

# 基于计算机视觉的蔬菜中活菌总数快速检测

殷涌光, 丁 筠<sup>\*</sup>

(吉林大学生物与农业工程学院, 长春 130025)

**摘 要:** 为了开发一种蔬菜中活菌总数的快速检测系统, 综合利用活体染色、计算机视觉、图像处理、人工神经网络等技术。采用亚甲基蓝作为活体染色剂来区分活菌和死菌, 用分辨率为 520 万像素的数字摄像机拍摄细菌内部的染色效果, 并确定了有效提取活菌图像的新算法。根据细菌的形态学特征选择偏心率、圆形度、矩形度等 8 个特征参数, 作为人工神经网络的输入向量来对细菌进行识别。该系统操作简单, 且每个样品的检测时间少于 40 min, 远远小于传统的平板计数法的 48 h。其检测结果与平板计数法检测结果的相关性为 0.9987, 且两者不存在显著性差异 ( $T$  检验,  $P>0.05$ )。因此该检测系统可以很好的适应农产品安全现场快速检测的要求。

**关键词:** 计算机视觉, 活菌总数, 人工神经网络, 数字图像处理, 快速检测

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2009.07.045

中图分类号: TP391.41, TP242.6<sup>+</sup>2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2009)-7-0249-06

殷涌光, 丁 筠. 基于计算机视觉的蔬菜中活菌总数快速检测[J]. 农业工程学报, 2009, 25(7): 249—254.

Yin Yongguang, Ding Yun. Rapid method for enumeration of total viable bacteria in vegetables based on computer vision[J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(7): 249—254. (in Chinese with English abstract)

## 0 引 言

自改革开放以来, 中国的农业生产发展迅速, 农产品的产量迅速增长, 既满足了国内市场的需求, 又有相当数量进入了国际市场。但近年来因微生物超标而造成产品不合格的现象屡见不鲜, 微生物超标已成为制约农产品、食品出口创汇的主要因素之一。

近年来, 在世界范围内由于食用受到细菌污染的蔬菜而引发的食物中毒事件越来越多, 使得蔬菜中微生物指标的检测越来越受到国内外的普遍重视<sup>[1]</sup>。蔬菜等农产品在种植、贮藏及销售过程中, 可能污染上由肥料、土壤、水源和动物甚至于人带有的某些致病菌。细菌总数常常作为一项重要的卫生指标来指示其产品受到污染的程度。然而, 采用国标方法对样品中的活菌总数进行培养计数<sup>[2]</sup>, 检测周期长 (培养 48 h), 检测成本较高 (消耗培养基), 准备过程复杂 (培养皿的洗涤及灭菌, 培养基的制备及保存), 很难适应最新提出的对农产品实行安全现场监测的要求, 尤其是对于新鲜的蔬菜、水果等即食和易腐食品来说, 过长的检测时间还会严重影响其销售及出口的品质。

目前国内外研究较多的快速检测方法有阻抗检测法<sup>[3-4]</sup>、放射测量法<sup>[5]</sup>、生物电化学方法<sup>[6-7]</sup>、微菌落法<sup>[8]</sup>、ATP 生物发光法<sup>[9-12]</sup>和快速测试片法<sup>[13-14]</sup>。这些方法与平板计数法相比, 在准确度和检测速度方面都有了较大的提高, 但仍分别存在一些问题<sup>[15]</sup>。阻抗法的检测时间在

几小时到十几小时之间, 且成本昂贵, 一般基层单位和中小型食品厂目前还不能采用。生物电化学检测方法一般用于液体样品的检测, 其检测时间与菌液的浓度相关, 仅适用于菌液浓度较高的检验样品。微菌落法至少需要 3~5 h 才能进行计数, 放射测量法需要 6~18 h, 而且操作繁琐。快速测试片法虽然简便、经济, 但检测时间上也至少需要 16~18 h。ATP 生物发光是近年来发展较快的一种快速检测方法, 也是目前检测时间最短的检测方法, 15 min 可完成检测。但用 ATP 生物发光确定细菌总数的准确程度依赖于从食品样品中细菌分离的效果和试验前将样品本身消毒的程度。因此, 此项技术对操作人员的要求较高, 给其应用及推广带来了一定的困难。

随着计算机成本的下降和运算速度的提高, 基于计算机视觉技术的农产品在线检测技术已得到了广泛的应用<sup>[16-21]</sup>。本文综合利用计算机视觉、图像处理和活体染色技术, 提出了一种快速检测活菌总数的新方法, 以期成为一种经济、快速, 适用于现场检测的实用方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置

自行研制的活菌总数计算机视觉快速检测系统如图 1 所示。该系统由普通生物显微镜 (XSP-8CA); 成都励扬精密仪器有限公司 HPCCD(5)型的彩色数字 HPCCD 摄像机 (有效像素为 520 万); 2 台海顿 4k-05-027 型步进电机及 2 个 DCM4010 型步进电机驱动器; 单片机 AT89S51 芯片及控制板; 及 1 台个人计算机组成。加上整套系统的外壳的制作费用, 初期购入费用约为 2 万元人民币。

2 台步进电机分别安装在载物台的 X 轴方向和 Y 轴方向, 用以推动载物台沿 X、Y 轴运动, 其运动的方式由单片机中的程序来控制。键盘的“上、下、左、右”键可

收稿日期: 2009-04-07 修订日期: 2009-06-12

作者简介: 殷涌光, 教授, 博士生导师, 研究方向为农产品食品保鲜理论与新技术及微生物快速检测。长春 吉林大学生物与农业工程学院, 130025

<sup>\*</sup>通信作者: 丁 筠, 博士研究生, 研究方向为农产品及食品中微生物快速检测。长春 吉林大学生物与农业工程学院, 130025。

Email: dingyun77@tom.com

以用来调整采集图片的起始位置,起始位置调整好后,按下“Enter 键”即可开始自动采集图片过程。在载物台运动过程中,计算机发送指令控制 HPCCD 数字摄像机对显微镜中的呈像进行拍照。在进行采集图片的同时,计算机对已拍摄的图片逐张进行图像处理及活菌的识别计数。活菌总数快速检测系统软件系在 Microsoft Windows 操作系统平台下应用 Visual C++ 6.0 软件编制而成,单片机程序系应用 Keil C 软件编制而成。由于本文必须采用高分辨率(有效像素至少要 520 万)的摄像机才能满足采像要求(拍摄出菌体内部的染色情况),为了降低成本,选用不带开发包的国产教学用彩色数字 HPCCD 摄像机,采用 C++ 语言自行开发 Direct show 接口来控制摄像机的图像实时监控及图像采集功能。

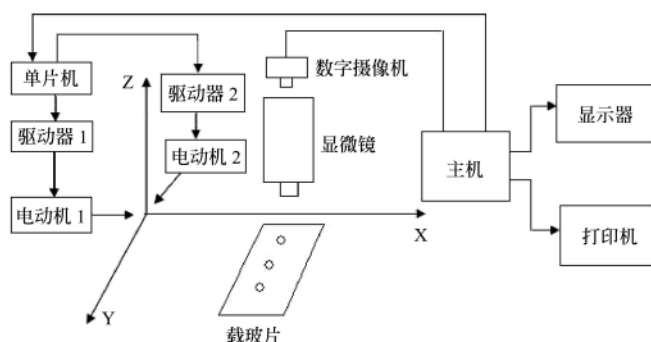


图1 活菌总数计算机视觉快速检测系统的硬件组成及连接方式

Fig.1 Hardware organization of the rapid automatic detection system for total viable bacteria based on computer vision

## 1.2 试验材料

营养琼脂培养基:称取牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g 依次放入烧杯中,加 1 000 mL 蒸馏水加热溶解;加琼脂 16 g 溶化搅拌均匀并用氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0~7.2,趁热过滤分装后在 121℃,0.1 MPa 下灭菌 20 min,46℃水浴保温待用。

亚甲基蓝活体染色液(0.25 g/L):称取亚甲基蓝 0.025 g,氯化钠 0.9 g,氯化钾 0.042 g,水合氯化钙 0.048 g,碳酸氢钠 0.02 g,葡萄糖 1 g 加入到 100 mL 蒸馏水中,混合溶解。

生理盐水:将 4.25 g 氯化钠溶于 500 mL 蒸馏水中,制成 0.85% 的生理盐水。

试验用检测样品主要来自当地农户及超市,其中包括生菜、小白菜、黄瓜等新鲜蔬菜和胡萝卜等脱水蔬菜。

## 1.3 样品前处理

这种快速检测方法的前处理过程与国标中的平板计数法的基本相同,对于固体样品都要将其粉碎后浸泡于无菌生理盐水中,然后对 1 mL 无菌生理盐水中的细菌数目进行检测。称取 25 g 蔬菜样品,加入到 175 mL 的灭菌生理盐水中,粉碎并进行充分搅拌得待检液。去除影响观察的大颗粒物质以利于显微镜镜检。由于绝大多数细菌的实际大小在 0.5~5 μm 之间,因此选择孔径为 10 μm 的滤膜过滤待检液。过滤后采用 50 mL 的无菌生理盐水冲洗剩余在滤膜上的物质得到待检液,取 1 mL 采用快速检测方法来计数。

## 1.4 染色和固定方法的确定

寻找能够有效区分活菌和死菌的染色方法和相应的计算机算法是该检测系统能否准确计数的关键。在分析化学中,亚甲基蓝常被用作氧化还原作用的指示剂。主要是因为其在氧化环境中,溶液呈蓝色,而遇到还原剂时,其溶液会变成无色。试验发现活菌细胞内存在活性酶,亚甲基蓝溶液进入活菌细胞内就会在活性酶的作用下被还原为无色,而死菌则不会将亚甲基蓝还原为无色,因此进入死菌细胞内的亚甲基蓝溶液仍然为蓝色。同时,亚甲基蓝是一种活体染色剂,它不会对菌体的生命活动及活性产生影响。因此,确定选用亚甲基蓝作为该方法的染色剂。同时为了能够拍摄出菌体内部的颜色,必须要选用有效像素大于 500 万,清晰度大于 1600 线的摄像机,普通的摄像机由于其采用插值法进行呈像,照片也可以放的很大,但是由于有效像素低,拍摄出来菌体均为实心,反映不出菌体内部的颜色变化。

加入 0.1 mL 的亚甲基蓝染液(0.25 g/L)到 0.1 mL 的上述待检液中(1:1),染色 2 min 后取出固定。由于普通的加热固定法,会使细菌细胞失去活性,因此采用风干法来固定。如图 2 所示为亚甲基蓝染色后采集的图片。活菌内部为无色,而死菌内部为蓝色。

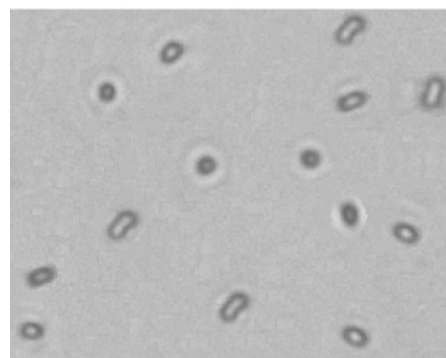


图2 细菌原始图片一部分

Fig.2 A part of the original bacterial image

## 1.5 平板计数法对照

采用传统方法——平板计数法来检验该方法计数的准确性。以无菌操作称取 25 g 样品置于盛有 225 mL 无菌生理盐水的灭菌玻璃瓶,粉碎并混合均匀,制成 1:10 的样品匀液。稀释样品匀液根据对样品污染情况的估计,用无菌生理盐水将样品匀液制成一系列 10 倍递增的样品稀释液,如  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  和  $10^{-4}$ ……。按照国标的平板菌落计数法<sup>[2]</sup>进行检测。

与平板计数法需要进行梯度稀释不同,该快速检测方法不需要进行梯度稀释,因为该仪器的检出上限能够达到  $1 \times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$  (每张图片的检出上限为 3000 cfu × 每次检测采集 345 张图片),大多数检测样品的细菌总数含量都在这个范围内,因此该方法可以有效避免因稀释而造成的检测误差。

## 2 图像处理与神经网络预测

图像识别程序由 C++ 语言完成,由以下 5 个步骤组

成：(1) 图像分割；(2) 消除噪声及目标提取；(3) 填充空心区域；(4) 特征参数提取；(5) 人工神经网络识别。

### 2.1 图像分割

图像分割是把图像分割成若干特定的、具有独特性质的区域并提取出感兴趣的区域的技术和过程。从该 HPCCD 数字摄像机获取的图像是由 R (红)、G (绿)、B (蓝) 分量表示的真彩色图像，因此首先要将其转化为灰度图像，选择灰度图像的最大灰度值和最小灰度值的平均值为初始阈值进行迭代阈值分割，从而得到二值图像 (图 3)。从图 3 可以看出分割后死菌呈实心连通区域，而活菌呈空心连通区域，且产生的噪声较少。

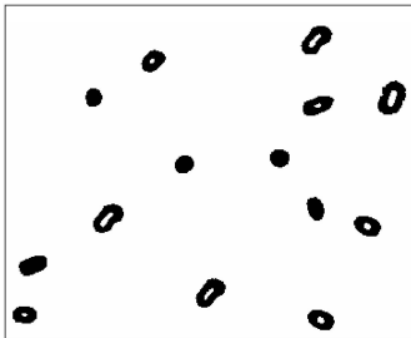


图 3 分割效果图

Fig.3 Segmentation effect image

### 2.2 消除噪声及目标提取

在分割处理后，图像有时会产生杂散的噪声点。由于绝大多数细菌的实际尺寸均在  $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$  之间，因此可以采用小区域消除法和大区域消除法消去黑色连通区域面积过大或者过小的物体。细菌图像经检测系统放大后，采集到的图片上的细菌大小应该在  $1.25 \sim 12.5 \text{ mm}$  之间。因此可以去除黑色连通区域的面积大于  $\pi \times 12.5 \times 12.5 \text{ mm}^2$  或小于  $\pi \times 1.25 \times 1.25 \text{ mm}^2$  的杂质颗粒，以提高下面步骤的计算速度。

通过检测空心来去除死菌影响。对连通区域进行标记，找出被标记的连通区域的  $X$  轴， $Y$  轴坐标的最大值  $X_{\max}$ ， $Y_{\max}$  和最小值  $X_{\min}$ ， $Y_{\min}$ ，通过公式  $(\frac{X_{\max} - X_{\min}}{2}, \frac{Y_{\max} - Y_{\min}}{2})$  计算出中心点坐标，通过中心坐标及其周围 8 点的像素值之和来判断该连通区域是否为空心。若这 9 点的像素值之和不为 0，说明该连通区域中心 9 点至少存在一个白点，认为该连通区域是空心的，反之为实心区域。将实心区域的像素值全部置为 255 (白色)，消除实心区域，去除死菌影响，消除结果如图 4 所示。

### 2.3 填充空心区域

为了准确提取圆形度等特征参数，首先要将空心进行填充。填充空心区域采用的方法是对二值化后的图像按照从左至右，从上至下的方法进行扫描，直到寻找到第 1 个目标点 (像素值为 0)。以找到的目标点为起始点进行轮廓跟踪，仍采用“向右看”准则顺时针跟踪。当

跟踪回到起始点，且链码方向与起始点链码方向一致时，跟踪结束。为防止重复跟踪及程序陷入死循环，把跟踪后的区域都填充为灰色 (像素值为 128)，即完成单个细胞的孔洞填充。当整幅图像扫描结束，把所有填充为灰色的区域都填充为黑色 (像素值为 0)，这样就完成了整幅图像的孔洞填充，且仍保持背景为白色，目标为黑色。图 5 为填充后的图像。

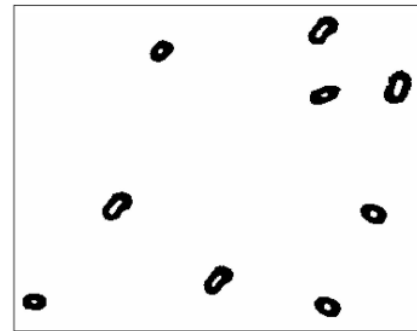


图 4 实心连通区域的消除结果

Fig.4 Eliminated results of the solid connected regions

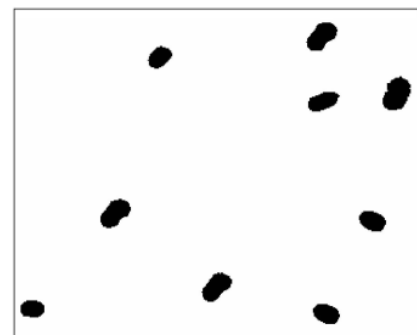


图 5 空心区域的填充效果图像

Fig.5 Filled effect image of the hollow centre connected regions

### 2.4 特征参数提取

根据细菌的形态学特征，选择面积、周长、圆形度、偏心率、矩形度、最小外接矩形长度、最小外接矩形宽度和最小外接矩形面积 8 个形态特征参数，来描述细菌的形貌特征。对以上 8 个特征参数的描述如表 1 所示。通过对所提取的图像进行分析，在提取大量菌体细胞的形态特征参数的同时，还找出了大量非细菌个体并进行了形态学的测量，以便去除干扰。采用基于像素点的测量技术，提取连通区域的上述 8 个形态特征参数，部分菌体和非菌体的特征提取结果如表 2 所示。

### 2.5 人工神经网络识别

误差反向传播的多层前向网络能够实现复杂的高度非线性映射，适宜于复杂类模式的分类，故被选作本系统的网络结构。采用 BP 神经网络的网络参数为：学习速率  $\eta$  为 0.01，动量参数  $\alpha$  为 0.9，期望误差小于 0.01。隐层函数采用对数 sigmoid 函数，输出层传递函数采用线形传递函数。网络分 3 层，以提取的 8 个特征参数为输入层的神经元。输出层包含 1 个神经元，其中细菌的导师信号是 1，非细菌的导师信号为 0。为使考虑问题不太复杂，只选 1 个隐含层，设定不同的隐含层神经元数对神经网络

表 1 细菌的形态特征参数  
Table 1 Eigenvalue of the bacteria shape

特征参数	描 述
面积 (像素 <sup>2</sup> )	物体总尺寸的一个方便的度量, 为边界内部 (也包括边界上) 像素数目
周长 (像素)	边界点数之和
圆形度	描绘一个区域与圆形接近的程度, $4 \times \pi \times \text{面积} / \text{周长}^2$
长 (像素)	最小外接矩形长度
宽 (像素)	最小外接矩形宽度
偏心率	反应目标外形关于区域中心的对称程度, 长/宽
矩形面积 (像素 <sup>2</sup> )	最小外接矩形面积, 长 $\times$ 宽
矩形度	反映物体对其外接矩形的充满程度, 面积/矩形面积

表 2 部分菌体和非菌体的特征参数提取结果  
Table 2 A part of feature parameters of some bacteria and non-bacteria

标记	面积	周长	圆形度	长	宽	偏心率	矩形面积	矩形度	导师信号
1	167	46	0.9917	17	15	1.1333	255	0.6549	1
2	120	39	0.9914	13	12	1.0833	156	0.7692	1
3	326	65	0.9696	28	16	1.7500	448	0.7277	1
4	399	73	0.9409	27	19	1.4211	513	0.7778	1
5	264	59	0.9530	26	13	2.0000	338	0.7811	1
6	160	45	0.9928	16	15	1.0667	240	0.6667	1
7	133	41	0.9942	14	13	1.0769	182	0.7308	1
8	377	70	0.9668	28	17	1.6471	476	0.7920	1
9	403	74	0.9248	31	26	1.1923	806	0.5000	0
10	392	75	0.8757	34	13	2.6154	442	0.8869	0
11	322	67	0.9014	30	12	2.5000	360	0.8944	0
12	156	47	0.8874	19	14	1.3571	266	0.5865	0
13	133	43	0.9039	17	13	1.3077	221	0.6018	0

注: 菌体的导师信号为 1; 非菌体的导师信号为 0。

络进行测试。如表 3 所示, 隐含层的单元数为 12 比较合适, 不仅收敛速度快, 而且预测误差小。表 3 是不同结构的人工神经网络的训练次数和经训练样本的学习率及训练后对 50 个测试样本的均方根误差 (RMSE)。RMSE 值越小, 网络预测的准确度越高。

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \Delta k_A^2}{N}} \quad (1)$$

式中:  $\Delta k_A = |k_P - k_D|$ ,  $k_P$ ——网络预测输出值,  $k_D$ ——真实值 (0 或 1),  $N$ ——测试样本个数。

表 3 BP 神经网络的训练及判别精度  
Table 3 Accuracy of identification and training for BP neural network

隐含层数	隐含层神经元数	学习次数	样本学习率	RMSE
1	3	8 763	0.01	0.01975
1	6	7 655	0.01	0.01766
1	9	4 331	0.01	0.01691
1	12	3 106	0.01	0.01688
1	15	5 006	0.01	0.01706
1	18	2 600	0.01	0.01761
1	21	3 960	0.01	0.01703

由表 3 可见隐含层结构越大, 训练速度越快, 但预测精度并未显著提高, 而隐含层神经元越多, 实际上运算次数越多。因而结构为 8-12-1 的网络可选为进行细菌识别的网络结构, 因为此网络结构较小, 准确度高, 计算机运行次数较少。

3 对比试验分析

3.1 相关性分析

选取 75 个不同的蔬菜样品作为对比试验的检验样品, 其中包括生菜、小白菜、黄瓜等新鲜蔬菜和胡萝卜等脱水蔬菜。分别采用该快速检测方法和平板计数法进行检测。对 2 组检测结果进行相关性分析, 分析结果如图 6 所示。由于采集的数据绝对值相差较大, 因此 X 轴的刻度范围也较大, 使得较小的数据集中到一起看不清楚, 右下角小图的刻度范围为 0~500, 可以清晰地展示绝对值较小的检测结果。

由图 6 可以看出, 使用两种方法的检测结果的相关性为 0.9987, 说明快速检测系统检测结果与平板计数法检测结果相关性较好。但常规法需要 48 h, 而快速检测法最多只需要 40 min 即可完成。

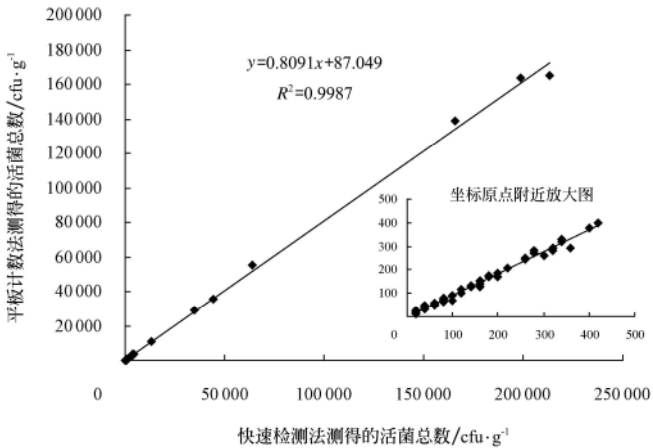


图 6 快速检测方法与平板计数法计数结果比较

Fig.6 Correlation of total viable bacteria counts determined by Aerobic Plate Count(APC) and the rapid detection method

同时如图 6 所示, 该快速法检测结果略高于平板法, 对所有的 75 组数据的快速法结果高出平板法结果的平均值进行计算, 计算公式为  $\frac{1}{75} \sum_{i=1}^{75} \frac{X_{1i} - X_{2i}}{X_{2i}}$ , 其中  $X_1$  为快速法结果,  $X_2$  为平板法结果。结果表明, 快速法比平板法平均高出 12.08% 的活菌总数, 即快速法结果  $\approx 1.1208 \times$  平板法结果。这是因为, 细菌总数 (Total bacteria, TB) = 可培养的细菌 (Cultivable bacteria, CB) + 有活性但不可培养的细菌 (Viable but not cultivable bacteria, VBNC) [22], 传统的平板计数法计数结果是通过 48 h 的培养得到的, 为可培养的细菌数 (CB); 而采用该快速法计数, 计算的是有活性的菌体个数 (TB), 不可培养但有活性的 (VBNC) 细菌也会被亚甲基蓝染色和识别, 系统会对其计数, 因此检测结果略高于平板法。

从实际应用角度来看，这种略高于平板计数法的结果不会影响其应用范围，因为该系统不会将不合格产品误判为合格产品，这在微生物检测中是最为重要的。反而会有利于提醒生产者在产品快要接近不合格时提高警

惕，尽快采取措施，遏制进一步的污染。

3.2 独立样本 *T* 检验

采用 SPSS 13.0 软件对上述 2 组数据进行独立样本 *T* 检验，分析结果如表 4 所示。

表 4 独立样本 *T* 检验  
Table 4 *T* test for Independent samples

		方差相等之 Levene 检验		均数相等 <i>T</i> 检验						
		<i>F</i> 值	概率 <i>P</i>	<i>t</i> 值	自由度	双侧概率 <i>P'</i>	均数之差	标准误差	均数之 95%可信区间	
									下限	上限
活菌总数 /cfu · g <sup>-1</sup>	假定方差相等	0.402	0.527	0.324	148	0.747	1872.720	5784.348	-9557.859	13303.299
	假定方差不等			0.324	142	0.747	1872.720	5784.348	-9561.942	13307.382

由表 4 得 Levene 方差齐性检验  $F=0.402$ ,  $P=0.527>0.05$ , 认为两样本方差相等；因此，进行方差齐性时的 *T* 检验，得  $t=0.324$ , 自由度  $df=148$ , 双侧概率  $P'=0.747>0.05$ , 说明用 2 种方法的检测结果的平均数不存在显著差异，即认为该快速检测方法是可行的。

4 结 论

1) 自行研制了一套蔬菜中活菌总数快速检测装置，确定采用亚甲基蓝作为活体染色剂来区分活菌和死菌，针对活菌与死菌的不同染色效果，确定了有效识别活菌体的计算机算法。经过迭代阈值分割将图像二值化，使得活菌体呈空心连通区域而死菌体呈实心连通区域；运用大、小区域消除法消除噪声；通过判断单个连通区域的中心点及其周围 8 点的像素值来去除死菌细胞的影响。根据细菌的形态学特征选择的 8 个特征参数，作为人工神经网络的输入向量来识别细菌细胞。整套活菌总数快速检测系统软件系在 Visual C++ 6.0 开发平台下编制，并使用该平台自行开发了 Direct show 接口来控制国产教学用 HPCCD 数字摄像机进行实时显示图像及随时捕捉图像。

2) 该快速检测方法检测结果准确，与传统的平板计数法的检测结果比较，其相关性高 ( $R^2 = 0.9987$ )；检测结果不存在显著差异 (*T* 检验,  $P>0.05$ )；检测时间短，平均一个样品的检测时间在 40 min 以内，远远少于传统平板计数法的 48 h，可以很好地适应最新提出的对农产品实行安全现场监测的要求，将其应用于新鲜蔬菜、水果等保鲜时间短的农产品的活菌总数检测中有着很好的前景。

3) 该检测方法具有快速、简便、自动、经济的优点。该方法的消耗品为亚甲基蓝染色液，且用量少，按照每 500 g 的市场售价为 150 元来计算，检测一个样品耗费  $7.5\times10^{-5}$  元，远远少于传统方法消耗培养基的费用及上述几种快速检测方法的检测费用。此外，该设备操作简单，对检测人员的知识水平要求低，只需其填入相关的产品号等检测信息后系统即可自动完成检测，打印检测报表，整个过程可在 40 min 内完成。

[参 考 文 献]

[1] Anonymous. Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw[R]. Brussels: Scientific Committee on Food, 2002.

[2] 中华人民共和国国家标准. 细菌总数测定 GB/T 4789.2-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[3] Yang Liju, Ruan Chuanmin, Li Yanbin. Detection of viable *Salmonella typhimurium* by impedance measurement of electrode capacitance and medium resistance[J]. Biosens Bioelectron, 2003, 19(5): 495—502.

[4] 王少林. 电阻抗法检测食品细菌总数[J]. 吉林粮食高等专科学校学报, 2002, 17(3): 13—18.  
Wang Shaolin. Determine the sum total of foodstuff bacteria by electric resistance method [J]. Journal of Jilin Gain College, 2002, 17(3): 13—18. (in Chinese with English abstract)

[5] 陈维斌, 宋玉清. 农产品微生物快速检测方法的研究[J]. 杂粮作物, 2001, 21(4): 45—46.

[6] 胡珂文, 王剑平, 盖铃, 等. 电化学方法在微生物快速检测中的应用[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 526—530.  
Hu Kewen, Wang Jianping, Gai Ling, et al. Electrochemical methods for detection of microbial population[J]. Food Science, 2007, 28(12): 526—530. (in Chinese with English abstract)

[7] Berrettoni M, Tonelli D, Conti P. Electrochemical sensor for indirect detection of bacterial population[J]. Sens Actuators, 2004, 102(2): 331—335.

[8] 刘玉娥, 高桂华, 陶墨奎, 等. 微菌落法快速定量检测食品中细菌总数[J]. 解放军预防医学杂志, 2007, 25(6): 406—408.  
Liu Yue, Gao Guihua, Tao Mokui, et al. Rapid detection of total bacteria count in food by microcolony technique[J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2007, 25(6): 406—408. (in Chinese with English abstract)

[9] 伍季, 王燕, 章建军, 等. ATP 生物发光法快速检测啤酒中的菌落总数[J]. 河南科技, 2006, 24(1): 63—65.  
Wu Ji, Wang Yan, Zhang Jianjun, et al. In ATP bioluminescence law fast examination the colony total of beer [J]. Henan Science, 2006, 24(1): 63—65. (in Chinese with English abstract)

[10] Cutter C N, Dorsa G, Siragusa R. A rapid microbial ATP bioluminescence assay for meat carcasses[J]. Dairy Food Sanit, 1996, 16(11): 726— 736.

- [11] Griffiths M W. The role of ATP bioluminescence in the food industry: new light on old problems[J]. Food Technology, 1996, 50(6): 62—71.
- [12] Deininger R A, Jyoung L J. Rapid detection of bacteria in water[C]. Proceedings of SPIE, 2002, 47(22): 21—25.
- [13] 吴清平, 孙永, 蔡芷荷, 等. 快速测试片在食品微生物检测中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(5): 635—637.
- [14] 林彩华, 许如苏, 曾梅锦, 等. SN 标准和 3MPetrifilm 法检测水产品卫生指标菌的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(10): 1218—1219.
- [15] 李铁牛, 蒋作明, 廖洪波. 细菌总数快速检测研究进展[J]. 粮油食品科技, 2003, 11(3): 31—32.  
Li Tieniu, Jiang Zuoming, Liao Hongbo. Development of methods for rapid determination of total bacteria[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2003, 11(3): 31—32. (in Chinese with English abstract)
- [16] 杨飞, 祝诗平, 邱青苗. 基于计算机视觉的花椒外观品质检测及其 MATLAB 实现[J]. 农业工程学报, 2008, 24(1): 198—202.  
Yang Fei, Zhu Shiping, Qiu Qingmiao. Prickly ash appearance quality detection based on computer vision and its implementation in MATLAB[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(1): 198—202. (in Chinese with English abstract)
- [17] 蔡健荣, 周小军, 李玉良, 等. 基于机器视觉自然场景下成熟柑橘识别[J]. 农业工程学报, 2008, 24(1): 175—178.  
Cai Jianrong, Zhou Xiaojun, Li Yuliang, et al. Recognition of mature oranges in natural scene based on machine vision[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(1): 175—178. (in Chinese with English abstract)
- [18] Vargas A, Kim M, Tao Y, et al. Detection of fecal contamination on cantaloupes using hyperspectral fluorescence imagery[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(8): 471—476.
- [19] Kim M S, Lefcourt A M, Chen Y R, et al. Automated detection of fecal contamination of apples based on multispectral fluorescence image fusion[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 71(1): 85—91.
- [20] Qing Z S, Ji B P, Zude M. Predicting soluble solid content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 82(1): 58—67.
- [21] Wu Di, Yang Haiqing, Chen Xiaojing, et al. Application of image texture for the sorting of tea categories using multi-spectral imaging technique and support vector machine[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 88(4): 474—483.
- [22] Lighthart B, Tong Y. Measurements of total and culturable bacteria in the alfresco atmosphere using a wet-cyclone sampler[J]. Aerobiologia, 1998, 14(4): 325—332.

## Rapid method for enumeration of total viable bacteria in vegetables based on computer vision

Yin Yongguang, Ding Yun<sup>\*</sup>

(College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130025, China)

**Abstract:** In order to develop an automatic and rapid detection system for enumeration of total viable bacteria in vegetables, viable staining technology, computer vision, image processing and artificial neural network were used. The methylene blue was used as a vital stain agent to distinguish the viable bacteria from the non-viable bacteria, and the CCD digital camera with 5 200 000 pixels was used to capture the staining effect within the bacteria. Moreover, a new algorithm which could extract the viable bacterial images successfully was determined. According to the bacterial shape features, eight feature parameters (eccentricity, circularity, rectangle degree, et al.) were selected to be the input vectors of the artificial neural network in order to identify the bacteria. The proposed detection system was easy to operate. By using this rapid detection system, total viable bacteria counts in samples could be accurately enumerated within 40 min, which was much less than 48 h by using the traditional aerobic plate count method. Moreover, comparisons of detective results of total bacteria counts by rapid automatic detection system and aerobic plate count method were made, they were closely correlated ( $R^2=0.9987$ ). And the  $T$  test results also showed that there was no significant difference ( $P>0.05$ ) between these two detection results. Therefore, the rapid detection system will greatly adapt to the requests of on-site rapid detection technique for the safety of agricultural products.

**Key words:** computer vision, total viable bacteria, artificial neural networks, digital image processing, rapid detection