

面阵 CCD与计算机显微图像处理技术*

李炳兴 李文冲 顾唤国 郑 东

(中山大学物理学系, 广州 510275)

摘 要 用 CCD摄像机作探测器,将计算机数字图像处理技术与显微技术相结合,对 CCD采样的显微图像进行处理,大大提高了图像分析的正确性和灵活性.在光谱分析、动植物细胞、微循环系统测量方面取得很好的应用效果.

关键词 CCD摄像, 图像处理, 计算机应用

分类号 O 433.1, TP 317

CCD (Charge Coupled Device)称为电荷耦合器件.是一种用于探测光强分布的新型半导体器件,可分为一维(线阵)或二维(面阵)光电列阵.利用面阵 CCD作像传感器的 CCD摄像是现代测试技术中具有广泛应用前景的新技术^[1~4].

本文介绍利用 CCD摄像技术建立的 CCD显微图像处理系统,能将计算机的数字图像处理技术应用于显微图像处理中去,大大提高了对显微镜图像观察的直观性和图像分析的灵活性.整个系统具有 CCD管理、图像测量、图像编辑、图像增强、图像分割、真彩色图、伪彩色图、图像连续采样等多种图像处理功能.本系统经实际应用,在光谱分析、医疗诊断和微循环参数测量方面,取得极好的应用效果.

1 显微图像处理装置的硬件组成

显微图像处理装置是将显微镜中观察的图像经 CCD图像采样再转为数字量,进入计算机作图像处理,其优点是明显的:以生物标本为例,它能变人眼对着目镜窥视生物标本为通过监视器像看电视一样观察标本的图像,一方面使人眼轻松很多,并可多人同时观察,便于教学、演示、分析;另外进入 CCD像敏面的图像在监视器上显示时有进一步放大的效果,一些用显微镜由人眼观察不清的细节,可在监视器上一目了然;更重要的是用计算机可对显微图像作各种处理,突出人们需要的信息,很多直接观察不到的重要信息,通过计算机图像处理分析之后能够很清楚地看到;还能记录生物体的生长过程;还可对图像作重建处理、形态学分析、图像测量统计等分析,大大丰富了单纯目测显微镜中的图像所获得的信息内容.

* 中山大学科研基金资助项目

收稿日期: 1996-04-08 李炳兴,男,56岁,高级工程师

1.1 显微图像处理装置的组成

如图所示,装置由如下几部分组成:

倒置生物显微镜(型号:XS系列):带有照相机接口,有活体观察功能; CCD摄像机(型号:MTV-1501CB);像素单元542(水平)×582(垂直);图像数字化设备(伪彩色图像卡):安装在计算机箱内;微型计算机(CPU:DX2 486/66 8M内存、420M硬盘、24BIT真彩图像卡);图像输出设备:①计算机CRT显示器(显示彩色图);②MTV-02A监视器(视频、显示黑白图);③EPSON-2500 2针打印机(图像拷贝)。

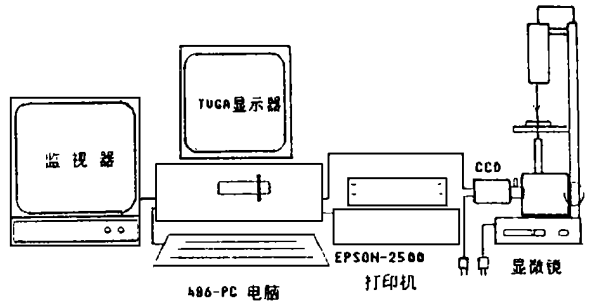


图1 装置的组成

1.2 CCD摄像机与显微镜的连接

由于倒置生物显微镜有个照相机接口,在显微镜目镜上看到的图像在接口处也能输出清晰的实像.因此,可以把CCD摄像的镜头取下,专门设计一个连接器,将无镜头的CCD摄像与显微镜的照相机接口相连接,只要调节CCD像敏面正好处于相机口的焦点上,就能在监视器上显示被测图像.这种连接方式的特点是稳定可靠,人眼对目镜观察图像与CCD摄像可同时进行,互不干扰,而且进入CCD像敏面的图像为目镜视野图像中的一部分,所以CCD能摄取到图像中更丰富的细节部分.

2 显微图像处理软件系统的研制

在整个图像处理软件集成环境中,使用下拉式菜单结构,层次分明,各功能菜单中都有对应的汉字提示信息,将系统软件和自己研制的应用软件配合使用,形成了一套处理能力强、用途广的图像处理系统.

2.1 图像卡系统软件的功能

系统软件功能有(部分组成:即系统控制(CONTROL)、图像处理(PROCESS)、图像测量(MEASURE)、文件输入输出(I/O)、图形设置(GRAPHICS)、帮助(HELP)。

其中系统控制主要是进行初始化处理、图像捕捉及定格操作,再在图像处理及测量菜单中对采样的图像作编辑、运算,或根据需要在彩色监视器上加伪彩色显示,还有可以将数字化的图像信息通过文件的形式在盘上进行存取,对文件进行图像打印,对图形的查找表内容作英文或汉字信息处理.这些重要的功能相互配合,自成一体,为应用软件的设计提供有力的支持.

2.2 多种图像处理应用软件的设计

(1) 图像数据处理:下述功能的配合使用能达到图像增强效果,例如对同一目标连续采集多幅图像,再作平均运算,能平滑噪声;物体运动时,不断测量前后两幅图像的数据,相加后再减前一幅图像的数据,可得到运动的轨迹;图像数据乘以某常数后可以突出图像中暗的部分的细节.①图像平均运算;②加权加减运算;③反相;④图像数据乘常数算术运算.

(2) 三维图显示:可得到图像(二维)平面的一维灰度立体显示图.

(3) 伪彩色显示 (显示在计算机的 VGA彩色显示器上): 伪彩色就是指彩色或色调并不一定与自然景物的色彩一致, 而是将黑白图像的灰度值按某种函数关系 (我们利用等间隔的线性变换关系进行彩色密度分割) 映射成相应的彩色, 以突出和增强图像信息, 提高人眼对图像的分辨能力; 对可见光以外的传感器所摄的光谱图像, 也可用伪彩色再现图像的原貌.

(4) 曲线制作: ① 图像横向水平剖线灰度分布曲线; ② 图像纵向垂直剖线灰度分布曲线; ③ 图像灰度等值线; ④ 图像曲线数据的存贮和打印.

我们大量使用这部分功能, 测量火焰的光谱等值图、动物微血管内径受药理作用的改变、还有等离子体光谱分析等.

(5) 真彩色显示 (显示在计算机 VGA彩色显示器): 利用红 (R)、绿 (G)、蓝 (B) 三种滤色片, 分别由黑白 CCD摄像采样不同颜色的图像数据, 利用自行设计的程序将采样到的数据分别放入显示器的 R G B对应显示缓冲存贮器中, 自动合成一幅高灵敏度的 24BIT 真彩色图像.

(6) 图像连续采样: 专门利用汇编语言设计程序以获得对图像数据的快速存取过程. 采样时间间隔由人工设定, 在设定时间到达时读取图像卡帧存中的图像数据, 转贮到磁盘上, 形成图像数据文件, 不断重复上述过程.

这种功能可用来观察细胞的生长, 动物微循环系统的测定, 记录癌细胞扩散过程等.

(7) 边缘检测和图像勾边: 边缘检测方法有 Frei & Chen 算子、Robinson² 算子、Kirch 算子等方法供选择. 利用边缘检测或图像勾边方法能有效地勾划出图像的边界, 且边界是一条很清晰的细线. 这种方法可对各种生物标本、动植物细胞等的显微图像作勾边处理, 再进行多种形态学研究分析, 例如算出细胞的周长和直径等. 图 4 是某生物标本的显微图像, 对其作勾边处理的结果.

(8) 图像的动态阈值二值化及其打印: 数字图像二值化处理是很重要的处理方法, 而关键在于阈值的选择. 对于图像中不同部位的平均灰度值产生变化时, 只用单一阈值不能有效地对整个画面进行二值化, 为此我们设计了一个动态阈值处理的图像二值化程序, 可随时改变某小区域的阈值, 并可随时对比原图像, 不断修改阈值, 直到满意为止. 另外二值图像的打印是用得很多的重要功能.

(9) 绘制图像的彩色等值图: 能自动绘制出图像不同灰度的等值线, 并可以用不同的颜色表示出不同灰度值的范围, 形成彩色等值图, 使观察图像的结构更直观清晰.

(10) 图像数据的动态扫描: 对图像动态扫描功能是将 CCD采样的图像, 一方面在监视器上显示, 同时又可以在计算机的 VGA彩色显示器上显示 (640×480模式). 并能将图像数据存贮, 作成文件, 以 6级灰度值在彩显上装载重新显示. 这样可以利用计算机 CRT显示器部分地代替模拟显示装置监视器的功能, 充分发挥显示器的彩色作用.

3 实验结果分析

3.1 微循环参数的测量

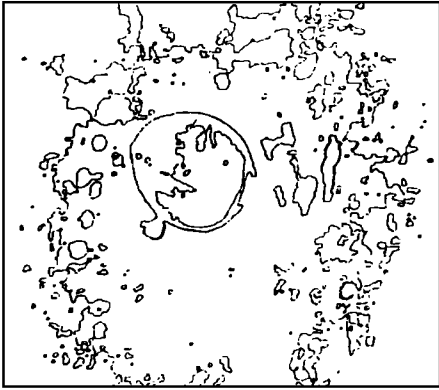


图 2 生物标本显微图像的勾边处理

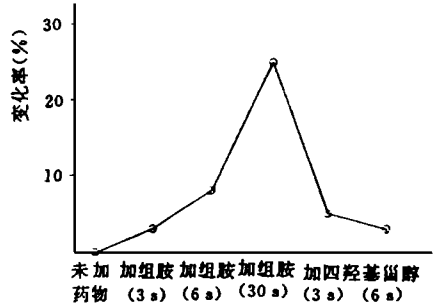


图 3 血管变化趋势图

微循环系统是指动物的毛细血管、微小动脉或静脉 (数微米到数十微米内径)。以前没有好的测量方法, 只是用光学显微镜目测, CCD 显微图像处理系统能作细小血管管径大小的实时监测, 并能作定量的分析计算。

实验样品是小鼠肠系膜微血管, 分别局部滴入组胺和四羟基萘酚药液, 然后再观察微血管的收缩和扩张的情况, 实验表明: 加入组胺后血管逐渐扩张, 从加入后 30s 时达到最大; 随后加入四羟基萘酚药液, 血管迅速收缩, 基本恢复到原来的水平。实验结果说明四羟基萘酚对组胺有较强的阻断作用。实验结果的血管变化趋势图见图 3。

测量方法是利用连续采集图像功能, 记录不同时间微小动脉的图像, 再利用曲线制作功能, 对每幅图像的同一位置作一条垂直于血管的剖面, 绘制出该剖面的灰度分布曲线; 通过此曲线的低峰值找到血管壁的位置, 量出微小血管的直径, 从而得到血管内径的变化规律。

3.2 图像的增强处理

图像增强是对图像数据进行某种运算后, 使图像的灰度分布发生变化, 突出人们需要观察的细节, 便于分析研究。

例如用 CCD 拍摄一幅加金属钠后的乙炔氧燃烧火焰图像, 原来照片比较模糊, 噪声大, 经过消除背景区域的噪声处理 (图像数据平滑和减扣功能) 后, 就能变得比较清楚。图 4 显示了分析火焰的结构, 图 4 (a) 是火焰的灰度分布三维图; 图 4 (b) 是其等值线分布图。

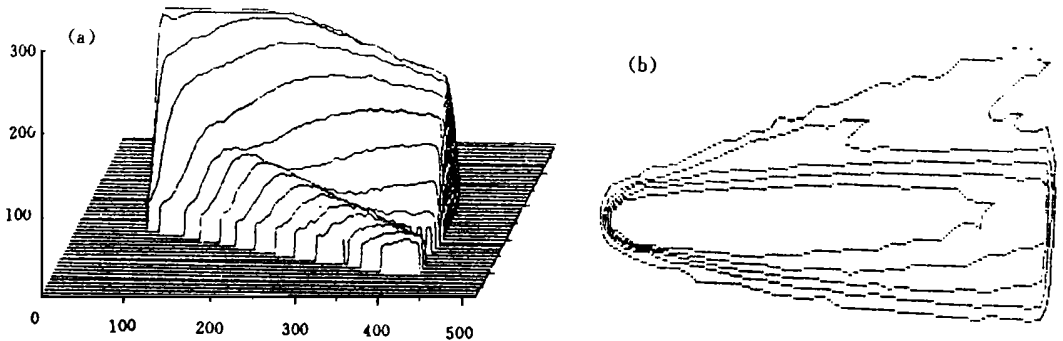


图 4 三维灰度曲线 (a) 与火焰的等值线 (b)

4 讨论与结论

(1) 本装置用 CCD 摄像采集显微图像, 由计算机作图像处理, 处理软件功能齐全, 操作简便, 人机界面友好, 是科学研究和工业图像监测的有力工具。

(2) 大量实验表明, 本装置不但适用于生命科学、医疗诊断、光谱分析、工农业控制图像处理等领域, 还能用在教学演示、实验等场合。已经使用的领域有: ① 图像的增强和噪声的平滑, ② 光谱图像的分析, ③ 动植物标本图像的采集和存贮, ④ 动物微循环系统的测量, ⑤ 医学药理对生物作用效果的直观分析。

(3) 本装置已应用在本校物理、化学、生物等院系的科研和教学中, 在香港地区高等院校也得到推广。

参 考 文 献

- 1 T. 帕夫利迪斯. 计算机图形显示和图像处理的算法. 吴成柯等译. 北京: 科学出版社. 1988
- 2 王庆有, 张学珠. CCD 应用技术. 天津: 天津大学出版社. 1992
- 3 郭峻. 在 VGA 上显示 TGA 真彩色图像. 微电脑世界 (PC WORLD), 1994, 8 41
- 4 Paul J.P. Computing in Medicine. The Gresham Press. 1982

CCD Camera and the Microcomputer- Based Microscopic Images Processing Technique

Li Bingxing Li Wenchong Gu Huanguo Zheng Dong*

Abstract This Paper introduce a microscopic images processing unit. CCD camera is used to sample image's information. This system has manyfunction such as CCD Control, image editor, image enhancement, pseudo - color, continue scan etc., And has showed good results of experimentas follows Spectrum analysis, Cell pathology, Measurement ofmicrocircu- latory system, botany specimens.

Keywords CCD camera, image processing, computer application

* Department of Physics, Zhongshan University, Guangzhou 510275