

# 扫描多光谱显微图像的重构及处理\*

宫迅凯 郝志航 邹振书\*

**摘要:** 本文介绍了一种新的显微成像—扫描多光谱显微成像的基本原理,着重描述了显微成像中多光谱图像的特点以及图像的获取和重构方法,最后介绍了系统软件的编程。

**关键词:** 扫描多光谱显微图像; 图像重构。

## 一、引 言

光学扫描显微成像技术是七十年代末期发展起来的一种高精度扫描的数字成像技术<sup>[1]</sup>。它的分辨率高,视场大,与数字图像技术相结合,可根据要求进行一系列的图像处理分析和识别,使其功能大为扩展,这在某种程度上代表了光学显微成像技术的发展方向。它一出现就在大规模集成电路的检测、生物医学、矿物分析等方面获得应用,但它的不足之处是通常采用单一波长的激光作为光源,难以对待测样品进行光谱特性分析。

为了适应遥感技术的发展,最近几年出现了成像光谱术,它除了用线扫描的办法获取地面图像信息外,还把每个象元进行光谱分解,形成目标的多光谱图像,这样可使信息量成倍地增加。

综合目前光学扫描显微成像技术和成像光谱术的优点,为了更好地满足显微成像技术的要求,增强对显微物体(微区)的观察手段,我们提出了一种新的扫描多光谱显微成像方法。它的特点是结构简单,可根据需要同时得到样品不同波段的显微图像,以便于同时分析物质的结构和组成成份。文中介绍了扫描多光谱显微成像的基本原理,系统地描述了多光谱图像的获取方法及处理手段,并对实验结果进行了分析讨论。

## 二、系统结构及工作原理

扫描多光谱显微成像系统可做成透射式和反射式两种。以透射式为例,其结构如图1所示。

白光光源 $S$ 发出的光由聚光镜 $L$ 聚到小孔 $P$ 上做为点源,经透镜 $L_1$ 在样品上形成一点像,即光源只照明载物台上样品 $O$ 的一点。像面无穷远显微物镜 $CL$ 将成像光束准直,经光栅 $G$ 进行光谱分解,在傅立叶透镜 $FL$ 的后焦面上形成透射率光场的不同波长的谱,由线阵列探测器 $D$ 探测其不同波长光谱的光强。这里我们采用机械扫描方式,载物台在 $x$ 和 $y$ 方向做高速扫描运动,扫描得到的多光谱点像被连续地存入计算机中,然后进入重构和处理,最后由图像监视器同时显示出样品待测区域的不同波长的显微图像和处理结果。

\* 国家自然科学基金资助课题; 参加此项工作的还有胡家陞, 侯 澍

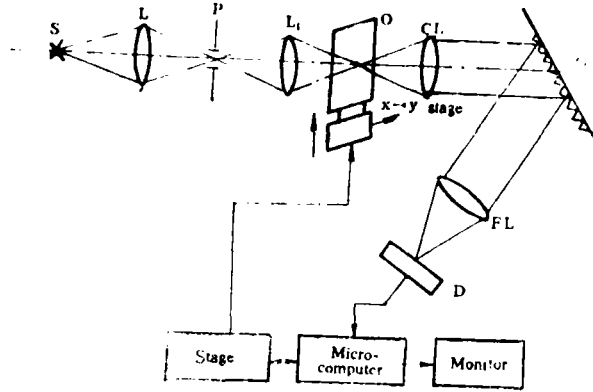


图1 扫描多光谱成像工作原理图

### 三、图像处理系统

图像处理系统是扫描多光谱显微成像系统的重要组成部分，其主要任务是完成图像的获取、显示、分析及识别等。本系统用CCD黑白摄像机作为图像的输入设备，用PCVISION数字图像处理板和XT-286微机实现对多光谱图像的获取，经重构和处理后用图像监视器显示获取的图像及分析结果。为实现微机的数据采集和机械扫描系统的同步，计算机应接收和发出一同步信号给扫描电机的控制电路，如图2所示。扫描多光谱显微图像处理系统与常规的一般图像的处理系统相比较，在结构和原理上基本一致，所不同的是后者可直接由图像的输入设备（如CCD摄像机）获取图像，而前者先由摄像机获取象元的多光谱灰度值，待扫描后再经重构才能得到完整的图像。以下将着重介绍图像的重构过程及处理方法。

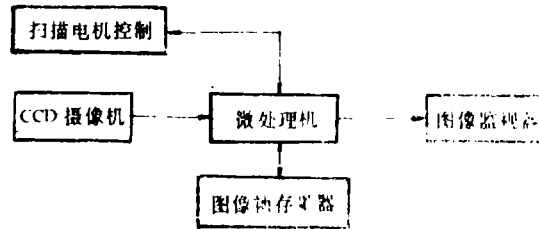


图2 数字图像处理系统框图

#### (一) 多光谱显微图像的采集及重构

多光谱图像比一般灰度图像有较大的信息量，这是因为它是同一画面在多个不同光波段中的反映，即具有多光谱的分析性。

我们知道一般灰度图像的灰度值只与其象素的坐标有关，即：

$$G = f(x, y)$$

$G$ 为图像灰度值。而多光谱图像的灰度值不仅与其象素的坐标有关，还与该点的光谱有关，即：

$$G_m = f(x, y, \lambda)$$

式中  $\lambda$  为波长。

从成像过程来看,对一般的灰度图像而言,一点源成像后为一点像,而对多光谱成像来说,一点源成像后经分光得到的是一个谱带(连续谱光源)或是若干个离散点像(分离谱光源)。由此可见,扫描一个样品可得到多幅多光谱图,它们是在相应的图像存贮区由某一波段的逐点像按扫描顺序重构而成的,见图3。

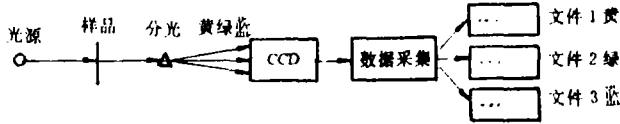


图3 扫描多光谱图像的重构示意图

本系统中,多光谱图像的获取是以光源(离散光谱)照明样品一点,进行逐点扫描,透射(或反射)后经过分光将不同光谱点像成在CCD摄像机的靶面上,再经过PCVISION图像处理板的数据采集,将每一点图像的灰度值按不同的光谱段顺序记录在相应的不同图像存贮区内,见图3。每扫描一点,该点的几个不同光谱的点图像就被分别记录在相应的图像存贮区,扫描步进电机与计算机数据采集实现同步,这样,待整个扫描过程结束后,在每一图像存贮区内便获取了某一光谱的整幅图像。最后,将获取的多光谱图像以文件形式存放在磁盘上,待进一步分析与处理。

在实验中我们使用的光源为分离谱的高压汞灯,采用了蓝( $4358\text{ \AA}$ )、绿( $5461\text{ \AA}$ )、黄( $5770\text{ \AA}$ )三个波长。当光源照射在样品上某一点,透射后经分光将三个分离光谱的点像成在CCD摄像机的靶面上时,在图像监视器上可看到三个明暗不同的点像。实验表明,每个点图像并不是仅由一个像素组成,而是由几十个,一般为 $4\times 5$ 或 $5\times 6$ 个不等,而且点图像的形状不规则。为合理地表示出点图像的灰度值,我们令点图像的几何中央处的若干个像素为主要像素,并取其主要像素的灰度平均值来表示点图像。

为了防止在扫描过程中,由于各种因素使之分立光谱的各点像的位置发生变化,给计算像素平均值带来不便,我们在软件设计中加以考虑。即在采集过程中,用三个相应大小的窗口将三个被采集的点图像的主要像素(位于中间部分)嵌住,通过在图像监视器上的观察和像素灰度值的显示,可满足窗口内的像素为主要像素的条件。这样,只要对窗口内的像素取其平均灰度值,把该值作为点图像的灰度值存入相应的存储区,就完成了对点图像灰度值的采集。

由于本系统的软件具有同时支持多个窗口,且窗口位置可全屏幕移动,窗口尺寸可任意选择的功能,使点图像灰度值的采集变得灵活方便,并且较为直观。本系统可获取 $64\times 64$ 、 $128\times 128$ 及 $256\times 256$ 像素的多光谱显微图像。图4是一小白兔细胞标本 $64\times 64$ 像素的多

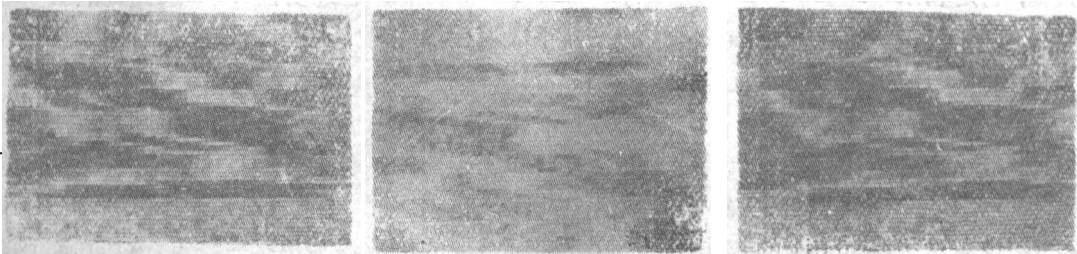


图4 小白兔细胞标本的扫描图像

光谱扫描显微图像,可看出,同一标本的不同光谱的扫描图像是不同的。

## (二) 多光谱显微图像的处理及分析

由多光谱显微图像的成像方式所决定的,它具有较高的显微性和多光谱分析性,这是一般图像不具备的。

和一般图像的处理方法一样,在对多光谱图像分析处理之前,也需要进行必要的预处理。在获取图像过程中,由于 CCD 摄像机对不同光谱的反应特性的误差及点光源的噪声使图像质量变坏,因此,为改善图像的质量,相应的滤波和校正措施是必要的。本系统中获取图像的环境条件较好,基本的滤波方法就可以获得满意的结果。

多光谱显微图像比一般图像有着较高的分析价值,相应的分析手段也较为复杂和多样化。由于它与被测样品的光谱响应特性有着密切的关系,因此,在分析过程中,应结合被测样品的光谱特性。

由于多光谱显微图像的信息量大,具有多谱分析性,因此对它的分析具有很大的潜力,这方面尚需要进一步做工作。

## 四、系统软件

本系统的软件是用TURBO-PASCAL语言编写的,它是由美国BORLAND公司最新推出的一个PASCAL语言的编译系统,具有设计精巧,编译及运行效率高,用户界面好及可移植性等优点。

本系统的软件全部实现模块化,并着重考虑了图像的快速存取、LUT的变换、全屏幕活动窗口、窗口图像放大和图像帧存器的地址映射等模块程序的设计。本节介绍了以下两个模块程序的编程。

### (一) 全屏幕活动窗口模块

为在图像监视上确定出多光谱点图像的主要象素,以准确地计算出平均灰度值,要求系统软件具备同时支持多个窗口的屏幕功能,为方便灵活地使用,每个窗口应全屏幕可移动。

窗口是图像处理中常用的处理手段之一,它的主要作用是对图像进行局部处理及完成跟踪定位等等。在图像帧存中开窗一般有两种方法,一种方法是将帧存中窗口线框所占用单元的灰度值改写为较大的值,使用线性增加的LUT,较大的灰度值在图像监视器上显示出较亮的点,这样,只要找出窗口线框所占用单元,通过改写其灰度值,就实现了开窗。这种方法有一个缺点,在改写帧存单元的内容时,破坏了原图像的灰度值,为了避免,需要把原图像的灰度值保存起来,这样就多占用了内存单元。另外,当窗口移动时,要把窗口线框占用单元的灰度值不断地移出或移进,这使窗口的移动速度受到影响。本系统中使用的是另一种方法,它是利用PCVISION处理板的OVERLAY功能,通过变换LUT来实现的。

OVERLAY(重叠)是图像叠加的一种手段,通过它可实现在图像上开窗以及显示处理信息,如在图像上直接显示直方图等。

在PCVISION系统中有一象元数据寄存器,这是八位的伪寄存器,用作帧存读写的缓冲,该寄存器总是含有存取象元的最新数据。在寄存器的八位中,最后两位 $D_1$ 和 $D_0$ 被保留给OVERLAY,也就是说,这两位不表示象素的灰度值。因此,实际上PCVISION采集的图像灰度级是6 bit的,并且每个灰度值都是4的倍数。利用这一特点,就可通过变换LUT来实现开窗。

在输出到图像监视器之前，LUT对每一象元数值进行变换，LUT为线性时，数据不发生变化，为实现开窗，我们变换LUT，使它满足输入的灰度值为偶数时，输出不变，反之为奇数时，则输出最大灰度值(255)。这样只要把窗口线框占用的单元内容加1，就相当于把其灰度值变成奇数，经过上述的LUT后，该点在监视器上显示出最亮的点，就实现了开窗。

数据采集时，象元数据寄存器的内容随时在变化着，为使其不影响OVERLAY的功能，PCVISION提供了一个八位屏蔽寄存器(MASK)，它可以对数据寄存器中的任一位实现屏蔽，被屏蔽的位在采集数据时其值不被改变。因此，我们将数据寄存器中的 $D_1$ 和 $D_0$ 屏蔽，以保证数据采集的同时，使用OVERLAY功能实现开窗。

与前一种方法相比较，这种方法不占用内存单元，当移动窗口时，只需要将部分单元的内容加1或减1便可以实现，既加快了窗口的移动，又简化了程序的设计过程。

## (二) 帧存储器地址的映射

PCVISION的帧存储器是 $512 \times 512 \times 8$  bit的存储空间，对它的寻址是通过将它的每64Kbyte映射到内存的某一空间(实际上不存在)，再通过对内存的寻址来实现的。一般的高级语言对内存寻址有一定的困难，因此，常常需要借助汇编语言来实现。本系统使用的TURBO-PASCAL编译系统不调用汇编语言就可以完美地实现映射。这是因为它具有定义绝对地址内存变量和数组的特殊功能，也就是允许把某一变量或数组的地址定义为固定的某一内存的地址上。因此，只要我们定义一个64Kbyte的二维数组，并把它的起始地址定义在帧存储器的起始地址上，这样就把帧存储器直接映射到二维数组上，而不是内存上。我们知道二维数组可直接表示二维图像，对数组的操作远比对内存的操作方便容易的多，通过上述映射，使对图像的任何操作都转化为对二维数组的操作。由此可见，这给软件设计提供了极大的便利，这是TURBO-PASCAL在图像处理中的一个特殊应用，是其他高级语言所不及的。

## 五、结 束 语

扫描多光谱显微成像是一种新的技术，由于它的分辨率高，视场大，并具有多光谱的分析特性，因此，为观察物质的微区提供了一个强有力的手段。实验中，我们验证了它的可行性，完成了对扫描多光谱显微图像的采集重构，并进行了基本分析，得到了满意的结果。但是，目前对扫描多光谱显微图像的处理和分析还没有形成一套成熟的方法，这方面还需要做大量的工作，只要与测量样品的光谱特性相联系，将有很大的潜力，预计今后在生物医学、矿物分析等领域有着远大的应用前景。

### 参 考 文 献

- [1] T.Wilson, C.J.R Sheppard, <Theory and practice of Scanning Optical Microscopy>, Academic New York, 1984.
- [2] Gordon S.Kino and Timothy R Carle, Physics Today, 1898, 42, 9 (Sept), 55—62.
- [3] 田村秀行著，赫荣威译：《计算机图像处理技术》，北师大出版社，1986。

## Reconstruction and Processing of the Scanning Multi-spectral Microscopic Images

Gong Xunkai Hao Zhihang, Zou Zhenshu

### Abstract

A new method of the microscopic imaging, which called microscopic imaging by scanning, is discussed in is so this paper. We provide the principle of the new method and characteristics of the multi-spectrul images in microscopic imaging. Also the method for image acquiring and reconstructing is presented in this paper.

In the later part of the paper, we discuss the programming of the system software.

Key words: Scanning multi-spectral microscopic images, Image reconstruction