

WYKORZYSTANIE INSTRUMENTÓW WIRTUALNYCH DO OKREŚLANIA STOPNIA ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO CIEKŁYCH PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

Jacek Kapica, Piotr Makarski

Katedra Podstaw Techniki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Streszczenie. Artykuł przedstawia ocenę możliwości wykorzystania cyfrowych technik analizy obrazu do określania stopnia skażenia drobnoustrojami ciekłych produktów spożywczych. Sygnał wyjściowy kamery sprzęgniętej z mikroskopem optycznym poddawano cyfrowej analizie obrazu przy pomocy aplikacji napisanej w środowisku LabView 8.5. Do badań wykorzystano spreparowane próbki soków, uprzednio w sposób kontrolowany zanieczyszczone mikrobiologicznie.

Słowa kluczowe: analiza obrazu, zanieczyszczenia mikrobiologiczne, instrumenty wirtualne

Wstęp

Jednym z ważniejszych nośników informacji o zjawiskach zachodzących w otaczającym nas świecie jest obraz. Także w badaniach naukowych wiele pomiarów jest dokonywanych przy wykorzystaniu zmysłu wzroku, szczególnie w dziedzinie mikrobiologii. Ludzki wzrok, rozumiany jako całość procesu przetwarzania (od uzyskania obrazu na siatkówce oka po uzyskanie o nim analitycznej informacji), ma tę zaletę, że łatwo przystosowuje się do panujących warunków (np. oświetlenie, kontrast), a także niejako „w biegu” dokonuje przetwarzania, filtracji i rozpoznawania obrazu [Tadeusiewicz, Korochoda 1997].

Zasadniczym problemem przy analizie obrazów przez człowieka jest zmieniająca się w czasie jakość tego procesu, co jest związane ze zmęczeniem. Także zaleta w postaci przystosowywania się człowieka do panujących warunków może okazać się niedogodnością, gdyż ludzkie postrzeganie jest subiektywne. Niejednokrotnie obserwator widzi to, czego szuka - jest to częstym błędem w obserwacjach mikroskopowych. Tzw. „iluzje optyczne” dowodzą, że ludzkie oko nie jest idealnym narzędziem [Aguilera, Stanley 1999].

Komputerowa akwizycja, przetwarzanie i analiza obrazu umożliwia uniknięcie niedogodności wynikających z właściwości ludzkiego wzroku: sprzęt komputerowy nie ulega zmęczeniu, nie poddaje się „iluzjom optycznym”, możliwe jest uzyskanie dokładnych ilościowych danych dotyczących obiektów znajdujących się na obrazie.

Systemy wizyjne są już standardem w zastosowaniach przemysłowych: kontrola napełnienia opakowania, obecności i poprawności montażu określonych elementów (części), odległości pomiędzy zadanymi elementami (krawędziami), poprawności naklejenia etykiety itp. Ułatwieniem w przypadku tego typu zastosowań jest łatwa do uzyskania standaryzacja warunków zewnętrznych (przede wszystkim oświetlenia) oraz nieskomplikowane, występujące w niewielu odmianach kształty.

Inaczej jest w przypadku obiektów biologicznych: nie zawsze jest możliwa standaryzacja oświetlenia a zmienność kształtów i sposobu ułożenia elementów na obrazie jest ogromna. Z tego powodu ich komputerowa analiza jest utrudniona i dużo bardziej skomplikowana niż w przypadku zastosowań przemysłowych.

Obserwowany w ostatnich latach postęp w pracach badawczych nad przetwarzaniem i analizą obrazu jest stymulowany m.in. przez przemysł spożywczy [Du, Sun 2004]. Istotnym, z punktu widzenia jakości produktów spożywczych, zagadnieniem jest obecność w nich mikroorganizmów.

Niniejszy artykuł przedstawia próbę stworzenia systemu komputerowego umożliwiającego analizę statystyczną obiektów mikrobiologicznych obecnych w polu widzenia mikroskopu. Badanym produktem spożywczym są soki owocowe.

Akwizycja, przetwarzanie i analiza obrazu – zagadnienia podstawowe

System akwizycji, przetwarzania i analizy obrazu składa się zwykle z następujących elementów:

- Urządzenie przetwarzające obraz na postać cyfrową: aparat cyfrowy, kamera CCD lub skaner, wraz z osprzętem dodatkowym, zależnym od zastosowanego urządzenia: kartą typu „frame grabber”, czytnikiem kart pamięci itp.
- Urządzenia pomocnicze, w szczególności oświetlenie, zapewniające powtarzalność warunków ekspozycji, a w przypadku obiektów mikrobiologicznych – mikroskop.
- Komputer (zwykle typu PC) z zainstalowanym oprogramowaniem umożliwiającym obróbkę pobranych obrazów za pomocą filtrów i przekształceń.
- Urządzenia wyjściowe: monitor, drukarka.

Od strony programowej proces przetwarzania i analizy obrazu obejmuje następujące operacje [Tadeusiewicz, Korochoła 1997]:

- akwizycja obrazu,
- przetwarzanie obrazu (filtracja, eliminacja zakłóceń, eksponowanie ważnych cech),
- wydobywanie cech opisujących obraz,
- interpretacja obrazu.

Obraz cyfrowy w skali szarości jest dwuwymiarową macierzą o rozmiarze wynikającym z jego rozdzielczości, w którym wartości poszczególnych komórek odpowiadają skali szarości (typowo od 0 do 255, gdzie 0 oznacza czerń a 255 biel a wartości pośrednie – szarość o luminancji proporcjonalnej do wartości komórki).

Aby dokonać statystycznej analizy parametrów obiektów widocznych na zdjęciu należy dokonać przekształcenia na skalę jednobitową, w której komórki mają wartości 0 lub 1 (kwestią umowy jest czy 0 to biel a 1 – czerń czy na odwrót). Jednak przed binaryzacją zwykle dokonuje się wstępnej filtracji i przekształcenia obrazu w celu usunięcia zakłóceń czy uwypuklenia istotnych szczegółów. Podstawą zastosowania filtrów cyfrowych jest fakt,

że obraz możemy uważać za dwuwymiarową funkcję, na której możemy dokonywać rozmaitych przekształceń. Omówienie – nawet w zarysie – najczęściej stosowanych filtrów wykracza, ze względu na ich dużą ilość, poza zakres niniejszego artykułu.

Na obrazie binarnym przeprowadza się tzw. przekształcenia morfologiczne, które mają na celu odpowiednie przygotowanie widocznych obiektów do operacji statystycznych. Z istniejących funkcji najczęściej wykorzystuje się separację, zamykanie i eliminację obiektów o zbyt dużej lub zbyt małej wielkości.

Metoda badawcza

Stanowisko pomiarowe składa się z mikroskopu, który umożliwia dołączenie aparatu cyfrowego, aparatu cyfrowego, komputera PC z zainstalowanym oprogramowaniem wizyjnym oraz środowiskiem programowym LabView. Oprogramowanie wizyjne umożliwia przygotowanie skryptu, który dokonuje odpowiednich przekształceń obrazu oraz rozpoznawanie i analizę statystyczną parametrów geometrycznych wyodrębnionych obiektów.

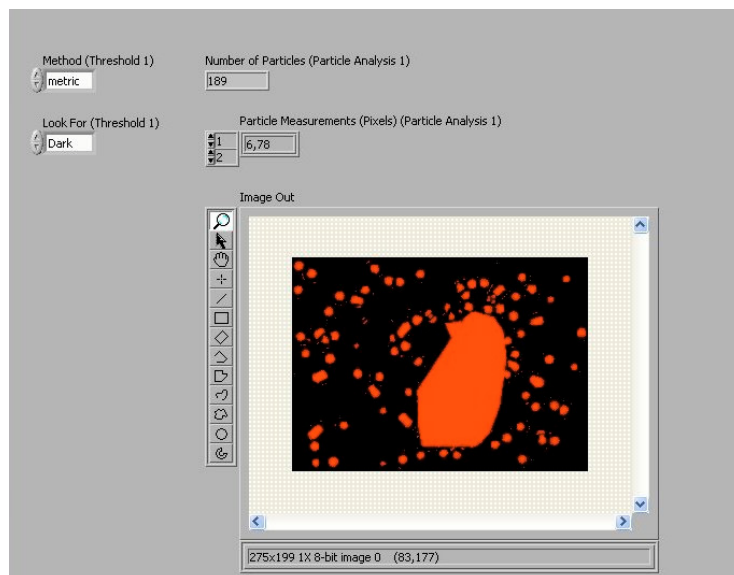
Opracowane przez autorów oprogramowanie ma następujące funkcje:

- Wstępna obróbka (filtrowanie) obrazu. Zostało zastosowane rozmycie oraz konwolucja. Rozmycie ma na celu wyeliminowanie lokalnych, przypadkowych zakłóceń, natomiast konwolucja wyodrębnia szczegóły obrazu, w szczególności krawędzie, co ułatwia binaryzację.
- Binaryzacja. Zasadniczym problemem jest w tym kroku wybór progu binaryzacji, co jest spowodowane różnicą jasności poszczególnych obrazów, jak również niejednorodną jasnością tła. Wybór ten może być dokonany ręcznie, przy jednoczesnej obserwacji wyniku tego procesu, jak również automatycznie przy zastosowaniu algorytmów korygujących lokalne zmiany luminancji tła.
- Przekształcenia morfologiczne. Są one dokonywane na obiektach uzyskanych w poprzednim kroku i mają one na celu przygotowanie tych obiektów do analizy statystycznej parametrów geometrycznych. Obejmują m.in. usunięcie obiektów znajdujących się na krawędzi obrazu, separację obiektów (zdarzają się obiekty połączone np. jednym pikselem), wypełnienie pustych miejsc („dziur”) w obiektach, eliminacja obiektów zbyt małych lub zbyt dużych.
- Analiza parametrów geometrycznych wyodrębnionych obiektów. Podstawowym parametrem jest pole powierzchni a pozostałe mają na celu uzyskanie danych na temat kształtu. Wyróżnić tu można stosunek długości osi głównych równoważnej elipsy oraz współczynnik kolistości, definiowany jako stosunek obwodu danego obiektu do obwodu koła o takiej samej powierzchni. Obiekty można filtrować pod kątem rozmiaru jak i kształtu.

Badanym materiałem był sok owocowy nieklarowny, sztucznie zanieczyszczony drożdżami piekarskimi. Próbka była barwiona błękitem metylenowym w celu podwyższenia kontrastu.

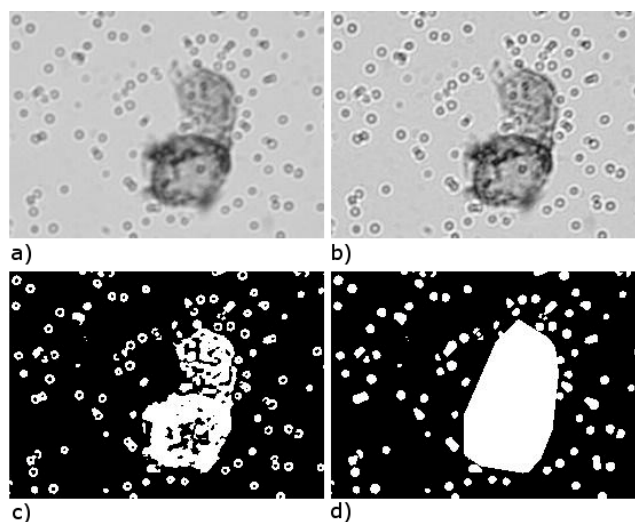
Opracowany system komputerowy umożliwia szacowanie stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego materiałów spożywczych, przy znanych parametrach geometrycznych szukanych obiektów oraz obiektów, które nie są poszukiwane (np. widoczne w obrazie mikroskopowym struktury organiczne – miąższ owocowy).

Widok panelu czołowego opracowanej aplikacji przedstawia rysunek 1.



Źródło: opracowanie własne autorów

Rys. 1. Widok części głównej panelu czołowego aplikacji
 Fig. 1. Screenshot of the main part of the application's front panel



Źródło: opracowanie własne autorów

Rys. 2. Obraz mikroskopowy po wybranych etapach: a) obraz źródłowy, b) po wypukleniu szczegółów, c) po binaryzacji, d) po wypełnieniu pustych przestrzeni w obiektach
 Fig. 2. Microscope image after selected steps: a) source image, b) after detail highlighting, c) after binarization, d) after convex hull filter

Podsumowanie

Wytworzona aplikacja umożliwia przeprowadzenie operacji umożliwiających oszacowanie liczby obiektów mikrobiologicznych widocznych w obrazie mikroskopowym. Jej zastosowanie umożliwia szybkie i wygodne przeprowadzenie badań dla dużej liczby próbek.

Podstawową trudnością w omawianym zastosowaniu jest różnorodność obiektów, które mogą znaleźć się na zdjęciu i ich wzajemne nakładanie się. Wykorzystane filtry mają za zadanie odseparowanie obiektów od siebie tak, by było możliwe jak najdokładniejsze ich wyodrębnienie.

Jak wspomniano wcześniej, jednym z kluczowych etapów obróbki obrazu jest binaryzacja. Od niej zależą wyniki kolejnych kroków. Binaryzacja na zbyt niskim poziomie spowoduje wyodrębnienie nieistotnych obiektów czy zakłóceń tła, natomiast za wysoki próg binaryzacji powoduje „gubienie” interesujących obiektów o niskiej luminancji. W celu poprawnego przeprowadzenia binaryzacji konieczne jest wykonanie dobrej jakości zdjęcia – o odpowiednich parametrach ekspozycji i maksymalnej ostrości. Niemniej ważne jest właściwe przygotowanie mikroskopu i próbki tak, aby tło obrazu miało jak najbardziej jednolitą luminancję, a obraz odpowiedni kontrast.

Błąd pomiaru w omawianej metodzie może polegać na niewłaściwym przypisaniu obiektowi parametrów geometrycznych. Wynika on z następujących faktów:

1. W procesie binaryzacji niektóre obiekty nakładają się na siebie. Podkreślenie szczegółów (filtr – konwolucja) ma za zadanie jak najlepsze ich odseparowanie. Często jednak zamiast dwóch obiektów po binaryzacji dostajemy jeden większy. Dlatego należy starannie przygotować próbkę do badań tak, aby grubość warstwy cieczy między szkiełkiem podstawkowym i nakrywkowym była możliwie mała. Jednocześnie należy używać dużych powiększeń obiektywu mikroskopu i odpowiedniego ustawienia przesłony aperturowej tak, aby obraz miał małą głębię ostrości, ale jednocześnie wystarczający kontrast.
2. W procesie binaryzacji pewne obiekty, na skutek znacznej zmiany luminancji na ich powierzchni, mogą zostać podzielone na dwa lub więcej mniejszych. W rezultacie otrzymujemy kilka małych obiektów zamiast jednego większego. Dlatego ważnym problemem jest barwienie preparatu zwiększające kontrast obiektów względem tła.
3. Na skutek omówionych powyżej błędów, kształt mylnie wyodrębnionych obiektów ulega zmianie (na przykład obiekt powstały błędnie z dwóch okrągłych zetkniętych ze sobą kół będzie miał kształt podłużny).
4. Binaryzacja powoduje też pewną zmianę w polu powierzchni wyróżnionych obiektów. Wynika to z faktu, że część obiektu widocznego na obrazie w skali szarości jest kwalifikowana jako tło.
5. Zbyt długi czas otwarcia migawki skutkuje powstaniem poruszonych obrazów obiektów podlegających błędziom przypadkowym. Utrudnia to lub nawet uniemożliwia prawidłowe ich rozpoznanie. Aby tego uniknąć należy ustawić maksymalny strumień świetlny oświetlacza mikroskopu oraz tak dobrać czułość matrycy aparatu, aby czas otwarcia migawki był krótki.

Bibliografia

- Aguilera J.M., Stanley D.W.** 1999. Microstructural principles of food processes and engineering. Springer-Verlag. ISBN 0-8342-1256-0.
- Du C.J., Sun D.W.** 2004. Recent developments in applications of image processing techniques for food quality evaluation. Trends Food Sci Technol, 15(5). s. 230-249.
- Tadeusiewicz R., Korochoła P.** 1997. Komputerowa analiza i przetwarzanie obrazów. Wydawnictwo Postępu Telekomunikacji. Kraków. ISBN 83-86476-15-X.

APPLICATION OF VIRTUAL INSTRUMENTS TO DETERMINE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION LEVEL OF LIQUID FOOD PRODUCTS

Abstract. The paper presents assessment of possibility to employ digital image analysis to determine contamination level of liquid food products with microbes. Output signal of a digital camera coupled with an optical microscope was digitally processed by an application written in LabView 8.5 graphical programming environment. In the tests, samples of fruit juice contaminated with microbes were used.

Key words: image analysis, microbiological contamination, virtual instruments

Adres do korespondencji:

Jacek Kapica; e-mail: jacek.kapica@up.lublin.pl
Katedra Podstaw Techniki
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Doświadczalna 50A
20-280 Lublin