

doi: 10.3788/gzxb20144306.0611003

数字全息视频成像技术及其在肝吸虫尾蚴 观测中的应用

王凤鹏, 李亿保, 曾祥志, 王兴权

(赣南师范学院 物理与电子信息学院; 光电子材料与技术研究, 江西 赣州 341000)

摘 要: 由于传统的显微镜成像需要精确的光学聚焦过程, 很难检测到在水体中运动的肝吸虫尾蚴, 更难以对其进行连续动态观测. 针对此问题, 提出了利用单光束同轴数字全息视频技术对在水体中运动的肝吸虫尾蚴进行连续动态观测的方法, 研究了其中的动态跟踪聚焦算法和视频处理算法. 利用上一帧再现像中尾蚴的中心位置作为下一帧全息再现中聚焦窗口的中心位置, 使聚焦窗口始终跟随观测的尾蚴移动, 从而保证处理全息视频时每一帧再现像都能准确自动聚焦, 使再现视频中肝吸虫尾蚴始终处于清晰状态. 进行了肝吸虫尾蚴观测实验, 得到肝吸虫尾蚴在水体中运动的全息再现视频, 并对其运动轨迹进行了跟踪, 总结了肝吸虫尾蚴在水体中的运动规律. 实验结果表明, 利用数字全息技术拍摄一张数字全息图即可观察到水体中不同位置的肝吸虫尾蚴, 检测更加方便高效; 本文提出的数字全息视频成像技术能实现对水体中的肝吸虫尾蚴或其它浮游生物进行连续动态观测.

关键词: 数字全息; 视频成像; 肝吸虫尾蚴; 再现视频; 动态跟踪聚焦

中图分类号: O438, TB877

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2014)06-0611003-5

Digital Holographic Video Imaging Technology and its Application in Liver Fluke Cercariae Observation

WANG Feng-peng, LI Yi-bao, ZHEN Xiang-zhi, WANG Xin-quan

(School of Physics and Electronic Information; Research Institute of Optoelectronic Materials and Technology, Gannan Normal University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

Abstract: The traditional microscope is not suitable to observe the liver fluke cercariae moves in water, because it needs an optical focusing process. A continuous dynamic observation method for liver fluke cercariae based on digital in-line holographic video was proposed. The dynamic tracking focus and video processing algorithms were studied. The center of the liver fluke cercariae in the reconstructed image was used as the center of focusing window in the reconstructing for next frame of holographic video, so the focusing window followed the liver fluke cercariae all the time. Thus ensuring each frame of reconstructed video was in focused accurately, so that the liver fluke cercariae in the video was always in a clear state. The observation of liver fluke cercariae experiment was carried out. The holographic reconstructed video of liver fluke cercariae swimming in the water was obtained. The liver fluke cercariae law of motion was summed up by tracked it's trajectory in the water. The experimental results show that capture a digital hologram can observed fluke cercariae at different positions in water use the digital holography technology, which makes detection more convenient and efficient, and the proposed digital holographic video imaging technology can achieve the continuous dynamic observation of the liver fluke cercariae or other plankton in water.

Key words: Digital holography; Video imaging; Liver fluke cercariae; Reconstructed video; Dynamic tracking focus

OCIS Codes: 110.1758; 090.1995; 170.3880; 170.3010

基金项目: 江西省青年科学基金(No. 20122BAB211017)、江西省科技支撑计划项目(No. 20141BBG70078)和江西省光电子与通信重点实验室开放基金(No. 20111014)资助

第一作者: 王凤鹏(1981-), 男, 讲师, 硕士, 主要研究方向为光学检测、光电图像信号处理. Email: wangfengpeng@163.com

收稿日期: 2013-10-12; 录用日期: 2013-11-19

<http://www.photon.ac.cn>

0 引言

肝吸虫尾蚴是一种浮游生物,是肝吸虫(一种寄生虫,又称华支睾吸虫)的幼虫,生活于水体中.人或其它动物吞食了被肝吸虫尾蚴感染的鱼虾后,就会感染肝吸虫病.肝吸虫尾蚴的长度约为 $450\sim 700\ \mu\text{m}$,大小约为 $60\sim 90\ \mu\text{m}$,很难直接被观察发现,需要通过显微镜观测^[1~2].但由于显微镜的视场和景深都比较小,需要精确的光学调焦过程,很难快速观察到水体中的肝吸虫尾蚴并对其进行连续动态观察.

数字全息以其无需湿处理、可实现三维成像等独特优点,得到越来越多的研究和应用.文献[3-6]研究了数字全息的再现算法和自动聚焦算法.文献[7-8]利用数字全息检测粒子场的空间分布、粒子大小和速度等.文献[9-10]利用数字全息对水下浮游生物进行检测.文献[11-12]通过模拟和实验研究了用数字全息检测水面浮游生物(血吸虫尾蚴).但这些研究都是对单张全息图进行再现,得到清晰的再现像后再进行对比分析.文献[13-14]中给出了利用数字全息技术观察浮游生物的数字全息视频结果,但由于浮游生物的游动,其视频中并不能保证要观测的浮游生物始终处于清晰的状态,且对数字全息视频的处理方法并未见有研究报道.

本文将对数字全息视频的处理算法及动态跟踪聚焦方法进行研究,从而实现用数字全息技术对水体中的肝吸虫尾蚴进行连续动态观测,并保证肝吸虫尾蚴在运动过程中始终处于清晰状态.

1 单光束同轴数字全息视频成像原理

在单光束同轴数字全息中,用图像传感器记录下数字全息图后,其再现过程相当于模拟全息图在单位振幅平面波照射下的衍射过程,再现的光场分布可表示为

$$o_R(x, y) = I_H(x, y) \otimes p(x, y, z_R) \quad (1)$$

式中

$$p(x, y, z_R) = \frac{1}{j\lambda} \frac{\exp(j \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{z_R^2 + x^2 + y^2})}{\sqrt{z_R^2 + x^2 + y^2}}$$

表示衍射传播点扩散函数, \otimes 表示卷积运算, λ 为光波波长, j 表示虚数符号.则再现像的光强分布为 $I_o(x, y) = |o_R(x, y)|^2$.再现时必须选取不同的 z_R 得到一系列再现像,再通过清晰度评价函数找出最清晰的再现像,这个过程即为自动聚焦.

文献[6,10]表明,对振幅调制样品,基于小波变换的清晰度评价函数实现自动聚焦具有较好的效果,它表示为

$$W = \max_{(x,y) \in S} \left(\frac{|W_{LHn}(x, y)| + |W_{HLn}(x, y)| + |W_{HHn}(x, y)|}{|W_{HHn}(x, y)|} \right) \quad (2)$$

式中 $W_{LHn}(x, y)$ 、 $W_{HLn}(x, y)$ 、 $W_{HHn}(x, y)$ 为第 n 层各高频分量小波系数,相应的分解窗中分别为 LHn 、 HLn 、 HHn , S 表示聚焦窗口,即进行小波变换的区域.函数 W 随 z_R 变化达到最大值时的再现像即为聚焦结果.

实现单光束同轴数字全息视频成像的基本过程为:1)拍摄记录数字全息视频,即连续拍摄数字全息图;2)按顺序对每一帧全息图进行再现,利用自动聚焦算法得到最清晰的再现像;3)将每一帧得到的最清晰再现像添加到视频文件,得到数字全息再现视频.通过观看数字全息再现视频即可对三维空间内运动的目标进行动态观察检测.

1.1 单光束同轴数字全息的动态跟踪聚焦

研究表明,不同聚焦窗口实现自动聚焦的效果不同.图1(a)为数字全息图及选取的不同聚焦窗口;图1(e)为选取不同聚焦窗口进行全息再现时清晰度评价函数随再现距离的变化曲线;图1(b)、(c)、(d)分别为选取全局聚焦窗口(即取整幅全息图作为聚焦窗口)、A聚焦窗口、B聚焦窗口得到的聚焦结果.从图中可以

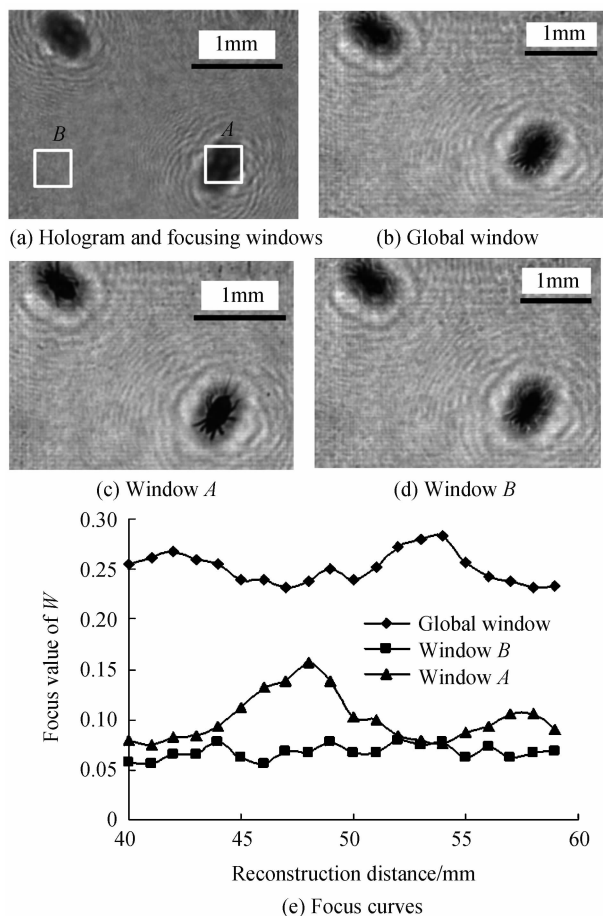


图1 不同窗口聚焦结果

Fig. 1 Results of focusing with different windows

看出,选取不同聚焦窗口的自动聚焦效果不同.选取全局聚焦窗口时,评价函数的峰值位置出现了偏移,这是由于视场中背景干扰较大,导致自动聚焦失败;选取 B 聚焦窗口时,由于在窗口中没有被测物体,清晰度评价函数值只存在微小的变化,不能为自动聚焦提供有用的信息;选取 A 聚焦窗口时,由于被测物体刚好处在窗口之中,清晰度评价函数值随再现距离的变化存在一个明显的峰值,此时得到的再现像最清晰.由此可见,应使聚焦窗口刚好覆盖被测物体,这样既有利于减少数据处理量,又能提高数字全息再现像清晰度评价的准确性.

当被测物体在三维空间内运动时,则需要使聚焦窗口跟随物体位置的变化而变化,称为动态跟踪聚焦.由于被测物体的运动一般是连续的,下一帧图像物体的位置总在上一帧图像物体位置的附近,因此可以利用上一帧再现像中物体的中心位置作为下一帧全息再现中聚焦窗口的中心位置.

对振幅调制样品,在稀疏条件下,全息再现像中物体的灰度值比没有物体的区域的灰度值更小,对再现像进行二值化,则物体的中心位置表示为

$$X = \left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N x_n \right] \quad (3)$$

$$Y = \left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N y_n \right] \quad (4)$$

式中 x_n, y_n 表示二值化后灰度值为 0 的像素的位置坐标, N 表示灰度值为 0 的像素数量, $[\]$ 表示取整.

1.2 单光束同轴数字全息视频处理算法

在处理单张全息图时,为实现自动聚焦,需要计算出一系列的再现像,因此需要生成一系列的点扩散函数.再现计算时,再现距离的搜索范围越大、步长越小,则计算量越大.在进行数字全息视频处理时,若每一帧全息图都按单张全息图的方法重复处理的话,则其处理时间将是无法接受的.为减少处理时间,可以取再现距离 z_R 在可能的范围内生成一系列点扩散函数.在对每一帧全息图进行再现时从中调取相应的点扩散函数,这样可以避免大量的重复运算.一般情况下,记录相邻两帧全息图时物体到图像传感器的距离变化很小,可使下一帧再现距离的搜索范围缩小到上一帧聚焦距离的附近.处理算法为:

1) 设置数字全息再现参量:如光波波长、图像传感器像素宽度、聚焦窗口大小 D 、再现距离 z_R 的搜索范围、搜索步长 Δz ,生成点扩散函数.

2) 处理第 1 帧数字全息图.根据要跟踪的物体初始位置输入初始聚焦窗口中心位置坐标 (x_0, y_0) ,在搜索范围再现距离每改变 Δz 得到一幅再现像并求出聚焦窗口内的清晰度 W .找出清晰度的最大值 W_1 和此时的再现距离(即聚焦距离) z_1 ,并将对应的再现像写

入数字全息再现视频的第 1 帧.对聚焦窗口内的再现像进行二值化后,用式(2)、(3)求出物体的中心位置 (x_1, y_1) .

3) 依次处理第 i 帧数字全息图($i=2, 3, 4, \dots, K$), K 为数字全息视频的总帧数.取 $z_R = z_{i-1} - \Delta z, z_{i-1}, z_{i-1} + \Delta z$ 进行全息再现,以 (x_{i-1}, y_{i-1}) 为聚焦窗口中心计算清晰度 W .找出三幅再现像中清晰度的最大值 W_i 和聚焦距离 z_i ,并将对应的再现像写入数字全息再现视频的第 i 帧.对聚焦窗口内的再现像进行二值化后,用式(2)、(3)求出物体的中心位置 (x_i, y_i) .

4) 保存数字全息再现视频.

2 肝吸虫尾蚴观测实验及结果

用于肝吸虫尾蚴检测的单光束同轴数字全息实验装置如图 2.激光光源为半导体准直扩束激光器,波长为 $\lambda=650 \text{ nm}$.样品池为用石英玻璃制成的小方缸,尺寸为 $30 \times 30 \times 30 \text{ mm}^3$,样品池中的水取自饲养阳性纹沼螺(肝吸虫的第一中间宿主,可逸出肝吸虫尾蚴)的水池中.平行激光束经过样品后直接照到数码摄像机的图像传感器(像素大小为 $\Delta x=6 \mu\text{m}$,记录平面的像素数为 736×480)上.根据文献[12]研究结论,摄像头的图像传感器与样品池之间的距离选为 50 mm 左右.

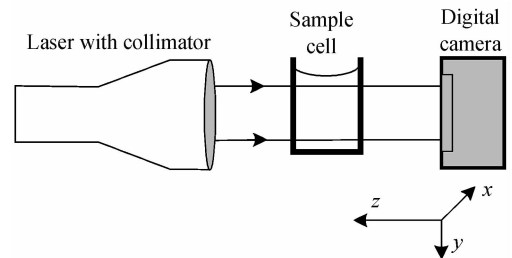


图 2 实验装置

Fig. 2 Diagram of experimental devices

2.1 肝吸虫尾蚴数字全息图与再现像

图 3 为利用单光束同轴数字全息技术检测肝吸虫尾蚴的实验结果.图 3(a)为拍摄记录的肝吸虫尾蚴的全息图,其中 A, B 两个方框表示选定的两个聚焦窗口.对全息图进行数字全息再现时,选取不同的聚焦窗口,再现像的清晰度变化曲线如图 3(b).当选用 A 聚焦窗口时,清晰度最大值出现在 $Z_R=54 \text{ mm}$ 处,此时再现像如图 3(c),其中可清晰地观察到豆芽形的肝吸虫尾蚴.当选用 B 聚焦窗口时,清晰度最大值出现在 $Z_R=61 \text{ mm}$ 处,此时再现像如图 3(d),其中可清晰地观察到另一条肝吸虫尾蚴.

图 3 表明:1) 选用不同的聚焦窗口可实现对不同位置的物体进行聚焦.2) 拍摄一张数字全息图,即可观察到水体中不同位置(与图像传感器之间的距离不同)的肝吸虫尾蚴的像,这就是数字全息技术的三维成像特点,也是普通显微镜无法做到的.

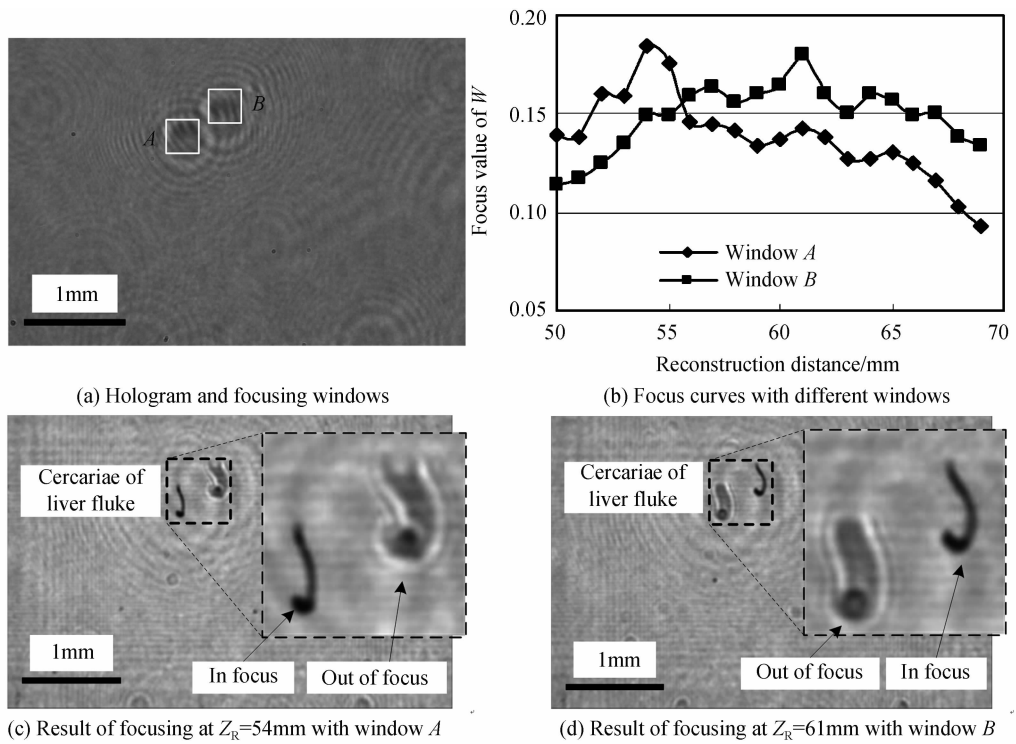


图3 肝吸虫尾蚴全息图及再现像

Fig. 3 Hologram and reconstructed image of liver fluke cercariae

2.2 用数字全息视频观测肝吸虫尾蚴

实验中,数码摄像机以 50 fps 的速度记录数字全息图,所用计算机 CPU 为双核 2.1G,内存 2G,采用 Matlab7.10.0 编程,搜索范围设置为 50~70 mm,搜索步长 $\Delta z=1\text{mm}$,处理单幅全息图所需时间 20 s.若采用重复处理的话,处理一段 750 帧的视频全息图共需 4 h 以上的时间.采用本文算法处理上述视频所需

时间约 15 min.得到播放速度为 25 fps 的再现视频.图 4 为通过数字全息再现视频观看到肝吸虫尾蚴甩动尾巴运动时的连续 10 帧画面截图.从图中可以看出,在肝吸虫尾蚴的运动过程中,其再现像始终是清晰的,说明本文所述的单光束同轴数字全息动态跟踪聚焦是准确有效的.

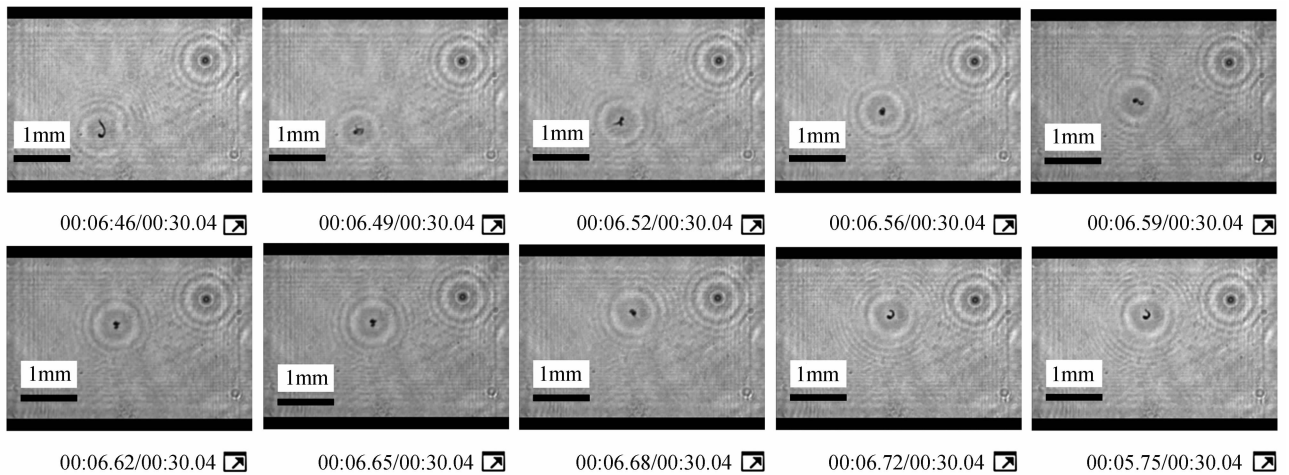


图4 肝吸虫尾蚴再现视频截图

Fig. 4 Reconstructed video snapshot of liver fluke cercariae

根据动态跟踪聚焦过程中式(3)、(4)得出的 X 、 Y 值和聚焦距离 Z 值,得出了一幅肝吸虫尾蚴在水体中的三维运动轨迹图(如图 5).由于聚焦距离搜索步长 $\Delta z=1\text{mm}$,导致在 Z 轴方向的分辨力较差.图 6 为肝

吸虫尾蚴在 X - Y 方向的运动轨迹.其中斜向下的直线部分为肝吸虫尾蚴自身静止时随水流飘动的轨迹,此时它随着水流缓慢向右移动并缓慢下沉.曲线部分为肝吸虫尾蚴甩动尾巴游动时的轨迹.

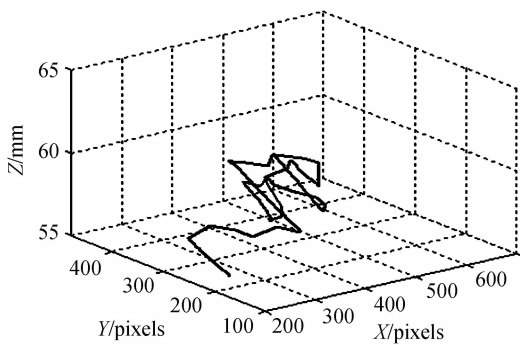


图5 肝吸虫尾蚴的三维运动轨迹

Fig. 5 3D trajectory of liver fluke cercariae

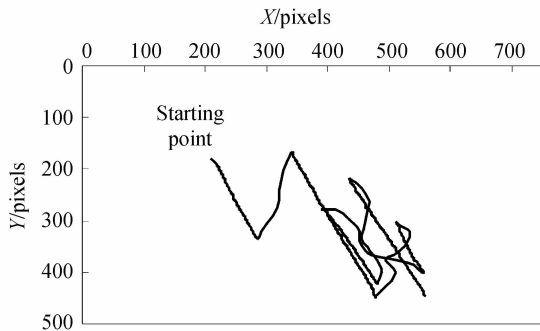


图6 肝吸虫尾蚴在 X-Y 方向运动轨迹

Fig. 6 Trajectory of liver fluke cercariae on X-Y direction

2.3 肝吸虫尾蚴在水中的运动规律

经过大量实验观察,发现肝吸虫尾蚴在水中的运动规律为:

1) 肝吸虫尾蚴自身静止时,一般头向下尾向上,尾部微弯曲,其形态如“豆芽”,随着水流漂动,当水流静止时,肝吸虫尾蚴会缓慢下沉,说明肝吸虫尾蚴密度略大于水的密度。

2) 肝吸虫尾蚴每隔一断时间会快速甩动尾巴,借以向上及向前后左右不同方向运动.其向前后左右的运动方向是随机的,但几乎每次甩动尾巴都可使其向上运动,从而保证其不会快速沉到水底。

3) 在水面没有扰动的情况下,肝吸虫尾蚴甩动尾巴运动的间隔为1~10s,其每次甩动尾巴的时间一般为0.14~0.20 s,其甩动尾巴时的运动速度可达6 mm/s。

3 结论

利用单光束同轴数字全息可以实现对肝吸虫尾蚴的检测,由于其3D成像特点,拍摄一张数字全息图即可观察到水体中不同位置的肝吸虫尾蚴,使得检测更加方便高效.本文提出的数字全息视频成像技术能实现对在三维空间内运动物体进行连续动态观测,在再现视频中能始终清晰地看到肝吸虫尾蚴,更有利于观察到肝吸虫尾蚴在水中的真实活动状态,为自然条件

下检测肝吸虫尾蚴及其它浮游生物提供了新的方法。

参考文献

- [1] 刘宜升,陈明,余新炳. 华支睾吸虫的生物学和华支睾吸虫病防治(第2版)[M]. 科学出版社,2012:32-36.
- [2] LI Xue-xiang. Ecological observations on cercariae of clonorchis sinensis[J]. *Current Zoology*, 1982, **28**(2):165-168.
李雪翔. 华支睾吸虫尾蚴的生态观察[J]. *动物学报*, 1982, **28**(2):165-168.
- [3] FRANCISCO P, JOGRGE R, DANIEL P, *et al.* 3D image reconstruction of transparent microscopic objects using digital holography[J]. *Optics Communication*, 2005, **248**(1-3): 41-50.
- [4] XU Yuan-qiang, WANG Yu-rong, DING Hai-sheng. Segmentation identification and independent focus for digital in-line holography of particle fields[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2010, **39**(3): 881-887.
徐元强,王玉荣,丁海生. 数字同轴全息颗粒场检测中的颗粒分割识别与独立聚焦[J]. *光子学报*, 2010, **39**(3):881-887.
- [5] ANTKOWIAK M. Extended focused imaging of a microparticle field with digital holographic microscopy [J]. *Optics Letters*, 2008, **33**(14): 1626-1628.
- [6] WANG Feng-peng, XIE Xiao-chun, XIE Yin-mao, *et al.* Auto-focusing for digital in-line holography and reconstructed image fusion[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2012, **49**(4): 040901.
王凤鹏,谢晓春,谢应茂,等. 同轴数字全息自动聚焦与再现像的融合[J]. *激光与光电子学进展*, 2012, **49**(4):040901.
- [7] DAVID M H, ANDRES B G, ASCENCION G V. *et al.* 3D particle positioning by using the fraunhofer criterion [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2011, **49**(1): 729-735.
- [8] LU Qie-ni, GE Bao-zhen, GAO Yan, *et al.* Simultaneous measurement of size and velocity of alcohol spray with digital holography[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2010, **39**(2): 266-270.
吕且妮,葛宝臻,高岩,等. 乙醇喷雾场粒子尺寸和速度的数字全息测量[J]. *光子学报*, 2010, **39**(2):266-270.
- [9] SUN H, BENZIE P W, BURNS N, *et al.* Underwater digital holography for studies of marine plankton[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 2008, **366**: 1789-1806.
- [10] PETER R H, JOHN W. The principles and practice of holographic recording of plankon [J]. *Journal of Optics A*, 2002, (4): S34-S49.
- [11] WANG Feng-peng, LI Yi-bao, XIE Yin-mao, *et al.* Digital in-line holography for Schistosoma cercariae Detection [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2012, **41**(4): 466-471.
王凤鹏,李亿保,谢应茂,等. 同轴数字全息用于血吸虫尾蚴检测研究[J]. *光子学报*, 2012, **41**(4):466-471.
- [12] WANG Feng-peng, ZHEN Xiang-zhi, ZHEN Xiang-hua, *et al.* Simulation analysis of digital in-line holography for schistosoma cercariae detection [C]. 2011 International Conference on Electronics and Optoelectronics, 2011, V4-447-450.
- [13] DYOMIN V V, OLSHUKOV A S. Digital holographic video for studying biological particles[J]. *Journal of Optical Technology*, 2012, **79**(6): 344-347.
- [14] DYOMIN V V, OLSHUKOV A S, DZYUBA E V. Digital holographic video for studies of plankton dynamics [J]. *Russian Physics Journal*, 2011, **53**(8): 857-866.
- [15] WANG Le, ZHAO Jian-lin, DI Jian-lei, *et al.* Fast extended focused imaging in digital holography using a graphics processing unit[J]. *Optics Letters*, 2011, **36**(9): 1620-1622.