

文章编号:1002-2082(2017)06-0979-06

基于对焦深度法的光学显微镜系统设计

陈健^{1,2}, 王灵阳³, 陈德全², 张茂林²

(1. 福建工程学院 福建省数字化装备重点实验室, 福建 福州 350118;

2. 福建工程学院 信息科学与工程学院, 福建 福州 350118;

3. 福建工程学院 海峡工学院, 福建 福州 350118)

摘要:针对传统显微镜采用手工对焦方式存在自动化程度低、对焦过程较慢且对操作者经验要求高的问题,提出一套基于对焦深度法的光学显微镜系统。结合基于图像处理自动对焦的显微镜通用结构,设计了一套由 ARM 开发板、触控液晶显示屏、Arduino UNO 开发板、红外对管、工业数码显微镜及步进电机等组成的光学显微镜系统。结合触控液晶显示屏的特点,设计出结合不同大小的感兴趣区域对焦窗口选择方法,并在采用常见梯度函数作为图像清晰度评价函数及爬山搜索算法的基础上,提出容错改进方法。实验分别对不同的图像清晰度评价函数及对焦窗口大小进行了实时性、灵敏度及容错性能测试。结果表明,该系统具有较高的可靠性。

关键词:显微镜;对焦深度法;ARM 开发板;自动对焦

中图分类号: TN202; TP391

文献标志码: A

doi: 10.5768/JAO201738.0605003

Design of microscope system based on depth from focus

Chen Jian^{1,2}, Wang Lingyang³, Chen Dequan², Zhang Maolin²

(1. Fujian Provincial Key Laboratory of Digital Equipment, Fujian University

of Technology, Fuzhou 350118, China; 2. School of Information Science and Engineering,

Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China; 3. Straits College of Engineering,

Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China)

Abstract: According to the problems of low degree of automation, slow process of focusing and high requirement of operator experience caused by traditional manual focusing microscope, a new optical microscope system based on depth from focus was proposed. Firstly, according to the general microscope structure with auto-focusing based on image processing, a set of microscope system was designed, constituted of ARM development board, touch-sensitive LCD, Arduino UNO development board, infrared tube, industrial digital microscope and stepping motor, etc. Then, a focusing window selection method combining regions of interest with different sizes was proposed based on the characteristics of touch-sensitive LCD screen. And an improved method with fault tolerant was put forward based on the mountain climb searching algorithm and the common gradient function as the image definition evaluation function. Furthermore, the real-time, sensitivity and fault-tolerant performance for different image definition evaluation functions and sizes for selection window were tested in the experiment. The results show that the system has high reliability.

Key words: microscope; depth from focus; ARM development board; auto-focusing

收稿日期: 2017-05-22; **修回日期:** 2017-06-26

基金项目: 福建省数控装备技术重大研发平台(2014H2002); 福建省教育厅科技项目(JK2015031); 福建工程学院科研项目(GY-Z160038)

作者简介: 陈健(1981—), 男, 福建古田人, 博士, 副教授, 主要从事图像处理研究工作。E-mail: jchen321@126.com

引言

光学显微镜作为一种结构精密的光学仪器,已有数百年的发展史。随着计算机技术及自动控制技术的快速发展,针对传统显微镜采用手工操作方式存在自动化程度低、对焦过程较慢且对操作者经验要求高的问题,许多学者提出采用不同原理实现自动对焦的光学显微镜系统^[1-5],主要包括测距法与基于图像处理的方法。其中,基于图像处理的自动对焦技术又分为离焦深度法(depth from defocus, DFD)与对焦深度法(depth from focus, DFF)^[3,6]。针对基于图像处理的自动对焦技术在光学显微镜中的应用问题,商艳芝等^[2]提出一种快速离焦深度计算方法;周丽平等^[3]通过组合频域函数离散小波变换和时域函数 Sobel-Tenengrad 算子形成一种新型自动对焦评价函数,并将自组织映射算法和粒子群优化算法有机结合起来形成 SOM-PSO 算法作为自动对焦控制策略;彭国晋等^[1]则基于对焦深度法,提出一种根据内容像素变化量选择对焦窗口的方法;汪宋良^[7]结合实际应用和现有的图像处理算法,提出了适合数字显微图像的图像预处理自动对焦算法,在灰度差分绝对值之和函数的基础上增加了对周围点的判断,提高了算法的精确度。

本文在分析现有基于图像处理自动对焦光学显微镜系统通用结构的基础上,以基于图像处理自动对焦的光学显微镜为研究对象,设计出一套基于对焦深度法的光学显微镜系统,并对系统中对焦窗口、图像清晰度评价函数与搜索算法的选择及容错方法的提出进行详细说明。

1 系统硬件结构

本系统采用的硬件结构如图 1 所示。光学显微镜系统采用固定载物台,通过步进电机驱动显微镜镜头上的变焦环转动,实现变焦过程,达到自动对焦效果。系统主要由上位机控制与显示模块、视频采集模块以及下位机控制模块组成。

1) 上位机控制与显示模块

上位机控制与显示模块由 ARM 开发板及液晶显示屏组成,主要实现以下几个功能:对视频数据的显示、处理;在进行自动对焦前,发送命令实现系统的初始化;结合图像处理结果发送步进电机的控制命令;读取限位信号控制电机反向移动。

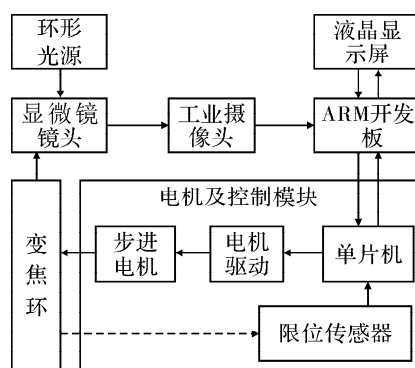


图 1 光学显微镜系统硬件框图

Fig. 1 Hardware block diagram of optical microscope system

该模块 ARM 开发板采用 Cortex-A9 处理器,液晶显示屏具有触控功能,可在液晶显示屏上实现自动对焦、手动对焦及对焦窗口选择等操作。其中,基于图像处理的自动对焦采用的是对焦深度法。

2) 视频采集模块

视频采集模块由显微镜镜头、变焦环、工业摄像头及外置环形光源组成,实现了对视频数据的采集。其中,变焦环安装于显微镜镜头上,实现对镜头的变焦控制,外置环形光源则保证光学显微镜系统拥有稳定的光照条件。工业摄像头具有 500 万像素,并通过 USB 接口将数据传输至 ARM 开发板,显微镜镜头具有 300 倍可调放大倍率。

3) 下位机控制系统

下位机控制模块由 Arduino UNO 开发板^[8]、红外对管构成的限位传感器、电机驱动器及步进电机组成。Arduino UNO 开发板通过 USB 接口与 ARM 开发板进行串口通信,实现上位机与下位机采集数据与控制命令的传输,并通过自行研制的转接板实现与电机驱动及红外对管的连接。其中,红外对管采集变焦环的到位信息。系统设计中,电机驱动器采用 A4988 模块、电机采用 28 步进电机。

2 基于容错方法的对焦深度法

2.1 系统自动对焦流程

本系统基于图像处理的自动对焦过程采用对焦深度法,对焦深度法主要包括对焦窗口选择、图像清晰度评价计算及搜索算法。系统上位机自动对焦流程如图 2 所示。

本系统采用 ARM 开发板实现对图像的处理,系统中采用基于 Video4linux2 (V4l2) 的视频采集

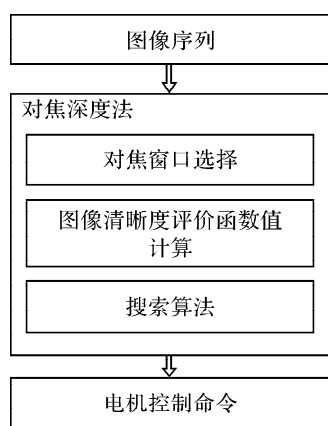


图2 上位机自动对焦过程流程图

Fig. 2 Flow chart of auto-focusing process for upper computer

设备驱动程序。程序将采集到的视频制式设置为PAL,即采集视频编码方式为YUV(YCrCb),并把YUV转为常见RGB格式彩色图像以及灰度图像,方便后续实现图像的显示及处理。

在本系统中,对焦深度法的对焦窗口选择在系统初始化前设定,后续图像帧清晰度评价函数值都以第一帧得到的对焦窗口为基准进行计算,搜索算法则实现极值的判断,从而保证最终图像的清晰度。

结合搜索算法的结果,上位机将发送电机控制命令使电机控制对焦环左右移动,实现镜头的上下移动。需要说明的是,上位机也会根据下位机传输而来的限位命令发送反向移动的电机控制命令。上位机程序详细流程及协议格式见文献[9]。

2.2 对焦深度法

对焦深度法中各部分算法的选择将直接影响显微镜自动对焦的效果,如对焦窗口选择过大可能导致计算量偏大,影响实时性,图像清晰度评价函数将影响对焦曲线的灵敏度,而搜索算法的选择将影响最终图像的清晰度。下面对本系统采用的主要方法进行说明。

1) 对焦窗口

由于本系统采用具有触控功能的液晶显示屏,因此,在设计对焦窗口时,利用了显示屏的触控功能,在选择窗口大小 $N \times N$ 的前提下,可通过点击显示屏上图像序列的感兴趣区域设置中心点,则以该点为中心的 $N \times N$ 的范围即对焦窗口。程序中共设计了60像素 $\times$ 60像素、100像素 $\times$ 100像素、140像素 $\times$ 140像素及整幅图像4种窗口

大小。

2) 图像清晰度评价函数

常见的图像清晰度评价函数包括梯度函数、频谱函数和熵函数3大类,本系统引入了梯度函数中常见的3种方法,如下所示^[10]。

a) Roberts 梯度和函数

Roberts 梯度和函数为图像 2×2 矩阵中对角线上像素灰度值相减取绝对值并求和。其函数如(1)式所示:

$$F = \sum_{x=1}^{M-1} \sum_{y=1}^{N-1} (|g(x,y) - g(x+1,y+1)| + |g(x+1,y) - g(x,y+1)|) \quad (1)$$

式中: F 表示最终的图像清晰度评价函数值; $g(x,y)$ 为图像中坐标为 x,y 点对应的像素灰度值; M 与 N 表示图像的行数与列数,下同。

b) 梯度向量平方函数

梯度向量平方函数分别求取 x 方向和 y 方向相邻2个像素的灰度值差值,并求平方和。其函数如(2)式所示:

$$F = \sum_{x=1}^{M-1} \sum_{y=1}^{N-1} ([g(x+1,y) - g(x,y)]^2 + [g(x,y+1) - g(x,y)]^2) \quad (2)$$

c) 梯度向量模方函数

梯度向量模方函数则在梯度向量平方函数的基础上,加入了开方运算。其函数如(3)式所示:

$$F = \sum_{x=1}^{M-1} \sum_{y=1}^{N-1} ([g(x+1,y) - g(x,y)]^2 + [g(x,y+1) - g(x,y)]^2)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

3) 爬山搜索算法

搜索算法采用爬山搜索算法^[11]。爬山搜索算法的流程如下:先初始化镜头的位置,并设置一个比较大的步长,每走完一步就比较当前图像清晰度评价函数值与上一步函数值的大小,当越过极值时,则改变方向并减小步长开始第二轮查找,以此类推,经过几轮后即可比较准确地找到评价函数曲线图上的极值,完成自动对焦。爬山搜索算法如图3所示。

4) 容错方法

实验中发现:针对部分测试对象,远离正焦点的区域,图像清晰度评价函数值会出现波动,并不呈现单调性,影响最终的对焦效果。针对此问题,提出基于上述图像清晰度评价函数与爬山搜索算法的容错方法,步骤如下:

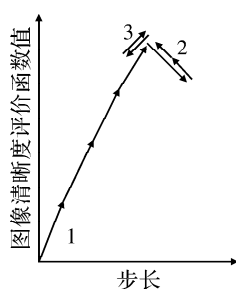


图3 爬山搜索算法

Fig. 3 Mountain climb searching algorithm

a) 对图像清晰度评价函数值取均值,如(4)式所示:

$$F_m = \frac{F}{M \times N} \quad (4)$$

式中 F_m 表示图像清晰度评价函数值的均值。

b) 引入容错阈值,进行前后帧图像清晰度评价函数值差值大小的判断,进而确定镜头移动方向,如(5)式所示:

$$D = \begin{cases} 0, & F_{m2} < F_{m1} \text{ and } |F_{m1} - F_{m2}| > T \\ 1, & F_{m2} < F_{m1} \text{ and } |F_{m1} - F_{m2}| \leq T \\ 1, & F_{m2} > F_{m1} \end{cases} \quad (5)$$

式中: F_{m1} 与 F_{m2} 分别表示前一帧与当前帧的图像清晰度评价函数值; D 表示镜头移动方向,其中 0 表示向反方向移动,1 表示沿着当前方向移动; T 为容错阈值。

容错方法中,将清晰度评价函数值取平均值是为了方便图像清晰度评价函数值的比较,使前后帧图像清晰度评价函数值较为接近,从而方便阈值的设定。从(5)式中可知,镜头移动方向判断分为 3 种情况:1) 当前帧图像清晰度评价函数值小于前一帧图像清晰度评价函数值且两帧图像清晰度评价函数值差值的绝对值大于设定阈值时,则认为已经越过极值区域,镜头向反方向移动;2) 当前帧图像清晰度评价函数值小于前一帧,但二值差值绝对值小于阈值时,认为是波动区域,还未到达极值区域,沿着当前方向移动;3) 当前帧清晰度评价函数值大于前一帧时,认为还未到达极值,沿着当前方向移动。

3 实验分析

3.1 系统及对焦测试

光学显微镜系统实物及交互界面分别如图 4、图 5 所示。系统采用的 ARM 开发板为 4 核 1.2G Cortex A9 处理器。系统交互界面功能包括窗口

大小选择,图像清晰度评价函数选择、自动对焦与手动操作功能,同时可以显示感兴趣区域的中心位置坐标及每帧图像的清晰度评价函数值,并且可以保存最终的清晰图像。

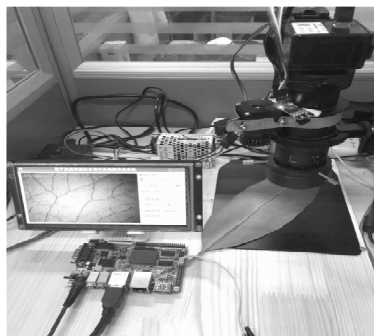


图4 光学显微镜系统

Fig. 4 Optical microscope system



图5 系统交互界面

Fig. 5 Interactive interface of system

图 6 为测试中用于自动对焦测试的实物图像及对焦过程获取的离/正焦图像,其中图像清晰度评价函数采用 Roberts 梯度和函数,对焦窗口大小采用 100 像素×100 像素。图中可以发现,本系统可以较好地实现对焦过程。此外,通过对爬山搜索算法中步数及步长的调整,选取不同的图像清晰度评价函数及对焦窗口都有助于进一步提升自动对焦的性能。

3.2 性能测试

以下分别针对实时性和灵敏度进行测试。表 1 为采用不同图像清晰度评价函数与对焦窗口大小情况下得到的处理时间。显然,窗口越小,则处理时间越短。可以发现,本系统选择的 3 种梯度函数中,Roberts 梯度和函数运行时间最短,实时性最好。

图 7 为分别采用 3 种不同图像清晰度评价函数,并且采用 100 像素×100 像素对焦窗口情况下得到的 2 组对焦曲线,该曲线仅采用爬山搜索算法中的第 1 轮数据得到,图中可以发现,3 种函数得到的对焦曲线灵敏度基本相同,相对于其他 2 种函数,梯度向量平方函数具有最好的灵敏度特性。

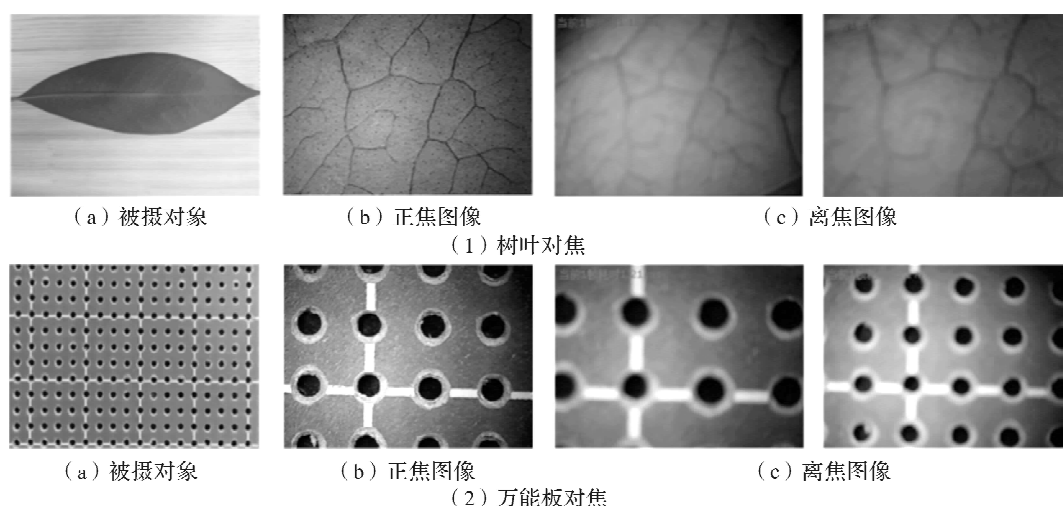


图 6 自动对焦图像

Fig. 6 Auto-focusing images

表 1 不同图像清晰度评价函数与对焦窗口大小所需处理时间

Table 1 Time consuming for different image definition evaluation functions and window sizes

评价函数	窗口大小			
	60×60	100×100	140×140	整幅图像
Roberts 梯度 和函数	0.46	1.27	2.53	33.73
梯度向量 平方函数	1.26	3.34	7.62	80.39
梯度向量 模方函数	9.19	26.15	52.50	372.65

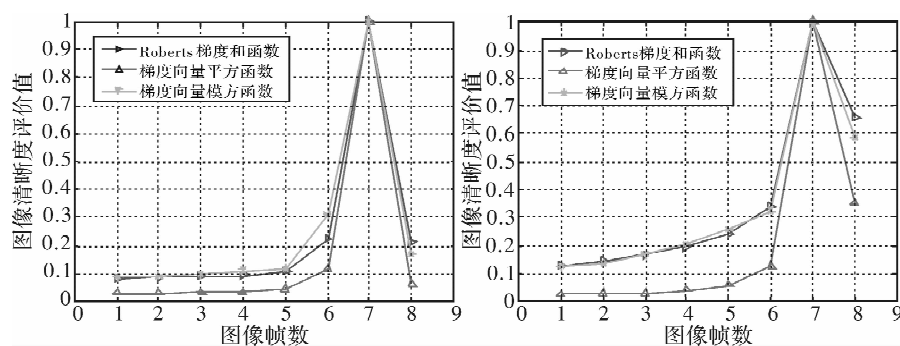


图 7 不同图像清晰度评价函数对焦曲线

表 2 镜头移动方向对比(1 表示沿着当前方向,0 表示沿着反方向)

Table 2 **Lens moving direction comparison** (1 stands for present direction, 0 stands for opposite direction)[illegible]

4 结论

基于图像处理的自动对焦可以有效解决显微镜手动对焦过程中对焦速度慢,对操作人员经验要求高及图像质量易受人为因素影响等问题。本文结合基于对焦深度法自动对焦的光学显微镜通用结构,采用 ARM 开发板、触控液晶显示屏、Arduino UNO 开发板、红外对管、工业数码显微镜及电机等完成光学显微镜系统硬件设计。在对焦深度法设计部分,采用基于感兴趣区域的不同大小对焦窗口,并在常见的 3 种梯度函数及爬山搜索算法基础上进行容错改进,完成整个系统的对焦程序设计。最后,系统采用不同的对象进行实验,对曲线灵敏度、实时性及容错性能进行测试,验证了系统的可靠性。

参考文献:

- [1] Peng Guojin, Yu Zhenming, Yu Jianhai. Auto-focus windows selection algorithm for optical microscope [J]. Journal of Applied Optics, 2015, 36(4): 550-558.
彭国晋, 玉振明, 于健海. 光学显微镜自动聚焦取窗方法研究[J]. 应用光学, 2015, 36(4): 550-558.
- [2] Shang Yanzhi, Jiang Minshan. The research summary of auto-focus techniques based on microscopes [J]. Optical Instruments, 2016, 38(2): 145-148.
商艳芝, 江旻珊. 光显微成像系统自动对焦技术的研究[J]. 光学仪器, 2016, 38(2): 145-148.
- [3] Zhou Liping, Sun Zhijun, Zhang Quan. Auto-focusing and control of micro-vision system [J]. Optics and Precision Engineering, 2013, 21(3): 807-812.
周丽平, 孙志峻, 张泉. 显微视觉系统的自动聚焦及控制[J]. 光学精密工程, 2013, 21(3): 807-812.
- [4] Tian Pan, Gu Chaochen, Hu Jie, et al. Research survey on microscopy autofocus methods [J]. Optical Technique, 2014, 40(1): 84-88.
田畔, 谷朝臣, 胡洁, 等. 显微镜自动对焦方法研究综述[J]. 光学技术, 2014, 40(1): 84-88.
- [5] Wang Wenhuan, Liu Wei. Electric microscopic imaging system which can automatic focus [J]. Automation & Instrumentation, 2014, 29(7): 10-13.
王文欢, 刘威. 可自动对焦的电动显微成像系统[J]. 自动化与仪表, 2014, 29(7): 10-13.
- [6] Shi Hongwei, Shi Yaowu, Yang Shuang. Evaluation and selection of estimating function for auto-focus system of optical microscope [J]. Journal of Computer-Aided Design & Computer Graphics, 2013, 25(2): 235-240.
史红伟, 石要武, 杨爽. 光学显微镜自动调焦指导函数的评价与选择[J]. 计算机辅助设计与图形学学报, 2013, 25(2): 235-240.
- [7] Wang Songliang. Research and implementation of an improved grayscale differential focus algorithm method [J]. Optical Instruments, 2013, 35(4): 47-52.
汪宋良. 一种改进型灰度差分聚焦算法研究与实现[J]. 光学仪器, 2013, 35(4): 47-52.
- [8] Qu Miao, Niu Guofeng, Mao Zhangxiao, et al. Design of environmental condition monitoring system based on Arduino [J]. Microcomputer & Its Applications, 2014, 33(20): 83-85.
渠淼, 牛国锋, 冒张霄, 等. 基于 Arduino 的智能环境监控系统设计[J]. 微型机与应用, 2014, 33(20): 83-85.
- [9] Chen Jian, Chen Dequan. Design and realization of simple microscope with automatic focusing based on image processing [J]. Experimental Technology and Management, 2017, 34(2): 93-96.
陈健, 陈德全. 基于图像处理自动对焦的简易显微镜设计与实现[J]. 实验技术与管理, 2017, 34(2): 93-96.
- [10] Zhang Laixian, Sun Huayan, Guo Huichao, et al. Auto focusing algorithm based on largest gray gradient summation [J]. Acta Photonica Sinica, 2013, 42(5): 605-610.
张来线, 孙华燕, 郭惠超, 等. 基于图像灰度梯度最大值累加的自动调焦算法[J]. 光子学报, 2013, 42(5): 605-610.
- [11] Zheng Yuzhen. Optimized mountain climb searching in auto focusing [J]. Journal of Zhejiang University of Science and Technology, 2005, 17(3): 171-174.
郑玉珍. 自动对焦中的优化爬山搜索算法[J]. 浙江科技学院学报, 2005, 17(3): 171-174.