

DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.07.026

肉骨粉显微近红外标准光谱库的快速构建方法*

姜训鹏¹ 杨增玲¹ 刘 贤¹ 韩鲁佳^{1,2}

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学动物营养学国家重点实验室, 北京 100083)

【摘要】 利用傅里叶变换显微近红外成像系统, 获取了3种不同种属肉骨粉骨颗粒样本的可见光图像和显微近红外图像。采用标记分水岭算法, 基于Matlab软件和友好用户界面GUI设计实现图像颗粒的自动化提取与标记, 以自动化批处理方式提高了光谱的提取效率, 识别率为96.4%。基于颗粒标记, 从三维显微成像数据阵中获取单条骨颗粒光谱, 以全局马氏距离和邻近马氏距离为指标, 提取其中具有代表性的光谱即可构建肉骨粉显微近红外标准光谱库。

关键词: 肉骨粉 快速检测 显微近红外成像 标准光谱库 图像分割
中图分类号: O657.33; TP391.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2012)07-0141-04

Rapid Construction of Near-infrared Microscopic Spectra Database for Identification of Meat and Bone Meal

Jiang Xunpeng¹ Yang Zengling¹ Liu Xian¹ Han Lujia^{1,2}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China
2. State Key Laboratory of Animal Nutrition, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract

A new strategy was demonstrated to establish typical spectra database. For the study, bone fragments of three different species MBM were analyzed on near-infrared microscopic imaging system, and both visible and near-infrared images were acquired at the same size. To extract and mark the position of every single bone fragment in visible image, a graphical user-friendly interface, based on marker-controlled watershed segmentation method, written in Matlab for extracting and marking bone fragments has been developed. The recognition ratio was 96.4%. By the position information in visible image, near-infrared microscopic imaging data was decompounded to spectrum of each bone fragment. Next, typical spectra were selected by the multivariate ‘distances’—Global Hood (GH) & Neighbor Hood (NH) statistics.

Key words Meat and bone meal, Rapid determination, Near-infrared microscopic imaging, Spectra database, Image segmentation

引言

显微近红外成像技术是随着阵列检测器技术发展而产生的一种微区分析技术, 具有非破坏性、干扰性小、光谱分辨率高、信噪比高等特点^[1]。它主要利用傅里叶变换近红外光谱仪、阵列检测器以及聚焦样本微区的显微镜系统, 获取微小尺度上的近红

外光谱, 从而得到整个微区面积的近红外图像, 再通过近红外图像解析得到空间各点的组成和结构信息。目前, 显微近红外成像技术在药品检测^[2~3]、物证鉴定^[4~5]、材料分析^[6]、饲料检测^[7]等领域的应用均有报道。
肉骨粉快速检测是保障饲料安全和有效防范疯牛病的重要手段。肉骨粉显微近红外成像判别模型

收稿日期: 2011-08-03 修回日期: 2011-10-31
* 国家自然科学基金资助项目(31072062)和国际科技合作项目(2010DFA34540)
作者简介: 姜训鹏, 博士生, 主要从事生物质工程研究, E-mail: jiangxp@cau.edu.cn
通讯作者: 韩鲁佳, 教授, 博士生导师, 主要从事生物质工程研究, E-mail: hanlj@cau.edu.cn

的建立通常选取基于颗粒扫描获得的光谱作为重要参考光谱^[8~11],样本量庞大。现有仪器设备条件下,因无法实现颗粒自动分割与标记,工作量大,耗时长,不利于该方法的推广应用。因此,本文研究快速构建显微近红外标准光谱库的方法。

1 材料与方法

1.1 样本采集与制备

采集不同种属肉骨粉样品 20 个,其中猪肉骨粉 8 个,鸡肉骨粉 7 个,牛羊肉骨粉 5 个。所有样品采用显微镜方法^[12]检测,保证其真实性。

样品经 ZM100 型旋风磨(德国 Retsch 公司)粉碎处理,过 0.5 mm 筛。称取上述粉碎样品 3.0 g 与 100 mL 四氯乙烯(密度为 1.62 g/cm³)在分液漏斗中混匀,静置 5 min。从溶液中分离出底部的沉淀颗粒,即为骨颗粒。

将沉淀颗粒过筛,取筛分粒度大于 250 μm 的颗粒^[9]单层随机排列于聚四氟乙烯(polytetrafluoroethene,简称 PTFE)背景底板上,作为扫描样本。每个背景底板可放置颗粒 50~90 个。共制备扫描样本 39 片。

为避免交叉污染,不同种属骨颗粒分别置于不同背景底板上。

1.2 数据采集及处理

1.2.1 数据获取

实验采用美国 Perkin Elmer 公司生产的 Spotlight 400 型傅里叶近红外成像系统。该系统包括傅里叶变换近红外光谱仪(Spectrum 400)、线阵列检测器、显微镜系统以及自动载物台和计算机控制系统。在显微镜系统中通过共轴光路分别采集可见光与近红外光图像。

样本可见光图像通过显微近红外成像系统的 CCD 图像传感器获取。图像采集的像素点大小约为 1.5 μm×1.5 μm。

样本显微近红外图像采用碲镉汞(mercury cadmium telluride,简称 MCT)阵列检测器获取。图像采集的像素点大小为 50 μm×50 μm,扫描区域与可见光成像区域一致。光谱范围为 7 800~4 000 cm⁻¹,光谱分辨率为 16 cm⁻¹,每条光谱为采集 16 次所取的平均值,扫描光谱以 lg(1/R)形式存储,其中 R 为光谱反射率。扫描过程中对检测室内充高纯氮气进行空气校正,减少由水蒸气和二氧化碳造成的光谱吸收。

1.2.2 骨颗粒可见光图像分割方法

采用基于标记控制的分水岭算法^[13]对背景底板上的骨颗粒进行可见光图像分割。

利用 Matlab 软件和友好用户界面 GUI 进行计算机编程,实现对样本可见光图像中颗粒的自动化提取与标记。

1.2.3 成像模式下骨颗粒近红外光谱提取与分析

从显微近红外成像数据阵中提取骨颗粒光谱。由于骨颗粒尺度(大于 250 μm)大于像素点尺度(50 μm),一个骨颗粒在显微数据阵中具有多个像元,即多条光谱。以单个骨颗粒所有像元平均光谱作为参考光谱。

考虑到骨颗粒的代表性等因素,参考光谱需进行入库甄别后,进入标准光谱库。选用全局马氏距离(global hood,简称 GH)和邻近马氏距离(neighbor hood,简称 NH)作为反映颗粒代表性的参数^[14~15]。选择 GH 小于 3.0 和 NH 大于 0.6 的颗粒光谱作为标准光谱库光谱。

2 结果与讨论

2.1 骨颗粒可见光图像及显微近红外图像

以其中一个扫描样本结果为例,图 1a 为猪骨颗粒样本的可见光图像,图 1b 是显微近红外总吸光度图,每个像素点的值是其近红外光谱全谱范围内总吸光度的平均值。

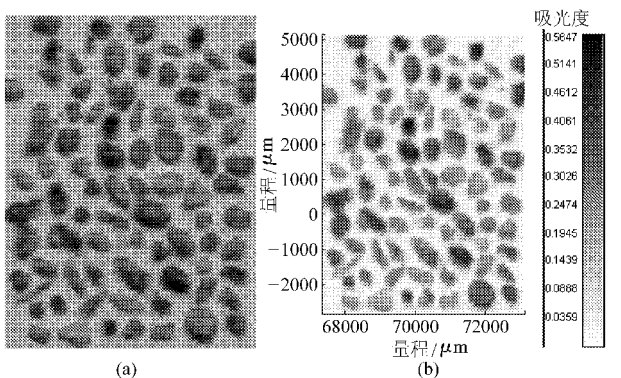


图 1 样本可见光图像与显微近红外总吸光度图
Fig. 1 Visible image and near-infrared microscopic image of the sample
(a) 可见光图像 (b) 显微近红外总吸光度图

2.2 基于可见光的骨颗粒自动分割与标记

图 2 为可见光图像颗粒分割与标记的图形用户界面。利用此人机交互界面实现骨颗粒可见光图像的读取与显示,平滑、分割等处理,以及处理结果的显示与保存。图 2a 中,Open 按钮实现图像读取与显示,Calculate 按钮实现对图像分割参数的设置以及分割结果显示,图 2b 中,标记分水岭算法参数包括图像边缘滤波算子选择,图像重建结构元素选择与大小设置等。

2.3 骨颗粒自动分割与标记结果

以同一扫描样本的处理结果为例,图 3 所示为

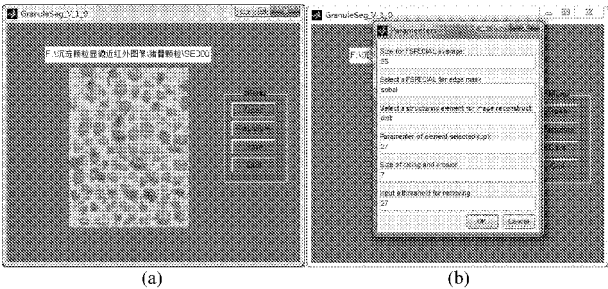


图 2 可见光图像颗粒分割与标记的图形用户界面
Fig. 2 Granule segmentation and marked of visible image window

(a) 图像读取与显示界面 (b) 图像分割参数设置界面

骨颗粒可见光图像进行分割和自动标记结果。从图 1a 其可见光图像可以看出动物骨颗粒样本形状不规则, 差异较大, 颗粒存在粘连现象, 人工判读颗粒数为 84 个。从图 3 中可以看出原始图像中的大部分颗粒得到了较好的分割和标记, 但是还存在个别颗粒的过分割、假阳性识别与未识别。自动标记颗粒为 86 个, 其中 81 个是正确标记, 3 个是过分割, 2 个为假阳性识别, 实为背景底板, 3 个未被标记, 识别率为 96.4%。导致出现颗粒过分割现象是由于图像中存在明显间隔一致的噪声带, 虽然采用图像平滑预处理手段大大抑制了此类噪声的影响, 但仍未完全消除。

2.4 成像模式下参考光谱的入库甄别

图 4 为依据可见光图像标记进行降维后, 获得的骨颗粒光谱。图中平面为显微近红外总吸光度图, 背景底板的吸光度基本为零, 颗粒具有不等的总

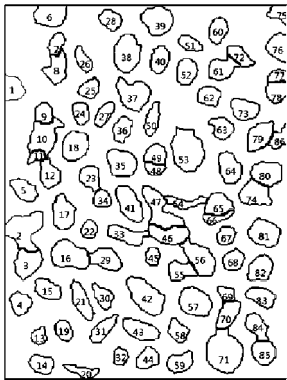


图 3 骨颗粒自动分割与标记结果
Fig. 3 Result of marked granule

吸光度值, 显示为不同的灰度值。图中每个骨颗粒上的光谱是经算法提取的代表该颗粒的参考光谱。仅以此显微成像数据阵为例, 其大小为 $93 \times 93 \times 451$ (93×93 个空间像素点, 451 个波数点)。数据阵包含 8 649 个像元, 即

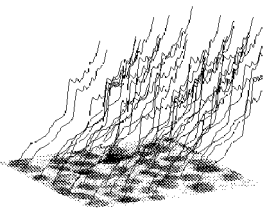


图 4 骨颗粒光谱
Fig. 4 Spectra of bone fragments

8 649 条光谱。经可见光图像分割标记, 得到 41 个骨颗粒。41 个骨颗粒总共占据 3 478 个像元, 即含有 3 478 条光谱。对每个颗粒内部像元进行平均, 得到 41 个骨颗粒的光谱。

表 1 为光谱甄别结果统计。本研究获取了 39 个显微成像数据阵, 以及与之对应的可见光图像。从显微成像数据阵中提取了 2 199 个颗粒的光谱, 为 186 401 条光谱的平均光谱。为选择其中有代表性的光谱作为标准光谱库光谱, 计算得到各条光谱的 GH 与 NH。以 GH 小于 3.0 和 NH 大于 0.6 为指标, 优选出标准库平均光谱 1 263 条。其中, 猪骨颗粒优选平均光谱 403 条, 鸡骨颗粒优选平均光谱 441 条, 牛羊骨颗粒优选平均光谱 419 条, 相应光谱如图 5 所示。

表 1 光谱甄别结果统计

Tab. 1 Result of typical spectra selection

类别	样品数量	像元数量	参考光谱数量	标准光谱数量
猪骨颗粒	8	63 384	773	403
鸡骨颗粒	7	64 909	759	441
牛羊骨颗粒	5	58 108	667	419
合计	20	186 401	2 199	1 263

3 结束语

采用标记分水岭算法进行可见光图像颗粒分

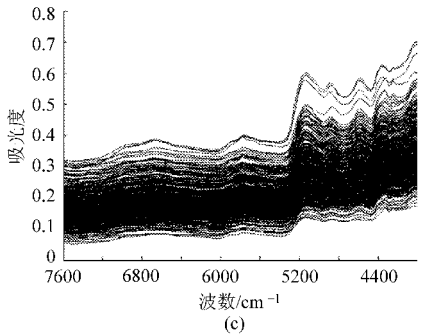
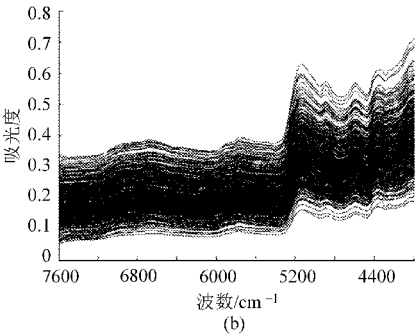
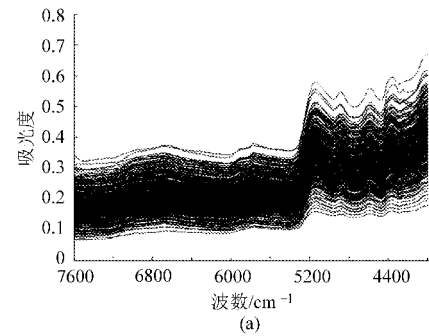


图 5 骨颗粒光谱

Fig. 5 Spectra of three different species bone fragments
(a) 猪骨 (b) 鸡骨 (c) 牛羊骨

割,有效解决了颗粒粘连分割等问题,然而由于骨颗粒的形状变异很大,分割的准确性还有待提高。基于 Matlab 软件和友好用户界面 GUI 设计实现了图像颗粒的自动化提取与标记,识别率 96.4%。采用全局马氏距离和邻近马氏距离为指标,对光谱进行优选,提取其中具有代表性的光谱作为入库光谱。

参 考 文 献

1

Reich G. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2005, 57(8):1 109 ~ 1 143.

2

Clarke F. Extracting process-related information from pharmaceutical dosage forms using near infrared microscopy [J]. Vibrational Spectroscopy, 2004, 34(1):25 ~ 35.

3

Awa K, Okumura T, Shinzawa H, et al. Self-modeling curve resolution (SMCR) analysis of near-infrared (NIR) imaging data of pharmaceutical tablets [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 619(1):81 ~ 86.

4

Payne G, Wallace C, Reedy B, et al. Visible and near-infrared chemical imaging methods for the analysis of selected forensic samples [J]. Talanta, 2005, 67(2): 334 ~ 344.

5

杨胜军,邹多生,石琳,等. 利用傅里叶红外显微化学图像系统鉴定书写与盖章的先后顺序[J]. 光谱学与光谱分析, 2006,26(8):1 460 ~ 1 463.
Yang Shengjun, Zou Duosheng, Shi Lin, et al. Determination of the sequencing of sealing and writing with Fourier IR microscopic chemical image system[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, 26(8):1 460 ~ 1 463. (in Chinese)

6

王冬,马智宏,赵柳,等. 显微近红外图像用于分辨 2 种塑料材料的成像方法研究[J]. 计算机与应用化学,2010, 27(12):1 665 ~ 1 668.
Wang Dong, Ma Zhihong, Zhao Liu, et al. Research on imaging method of differentiation of two kinds of plastic materials by near-infrared micro-image [J]. Computers and Applied Chemistry, 2010, 27(12):1 665 ~ 1 668. (in Chinese)

7

姜训鹏,杨增玲,韩鲁佳,等. 精料补充料中肉骨粉的显微近红外成像识别[J]. 农业机械学报,2011,42(7):155 ~ 159.
Jiang Xunpeng, Yang Zengling, Han Lujia, et al. Discrimination of meat and bone meal in concentrate supplement by near-infrared microscopic imaging[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011,42(7):155 ~ 159. (in Chinese)

8

Raamsdonk L W D, Von Holst C, Baeten V, et al. New developments in the direction and identification of processed animal proteins in feeds [J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 133(1 ~ 2):63 ~ 83.

9

Baeten V, Michotte-Renier A, Sinnaeve G, et al. Analyses of feeding stuffs of near-infrared microscopy (NIRM): detection and quantification of meat-and-bone-meal (MBM) [C] // Proc. of the Sixth Food Authenticity and Safety International Symposium (FASIS). Nantes: FASIS Organization Committee, 2001:1 ~ 11.

10

Baeten V, Von Holst C, Garrido A C, et al. Detection of banned meat and bone meal in feedstuffs by near-infrared microscopic analysis of the dense sediment fraction[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2005, 382(1):149 ~ 157.

11

吕程序,杨增玲,韩鲁佳,等. 饲料中动物源性成分显微近红外光谱分析研究[J]. 农业机械学报,2011,42(5):171 ~ 174,213.
Lü Chengxu, Yang Zengling, Han Lujia, et al. Detection of processed animal proteins in feeding stuffs by near-infrared microscopy [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(5):171 ~ 174,213. (in Chinese)

12

EC 152/2009 Annex VI: methods of analysis for the determination of constituents of animal origin for the official control of feed [S]. Official Journal of the European Union, 2009.

13

Vincent L, Soille P. Water sheds in digit al spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1991, 13(6):583 ~ 598.

14

Dardenne P. Start feed-strategies and methods to detect and quantify mammalian tissues in feeding stuffs [M]. Belgium: European Communities, 2005: 1 ~ 14.

15

Foss-tecator-infrasoft international. WinISI III Manual[M]. Port Matilda PA: Foss-tecator-infrasoft International, 2000.