

激光荧光光电成像系统及其应用研究

章民驹

(中国科学院长春光学精密机械研究所, 长春 130022)

摘要 本文报导一种以 SEC 快门摄像管为图像传感器, CA5300 图像卡为图像数据帧存储体, 微型计算机为控制中心的新型荧光光电成像系统。运用系统中独特的快门装置, 做出了时间分辨成像, 消除了背景荧光对成像的影响, 并由微机对采集到的荧光图像进行必要的图像增强和噪声消除等处理后输出再显示, 效果良好。文章最后给出系统在潜指纹荧光探测和细胞结构荧光探测两方面的应用研究及其结果。

1 引言

荧光探测是一种非常灵敏和有效的技术, 它可广泛应用于物质结构探测和表面现象观察。在荧光成像技术中, 最早的成像是荧光显微镜, 由于其图像记录装置多是胶片摄影或目视, 因而灵敏率和图像处理都受到很大程度的限制。后来随着微光成像技术的发展, 以微光电视为图像传感器的荧光成像系统业已出现, 由于电子学的介入, 它给图像处理带来一定方便, 从而大大推动了荧光探测技术的发展。进入了八十年代后, 随着图像采集技术的发展和微机的普及, 荧光探测的微机控制和荧光图像的微机处理已发展起来。1987年, 获国家科委基金资助, 我们这就开展了“激光荧光光电成像及其微机处理系统”的研究工作, 本文即为参加这一课题研究工作结果。

2 系统组成及工作原理

激光荧光光电成像系统由激光光源、光学成像系统、滤光片、SEC 摄像机、图像数据采集系统、微机、监视器及打印机等部分组成, 其结构如图 1 所示:

系统中激光光源曾先后使用过 He—Cd 激光器和壁融灯, 前者输出波长为 442nm 的激光, 后者则发出具有丰富紫外成份的连续光谱, 两者均能激发样品发出荧光。当样品是微观物体如生物细胞时, 荧光则通过显微物镜成像于光阴极表面上; 当样品是宏观物体如具有潜指纹的物质表面时, 荧光则通过普通摄像机镜头成像于光阴极表面上。为了滤去反射的激发光对荧光成像的影响, 在光阴极和光学成像镜头之间放置若干个滤光片, 以便有效截止流长小于 470nm 的激发光, 成像于阴极面上的光学图像, 在电子光学透镜作用下, 聚焦转移到 SEC 靶

上,形成与光学图像相对应的电荷图像。当荧光很弱时,则需关掉扫描电子束,进行图像积累,到一定程度时,再打开扫描电子束,读取靶上的图像信息,并得到视频信号输出。视频信号按 10MHz 采样频率经八位 A/D 转换器变成数字量后存入帧存体中。与此同时,帧存体中的图像数据被读出,经 D/A 转换器后送显示器显示。微机对采集到的图像信号进行必要的图像增强和噪声消除等处理后可输出再显示,并给出某些图像的荧光光强空间分布曲线。

系统中所用图像传感器系新研制出的一种带快门的 SEC 摄像管,它有两种工作状态,一种是连续成像状态,一种是选通成像状态。当工作在连续成像状态下时,光阴极上加 -8kV 高压,快门极加 -7.8kV 高压,阳极接地,这时可

进行正常成像;当工作在选通成像状态下时,光阴极上加 -7kV 高压,快门极和阳极电位均不变,这时由于快门是位低于阴极电位,光阴极发出的光电子被电场截止,因而 SEC 管处于成像截止状态。这时打开快门进行成像是通过在光阴极上迭加一个 1kv 高压负脉冲来实现的。利用这一特性,系统可做时间分辨荧光成像,以消除某些背景荧光对成像的影响。

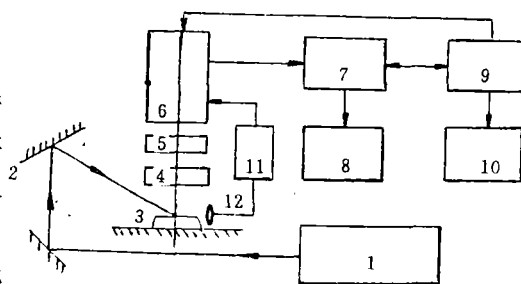
由于 SEC 管良好的积累特性,该系统能工作于 $10^{-6}Lx$ 的景物照度,因而非常适合于微弱荧光的光电成像,整个工作过程均由微机控制。

3 背景荧光消除

激发光源在激发样品发出荧光的同时,背景往往也被激发产生荧光,有时背景荧光很强,以致于掩盖了目标图像,因此采取措施来消除背景荧光是非常必要的。根据荧光产生的特性不同,背景荧光的消除方法也各异。实验中利用样品荧光衰减寿命比背景荧光衰减寿命长得多的这一特点,采用快门选通技术即让摄像机快门在相对于激发光脉冲的后沿延迟几个微秒后打开,曝光 2ms 后再并闭,这样系统就能滤去背景荧光和反射的激发光,而仅让信号荧光通过成像。工作中我们以独特的办法解决了系统的同步问题及壁融灯(MIT)放电对系统产生的干扰问题。结果表明,该方法对背景荧光的消出效果非常好,成像质量很高。图 2 示出的即是采用快门选通技术进行时间分辨成像所得到的荧光图像。图 3 则是同一样品在系统工作连续成像状态时所得到的荧光图像。

4 荧光图像处理

在荧光光电成像过程中,受周围环境及其它因素影响,往往会产生一些寄生效应和尖峰噪声。为消除这些噪声,增强图像对比度,完成一些有用信息,对图像做一些处理是必要的,这里采用的方法是直方图均衡、平滑滤波和锐化滤波。在实际应用中,可以采用单一处理方法,也可



- 1—激发光源 2—反射镜
- 3—样品台 4—光学成像镜头
- 5—滤光片 6—SEC 摄像机
- 7—图像数据采集系统 CA5300
- 8—显示器 9—微机
- 10—打印机

图 1 系统结构图



图2 时间分辨荧光图像

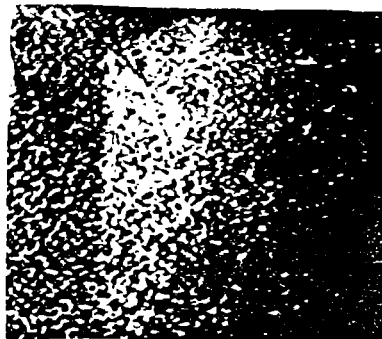


图3 非选通荧光图像

以几种方法联合处理,以期达到最佳增强效果。

4.1 直方图均衡量

它主要是通过累积分布函数变换

$$S_k = \left[\sum_{i=0}^k n_i / n = \sum_{i=0}^k P_r(r_i) \right]$$

来改变图像灰度,以期增加图像对比度和灰度等级。

r_i 为原始图像各象素灰度

式中 $p(r_i)$ 为原始图像灰度的概率统计

s_k 为变换后图像各象素的灰度

4.2 平滑滤波

平滑滤波主要是滤去图像中的跳变部分如尖峰噪声等而又不使得图像的边缘轮廓变模糊,这里采取的方法是邻域平均法,其基本思想是:当一象点灰度值和它邻域内点灰度平均值的差不超过规定阈值 T 时,则该点灰度值不变。否则,就用平均值去替代该点的灰度值。其数学表达式为:

$$g(x,y) = \begin{cases} \frac{1}{M} \sum_{(m,n) \in S} f(m,n), & \text{若 } |f(x,y) - \frac{1}{M} \sum_{(m,n) \in S} f(m,n)| > T \\ f(x,y), & \text{其它} \end{cases}$$

式中 S 是 (x,y) 点邻域内它点坐标的集合,但不包括 (x,y) 点, M 是集合内坐标点的总数。

4.3 锐化滤波

图像的锐化与平滑相反,它主要是用于增强图像的边缘及灰度跳变部分,采用的方法是微分锐化。其基本思想是:当一象点的灰度梯度值大于一阈值 T 时,该点的灰度值用其梯度来表示,否则该点的灰度值不变。其数学表达式为:

$$g(x,y) = \begin{cases} G[f(x,y)] & \text{若 } G[f(x,y)] > T \\ f(x,y), & \text{其它} \end{cases}$$

式中的 $G[f(x,y)]$ 为函数 $f(x,y)$ 在点 (x,y) 处的梯度值,在数字图像处理中,它用差分来表示:

$$G[f(x,y)] = \{ [f(x,y) - f(x+1,y)]^2 + [f(x,y) - f(x,y+1)]^2 \}^{\frac{1}{2}}$$

这样通过合理地选择门即值 T ,就有可能既不破坏平滑区域内的灰度值又能有效地突出图像的边缘信息。

根据上述图像处理思想,即可编出相应图像处理软件。

5 系统应用

作为系统的应用研究,我们曾先后尝试了系统在潜指纹荧光探测和细胞结构荧光探测两方面的应用,并取得了一定结果。实验中首先是对具有潜指纹表面进行适当处理,然后用激光激发使之发出荧光,系统对该荧光成像后即显示出该物质表面上的潜指纹图像。图4示出的是金属表面上的潜指纹荧光图像,微机对它进行必要的增强处理后,输出如图5所示。对比两者可知,处理后的图像质量有明显的改善。

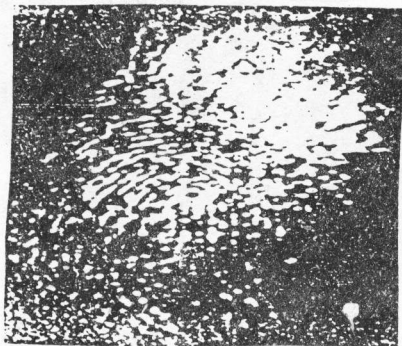


图4 原始潜指纹荧光图像

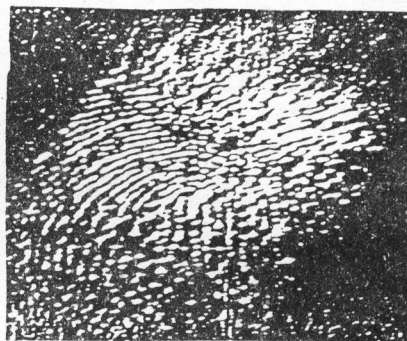


图5 增强后的指纹图像

另外,用吖啶橙染色花粉细胞,然后用激光激发使之发出荧光,系统对该荧光成像后即得到如图6所示的荧光图像,微机对该图像进行适当处理后,输出如图7所示的荧光光强空间分布曲线。

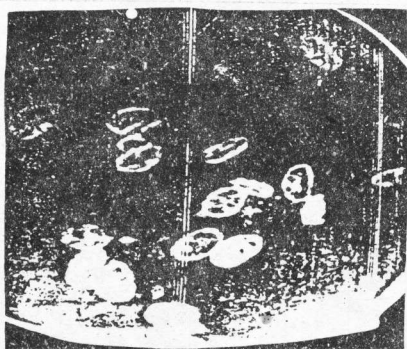


图6 花粉细胞的荧光图像

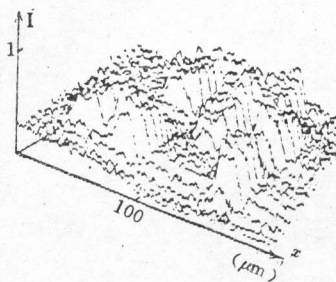


图7 花粉细胞荧光光强空间分布

6 结 论

通过对系统的研制及它的应用研究,得出的结论是:激发荧光光电成像系统具有灵敏度高、图像处理方便、能给出荧光光强的空间分布曲线等优点,既能实时采集图像又能积累采集图像,因而非常适合于微弱荧光的光电成像。特别是由于系统所具有的快门选通成像功能使得它还能应用于某些特殊场合,如需要用时间分辨成像来消除某些背景光对成像的影响等。系统不足之处是分辨率还较低,只有350电视行,这也是今后有待进一步提高和完善的地方。总

之本系统在荧光探测的科学研究中有着广泛的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Shun-Lchl, Optical and quantum electronics, 1986:18
- [2] E. R. Menzel, Laser focus world, 1989, 11
- [3] K. E. Creer, The detection and photograph of fluorescent marks. SPIE, 734
- [4] Xinzhi Jia, A new gateable SEC tube. ISPD1' 93
- [5] Minju Zhang, ISEC imaging system and its applications. SPDI, 1993
- [6] 李骏享,《激光在医学及生物学上的应用》. 科学出版社, 1989, 9
- [7] 阮秋琦,《数学图象处理基础》. 中国铁道出版社, 1988, 6

Study on Exciting Fluorescence Imaging System and Its Applications

Zhang Minju

*(Changchun Institute of Optics and Fine Mechanics,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)*

Abstract

In this paper, a novel type of exciting fluorescence imaging system is reported. Composition, operating principle and performance of the system are introduced. For the use of a new SEC camera tube with gate, time-resolved imaging is successfully made out. Finally, the experiment studies on fluorescence detection of latent fingerprints and biological cells are also presented.