

小样本光子图像的统计处理*

马 瑜 俞 信 王 苏 生 李 勤

(北京理工大学光电工程系, 北京 100081)

摘 要 讨论了一种对小样本光子图像的统计处理方法。在超微弱发光的研究中(例如细胞的超微弱荧光), 由于发光强度极弱, 需要用像增强器对超微弱发光图像进行增强得到可视图像, 超微弱发光图像不可避免地受到像增强系统暗噪声及背景噪声的影响, 使光子图像湮没在噪声中。为从原始图像中检验出信号, 根据信号光子和噪声光子的不同统计分布, 运用信号检测与评估的方法判断光子是否属于信号光子, 并得到一简明的判据, 由此判据剔除图像中的噪声光子, 得到信噪比改善的光子图像。并用此方法处理了人手掌的超微弱发光光子图像。

关键词 光子图像, 信号检测与评估, 光子图像处理, 生物发光。

1 引 言

在微弱光探测中, 对极微弱光辐射[$10^0 \sim 10^4$ photon/($\text{cm}^2 \cdot \text{s}$)] 的探测已作为一种重要探测手段运用于生物、医学等领域。例如在探测生物细胞的自发发光时, 由于其发光强度极弱, 大致为 $0 \sim 100$ photon/($\text{cm}^2 \cdot \text{s}$), 因此必须使用灵敏度极高的光子成像系统才能探测到如此低水平的光子发射。我们改进了荧光显微镜得到超高灵敏度荧光显微镜, 利用微通道板像增强器获得了细胞的显微光子图像。微通道板像增强器是 80 年代发展起来的一种超高灵敏度的微弱光探测器, 可探测到 $10^0 \sim 10^9$ photon/($\text{cm}^2 \cdot \text{s}$) 的超微弱图像, 是二维成像探测器中灵敏度最高的光电成像系统之一。

光子图像极大地区别于传统的灰度图像, 光子图像表现为二值分布, 即对像面上的一点, 只存在有无光子两种可能。因此对光子图像的处理也有别于传统的图像处理方式。从光子的统计分布规律探讨对光子图像的处理方法是一有效的途径。

当光子总计数远小于像素数时, 我们称此光子图像为小样本光子图像。在小样本光子图像的处理中, 由于光子的量子性, 光子并不遵循几何光学中的预定轨道传送, 而是服从于一统计分布, 因而通常用统计理论来研究少数光子在时间和空间上的分布。超微弱发光图像受背景暗噪声及探测系统暗计数的影响, 在光子图像上叠加随机分布的噪声点, 在信号较弱的情况下, 光子图像的信噪比极低, 信号湮没于噪声光子中而难以区分。在图像信号和背景噪声都较弱的条件下, 信号和噪声都服从泊松分布。因而可用统计检验来对小样本光子图像进行处理, 剔除噪声光子, 以提高光子图像的信噪比。

* 国家科委 863 高科技及国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1999-07-12; 收到修改稿日期: 1999-09-09

2 光子图像

本文采用的光子图像探测系统是以微通道板像增强器为核心的超高灵敏度成像系统,该系统由微通道板增强器(Japan, Hamamatsu C2166-01)、中继透镜、CCD 摄像系统、图像采集卡及微机组成。

探测对象由照相物镜成像在微通道板像增强器的多碱光阴极上,透过输入窗口落在像增强器光阴极上的光子由于光电效应转换成电子图像,电子透镜将电子图像耦合到微通道板上,从微通道板出射的电子撞击荧光屏重新激发出光子图像。微通道板像增强器的光子放大能力为($10^3 \sim 10^7$),每一落在像增强器上的光子经过放大后,在像增强器的出射荧光屏的光斑直径为 $60 \mu\text{m}$,延迟时间为 $30 \sim 100 \text{ ms}$ (增益为 10^6 时)。整个成像系统的空间分辨率为 15 line pairs/mm (线对/毫米)[在 $10^6 \text{ photon}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 以下的单光子成像条件下]。荧光屏上的图像由中继透镜投射在 CCD 摄像系统的像面上,经图像采集卡进入计算机,成像系统的阴极灵敏度(等效背景噪音)为 $50 \text{ photon}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 。

为了便于对统计处理前后的光子图像进行分析比较,需要一个稳定的光子源。我们采用了装 C_{14} 的一端开口的圆形金属小盒, C_{14} 衰变时产生稳定的微弱光子辐射。

利用上述光子源及成像系统,得到图 1(a)、图 1(b) 两幅不同累积时间的含噪声光子图像。图 1(a) 为 60 帧叠加所得,有 2129 个光子记数,图 1(b) 为 20 帧叠加所得,有 696 个光子记数。

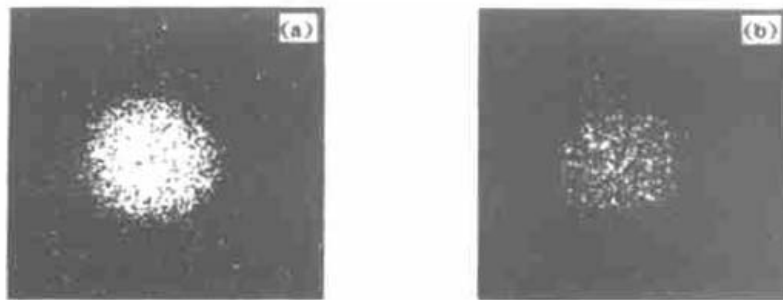


Fig. 1 Photon images before processing. (a) 2129 counts; (b) 696 counts

3 光子图像的处理

由于探测系统本身的背景噪声,使图像信号和噪声难以直接区分,必须用统计理论对光子图像进行图像处理,去除噪声,提高光子图像的信噪比。

探测系统的本底噪声表现为光子图像上的服从泊松分布的噪声点。为方便对光子图像进行处理,将图像分割为 $N \times N$ 个区域,其中信号区 S_s 含 N_s 个小区域,无信号的噪声区 S_n 含 $N^2 - N_s$ 个小区域。每一小区域中有 k 个光子。

作如下假设:

$$H_0: K(t) = n(t), \quad H_1: K(t) = s(t) + n(t),$$

假设 H_0 表示接收到的信号, $K(t)$ 为噪声,假设 H_1 表示接收到的信号, $K(t)$ 为信号与噪声的叠加, t 为时间。

$n(t)$ 表示小区域内出现记数点的是噪声光子或暗记数, $s(t)$ 表示小区域内出现的光子是信号光子。

$P(H_0/x)$ 为给定样本 x 下 H_0 为真的概率, $P(H_1/x)$ 为给定样本 x 下 H_1 为真的概率。根据最大后验概率的判定规则:

若 $P(H_1/x) \geq P(H_0/x)$, 则判定 H_1 为真, 否则 H_0 为真, 对随机的光子图像, $P(H_1/x) = P(H_0/x)$ 的概率极小, 可视为零。于是有

$$\frac{P(H_1/x)}{P(H_0/x)} > 1, \tag{1}$$

若(1)式成立, 则 $P(H_1/x)$ 为真, 否则 $P(H_0/x)$ 为真。

设 $P(H_1)$ 和 $P(H_0)$ 分别为假设 H_1 和 H_0 为真的先验概率, 即光子图像任一小区域中有信号和无信号的先验概率, $P(x/H_1)$ 和 $P(x/H_0)$ 分别为假设 H_1 和 H_0 为真光子样本 x 的概率密度函数。令 $\zeta = P(H_0)$, 则

$$1 - \zeta = P(H_1), \quad P_1(x) = P(x/H_1), \quad P_0(x) = P(x/H_0).$$

则(1)式左端由先验概率表示为,

$$\frac{P(H_1/x)}{P(H_0/x)} = \frac{(1 - \zeta)P_1(x)}{\zeta P_0(x)}.$$

(1)式进一步化简为

$$\frac{P_1(x)}{P_0(x)} > \frac{\zeta}{1 - \zeta} \tag{2}$$

若(2)成立, 则 $P(H_1/x)$ 为真, 即判定其区域中有信号光子; 否则 $P(H_0/x)$ 为真, 即判定区域内光子为噪声光子。在光子图像中, 噪声表现为加性噪声。因此, 信号区光子分布的密度函数为

$$P_1(U = k) = \frac{\lambda_s^k}{k!} \exp(-\lambda_s) + \frac{\lambda_n^k}{k!} \exp(-\lambda_n),$$

式中, k 为每一小区域中出现光子的个数。 λ_s 为信号区的小区域中出现信号光子的平均个数, λ_n 为噪声区的小区域中出现噪声光子的平均个数。噪声区光子分布的密度函数为

$$P_0(U = k) = \frac{\lambda_n^k}{k!} \exp(-\lambda_n),$$

即信号光子和噪声光子分别服从于参数为 λ_s 和 λ_n 的泊松分布, $P_1(U = k)$ 表示在信号区内出现 $U(= k)$ 个光子的几率, $P_0(U = k)$ 表示在噪声区内出现 $U(= k)$ 个光子的几率。

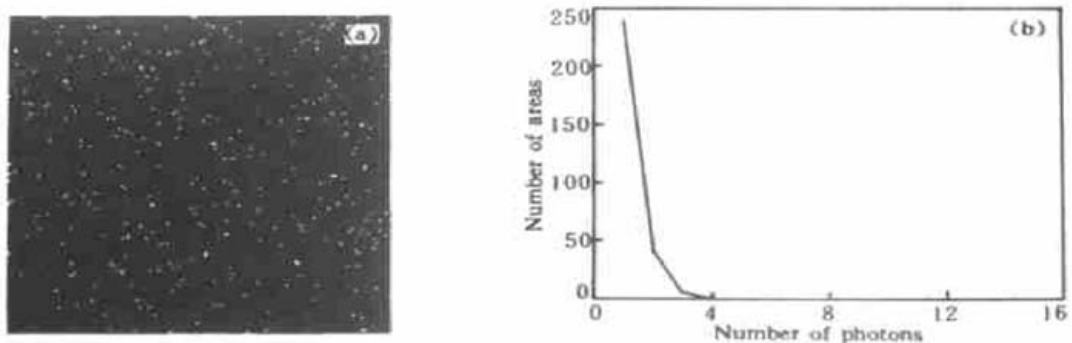


Fig. 2 Background noise and its probability distribution chart.

将光子图分割为若干相同大小的区域, 统计含有相同光子数的小区域, 纵轴表含有相同光子数的小区域的数量, 横轴表小区域中的光子数。

图 3(a) 和图 3(b) 表明: 图 1(a) 和图 1(b) 中均存在两种以上不同概率密度的概率分布。为方便讨论, 假定信号光子服从同一分布。即图 1(a) 和图 1(b) 中只存在信号分布和噪声分布。取两峰值之间的最小值为信号分布和噪声分布的交点, 对 λ_s 和 λ_n 分别作出估计:

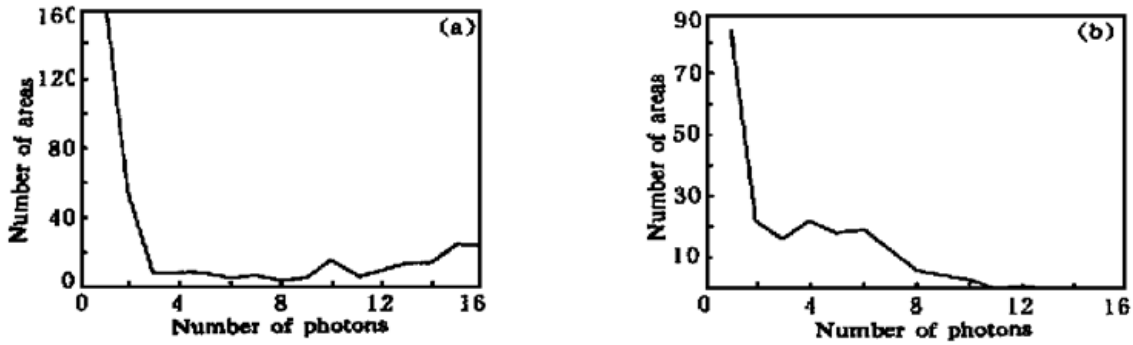


Fig. 3 Probability distribution charts of Fig. 1(a) and Fig. 1(b).

$$\lambda_s = E(P_1), \quad \lambda_n E(P_0), \quad \lambda_n = E(P_0),$$

式中 $E(P_1)$ 和 $E(P_0)$ 表示求 P_1 和 P_0 的数学期望。

(2) 式变为

$$k > \frac{\ln[(2\zeta - 1)/(1 - \zeta)] + (\lambda_s - \lambda_n)}{\ln(\lambda_s/\lambda_n)} \tag{3}$$

当上式成立时, 判定区域内含有信号光子, 否则为噪声光子。

假定 $\zeta = 2/3$, 则(3) 式简化为:

$$k > \frac{\lambda_s - \lambda_n}{\ln(\lambda_s/\lambda_n)} \tag{4}$$

以上讨论给出了一个简明的判据: 当小区域内的光子数大于 k 时, 判定区域内含有信号光子, 否则为噪声光子或暗记数, k 的大小由 λ_s 和 λ_n 决定。图像处理时剔除只含噪声光子或暗记数的区域, 保留含信号光子的区域, 从而得到信噪比改善的图像。

由(3) 式可以看出, 当 ζ 在一较大范围内变动时, k 的取值保持不变(k 只可以取整数)。解方程:

$$|[\ln(\frac{2\zeta - 1}{1 - \zeta}) + (\lambda_s - \lambda_n)]/\ln(\frac{\lambda_s}{\lambda_n}) - (\lambda_s - \lambda_n)/\ln(\frac{\lambda_s}{\lambda_n})| < 1.$$

可得

$$\frac{\lambda_s + \lambda_n}{2\lambda_s + \lambda_n} > \zeta > \frac{\lambda_n + \lambda_s}{\lambda_s + 2\lambda_n}$$

事实上, 对图 1(a), 有 $\lambda_n = 1.98$, $\lambda_s = 13.38$, 当 $0.886 > \zeta > 0.534$ 时, k 的取值不变。所作的假设 $\zeta = 2/3$ 对 k 取值的影响在较大范围内可以不计。

另外, 当给出假定 $\zeta = 2/3$ 时, 同时也就得到信号分布和噪声分布交点的假定。在概率分布图图 3(a) 和图 3(b) 中, 曲线下的面积就是含有信号光子和噪声光子的小区域的总和, 假定 $\zeta = 2/3$ 即假定只含有噪声光子的小区域数占了小区域总数的 $2/3$, 信号分布和噪声分布的交点就是曲线下总面积的 $2/3$ 处, 由此可得到 λ_s 和 λ_n 的估计值。取得信号分布和噪声分布的交点, 对 λ_s 和 λ_n 分别作出估计:

$$\lambda_s = E(P_1), \quad \lambda_n = E(P_0), \quad \lambda_n = E(P_0).$$

和前一种对 λ_s 和 λ_n 的估计相比, 此方法具有更广泛的适用性。

对图 1(a), 用此方法可得 $\lambda_s = 2.032$, $\lambda_n = 13.08$, k 的取值仍然不变。在大多数情况下, 两种 λ_s 和 λ_n 的估计方法都可得到相同的结果, 当概率分布图中信号分布和噪声分布交点不明显时, 可用此方法估计 λ_s 和 λ_n 。

4 实验结果

由(4)式对图 1(a)、图 1(b) 进行处理, 分别得到图 4(a)、图 4(b)。

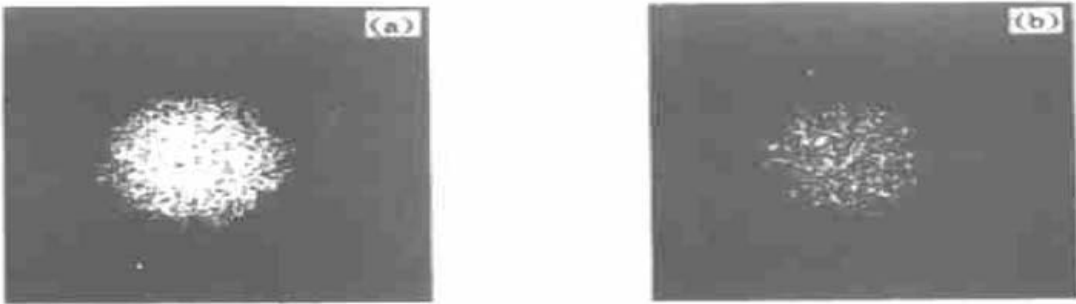


Fig. 4 Processed photon images.

和图 1(a)、图 1(b) 相比, 图 4(a)、图 4(b) 都极大地提高了图像的信噪比。处理后的光子图像与光源外形图 5 吻合得较好。说明对光子图像的处理是成功的。

对人手掌超微弱发光光子图像的处理:

用相同方法, 作者对人手掌经 20 帧累加得到的超微弱发光图像进行处理, 得到了信噪比提高了的光子图像, 从处理后的光子图像中, 可以分辨出人手掌的外形, 还可以辨认出手指的大致轮廓。处理后的图像[图 6(b)]较原图像[图 6(a)]有很大的改善。

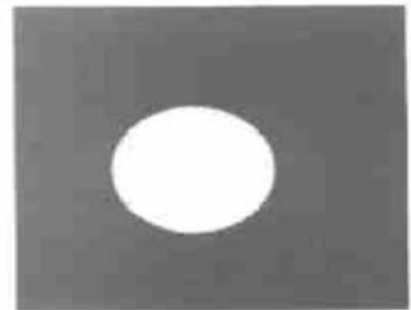


Fig. 5 Appearance of photon source.

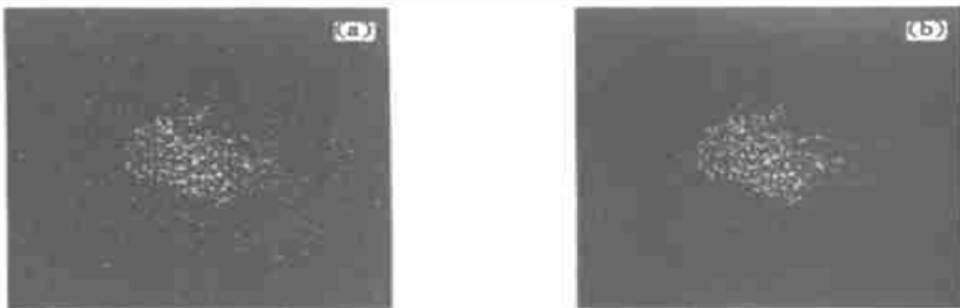


Fig. 6 Photon image of palm. (a) Before processing; (b) After process

结 论 本统计方法适用于小样本光子图像的处理, 能较大地提高光子图像的信噪比。可以较好地噪声背景中提取有用的光子信号, 对研究生物超微弱发光有很大的意义。

本方法还适用于微观生物超微弱发光的研究, 对噪声背景下的生物细胞的超微弱光子辐射, 本方法也可提取出相应的信号图像。

此方法在应用中还应不断完善, 对图像区域的分割和信号光子的统计规律以及 ζ 取值对信号光子提取的影响, 尚需作进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 曾庆勇. 微弱信号检测. 杭州: 浙江大学出版社, 1986
- [2] 陈宗海. 过程系统建模与仿真. 北京: 中国科学技术大学出版社, 1997
- [3] 周仁忠, 阎吉祥 等. 光电统计理论与技术. 北京: 北京理工大学出版社, 1989
- [4] 张贤达. 现代信号处理. 北京: 清华大学出版社, 1995

- [5] 刘有恒. 信号检测与估计. 北京: 人民邮电出版社, 1989
- [6] 胡天喜, 陈 杞, 陈光明. 发光分析与医学. 上海: 华东师范大学出版社, 1990
- [7] Cao Genrui, Yu Xin, Hu Xinqi. Photon counting image acquisition technique and its applications. *Proc. SPIE*, 1994, **2513**: 566~ 572
- [8] Frieden B R. Probability, *Statistical Optics, and Data Testing*. Berlin: Springer-verlag, 1983. 162~ 172
- [9] Fordham J L A, Bellis J G, Bone D A. The MIC Photon counting detector. *Proc. SPIE*, 1991, **1449**: 87~ 98
- [10] Häder D-P. *Image Analysis in Biology*. London: CRC Press, 1992. 76~ 86
- [11] Tianming C. Bioluminescence imaging and image processing. *Proc. SPIE*, 1996, **2894**: 276~ 281

Thin Samples Photon Image Processing with Statistical Method

Ma Yu Yu Xin Wang Susheng Li Qin

(*Optoelectronic Engineering Department of Beijing Institute of Technology, Beijing 100081*)

(Received 12 July 1999; revised 9 September 1999)

Abstract A statistical method has been developed to process thin samples photon image. In studying of ultraweak luminescence (e. g. the cell ultraweak bioluminescence), it is need to apply a image intensifier to get visible photon counting image. The photon images are unavoidably influenced by intensifier dark noise and background noise, which make the signal photons submerged in noise photons. According to the statistical difference of signal photons and noise photons, a signal test and evaluation method is given to test whether the photons belong to the signal photons and get a concise criterion. By this criterion the noise photons can be distinguished from original image and be discarded to get S/N improved photon image. Using this method a human palm ultraweak luminescence photon image is processed.

Key words photon image, signal test and evaluation, photon image processing, bioluminescence.