

基于智能手机的快照式荧光多光谱成像

李玉豪^{1,2}, 余毅^{1*}, 孙志远¹, 穆远超^{1,2}

¹中国科学院长春光学精密机械与物理研究所精密仪器与装备研发中心, 吉林 长春 130033;

²中国科学院大学, 北京 100049

摘要 多光谱重建技术在生物医学领域有着巨大的应用潜力。在传统的皮肤和口腔细菌评估中, 目视检查仍然是最广泛使用的方法。这种方法依靠肉眼观察, 主观性很强。即使是有经验的临床医生, 对细菌感染的确定和评估也经常存在不稳定性。为了提供客观和更准确的细菌评估, 提出一种基于 Wiener 估计的荧光多光谱重建方法。该方法基于智能手机平台, 用紫色光源激发, 采集了皮肤和牙齿的自发荧光图像, 使用 Wiener 估计算法将获取的自发荧光图像重建为具有 31 个波段 (范围为 400~700 nm) 的多光谱数据立方体, 提取并比较细菌产生的卟啉和内源性背景组织发射的光谱强度。基于提取的自发荧光光谱, 应用加权减法来实现对皮肤表面细菌的高对比度和高信噪比识别。实验结果表明, 所提方法不仅能够准确重建荧光多光谱图像, 而且能够实现细菌的定位, 应用加权减法后, 对比度增强了 12~46 倍, 信噪比提高了 1.63~2 倍。

关键词 光谱、荧光和发光; 多光谱重建; 快照式; 智能手机; 维纳估计

中图分类号 O433.4

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP220491

Smartphone-Based Snapshot Fluorescence Multispectral Imaging

Li Yuhao^{1,2}, Yu Yi^{1*}, Sun Zhiyuan¹, Mu Yuanchao^{1,2}

¹Fine Instrument and Equipment Research & Development Center, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, Jilin, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Multispectral reconstruction technology has widespread potential applications in biomedicine. Moreover, visual inspection is the typically used traditional method for skin and oral bacteria assessment. However, this method relies on naked-eye observations and is highly subjective. Even experienced clinicians face uncertainty while providing a definite diagnosis for the bacterial infection. This study proposes a fluorescence multispectral Wiener estimation-based reconstruction method to provide an objective and accurate bacterial evaluation. This method is based on a smartphone platform that is excited by a purple light source to capture spontaneous fluorescence images of skin and teeth. The Wiener estimation algorithm was used to reconstruct the acquired autofluorescence image into a multispectral data cube with 31 bands (400~700 nm). Furthermore, the spectral intensity of the porphyrin produced by the bacteria and the endogenous background tissue emission was extracted and compared. Based on the extracted autofluorescence spectra, a weighted subtraction method was utilized to obtain high-contrast and high-signal-to-noise identification of the bacteria on the skin surface. The experimental results indicate that the proposed method accurately reconstructs the multispectral fluorescence image and realizes the position of bacteria. After the weighted subtraction method was applied, the contrast increases by 12 to 46 times and the signal-to-noise ratio increases by 1.63 to 2 times.

Key words spectrum, fluorescence, and luminescence; multispectral reconstruction; snapshot; smart phone; Wiener estimation

1 引言

多光谱成像技术在遥感、壁画、食品安全、生物医学等领域有着迅速的发展^[1-4]。与彩色成像技术不同

的是,多光谱成像技术能获取图像每个像素点的光谱反射率^[5],光谱反射率是颜色最全面最准确的描述方式。多光谱重建技术是根据获取的彩色图像运用相应的算法估计其光谱反射率的一种方法,常用的重建方

收稿日期: 2022-01-10; 修回日期: 2022-03-02; 录用日期: 2022-03-14; 网络首发日期: 2022-03-26

基金项目: 国家自然科学基金(62104227)

通信作者: *13756006195@139.com

法主要有伪逆法^[6]、维纳估计法^[7]和主成分分析(PCA)法^[8]等。陈奕艺等^[9]利用多项式模型和主成分分析法对物体表面光谱反射率进行重建研究,验证了应用两种光源的 RGB 信号可有效提高光谱重建精度。梁金星等^[10]提出了伪逆法和局部反距离加权优化的光谱重建方法,提高了光谱重建精度。Chen 等^[11-12]采用维纳估计法,将从初始 RGB 值获得的系统矩阵与一组合成滤光器相结合,以生成另外三个对应于新颜色的值,这种方法具有快速性,可以实时从彩色图像估计多个组织位置的漫反射光谱,并在皮肤部位的体内颜色测量中进行了测试,验证了该方法的光谱重建精度。

目前,多光谱重建技术的发展方向主要集中在可见光波长部分和相应重建算法的改进,而近紫外荧光部分的光谱重建及其应用较少^[13]。本文以解决荧光光谱发射率重建及其应用问题为研究目标,提出一种基于 Wiener 估计的荧光多光谱重建方法。通过智能手机获取 RGB 通道值,运用维纳估计算法对表征颜色信息的光谱发射率进行重建,对重建精度进行分析评价,并将所提方法应用于皮肤和牙齿的细菌定位上。

荧光成像为评估人体组织上的细菌含量提供了新的研究手段^[14-15]。例如,卟啉作为细菌繁殖和代谢的副产品,在皮肤的皮脂腺和牙菌斑中积累^[16],在荧光刺激下发出红光信号,这与绿色自发荧光背景(来源于内源性组织成分)形成对比^[17]。通过追踪卟啉诱导的红色荧光信号,细菌污染的组织可以有效被定位。

2 维纳估计算法

从低维数据重建高维信息时,维纳估计算法在重建精度和计算效率方面是较好的^[18],也是最常用的。因此,本文将此方法应用于智能手机相机拍摄的 RGB 模式图像,重建荧光光谱强度。维纳估计算法是使初始光谱强度与用样本训练得到的重建光谱强度均方根误差值最小化的方法。在智能手机摄像头中,荧光响应可以描述为

$$V_c = \int \gamma(\lambda) f_c(\lambda) s(\lambda) d\lambda = \int m_c(\lambda) \gamma(\lambda) d\lambda, \quad (1)$$

式中: λ 是波长; V_c 是智能手机相机中子通道 C 的响应

(C 为 R,G,B); $f_c(\lambda)$ 是子通道 C 中滤波器的光谱透射率; $s(\lambda)$ 是相机传感器的光谱灵敏度; $m_c(\lambda)$ 是 $f_c(\lambda)$ 和 $s(\lambda)$ 的乘积,即每个子通道的光谱响应度; $\gamma(\lambda)$ 是目标组织的荧光发射光谱。式(1)的矩阵形式表示为

$$\mathbf{V} = \mathbf{M}\boldsymbol{\gamma}, \quad (2)$$

式中: \mathbf{V} 是智能手机相机的响应向量; \mathbf{M} 是智能手机相机的光谱响应矩阵; $\boldsymbol{\gamma}$ 是荧光光谱向量。

使用光谱仪来测量校准色块的光谱发射率,当光谱仪测量色块光谱发射率时,每个子通道的响应表示为

$$V'_{c'} = \int \gamma(\lambda) f_{c'}(\lambda) s'(\lambda) d\lambda = \int m'_{c'}(\lambda) \gamma(\lambda) d\lambda, \quad (3)$$

式中: $V'_{c'}$ 是第 C' 个子通道的响应, $C'=1,2,3,\dots,31$; $f_{c'}(\lambda)$ 是滤波器在第 C' 个子通道中的光谱透射率; $s'(\lambda)$ 是光谱灵敏度; $m'_{c'}(\lambda)$ 是 $f_{c'}(\lambda)$ 和 $s'(\lambda)$ 的乘积,称为光谱仪中每个子通道的光谱响应度。式(3)的矩阵形式表示为

$$\mathbf{V}' = \mathbf{M}'\boldsymbol{\gamma}, \quad (4)$$

式中: \mathbf{V}' 是光谱仪响应的向量; \mathbf{M}' 是光谱仪的光谱响应矩阵。为了从 RGB 图像重建多光谱图像,假设重建矩阵为 \mathbf{W} ,该过程表示为

$$\mathbf{V}'' = \mathbf{W}\mathbf{V}, \quad (5)$$

式中: \mathbf{V}'' 是重建的多光谱图像。为了确保重建的准确性,应使初始光谱发射率和重建光谱发射率之间的均方误差值最小,表达式为

$$E\left\{\|\mathbf{v}' - \mathbf{v}''\|^2\right\} \rightarrow \min, \quad (6)$$

式中: E 为数学期望; \mathbf{v}' 为初始光谱发射率列向量; \mathbf{v}'' 为重建得到的光谱发射率列向量。

设:

$$\begin{cases} \mathbf{v} = \mathbf{M}\mathbf{v}' \\ \mathbf{v}'' = \mathbf{M}\mathbf{v}' \end{cases}, \quad (7)$$

由 2-范数可知,

$$\|\mathbf{v}' - \mathbf{v}''\|^2 = \text{trace}\{(\mathbf{v}' - \mathbf{v}'')(\mathbf{v}' - \mathbf{v}'')^T\}. \quad (8)$$

令 $f(\mathbf{W}) = E\left\{\|\mathbf{v}' - \mathbf{v}''\|^2\right\}$, 对其求导,得到

$$\frac{\partial f(\mathbf{W})}{\partial \mathbf{W}} = \frac{\partial \text{trace}}{\partial \mathbf{W}} \left\{ E[\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T - \mathbf{v}'\mathbf{v}''^T - \mathbf{v}''\mathbf{v}'^T + \mathbf{v}''\mathbf{v}''^T] \right\} = \frac{\partial \text{trace}}{\partial \mathbf{W}} \left\{ E[\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T - \mathbf{v}'(\mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}')^T - (\mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}')\mathbf{v}'^T + (\mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}')(\mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}')^T] \right\} = \frac{\partial \text{trace}}{\partial \mathbf{W}} \left\{ E[\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T - \mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T \mathbf{W}^T - \mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T + \mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T \mathbf{W}^T] \right\} = \mathbf{0}, \quad (9)$$

即,

$$E\left[-\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T - \mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T + \mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T + \mathbf{W}\mathbf{M}\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T\right] = \mathbf{0}, \quad (10)$$

所以,

$$\mathbf{W} = E(\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T) E(\mathbf{M}\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T \mathbf{M}^T)^{-1} = E(\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T) E(\mathbf{v}\mathbf{v}^T)^{-1}, \quad (11)$$

式中: $E(\mathbf{v}'\mathbf{v}'^T)$ 为初始光谱发射率列向量 \mathbf{v}' 与相机的 RGB 信号列向量 \mathbf{v} 的互相关矩阵; $E(\mathbf{v}\mathbf{v}^T)$ 称为相机的 RGB 信号列向量 \mathbf{v} 的自相关矩阵。

在实验中,由光谱仪实测的 n 个色块的光谱发射率构成矩阵 $\mathbf{V}' = (\mathbf{v}'_1, \mathbf{v}'_2, \dots, \mathbf{v}'_n)$, 获取的相机的 RGB 信号矩阵为 $\mathbf{V} = (\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2, \dots, \mathbf{v}_n)$, 由此得

$$E(\mathbf{v}\mathbf{v}^T) = \frac{\mathbf{V}' \times \mathbf{V}^T}{n}, E(\mathbf{v}\mathbf{v}^T) = \frac{\mathbf{V} \times \mathbf{V}^T}{n}. \quad (12)$$

3 实验

3.1 荧光色卡制作与光谱发射率获取

为了提供校准数据集,通过用于人体彩绘的荧光染料对树脂基底进行染色,来合成荧光色图,如图 1 所示。通过各种染料的混合,获得了具有独特荧光外观的色块。进行实验校准,在暗室环境下,用 365 nm LED 灯照亮这张荧光色图,智能手机摄像头和光谱仪分别采集 RGB 模式的图像(如图 1 所示)和 64 个色块的光谱强度(如图 2 所示)。光谱仪(Flame-S, Ocean Optics 公司,美国)测量获取荧光色卡样本在 380~720 nm 波长范围内的光谱强度信息,该设备采用 45°(光源)/垂直(光纤)测量条件,在测量中通过 5 次测量求平均的方法减小随机噪声引起的测量误差。同时,为去除在光谱曲线两端由系统误差造成的噪声和光源的影响,以 10 nm 为采样间隔,截取 400~700 nm 范围

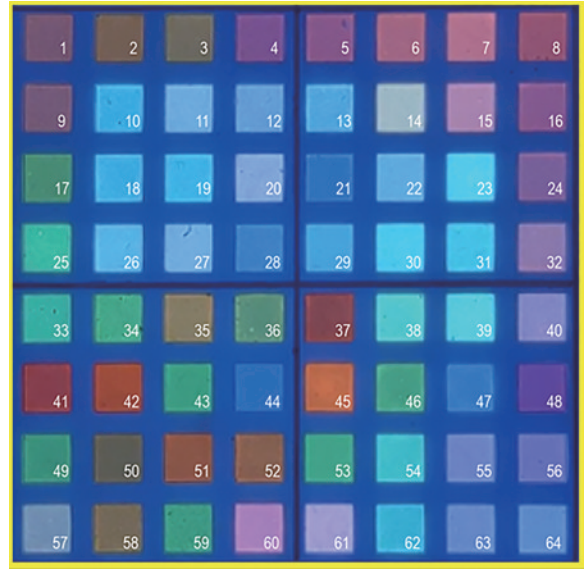


图 1 荧光色卡
Fig. 1 Fluorescent color card

内的光谱强度作为初始荧光光谱用于后续实验。

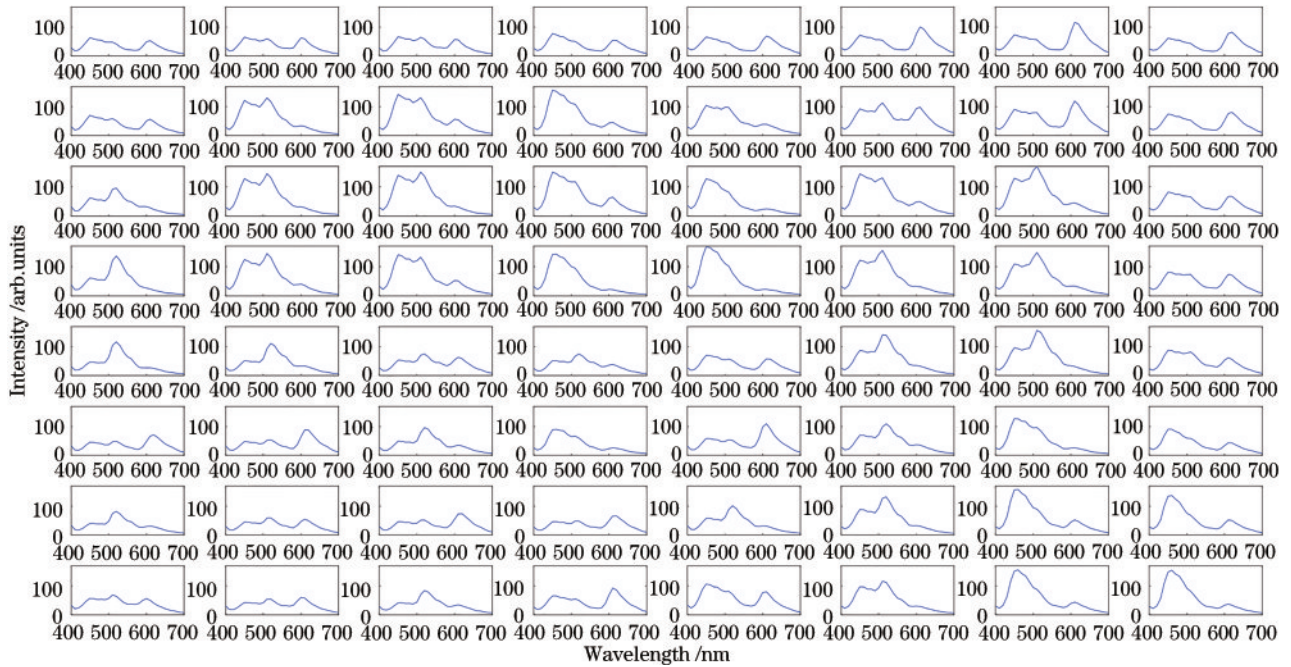


图 2 64 个色块的光谱强度曲线
Fig. 2 Spectral intensity curves of 64 color blocks

3.2 智能手机系统的设置和校准

智能手机自发荧光多光谱成像系统的示意图如图 3 所示。该设备由一部商用智能手机和一个自制的紫色荧光灯附件组成,智能手机(Pixel4, 谷歌, 美国)用于演示,附件由 12 个 365 nm LED 荧光灯组装在 3D 打印的环形物上,以提供紫色荧光刺激。用标准的 95% 反射板测试视场(FOV)中的照明均匀性。U1(最小/平均照度)和 U2(最小/最大照度)分别被评估为 0.92 和 0.78,这意味着照度相对均匀。拍照时,在

暗室环境中,光源为 365 nm LED 荧光灯,图像分辨率设置为 3024 × 4032 像素。获取自发荧光图像用于重建。

3.3 光谱重建精度验证与分析

为了研究重建精度,运用维纳估计算法计算出估计矩阵,并将矩阵应用于荧光色图的 RGB 模式图像上,重建了 64 个色块的初始荧光光谱。然后,计算这些色块的初始荧光光谱和重建荧光光谱之间的相关系数和均方根误差,结果如表 1 和表 2 所示。相关系数的

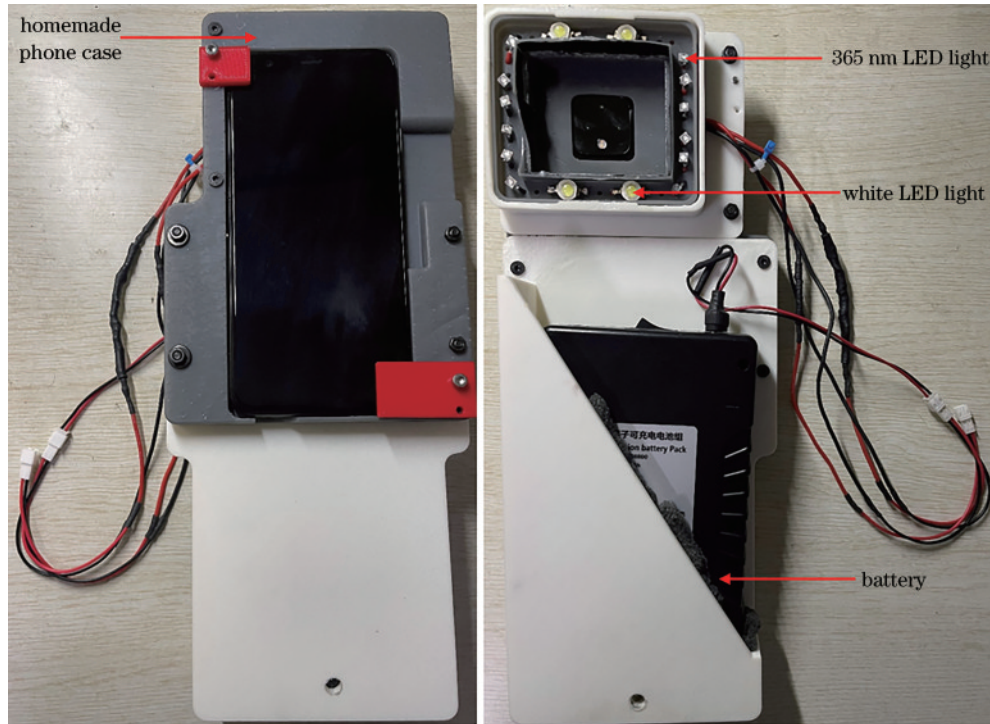


图 3 智能手机和一个自制手机外壳(外壳有电池组和荧光灯)

Fig. 3 Smart phone and a homemade phone case (case with battery pack and fluorescent lamp)

表 1 64 个色块初始荧光光谱与重建荧光光谱的相关系数

Table 1 Correlation coefficient between initial and reconstructed fluorescence spectra of 64 color blocks

0.9771	0.9649	0.9808	0.9960	0.9909	0.9938	0.9947	0.9738
0.9825	0.9990	0.9976	0.9973	0.9930	0.9756	0.9994	0.9892
0.9615	0.9987	0.9996	0.9982	0.9974	0.9987	0.9910	0.9873
0.9897	0.9947	0.9992	0.9986	0.9517	0.9968	0.9949	0.9796
0.9939	0.9961	0.9457	0.9843	0.9406	0.9990	0.9871	0.9845
0.9725	0.9928	0.9925	0.9853	0.9813	0.9855	0.9945	0.9984
0.9887	0.9459	0.9853	0.9852	0.9928	0.9954	0.9951	0.9960
0.9394	0.9384	0.9861	0.9673	0.9905	0.9989	0.9977	0.9949

表 2 64 个色块的初始和重建荧光光谱之间的均方根误差

Table 2 Root mean square error between initial and reconstructed fluorescence spectra of 64 color blocks

0.0373	0.0552	0.0514	0.0384	0.0440	0.0506	0.0755	0.0480
0.0448	0.0226	0.0354	0.0555	0.1266	0.0718	0.0876	0.0356
0.0876	0.0459	0.0349	0.0380	0.0306	0.0338	0.0850	0.0469
0.0560	0.0459	0.0211	0.0759	0.1822	0.0396	0.0478	0.0451
0.0352	0.0250	0.0574	0.0574	0.0847	0.0426	0.0729	0.0589
0.0414	0.0251	0.0436	0.1514	0.0705	0.0327	0.0547	0.0231
0.0593	0.0676	0.0304	0.0403	0.0382	0.0388	0.0814	0.0453
0.1263	0.0294	0.0836	0.1240	0.1253	0.0518	0.0525	0.0524

最大值、最小值、平均值和标准差分别为 0.9996、0.9384、0.9855 和 0.0161。一些荧光色块中较低的相关系数可能是相对较弱的荧光信号引起的。由于量子效率不同,智能手机摄像头中的传感器对绿光比其他传感器更敏感,这可能导致相应波段的重建精度更高。对于每个色块,均方根误差是初始光谱值与重建光谱

值偏差的平方与波段数比值的平方根。选择 3 个有代表性的色块,包括最佳色块、最差色块和相关系数接近色块平均值的块,并在图 4 中显示它们的初始荧光光谱谱线和重建荧光光谱谱线。这些结果表明,计算出的估计矩阵可以从 RGB 模式的自发荧光图像中准确地恢复多光谱信息。

3.4 自发荧光图像的获取与重建

为了获取自发荧光图像,招募了两个志愿者并对其皮肤和牙齿进行拍摄。根据智能手机系统的设置,在暗室环境中,打开 365 nm LED 灯,用智能手机对皮肤和口腔进行拍摄。图 5(a)为来自鼻梁皮肤的 RGB 模式自发荧光图像,其中很明显毛囊周围的皮肤组织发出红色荧光信号。从图 5(b)的部分放大图像中,可以看到不同点处的荧光在颜色和强度上不同。毛囊周围不同的自发荧光性能被认为是多种因素引起的,包括皮脂分泌的量和细菌的活性。一般来说,皮脂腺分泌过多的皮脂和高细菌污染共同产生强烈的红色荧光信号。图 5(c)为受试者口腔中牙齿的自发荧光图像,其中第三磨牙根部的显著红色荧光信号表明存在牙菌斑,即大量细菌。从图 5(d)第三磨牙的放大细节可以看出,红色荧光的强度在牙菌斑区域分布不均匀。由于内源性牙齿组织的自发荧光信号的存在,边界是模糊的。虽然荧光图像清楚地表明宿主组织中含有卟啉的细菌积累,但细菌含量的提取和定量评估很困难,这主要因为宿主组织成分(例如蛋白质胶原、牙釉质、牙本质等)发出的强背景荧光信号。

利用计算出的估计矩阵将面部皮肤和牙齿的

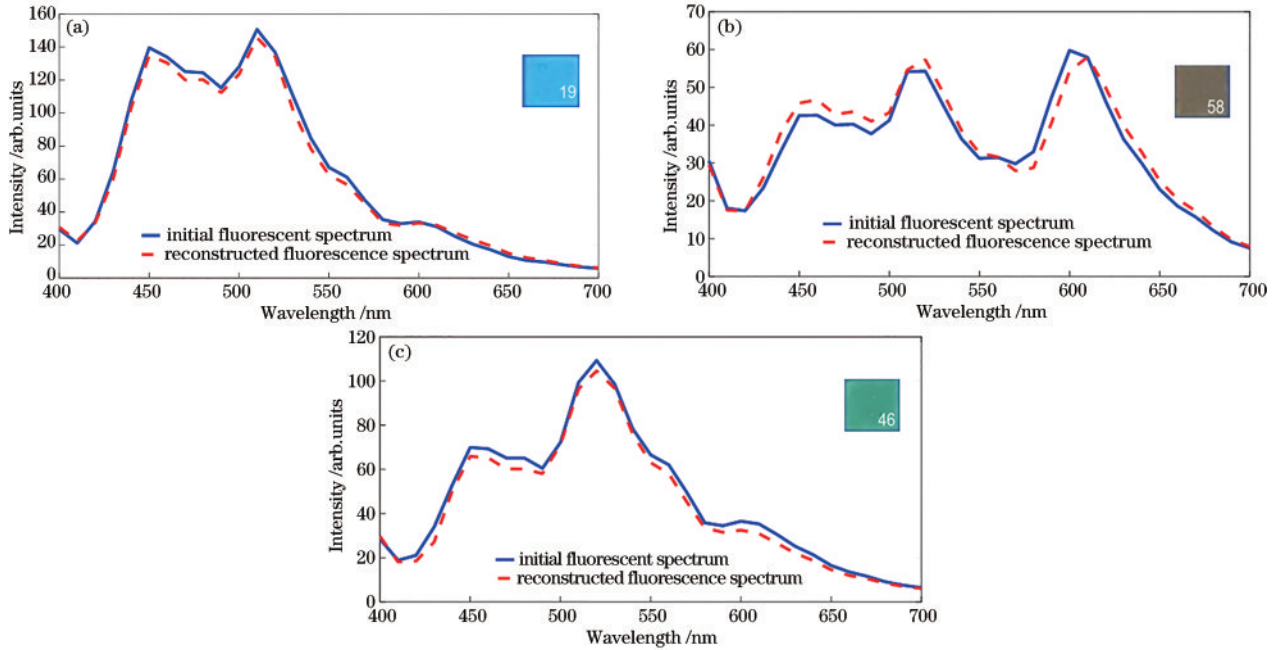


图 4 三种代表性荧光色块在 31 个波段的初始和重建荧光光谱的比较。(a) 相关系数为 0.9996(最大值);(b) 相关系数为 0.9384(最小值);(c) 相关系数为 0.9855(接近平均值)

Fig. 4 Comparison of initial and reconstructed fluorescence spectra of three representative fluorescent color patches in 31 bands. (a) Correlation coefficient is 0.9996 (maximum value); (b) correlation coefficient is 0.9384 (minimum value); (c) correlation coefficient is 0.9855 (close to average value)

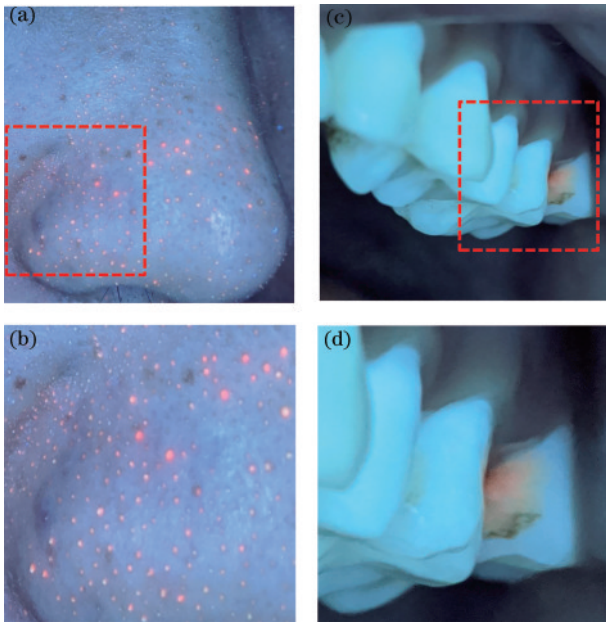


图 5 面部皮肤和口腔的 RGB 模式自发荧光图像

Fig. 5 RGB mode autofluorescence images of the skin and oral cavity

RGB 模式自发荧光图像转换为多光谱数据立方体,如图 6 所示。如图 5(a)和图 5(b)所示,鼻梁和鼻翼处的背景皮肤组织发射蓝色和绿色波段(从 430 nm 到 520 nm)的强荧光,与 Croce 等^[19]报告的自发荧光测量结果一致。蓝绿色波段的荧光峰是包括蛋白质、NADH、维生素和脂肪酸在内的多种荧光团贡献的。

毛囊周围的斑点发出红光,特别是从 600 nm 到 630 nm,与以前卟啉的荧光测量非常匹配^[20]。图 6(b)显示了对牙齿重建的自发荧光多光谱数据立方体,其中从 440 nm 到 520 nm 之间存在强荧光。这一带的荧光峰出现在 450 nm 和 510 nm 左右,是牙本质和釉质的典型荧光峰^[21]。第三磨牙表面的牙菌斑显示出与图 5(a)和图 5(b)中毛囊区域相似的反应,发出从 600 nm 到 630 nm 的强烈荧光信号。重建的多光谱数据立方体验证了细菌产生的卟啉和背景组织的不同光谱性能,表明这种多光谱信息可用基于光谱的分析和处理来区分。

3.5 光谱分析和细菌目标特征映射

从数据立方体中,选择细菌污染的组织 and 内源性组织作为目标来比较它们的光谱外观,从而实现对细菌的光谱分析。根据它们的荧光光谱性能,在不同波段之间应用加权减法从组织床中提取卟啉并进行对比^[22]。该过程可以描述为

$$C_r = C_1 - KC_2 = x_1 + y_1 - K(x_2 + y_2) = x_2(x_1/x_2 - K) + y_2(y_1/y_2 - K), \quad (13)$$

式中: C_r 是加权减法提取的自发荧光信息; C_1 和 C_2 是在两个选定波段处检测到的自发荧光强度; K 代表加权减法的比例; x_1 和 x_2 是卟啉在两个选定波段的自发荧光强度; y_1 和 y_2 是面部皮肤或牙齿在两个选定波段的自发荧光背景。这些值可以从提取的荧光光谱中测量。通过将 K 设为 y_1/y_2 ,可以提取数据中细菌产生的卟啉的自发荧光。

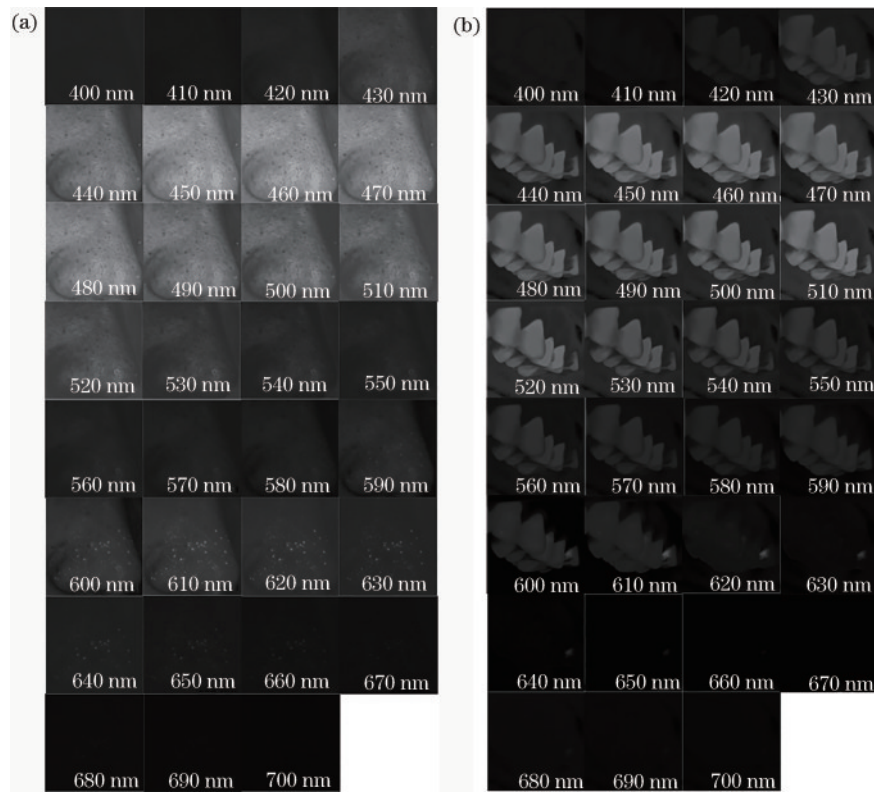


图 6 重建多光谱自发荧光数据立方体

Fig. 6 Reconstruction of multispectral autofluorescence data cube

为了比较细菌污染组织和背景皮肤之间的荧光光谱性能,在荧光图像中选择 10 个具有红色荧光信号的数据点和 10 个背景数据点,如图 7 所示。20 个数据点的荧光光谱是使用所提方法从重建的多光谱数据立方体中提取的,如图 7(b)所示,虚线为卟啉荧光光谱,实线为背景荧光光谱。这些数据点的位置分别用向下和向上箭头标记,如图 7(a)所示。在 580~700 nm 范围内细菌组的荧光信号强度明显高于背景皮肤组,强度差在 600~620 nm 范围内达到最大。根据介绍的加权减法,选择 610 nm [如图 7(c1)所示] 和 560 nm [如图 7(c2)所示] 两个波段进行双波段处理,实现细菌产生卟啉的特征映射。根据光谱分析结果,计算出减法比率为 1.59,并应用于加权减法中,结果如图 7(c3)所示,这时卟啉特征映射显示的背景信号污染最小。

图 7(d)是手机相机拍摄的牙齿自发荧光图像,其中牙齿组织成分(例如牙釉质、牙本质等)产生的背景绿色荧光被认为占主导地位。为了将含卟啉牙菌斑的荧光与强背景荧光分开,再次选择第二磨牙和第三磨牙,清洁表面上的 10 个数据点作为背景组(向上箭头),并从牙菌斑位置选择 10 个点(向下箭头)。根据光谱分析结果,计算出减法比率为 0.87,应用加权减法后,牙齿的荧光信号被去除,导致牙菌斑区域轮廓清晰,如图 7(f)所示。为了更清楚地说明卟啉图谱性能,

对细菌产生的卟啉和背景信号进行定量分析。为此,首先从 RGB 照片的每个图像中选择了 20 个相应的位置,重建了 560 nm 和 610 nm 的多光谱数据。在这 20 个位置,对由细菌产生的卟啉或背景组织引起的信号强度进行评估和平均,结果以条形图格式呈现,如图 8 所示,条形上标记的数字是卟啉和背景信号之间的强度比。其中 RGB 和多光谱图像中都存在强背景信号。然而,背景信号在特征映射结果中被显著抑制(即在图 8 的右栏中由‘3’标记的图像中显示的卟啉特征映射),为了量化对比度增强,计算了所有数据组中卟啉和背景信号之间的比率并显示在图 8 中,在使用所提加权减法后,背景皮肤和牙齿引起的信号大大减少。应用加权减法后图像与初始荧光图像或多光谱图像相比,对比度增强了 12~46 倍。计算得到面部和牙齿的多光谱图像[如图 7(c1)和图 7(f1)所示]的信噪比分别为 64.81 和 36.37,应用加权减法后,面部和牙齿图像[如图 7(c3)和图 7(f3)所示]的信噪比分别为 105.61 和 76.35,信噪比提高了 1.63~2 倍。因此,在应用加权减法后,信号强度在卟啉含量的定量测量中会更准确地指示出细菌感染的严重程度。需要注意的是,牙菌斑成像的背景来自牙齿,不同于面部皮肤。因此,在卟啉和牙齿荧光之间进行加权减法,得到图 7(f3),其中背景牙齿信号基本上被去除,牙龈和嘴唇区域有一些背景信号残留。

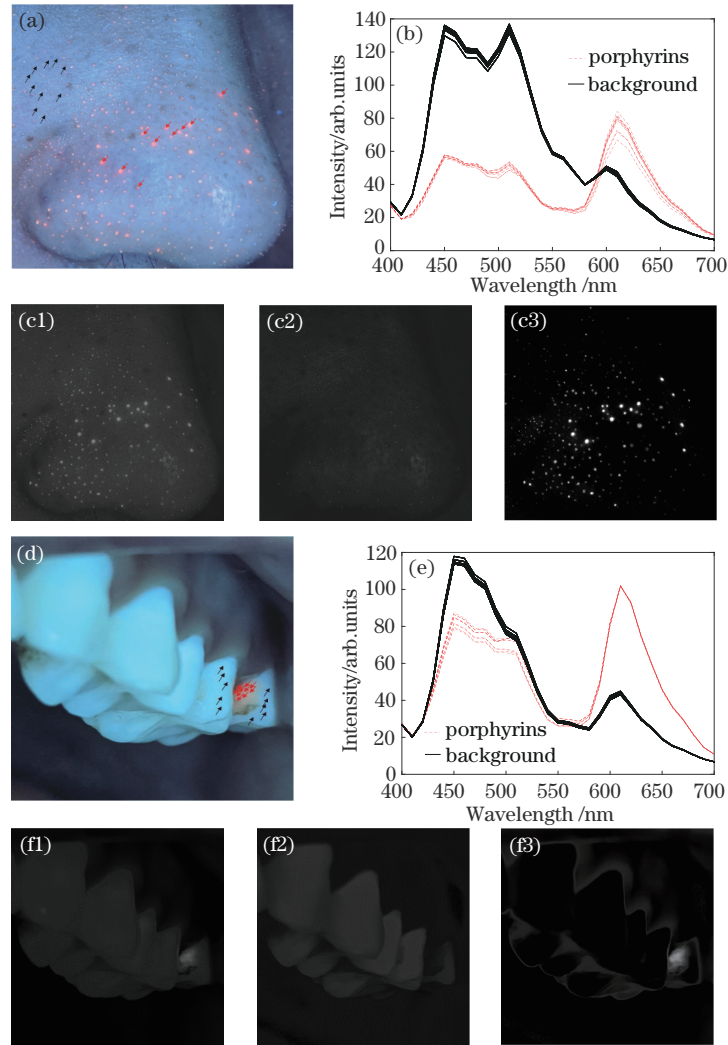


图 7 光谱分析和细菌目标特征映射

Fig. 7 Spectral analysis and bacteria-targeted feature mapping

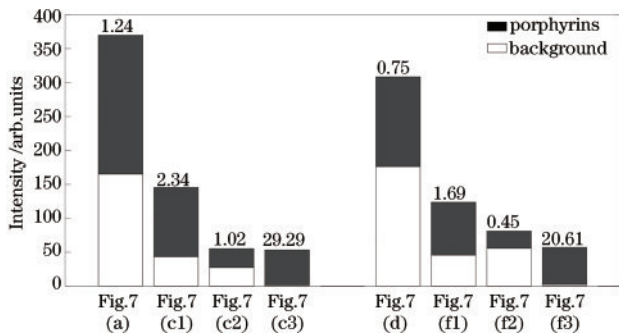


图 8 细菌产生的卟啉和背景自发荧光的定量分析

Fig. 8 Quantitative analysis of porphyrin and background autofluorescence produced by bacteria

4 讨 论

在本研究中,对细菌产生的卟啉荧光进行了分析处理,作为概念证明,介绍了所提系统和方法,对多光谱重建图像与多光谱重建后运用双波段减法得到的图像进行卟啉含量对比。此外,所提方法可以扩展到组合性和油性皮肤中细菌感染的定量分析方面。所提方

法还可以应用到具有较高串扰的背景中。如果来自多个荧光团的信号彼此接近,加权减法可以扩展到多波段模型。因此,所提系统和方法可用于分析更复杂的皮肤成分。这方面的一个例子是伤口床中生物负荷的差异,它发出高度混合的荧光信号。除了代谢卟啉,绿脓菌素也作为细菌副产物存在于生物堆中,并在荧光照射下发出青色荧光,这很容易被内源性绿色荧光淹没。通过所提方法,这些荧光团可以潜在地从伤口床分离和绘制,从而为伤口愈合预测和清创术提供视觉指导。此外,这里应用所提系统和方法来分析人体组织的细菌感染情况,但也可推广到其他需要荧光鉴别和定量的应用中。通过调整重建的波长,智能手机设备和方法也可以应用于胶原蛋白的研究,有助于评估皮肤的老化性能。此外,3D打印的附件是一个样机,后续可添加环形 365 nm LED 灯直接吸附在手机摄像头的周围,用手机上的 USB Type-C 接口给 LED 灯充电。将来,皮肤和口腔细菌评估的相关移动应用程序可能会开发为智能手机的 APP。在暗室环境下,打开 365 nm LED 灯,消费者通过手机 APP 先对色卡进行

拍摄,再对皮肤或口腔进行拍摄,就可以方便地对自己的皮肤和口腔细菌状况进行自我分析。

5 结 论

提出了一种基于智能手机的荧光多光谱重建方法,用于对人体皮肤组织和牙齿的细菌评估。制作了荧光色卡,并用光谱仪实际测量出其光谱强度。运用维纳估计算法,将获得的RGB模式自发荧光图像转换成可见光范围内的多光谱数据立方体,从中可以分离出细菌产生的卟啉的特定光谱发射。进而提出一种抑制背景信号的加权减法,以增加目标细菌特征与背景菌床的对比度和信噪比。所提方法实现了对皮肤和口腔细菌目标特征的光谱分析和特征映射。

参 考 文 献

- [1] Shaw J A, Nugent P W, Kaufman N A, et al. Multispectral imaging systems on tethered balloons for optical remote sensing education and research[J]. *Journal of Applied Remote Sensing*, 2012, 6(1): 063613.
- [2] Wang Z, Wang K, Long Y Q, et al. Research on color reproduction of mural based on multi-spectral imaging technology[J]. *DEStech Transactions on Engineering and Technology Research*, 2017: 14629.
- [3] Qin J W, Chao K L, Kim M S, et al. Hyperspectral and multispectral imaging for evaluating food safety and quality [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 118(2): 157-171.
- [4] Jolivot R, Benezeth Y, Marzani F. Skin parameter map retrieval from a dedicated multispectral imaging system applied to dermatology/cosmetology[J]. *International Journal of Biomedical Imaging*, 2013, 2013: 978289.
- [5] Li C Y, Monno Y, Hidaka H, et al. Pro-cam SSfM: projector-camera system for structure and spectral reflectance from motion[C]//2019 IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV), October 27-November 2, 2019, Seoul, Korea (South). New York: IEEE Press, 2019: 2414-2423.
- [6] Tanaka N. Multi-spectral imaging method for 3D computer graphics reproduction of human skin[J]. *Design Research*, 2020, 80: 18-24.
- [7] Chen S, Wang G, Cui X Y, et al. Stepwise method based on Wiener estimation for spectral reconstruction in spectroscopic Raman imaging[J]. *Optics Express*, 2017, 25(2): 1005-1018.
- [8] Rey-Barroso L, Burgos-Fernández F J, Delpueyo X, et al. Visible and extended near-infrared multispectral imaging for skin cancer diagnosis[J]. *Sensors*, 2018, 18(5): 1441.
- [9] 陈奕艺, 徐海松, 张显斗, 等. 基于数码相机的光谱重构研究[J]. *光学学报*, 2009, 29(5): 1416-1419.
Chen Y Y, Xu H S, Zhang X D, et al. Study of spectral reconstruction based on digital camera[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, 29(5): 1416-1419.
- [10] 梁金星, 万晓霞. 彩色数码相机单幅RGB图像光谱重建研究[J]. *光学学报*, 2017, 37(9): 0933001.
Liang J X, Wan X X. Spectral reconstruction from single RGB image of trichromatic digital camera[J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(9): 0933001.
- [11] Chen S, Liu Q. Modified Wiener estimation of diffuse reflectance spectra from RGB values by the synthesis of new colors for tissue measurements[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(3): 030501.
- [12] Chen S, Lin X Q, Yuen C, et al. Recovery of Raman spectra with low signal-to-noise ratio using Wiener estimation[J]. *Optics Express*, 2014, 22(10): 12102-12114.
- [13] 马雪洁, 刘蓉, 李晨曦, 等. 高光谱在体组织成像方法的研究进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(8): 080002.
Ma X J, Liu R, Li C X, et al. Hyperspectral imaging of *in vivo* tissues: a review[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(8): 080002.
- [14] Chen J, Feng S J, Chen M, et al. *In vivo* dynamic monitoring of bacterial infection by NIR-II fluorescence imaging[J]. *Small*, 2020, 16(34): e2002054.
- [15] Raizman R, Dunham D, Lindvere-Teene L, et al. Use of a bacterial fluorescence imaging device: wound measurement, bacterial detection and targeted debridement [J]. *Journal of Wound Care*, 2019, 28(12): 824-834.
- [16] Barnard E, Johnson T, Ngo T, et al. Porphyrin production and regulation in cutaneous propionibacteria [J]. *mSphere*, 2020, 5(1): e00793-e00719.
- [17] Patwardhan S V, Richter C, Vogt A, et al. Measuring acne using Coproporphyrin III, Protoporphyrin IX, and lesion-specific inflammation: an exploratory study[J]. *Archives of Dermatological Research*, 2017, 309(3): 159-167.
- [18] Shen H L, Cai P Q, Shao S J, et al. Reflectance reconstruction for multispectral imaging by adaptive Wiener estimation[J]. *Optics Express*, 2007, 15(23): 15545-15554.
- [19] Croce A C, Bottiroli G. Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis [J]. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 2014, 58(4): 2461.
- [20] Shakibaie F, Lamard L, Rubinsztein-Dunlop H, et al. Application of fluorescence spectroscopy for microbial detection to enhance clinical investigations[M]//Photon counting-fundamentals and applications. London: Intech, 2018: 225-242.
- [21] Shiny Sara T, Subhash N. Spectroscopic investigation of tooth caries and demineralization[D]. Kerala: Cochin University of Science and Technology, 2009.
- [22] He Q H, Wang R K. Analysis of skin morphological features and real-time monitoring using snapshot hyperspectral imaging[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(11): 5625-5638.