

基于照度优化的自动聚焦技术

孙明磊,宗光华,毕树生

(北京航空航天大学 机械工程及自动化学院,北京 100083)

摘要:讨论了照明强度对自动聚焦的影响。开发了照明自动调控系统,为显微视觉照明问题的研究提供了物质前提。利用快速傅里叶变换对离焦图像序列以及不同照明强度图像序列进行频谱分析,证明照明强度条件对图像高频能量影响显著。提出了对图像特征高频能量有效度量的评价函数。自动聚焦实验表明,照明强度对于聚焦曲线的特性产生很大影响,经照度优化后的自动聚焦具有更高的聚焦精度,可达 $0.857 \mu\text{m}$,证明照明强度优化对于提高自动聚焦精度具有实用价值。

关键词:显微视觉;自动聚焦;照明优化

中图分类号:TP 242.6;TH742.9 **文献标识码:**A

Automatic focusing technique based on illumination optimum

SUN Ming-lei, ZONG Guang-hua, BI Shu-sheng

(School of Mechanical Engineering and Automation,
Beihang University, Beijing 100083, China)

Abstract: The effect of illumination intensity on automatic focusing in the microscopic vision research field is discussed. An automatic illumination control system is developed to provide experimental conditions for illumination research on microscopic vision. The fast Fourier transform (FFT) is used to analyze spectra of image sequences at defocus and image sequences under different illumination intensities, which proves that illumination intensity conditions impact significantly on the high-frequency energy of images. A evaluating function for the high-frequency energy of images is proposed. The experimental results show that illumination intensity has a great impact on focusing curves, and higher accuracy of $0.857 \mu\text{m}$ can be achieved after illumination optimization, which shows that illumination optimization can improve automatic focusing accuracy.

Key words: microscopic vision; automatic focusing; illumination; optimum

1 引言

高分辨率、高放大倍数的光学显微镜通常具有微小景深,这使得聚焦问题在显微镜的使用中

十分突出。没有自动聚焦能力的显微视觉系统就无法实现基于图像分析操作的工业化与自动化^[1-3]。自动聚焦技术在生化分析,生物工程微操作,微机电系统器件装配,集成电路制造,光电子器件封装以及三维视觉深度信息恢复,图像模糊

辨识等应用领域已获得广泛与深入的研究。

在影响自动聚焦效果的诸多因素中,视觉照明因素非常关键;文献[4]指出照明系统参数(如照明方式,波长,亮度)的变化对自动聚焦影响很大。事实上,在形成图像强度的诸多因素中,照明因素起决定作用[5-7]。合理的照明有助于提升一套视觉系统的分辨率和对比度,照明的质量将直接影响到图像分析的质量。

目前,就所掌握的文献而言,关于显微视觉照明对聚焦技术的影响,在该领域的研究尚属空白。本文采用图像分析的方法,通过判别图像高频能量随照度变化的规律,得到当前图像的最佳照度,进而对照明强度与自动聚焦之间的相互关系、相互影响进行分析及实验研究。

2 照度自动调控系统

首先,开发了照明自动调控系统(见图 1)。定义控制卡上 PWM(Pulse Width Modulation)信号占空比为 0%~100%,则对应于上位机的照明强度控制值(Illumination Control Value,ICV)为 0~255。“0”表示控制灯箱达到全暗,“255”表示控制灯箱达到最大功率。

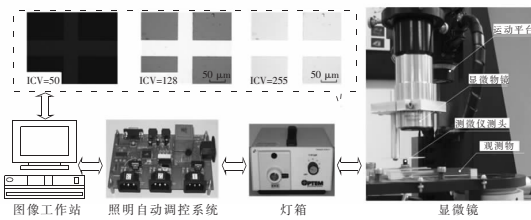


图 1 照明自动调控系统

Fig. 1 Automatic illumination control system

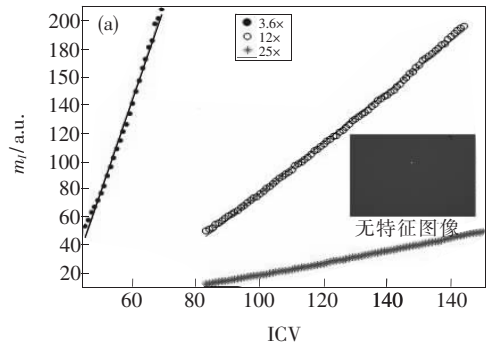
对照明自动调控系统的性能进行评测,用下式

$$m_l = \frac{1}{MN} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N I(i, j), \quad (1)$$

其中, m_l 为图像的平均亮度估计; $I(i, j)$ 表示像素的灰度值; MN 为总像素数。

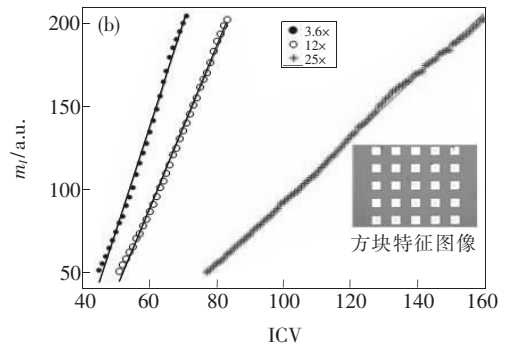
实验分为有图像与无图像两种情况。分别在显微镜 3.6×、12×、25×共 3 种放大倍数(3 种 F 数)下,使 ICV 分别取 0~255,每次摄取 256 frame 图像;并使用式(1)对图像进行分析计算,用最小二乘线性度 E_l 对实验数据进行分析。 m_l/ICV 特性曲线(见图 2)的线性度综合反映了

照度自动调控系统、灯箱、光路和 CCD 等器件的线性化能力。



(a) 使用无特征图像

(a) Using images without ang features



(b) 使用方块型特征图像

(b) Using images with square-shaped features

图 2 视觉系统对照度的线性变化

Fig. 2 Illumination linearity test of vision system

实验中,本文中使用的视觉系统对照明强度改变后,图像平均亮度相应变化的平均线性度 \bar{E}_l 达到 1.3%(见表 1)。照明自动调控系统的开发为显微视觉照明问题的研究提供了物质前提。

表 1 照明自动调控系统的线性度

Tab. 1 Linearity of automatic illumination control system

倍数	3.6×	12×	25×
E_l (无特征图像)	1.8%	1.3%	0.91%
E_l (方块特征图像)	2.0%	0.94%	0.94%
\bar{E}_l	1.31%		

3 聚焦/离焦图像的频谱分析

对于一组离焦-聚焦-离焦的图像序列,随着

物距的改变,图像边缘经历模糊-清晰-模糊;在这种离焦/聚焦的变化中,图像的高频信息发生变化,这种高频信息的改变主要来自于图像特征的边缘信息。比较而言,由图像噪声高频能量引起的变化较小。基于这一原理,对一组聚焦图像序列进行快速傅里叶变换(Fast Fourier Transform,FFT)。在ICV=116的照明强度下,摄取一组聚焦图像序列,步距为8 μm,共计20 frame图像(图像特征为十字型标记,见图1)。对每帧图像,以 ω 表示频率,计算其 $\omega=0\sim 255$ 的能量谱。 $\omega=0$ 即为图像直流分量,图像序列直流分量反映了图像的亮度变化。对于图像序列,将频率相同的能量谱归为一组,并绘制曲线,见图3(a)。从图3(a)中选出具有严格单峰性的曲线,见图3(b),由于直流分量的特殊性,亦将其列入图3(b)。

由图3(b)可知,十字型特征图像的边缘特征主要由 $\omega=1\sim 9$ 的频域能量构成; $\omega>9$ 的频域能量则主要由噪声能量构成。

对于聚焦位置的图像 I_9 ,改变照明强度,摄取一组256 frame图像的图像集。对每帧图像,计算 $\omega=0\sim 255$ 的能量谱。将频率相同的能量谱归为一组,并绘制曲线,见图4(a)。图4(a)反

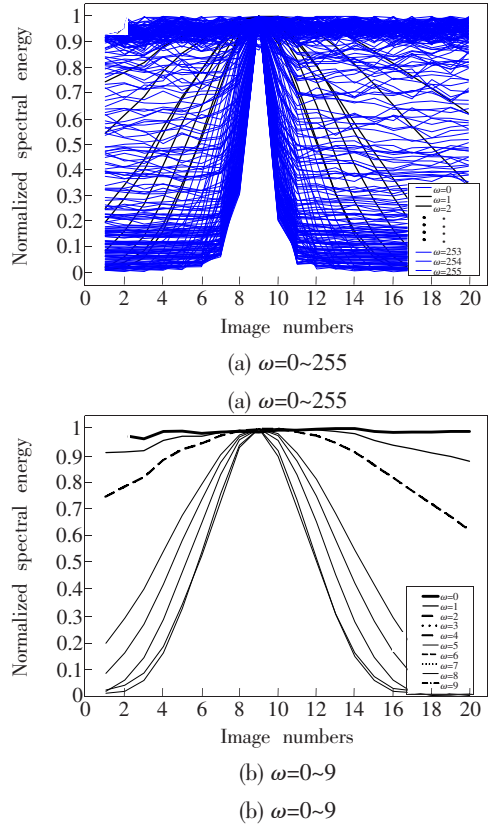


图3 图像序列频谱分析

Fig. 3 FFT analysis on image sequences

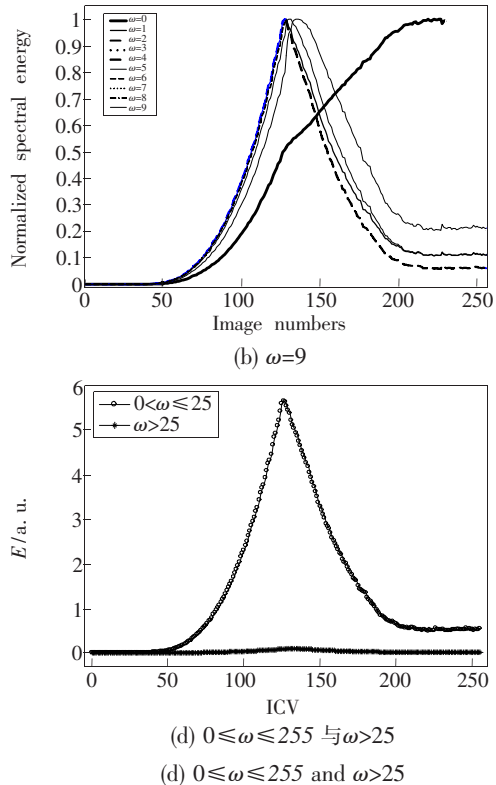
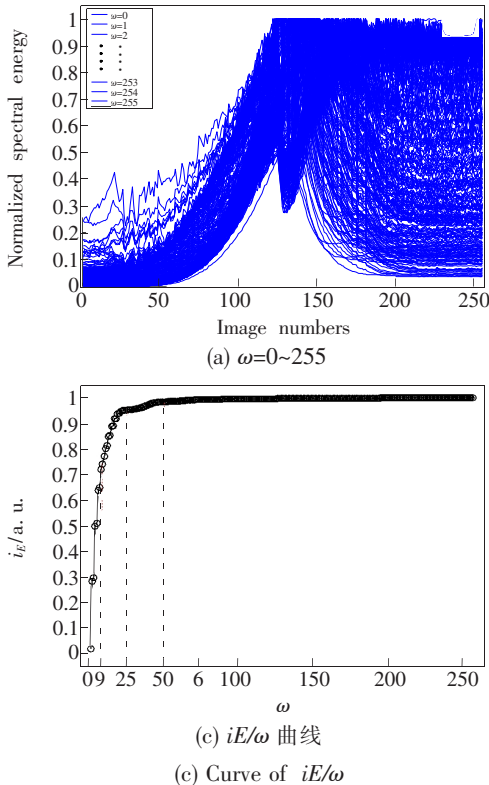


图4 照明强度对聚焦图像序列频谱的影响

Fig. 4 FFT analysis on focusing image sequences

映了照明因素对图像各频段信息的影响。从图4(a)中选出 $0 < \omega \leq 9$ 频段的曲线,见图4(b)。

图4(b)中, $0 < \omega \leq 9$ 频段的曲线具有类似聚焦曲线的单峰性及并不严格的单边单调性,表明照明因素对图像特征边缘信息的影响十分显著。另外,图4(a)中 $\omega > 9$ 的曲线主要反映了照明强度对图像噪声的影响。经计算除去直流分量,聚焦图像 I_9 在 $\omega = 1 \sim 9$ 的频段能量为 4.8×10^8 , 高于 $\omega > 9$ 的频段总能量 2.3×10^7 一个数量级,充分说明了 $\omega = 1 \sim 9$ 的频段能量在图像中的重要地位。

定义能量比系数

$$i_E = \frac{\sum_{\omega=1}^n E_{\omega}}{\sum_{\omega=1}^{255} E_{\omega}}, \quad (2)$$

其中, E_{ω} 表示在图像的 FFT 在频率 ω 处的频谱能量。

图像 I_9 的 i_E/ω 曲线见图4(c)。当 $\omega = 9$ 时,有 $i_E = 75\%$; $\omega = 25$ 时,有 $i_E = 96\%$; $\omega = 50$ 时,有 $i_E = 98.5\%$,已接近1。说明 $\omega = 9, 25, 50$ 是该图像能量谱的重要阈值点频率。由图4(d)可知,对 $\omega \leq 25$ 频段图像信息的研究已经足够精确。研究对象频谱范围可根据实际情况的需要来选定。

4 照度优化函数

自动聚焦技术致力于获取特定的高频信息量最大的图像。既然照明强度对图像的高频信息影响很大,可借鉴具有代表性的自动聚焦评价函数^[8-9],如 F_{A-G} 、 $F_{Entropy}$ 、 F_{FFT} 和 $F_{Nor-Variance}$ 等对显微视觉照明强度的影响进行寻优。

(1) 梯度函数

$$F_{A-G} = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^{N-1} (|I(i, j+1) - I(i, j)| + |I(i+1, j) - I(i, j)|), \quad (3)$$

其中, $I(i, j)$ 表示图像像素阵列在 (i, j) 处的灰度值。

(2) 熵函数

$$F_{Entropy} = - \sum_{k=0}^{255} (p_k \cdot \log_2(p_k)). \quad (4)$$

(3) FFT 函数

$$F_{FFT} = \frac{1}{M \cdot N} \sum_{j=1}^M \sum_{j=1}^N \sqrt{R^2(i, j) + I_m^2(i, j)}. \quad (5)$$

(4) 方差函数

$$F_{Nor-Variance} = \frac{1}{M \cdot N \cdot \bar{I}} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N [I(i, j) - \bar{I}]^2. \quad (6)$$

在显微镜 $25 \times$ 下,顺序改变照明强度,使 ICV 分别取 $0 \sim 255$,摄取一组 256 frame 图像集,利用上述聚焦测度函数对图像集进行计算,得到实验曲线族,见图5。照明强度改变的图像序列包含了图像平均灰度的变化以及图像高频能量的变化。绝大多数的聚焦函数如 F_{A-G} 、 $F_{Entropy}$ 、 F_{FFT} 等不能显著区别这两种变化,尤其在照明强度较高的区域;在所有的聚焦函数中,基于图像灰度统计规律的聚焦函数 $F_{Nor-Variance}$ 效果最好,是可用的照度优化函数。

以 F_{FFT} 为基础,提出照度优化测度函数 A_{FFT}

$$\begin{cases} A_{FFT} = \frac{1}{M \cdot N} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \sqrt{R^2(i, j) + I_m^2(i, j)}. \\ \omega > 0 \end{cases} \quad (7)$$

A_{FFT} 中取消了图像直流分量的干扰,可以有效反映图像的高频能量谱变化情况,见图5。

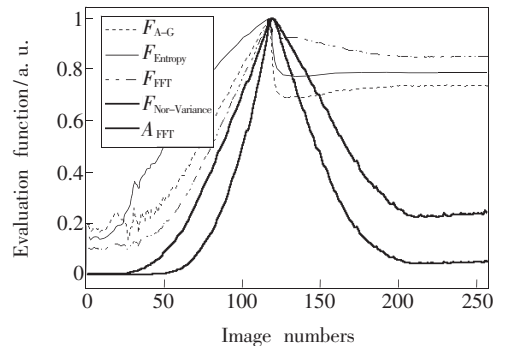


图5 照明优化评价函数

Fig. 5 Experimental results of image quality assessment

5 照度优化函数

本文以实验的方法说明了显微视觉照明强度的变化对自动聚焦产生重要的影响。在显微镜 $25 \times$ 下,顺序改变照明强度,使 ICV 分别取 $0 \sim 255$,摄取一组 256 frame 图像集,见图6。利用照度优化测度函数 A_{FFT} 对图像集进行计算,得到照度优化曲线,见图6(a)。当 $ICV = 116$ 时, A_{FFT} 达到最大值,即图像 I_{116} 在整个图像集中包含最多的高频信息(能量)。

为方便讨论,依据 ICV 将整个照度区间划分为 6 个区域,即

$$\begin{cases} Z_1: 0 \leq ICV \leq 40 \\ Z_2: 40 < ICV \leq 80 \\ Z_3: 80 < ICV \leq 120 \\ Z_4: 120 < ICV \leq 150 \\ Z_5: 150 < ICV \leq 170 \\ Z_6: 170 < ICV \leq 255 \end{cases} \quad (8)$$

针对每个照度区间,进行自动聚焦实验,得到该区间的聚焦曲线族。以 Z_1 区为例,在 $25\times$ 显微镜下,分别在 $ICV=0, 10, 20, 30, 40$ 的照明强度下,摄取一组聚焦图像序列,步距为 $8 \mu m$,共计

20 frame。以聚焦函数 F_{A-G} (参见式 3) 对其进行计算,得到聚焦曲线族,见图 6(b)。由于照明强度很小, Z_1 区的图像噪声大于图像特征,其聚焦曲线表现为杂乱无章,完全不具有单峰性,误聚焦概率高; Z_2 属于 A_{FFT}/ICV 曲线的上升区域,其聚焦曲线(见图 6(c))虽然仍不具有单峰性,但其误聚焦概率已明显降低(约为 $10\% \sim 20\%$); Z_3 进入 A_{FFT}/ICV 曲线的峰值区域,其部分聚焦曲线(见图 6(d))已呈现单峰性,即使是无单峰性,其误聚焦率也仅为 5% ; Z_4 区域中的聚焦曲线无单边单调性;在 Z_5, Z_6 区域,由于光强过大,CCD 出现饱和以及被测表面材料强反射性,图像特征已不

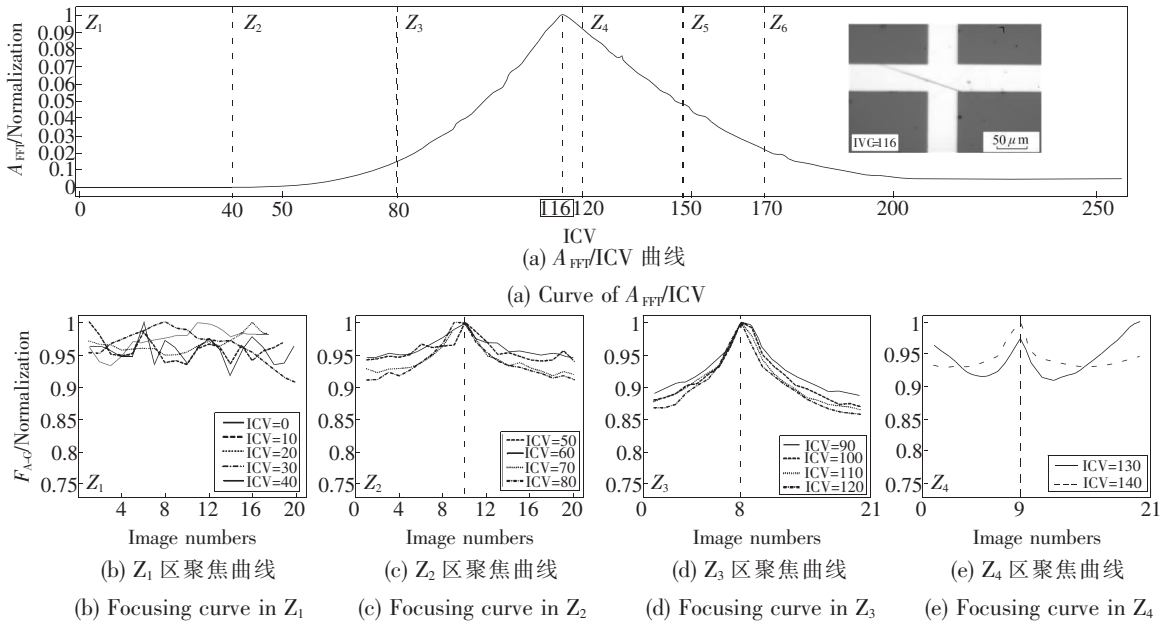


图 6 照明因素对聚焦曲线的影响

Fig. 6 Effects of different illumination conditions on focusing curves

明显,此时的聚焦曲线已无意义。

显微视觉照明对于聚焦曲线的影响十分显著,图 6 中的聚焦曲线族直观地反映出这一点。无论是从主观观察的视觉感受,还是从图像客观包含的高频信息能量来评测, Z_3 区域的图像都是照度优化的目标。微操作/微装配的研究者最为关心该区域的聚焦曲线。

详细分析 Z_3 区域的聚焦曲线,见图 7。 $ICV=90, ICV=110$ 以及 $ICV=120$ 的聚焦曲线均在远焦区出现了局部极值(分别出现在 I_{17}, I_{18}, I_2),导致误聚焦概率提高;而 $ICV=116$ 时,即当 A_{FFT}/ICV 曲线达到最大值时,其聚焦曲线表现出严格的单边单调性。

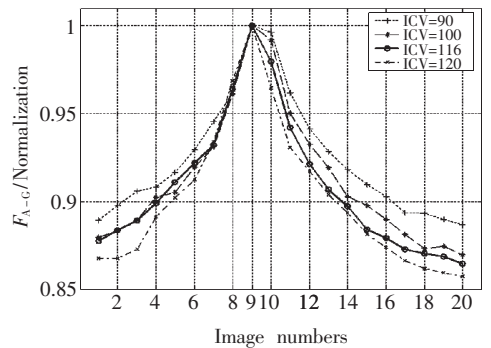


图 7 不同照度下的聚焦曲线实验结果对比

Fig. 7 Experimental results of focusing curves under $ICV=90, ICV=100, ICV=116$ and $ICV=120$

6 聚焦精度实验

选取除 Z_3 区以外的照明条件,自动聚焦将产生过多的误聚焦。因此,只针对图 7 所示的 Z_3 区域,在不同 ICV 照明强度下进行自动聚焦实验,实验方法是从不同的离焦起始位置进行自动聚焦实验,使用精密测距仪器对每次自动聚焦搜索的焦平面绝对位置进行量测。聚焦函数选用 F_{AG} ; 聚焦搜索策略采用固定步长爬山法^[10];图像特征为十字形;本文在自动聚焦实验中使用了 M-E($\mu\epsilon$) 公司的测微仪。自动聚焦实验系统装置见图 1,在照度条件 ICV=90、ICV=110、ICV=116 以及

ICV=120 下,在焦点两侧不同起始点分别进行 14 次实验,测微仪记录的焦点位置结果见图 8。

对实验结果的统计规律进行计算,见表 2。ICV=116 时,表征聚焦位置精度的样本标准差达到最小,表明经过照度优化的自动聚焦具有更好的准确性。

表 2 不同照明条件下自动聚焦准确性统计结果

Tab. 2 Experimental statistic results of automatic focusing accuracy under ICV=90, ICV=100, ICV=116 and ICV=120

ICV	90	100	116	120
聚焦精度 $s(\mu\text{m})$	0.898	0.889	0.857	0.871

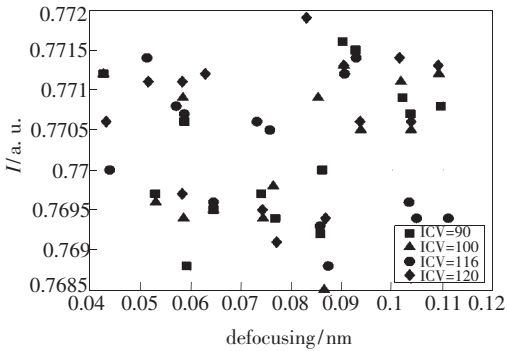


图 8 不同照度条件下的聚焦精度实验结果对比

Fig. 8 Experimental results of automatic focusing accuracy under ICV=90, ICV=100, ICV=116 and ICV=120

7 结 论

本文对显微视觉中的照明强度对自动聚焦的影响展开了研究,结论为:

(1)显微视觉照明强度的变化将改变图像的高频能量(信息量)的大小;在适当的照明强度下,图像的高频能量达到最大。

(2)不同的照明强度会影响聚焦曲线的特性,如单边单调性、峰值点位置等。

(3)经照度优化后的自动聚焦具有更高的聚焦精度,可达 $0.857 \mu\text{m}$ 。

参考文献:

- [1] HUGHLETT E, KAISER P. An autofocus technique for imaging microscope [J]. *Acoustics, Speech, and Signal Processing*, 2003, 3: 93-96.
- [2] HUGHLETT E, COOPER K. A video based alignment system for X-ray lithography [C]. *SPIE*, 1991, 1465: 100-110.
- [3] 朱铮涛,黎绍发,陈华平. 基于图像熵的自动聚焦函数研究[J]. *光学精密工程*, 2004, 12(5): 537-542.
ZHU ZH T, LI SH F, CHEN H P. Research on auto-focused function based on the image entropy [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2004, 12(5): 537-542. (in Chinese)
- [4] YOUNG I T, ZARGERS R, VLIET L J V, et al.. Depth of focus in microscopy [C]. *Proceedings SCIA93, Tronto, Norway*, 1993: 493-498.
- [5] RAFAEL C G, RICHARD E W. *Digital Image Processing* [M]. 2nd ed. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2002: 50-52.
- [6] 曹万鹏,陈刚,车仁生,等. 一种基于小波变换的照明无关边缘检测和模糊增强方法[J]. *光学精密工程*, 2007, 15(7): 1143-1150.
CAO W P, CHEN G, CHE R SH, et al.. An illumination independent edge detection and fuzzy enhancement algorithm based on wavelet transform [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2004, 15(7): 1143-1150. (in Chinese)

- [7] 张麟, 陈涛, 刘世炳, 等. 采用三向光纤照明成像的三维微结构观测系统[J]. 光学精密工程, 2004, 12(3): 275-281.
ZHANG L, CHEN T, LIU SH B, *et al.*. Observation and measurement system for microstructure based on three-direction fiber illumination [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2004, 12(3): 275-281. (in Chinese)
- [8] GROENF F, YOUNG I T, LIGHART G. A comparison of different focus functions for use in autofocus algorithms [J]. *Cytometry*, 1985, 12: 81-91.
- [9] YEO T, ONG S, SINNIAH R. Autofocusing for tissue microscopy [J]. *Image Vision Comput*, 1993, 11: 629-639.
- [10] KROTKOV E. Focusing [J]. *Int. J. Computer Vision*, 1987, 1: 223-237.

作者简介: 孙明磊(1974—), 男, 湖北襄樊人, 主要研究方向为机器人视觉、微机器人系统及显微视觉及图像分析技术。
E-mail: sunminglei@gmail.com

● 下期预告

玻璃三通微流体管道热流变拉制仪设计及 实验研究

张晓乐, 侯丽雅, 章维一

(南京理工大学 微系统研究室, 江苏 南京 210094)

为了获得具有良好微流动特性的圆截面微流体器件, 并构建二维裸微结构微流体管道网络, 设计了玻璃三通微流体管道热流变拉制仪。在三通微管道拉伸成形过程中, 变形区热软化后的 V 形玻璃毛细管, 在冷却过程中一次性拉制成三通微管道, 储液池在拉制过程的同时成型, 并与三通管光滑连接。拉制仪可实现等内径和不等内径拉伸。通过对加热时间、拉伸行程和玻璃材料分配系数的调节, 可以控制三通微管道各项参数。已制备出内径为 67、32 和 20 μm 的圆截面三通微管道。低成本的三根微管道在三通结点处光滑连通, 表面张力成型的微管道具有较高的表面质量。以三通微管道和一维玻璃微管道为基础单元, 组建了微流体管道网络。