

文章编号 : 0253-2239(2001)10-1194-05

超微弱光子图像的相关检测及计算机模拟^{*}

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: 在超微弱发光的研究中(例如生物发光),由于发光强度极弱,由像增强器得到的光子图像由于样本(光子)数量太少和受系统暗噪声的影响使其信噪比极低。提出了一种基于统计学的光子图像相关积分方法和基于相关处理的光子图像处理办法,用累积光子来提高图像信噪比并得到相应灰度图像并对该方法进行了计算机模拟,同时展示了光子图像和传统灰度图像的信噪比关系,是进行微弱生物发光信号检测的有效方法。

关键词: 光子图像;计算机模拟;相关检测

中图分类号: TN911.73 文献标识码: A

1 引 言

生物超微弱发光作为普遍存在的一种自然现象,作为生物体固有的微观生命活动的一种宏观表现,必然有其深刻的产生机理并与微观的生命过程相联系。生物组织的自发光发的发光强度极其微弱($1 \text{ count/cm}^2 \cdot \text{s} \sim 100 \text{ count/cm}^2 \cdot \text{s}$),信噪比低。采集条件要求较高^[1]。

由于光子的波粒二象性及发射的随机性,光子图像表现为空间不连续的离散点集,光子到达某一区域的概率由光子的统计规律决定^[2]。只有探测、积累足够长的时间后,才会形成通常意义上的空间连续分布的灰度图像。

光子图像采集时易受到背景噪声和成像系统背景暗噪声的影响,表现为光子图像上叠加的随机分布的噪声点。在信噪比不高的情况下,光子图像很容易湮没于噪声中,使图像信号和噪声难以区分。因而对提高光子图像信噪比的研究对光子图像的探测和处理有极重要的价值。

本文利用微弱信号相关检测的原理^[3],对多帧光子图像的叠加过程进行了系统的分析,并用计算机对多帧光子图像的累积过程进行了模拟,模拟的结果和理论推导基本一致,证明光子图像和模型吻合得较好以及光子图像的累积是光子图像处理的一种有效方法。

2 光子图像

光子图像采集时易受到背景噪声和成像系统背景暗噪声的影响,表现为光子图像上叠加的随机分布的噪声点。光子图像有别于灰度分布的随机像点,没有灰度的区别。实验证明光子图像的信噪比远小于相应的灰度图像。当探测系统稳定工作时,噪声服从于一定时间统计特性的泊松分布,光子图像的采集为一平稳随机过程^[4]。若将光子图像分割为大小相等的小区域,以每区域中包含的光子数为分布密度,通过统计含有相同光子数的小区域数,经

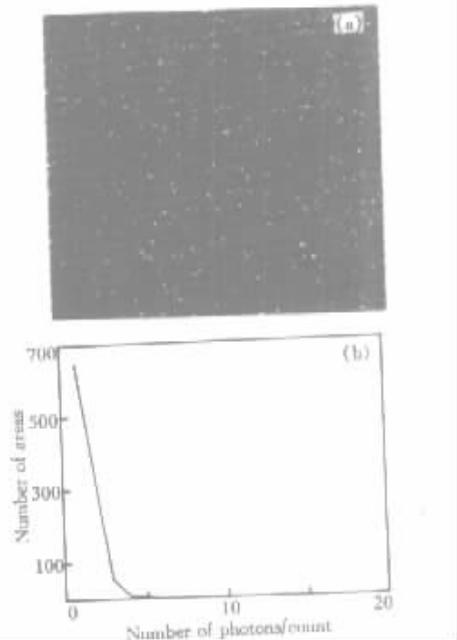


Fig. 1 (a) System dark noise ;(b) Probability distribution chart

^{*} 国家科委 863 高科技项目(863-308-19-03)及国家自然科学基金资助课题。

过统计后得到噪声分布。成像系统的噪声及噪声分布如图 1(a)和图 1(b)所示。为了有足够数量的光子进行统计,图 1(a)为 20 帧叠加的结果。所示噪声为实际采集的成像系统暗噪声。

3 光子图像的相关检测原理

光子图像由于信噪比极低,很难从单帧图像中得到足够的信息,而以往的光子图像的统计处理都只能处理信噪比相对较高的单帧光子图像,且在处理过程中由于方法的局限不可避免地丢失信息。

图像处理中常将多幅等视场图像进行叠加以提高图像信噪比,因此我们可以设想将多帧光子图像进行叠加也可以提高光子图像的信噪比。但由于光子发射的随机性,因此有必要对光子图像的叠加进行讨论。

光子图像进行叠加的过程可以视为微弱光子辐射的相关检测过程。如果把光子图像的某一像素(i, j)视为对物函数 $M(x, y)$ 的一次单点取样,该点出现光子的概率就是取样脉冲和物函数的互相关函数,经过 n 次的取样和积分(累加)后该点的灰度将趋于稳定且正比于物函数对应点的辐射度。而整幅光子图像的累积则相当于二维多点信号取样平均器,此多点信号平均器将待测的重复信号逐点多次取样并进行同步积累(积分),由于噪声的相关性极小而在多次积分和平均中被衰减,而信号波形由于相关性较强积分后从噪声中得以恢复。通过积分从噪声中提取信号,因而有很强的抑制噪声的能力,可以从很深的背景噪声中恢复信号。我们用计算机模拟了这一过程。

如能在一定时间段内采集到一系列光子图像,就可以用多点信号平均器的原理来对系列光子图像进行分析和处理。与信号平均器不同的是,光子图像像素的位置信息代替了多点信号平均器的取样时间控制逻辑,对像素的选择代替了对积分器的选择。与通常的弱信号相关检测不同的是,光子图像噪声的均值不为零,则积分的结果就是得到背景不为零的灰度图像。

下面从光子发射角度对累积器进行分析:

如设每次光子图像采集到的图像为 $G(t)$,即

$$G(t) = S(t) + N(t),$$

其中 $S(t)$ 为信号光电子出射分布, $N(t)$ 为暗计数噪声分布。如果每次采集时间为 T ,则第 i 次采集的样品为

$$G(iT) = S(iT) + N(iT),$$

i 为采集序号。

我们假定每一入射光子在光电阴极上产生光电子的几率为量子效率 ξ 。因为样品的光子发射率服从泊松分布^[5],则

$$S(iT) = \frac{(\xi RT)^i}{n!} \exp(-\xi RT), \quad (1)$$

n 为光电阴极单位面积 T 时间内出射的光电子数, R 为采样时间内光子发射速率的期望值, ξR 为光电阴极出射光电子速率的期望值, $S(iT)$ 即为光电子出射的分布。由泊松分布的性质, $S(iT)$ 由于统计起伏形成的噪声 $\sigma_s = (\xi R)^{1/2}$,如定义信号均值和噪声起伏之比为信噪比,则光电阴极出射的光电子信号信噪比 SNR' 可表示为

$$SNR' = \frac{\xi RT}{\sqrt{\xi RT}} = \sqrt{\xi RT}. \quad (2)$$

此式说明由于光电阴极的效率小于 1,将使入射光子信号的信噪比下降为原来的 $\xi^{1/2}$ 。

光电阴极的暗计数噪声是服从于泊松分布的加性噪声,设光电阴极以平均速率 R_n 发射暗计数光电子,这些光电子将在荧光屏上形成暗计数噪声 $N(iT)$,其离散度为 $(RT)^{1/2}$,光电阴极的暗计数噪声和光电阴极信号分布是相互独立的泊松分布,根据泊松分布的性质:两相互独立且都服从泊松分布的随机变量对参数具有可加性。即当 x, y 相对独立且分别服从于参数为 λ_1 和 λ_2 的泊松分布时, $z = x + y$ 服从于 $\pi(\lambda_1 + \lambda_2)$ 分布。故从光电阴极出射光电子的总的均方根差 σ 为

$$\sigma = \sqrt{\xi RT + R_n T}, \quad (3)$$

而输出信号均值为 ξRT ,由此可得最终输出信号的信噪比

$$SNR = \xi RT / \sqrt{\xi RT + R_n T}. \quad (4)$$

当对总数为 m 的光子图像进行积分时,由于各光子图像之间的相对独立性,输出的信号均值为

$$\sum_{i=1}^m (\xi RT)_i = m \xi RT, \quad (5)$$

输出的噪声均方根差为

$$\sum_{i=1}^m \sigma_i = \sqrt{m \xi RT + m R_n T}, \quad (6)$$

信噪比为

$$SNR|_m = \frac{m \xi RT}{\sqrt{m \xi RT + m R_n T}} = \sqrt{m} \times SNR. \quad (7)$$

以上分析结果说明,对 m 幅光子图像积分得到

的灰度图信噪比改善为 $m^{1/2}$, 在实际探测到光子图像中的信噪比远远低于相应的灰度图像, 因此增加积累的次数, 可以极大地提高输出图像的信噪比。要通过光子图像的叠加得到相应的灰度图像, 一般需要采集较大数目(大于 1000)的光子图像。

4 光子图像的模拟

由于光子图像的累积涉及数量极大的光子图像数量及数据处理量, 因此有必要用计算机对光子图像以及光子图像的处理过程进行模拟, 以验证光子图像积分的有效性。

理论指出: 光子图像的光子密度分布和物函数的光子辐射水平成正比^[6], 在极弱光条件下, 由于光子辐射的随机性, 光子密度分布实际是光子密度分布的期望值。这就为光子图像的模拟提供了依据。

如果认为细胞中不同部位的自发发光是相互独立的, 可以采用蒙特卡洛方法在平面上不同区域不同的光子密度分布来模拟细胞的光子图像。通过控制光子图像的光子密度来模拟不同强度的细胞光子辐射。光子图像的光子分布是随机的, 其期望和灰度图像相应区域的灰度成正比^[7]。

通过对要模拟的图像矩阵 I [本文要模拟的对象为人体宫颈癌细胞(简称为 HeLa 细胞)的荧光图像] 的分析, 生成一矩阵 P , 其元素值正比于图像 I 相应元素的灰度值。矩阵 P 的每一元素代表该像素在一帧光子图像中出现光子的几率:

$$P = I(K \times G), \quad (8)$$

其中 I 为 $n \times n$ 图像矩阵; G 为灰度等级, 通常为 256 级; K 为用于根据要模拟的发光水平来控制光子图像的光子总数。 P 即为图像对应的概率分布函数矩阵, 矩阵中每一元素值对应相应像素点在一帧光子图像中出现光子的分布函数。由计算机模拟的是一泊松分布, 使该分布大于阈值 $T(i, j)$ 的概率为 $P(i, j)$, 于是可以推出 $T(i, j)$ 的值, 这样遍历了矩阵 P 后, 可以得到对应的阈值和矩阵 P 。然后生成一随机矩阵 R , 其对应元素 $R(i, j)$ 的值随机出现并服从泊松分布。当 $R(i, j) > T(i, j)$ 时, 认为点 $X(i, j)$ 出现光子, 否则认为该点没有出现光子, 比较后得到一个新的二值矩阵 X , 矩阵元素中 1 表示对应像素出现光子, 0 表示对应像素没有光子。由其生成的过程可知, $X(i, j)$ 出现 1 的概率为 $P(i, j)$ 。矩阵 X 即为模拟的光子图像。

由于成像系统固有的系统噪声, 在实际采集的

光子图像中存在噪声光子分布, 噪声光子在像平面服从于参数为 λ_n 的泊松分布, 表现为加性噪声。

噪声分布:

$$P_n(k) = (\lambda_n^k / K!) \exp(-\lambda_n), \quad (9)$$

$P_n(k)$ 表示在某区域内出现 k 个噪声光子的几率。

因此在模拟光子图像中, 需要加入成像系统的噪声。噪声光子矩阵 N 由随机泊松分布矩阵产生。噪声水平根据成像系统的实际噪声水平通过改变泊松分布参数 λ_n 来控制。在同一帧光子图像光子分布极为疏散, 我们认为同一像素出现 2 个或 2 个以上光子的概率可视为零^[8]。

噪声矩阵 N 和模拟光子图像矩阵 X 相加, 就得到含噪声的模拟光子图像 S , 即

$$S = N + X. \quad (10)$$

大量光子图像的图像矩阵相应像素的值进行相加, 最后得到的矩阵进行灰度化处理, 最大值设为灰度最高等级, 就可以得到叠加后的光子图像 A 。

5 应 用

图 2 所示是对一人体宫颈癌细胞的荧光图像进行的光子图像仿真。图 2(a) 为单帧光子图像, 图 2(b) 为 200 帧光子图像的叠加, 图 2(c) 为 5000 帧光子图像叠加, 图 2(d) 为实际的人体宫颈癌细胞的荧光图像(原图)。

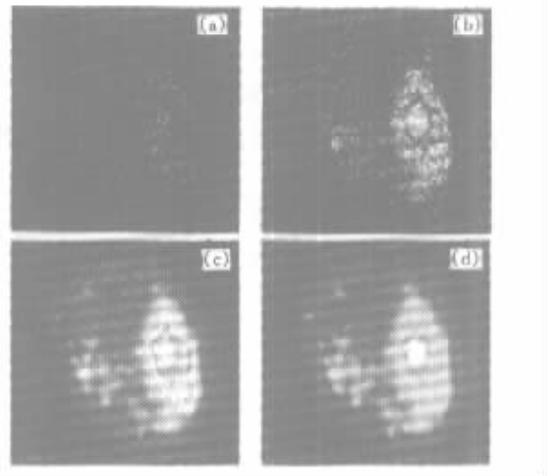


Fig. 2 The integrated photon image and original image

从图中可以看出随着累积次数的增加, 所得到的灰度图像越来越近似于实际的细胞荧光图像图 2(d)。图 2(c) 和图 2(d) 的差别已经很小, 图 2(c) 的灰度层次尚不足图 2(d)。但可以预料, 随着累积次数的增加, 累积得到的灰度图像可以很好地再现物函数的实际光子发射水平。

图 3 是累积光子图像的积分数目与原图像[图 2(d)]均方根差的关系,可见随着积分数目的增加,均方根差值逐渐减少,均方根差值 r 是累积光子图像总数 m 的函数。

$$r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^l [S_m(i, j) - \alpha(i, j)]^2}{k \times l}}, \quad (11)$$

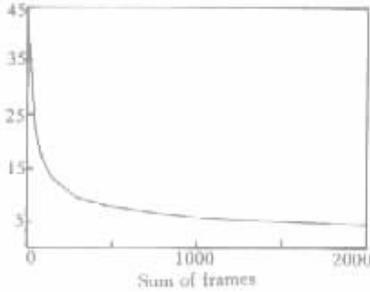


Fig. 3 The relation of r and integrated image sum

图像的大小为 $k \times l$,均方根差值 r 代表了积分图像 A 和原图像 O 之间的差别。如果将原图 O 视为标准图像,则均方根差代表了积分图像 A 的噪声水平。由相关积分器的分析可知,噪声水平和积分光子图像总数 m 的平方根成反比,且当 m 趋于无穷时均方根差值 r 趋于零。图 4 为均方根差值 r 和 $m^{-1/2}$ 的关系曲线,曲线表现出较好的线性,与理论分析吻合得极好。

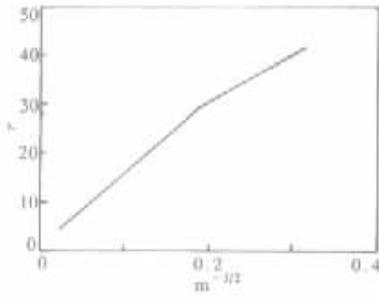


Fig. 4 The relation of r and $m^{-1/2}$

如果我们将信号区(光子图像中有信号的区域)信号光子平均分布密度和噪声区(信号区以外的区域)光子平均分布密度之比称为光子图像的信噪比,通过调节噪声水平可以很容易地改变模拟光子图像的信噪比。为便于比较,我们仍然用图 2(d)作为模拟对象。图 5(a)为信噪比为 1 的光子图像,从其概率分布图[图 5(b)]中可以看出,二者的概率分布曲线重合,难以从二者的分布密度上用统计方法将其区分开。但如果将若干幅光子图像进行累加,噪声被衰减后就可以从信噪比极低的光子图像中得到所

需的信号。运用此方法,甚至可以从信噪比大大低于 1 的光子图像中提取到有用的信号,但所需的累积数目也相应增大。

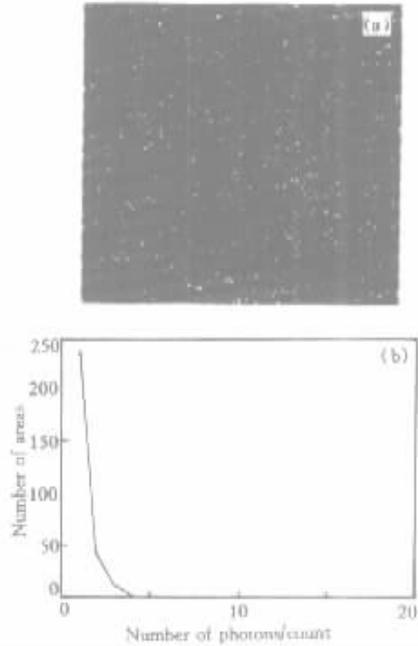


Fig. 5 (a) Noise influenced photon image ;(b) probability distribution chart

图 6(a)为 1000 幅信噪比为 1 的光子图像积分的结果。按照先前的推导,信噪比将有约 15 dB 的改善。与图 5(a)相比,信噪比有了极大的提高。参

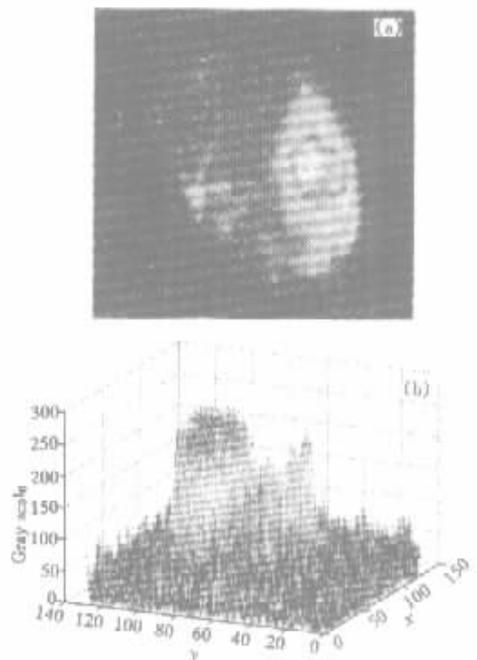


Fig. 6 (a) Gray scale image ;(b) 3-D image

考图 2(d) 图 3(a) 的灰度级真实地反映了物函数的光子发射几率。因为图 3(a) 是信噪比为 1 光子图像累积得到的, 所以此图的灰度等级也直接表明了图像各区域的光子相关水平。随机噪声由于极低的相关度在积分过程中成为图像的暗背景。从三维显示图 3(b) 可以看出, 背景噪声被抑制但仍表现为一定幅度的分布。

讨论 本文介绍的方法有助于对低信噪比光子图像的检测, 根据计算机仿真的结果, 该方法对低信噪比光子图像处理的结果能满足对光子图像探测的要求。是对低水平光子发射探测处理的有效方法。通过对光子图像的积分处理, 将光子图像和传统灰度图像建立了联系。可以直观地观测微弱发光体的光子出射水平。

有必要指出, 在实际的生物光子图像的采集中, 由于存储量以及计算机连续采集数量的限制, 采集数量较大的光子图像较为困难。此外, 生物样品的光子辐射率受外界物理场变化和自身生理活动的影

响, 要求生物样品在较长时间的采样过程中有稳定的光子辐射率是较困难的。有效的解决办法是研制开发相应软硬件在图像采集时进行实时累加, 以达到减少存储量的目的。

参 考 文 献

- [1] Häder D P. *Image Analysis in Biology*. London: CRC Press, 1992. 76~86
- [2] 陈天明, 俞 信. 超微弱发光图像的统计处理方法. *光学学报*, 1996, **16**(8): 1152~1156
- [3] 曾庆勇. 微弱信号检测. 杭州: 浙江大学出版社, 1986. 129~140
- [4] Fordham J L A, Bellis J G, Bone D A. The MIC photon counting detector. *Proc. SPIE*, 1991, **1449**: 87~98
- [5] Chen Tianming. Bioluminescence imaging and image processing. *Proc. SPIE*, 1996, **2894**: 276~281
- [6] Cao Genrui, Yu Xin, Hu Xinqi. Photon counting image acquisition technique and its applications. *Proc. SPIE*, 1994, **2513**: 566~572
- [7] Frieden B R. *Probability, Statistical Optics, and Data Testing*. Berlin: Springer-Verlag, 1983. 162~172

Correlation Detection of Ultraweak Photon Image and Its Computer Simulation

Ma Yu Yu Xin Wang Susheng Li Qin

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

(Received 12 August 2000; revised 28 October 2000)

Abstract: In study of ultraweak luminescence (such as bioluminescence) the weakness of luminescence or the lack of samples (photons) and the influence of system dark noise causes low SNR in photon images acquired by image intensifier. It is proposed that a photon image correlation integral method based on statistics and a photon image processing method based on correlation processing. The method accumulates photon image to get enhanced SNR grey scale image. A computer simulation method is developed to illustrate the process. This method also illustrates the SNR relation between photon image and traditional grey scale image and provides an effective way for detecting ultraweak bioluminescence.

Key words: photon image; computer simulation; correlation detection