density of *Nannochloropsis Oculata* on the 8th day was $286.23 \times 10^4 \pm 0.38 \times 10^5$ cells per ml in treatment at 25°C and the minimum cell density was $168.58 \times 10^4 \pm 0.48 \times 10^5$ cells per ml in treatment at 15°C. Specific growth rate was significantly increased at temperature of 25°C compared to the treatments at 15°C and 20°C. Linear regression algorithms ($r^2=0.84$), multilayer perceptron ($r^2=0.88$) and Gaussian processing ($r^2=0.78$) showed good results, but simple linear regression indicated that the algorithm was unsuccessful ($r^2=0.45$).

Conclusion: The image processing technique provides a successful estimation of the growth process of *Nannochloropsis Oculata* at different temperature levels.

Keywords

Microalgae [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68058086>];

Culture Media [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003470>];

Machine Vision [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68001185>];

Neural Network [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68016571>]

*Corresponding Author

Tel: +98 (21) 73225837

Fax: +98 (21) 73021623

Post Address: Iran University of Science & Technology, Daneshgah Street, Hengam Street, Resalat Square, Tehran, Iran. Postal Code: 1684613114

zahediar@iust.ac.ir

Received: June 15, 2016

Accepted: October 13, 2017

ePublished: March 20, 2018

امکان سنجی دمای بهینه رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا با استفاده از سامانه پردازش تصویر

علیرضا زاهدی* PhD

گروه مهندسی سیستم‌های انرژی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علم و صنعت، تهران، ایران

مهدی روشوند MSc

گروه مهندسی مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده

اهداف: از بیودیزل به عنوان یک سوخت پاک یاد می‌شود، زیرا عاری از هر نوع ترکیب آروماتیک است. در سال‌های اخیر به منظور پایین آوردن هزینه تولید بیودیزل، مطالعات زیادی در زمینه استخراج سوخت زیستی از ریزجلبک‌ها در سراسر جهان انجام گرفته است. بنابراین پژوهش حاضر، با هدف امکان‌سنجی دمای بهینه رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا با استفاده از سامانه پردازش تصویر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر، مقادیر اندکی از ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا که حاوی تعداد ۱۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر بود، در هر سه سطح دمای ۱۵، ۲۰ و ۲۵°C کشت شد. برای ارزیابی میزان رشد، در فواصل زمانی ۲۴ ساعت از ریزجلبک‌های فعال از ظروف کشت، نمونه برداری و به کمک سامانه‌های مبتنی بر فناوری بینایی ماشین، میزان رشد آنها بررسی شد. داده‌ها با نرم‌افزار Matlab 2012 و Weka 3 از طریق آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره، الگوریتم رگرسیون خطی، پرسپترون چندلایه، پردازش گوسین و رگرسیون خطی ساده تحلیل شدند.

یافته‌ها: حداکثر تراکم سلول‌های ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا در روز هشتم پرورش به ترتیب $2.8 \times 10^8 \pm 0.3 \times 10^8$ سلول در هر میلی لیتر در تیمار ۲۵°C و حداقل تراکم در تیمار دمای ۱۵°C با تراکم $1.6 \times 10^8 \pm 0.4 \times 10^8$ سلول در هر میلی لیتر بود. نرخ رشد ویژه در تیمار دمای ۲۵°C نسبت به تیمارهای دمای ۱۵ و ۲۰°C افزایش معنی‌داری داشت. به ترتیب الگوریتم‌های رگرسیون خطی ($R^2 = 0.84$)، پرسپترون چندلایه ($R^2 = 0.88$) و پردازش گوسین ($R^2 = 0.78$) نتایج خوبی را نشان دادند، اما رگرسیون خطی ساده حاکی از عدم موفقیت الگوریتم مذکور بود ($R^2 = 0.45$).

نتیجه‌گیری: تکنیک پردازش تصویر، تخمین موفقیت‌آمیزی از روند رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا در سطوح دمایی متفاوت ارائه می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: کشت ریزجلبک، نانوکروپسیس/وکولاتا، ماشین بینایی، شبکه عصبی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۱

*نویسنده مسئول: zahediar@iust.ac.ir

مقدمه

در آینده نزدیک سوخت‌های فسیلی به اتمام رسیده و جهان با بحران انرژی مواجه خواهد بود^[1]. لذا استفاده از انرژی‌های جایگزین که آلودگی کمتری دارند، مورد توجه قرار گرفته است. بیودیزل از انرژی‌های تجدیدپذیری است که آلودگی کمتری داشته و با استفاده از منابع زیستی قابل تولید است^[2, 3]. از بیودیزل به عنوان یک سوخت پاک یاد می‌شود، زیرا عاری از هر نوع ترکیب آروماتیک است. در سال‌های اخیر به منظور پایین آوردن هزینه تولید بیودیزل، مطالعات زیادی در زمینه استخراج سوخت زیستی از ریزجلبک‌ها در سراسر جهان انجام گرفته است. این سوخت‌ها در مقایسه با منابع دیگر سوخت زیستی دارای بازده و تولید زیست‌توده بیشتر و رشد سریع‌تری هستند. ریزجلبک به دلیل رشد سریع‌تر و تکثیر بیشتر، مورد توجه مراکز تحقیقاتی و سرمایه‌گذاران برای تولید بیودیزل قرار گرفته است. بیودیزل حاصل از ریزجلبک

نسبت به سایر سوخت‌های زیستی انرژی بیشتری تولید می‌کند، این در حالی است که انرژی آن تقریباً هم‌تراز با سوخت فسیلی است^[4]. در این بین کشت ریزجلبک یکی از مهم‌ترین قسمت‌های فرآیند تولید بیودیزل است، به طوری که افزایش تولید زیست‌توده ریزجلبک، تولید بیودیزل را تحت تاثیر قرار خواهد داد^[5, 6].

در سال‌های اخیر، ریزجلبک‌ها به عنوان یکی از منابع نویدبخش برای تولید بیودیزل و کاهش بحران انرژی، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. اولین تلاش‌های صورت گرفته به منظور تولید سوخت‌های زیستی از ریزجلبک‌ها توسط دانشمندان آلمانی صورت گرفته است. با بحران انرژی در طول جنگ جهانی دوم، دانشمندان آلمانی تلاش کرده‌اند تا محتوای لیپید را استخراج کنند. با وجود این، اولین مطالعات روی تولید سوخت از ریزجلبک‌ها از نیمه دهه ۱۹۸۰ شروع شده است^[7]. ریزجلبک‌ها حاوی آنتی‌اکسیدان زیادی هستند و از این رو استفاده از آنها در فرآیند تولید داروها مورد توجه قرار گرفته است و اخیراً سرمایه‌گذاری‌های قابل توجهی در این بخش شده است. به عنوان مثال ایالات متحده در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ به ترتیب ۳۰۷ میلیون دلار و ۳۲۰ میلیون دلار برای تولید سوخت از ریزجلبک سرمایه‌گذاری کرده است. تولید زیست‌توده توسط ریزجلبک‌ها در حدود ۱۵ تا ۳۰۰ برابر بیشتر از سایر محصولات گیاهی است^[8].

ریزجلبک‌ها قادرند با شرایط مختلف محیطی سازگار شوند، بنابراین امکان یافتن شرایط محیطی مناسب‌تر از لحاظ رشد در گونه‌های مختلف ریزجلبکی بیشتر است، در حالی که امکان چنین تغییری در سایر منابع سوخت زیستی مانند سویا، کلزا و آفتاب‌گردان وجود ندارد^[9]. تغییر شرایط محیطی، علاوه بر تاثیر بر میزان رشد و تولید چربی می‌تواند بر کیفیت لیپید نیز اثرگذار باشد. ساخت و تجمع لیپیدها به وسیله ریزجلبک‌ها یکی از منابع مهم بیودیزل به شمار می‌رود^[10, 11]. ریزجلبک‌های جنس نانوکروپسیس دارای شش گونه شناخته شده هستند و گونه شاخص در بین آنها /وکولاتا است^[12]. گونه‌های این جنس اغلب در محیط‌های دریایی شناخته شده‌اند، اما در محیط‌های آب شیرین و شور نیز یافت می‌شوند^[13].

میزان رشد تولید بیوماس در ریزجلبک‌ها از عوامل ضروری در کاهش هزینه‌های تولید بیودیزل است. فناوری بینایی ماشین جزء تکنیک‌های نوینی است که امروزه در صنایع مختلف به کار گرفته می‌شود. این فناوری در حوزه‌های مختلف نظیر پزشکی، تولید صنعتی خودکار، سنجش از راه دور و هدایت ماشین‌آلات و ربات کاربرد دارد. سامانه‌های مبتنی بر فناوری بینایی ماشین از پنج قسمت اصلی شامل نورپردازی، دوربین، پردازشگر، کارت تصویرگیر و نرم‌افزار تشکیل شده است. بین تمامی انواع منابع نورپردازی، امروزه استفاده از لامپ‌های مهتابی در سامانه‌های مبتنی بر بینایی ماشین و بینایی کامپیوتر افزایش یافته است که این مساله می‌تواند به دلیل مزایای این نوع لامپ‌ها شامل طول عمر زیاد، منبع تحریک DC، عدم گیرکنوختی در شرایط نورپردازی و اندازه و ابعاد کوچک آنها باشد. استفاده از روش دید ماشینی به خاطر داشتن مزایایی همچون غیرمخرب بودن، کاهش هزینه‌های کارگری، دقت بالاتر، ارائه نتیجه ثابت در شرایط مختلف و توانایی بررسی اجسام در نورهای مرئی (VIS) و نامرئی مادون قرمز (IR)، ماورای بنفش (UV) و نزدیک مادون قرمز (NIR) به سرعت در حال گسترش و پیشرفت است. از سویی دیگر یک شبکه عصبی مصنوعی (Artificial Neural Network)، روشی هوشمند برای پردازش اطلاعات است که از سامانه عصبی زیستی الهام گرفته شده است و مانند مغز به پردازش اطلاعات می‌پردازد. مغز یک سیستم

بررسی میزان رشد: برای ارزیابی میزان رشد، در فواصل زمانی ۲۴ ساعت از ریزجلبک‌های فعال از ظروف کشت، نمونه‌برداری شد. تراکم سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل ECLIPSE 50i (Nikon؛ ایالات متحده) و لام نئوبار با محفظه شمارش به عمق ۰/۱ میلی‌متر شمارش شد (شکل ۱). برای جلوگیری از حرکت سلول‌ها ۲٪ لوگول (۵٪ ید و ۱۰٪ پتاسیم یدید) به نمونه اضافه و تعداد سلول‌ها به وسیله فرمول زیر محاسبه شد [16]:

تعداد سلول‌ها شمارش شده $\times 10^6$ = تعداد سلول در یک لیتر

پس از رسیدن تراکم ریزجلبک به حداکثر مقدار با استفاده از معادله زیر، میزان نرخ رشد ویژه ریزجلبک در تیمارهای مختلف محاسبه شد:

$$\text{لگاریتم تراکم ثانویه} - \text{لگاریتم تراکم اولیه} = \frac{\text{نرخ رشد ویژه}}{\text{زمان}}$$

فناوری بینایی ماشین: در این تحقیق از ۴ عدد لامپ مهتابی FPL با مشخصات ۲۲۰ ولت و ۳۶ وات برای نوردهی به ریزجلبک و نورپردازی از مقابل استفاده شد. سامانه پردازش تصویر ساخته شده در این تحقیق شامل دو بخش سخت‌افزار و نرم‌افزار بود. در قسمت سخت‌افزار از یک دوربین صنعتی CCD مدل PROLINE-565s (Sony؛ ژاپن) استفاده شد که دارای ۴۸۰ خط تلویزیون و ۵۱۰×۴۹۲ پیکسل است. برای تبدیل تصاویر آنالوگ به دیجیتال از یک کارت تصویرگیر استفاده شد. به کمک این کارت امکان ارتباط دوربین و رایانه فراهم شد و قابلیت تنظیم و عکس‌برداری در زمان مورد نیاز را برای نرم‌افزار ایجاد کرد. از کارت تصویرگیر Pin Avid USB 2.0 (Avid؛ کانادا) برای ارتباط بین دوربین و رایانه استفاده شد. از ویژگی‌های این کارت می‌توان به وضوح ۷۶۸×۷۲۰ و سرعت عکس‌برداری ۲۵ فریم در ثانیه اشاره نمود.

فضاهای رنگی

فضای رنگی RGB: فضای رنگی RGB از سه مولفه رنگی Red Green Blue تشکیل شده است که هر کدام بین مقادیر ۰ تا ۲۵۵ تغییر می‌کند. هر پیکسل رنگی در تصاویر RGB دارای مقدار مشخصی از قرمز، سبز و آبی است. مقادیر صفر، صفر، صفر معادل رنگ سیاه و مقادیر ۲۵۵، ۲۵۵، ۲۵۵ معادل رنگ سفید است [18, 19].

فضای رنگی L*A*B*: این فضای رنگی از سه مولفه L* معادل روشنایی تصویر که بین صفر، معادل مشکی و ۱۰۰، معادل انعکاس کامل نور؛ مولفه A* نامحدود و مقادیر مثبت، معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی، معادل رنگ سبز و مقادیر B* نامحدود که مقادیر مثبت، معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی است، تشکیل شده است. این سیستم رنگی، عملکردی مشابه چشم انسان دارد و برخلاف فضاهای RGB متأثر از وسیله عکس‌برداری نیست. در اکثر موارد در پژوهش‌های صنایع غذایی از این فضای رنگی استفاده می‌شود [20, 21].

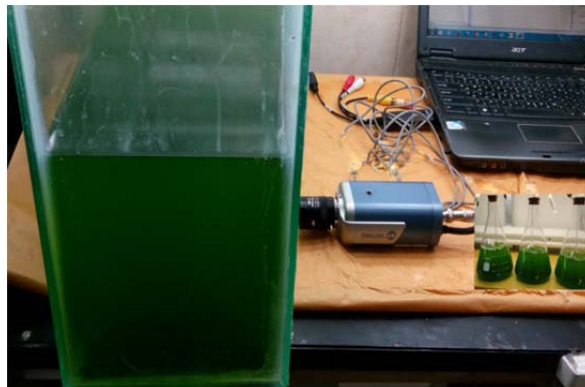
فضای رنگی CMY: فضای CMY مخفف کلمات Cyan یا آبی یا فیروزه‌ای، Magenta یا قرمز، Yellow یا زرد است و قالب رنگی است که در چاپگرهای رنگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همانند RGB در CMY نیز از ترکیب رنگ‌هایی که گفته شد، رنگ‌های

پردازش اطلاعات با ساختار موازی و کاملاً پیچیده است که برای خواندن، نفس‌کشیدن، حرکت، تفحص و کلیه اعمال آگاهانه و بسیاری از رفتارهای ناخودآگاه فعالیت می‌کند. مغز برای محاسبه و جمع‌آوری حجم عظیمی از اطلاعات و سیگنال‌ها به زمانی کمتر از چند صدم ثانیه نیاز دارد [14]. طی تحقیقاتی که با هدف بررسی تأثیرات عوامل محیطی مانند دما، شوری و غیره انجام گرفته است، غالباً منجر به ارایه روش‌هایی زمان‌بر و پرهزینه شده است [15, 16]. در نتیجه به تکنیک نوینی نیاز است که زمان انجام آزمایش را کاهش دهد. در این مطالعه با استفاده از تکنیک پردازش تصویر به صورت آنلاین به تخمین تأثیر عامل محیطی دمای آب روی رفتار و رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا پرداخته شد. بنابراین پژوهش حاضر، با هدف امکان‌سنجی دمای بهینه رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا با استفاده از سامانه پردازش تصویر انجام شد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، سویه نانوکروپسیس مورد آزمایش، از گروه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر به مرکز رشد پارک علم و فناوری خلیج فارس واقع در بوشهر منتقل شد و آزمایشات در مرکز رشد صورت گرفت. در این مطالعه از گونه /وکولاتا در محیط کشت کانوی آزمایشگاه جلبک ایستگاه تحقیقاتی مرکز رشد وابسته به پارک علم و فناوری بوشهر استفاده شد. همچنین به منظور تکرارپذیری آزمایش‌ها، هر مورد سه بار تکرار شد. در ابتدا برای کشت اولیه از مقداری ریزجلبک که حاوی تعداد ۱۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر بود، با ترکیب مقداری آب خلیج فارس به همراه محیط کشت استفاده شد.

شرایط کشت: مقداری از /وکولاتا داخل ارلنی به حجم ۱/۵ لیتر کشت و از سه سطح دمای ۲۰، ۱۵ و ۲۵°C استفاده شد. قسمت گرمایشی دستگاه ساخته شده از هیتر، پایه هیتر، دماسنج الکترونیکی، تنظیم‌کننده دما و فن تشکیل شده بود. مهم‌ترین بخش قسمت گرمایشی دماسنج الکترونیکی، کنترل‌کننده دما و فن بود. از کنترلر دما به منظور تنظیم دمای محیط کشت ریزجلبک‌ها در مقدار ثابت استفاده شد، چرا که نوسانات دما باعث مرگ ریزجلبک‌ها می‌شد یا دست کم در رشد آنها اختلال ایجاد می‌کرد [17]. به دلیل اینکه در این تحقیق از سامانه ماشین بینایی استفاده شد، در نتیجه می‌توان با توجه به کادر دوربین به کارگرفته شده، قسمتی یا تمام ارلن را برای تصویربرداری به کار برد.



شکل ۱) سامانه پردازش تصویر متصل به محیط کشت ریزجلبک نانوکروپسیس/وکولاتا

هستند. در اثر اعمال این فیلترها روی تصویر، تصویر، نرم یا مات می‌شود. هر چه ابعاد پنجره بزرگ‌تر باشد، میزان مات‌شدگی نیز افزایش می‌یابد. معمولاً این فیلترها برای از بین بردن نویز از روی تصویر استفاده می‌شوند که نویز تصویر می‌تواند به صورت اتفاقی یا سیستماتیک باشد.

یافته‌ها

در دمای ۲۰ و ۲۵°C، سلول‌های ریزجلبک پس از یک روز، وارد فاز لگاریتمی شدند. در دمای ۱۵°C سلول‌های ریزجلبک رشد بسیار کمی داشتند. اختلاف بین میزان رشد سلولی در دماهای متفاوت معنی‌دار بود.

حداکثر تراکم سلول‌های ریزجلبک نانوکلوپسیس در روز هشتم پرورش به ترتیب $286/23 \times 10^6 \pm 38 \times 10^6$ سلول در هر میلی‌لیتر در تیمار شوری ۲۵°C و حداقل تراکم در تیمار دمای ۱۵°C با تراکم $168/58 \times 10^6 \pm 48 \times 10^6$ سلول در هر میلی‌لیتر حاصل شد.

اختلاف بین میزان رشد سلولی در دماهای متفاوت معنی‌دار بود ($p < 0.05$; جدول ۱).

جدول ۱) تراکم سلولی ریزجلبک نانوکلوپسیس/وکولاتا کشت یافته در سطوح دمایی متفاوت

روز	۱۵°C	۲۰°C	۲۵°C
۱	$7/41 \times 10^6 \pm 48 \times 10^6$	$8/56 \times 10^6 \pm 33 \times 10^6$	$11/81 \times 10^6 \pm 45 \times 10^6$
۲	$11/47 \times 10^6 \pm 34 \times 10^6$	$12/75 \times 10^6 \pm 38 \times 10^6$	$19/87 \times 10^6 \pm 20 \times 10^6$
۳	$33/94 \times 10^6 \pm 35 \times 10^6$	$37/81 \times 10^6 \pm 20 \times 10^6$	$37/07 \times 10^6 \pm 81 \times 10^6$
۴	$48/47 \times 10^6 \pm 25 \times 10^6$	$53/51 \times 10^6 \pm 46 \times 10^6$	$63/55 \times 10^6 \pm 36 \times 10^6$
۵	$48/66 \times 10^6 \pm 47 \times 10^6$	$74/73 \times 10^6 \pm 43 \times 10^6$	$81/45 \times 10^6 \pm 47 \times 10^6$
۶	$82/60 \times 10^6 \pm 37 \times 10^6$	$87/45 \times 10^6 \pm 29 \times 10^6$	$101/64 \times 10^6 \pm 30 \times 10^6$
۷	$160/13 \times 10^6 \pm 37 \times 10^6$	$217/15 \times 10^6 \pm 44 \times 10^6$	$281/27 \times 10^6 \pm 43 \times 10^6$
۸	$168/58 \times 10^6 \pm 48 \times 10^6$	$228/25 \times 10^6 \pm 45 \times 10^6$	$286/23 \times 10^6 \pm 38 \times 10^6$
۹	$125/86 \times 10^6 \pm 47 \times 10^6$	$168/25 \times 10^6 \pm 45 \times 10^6$	$240/16 \times 10^6 \pm 38 \times 10^6$

نرخ رشد ویژه در تیمار دمای ۲۵°C ($13/4 \pm 0.05$) نسبت به تیمارهای دمای ۱۵°C ($12/91 \pm 0.11$) و ۲۰°C ($13/17 \pm 0.33$) افزایش معنی‌داری داشت. به ترتیب الگوریتم‌های رگرسیون خطی ($R^2 = 0.84$)، پرسپترون چندلایه ($R^2 = 0.88$) و پردازش گوسین ($R^2 = 0.78$) نتایج خوبی را نشان دادند، اما رگرسیون خطی ساده حاکی از عدم موفقیت الگوریتم مذکور بود ($R^2 = 0.45$; جدول ۲). در پردازش گوسین، ضریب همبستگی ($R^2 = 0.78$) از میان داده‌های آماری مذکور ضریب همبستگی قابل قبولی توسط سامانه به دست نیامد.

در شبکه عصبی مصنوعی، تمامی نرون‌های ذکر شده آزمایش شد و پس از ارزیابی بهترین شبکه با تعداد ۸ نرون مشخص شد که بیشترین مقدار دقت و کمترین میزان خطا به ترتیب ۰/۹۵۰۸۲ و ۰/۱۰۷۶۴ بود (نمودار ۱).

جدید تولید می‌شوند با این تفاوت که رنگ مورد نظر در CMY باید به صورت فیزیکی ایجاد شود.

پردازش تصویر: هدف کلی در این مرحله، شناسایی ویژگی‌هایی از تصویر بود که بتوان از آنها برای کاربرد مورد نظر خود استفاده کرد. برای استخراج اطلاعات، لازم بود که نمونه ارن مورد نظر از زمینه جدا شود و قطعه‌بندی تصاویر صورت گیرد. از تصاویر گرفته شده توسط برنامه Matlab 2012، تصاویر از فضای رنگی RGB به $L^*A^*B^*$ و CMY با استفاده از کدهای مربوطه تبدیل شدند. مقادیر XYZ براساس درصد رنگ‌های اصلی به صورت زیر محاسبه شدند [22]:

$$\begin{aligned} L^* &= 116f(Y/Y_n) - 16 \\ A^* &= 500 [f(X/X_n) - f(Y/Y_n)] \\ B^* &= 200 [f(Y/Y_n) - f(Z/Z_n)] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C &= 1 - R \\ M &= 1 - G \\ Y &= 1 - B \end{aligned}$$

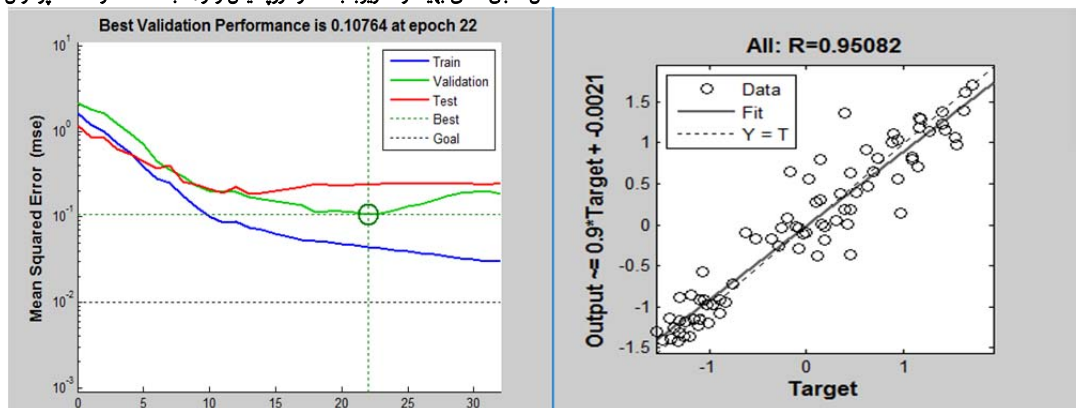
$$\begin{aligned} C &= 1 - R \\ M &= 1 - G \\ Y &= 1 - B \end{aligned}$$

شبکه عصبی مصنوعی: برای انجام آزمون این بخش از برنامه Matlab 2012 برای پیش‌بینی استفاده شد. این شبکه‌ها برای تخمین و تقریب کارایی بسیار بالایی از خود نشان داده‌اند. با استفاده از دانش برنامه‌نویسی رایانه می‌توان ساختار داده‌ای طراحی کرد که همانند یک نرون عمل نماید. سپس با ایجاد شبکه‌ای از این نرون‌های مصنوعی به هم پیوسته، ایجاد یک الگوریتم آموزشی برای شبکه و اعمال این الگوریتم به شبکه آن را آموزش داد. به منظور استخراج ویژگی‌های رنگی شبکه‌های عصبی مصنوعی با یک لایه مخفی با تعداد نرون‌های متفاوت (از ۴ تا ۲۰) طراحی و ارزیابی شد و نتیجه ساختار بهینه گزارش شد.

تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Matlab 2012 و Weka 3 از طریق آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره برای بررسی اختلاف بین میزان رشد سلولی در دماهای مختلف، الگوریتم رگرسیون خطی، رگرسیون خطی ساده برای پیش‌بینی داده‌ها، پرسپترون چندلایه و پردازش گوسین برای پردازش تصویر صورت گرفت. بر خلاف پرسپترون‌های یکتا، شبکه‌های چندلایه می‌توانند برای یادگیری مسایل غیرخطی و همچنین مسایلی با تصمیم‌گیری‌های متعدد به کار روند. در این قسمت نیز از این شبکه برای آموزش و یادگیری استفاده شد. پردازش گوسین یک روش نوین و جدید است که به تازگی الگوریتم مذکور را در برنامه Weka 3 قرار داده‌اند و این پردازش بیشتر برای پردازش تصویر به کار گرفته شده است. این فیلترها، موجب حذف فرکانس‌های بالای تصویر و تولید یک تصویر از فرکانس‌های پایین

جدول ۲) نرخ رشد ویژه ریزجلبک نانوکلوپسیس/وکولاتا در سطوح دمایی متفاوت

تیمار	ضریب همبستگی	میانگین مطلق خطا	خطای جذر میانگین مربعات	مطلق خطای نسبی (درصد)	خطای نسبی جذر میانگین مربعات (درصد)
الگوریتم رگرسیون خطی	۰/۸۴	۴۳۵۱۱	۵۱۶۸۱	۶۳	۶۳
الگوریتم پرسپترون چندلایه	۰/۸۸	۳۰۴۸۷	۳۸۰۰۱	۴۴	۴۶
الگوریتم گوسین	۰/۷۸	۵۶۶۳۵	۶۹۲۶۱	۸۲	۸۴
الگوریتم رگرسیون خطی ساده	۰/۴۵	۶۳۱۹۱	۷۴۳۸۰	۹۲	۹۰



نمودار (۱) نتایج شاخص‌های آماری حاصل از شبکه عصبی مصنوعی

بحث

هدف پژوهش حاضر، امکان‌سنجی دمای بهینه رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/اوکولاتا با استفاده از سامانه پردازش تصویر بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نوسانات ایجادشده در تغییرات مختلف دما می‌تواند اثرات معنی‌داری روی رشد و تراکم سلول‌های ریزجلبک /اوکولاتا ایجاد نماید. به‌گونه‌ای که تراکم سلول‌های ریزجلبک در دمای ۲۵°C در طول دوره پرورش به‌طور معنی‌داری بیشتر از تراکم به‌دست‌آمده در تیمارهای شوری ۱۵ و ۲۰°C بود. به‌طور کلی الگوریتم‌های پیشنهادی برای پیش‌بینی دقت داده‌های به‌دست‌آمده و پاسخ به سؤال این که می‌توان براساس رنگ و به کمک پردازش تصویر، رشد ریزجلبک را در شرایط محیطی متفاوت تخمین زد، به‌خوبی عمل کرد.

ملکوتیان و همکاران به بررسی اثر دما بر روی رشد و بازدهی لیپید ریزجلبک نانوکروپسیس پرداخته‌اند. آنها ابتدا با استفاده از اسپکتوفوتومتر، میزان رشد سلولی را به‌طور روزانه اندازه‌گیری و سپس به‌وسیله گاز کروماتوگرافی، تولید و تجمع لیپیدها را تعیین نمودند. آنها به این نتیجه رسیده‌اند که محدوده دمایی مناسب برای تولید لیپید ریزجلبک نانوکروپسیس ۲۰-۲۵°C بوده است [23] که نتایج پژوهش حاضر با آن شباهت داشت. همان‌طور که مشاهده شد، روش شبکه عصبی مصنوعی یک روش موفقیت‌آمیز برای تخمین رشد ریزجلبک بود. به‌عنوان یک نتیجه کلی می‌توان اعلام کرد سامانه پردازش تصویر در پیش‌بینی تاثیر عامل دما بر رشد ریزجلبک را می‌تواند با بیشترین دقت و کمترین خطا انجام دهد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم کنترل مناسب شوری و دمای آب در استخرهای باز پرورش ریزجلبک اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود که بهینه‌سازی کشت ریزجلبک براساس پارامترهای دما، غلظت نمک و غلظت دی‌اکسید کربن به کمک طراحی آزمایش برای انواع مختلفی از گونه‌های ریزجلبک آب شور صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

تکنیک پردازش تصویر، تخمین موفقیت‌آمیزی از روند رشد ریزجلبک نانوکروپسیس/اوکولاتا در سطوح دمایی متفاوت ارایه می‌دهد.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.
تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.
سهم نویسندگان: علیرضا زاهدی (نویسنده اول)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ مهدی رشوند (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۶۰٪)
منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

منابع

- 1- Nejat Veziroğlu T, Şahin S. 21st Century's energy: Hydrogen energy system. *Energy Convers Manag.* 2008;49(7):1820-31.
- 2- Smoot LD. Coal combustion. In: Bisio A. The wiley encyclopedia of energy and the environment. 1st Volume. Bisio A, Boots S, editors. New Jersey: Wiley; 1997. pp. 405-13.
- 3- Qu L, Wang Z, Zhang J. Influence of waste cooking oil biodiesel on oxidation reactivity and nanostructure of particulate matter from diesel engine. *Fuel.* 2016;181:389-95.
- 4- Huang G, Chen F, Wei D, Zhang XW, Chen G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Appl Energy.* 2010;87(1):38-46.
- 5- Metting FB. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 1996;17(5-6):477-89.
- 6- Yan C, Muñoz R, Zhu L, Wang Y. The effects of various LED (light emitting diode) lighting strategies on simultaneous biogas upgrading and biogas slurry nutrient reduction by using of microalgae *Chlorella sp.* *Energy.* 2016;106:554-61.
- 7- Demirbas A. Progress and recent trend in biodiesel fuels. *Energy Convers Manag.* 2009;50(1):14-34.
- 8- Sheehan J, Camobreco V, Duffield J, Graboski M, Shapouri H. An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles [Internet]. Colorado: National Renewable Energy Laboratory; 1998 [cited 2016 Sep 20]. Available from: <https://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24772.pdf>
- 9- Li X, Hu HY, Zhang YP. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus sp.* under different cultivation temperature. *Bioresour Technol.* 2011;102(3):3098-102.
- 10- Griffiths MJ, Harrison STL. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycol.* 2009;21(5):493-507.
- 11- Han F, Pei H, Hu W, Zhang S, Han L, Ma G. The feasibility of ultrasonic stimulation on microalgae for efficient lipid accumulation at the end of the logarithmic

- motile *Chlorella* micro-alga at various volume fractions: Applications to intensified photobioreactors. *J Non-Newton Fluid Mech.* 2016;231:91-101.
- 18- Yam KA, Papadakis SE. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *J Food Eng.* 2004;61(1):137-42.
- 19- Almeida SGM, Guimarães FG, Ramírez JA. Feature extraction in Brazilian Sign Language Recognition based on phonological structure and using RGB-D sensors. *Expert Syst Appl.* 2014;41(16):7259-71.
- 20- Pedreschi F, León J, Mery D, Moyano P. Development of a computer vision system to measure the color of potato chips. *Food Res Int.* 2006;39(10):1092-8.
- 21- Neuhauser S, Handler J. Colour analysis of the equine endometrium: Comparison of spectrophotometry and computer-assisted analysis of photographs within the L*a*b* colour space system. *Vet J.* 2013;197(3):753-60.
- 22- Teimouri N, Omid M, Mollazade K, Rajabipour A. A novel artificial neural networks assisted segmentation algorithm for discriminating almond nut and shell from background and shadow. *Comput Electron Agric.* 2014;105:34-43.
- 23- Malakootian M, Hatami B, Dolatshahi S, Rajabizade A. Determination of optimal temperature of *Nannochloropsis oculata* microalgae for biofuel production (biodiesel). *Energy Manag.* 2014;4(1):62-9.
- phase. *Algal Res.* 2016;16:189-94.
- 12- Kim SK, editor. Handbook of marine microalgae: Biotechnology advances. Amsterdam: Elsevier Science; 2015.
- 13- Ma X, Liu J, Liu B, Chen T, Yang B, Chen F. Physiological and biochemical changes reveal stress-associated photosynthetic carbon partitioning into triacylglycerol in the oleaginous marine alga *Nannochloropsis oculata*. *Algal Res.* 2016;16:28-35.
- 14- Omid M, Mahmoudi A, Omid MH. Development of pistachio sorting system using principal component analysis (PCA) assisted artificial neural network (ANN) of impact acoustics. *Expert Syst Appl.* 2010;37(10):7205-12.
- 15- Akbarpour E, Pazir MK, Zendehboudi AA. The effects of different concentration of salinities on the biochemical components and growth rate of single cell microalgae, *Tetraselmis chuii*. *Iran Sci Fish J.* 2014;23(1):9-22. [Persian]
- 16- Attaran Fariman G, Roozitalab M, Zadabas Shahabadi H, Sharifian S. Effects of salinity on growth and fatty acid composition of green microalgae *Dunaliella bardawil* as a candidate source for biofuel production. *J Aquat Ecol.* 2015;4(3):50-61. [Persian]
- 17- Souliès A, Pruvost J, Castelain C, Burghélea T. Microscopic flows of suspensions of the green non-