



## АНАЛИЗ НА МЕТОДИ И ИНСТРУМЕНТАРИУМ ЗА ОЦЕНКА НА КАЧЕСТВОТО НА КИСЕЛО МЛЯКО

**Златин Златев, Митко Петев, Антоанета  
Димитрова, Виолета Симеонова, Слав  
Динев, Женя Динева**

**Резюме:** В настоящия доклад е представена актуалността на проблема относно производството, консумацията и здравословността на млечните продукти, и в частност на киселото мляко. Посочени са нормативните методи за оценка на показателите за качество на кисело мляко, приети в Р.България и съобразени с изискванията на Европейския съюз. Разгледан е проблемът за обективно оценяване на качеството на млечни продукти посредством анализ на визуални изображения. Направен е обобщен анализ на известни оптични методи, използвани за оценка на качеството на кисело-млечни продукти.

### 1. Въведение

С прилагането на нови ферментационни технологии и участието на различни млечно кисели бактерии при производство на разнообразни и полезни за здравето млечни продукти се постига добър консервиращ ефект, нараства безопасността им и диетичния им потенциал, както и възможностите за разширяване и разнообразяване на асортимента. Ето защо преди, сега и за в

## ANALYSIS OF METHODS AND TOOLS FOR EVALUATING THE QUALITY OF YOGURT

**Zlatin Zlatev, Mitko Petev, Antoaneta  
Dimitrova, Violeta Simeonova, Slav  
Dinev, Jenia Dineva**

**Abstract:** The report presents the actuality of form-factor issues associated with the production, consumption and wholesomeness of dairy products, particularly yogurt. Mentioned are normative methods for assessing quality indicators of yogurt adopted in Bulgaria and in line with EU requirements. Discussed is the problem of objectively assessing the quality of dairy products through analysis of digital images. A comprehensive analysis is made of known optical methods used to assess the quality of yoghurt.

**Keywords:** yogurt, computer vision, bacteria counting

### 1. Introduction

With the implementation of new fermentation technologies and the involvement of various lactic acid bacteria in the production of various useful healthy Dairy products is achieved good preservative effect, increases safety and dietary potential and opportunities for expansion and diversification of the range. Therefore,

бъдеще млечно киселите бактерии са били, са и ще бъдат постоянен обект на научни изследвания от много учени [10,11,19]. За това свидетелства напоследък тенденцията към нарастване на броя научни трудове, публикувани в реферирани база данни „ScienceDirect” и Google Scholar (Фиг. 1) относно новостите при преработването на млякото (познато в чужбина като „yogurt”) [22,23].

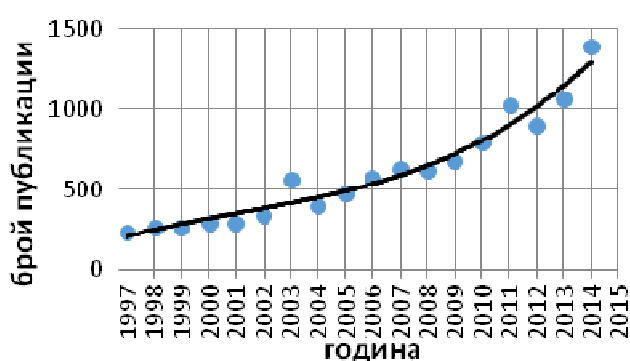
Като причини за това нарастване може да се приеме повишеното напоследък внимание и ориентация на съвременния консуматор към здравословно и безопасно хранене, базирано на функционалните храни и добавки, и най-вече на киселото мляко и млечните продукти. В резултат на това познанията в това направление нарастват значително.

Наред със създаването на нови, по-здравословни храни, минимизиращи риска от развитие на множество хронични или инфекциозни заболявания, се повишава функционалността на вече познати ни традиционни храни чрез модифициране по такъв начин, че същите да оказват нов специфичен здравословен ефект - т.нар. **функционални храни** [9,11,16]

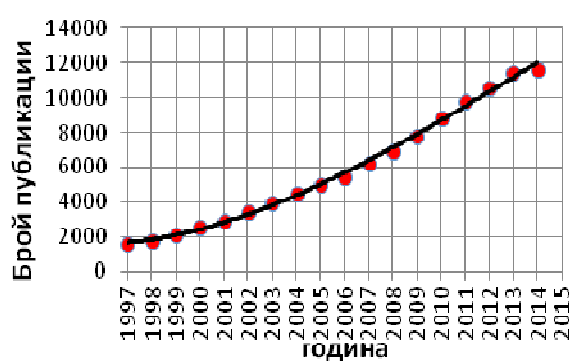
before, now and in the future, lactic acid bacteria have been, are and will be a constant subject of research by many scientists [10,11,19]. This is proved by the recent upward trend in the number of scientific papers published in peer-reviewed database "ScienceDirect" and Google Scholar (Fig. 1) on developments in the processing of milk (known abroad as "yogurt") [22,23].

The reasons for this growth may be regarded the increased attention lately and orientation of the modern consumer to Healthy diet based on functional foods and supplements, and especially the yogurt and dairy products. As a result, the knowledge in this field have increased significantly.

Along with creating new, healthier foods, minimizing the risk of developing many chronic or infectious diseases, increases the functionality of the already familiar to us through traditional foods modified in such a way that they can have new specific health effect - ie. **functional foods** [9,11,16].



а) Science Direct



б) Google Scholar

Фиг. 1. Брой публикации на научни изследвания на кисело мляко (ключова дума „yogurt“)

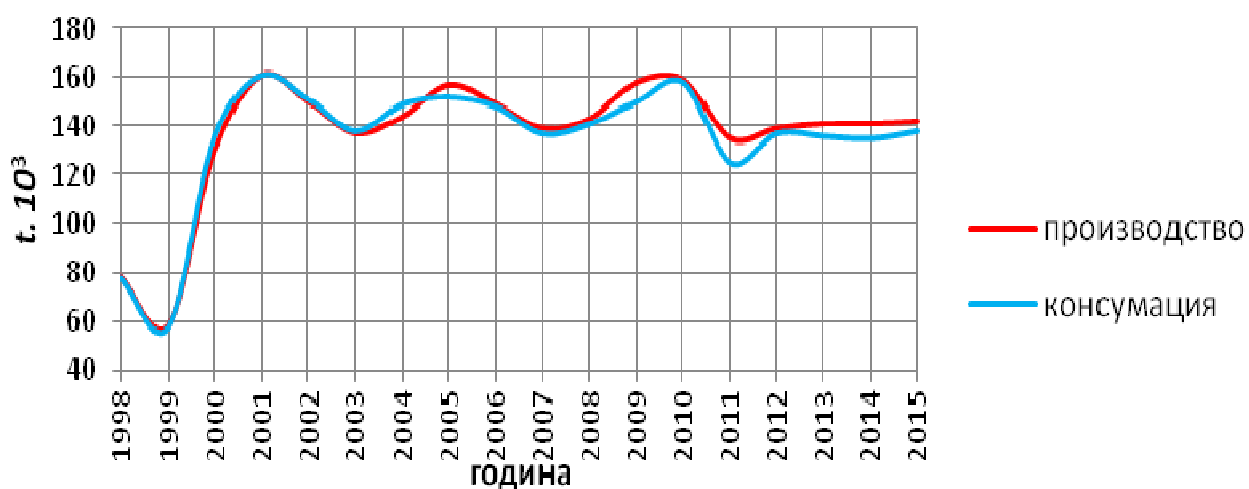
Fig.1. Number of publications on research of yogurt (key word "yogurt")

Днес широко информирания потребител вече базира избора си на хранителни продукти върху по-широк кръг от критерии

Today widely informed user already based his/her choice of food products over a wide range of criteria – both taste

- както по вкусови качества и хранителна стойност, така и относно техните потенциални полезни и здравословни ефекти. Това превръща традиционните и вече утвърдени млечни продукти в подходяща основа за търсенето и разработването на нови функционални храни и насочва усилията към характеризирани на млечно киселата микрофлора [10,19]. В резултат на това се наблюдава тенденция за запазване на високите нива на производство и консумация на краве кисело мляко в Р.България (Фиг. 2).

and nutritional value, as well as on their potential beneficial health effects. This makes the traditional and well-established dairy products in an appropriate basis for the search and development of new functional foods and directs efforts to characterize the lactic acid microflora [10,19]. As a result, there is a tendency to maintain high levels of production and consumption of cow's yogurt in Bulgaria (Fig. 2)



**Фиг. 2.** Производство и консумация на кисело мляко в Р.България  
**Fig.2.** Production and consumption of yogurt in Bulgaria

С присъединяването на страната ни към Европейския съюз (ЕС) млечният отрасъл се превърна в интегрираната част от Общия европейски пазар, както спрямо провежданата политика и регулации, съществуващи на този пазар, така и относно пазарната конкуренция.

Същевременно млечният отрасъл в Р.България, за разлика от този на останалите страни-членки на ЕС, притежава своята специфика – основан е най-вече върху говедовъдството, въпреки че България традиционно е производител и на овче, козе и биволско (в по-ограничени количества) мляко. Докато в другите страни на ЕС делът на кравето мляко е над 98%, то

With accession of our country to the European Union (EU) dairy industry has become an integrated part of the Common European Market, as well as to policy and regulations existing in the market and on market competition.

At the same time the dairy sector in the Republic of Bulgaria, unlike that of other member states of the EU, has its specificity - it is based mostly on cattle breeding, although Bulgaria is traditionally a manufacturer and sheep, goat and buffalo (in the limited quantities) milk. While in other EU countries the proportion of cow's milk

в Р. България той е между 85-90% (за 2012 г. е около 89% - по данни на МЗХ) с очаквана тенденция за нарастване поради продължаващото свиване на овцевъдството и новото маргинализиране при козевъдството [10].

Резултатите от задълбочения анализ свидетелстват за ясно очертана тенденция за запазване на високите нива на производство и консумация на млечни продукти от краве мляко в България и в Европейския съюз, като киселото мляко си остава един от най-консумираните продукти. Производството и контрола на този продукт следва да бъдат хармонизирани с европейските изисквания, както и съобразени с характера и спецификата на потребителските потребности.

Предвид значителните обеми на производство и консумация на кисело мляко и млечни продукти е необходимо:

- ориентиране на научните изследвания към биологичните характеристики на тези продукти с цел постигане на здравословност и безопасност и възможности за създаване на функционални храни от тях;
- прилагане на експресни техники за анализ и оценка на качеството - в лабораторни условия или директно на производствената линия;
- прилагане на съвременни технически средства;
- прилагане на съвременни методи за физикохимичен и микробиологичен анализ.

## **2. Организация на хладилната верига при съхранение на киселото мляко**

Киселото мляко е жив природен продукт с непрекъснато протичащи биохимични процеси под действие на попаднали в него микроорганизми. Затова всяка промяна на температурния режим на съхранението му води и до промяна във вкусовете и

is over 98%, then in the Republic of Bulgaria it is between 85-90% (for 2012 is about 89% - according to MAF) with expected increasing trend due to ongoing contraction sheep farming and in the new marginalization of goat farming [10].

The results of extensive analysis attest to a distinct tendency to maintain high levels of production and consumption of dairy products from cow's milk in Bulgaria and in the European Union, the yogurt remains one of the most consumed products. Production and control of this product should be harmonized with European requirements and tailored to nature and specifics of consumer needs.

Due to significant volumes of production and consumption of yogurt and dairy products is necessary:

- orientation of research to the biological characteristics of these products in order to achieve health and safety and possibilities for creating functional foods from them;
- application of express techniques for analysis and assessment of quality - in the laboratory or directly on the production line;
- application of modern technical equipment;
- application of modern methods of physical, chemical and microbiological analysis.

## **2. Organization of the cold chain upon storage of yoghurt**

Yogurt is live natural product with continuous biochemical processes occurring under the influence of microorganisms stuck in it. Therefore any change in the temperature regime of storage leads to a change in taste and natural qualities.

физическите му качества.

Например, при хладилно съхранение киселото мляко запазва качествата си до 21 дни, докато при нарастване на температурата му на съхранение бактериите в него се развиват по-активно и предизвикват вкисване или разваляне на продукта [1,2,10,19]. Ето защо, от критично значение за качеството на млечнокиселите продукти е спазването на т.нар. хладилна верига.

*Хладилната верига* е структурирана с:

- *Звено А (начално)* - склад на производителя (с температура на съхранение до 6°C);
- *Звено Б* - транспортиране на продуктите до складове на дистрибуторите/магазинната мрежа;
- *Звено В* - помещения за съхранение на продуктите (на дистрибуторите и търговците) и хладилната витрина в магазина - чрез нея продукта достига до крайния клиент;
- *Звено Г (крайно)* - последен етап, при който продукта достига до крайния клиент, който също може да повлияе на качествата на продукта според начина, по който го транспортира до дома си и го съхранява в собствения си хладилник.

Добре организираната хладилна верига гарантира по-дълъг срок на трайност, докато при липса на такава продуктите следва да се етикетират с изключително кратък срок, въпреки използването на качествени суровини и спазването на производствените процеси [7,10,16].

### **3. Нормативни методи за определяне на показателите за качество на кисело-млечни продукти**

Международният стандарт *БДС EN ISO 22000* обединява принципите на Система-та за анализ на опасностите и на критичните точки за контрол (*НАССР – Hazard Analysis and Critical Control Points*) с:

- *ISO 22004* за стъпките за нейното

For example, in cold storage the yogurt keeps its qualities 21 days, while increasing its temperature of storage the bacteria in it grow more active and cause souring or spoilage of the product [1,2,10,19]. Therefore, critical to the quality of fermented milk products is the keeping of cold chain.

*The cold chain is structured with:*

- *Point A* (primary) – warehouse of the producer (with storage temperature 6°C);
- *Point B* – transporting of the products to the warehouses of distributors/retail network;
- *Point C* - storage facilities for products (distributors and retailers) and shops – In the retail display cabinet through its product reaches the end customer;
- *Point D* (final) – the final stage in which the product reaches the end customer, which can also affect the quality of the product in the way in which it transported to his home and store it in his own refrigerator.

Well organized cold chain ensures longer durability, while the absence of such products should be labeled with a very short shelf life, despite the use of quality raw materials and adherence of production processes [7,10,16].

### **3. Normative methods for determining of the quality indicators of yoghurt**

International Standard *BDS EN ISO 22000* integrates the principles of the system of hazard analysis and critical control points (*НАССР*) to:

- *ISO 22004* for steps for its implementation, developed by the Commission of *Codex Alimentarius*;
- *BDS EN ISO 22005* – the traceability in the foodstuffs and

прилагане, разработени от Комисията на *Codex Alimentarius*;

- БДС EN ISO 22005 - за проследи-мост в храните и хранителната верига;
- СД ISO/TS 22003 Системи за управление на безопасността на хранителните продукти.

Основните нормативни актове относно етикетирането на млечни продукти са:

- Директива 2000/13/ЕО на Европейския парламент и на Съвета за хармонизиране на законодателствата на държавите-членки относно етикетирането, представянето и рекламата на храните - транспонирана в българското законодателство;
- Регламент 853/2004/ЕС - директно приложим в българското законодателство;
- Закон за храните;
- Закон за защита на потребителите;
- Наредбата за изискванията за етикетиране и представяне на храни;
- Наредба за специфичните изисквания към наименованията и етикетирането на мляко и млечни продукти, предлагани на пазара;
- Наредба за изискванията към някои частично или напълно дехидратирани млека, предназначени за консумация от човека;
- Наредба № 4 от 19.02.2008г. за специфичните изисквания при производството, съхранението и транспортирането на сурово краве мляко и изискванията за търговия и пускане на пазара на мляко и млечни продукти.

Основният национален стандарт за българското кисело мляко е БДС 12:2010. - отнася се за кисело мляко, произведено от краве, овче, биволско, козе или смесено мляко чрез заквасване със симбиотични култури на *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*, изолирани в България и неподлагани на генетична модификация, предназначено за

food chain;

- СД ISO/TS 22003 management systems of food safety.

The main normative acts on the labeling of dairy products are:

- Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council for harmonization of the laws of the Member States relating to the labeling, presentation and advertising of foodstuffs – transposed in Bulgarian legislation;
- Regulation 853/2004/EU – directly applicable in Bulgarian legislation;
- Food law;
- Law on Consumer Protection
- Regulation on the requirements for labeling and presentation of food;
- Regulation on specific requirements for designation and labeling of milk and milk products available on the market;
- Regulation on requirements for certain partly or wholly dehydrated milk for human consumption;
- Regulation № 4 of 19.02.2008 for the specific requirements for production, storage and transportation of raw cow's milk and requirements for trading and marketing of milk and milk products.

The main national standard for Bulgarian yoghurt is BDS 12:2010 – Refers to yogurt made from cow, sheep, buffalo, goat or mixed milk by inoculation with symbiotic cultures of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, isolated in Bulgaria and Failing to Submit genetic modification intended for human consumption [10].

#### **4. Hardware and software methods for objectively evaluating of the microbiological quality of yogurt**

консумация [10].

#### **4. Програмно-технически методи за обективно оценяване на микробиологичния статус на кисело мляко**

Преброяването на бактериите е приложимо в различни научни и индустриални дейности (биотехнологии, патология, анализ на храни и др.). Персоналното му извършване от хора експерти е много продължително и е предпоставка за възникване на субективни грешки. Ускоряването на този процес е възможно чрез автоматизиране с прилагане на системи за компютърно зрение и подходящи програмно-технически системи за получаване, обработка и анализ на изображения. Положителната оценка по различни критерии при направено сравнение между човешкото и компютърното зрение са в полза на последното [16].

Системите за машинно зрение са подходящи за прилагане:

- където видеокамерите могат да заменят два или повече работници;
- в опасни технологични среди, където операторът е затруднен при наблюдението на технологичния процес;
- при управление на процеси с необходимост от вземане на решенията в реално време - с помощта на микропроцесорно устройство;
- където е от значение точността на определяне на геометричните и топологичните параметри на инспектираните обекти - зависи от резолюцията на камерата.

Ето защо, според анализа на публикуваните напоследък изследвания за определяне на микробиологичния статус на хранителни продукти, прилагането на системи за компютърно зрение е основно приоритетно направление при автоматично определяне на признаците на микробиологични проби за развитие на бактериите.

Bacteria counting is applicable in various scientific and industrial activities (biotechnology, pathology, food analysis and more.). Its personal performance of people experts is very prolonged and is a prerequisite for the emergence of subjective errors. The acceleration of this process is possible through automation with application of computer vision systems and appropriate hardware and software tools for receiving, processing and analysis of images. The positive assessment by different criteria when making a comparison between human and computer vision are in favor for the last [16].

Machine vision systems are suitable for application:

- where cameras can replace two or more employees;
- in dangerous technological environments where the operator has difficulty in monitoring the process;
- in the management of Processes with the necessity of making decisions in real time-using a microprocessor device;
- where relevant precision of geometric and topological characteristics of inspected objects - depends on the resolution of the camera.

Therefore, according to the analysis of the recently published studies to identify the microbiological status of food products, the application of computer vision systems is a major priority area in the automatic determination of the features of microbiological samples for bacterial growth.

These systems successfully interpreted in the most natural way

Тези системи успешно интерпретират по най-естествен начин дейността на експерта при определяне на типа и разпознавателните признаци, както и преброяването на бактериите.

Въпреки, че между компютърното и машинното зрение има някои разлики, то и при двата метода се използват видео камери или други оптични устройства (лазерни скенери, акустико-оптични устройства и др.) [3,4,7].

*Системите за машинно зрение* се прилагат широко при инспекция на различни индустриални обекти непосредствено на производствената линия. Характеристиките им са:

- улеснено използване от потребителя;
- повтаряемост на резултатите;
- защитеност на оборудването от влиянието на смущения от производствена среда;
- голямо бързодействие на апаратната част;
- ниска себестойност на оборудването.

*Системите за компютърно зрение* се използват основно за академични и научно изследователски цели. Характеристиките им са:

- алгоритмичност на създаването програмно осигуряване;
- задълбочен теоретичен анализ на получаваните резултати;
- добра теоретична и практическа подготовка на оператора.

Като предмет на изследванията биологичните продукти са твърде комплексни и получените от тях изображения съответстват на посочените по-горе характеристики, с което се проявяват отчетливо предимствата и недостатъците на системите за обработка на изображенията.

Освен специфичните за двете системи характеристики, влияещи върху разпознаването на обектите в изображения,

the activities of the expert in determining the type and the recognition features and counting the bacteria.

Although between the computer and machine vision are a few differences both methods are used video cameras or other optical devices (laser scanners, acoustic optical devices, etc.). [3,4,7].

*Machine vision systems* are widely used in various industrial inspections of objects directly on the production line. Their characteristics are:

- facilitated solution for user;
- repeatability of results;
- protection of the equipment from the effects of disturbances from the production environment;
- high performance of the hardware;
- low cost of the equipment.

*Computer vision systems* are used primarily for academic and research purposes. Their characteristics are:

- structured basis of creation of the software;
- a thorough theoretical analysis of results;
- good theoretical and practical training of the operator.

As an object of the investigations, the biological products are too complex and the resulting images of them correspond to the above-mentioned characteristics, which exhibit distinct advantages and disadvantages of the systems for image processing.

Besides the specific characteristics of both systems, affecting recognition of objects in images, these objects have many common features. Through them can be developed different strategies of identification applicable to various object types.



тези обекти имат и много общи характеристики. Чрез тях могат да се разработват различни стратегии за разпознаване, приложими за различни по вид и тип обекти.

Например, чрез компютърно зрение се наблюдават безопасно рискови за здравето на човека обекти с насочена лазерна или друга интензивна светлина или се определят точно размери на обекти, докато това е извън възможностите на човешкото зрение.

От друга страна, пренастройването на системата за компютърно зрение в работен режим изисква специални познания и използване на интерфейсни средства, а при човека това може да стане с устно указание.

Приложението на различните методи за разпознаване на обекти в конкретни области (напр., броене на клетки или колонии от бактерии, определяне на разнообразни техни топологични и геометрични параметри и др.) е подробно описано в множество публикации, по-популярни от които са:

- ❖ *Selinumni* и *колектив* представят софтуер за анализ на изображения *CellC*, за определяне параметрите на бактерии от изображения на зрителни полета от микроскоп. Използваният програмен продукт за автоматично броене на бактерии и сравнения с общия брой бактерии предлага и количествено определяне на морфологията на клетките. Резултатите от верификацията на представения софтуер показват корелация над 0,98 между определените с програмния продукт брой бактерии и този, определен от експерт. Друго предимство е, че софтуерът е свободно достъпен в Интернет [18,21].
- ❖ *Hong Men* и *колектив* предлагат метод за точно определяне на броя бактерии в индустриално охладена вода, при който оригиналните изображения се конвертират в нива на сиво, премахват се

For example, by computer vision are observed safely risk for human health objects with directed laser or other intense light or pinpoint dimensions of objects while it is beyond of the human vision.

On the other hand, the adjustment of the system for computer vision in working mode requires special knowledge and use of interface resources and in humans it can be done with an oral instruction.

The application of different methods for object recognition in specific areas (eg, counting cells or colonies of bacteria, identifying their various topological and geometrical parameters, etc.) Is described in detail in numerous publications, more popular ones are:

- ❖ *Selinumni at al.* provide software for image analysis *CellC*, to determine the parameters of the bacteria from the image of the visual field of the microscope. The used software for automatic counting of bacteria and compared to the total number of bacteria available and the quantification of cell morphology. The results of the verification of the submitted software correlated over 0.98 between designated with the software number of bacteria and the one set by an expert. Another advantage is that the software is freely available on the Internet [18,21].
- ❖ *Hong Men at al.* proposed a method for accurately determining the number of bacteria in industrial cooling water in which original images are converted to grayscale removes the external elements of the captured vessels by applying the principle of lying in a circle three

външните елементи на заснетите съдове чрез прилагане на принципа на лежащите по окръжност три точки. След това се използва прагова сегментация, трансформация на разстояния и разделящ алгоритъм за сегментиране на бактериите и накрая чрез алгоритъм за търсене и броене на бактериите. Подчертава се значителното повишаване на точността и ефективността на броенето на бактерии чрез този метод, независимо от формата и размерите на бактериите [15].

- ❖ *Wu и Shah* предлагат модел за представяне на спектрални данни с голяма размерност във вид на сечение на мултиспектрален куб и обработката на тези двумерни сечения по методи за обработка на изображения. Данните са обработени чрез комбиниране на информация на ниско ниво и такава на високо контекстно ниво. Направен е сравнителен анализ между предложения модел и често използваните техники за обработка на двумерни изображения. Според резултатите от тестовете на предложения модел с хистологични проби, дефинираните в модела пространствени и спектрални ограничения са приложими при слаб контраст в изображенията и са силно зашумени. Според авторите, спектралните данни показват по-добри качества при разпознаване на обекти, в сравнение с данните, получавани от цифрови изображения. [20] Подобен метод се разглежда и в други литературни източници [17]
- ❖ *Kemmler и колектив* разглеждат проблема за откриване на микроорганизми в изображения, получени с микроскоп. Освен бактерии, изображенията могат да включват и други силно затрудняващи разпознаването на микроорганизмите странични обекти (напр., пясъчинки). Използвайки подход за

points. Then, using a threshold segmentation, transformation of distances separating algorithm for segmentation of the bacteria, and finally through the search algorithm and counting of bacteria. Emphasizing the significant increase in the accuracy and efficiency of counting bacteria using this method, regardless of shape and size of bacteria [15].

- ❖ *Wu and Shah* propose a model for the representation of the spectral data with a large dimension as a section of the multispectral cube and the processing of these two-dimensional sections in methods of image processing. Data are processed by combining the information of the low level and such a high level context. A comparative analysis between the proposed model and commonly used techniques for processing of two-dimensional images. According to the test results of the proposed model with histological samples defined in the model spatial and spectral limitations applicable in low contrast images and are very noisy. According to the authors, spectral data showed a good performance in object recognition, compared with the data obtained from digital images [20]. A similar process is seen in other literature [17].
- ❖ *Kemmler et al.* examined the problem of detecting micro-organisms in images obtained with a microscope. Moreover bacteria can include images and other highly limiting recognition of micro-organisms side objects (eg., Grit). Using semantic approach to segmentation by joining a particular pixel to a class,

семантична сегментация, чрез присъединяване на определен пиксел към даден клас, се създава база данни, съдържаща пет различни типа микроорганизми. Описани са няколко техники на компютърно зрение и машинно обучение за откриване на микроорганизми чрез обработка на изображения на ниво пиксел. Извършен е сравнителен анализ на методи за семантична сегментация. Този труд е подходящ като насока за избор на подходящи алгоритми за откриване на бактерии в зависимост от конкретната приложна област. Според авторите е препоръчително извършване на сравнителен анализ на различни методи за апроксимация с цел определяне на параметри на обекти в изображенията [13].

- ❖ *Barbedo* предлага метод за броене на микроорганизми, използващ серия от морфологични операции, чрез които обектите се изолират лесно в изображението и се преброяват. Първоначално се преобразува изображението от RGB в сиво, след което се прилага двумерен медианен филтър с цел премахване на шумове и други странични смущения. Размерът на обектите, върху които се прилага филтъра, зависи от следните основни фактори – размерите на изследвания обект, размера на страничните смущения и резолюцията на изображенията. Достигната е точност на разпознаване 90%, при общо отклонение от точността (предизвикано от слети обекти в изображенията) - 8% [5].

*Barbedo* (2013) създава алгоритъм за разпознаване и определяне броят на бактериите в изображения, получени с микроскоп и видеокамера. Според автора, известните вече множество методи за автоматизиране на процеса разпознаване и

creates a database containing five different types of microorganisms. Described several techniques of computer vision and machine learning to detect microorganisms by imaging pixel. Comparative analysis of methods for semantic segmentation. This work is suitable as a guideline for selection of appropriate algorithms for the detection of bacteria depending on the application area. According to the authors, it is advisable to make a comparative analysis of different methods of approximation to determine the parameters of the objects in the images [13].

- ❖ *Barbedo* provides a method for counting microorganisms using a series of morphological operations, by which objects are easily isolated in the image and counted. Initially, the image is converted from RGB to gray, then apply two-dimensional median filter to remove noise and other extraneous. The size of the objects on which the filter depends on the following factors - the size of the research object, the size of the lateral interference and image resolution. Achieved recognition accuracy is 90%, with a total deviation from accuracy (caused by the merged objects in the images) – 8% [5].

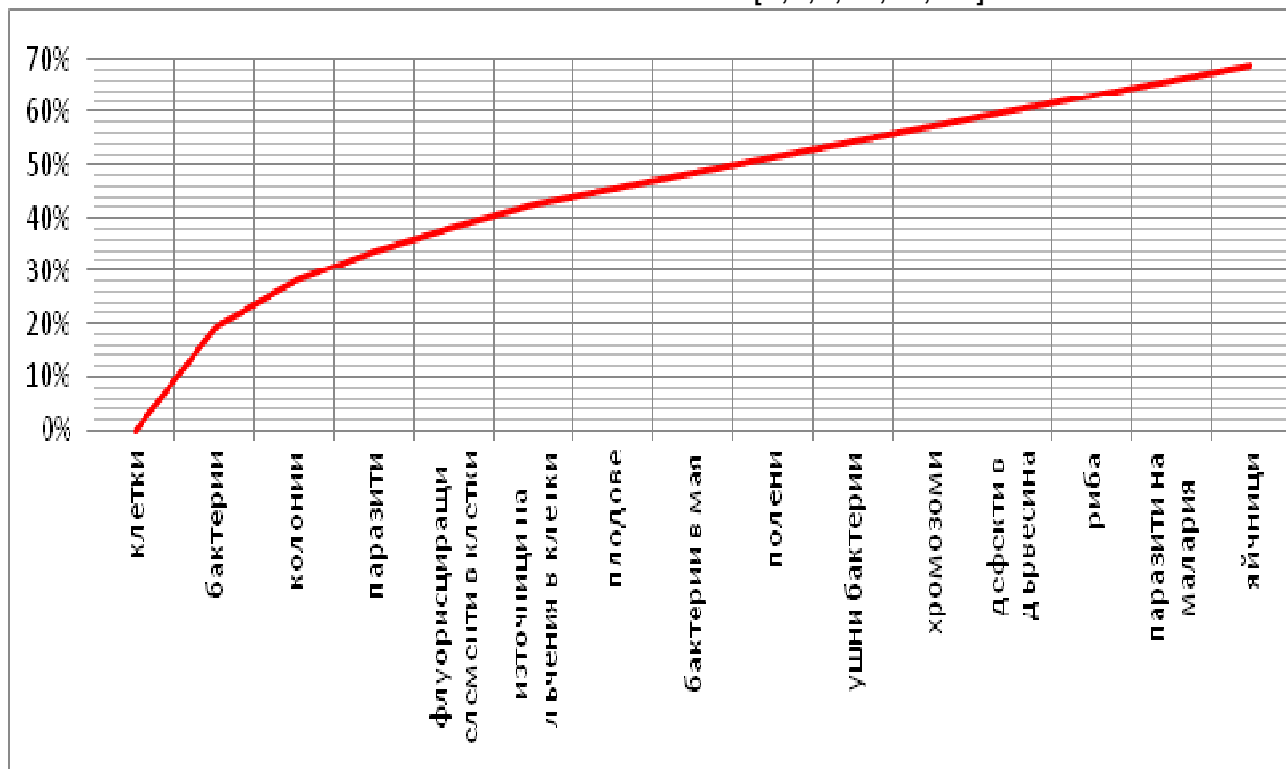
*Barbedo* (2013) creates an algorithm for recognizing and determining the number of bacteria in images obtained with a microscope and video camera. According to the author, numerous methods already known to automate the detection and counting of bacteria and microorganisms are of limited use because of its effectiveness only in specific

броене на бактерии и микроорганизми са с ограничено приложение поради ефективността си само в специфични приложения. Тестовите на предложения от него алгоритъм показват добри резултати за повечето практически приложения. Причините за възникване на грешки при работа на програмата са: голямата близост на обектите един до друг, слабия контраст между обектите и малката разлика между тях и фона. Авторът цели да открие начин за минимизиране на посочените недостатъци на алгоритъма и той да бъде приложен за разпознаване и изброяване, както на бактерии, така и на други типове обекти (клетки, семена, паразити и др.) [6].

Чрез обширен литературен преглед и ABC анализ на данните е определена степента на прилагане (в %) на методите за идентификация и броене на обекти (микроорганизми) (Фиг. 3) в известни приложни области [5,6,7,12,16,24].

applications. Tests of his proposed algorithm showed good results for most practical applications. Causes of errors during operation of the program are: the close proximity of objects to each other, the weak contrast between objects and the small difference between them and the background. The author aims to find a way to minimize the abovementioned disadvantages of the algorithm, and it can be applicable for the detection and enumeration of bacteria as well as other types of objects (cells, seeds, parasites, etc.) [6].

Through an extensive literature review and ABC analysis of the data are defined application levels (in%) of methods for the identification and counting of objects (microorganisms) (Fig. 3) in certain application domains [5,6,7,12,16,24].



**Фиг. 3.** Степен на прилагане на методи за разпознаване и изброяване на микроструктури  
**Fig.3.** Degree of application of methods for detection and enumeration of microstructures

За представителни са приети и включени в група А обектите на

As representative are accepted and included in Group A subjects of study

изследване с дял 70% от общото количество. От графиката е видно, че на първите три позиции преобладават изследванията на клетки, бактерии и колонии от бактерии, с прилагане на разглежданите методи. Следователно тези микроорганизми са обект на актуални и значими научните изследвания чрез методите за идентификация и броене на микроорганизми в микро изображения.

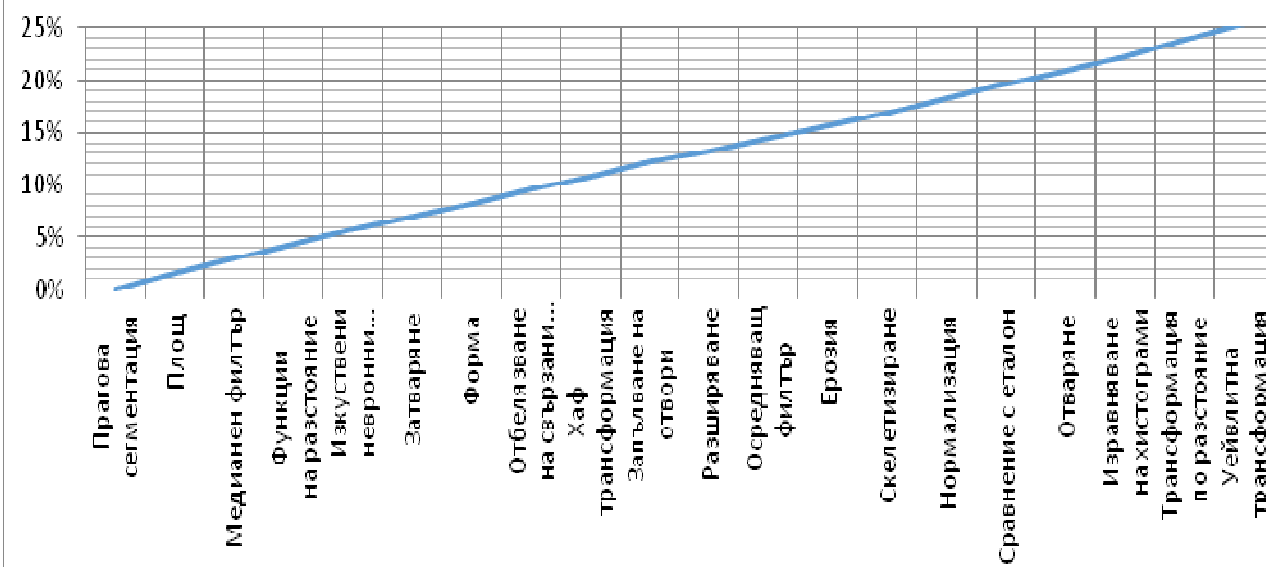
Чрез обширен литературен преглед и ABC анализ на данните е определена степента на прилагане (в %) на методите за идентификация и броене на обекти (микроорганизми) (Фиг. 3) в известни приложни области [5,6,7,12,18,24].

Определена е и степента на прилагане на софтуерни инструменти за идентификация, анализ и преброяване на микроорганизми в получени с микроскоп изображения (Фиг. 4), посочени в достъпните литературни източници [7,11,14,18,20].

with a share of 70% of the total. The chart shows that the first three positions of the researches are cells, bacteria, and colonies of bacteria by application of the methods concerned. Therefore, these organisms are the subject of recent and significant research through methods for the identification and counting of microorganisms in micro images.

Through an extensive literature review and ABC analysis of the data are defined application levels (in%) of methods for the identification and counting of objects (microorganisms) (Fig. 3) in certain application domains [5,6,7,12,18,24].

It also sets the level of implementation of software tools for the identification, analysis and counting of microorganisms obtained by microscope images (Fig. 4) listed in the available literature [7,11,14,18,20].



Фиг. 4. Степен на прилагане на софтуерни продукти за идентификация и преброяване на обекти в изображения

Fig.4. Degree of application of software products for identification and counting of objects in images

Нарастващият брой от рутинни операции и изследвания в много практически области изисква идентификация, разпознаване и

The increasing number of routine operations and research in many practical areas require identification, detection and enumeration of various

изброяване на разнообразни обекти (клетки, хора, паразити, растения, плодове и др.). Често в резултатите от тези ръчно извършвани от човека процедури се допуска субективизъм, а понякога и тенденциозност. Ето защо, посочените по-горе методи и програмни средства са подходяща алтернатива за решаване на проблема.

## 5. Заключение

Анализът на публикуваните напоследък изследвания за разпознаването и определяне на броя бактерии в биологични продукти показва, че използването на системи за компютърно зрение е важно приоритетно направление за автоматичното определяне на техните специфични признаци. Обяснява се с това, че системите за компютърно зрение по най-естествен начин интерпретират тази специфична за експерта дейност.

Оценяването на качествени показатели относно морфологията на киселото мляко чрез системи за компютърно зрение се базира на анализ на *2D* изображения чрез използването на геометрични, морфологични, цветови и текстурни признаци на изследваните микро обекти, като за класифицирането на бактериите в отделни категории често се използва комбинация от различни признаци.

Публикуваните резултати относно класификацията на елементи на микроскопски изображения съвсем не удовлетворяват изискванията за точност според нормативните документи. Причините за това са различни.

Използваните класификационни процедури обикновено формират линейни или нелинейни разделящи повърхнини между областите на класовете, което явно е неуспешен подход. Това обяснява и сравнително големите грешки при класифицирането на бактерии.

objects (cells, people, parasites, plants, fruits, etc.). Often the results of these hand-made by human procedures allow subjectivity and sometimes bias. Therefore, the above methods and software are suitable alternative to solve the problem.

## 5. Conclusions

The analysis of recently published studies identifying and determining the number of bacteria in organic products shows that the use of computer vision systems is important priority direction for the automatic determination of their specific characteristics. Explain that the systems for computer vision in the most natural way to interpret this specific expert activities.

Evaluation of qualitative indicators on the morphology of the yogurt through computer vision systems based on an analysis of *2D* images by using geometric, morphological, color and textural features of the studied micro objects for classification of bacteria in different categories often use a combination of different features.

The published results on the classification of elements of microscopic images is not meet the requirements for accuracy according to the regulations. The reasons are different.

Used classification procedures usually form linear or nonlinear separating surfaces between the areas of classes, which obviously are failed approach. This explains the relatively large errors in the classification of bacteria.

Moreover, in the classification of bacteria are used too many features without clear motivation and informativeness. It is not sufficiently

При това, за класификацията на бактерии се използва твърде голям брой признаци, без да е ясно обоснована тяхната целесъобразност и информативност. Не е достатъчно разработен и изяснен проблема с детайлния анализ на формата на 2D изображенията на бактерии и използването му при класификацията им.

Изменението на формата на контурите на изображенията е носител на съществена информация за много от качествата (напр., чистота, автентичност, жизненост и др.) на микроорганизмите. За разграничаването на отделните групи в извадката е логично прилагането на еднозначен подход, основан върху детайлен анализ на формата на изображенията на изследваните обекти.

### **БЛАГОДАРНОСТИ**

Отчасти изложените материали са резултати от изследвания по проект 8.ФТТ/18.09.14г. „Изследване трайността на кисело мляко от различни производители, разпространявано в търговската мрежа“.

Благодарности на проф. д.т.н. инж. Георги Тасев за дадените препоръки по насоките при прилагане на методи за анализ на данни.

developed and elucidated the issue of detailed analysis of the shape of the bacteria in 2D images and its use in their classification.

The amendment of the shape of the contours of the objects in the images is a carrier of essential information about many of the qualities (eg., Purity, authenticity, vitality, etc.) of microorganisms. To distinguish the different groups in the sample is a logical the application of a unique approach based on a detailed analysis of the form of images of the studied objects.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

Partly exposed materials are results of research on the project 8.FTT/18.09.14 “*Investigation the durability of yogurt from different manufacturers distributed on the market*”.

Thanks to Prof. DScTech. Eng. Georgi Tasev for the recommendations in the guidelines in the application of methods for data analysis.

### **ЛИТЕРАТУРА / LITERATURE**

- [1] Лазаров, И. (2010) Анализ на нормативната уредба за управление на безопасността и контрол на качеството в хранителната индустрия. Сб.докл. от НТКМУ “Тенденции в развитието на индустриалните системи и технологии-2010”, Благоевград, ЮЗУ “Н. Рилски” - Благоевград, ТК-Благоевград, с. 193-199. ISSN 1314-0183.
- [2] Лазаров, И., П. Димитров, З. Джандармова. (2010) Влияние на стандартизацията върху контрола на качеството в хранителната индустрия. Варна, Сб. докл. от XVI НТКМУ “ЕКО-ВАРНА 2010”, ТУ-Варна, с. 245-252.
- [3] Лазаров, И., З. Златев, М. Младенов. (2013) Анализ на приложимостта на система за компютърно зрение при оценка на здравния риск от качеството на хранителни продукти. Варна, Сб. докл. от XVIII НТКМУ “ЕКО-ВАРНА 2013”, ТУ - Варна, с. 24-31.

- [4] *Златев, З., И. Лазаров, П. Казаков.* (2015) Логистичен подход при получаване на хиперспектрални изображения. Сб. докл.от XXI НТКМУ“ЕКО-ВАРНА 2015”, ТУ-Варна.
- [5] *Barbedo, J. G. A.* (2012) Method for Counting Microorganisms and Colonies in Microscopic Images. 12th Int. Conf. Computer Science and Its Applications, pp. 84-87.
- [6] *Barbedo, J. G. A.* (2013) An Algorithm for Counting Microorganisms in Digital Images. IEEE Latin America transactions, vol.11, No. 6, december, pp. 1354-1359.
- [7] *Barbedo, J.G.A.A.* (2015) Review on Methods for Automatic Counting of Objects in Digital Images. [www.academia.edu](http://www.academia.edu) (available on 26.04.2015).
- [8] BDS 12:2010 “Bulgarian Yogurt”.
- [9] *Daskalov, P.* (2011) Application of information technology and computer control systems in stationary manufacturing precision farming and crop. Proceedings, Vol. 50, book 3.1, pp. 202-207, ISSN 1311-3321, Rouse, Bulgaria (The original is in Bulgarian).
- [10] Development trends of key sub-sectors of dairy farming project modeling of the baseline indicators. (April 2014). <http://archp-bg.com/attachments/article/294/%D0%91%D0%98-2.pdf> (available on 26.04.2015)
- [11] *Georgieva, A., I. Taneva, I. Milkov.* (2003) Researches on the possibilities for obtaining of foodstuffs with the participation of Flavio roza sinensis Hibiscus and in combination with some herbs having healing properties, Trakia Journal of sciences, vol. 1, No. 3, pp. 49-52.
- [12] *Goyal, M.* (june 2008) Machine vision based bacteria-colony counter. Electrical and instrumentation department Thapar university Patiala, Master thesis.
- [13] *Kemmler, M., B.Frohlich, E.Rodner, J.Denzler.* (2011) Detection of microorganisms in complex microscopy images. TMBWK ProExzellenz project “MikroPlex” (PE113-1).
- [14] *Mauricio, C., R.M., F.K. Schneider, L. Santos.* (2010) Image-based red cell counting for wild animals blood in Proc. Int. Conf. IEEE Eng. In Medicine and Biology Society, pp. 438–441.
- [15] *Men, H., Y. Wu X. Li, Z. Kou, S. Yang.* (2008) Counting method of heterotrophic bacteria based on image processing. in Proc. IEEE Conf. Cybernetics and Intelligent Systems, pp. 1238–1241.
- [16] *Mladenov, M. I.* (2011) Analysis and evaluation of grain quality. Rouse, ISBN 978-954-712-530-8 (The original is in Bulgarian).
- [17] *Mladenov, M.I., E.D. Dimitrov, M.P. Dejanov, S.M. Penchev.* (2014) Hyperspectral imaging system based on „point scan” spectrophotometer. Proceedings of International Conference "Automatics and Informatics'2014", Sofia, Bulgaria, I-39-I-42.
- [18] *Selinummi, J., J. Seppälä, O. Yli-Harja, J. A. Puhakka.* (December 2005) Software for quantification of labeled bacteria from digital microscope images by automated image analysis. BioTechniques vol. 39, No 6, pp. 859-863.
- [19] *Veleva-Doneva, P., Ts. Draganova, St. Atanasova, R. Tsenkova.* (2010) Detection of bacterial contamination in milk using NIR spectroscopy and two classification methods - SIMCA and Neuro–Fuzzy classifier. AGRICONTROL, IFAC International Conference, Kyoto, JAPAN.
- [20] *Wu, X., S. K. Shah.* (2010) A bottom-up and topdown model for cell segmentation



using multispectral data. in Proceedings of the IEEE International Conference on Biomedical Imaging, pp. 592–595.

- [21] [www.cs.tut.fi/sgn/csb/cellc](http://www.cs.tut.fi/sgn/csb/cellc) (available on 07.05.2015).
- [22] <https://scholar.google.com/> (available on 02.05.2015).
- [23] <http://www.sciencedirect.com/> (available on 15.04.2015).
- [24] [http://en.wikipedia.org/wiki/ABC\\_analysis](http://en.wikipedia.org/wiki/ABC_analysis) (available on 26.04.2015).

**За контакти:**

Тракийски университет – Стара Загора,  
Факултет „Техника и технологии“  
8602, гр. Ямбол,  
ул. „Граф Игнатиев“ № 38  
e-mail: [adimitrova77@abv.bg](mailto:adimitrova77@abv.bg)

***For contacts:***

Trakia University,  
Faculty of Technics and Technologies,  
„Graf Ignatiev“ St. 38,  
8602, Yambol, Bulgaria,  
e-mail: [adimitrova77@abv.bg](mailto:adimitrova77@abv.bg)