

基于机器视觉的疫苗制备中胚蛋成活性检测

单宝明

(青岛科技大学自动化与电子工程学院, 青岛 266042)

【摘要】 将机器视觉技术引入疫苗制备的胚蛋孵化中期成活性检测环节中。针对其不可漏检坏死胚蛋的特殊需求,提出了首先以多尺度形态学滤波增强图像、检测图像谷带特征,然后以基于直方图 WFCM 的局部自适应二值化方法提取血丝,最后通过血丝数量来判定成活性的算法。以 150 幅图像进行实验,实验结果显示,本算法检测速度快、对胚蛋活性无影响。判定正确率、漏判率和误判率分别为 99.33%、0 和 0.67%,可满足疫苗制备的特殊需求。

关键词: 机器视觉 疫苗制备 孵化中期 成活性检测

中图分类号: TP391.4; X954 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2010)05-0178-04

Hatching Egg Fertility Detection in Vaccine Preparation Based on Machine Vision

Shan Baoming

(College of Automation and Electronic Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China)

Abstract

Machine vision was introduced into the vaccine preparation to detect the fertility of middle-stage hatching egg by using the image processing. According to the special requirements that all the infertile eggs should be detected and the original embryos fertility in eggs should not be affected by the detection, the design of imaging system and the method of how to detect the fertility by using the images were proposed. Firstly, images were enhanced and the special quality of shade was detected by multi-scale morphological transformation; secondly, the main blood-vessels in the hatching egg images was extracted by using local adaptive segmentation based on histogram-based WFCM; finally, the fertility by counting the number of the blood-vessels was detected. The method was simulated with 150 images under the Matlab7.0 environment. The detection accuracy rate, undetected error rate and false detected rate were respectively 99.33%, 0% and 0.67%. The detection of a single egg is 0.21 s on average. The results showed that the method was efficient, but not sensitive to noise, color of egg shell, nor to the other pollution on the eggshell. It is capable to improve the detection accuracy and efficiency by replacing manual detection in vaccine preparation.

Key words Machine vision, Vaccine preparation, Middle-stage hatching, Fertility detection

引言

目前流感疫苗的制备通常采用在胚蛋中培养病毒的方式。培养结束后的病毒采集过程中,一旦混入坏死胚蛋,则同一批次采集到的病毒均会被污染、废弃,否则将造成重大安全问题。因此,病毒采集前

的胚蛋成活性检测至关重要,且严格要求不得漏判坏死胚蛋。据了解,国内厂家均是采用人工照蛋方式进行检测,但是人工方式效率低、结果易受主观因素影响,已不能满足现代疫苗制备业的发展要求。

胚蛋成活性检测分为孵化早期、中期和后期 3 个阶段,疫苗制备属于中期检测。现有的早期检

测都是基于灰度或色度直方图特征进行的^[1-5]。郁志宏采用以色度直方图特征为输入值的神经网络方法对孵化早期、中期和后期的成活性进行检测^[6]，其检测结果易受蛋壳颜色、表面血迹、污渍等脏斑的影响，且算法运算量大、执行效率较低。文献[5]提出采用形态学方法对孵化中期鸭蛋成活性检测的算法，但其检测正确率较低。更为重要的是，上述算法均无法保证避免对坏死胚蛋的漏判，这使其无法应用于疫苗实际生产中。

本文提出将机器视觉引入到疫苗制备的胚蛋孵化中期成活性检测中。通过合理的成像系统和算法设计，提出满足疫苗制备中胚蛋孵化中期成活性检测特殊要求的方法。

1 胚蛋血丝图像的获取

获取图像的硬件主要由相机、光源、暗箱、图像采集卡和计算机组成。光源、相机与胚蛋的位置如图1所示，图中外层虚线所示区域为成像区域，内层虚线所示区域为选定的图像处理区域即“兴趣区域”(region of interest, 简称 ROI)。

在图像获取的设计中，主要考虑以下几个方面：
①不影响胚蛋活性。
②所得图像应尽量包含更多有用信息。
③尽可能减小图像大小以降低运算规模。
④尽可能降低硬件成本。
⑤易于实现，方便与机械部分的配合。

由于毒株注入会在蛋壳顶部留下小孔，所以在孵化、检测等过程中，胚蛋要求必须垂直放置，不能倾斜、晃动，保证对其平稳地垂直和水平移动。

考虑以上要求，本文的成像系统设计与以往研究有所不同。以往的研究设计中，胚蛋需要水平放置，在放置的底板上挖孔，光源由胚蛋正下方向上照射。而本文中，胚蛋直立放置，光源从胚蛋的顶部向下照射，相机在胚蛋侧面成像。

1.1 成像过程

胚蛋竖直放置于6行5列的蛋盘之中，由传送带将整盘蛋运送至暗箱中。到达暗箱后，由吸提设备将第1列胚蛋全部提起，6台相机分别同时对第一列胚蛋进行拍照，通过图像采集卡对6台相机输出的图像数据进行实时采集，并传输至主机进行存储及后续处理。第1列胚蛋放下，伺服装置驱动执行机构带动相机前移固定距离然后拍摄第2列胚蛋，直至5列胚蛋全部拍摄完毕，传送带将本盘蛋送出暗箱，并传入第2盘蛋，重复上述过程。

1.2 光源设计

基于方便胚蛋提取、移动的考虑，光源与吸提装置一体化设计为带吸盘的特制光源，系统控制吸盘

对胚蛋的吸提及释放。

由于LED光源具有无干扰辐射、发热量低、无有毒物质，即使近距离长时间照射，也不会对胚蛋造成影响的优点和具有光效高、体积小，易实现吸盘光源一体化设计以及寿命长、免维护、耗电少，节能环保的特点，所以选用LED光源取代以往研究中多采用的卤钨灯。考虑到需要在照明中心区域具有高度集中的汇聚光柱，故选择由大功率白光LED组成的高强度LED阵列直接照射光源。成像示意图如图1所示。

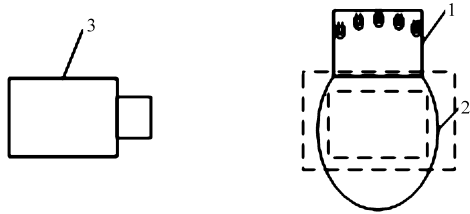


图1 成像示意图

Fig. 1 Imaging diagram

1. 带吸盘的特制光源 2. 胚蛋 3. 相机和镜头

1.3 相机和镜头

为消除蛋壳颜色的影响，使本算法适用于各种外壳颜色鸡蛋的混合检测，并考虑到因不同型号、品牌相机成像时色彩还原度不同而需对模型中各阈值的修改，选用1/2" CCD 逐行扫描黑白相机获得胚蛋血丝的灰度图像。

成像水平视场为60 mm，相机离胚蛋的距离为100 mm，选择1/2"、F1.4、12 mm 固定焦距标准镜头。

1.4 图像采集卡和ROI的确定

由于设计中要求6台相机同时成像，所以选择可同时支持6台黑白相机输入的图像采集卡。

相机的成像区域在含有血丝图像信息的同时还包含部分光源、暗箱背景、鸡胚等图像信息，这些信息对于成活性的判定是无效的，所以在图像采集过程中将其去除掉，以降低图像尺寸、提高图像的采集速度和后续处理速度、降低存储器需求。为此，选择具备ROI功能的图像采集卡，通过对采集卡ROI参数的设置，可以灵活设置需要处理、存储的图像范围。ROI区域的选择应综合考虑第1节图像获取设计中②和③两个方面，充分考虑胚蛋的个体差异，在保证采集到图像包含所有有用血丝信息的基础上，尽可能地减少无用信息。

2 基于血丝图像的成活性判定

疫苗制备过程中的成活性检测，主要以胚蛋中是否有血丝或血丝多少作为判据。由于胚蛋血丝图像具有背景灰度渐变，血丝边缘锐利度不够、过渡过于

平滑,蛋壳密度不均匀导致连续亮点噪声和不同蛋壳颜色或蛋壳上的脏斑容易对图像特征造成影响等特点,如何正确地提取出胚蛋图像中的血丝是本方法研究的重点和难点。

本文提出首先以 Top-Hat 变换、Bottom-Hat 变换来增强胚蛋血丝图像^[7];然后通过多尺度算子 Bottom-Hat 变换对图像进行滤波;再对各个尺度滤波后得到的图像分别进行局部自适应二值化分割,分割阈值通过基于直方图的 WFCM^[8~9]聚类算法来自动获取;然后,合并上述二值化图像,并进行降噪处理、去除小的连通区域,从而提取主要血丝的图像;最后根据提取的血丝图像对胚蛋成活性进行判断。

2.1 形态学预处理

形态学中有 2 种基本的运算:开运算和闭运算。开运算可以去除孤立的小点、毛刺和连通两块区域的小桥,闭运算则能够填平小孔,弥合小裂缝,且 2 种运算都可以保持目标总的位置和形状不变。在开闭运算的基础上定义了 Top-Hat 变换和 Bottom-Hat 变换。Top-Hat 变换是图像开操作结果与原始图像之差,它体现的是原始图像的灰度峰值;Bottom-Hat 变换是图像闭操作结果与原始图像之差,它体现的是原始图像的灰度谷值。

本文利用形态学中的 Top-Hat 变换和 Bottom-Hat 变换,对图像进行预处理。首先分别对原始图像做 Top-Hat 变换和 Bottom-Hat 变换,然后将得到的 Top-Hat 变换图像减去 Bottom-Hat 变换后的图像,从而使图像得到增强。

图像增强后,针对胚蛋血丝图像背景对比度低和背景灰度渐变的特点,以及利用 Bottom-Hat 变换可检测波谷的特性,对增强后的图像进行多尺度的 Bottom-Hat 滤波,检测出血丝的谷带特征,从而达到抑制混合噪声、去除大面积背景干扰的目的。

2.2 基于直方图的 WFCM 聚类算法

传统的 WFCM 聚类算法以像素点为待分类的样本,当图像尺寸增大时,分类的样本数会急剧增大。

而基于直方图的 WFCM 聚类算法直接把灰度及其出现的频度作为待分类的样本,可以令分类的样本数量不再随图像尺寸的增大而增大,图像的尺寸只影响灰度直方图的计算,即各灰度级出现的概率。

计算中,只需对该图像所包括的灰度级进行聚类分析,对于本文中 8 位的灰度图像,其规模不超过 256,因而基于直方图的 WFCM 聚类算法能大大降低运算规模,快速找到较为合理的分割阈值。

2.3 局部自适应二值化

胚蛋血丝图像具有背景亮度不均,背景和前景灰度差距不明显的特征,经过 Bottom-Hat 变换的图像继承了这一特征,若使用全局二值化法对其进行分割,易造成背景与前景的误分割,无法得到理想的结果。考虑到虽然待分割图像整体背景亮度不均匀,但小的局部范围内变化不大,所以本文采用局部二值化的方法。同时,由于血丝相对于背景灰度值差距较小,故文中采用基于直方图的 WFCM 聚类算法,以自适应地获得每个子区域的分割阈值。

首先将血丝图像平均分为若干个大小为 $r \times r$ 的子区域,每个子区域内根据基于直方图的 WFCM 聚类算法,计算出其区域内的分割阈值,根据所得到的阈值对子区域图像进行分割。然后将各个子区域的分割结果进行合并,从而得到整个图像的分割结果。

2.4 具体步骤

步骤 1:利用 Top-Hat 变换和 Bottom-Hat 变换对原始的胚蛋血丝图像进行灰度增强。

步骤 2:对增强后的图像分别用 0° 、 45° 、 90° 、 135° 这 4 个方向的结构元进行 Bottom-Hat 变换滤波,考虑到主要的血丝并不是真正的直线,所以结构元的大小设置为 5×5 ,则 4 个结构元 b_{0° 、 b_{45° 、 b_{90° 、 b_{135° 分别为

$$b_{0^\circ} = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix} \quad b_{45^\circ} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

$$b_{135^\circ} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad b_{90^\circ} = [1 \quad 1 \quad 1 \quad 1 \quad 1]$$

步骤 3:利用基于直方图的 WFCM 聚类算法获取区域子块的分割阈值,分别对 4 个 Bottom-Hat 滤波结果图像进行局部自适应二值化,并将 4 个二值化后的结果图像进行合并。

步骤 4:由于此时的合并图像还有很多噪声,所以需进行降噪处理。首先,以结构元 se 对合并后图像进行一次腐蚀,以去除图像中小的噪声以及断开成片噪声间的连接。然后,对腐蚀后的二值图像内的各个连通区域进行标记,去掉像素点数量小于 T_3 的连通区域,此时根据经验, T_3 取值为 5。最后,由于腐蚀处理可能会造成部分血丝的断开,所以以结

构元 se 对上述去掉小连通区域的图像进行一次膨胀运算。

$$se = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

步骤 5:对降噪后的图像进行细化处理,得到一个像素宽度的血丝图像。此时可以近似地以像素点的个数来表示血丝的长度。根据血丝多少来判断胚蛋成活活性可以等价为以下的准则,凡满足以下任意一条准则的,均可判定为成活胚蛋:①具有 2 个及 2 个以上的拥有多于 T_1 个像素点的连通区域。②具有像素点个数大于 T_2 的连通区域。其中, T_1 和 T_2 根据经验分别选为 90 和 180。

3 实验结果与分析

以采集到的 150 幅胚蛋血丝图像在 Matlab7.0 (Release 14) 环境下进行了仿真实验,图像大小均为 120×180 ,计算机主频 2.4 GHz,1 GB 内存。图 2 ~ 图 4 分别给出了 3 组胚蛋的原始图像、二值化图像及判定结果图像。其中 1 号和 2 号组为不同蛋壳颜色的成活胚蛋,3 号组为坏死胚蛋。

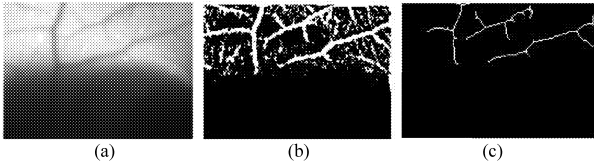


图 2 1 号组胚蛋实验图像

Fig.2 Test and result images in group 1

(a) 原始图像 (b) 二值化图像 (c) 判定结果

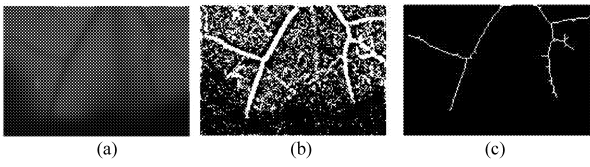


图 3 2 号组胚蛋实验图像

Fig.3 Test and result images in group 2

(a) 原始图像 (b) 二值化图像 (c) 判定结果

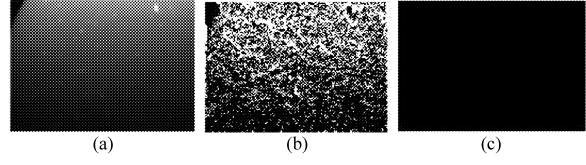


图 4 3 号组胚蛋实验图像

Fig.4 Test and result images in group 3

(a) 原始图像 (b) 二值化图像 (c) 判定结果

经统计计算,实验中从读取一幅图像至判定出

其成活性的平均耗时为 0.21 s。

主要血丝提取实验数据的提取正确率为 100%,误判率为零,漏判率为 1.11%。该组数据是通过对血丝提取结果与原始图像的观察结果计算得出的。首先计算出每一幅图像的提取正确率、误判率和漏判率,然后对所有的测试图像的结果求取算术平均值。主要血丝提取结果的主要计算公式为

$$\text{正确率} = \frac{\text{正确提取并判定的血丝根数}}{\text{实际主要血丝根数}} \times 100\%$$

$$\text{误判率} = \frac{\text{误判的主要血丝根数}}{\text{实际主要血丝根数}} \times 100\%$$

$$\text{漏判率} = \frac{\text{未判定出的血丝根数}}{\text{实际主要血丝根数}} \times 100\%$$

计算中,对于一根以上连接在一起的主要血丝,作为一条参与计算。在误判率的计算中,当图像中实际主要血丝根数为零时,若有误判血丝,则误判率记为 100%;在正确率和漏判率的计算中,当图像中实际主要血丝根数为零时,则正确率记为 100%,漏判率记为零。

成活性判定实验数据的正确率为 99.33%,漏判率为零,误判率为 0.67%。该组数据是根据仿真判定结果以及熟练工人对图片观察得出结论计算得到的。成活性判定结果的主要计算公式为

$$\text{正确率} = \frac{\text{判定结果正确数量}}{\text{总测试图片数量}} \times 100\%$$

$$\text{漏判率} = \frac{\text{将坏死蛋判定为成活的数量}}{\text{总测试图片数量}} \times 100\%$$

$$\text{误判率} = \frac{\text{将成活蛋判定为坏死数量}}{\text{总测试图片数量}} \times 100\%$$

4 结束语

从实验结果可以看出,本文所提出的方法可以较为准确地对胚蛋中主要的血丝进行提取,但对那些较为细小的血丝,其提取的效果并不理想,但对最终的判定正确率并无影响。由于某些主要血丝可能出现在相机的相反方向,则成像极不清晰,此时会出现对某些主要血丝的漏判,若此时其他清晰的血丝根数小于 2 根,则会造成对成活性的误判。血丝提取的误判则可能会造成最终检测结果的漏判。

综上所述,本文提出的算法能够快速地对孵化中期胚蛋的成活性进行判定,其判定正确率较高,结果不易受蛋壳颜色、表面脏斑等影响。在保证较高检测正确率的前提下,检测漏判率为零,可满足实际生产中的基本要求。

(下转第 203 页)

参 考 文 献

- McCarthy B, Adams G G, McGruer N E, et al. A dynamic model, including contact bounce of, an electrostatically actuated microswitch[J]. Journal of Microelectromechanical Systems, 2002, 11(3): 276 ~ 289.
- Krylov S, Maimon R. Pull-in dynamics of an elastic beam actuated by continuously distributed electrostatic force[J]. ASME Journal of Vibration and Acoustics, 2004, 126(3): 332 ~ 342.
- 林谢昭, 应济, 陈子辰. 流体环境中静电微悬臂梁的多场耦合仿真分析[J]. 农业机械学报, 2009, 40(3): 203 ~ 207.
Lin Xiezhao, Ying Ji, Chen Zichen. Multi-physics analysis of an electrostatically actuated microcantilever in viscous fluids [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(3): 203 ~ 207. (in Chinese)
- Nayfeh A H, Pai P F. Linear and nonlinear structural mechanics[M]. New York: Wiley, 2004: 371 ~ 467.
- Press W H, Teukolsky S A, Vetterling W T, et al. Numerical recipes in C: the art of scientific computing[M]. 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press, 1995: 681 ~ 688.
- 林谢昭, 应济, 陈子辰. 静电驱动硅模板宏模型建立方法[J]. 光学精密工程, 2008, 16(5): 839 ~ 843.
Lin Xiezhao, Ying Ji, Chen Zichen. Macro modeling method for electrostatic drive silicon diaphragm[J]. Optics and Precision Engineering, 2008, 16(5): 839 ~ 843. (in Chinese)
- Soleymani P, Sadeghian H, Tahmasebi A, et al. Pull-in instability investigation of circular micro pump subjected to nonlinear electrostatic force[J]. Sensors and Transducers Journal, 2006, 69(7): 622 ~ 628.
- Raback P, Pursula A. Finite element simulation of the electromechanical pull-in phenomenon[C] // European Congress on Computational Methods in Applied Sciences and Engineering. Jyvaskyla, 2004: 1 ~ 13.

(上接第 181 页)

参 考 文 献

- Das K, Evans M D. Detecting fertility of hatching eggs using machine vision II: neural network classifiers[J]. Transactions of the ASAE, 1992, 35(6): 2 035 ~ 2 041.
- Das K, Evans M D. Detecting fertility of hatching eggs using machine vision I: histogram characterization method[J]. Transactions of the ASAE, 1992, 35(4): 1 335 ~ 1 341, 23.
- 杨秀坤. 农产品品质检测中的人工智能方法研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 1997.
Yang Xiukun. Research of artificial intelligence in quality detection of agricultural products [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 1997. (in Chinese)
- 陈佳娟, 陈晓光, 纪寿文. 采用计算机视觉孵化鸡蛋成活性的自动检测[J]. 计算机应用与软件, 2001, 18(6): 5 ~ 10.
Chen Jiajuan, Chen Xiaoguang, Ji Shouwen. Automatic detecting fertility of hatching eggs by using computer vision[J]. Computer Application and Software, 2001, 18(6): 5 ~ 10. (in Chinese)
- 郁志宏. 基于机器视觉的种蛋筛选及孵化成活性检测研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2006.
Yu Zhihong. Study on automatic identifying quality and fertility of hatching eggs based on machine vision system [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- 周维忠. 基于机器视觉的孵化生产质量检测技术研究[D]. 西安: 西安交通大学, 2000.
Zhou Weizhong. Research of hatching quality detection based on machine vision[D]. Xi'an: Xian Jiaotong University, 2000. (in Chinese)
- 侯培国, 赵静, 刘明. 基于小波变换和行扫描的车牌定位方法[J]. 系统仿真学报, 2006, 18(增刊 2): 811 ~ 813.
Hou Peiguo, Zhao Jing, Liu Ming. Method of plate region detection based on wavelet transform and line scan[J]. Journal of System Simulation, 2006, 18(Supp. 2): 811 ~ 813. (in Chinese)
- 仇恒志, 钟鼎苏. 一种视网膜血管的分割方法[J]. 江西医学院学报, 2009, 49(1): 129 ~ 133.
Qiu Hengzhi, Zhong Dingsu. Segmentation of retinal vessels[J]. Acta Academic Medicine Jiangxi, 2009, 49(1): 129 ~ 133. (in Chinese)
- 高新波, 李洁, 姬红兵. 基于加权模糊 C 均值聚类与统计检验指导的多阈值图像自动分割算法[J]. 电子学报, 2004, 32(4): 661 ~ 664.
Gao Xinbo, Li Jie, Ji Hongbing. A multi-threshold image segmentation algorithm based on weighting fuzzy C-means clustering and statistical test[J]. Acta Electronica Sinica, 2004, 32(4): 661 ~ 664. (in Chinese)