

ХАБИЛИТАЦИОННА РАЗШИРЕНА СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

на гл. ас. д-р Ваня Милкова Славова

за участие в конкурс за заемане на академична длъжност „доцент“
професионално направление 5.12. Хранителни технологии, научна специалност
„Технология на плодовите и зеленчуковите консерви“ обявен в Държавен вестник бр.
75 от 03.09.2024 г. от Институт по зеленчукови култури „Марица“ към
Селскостопанска академия - гр. София

Оптичните свойства на културните растения като пипер, домати, картофи, моркови, лук, магданоз, маруля, лук, чесън, домати и др., както и при хранителните продукти като мляко, натурален сок, масла и др. се определят от тяхната енергетична структура, която включва както заетите и свободните електронни енергетични нива, така и енергетичните нива на атомните трептения в молекулите в кристалната им решетка. Възможните преходи между тези енергетични нива като функция от енергията на фотоните са специфични за всяка биологична проба, в резултат на което спектрите и оптичните свойства също са характерни само за нея. По тази причина оптичните спектроскопски техники намират широко приложение за качествен и количествен анализ за оценка на суровини и готови продукти в плодовото и зеленчуковото консервиране.

Методите на съвременната оптоелектроника се използват във физикохимията и аналитичната химия за идентифициране на веществата и тела чрез взаимодействието им със светлината, която те пропускат или поглъщат.

Приложението на методите на спектралния анализ при определяне качеството на зеленчуковите култури, позволява да се извършват тестове през кратки интервали от време. Тестовите спомагат за по-бързо събиране на голяма база данни, която при статистическа обработка да даде точен резултат за качеството на пробата. Такъв подход е особено подходящ при първичен скрининг на генотипове за целите на селекцията.

Методиката приложима при неинвазивната оптична диагностика е екоиновация, тъй като е насочена към значителен и видим напредък благоприятстващ устойчивото развитие на технологиите за анализ на растителни и хранителни проби, чрез намаляване на въздействието върху околната среда, повишаване на устойчивостта към натиска върху околната среда и постигане на по-ефективно и отговорно използване на природните ресурси.

Оптичните свойства на биологичните обекти се променят като функция от температурата, налягането, външните електрични и магнитни полета и т.н., което позволява да се получи съществена информация за изследваната растителна или хранителна проба, а също така да се провери достоверността на теоретичните модели за тяхното описание. Спектралните разпределения получени от оптичните апарати успешно се прилагат в колаборация с техниките на изкуствен интелект като машинно обучение, задълбочено обучение и невронни мрежи като това води до оптимизация на използването на ресурсите и свежда до минимум въздействието върху околната среда. Приложението на оптоелектрониката в научно-приложната и технологичната дейност свързана със селекцията на зеленчукови култури и картофи и технологиите за отглеждането им, създаването на нови сортове и хибриди зеленчукови култури и картофи заема практично важна роля в осигуряване на устойчиво и конкурентно развитие на зеленчукопроизводството.

1. Приложение е авторски мобилни влакнесто-оптични инсталации за анализ на растителни проби, посадъчен материал, плодов сок и масла

Успешно са приложени две авторски мобилни влакнесто-оптични инсталации за групиране на натурални сокове и студено пресовани зехтини от различни производители, семена от различни сортове магданоз, репички и маруля, както и различни генотипове репички при съхранение, и моркови след реколтиране. Първата използва ефективна на флуоресценция на светлината като е проведен спектрален анализ на определена извадка от избран материал. Емисионният спектър представлява разпределението на дължината на вълната на емисия, измерена за постоянна дължина на вълната на възбуждане. Спектърът на възбуждане представлява зависимостта на излъченият интензивен сигнал, измерен за една дължина на вълната на сканиране спрямо дължината на вълната на възбуждане. Този спектър е представен като функция от дължината на вълната и интензитета на светлината, падаща върху фотодетектор. Втората система прилага ефекта на разсейване на светлината разсеяната светлина падаща върху отделна щаб леща под различен ъгъл. Системата е проектирана да засича едновременно 7 ъгъла на разсейване. Това предимство осигурява бързи и висококачествени измервания в биосензори за анализ на сок от праскови. Различни независими ъгли на разсейване могат да бъдат изследвани с един широкоспектърен източник на бяла светлина. Конструираният влакнесто-оптичен модул за измервания, използващ източник на бяла светлина и щаб лещи, може да се използва за определяне на спектрите на ъглово разсейване на прасковен сок. В конструкцията на модула е включена кварцова кювета, в която се налива желаната проба, след което се облъчва с бяла светлина. Всяка една от щаб лещите получава светлината от различните ъгли на разсейване на частиците, включени в състава на изследваната проба. Мултифункционалността на влакнесто-оптичния модул позволява да се детектират няколко частици, влизащи в състава на течната проба и по този начин да се оптимизира времето за анализ на течността.

1.1 Приложение на авторска мобилна влакнесто-оптична инсталация за анализ на студено пресовани зехтини

С приложение на авторска мобилна влакнесто-оптична инсталация използваща ефекта флуоресценция на светлината успешно са изследвани ромасе, върджин и екстра върджин зехтини от три различни региони на Европа - Гърция, Италия и Испания. Тези региони са избрани поради корелации в технологиите на отглеждане на маслините и пресоване на зехтините. Експериментите са проведени с възбуждащи източници излъчващи различни дължини на вълните. Най-подходящ е източник с дължина на вълната 395 nm. Пробите от екстра върджин зехтини се характеризират с флуоресцентни емисионни сигнали при 680 и 720 nm. Разликата в тяхната интензивност е свързана с околната среда и различната почва при отглеждане на маслините. Спектрите, получени чрез флуоресцентна спектроскопия, показват, че ромасе маслинови масла са най-чувствителни към възбуждаща дължина на вълната 395 nm. Това се отнася и за зехтините Extra Virgin. Интензивността на флуоресцентният сигнал при ромасе зехтините е в пъти по-нисък от този на тези от типа Extra Virgin. Отчетени са два характерни емисионни сигнала с дължина на вълната 500 и 675 nm. Локацията на най-интензивния емисионен сигнал на екстра върджин зехтина не зависи от географския произход на зехтина. Тази локализирана емисионна дължина на вълната може да се определи като характерна спектрална линия за екстра върджин зехтина. При изследването на зехтините ромасе е наблюдавано различно спектрално разпределение в сравнение със това на Extra Virgin и

Virgin. Спектралните разпределения се характеризират с три характерни емисионни дължини на вълната 400, 500 и 670 nm. Наблюдава се уширение и преминаване към синьо-зелената част на спектъра. Спектрите, получени от изследванията на студено пресованите маслинови масла се характеризират с емисионни сигнали при 330, 400, 430, 540 и 670 nm при различни дължини на вълната на възбуждащото лъчение. Най-характерният емисионен сигнал за зехтини Extra Virgin е при 680 nm, докато за romase е при 676 nm.

1.2 Приложение на мобилна влакнесто-оптична инсталация използваща ефекта разсейване на светлината за анализ на натурален плодов сок

С помощта на конструиран влакнесто-оптичен модул за широкоспектрално разсейване с щаб лещи и CCD фотодиод е направен цялостен анализ на сокове от праскова на 3 различни фирми и на прясно изцеден сок от праскова. Наблюдавана е разликата между ъгловото разпределение на сока от праскова от три различни производителя. Установено е, че сокът на първата фирма производител е най-чист. Няма отклонения от характерното за прасковения сок ъглово разсейване при нито една от пробите. За референтна стойност е използван прясно изцеден по време на изследването фреш от праскова. Поради тази причина е сигурно, че спектралното разпределение е на чист прасковен сок.

Не се наблюдава значително отклонение по отношение на ъгловото разсейване на натурални прасковени сокове и мултивитамини, което означава, че прасковата се съдържа в мултивитаминен сок. От анализа на пробите на сок от праскови може да се заключи, че повечето фирми, произвеждащи сокове от праскови, работят с консерванти и оцветители, а не с натурални продукти. Като се има предвид чувствителността на модула към много малки частици, може се заключи, че в състава на фабричните сокове почти няма прасковени органични вещества, с изключение на пробата от първата фирма производител, която е най-чиста.

1.3 Приложение на авторска мобилна влакнесто-оптична инсталация за сортово групиране на семена от различни сортове магданоз, репички и маруля

По време на изследванията, проведени чрез флуоресцентна спектроскопия на семената, с помощта на влакнесто-оптичен спектрометър, се вижда ясна корелация между техните емисионни сигнали. Флуоресцентната спектроскопия е приложима при изследване на семена от магданоз, репички и маруля. Спектралната настройка, базирана на флуоресцентните сигнали позволяват записването както на емисионния спектър, така и на спектъра на възбуждащия източник. Емисионният спектър представлява разпределението на дължината на вълната на излъчване, измерено за постоянна дължина на вълната на възбуждане. Спектърът на възбуждане представлява зависимостта на излъченият интензитет, измерен за една дължина на вълната на сканиране спрямо дължината на вълната на възбуждане. Този спектър се представя като зависимост на дължината на светлинната вълна от интензитета на светлината, падаща върху фотодетектора, който е част от инсталацията. Трите основни предимства на флуоресцентната спектроскопия са, че: методът е бърз, не изисква консумативи и може да се извърши на място в склада при неконтролирани условия. Решението за локални измервания е взето, за да се избегне повреда на пробите по време на транспортиране и по този начин да се осигури флуоресцентен анализ с висока чувствителност. Оптичните свойства на семена от магданоз, репички и маруля се определят от тяхната енергитична структура, която включва както заети, така и свободни електронните енергийни нива,

както и енергийните нива на атомните трептения на молекулите или на кристална решетка. Възможните преходи между тези енергийни нива, като функция на фотонната енергия, са специфични за семена от магданоз, репички и маруля, което води до уникални за тях спектри и оптични свойства. Семената на тези зеленчукови култури съдържат частици по-малки от дължината на вълната на видимата светлина. Частиците в мътна среда, каквато са семената, действат като независими източници на светлина, излъчващи некохерентно, поради което пробите видимо да флуоресцират. Следователно флуоресцентната спектроскопия намира приложение при тяхния анализ. Оптичните параметрите и спектралните свойства също се променят като функция на температурата, налягането, външното електрично и магнитно поле и др., което позволява получаване на съществена информация за промените в химичния и клетъчно морфологичния състав на семена от магданоз, репички и маруля. Този факт дава основание да се допусне твърдението, че за първи път мобилната флуоресцентна спектроскопия е приложена за анализ на семена от магданоз, репички и маруля по отношение на тяхното сортово групиране при неконтролирани условия. Ясно се наблюдава разлика в емисионния флуоресцентен сигнал при изследване на семена от магданоз, репички и маруля от различни сортове. Резултатите дават основание да се заключи, че флуоресцентната спектроскопия може успешно да се прилага като бърз инструмент за установяване на произхода на неизвестни семена от магданоз, репички и маруля при наличието на богата библиотека от спектри. Това би било успешен приложен инструмент в селекционните програми. Чрез проследяване на интензитета на сигнала се наблюдава устойчивост на семената от даден сорта и тяхните общи характеристики със семената от друг сорт. При семената от някой от сортовете емисионните флуоресцентни сигнали са близки по отношение на локализацията на дължината на вълната и нивото на интензитета на сигнала. Това се дължи на факта, че сортовете имат сходен клетъчен морфологичен състав когато се отглеждат на открито. Въпреки това, методът на флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за разграничаване на семената от тези сортове, тъй като корелацията в спектралното разпределение е достатъчно отчетлива и различима, за да се определи практически качествено принадлежността на семената към даден сорт. Методът на флуоресцентната спектроскопия практически може да се използва за качествено определяне на принадлежност на добитият посадъчен материал от магданоз, репички и маруля към даден сорт или селекционна линия.

1.4 Приложение на авторска мобилна влакнесто-оптична инсталация за сортово групиране на различни генотипове репички при съхранение

Продължителното съхранение при контролирани условия на грудки от репички води до намаляване на тяхното водно съдържание. Този процес е право пропорционален на продължителността на съхранение.

Оптичните свойства на репичките се определят от тяхната енергийна структура, което включва както заети и свободни електронни енергийни нива, така и на енергийните нива на атомните вибрации на молекулите в кристалната решетка.

Възможните преходи между тези енергийни нива, като функция на фотонната енергия, са специфични за репичките, което води до уникални за тях спектрални разпределения и оптични свойства. Репичките съдържат по-малки частици от дължината на вълната на видимата светлина. Частиците в мътната среда, като репичките, действат като независими източници на светлина, излъчващи некохерентно, поради което пробите видимо да флуоресцират.

Следователно флуоресцентната спектроскопия намира приложение за анализ на тази зеленчукова култура. Оптичните параметрите и спектралните свойства също се променят

като функция от температурата, налягането, външни електрични и магнитни полета и др., което позволява получаване на съществена информация за промените в химичния и клетъчно морфологичният състав на репичките. Анализът на графиките установи приложението на флуоресцентна спектроскопия за анализ на репички по време на съхранение в складово помещение при неконтролирани условия за определен период. Намаляването на интензитета на сигнала е право пропорционално на продължителността на съхранението (а то от своя страна е свързано с намаляване на водното съдържание в грудките поради изпарение). Трите основни предимства на флуоресцентната спектроскопия са, че методът е бърз, не изисква консумативи и може да бъде извършва на място в склада. Решението за локални измервания е взето, за да се избегне повреда на пробите по време на транспортиране и по този начин да се осигури флуоресцентен анализ с висока чувствителност. Нивото на интензитетът е достатъчно високо при много ниско водно съдържание, което означава, че методът е приложим за контрол на качеството на грудки по време на дългосрочно съхранение на репички в складови помещения при неконтролирани условия. Съществен момент във флуоресцентната диагностика по отношение на сравнението на образци след прибиране на реколтата и след определен период на съхранение е, че методът е силно чувствителен при определяне на водното съдържание на грудки от репички, съхранявани в складово помещение при неконтролирани условия. Този факт позволява флуоресцентната спектроскопия да се прилага като неинвазивен метод при анализ на качеството на продукцията от репички по време на съхранение във ферми и търговски обекти.

1.5 Приложение на авторска мобилна влакнесто-оптична инсталация за сортово групиране на различни генотипове моркови след реколтиране

Оптичните свойства на морковите се определят от неговата енергитична структура, която включва както заетите, така и свободните електронни енергитични нива, както и енергитичните нива на атомните вибрации на молекулите в кристалната решетка. Възможните преходи между тези енергитични нива, като функция от фотонна енергия, са специфични за моркова, което води до уникални за него спектрални и оптични свойства. Моркови съдържат частици, по-малки от дължината на вълната на видимата светлина. Частици в мътна среда, като моркова, действат като независими източници на светлина, като излъчват некохерентно и причиняват видимо осветяване на пробите, които флуоресцират. Резултатите заключават, че флуоресцентната спектроскопия може успешно да се прилага като бърз инструмент за установяване на произхода на неизвестни образци моркови в присъствието на богата библиотека от спектри. Това ще бъде приложен инструмент в селекционните програми. Чрез проследяване на интензитета на сигнала може да се наблюдава стабилността на даден сорт и неговите общи характеристики в сравнение с други сортове. Детектирани са емисионните флуоресцентни сигнали на образци от сортовете Nantes, Touchon и Flakkee, които са близки по отношение на локализацията на дължината на вълната и нивото на интензитет на сигнала. Това се дължи на факта, че сортовете имат сходен клетъчен морфологичен състав, когато се отглеждат на открито. Въпреки това, методът на флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за разграничаване на образци от тези три сорта, тъй като корелацията в спектралното разпределение е достатъчно отчетлива и различима, за да се определи практически качествено принадлежността на образците към даден сорт.

2. Адаптиране на спектрални флуоресцентни разпределения от мобилна авторска влакнесто-оптична система на плодове от различни сортове оранжерийни домати за обработка с машинно обучение

Успешно са адаптирани спектралните флуоресцентни разпределения от мобилна авторска влакнесто-оптична система на плодове от различни сортове оранжерийни домати за обработка с машинно обучение с помощта на следните алгоритми: Многокласов класификатор от групата на Meta, Logistic (група от функции), Bayes Net (група от Bayes), ЧАСТ (група от правила) и J48 (група от дървета) Средната точност, както и точността за двата оранжерийни сорта са равни на 100%. Заключение от това изчисление е, че всички случаи принадлежащи към действителния клас от оранжерийни домати от първия сорт са правилно класифицирани като представители на този сорт и всички проби от класа за представителите на оранжерийните домати от сорт 2 са правилно включени в предвидения клас. Стойността на статистиката Капа е приравнена на 1,0 и средната абсолютна грешка, средната квадратна грешка и относителната абсолютна грешка са равни на 0, също показва напълно правилна класификация. При приложение на Bayes Net се установи, че е необходимо време за изграждане на модела от 0,02 секунди. Също така, моделите изградени с помощта на други алгоритми се характеризираха с краткотрайно време за изграждането им, като най-дългото време е при Logistic - 0,24 секунди. За някои групи алгоритми различните проби от домати са разграничени със средна точност от 95%. Точността на анализа на представителите от първия оранжерийен сорт е точност до 100%. Докато при дискриминацията на представителите от втория оранжерийен сорт е 90% . Останалите 10% са неправилно класифицирани като оранжерийен сорт 1. Получените резултати потвърждават ефективността на подхода, комбиниращ флуоресцентна спектроскопия и машинно обучение при разграничаване на оранжерийните сортове домати.

3. Практическо приложение на портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за анализ на растителни проби, посадъчен материал и води

Опитната постановка включва лазерен диод (емисионна дължина на вълната 285 nm, оптична мощност 16 mW, DC), портативен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO. Растителните проби се поставят върху дуралуминиева стойка, която позволява приемане на емисионен сигнал от нея под 180° от U-образно оптично влакно. Влакното намалява аберациите и позволява генериране на емисионен флуоресцентен сигнал с по-добро качество. Пробата от води се налива в кювета, позиционирана в кюветодържач. Той позволява измерване на флуоресценция под 90°, посредством микрооптична филтърна система. Тя от своя страна намалява аберациите и позволява генериране на флуоресцентен сигнал с по-добро качество излъчен от пробата. Лазерното лъчение се отвежда от източника през кюветодържача до детектора последсвом оптични влакна с диаметър на сърцевината 200µm с със стъпален индекс на показателя на пречупване и числова апертура 0.22. Разделителната способност на спектрометъра е в интервала от 0.06 -20 nm, като тази при конкретния експеримент е 0,07 nm. Като източник в схемата да се използва лазерен диод (ЛД), тъй като спектралната му ширина е много малка. ЛД използван в експеримента има сравнително широка спектрална ширина на излъчване от около 30-40 nm, дължина на вълната на излъчване 285nm и ъгловото разпределение е в голям ъглов диапазон от +/-30°. Чувствителността на спектрометъра е в интервала от 200 nm до 1200 nm. Разделителната му способност е $\delta\lambda=5$ nm.

Спектралната инсталация на основата на флуоресцентни сигнали дава възможност да се запишат и емисионния спектър и спектъра на възбуждащия източник. Емисионният спектър представлява разпределението на емисионната дължина на вълната, измерена за една постоянна възбуждаща дължина на вълната. Възбуждащият спектър представлява зависимостта на интензивността на емисията, измерена за една дължина на вълната при сканиране спрямо възбуждащата дължина на вълната. Това спектрално разпределение е представено като зависимост от дължината на светлинната вълна от светлинния интензитет, попадащ върху фотодетектора в спектрометъра.

За конкретната схема фотодетектора е от типа CMOS модел S9132. Чувствителността му е в интервала от 200 nm до 1200 nm. Разделителната му способност е $\delta\lambda = 5$ nm. S9132 е избран, тъй като може да засича емисионно лъчение от компилация от семена с много висока интензивност.

Лазерното лъчение се отвежда от източника и попада на образеца. След като пробата флуоресцира емисионният сигнал попада върху U-образно оптично влакно с диаметър на сърцевината 200 μm със стъпален индекс на показателя на пречупване и числова апертура 0.22. То го отвежда до детектора. В спектрометъра светлинният сигнал се преобразува в електричен-цифров посредством USB 2.0 проводник, сваля се на компютър със софтуер AvaSoft8 и се експортира в Excel. Това позволява анализ, обработка и визуализация на резултатите от проведеното изследване.

3.1 Практическо приложение на портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за анализ на семена от домати и пипер третирани със съединения, стимулиращи растежа

В допълнение към конвенционалната методология за анализ на семена от домати и пипер е използван и методът на флуоресцентната спектроскопия. При проучването на литературата не е установено до момента да е прилаган описания експериментален подход за анализ на семена от домати и пипер, третирани с GA3, H2O и H2O2. За първи път флуоресцентната спектроскопия е приложена като сензорен метод за бърз избор на оптимални съединения, стимулиращи растежа на растенията. При анализ на спектралните разпределения получени в изследванията на семена от домати и пипер, третирани с GA3, H2O2 и SDW се наблюдава ясна разлика в спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между тях. Най-висока интензивност се наблюдава при 413 nm. Спектралните профили на контролните и третираните семена са идентични в диапазона 350–510 nm. Големите разлики между профилите се наблюдават от 400 до 450 nm. Максимумът на флуоресцентната емисия при семената от пипер се наблюдава при 450 nm. И двата вида семена са най-засегнати от H2O2, като при пипера е по-силно изразено. Спектралните разпределения на третираните семена от домати показват по-висока интензивност в сравнение с тези на пипера. Наблюдава се ясна разлика в спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между семена от домати и пипер, третирани с GA3. Спектралните разпределения на третираните семена от домати показват по-висок интензитет за разлика от тези на пипера. Наблюдава се много малка разлика в спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между семена от домати и пипер, наситени с H2O2. Спектралните разпределения на третираните семена от домати и пипер показват сходни интензитети на сигнала, което от своя страна води до заключението, че третирането с H2O2 води до стимулиране на покълването и процеса на растеж, както при семената на пипера *Capiscum annum L.*, така и при тези на домати *Lesculentum L.* Установена е разлика между спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал на нетретирани контролни семена от домати (стерилна дестилирана вода, SDW). Независимо от по-високия интензитет на

спектралното разпределение в семената на доматиите, той е значително по-нисък по интензитета от третираните семена с GA3 и H2O2, същото важи и за третираните семена от пипер.

3.2 Практическо приложение на портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за анализ на мръсни води от водоизточници

Взаимодействието на светлината със замърсените водни проби е сложен процес. При него се наблюдава разсейване и поглъщане. Причина за това са замърсяванията от различен произход, присъствието на които води до промяна във флуоресцентния спектър в сравнение с този на дестилирана вода.

Първите опити, които са направени, са върху водни проби от заустването на река Искър край пречиствателна станция Самоков. Пробата от край Драгушиново (С) е с най-висок интензитет. Силният флуоресцентен сигнал, получен от пробата се дължи най-вероятно на биологичните отпадъци от нерегламентирани сметища около селото. Вижда се, че проба С има най-висок интензитет на флуоресценция. Следват проби D (пречиствателна станция Самоков), В (Широки дол) и А (Лисец). Следователно проба С има повече флуорофори, които взаимодействат с възбуждащото лъчение, което води до флуоресциране, за разлика от другите. Измерена е и проба чист етилов алкохол. Пробата етилов алкохол има емисионна дължина на вълната при 370 nm и ниво на интензивност е 4009 а.у. Той е два пъти по-голям от интензитета на пробите от отпадъчни води.

Когато към пробите се добавят малки количества алкохол - А, В, С и D интензитетът на флуоресценция намалява за всички проби. Това е най-ясно изразено в проба С с добавяне на 5 µl етилов алкохол. В пробата присъстват голямо количество органични флуорофори, взаимодействието с етилов алкохол води до тяхното разграждане и следователно флуоресцентният сигнал намалява. От резултата следва, че в пробите С и D има най-голямо количество на органични замърсители, а проби А и В са по-малко замърсени. Добавянето на 15 µl етилов алкохол към пробите допълнително намалява интензитета на флуоресценция за всички проби. Сигнала е най-интензивен за проба D и нисък за проба С. Добавянето на по-големи количества етилов алкохол (500 µl,) към пробите води до по-ниско ниво на интензивния сигнал за всички сонди. Нивото на интензивност на флуоресцентният сигнал е най-високо за проба D и най-ниско за проба С. За проби А и В интензитетът на флуоресценцията почти не се променя. Характерно е, че всички проби без и с етилов алкохол имат емисионен сигнал при 360 nm. Проба А с и без етилов алкохол има такъв интензитет на флуоресценция, че добавянето на 15 µl алкохол има по-висок интензитет от добавянето на 500 µl. Интерес представлява поведението на проба В, в която добавянето на по-големи количества от 5 µl почти не променя интензитета на флуоресценция. Проба В е взета от самия заустващ канал в реката на пречиствателната станция и се предполага, че съдържа органични и неорганични флуорофори, както и по-голямо количество дезинфектанти. Следователно се приема, че добавянето на допълнителен етилов алкохол не променя интензитета на емисионния сигнал. Характеристиката на проба С и взаимодействието и с етилов алкохол показва, че в нея увеличаването на количеството алкохол води до намаляване на интензитета на сигнала. Следователно замърсяването му е от органични замърсители, които се разлагат при взаимодействие с алкохола.

Изследванията на проба D показват, че интензитетът на флуоресценция намалява с добавянето на различни количества алкохол. В проба D, както в проби А и В, добавянето на 500 µl води до емисионен сигнал с по-нисък интензитет, отколкото при добавянето на 15 µl. Това може се дължи на наличието на водоразтворими флуорофори, които не взаимодействат с добавения алкохол, при което флуоресцентният сигнал

намалява. Интерес представлява поведението на проба В, в която добавянето на по-големи количества от 5 µl етилов алкохол не променя интензитета на флуоресценцията. Изследванията на проба D показват, че интензитетът на флуоресценция намалява с добавянето на различни количества алкохол. В проба D, както в проби А и В, добавянето на 500 µl води до емисионен сигнал с по-нисък интензитет, отколкото при добавянето на 15 µl. Това може да се дължи на наличието на водоразтворими флуорофори, които не взаимодействат с добавения алкохол, при което флуоресцентният сигнал намалява.

3.3 Практическо приложение на портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за анализ на продукцията от домати (третираны и не третираны с дрожди (три щама BS14, E1 и P6)) и картофи след реколтиране

Изследвани са плодове от нетретираны растения от сортовете Local Dwarf (детерминантен), Пикадор (детерминантен) и Идеал (индетерминантен). Дължините на вълните на излъчване се дължат на съдържанието на някои флуорофорни съединения в домати, например нуклеокапсид (N) протеини, лектин, някои карбоксилни съединения и други. Между спектралните разпределения на плодове на домати от сортовете Local Dwarf и Пикадор се наблюдава известна корелация (емисионната дължина на вълната на Local Dwarf е 425 nm; емисионната дължина на Pикадор е 421 nm). Техните емисионны флуоресцентны сигнали са близки по отношение на емисионната дължина на вълната и ниво на интензитет на сигнала. Това е така, защото и двата сорта са детерминантны домати. Те са близки по биологичен и клетъчен морфологичен състав. Методът на флуоресцентната спектроскопия се прилага в това изследване за разграничаване на плодове на тези два сорта, тъй като корелацията в спектралното разпределение е достатъчно отчетлива и различима. Този факт се използва в това изследване, за да се определи принадлежността на плодове на домати към даден сорт. Между спектралното разпределение на плодове на домати от сортовете Local Dwarf и Идеал се наблюдава значителна корелация (дължина на вълната на излъчване за Local Dwarf е 425 nm; дължина на вълната на излъчване за Идеал е 410 nm). Техните сигнали на флуоресцентно излъчване не са близки и имат значително отклонение в локализацията на дължината на вълната и нивото на интензитета на сигнала. Методът на флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за разграничаване на плодове на тези два сорта, тъй като корелацията в спектралното разпределение е със значителна яснота и разграничение.

Между спектралното разпределение на плодове на домати от сортовете Пикадор и Идеал се наблюдава значителна разлика (дължината на вълната на излъчване за Пикадор е 421 nm; дължината на вълната на излъчване за Идеал е 410 nm). Техните сигнали на флуоресцентно излъчване не са близки и имат значително отклонение в локализацията на дължината на вълната и нивото на интензитета на сигнала. Тъй като разликите в спектралното разпределение е налична за тези два сорта, методът на флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за разграничаване на техните плодове. Методът на флуоресцентната спектроскопия практически може да се използва за качествено определяне на принадлежността на плодове към даден сорт. Методът се прилага успешно за разграничаване на плодове домати от различни сортове. Флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за анализиране на плодове на домати третираны с дрожди от неизвестны сортове и установяване на произхода им с достатъчно добре структурирана библиотека с данни. Тъй като може да се прилага локално върху плодове. Той елиминира повредата на пробата по време на транспортиране и осигурява високочувствителен анализ.

Направено е литературно проучване за провеждане на сходни изследвания за анализ на образци домати третирани с дрожди. Оказа, се че до настоящия момент не е прилаган в национален и международен план описания експериментален подход. За първи път е приложена флуоресцентна спектроскопия за определяне на съдържанието на различни щамове дрожди в образци домати при неконтролирани условия. При анализ на образците които са третирани с един и същи щам дрожди не се наблюдава разлика между спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между тях. При съпоставка на спектралните разпределения на плодовете от растения третирани с три щамове дрожди: E1, P6, BS14 се наблюдава значителна разлика в спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал. Метода успешно се прилага за разграничаване на образци домати третирани с различни щамове дрожди. При достатъчно добре структурирана библиотека от данни флуоресцентната спектроскопия може да се приложи за анализ на образци домати третирани с неизвестни щамове дрожди и да се направи заключение за съдържание на конкретен щам или компилация от щамове.

Обект на изследване при анализа на картофи са: С 617 (ранна селекционна линия), D 486 (ранна селекционна линия), Tresor (ранен сорт стандарт), С 619 (средно ранна селекционна линия), В 782 (средно ранна селекционна линия), Sante (средно ранен сорт), В 783 (средно късна селекционна линия), С 716 (средно късна селекционна линия), Agria (средно късен сорт стандарт). Изследвани са по 10 клубени от всеки сорт и селекционна линия по отделно. При анализ на емисионния флуоресцентен сигнал ранните картофи на селекционната линия е с много по-ниска интензивност от този на Tresor. При средно ранните картофи емисионния флуоресцентен сигнал на селекционната линия е с по-близка интензивност до този на Sante. При средно късните картофи емисионния флуоресцентен сигнал на селекционната линия е с доста близка интензивност до този на Tresor. При трите сорта се вижда ясна корелация между емисионния им сигнал. Резултатите дават основание да се заключи, че флуоресцентната спектроскопия може да се приложи успешно като бърз инструмент за установяване произхода на неизвестни клубени при наличие на богата библиотека от спектри. Това ще бъде един приложен инструмент в селекционните програми. Посредством проследяване на интензивността на сигнала може да се следи за стабилността на дадена селекционна линия и нейните общи черти с утвърден сорт от същия вид.

3.4 Практическо приложение на портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за анализ на складова продукция лук и чесън локално в складовото

Оптичните параметри и спектралните свойства се променят и като функция от температурата, налягането, външните електрични и магнитни полета и т.н., което позволява да се получи съществена информация за промяна в химичния и клетъчно морфологичния състав на чесъна. Анализирани са шестнадесет образци чесън (8 прорастнали и 8 непрорастнали) след 9 месечно съхранение в складово помещение с метода флуоресцентна спектроскопия поотделно. Размера на лъжливого стъбло, което е израстнало от вегетативната пъпка на всеки от образците е както следва: образец Разградски 80 - 6,2 mm, образец Разградски 11 - 0,3 mm, Пловдивски 157 - 0,5 mm, Разградски 4 -8,4 mm, Стрелкувац 4 - 1,2 mm, Разградски 117 – 3,6 mm, Разградски 119 - 7,4 mm, Монтански 113 - 5,8 mm. Установено е, че най-подходящата дължина на вълната на възбуждане е 285 nm. Това се дължи на факта, че само при нея има малка разлика в емисионните дължини на вълната между прорастнали и непрорастнали глави

на образците Разградски 11, Стрелкуващ 4 и Пловдивски 157 Спектралните разпределения на останалите образци с по-голямо прорастване се различават значително. При образец Разградски 11 се наблюдава съвсем малка разлика между спектралното разпределение на емисионния флуоресцентен сигнал между прорастнала и непрорастнала луковица, това означава, че загубата на съдържание на вода е почти незначителна. В следващите три образци – Пловдивски 157, Стрелкуващ 4 и Разградски 117 е установена правопрпорционална зависимост между интензитета на спектралната ивица на излъчване и нарастването на дължината на лъжливото стъбло. При съпоставката на 4-те образци от чесън, които са с по-голяма дължина на лъжливото стъбло, израснало от вегетативната пъпка отново се потвърждава, че корелацията в интензивността на спектралните им разпределения е правопрпорционална на нарастването на дължината на лъжливото стъбло (вследствие на загуба на вода). Интензивността на сигнала е достатъчно висока при много ниско съдържание на вода (късо лъжливо стъбло), което означава, че методът е приложим за контролиране на прорастването на лъжливото стъбло от луковици, съхранявани в складови помещения при неконтролирани условия. Съществен момент при флуоресцентната диагностика по отношение на съпоставката на прораснали и непрораснали образци е този, че методът е с висока чувствителност по отношение на определянето на съдържанието на вода в луковиците, съхранявани в складово помещение, при неконтролирани условия. Този факт позволява флуоресцентната спектроскопия да се прилага като неинвазивен метод при качествен анализ на продукцията от чесън по време на съхранение.

При анализ на складова продукция от лук обект на изследването са: Сортове: Асеновградска каба, Испанска каба, Конкурент бял, Юбилей и Робин и селекционни линии 250, 407 и 199. При провеждане на изследването е установено, че флуоресцентната спектроскопия е приложима за анализ на луковици при съхранение в складово помещение, при неконтролирани условия за срок от 3 и 6 месеца. Понижаването на интензивността на сигнала е правопрпорционално на продължителността на съхранението. Освен това е установено, че флуоресцентната спектроскопия е приложима за анализ на луковици на генотипове отгледани при конвенционално и редуцирано напояване. Понижаването на интензивността на сигнала е незначително (това от своя страна е свързано с намаляването на съдържанието на вода в растението, тъй като то е отгледано при редуцирано напояване 50%). Спектралното разпределение на луковиците от генотипове отгледани при конвенционално и тези отгледани при редуцирано напояване е подобно и характерно за сортотипа. Ясно се наблюдава разлика в емисионния флуоресцентен сигнал на сортовете и различните селекционни линии. Ясно се наблюдава разлика в емисионния флуоресцентен сигнал на селекционните линии от различен цвят, от един цвят, както и на различни сортове и сорт и селекционна линия.

Резултатите дават основание да се заключи, че флуоресцентната спектроскопия може да се приложи успешно като бърз инструмент за установяване произхода на неизвестни луковици при наличие на богата библиотека от спектри. Това ще бъде един приложен инструмент в селекционните програми. Посредством проследяване на интензивността на сигнала може да се следи за стабилността на дадена селекционна линия и нейните общи черни с утвърден сорт от същия вид.

4. Адаптиране на спектрални флуоресцентни разпределения от портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за обработка с машинно обучение за анализ на растителни проби и посадъчен материал

Приложенията базирани на компютърната визуализация и изкуственият интелект, работещи с автоматична дискриминация, при селскостопанска продукция са се завишили значително в последните години. Те се използват при анализи на формата, характеристиките на цвета и текстурата, като се прилага при автоматична диференциация на проби от културни растения. За да се извърши класификация според тези показатели софтуерно се използват, различни алгоритми за машинно обучение, които научават тези функции например Nyalala и др.

4.1 Адаптиране на спектрални флуоресцентни разпределения от портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за обработка с машинно обучение за анализ на генотипове лук, домати и картофи

Проведено е проучване за сравнение на полезността на алгоритмите за машинно обучение при разграничаване на линии и сортове картофи въз основа на избрани флуоресцентни спектроскопски данни. Изследвани са картофени клубени от две селекционни линии S 617 и S 716 и два сорта Трезор и Санте. Дискриминационният анализ е извършен с помощта на алгоритми за машинно обучение от различни групи. Сравнени са средните точности, матрици на объркване и стойности на F-мярка, прецизност, PRC (прецизно извикване), ROC (оперативна характеристика на приемника) и MCC (коефициент на корелация на Матюс), получени са модели, изградени с помощта на различни алгоритми. Селекционните линии и сортовете картофи са дискриминирани с много висока средна точност, равна на 95% за алгоритмите SMO (последователна минимална оптимизация) (група от функции), Naïve Bayes (група от Bayes), Hoeffding Tree (група от дървета), Многокласов класификатор (група от мета), PART (група от правила), IBk (базирано обучение с параметър k) (група от по-бавни). Моделите, разработени с помощта на избрани алгоритми, позволяват разграничаване на някои селекционни линии и сортове картофи с точност до 100%, а стойностите на F-мярката, прецизността, PRC зоната, ROC зоната и MCC достигат 1.000. Изследването е базирано на провеждане на анализ, чрез машинно обучение и обработка на спектроскопски данни от изследвани картофени клубени. В този контекст, картофените клубени от две селекционни линии (S 617 и S 716) и два сорта (Трезор и Санте) се отличават с помощта на алгоритми, избрани от групите Functions, Bayes, Trees, Meta, Rules и Lazy. За да се сравнят характеристиките при сортиране на картофени клубени по различни методи са използвани показателите матрица на объркване, средна точност, F-мярка, прецизност, PRC зона, ROC област и показатели за MCC. За селектиране са приложени алгоритмите SMO (Последователна минимална оптимизация), RBF (Radial Basis Function) Network, QDA (Quadratic Discriminant Analysis), многослоен перцептрон and LDA (Линеен дискриминантен анали. Класификаторът SMO осигурява средна точност от 95% за разграничаване на четири различни проби (две селекционни линии и два сорта) от по 10 картофени клубена. При матриците на объркването за класификацията когато е работено само със SMO, се наблюдава, че всички картофени клубени Трезор и Санте са правилно разграничени. Въпреки това, класификаторът на SMO неправилно класифицира 10% от картофените клубени, принадлежащи към селекционна линия S 617, като Трезор и 10% от селекционна линия S 716 като Санте. В допълнение, стойностите на другите показатели са най-високи за селекционни линии S 617 и S 716 в случай на F-мярка (0,947), прецизност (1.000), за селекционна линия S 617 в случай на PRC Area (0,991) и

ROC Area (0,998) и за Трезор и Санте в случай на MCC (0,937). Мрежовият класификатор RBF осигурява по-ниска средна точност на дискриминация (92,5%) от SMO. Въпреки че сортът Санте се отличава със 100% точност според матрицата на обръкването, 10% от другите три проби са неправилно класифицирани. Тъй като средната точност на класификацията е по-ниска от тази за SMO, други показатели за четирите проби също са по-ниски: 0,900–0,952 за F-мярка; 0,900–1,000 за прецизност; 0,779–0,970 за района на КНР; 0,902,–0,990 за ROC зона; и 0,867–0,937 за MCC. За класификатора QDA със същата средна точност (92,5%), класификацията на селекционна линия S 617 е доста неуспешна в сравнение с другите сортотипове. Само 70% от картофените клубени от селекционната линия S 617 са правилно класифицирани, докато всички останали проби са правилно разграничени (100%). QDA неправилно класифицира 30% от селекционна линия S 617 като Трезор. В резултат на това другите показатели от четирите типа са както следва: 0,824–1,000 за F-мярка; 0,769–1,000 за прецизност; 0,769–1,000 за района на КНР; 0,850–1,000 за ROC зона; и 0,798–1,000 за MCC. Резултатите за класификатора Multilayer Perceptron са много близки до SMO. Докато сортовете Трезор и Санте са напълно разграничени, успехът на класификацията е 90% за селекционна линия S 617 и 80% за селекционна линия S 716.

Средната точност е 92,5% в резултат на по-слабото разграничаване на селекционна линия S 716 в сравнение със SMO. Алгоритъмът LDA класифицира пробите с 90% средна точност, които е с по-нисък резултат в сравнение с други функционални алгоритми. По същия начин, въпреки че сортовете Трезор и Санте са правилно (100%) класифицирани, 90% и 70% от селекционна линия S 617 и съответно сортовете селекционна линия S 617 са правилно разграничени. Другите метрични стойности са както следва, F-мярка: 0,824–0,952; Точност: 0,769–1,000 for; КНР Площ: 0,755–1,000; ROC Площ: 0,947–1,000; МКЦ: 0,798–0,937. Като цяло, алгоритмите в групата функции разграничават по-точно сортовете Трезор и Санте, докато селекционна линия S 617 и селекционна линия S 716 са по-неправилно класифицирани. По-специално, сортът Санте се отличава със 100% за всички алгоритми. От двата алгоритъма Naive Bayes и Bayes Net Naive Bayes разграничава проби от четири картофени клубена с висока средна точност от 95%.

Резултатите потвърждават ефективността на машинното обучение алгоритми за разграничаване на селекционни линии и сортове картофи въз основа на флуоресцентни спектроскопски данни. В бъдещи изследвания тези алгоритми могат да бъдат приложени към данни, извлечени чрез обработка на изображения на различни линии и сортове картофи. Резултатите от предишни проучвания, налични в литературата, показват, че комбинацията от анализ на изображения и машинно обучение е полезна за разграничаване на клубени и може да се използва на практика, за да се избегне фалшификация на сортове с различни свойства.

Проведено е проучване представящо приложението на методи за машинно обучение (ML), използващи флуоресцентни спектроскопски данни за разграничаване на третирани и нетретирани с дрожди проби от домати. Тъй като традиционните техники за класификация са едновременно тромави и трудни, напоследък често се предпочитат методите на компютърното зрение и изкуствения интелект, които предлагат лесни, точни и бързи решения при класификационни изследвания на селскостопански продукти. Извършена е прецизна класификация на изследваните домати за различни цели с помощта на ML алгоритми. За разлика от предишни проучвания, това проучване представя приложение, базирано на ML, за разграничаване между третирани и нетретирани с дрожди проби от домати. Използваните сортове третирани домати са „Local Dwarf“, „Идеал“ и „Пикадор“. са изследвани спектрално с помощта на флуоресцентна спектроскопия и получените спектри са анализирани с шест различни ML алгоритъма, а именно Hoeffding Tree, PART, IBk, Filtered Classifier, Logistic и Bayes Net.

Резултатите от анализа демонстрират силната способност на различните ML методи да разграничават нетретирани и третирани с дрожди сортове домати.

Пробите от домати се отличават като третирани и нетретирани с дрожди с различни класификатори. Въз основа на класифициращите резултати, получени с помощта на ML алгоритми, стойностите на показателите за ефективност за всеки ML алгоритъм са сравнени. Резултатите показват, че методите на ML осигуряват успешна класификация за разграничаване на проби от нетретирани и третирани с дрожди домати. От шест различни изследвани ML алгоритми, HoeffdingTree и BayesNet разграничават домати „Local Dwarf“ проби от третирани и нетретирани дрожди, с еднаква най-висока средна точност до 100%. Тези от „Идеал“ се отличават с класификатора KStar с най-висока точност от 95%. Имайки предвид постигнатите резултати се констатира, че комбинирането на флуоресцентна спектроскопия и дискриминантен анализ с използване на различни класификаторите са обещаваща диференцираща процедура за разграничаване на различни третирани проби от домати.

Проведено е изследване при което данните от флуоресцентната спектроскопия са използвани за диференциация на луковиците, отгледани в режим на засушаване и условия на оптимално напояване. Въз основа на данните, получени с помощта на флуоресцентна спектроскопия, е възможно да се разграничат пробите от лук, отгледани при засушаване и нормални условия на поливане. Иновативните модели, използващи различни класификатори са използвани за оценка на разликите между пробите, подложени на режим на суша и режим на нормално поливане, както и между петте различни проби лук, включително три сорта и две линии.

Резултатите от дискриминантния анализ доказват, че флуоресцентните спектроскопски данни могат да бъдат полезни за разграничаване както на проби от лук, подложени на засушаване и оптимално напояване, така и на проби, включващи различни сортове и линии лук. Моделите, разработени въз основа на данни с най-висока дискриминационна мощност, получена за избрани дължини на вълните, позволяват класификацията на лука, растящ при суша и нормални условия на поливане с много висока коректност до 100% в случай на бели и червени селекционни линии. При сортовете Конкурент бял, Асеновградска каба и Тримонциум пробите, подложени на режим на суша и режим на нормално поливане, бяха дискриминирани с точност до 90% за всеки сорт. Избраните флуоресцентни спектроскопски данни са полезни за изграждане на модели за разграничаване на сортовете и селекционни линии лук. Точността на дискриминация достига 90% за пробите от сортовете Конкурент, Асеновградска каба, Тримонциум и белите и червените селекционни линии, подложени на засушаване и 84% за тези сортове и линии, растящи при нормални условия на поливане. Въз основа на получените резултати може да се заключи, че комбинирането на флуоресцентна спектроскопия и дискриминантен анализ с помощта на различни класификатори може да бъде обещаваща процедура за разграничаване на различни проби от лук.

4.2 Адаптиране на спектрални флуоресцентни разпределения от портативен влакнесто-оптичен спектрометър модел AvaSpec-ULS2048CL-EVO за обработка с машинно обучение за анализ на семена от различни генотипове праз

Пробите, които са обект на изследване са Старозагорски камуш, селекционна линия номер 4 и селекционна линия номер 39. Семената на прازа от сорта Старозагорски камуш, селекционна линия 4 и селекционна линия 39 са класифицирани с помощта на приложението WEKA (група за машинно обучение, University of Waikato, Хамилтън,

Нова Зеландия) въз основа на данните от флуоресцентната спектроскопия. Класификационни модели са създадени за трите вида семена като са сравнени по двойки по следния начин: Старозагорски камуш срещу селекционна линия 4, Старозагорски камуш срещу селекционна линия 39, и селекционна линия 4 срещу селекционна линия 39.

Моделът, разработен с помощта на IBk, е правилно класифицира всички случаи на Старозагорски камуш. За филтрираните класификатори, всички семена праз от Старозагорски камуш и селекционна линия 39 са правилно класифицирани, докато 20% от случаите от действителния клас на селекционна линия 4 са били неправилно включени в прогнозирания клас селекционна линия 36. Голямото смесване на случаи между класове се наблюдава за PART алгоритъм, който постига средна точност от 86,67% за разграничаване на три различни проби семена от праз. Когато матриците на обръкване за класификацията проведени с помощта на PART са оценени, е отбелязано, че всички от образците на Старозагорския камуш са точно разграничени.

Класификаторът PART обаче класифицира неправилно 10% семена праз от селекционна линия 4 като Старозагорски камуш и 20% от селекционна линия 4 като селекционна линия 39. Освен това класификаторът PART неправилно класифицира 10% на семена от праз от селекционна линия 39 като селекционна линия 4. За другите алгоритми за машинно обучение, семената на Старозагорския камуш са правилно разграничени от другите класове и смесването на случаите между селекционните линии. Стойностите на прецизност, F-мярка, MCC и ROC площ са били най-високи за Старозагорски камуш и достигнали 1.000 в случай на Logistic, Naive Bayes, Random Forest, IBk и филтриран класификатор. Ефективните алгоритми за повечето проби са IBk и Filtered Classifier. Всеки модел отличава Старозагорски камуш като сорт и селекционните линии 39 и 4 като такива с най-висока точност, докато най-голямото смесване на семена от праз е установено между селекционните линии.



Дата 9.10.2024

Изготвил:

гл. ас. д-р Ваня Милкова Славова