

基于数字全息显微的牛奶中样本成像方法的研究

张 轩, 曾雅楠*, 张仕文

天津农学院, 工程技术学院, 天津
Email: ynzeng@tju.edu.cn

收稿日期: 2020年9月3日; 录用日期: 2020年9月17日; 发布日期: 2020年9月24日

摘 要

光透过牛奶介质时, 散射作用使牛奶中样本成像模糊。数字全息显微技术通过数值衍射计算重构物光波前的强度与相位, 并通过数字滤波技术降低散射作用引入的噪声。本文利用透射式数字全息显微系统对牛奶中的分辨率样板进行成像, 并讨论入射光强对成像的影响作用。实验表明, 在入射光源弱至完全不能对牛奶中样本成像的情况下, 利用数字全息显微技术仍然能够获取清晰的样本重构强度像, 因此, 数字全息显微是一种适用于牛奶中样本成像的技术手段。

关键词

牛奶, 数字全息, 成像

Study on the Imaging Method of Samples Immersed in Milk Based on Digital Holographic Microscopy

Xuan Zhang, Yanan Zeng*, Shiwen Zhang

College of Engineering and Technology, Tianjin Agricultural College, Tianjin
Email: ynzeng@tju.edu.cn

Received: Sep. 3rd, 2020; accepted: Sep. 17th, 2020; published: Sep. 24th, 2020

Abstract

The imaging of samples immersed in milk media is blurred because of the scattering effect. By uti-

*通讯作者。

lizing the digital holography technique, the phase and intensity of wave front of the transmitting beam through the non-transparent media can be reconstructed, while the noises introduced by the scattering material can be filtered by digital filtering algorithm. In this paper, the transmission digital holographic microscopic system was applied in imaging of USAF resolution plate immersed in milk. The effect of incident light intensity on imaging is also discussed. The experiment results show that even when the incident light source is too weak to image the sample in milk, by applying digital holographic microscopy, clear reconstructed intensity image of sample in milk can still be obtained. Therefore, digital holography technique is especially suitable for the imaging of samples immersed in milk media.

Keywords

Milk, Digital Holography, Imaging

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着食品行业的发展, 社会对牛奶质量提出更高要求, 国家投入大量资金和人力用于牛奶质量检测[1]。其中, 牛奶中杂质的含量是牛奶质量的重要指标。新鲜牛奶中的杂质主要包括产奶过程中混入的毛发、纤维、灰尘以及复杂生产环境引入的多类杂质等, 而奶粉中杂质主要包括在不同生产阶段引入的多种杂质, 例如牛奶处理阶段, 粗过滤引入的机械杂质; 杀菌浓缩阶段蒸发器、蒸发管中奶垢变焦产生的焦性杂质; 喷雾、干燥阶段离心喷雾盘产生的机械杂质; 出粉、筛粉阶段, 生产环境引入的尘埃等[2]。

目前牛奶中杂质的检测方法主要基于图像处理的技术, 对杂质目标进行识别, 例如基于小波变换算法、基于改进神经网络和基于canny算法等牛奶杂质检测方式[3][4]。以上检测方法都是以牛奶和杂质的灰度差为基础进行检测的, 按照采集到的牛奶图像中区域的像素灰度值变化情况进行判断, 如果待测对象轮廓像素灰度值变化系数大于衡量标准, 那么确定待测对象是牛奶中存在的杂质, 如果小于或者等于衡量标准, 那么确定待测对象不是牛奶中存在的杂质, 从而实现牛奶杂质检测。

上述方法中, 牛奶中杂质在成像过程中, 杂质灰度与牛奶灰度值对比度需达到某一阈值, 而且杂质必须附着于牛奶液体表面, 才能通过图像处理的方法被识别。提高灰度值对比度的重要途径是提高成像光源强度。但在生产过程中, 采样检测的成像光源强度并不一定是高强度光源, 因此需要对牛奶中样本成像探索一种在低强度照明条件下且样本存在于牛奶介质中, 仍能实现清晰成像的方法。

牛奶是一种浑浊介质, 浑浊介质对于透射光具有散射的作用。高散射作用对成像的影响是引入图像噪声。数字全息显微技术能够实时获取被测样本的透射光的相位和强度[5], 利用离轴全息显微技术能够在滤通实像有效频谱的基础上, 选择性地滤除背景噪声, 因此是一种较为理想的浑浊介质中样本的成像方法。数字全息显微技术已应用于生物组织的成像, 如北京工业大学王大勇研究团队利用短相干无透镜傅里叶全息技术透过薄鸡肉脯对样本成像[6][7]。因此数字全息显微技术具备对牛奶这种浑浊介质中样本成像的能力。但基于数字全息显微技术, 探索光源强度对牛奶中样本成像的影响研究仍处于空白阶段, 然而这种探索对于牛奶生产过程中的质量检测是具有重要意义的。本文利用透射式数字全息显微系统对牛奶介质中不透光的标准分辨率板进行样本成像测试, 并通过改变光源强度研究光源强度对牛奶中样本成像的影响。

2. 基于数字全息显微的牛奶中样本成像原理

利用数字全息技术, 可以实现对于轴向任意位置光场的重建、再现。离轴全息技术可以将零级像与实虚像分离, 实现被测样本真实强度和相位的再现。对于浑浊介质中的被测样本, 透过浑浊介质、携带样本信息的光视为物光, 与参考光发生干涉, 记录全息图, 这种全息图相对于透明介质透射形成的全息图, 最大的区别在于其含有浑浊介质对于物光引入的介质微粒散射噪声。因此记录的浑浊介质中物体成像全息图的强度可表示为

$$I_H(x, y) = I_{noise} + |R|^2 + |O|^2 + R^*O + O^*R \quad (1)$$

上式中, 第一项为噪声项, 剩余项为普通透明介质的样本全息图中包含的内容, 包括零级像、实像和虚像。

当物光和参考光成一定角度时, 数字全息技术可利用频谱滤波的方法将实像频谱从全息图的频谱中分离出来, 通常的做法是采用一个滤波窗完成此项操作。这个滤波窗设置为窗内值为 1, 窗外值为 0 的理想低通滤波器。将此滤波窗与全息图频谱相乘, 可提取实像频谱。实际上, 此窗几何面积占据整体全息图二维频谱图几何面积的约 5% 以内。而浑浊介质给全息图带来的散射噪声是混乱无章的, 分布于全息图频谱的各个位置。因此, 用于滤波实像的滤波窗在于全息图整体频谱相乘时, 不仅将实像频谱滤出, 更将噪声减弱至 5% 左右, 对于公式中所示的噪声项的滤除作用明显。经过滤波窗处理的频谱, 经过傅里叶反变换获取滤波后的全息图, 这时的全息图仅包含实像和约 5% 的浑浊介质散射噪声。再进行重构, 去畸变, 去参考光, 可实现对比度增强的强度重现, 实现浑浊介质中物体的形貌测量, 过程如下:

首先记录样品的离轴全息图和不带有特征样品信息的参考全息图, 将两幅全息图均进行二维傅里叶变换, 得到频谱图。对全息图和参考全息图的频谱均进行实像滤波。将滤波后的全息图与参考全息图的频谱进行二维傅里叶逆变换, 将全息图实像与参考图实像的复共轭相乘, 这个操作是为了消除畸变并去掉参考光的影响, 此时得到的离焦的物光波前。对物光波前进行角谱法重构再现, 进行一定重构距离的衍射计算后, 获得聚焦的物光波信息, 记为 $u(x, y)$ 。因此

$$u(x, y) = \Gamma(x, y)R(x, y)[R^*(x, y)O(x, y)] \quad (2)$$

式子(2)中 $\Gamma(x, y)$ 表示畸变校正的因子。

物光波强度为

$$Intensity(x, y) = |u(x, y)|^2 \quad (3)$$

3. 系统与实验

3.1. 透射式数字全息系统

如图 1 所示, 为透射式数字全息显微系统光路图。光路图中, Laser 为激光器, 波长为 670 nm, NF 为中灰镜, 通过横向移动中灰镜的位置可定量调节光源的强度, BS1、BS2 为分光棱镜, M1、M2 为反射镜, CCD 为光电耦合记录器件, MO1、MO2 为显微物镜($NA = 0.42$, 放大倍数为 50)。光源出射经分光后分为两束, 一束光透射被测物体为物光, 另一束光不透射物体为参考光, 两束光相干后照射在 CCD 上, 记录为数字全息显微图。

采用透射式数字全息显微系统, 对牛奶中样本进行成像。样本采用标准分辨率样板(USAF1951 美军标分辨率板)。

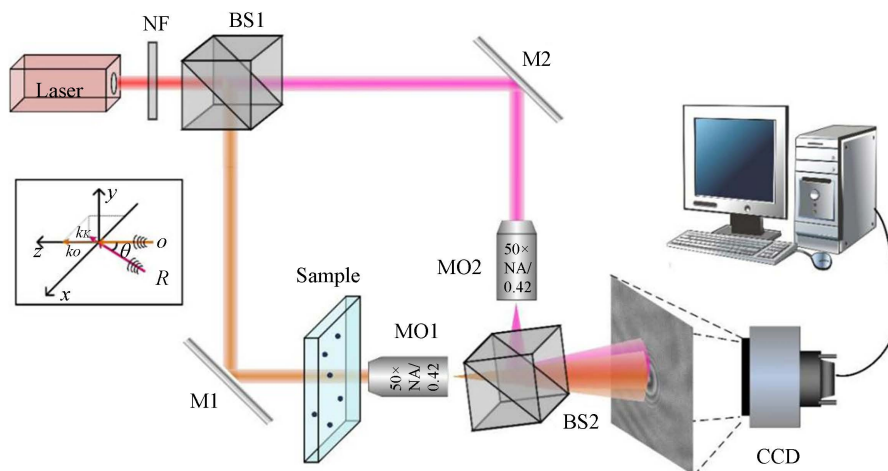


Figure 1. Setup of transmitting digital holographic microscope
图 1. 透射式数字全息显微系统光路图

3.2. 牛奶中分辨率板成像实验

牛奶中分辨率板样品制备方法为：

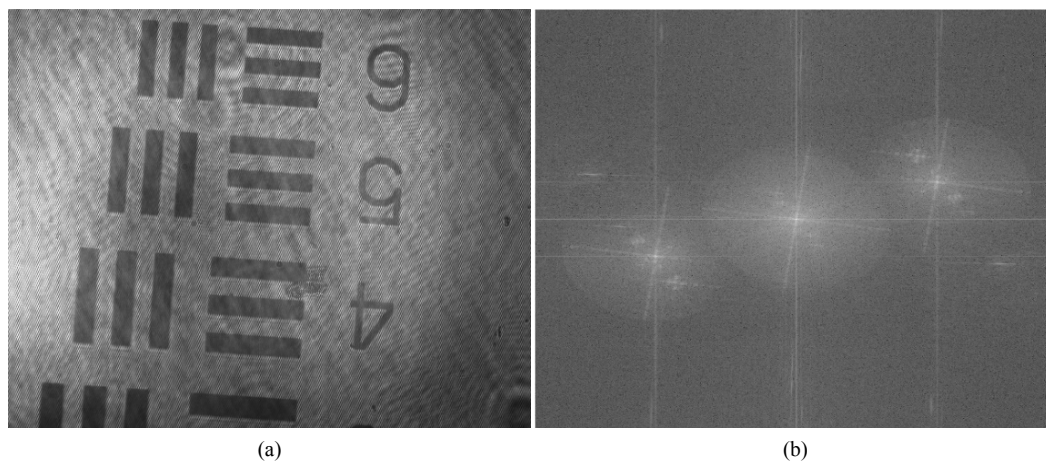
第一步：制作牛奶装片。准备材料：载玻片、盖玻片、去离子水、封口膜、环氧树脂等。在载玻片上粘贴两条封口膜，盖上盖玻片，用平板加热器加热载玻片使盖玻片固定在载玻片上。牛奶溶液使用奶粉冲调而成，其制作方法为：将 0.1 g 奶粉投入 1 ml 去离子水中，在离心管中充分摇晃使奶粉完全溶解，再并进行 8 倍稀释，形成牛奶溶液。用移液器吸取牛奶溶液约 50 微升从盖玻片一侧注入盖玻片与载玻片形成的样品池中，通过毛细作用，牛奶溶液布满整个样品池。最后用环氧树脂对盖玻片两侧进行密封，完成牛奶装片的制备。

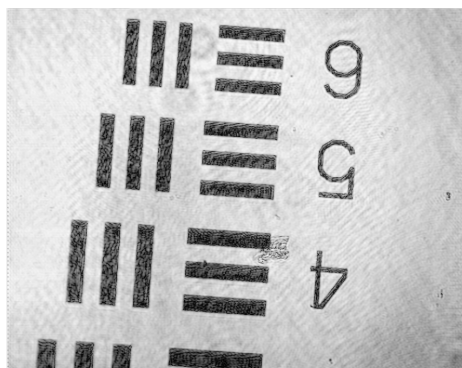
第二步：将标准分辨率板(USAF)固定在显微物镜前的位移台上；

第三步：将 USAF 板置于两个牛奶装片中间，在光轴方向的空间中形成“牛奶装片 + USAF 板 + 牛奶装片”的结构。至此牛奶中分辨率板样品制作完毕。

以此方法制备的牛奶中分辨率板样品，既不损伤、污染成像样板，也可模拟牛奶中样板的成像实况。

利用 3.1 节中透射式数字全息显微系统，对牛奶中标准分辨率样板进行成像实验。在不添加牛奶装片时，空气介质中的标准分辨率板数字全息图如图 2 所示。



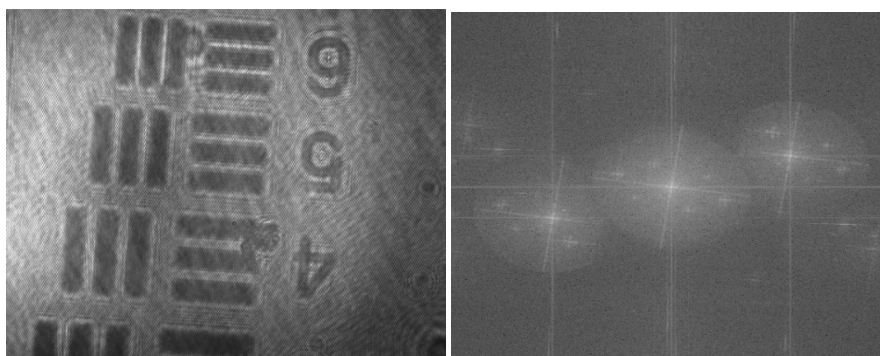


(c)

Figure 2. USAF resolution board in air medium. (a) digital microscopic hologram; (b) frequency spectrum; (c) intensity

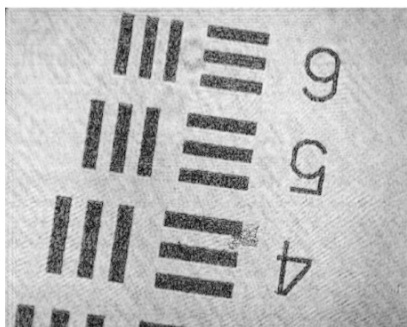
图 2. 空气介质中标准分辨率板。(a) 数字全息显微图; (b) 频谱图; (c) 强度图

从图 2 中可见, 空气介质中标准分辨率板可以清晰可见。将两层牛奶装片分别置于分辨率样板两侧, 模拟牛奶中样本成像。如图 3 所示。



(a)

(b)



(c)

Figure 3. USAF resolution board in milk medium. (a) digital microscopic hologram; (b) frequency spectrum; (c) intensity

图 3. 牛奶中分辨率样板成像。(a) 数字全息图; (b) 频谱图; (c) 重构强度图

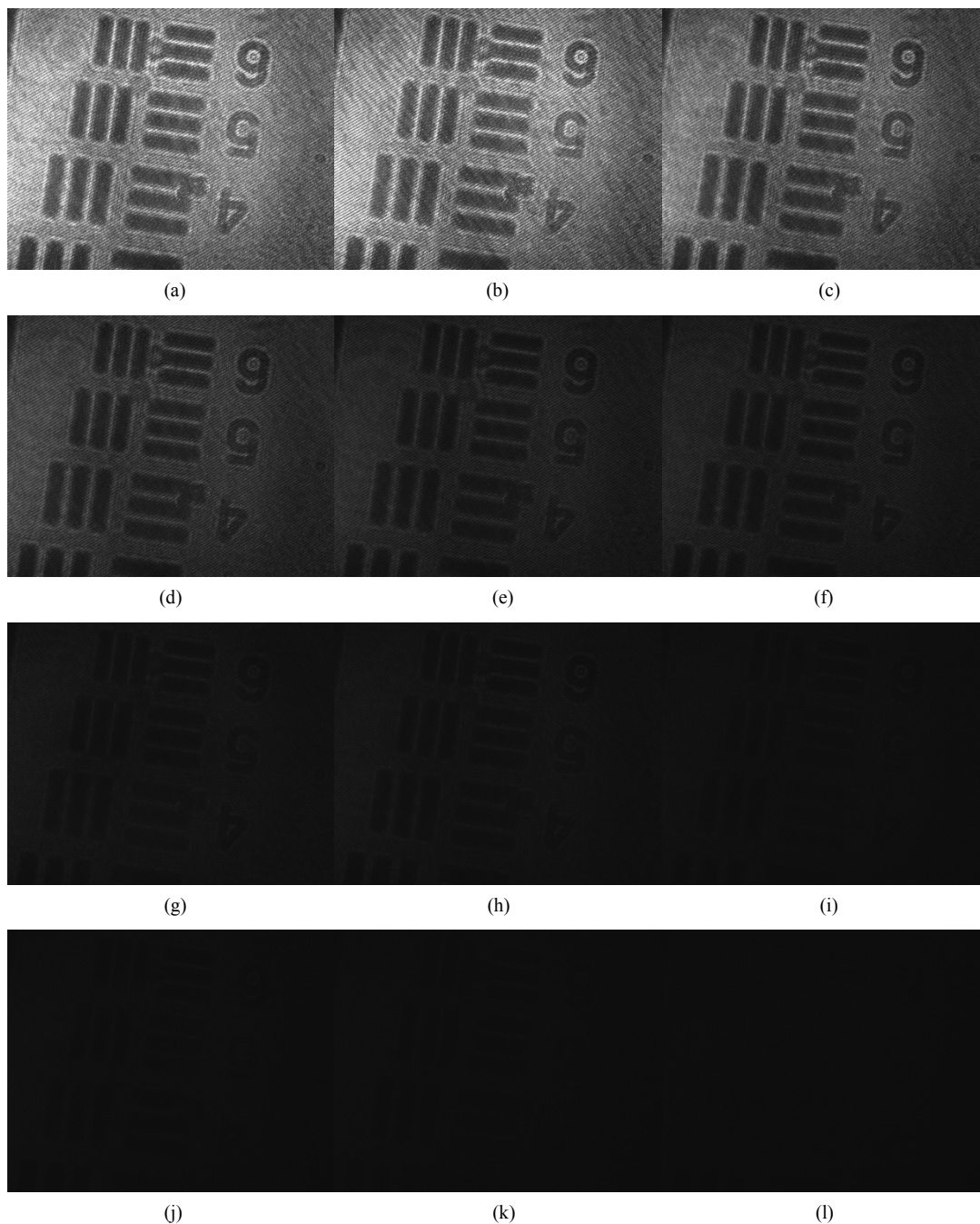
如图 3 所示, 为牛奶中分辨率样板成像图。图 3(a)可看出, 由于加入牛奶装片, 分辨率样板边缘模糊, 是牛奶分子光学散射作用结果。对数字全息图进行重构, 频谱图如图 3(b)所示, 当重构距离为 45 mm 时, 重构强度图呈现清晰图像, 如图 3(c)所示。

光学散射作用受到入射光强的影响, 因此对此因素的影响作用进行分析。

3.3. 入射光强对非透明介质样本成像的影响

利用中灰镜(ND, neutral density filter)调节入射光强。调节中灰镜的位置, 可使入射光光强量减弱。**图 3** 所取全息图的入射光功率为 4.5 mW, 通过调节中灰镜可获得 4.2 mW、3.9 mW、3.6 mW、3.3 mW、3.0 mW、2.7 mW、2.4 mW、2.1 mW、1.8 mW、1.5 mW、1.2 mW、0.9 mW、0.6 W 和 0.3 mW 的入射功率光强。**图 4** 所示为以上光强条件下, 两层牛奶装片中分辨率样板的数字全息成像图。

从**图 4** 中可见, 入射光功率越低, 牛奶介质中分辨率样本成像越暗, 能分辨的程度越低, 从 2.1 mW 以下暗至不可见。利用**图 4** 中的全息图进行频谱分析, 如**图 5** 所示。



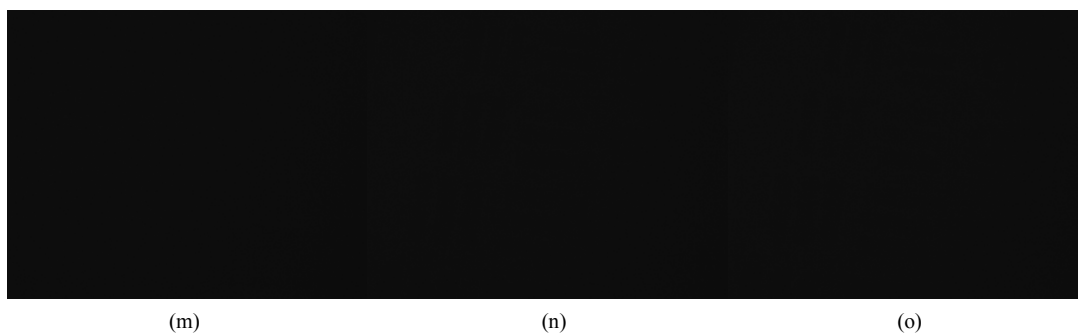
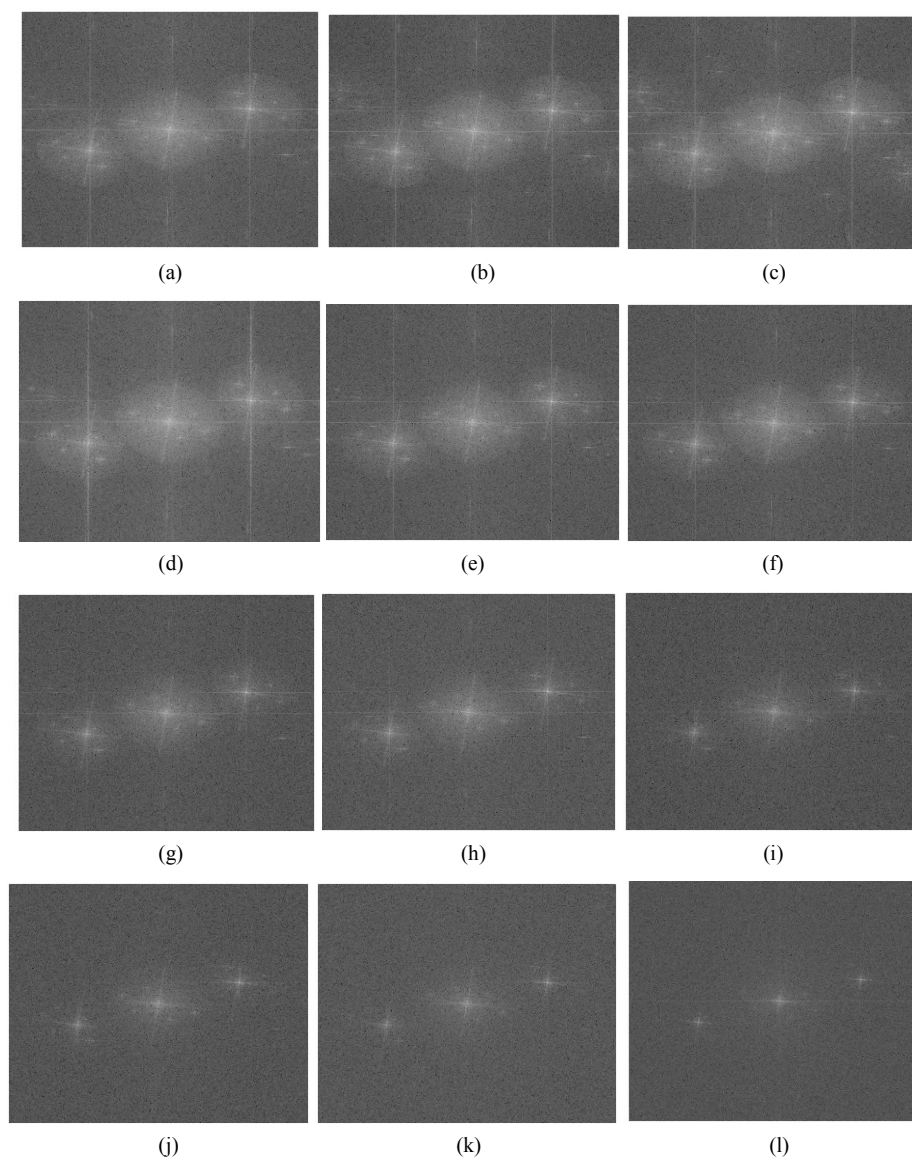


Figure 4. Digital holograms of USAF resolution board in milk medium illuminated by optical sources with multiple intensities. (a)-(o) the intensity of 4.5 mW, 4.2 mW, 3.9 mW, 3.6 mW, 3.3 mW, 3.0 mW, 2.7 mW, 2.4 mW, 2.1 mW, 1.8 mW, 1.5 mW, 1.2 mW, 0.9 mW, 0.6 W and 0.3 mW

图 4. 不同光强光源照射下牛奶中分辨率样板数字全息图。(a)~(o) 入射光功率为 4.5 mW、4.2 mW、3.9 mW、3.6 mW、3.3 mW、3.0 mW、2.7 mW、2.4 mW、2.1 mW、1.8 mW、1.5 mW、1.2 mW、0.9 mW、0.6 W 和 0.3 mW



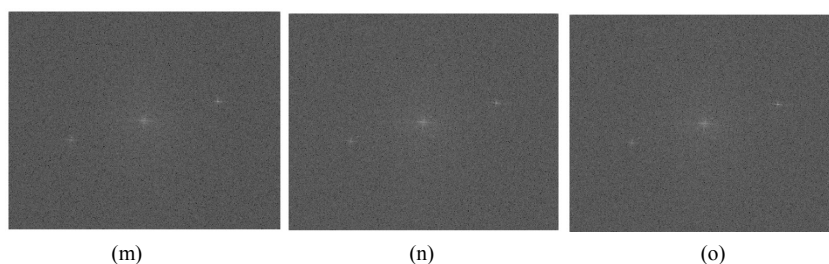
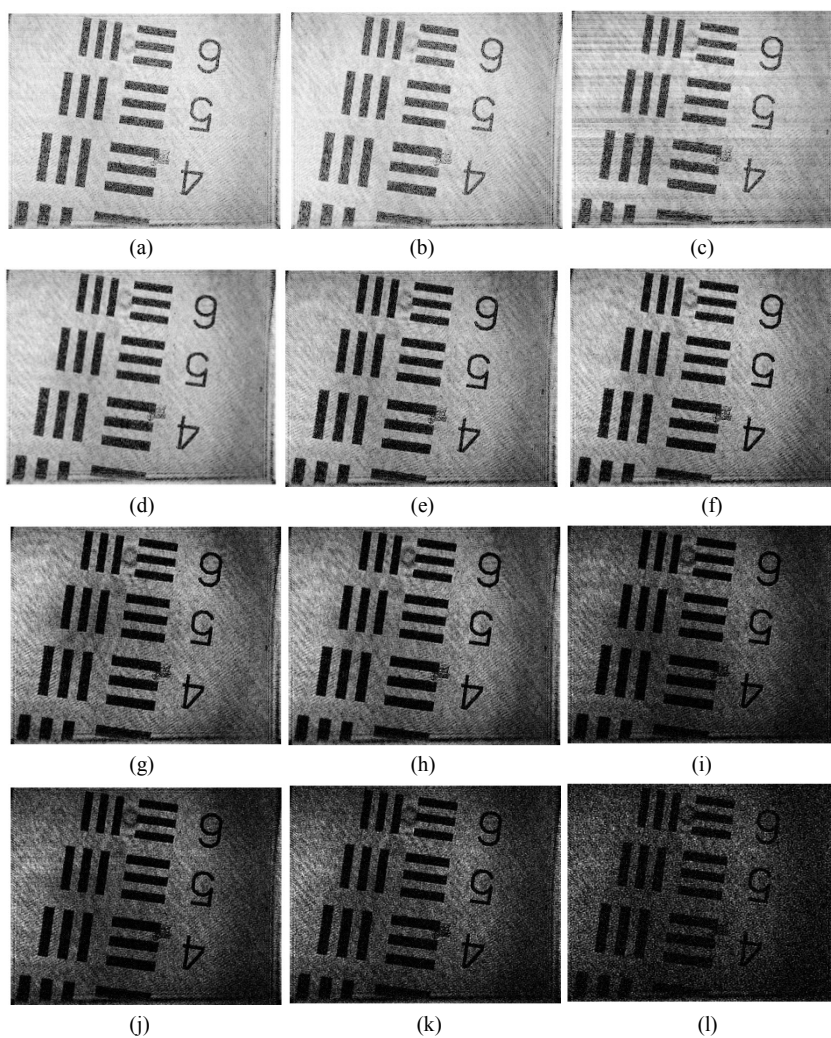


Figure 5. Frequency spectrum of USAF resolution board in milk medium illuminated by optical sources with multiple intensities. (a)-(o) the intensity of 4.5 mW, 4.2 mW, 3.9 mW, 3.6 mW, 3.3 mW, 3.0 mW, 2.7 mW, 2.4 mW, 2.1 mW, 1.8 mW, 1.5 mW, 1.2 mW, 0.9 mW, 0.6 W and 0.3 mW

图 5. 不同光强光源照射下牛奶中分辨率样板频谱图。(a)~(o) 入射光功率为 4.5 mW、4.2 mW、3.9 mW、3.6 mW、3.3 mW、3.0 mW、2.7 mW、2.4 mW、2.1 mW、1.8 mW、1.5 mW、1.2 mW、0.9 mW、0.6 W 和 0.3 mW

如图 5 所示，不同光强下牛奶中分辨率样本频谱呈现一定规律，随着光强的减弱，频谱分量减小，至 0.3 mW 处实像和虚像的频谱几乎不可见，可知频谱分量趋于 0。利用频谱图对强度像进行重构，如图 6 所示。



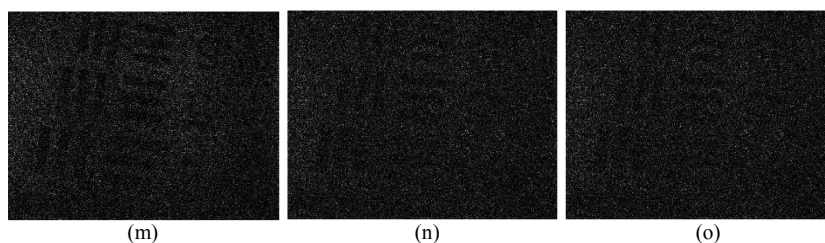


Figure 6. Reconstructed intensity of USAF resolution board in milk medium illuminated by optical sources with multiple intensities. (a)-(o) the intensity of 4.5 mW, 4.2 mW, 3.9 mW, 3.6 mW, 3.3 mW, 3.0 mW, 2.7 mW, 2.4 mW, 2.1 mW, 1.8 mW, 1.5 mW, 1.2 mW, 0.9 mW, 0.6 W and 0.3 mW

图 6. 不同光强光源照射下牛奶中分辨率样板强度重构图。(a)~(o) 入射光功率为 4.5 mW、4.2 mW、3.9 mW、3.6 mW、3.3 mW、3.0 mW、2.7 mW、2.4 mW、2.1 mW、1.8 mW、1.5 mW、1.2 mW、0.9 mW、0.6 W 和 0.3 mW

如图 6 所示, 不同光强下牛奶中分辨率样板强度重构像呈现一定规律, 随着光强的减弱, 重构强度图清晰度依次下降, 虽然全息图中, 2.1 mW 及以下分辨率板显微图已无法分辨样本图样, 但强度图仍可清晰判别样本二维形貌, 如图 6(f)~6(l), 直至 0.9 mW 及以下的分辨率样板图才不可辨别形貌。

不同光强下牛奶中分辨率样板强度重构像呈现一定规律, 随着光强的减弱, 重构强度图清晰度依次下降, 虽然全息图中, 2.1 mW 及以下分辨率板显微图已无法分辨样本图样, 但强度图仍可清晰判别样本二维形貌, 如图 6(f)~6(l), 直至 0.9 mW 及以下的分辨率样板图才不可辨别形貌。

4. 结论

根据以上实验结果得出结论, 牛奶介质中, 样本成像模糊, 利用数字全息显微技术, 通过全息重构, 可以使获取清晰的重构强度像。牛奶中样本成像效果与入射光强度有关, 入射光强度越弱, 散射作用对成像像质的负面影响越大。因此光强与全息重构成像清晰度成正向相关关系。但是, 在光强弱到在牛奶介质中直接成像已暗至不可见程度, 利用全息技术仍可重构出较为清晰的强度像。同时可知, 虽然入射光强有变化, 但能够获取清晰像的重构距离不变, 上述实验重构距离均为-45 mm。因此, 数字全息显微技术非常适合用于牛奶中样本成像, 在实际生产中, 可应用于对牛奶中杂质的检测, 为监测与提高牛奶质量提供一种技术手段。

基金项目

本文由大学生创新创业训练项目(202010061111), 天津市自然科学基金项目(19JCQNJC01100), 国家自然科学基金项目(51775381), 天津市高等学校基本科研业务费资助重点项目(2017KJ182)资助。

参考文献

- [1] IRAM 14 008-1962. 牛奶中可见杂质的测定方法[S]. <https://www.antpedia.com/standard/5516230.html>, 1962-01-01.
- [2] 王信. 奶粉杂质度的控制[J]. 吉林农业, 1996(3): 11.
- [3] Lnis, P., Ghinita, G., Mouratidis, K., *et al.* (2007) Preventing Location-Based Identity Inference in Anonymous Spatial Queries. *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering*, **19**, 1719-1733.
- [4] 孙绍晟, 张林. 基于图像的牛奶细微杂质检测算法研究与仿真[J]. 计算机应用与软件, 2013(1): 287-289+320.
- [5] 苏康艳, 曾雅楠, 刘源, 吴海云, 陈夏瑜. 基于数字全息显微技术的生物细胞动态定量测量[J]. 光电子, 2019, 9(2): 77-82. <https://doi.org/10.12677/OE.2019.92012>
- [6] 张亦卓. 生物样品的数字全息显微相衬成像技术研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京工业大学, 2012.
- [7] 李仕萍. 数字全息技术在生物医学成像中的应用基础研究[D]: [博士学位论文]. 广州: 暨南大学, 2014.