

文章编号: 1002-0446(2001)01-0073-05

通过显微图像特征抽取获得 微操作目标纵向信息

张建勋 薛大庆 卢桂章 李彬

(南开大学机器人与信息自动化研究所 天津 300071)

摘要: 工作于生物显微镜下的微操作机器人系统, 是完成对生物细胞显微操作的专用操作系统. 由于各种原因, 常规的反馈定位控制难以实现. 系统中惟一可以利用的信息是由 CCD 摄像机获得的显微平面图像, 目标的纵向信息难以获得. 本文提出了一种基于系列显微图像频率特性比较的分析方法, 完成对微操作系统中各目标体的纵向位置信息的获取, 为本系统的标定工作和位置控制的实现奠定了基础.

关键词: 显微图像; 频率特性; 富里叶变换; 微操作工具.

中图分类号: TP24 **文献标识码:** B

OBTAINING Z-DIRECTIONAL INFORMATION FROM CHARACTERISTICS OF MICRO-IMAGE

ZHANG Jian-xun XUE Da-qing LU Gu-zhang LI Bin

(Lab. of Robotics & Information Automatic System, Nankai Univ. 300071)

Abstract: The micro-operation robot that works under biological microscope is used for operation of biological cells. Normal position feedback control methods can not be realized in the system because of some reasons. The micro-images accepted by vidicon are the feedback informations for motion that only can be used in the system, and Z-directional informations can not be obtained from the plan images. A method based on the analyzing of frequency characteristics of series micro-images is discussed in this paper, we can get Z-directional informations of the end of micro-tools and operated objects with the method, the calibration and position control can also be implemented with it.

Keywords: micro-image, characteristics of frequency, fourier translation, micro-tool

1 引言(Introduction)

作为一种特型机器人, 面向生物和医学试验的微操作机器人能够代替人工操作, 自动或半自动地完成生物和医学试验中对生物细胞的显微操作. 微操作机器人的主体是一台生物显微镜, 配备两套可做空间三维运动、具有高精度的微动手臂, 用于挟持微操作工具. 该系统具有很高的定位和位移精度, 系统的一切工作都是在显微镜下完成的.

常规机器人对各运动部分的位置控制都是采用闭环方式, 在位置反馈信号的帮助下完成定位控制. 但是在微操作机器人系统中, 由于微操作工具的材料和几何尺度所限, 任何形式的传感器都难以安装.

能够得到的唯一反映被控目标体运动和位置的反馈信息, 是由摄像机获得的工作域显微图像. 该图像为一平面图像, 通过坐标变换可以在 X-Y 平面得到很高的定位精度和运动控制精度. 据此可以完成微操作系统各坐标系之间在 X-Y 平面的标定和定位控制. 但系统在 Z 方向的位置信息很难自动地从这个平面图中获得. 为此, 本文根据显微镜成像原理, 通过对运动物体的实时图像获取得到一系列显微图像. 通过对系列图像进行频率特性抽取和比较分析, 利用数学计算确定目标体在 Z 方向的相对原点位

置,间接完成对目标体和微操作工具末端在Z方向位置信息的获取工作。

2 显微镜成像原理和显微图像处理(The principle of microscope imaging and micro-image processing)

微操作机器人的一切工作都要在显微镜下进行。从显微镜得到的显微图像经摄像机获取后,输入到计算机中的图像信息是能够反映系统运动过程的唯一反馈信息。图(1)为光学显微镜成像和摄像机获取图像的原理图^[1]。

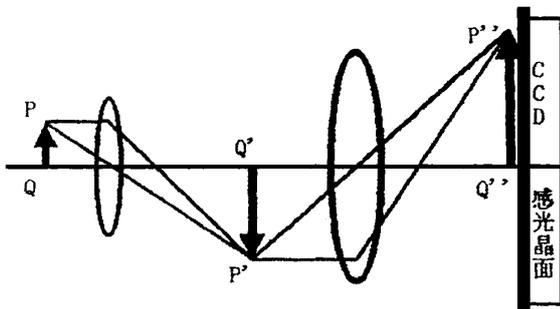


图1 光学显微镜成像和摄像机获取图像原理图

其中PQ为成像的实际物体,经物镜一次放大后得到一个实像P'Q';该实像经过摄像副目镜二次放大后得到另一个实像P''Q'',经过二次放大的实像被投影在摄像机的平面晶体感光阵列上。摄像机将图像(光)信号转换为电信号输入到计算机中。对一台确定的显微镜,当物镜的放大倍数一定时,物镜的工作距离也就确定(这个数据可以从显微镜的使用手册中获得)。但是对于一确定放大倍数的物镜,其成像范围是一个弧形区域,即景深。景深与物镜的放大倍数有关(如图2)。其函数表达式如下^[2]:

$$2\sigma = \frac{kn}{NA M} \quad (1)$$

其中n表示介质的折射率;NA表示物镜的数值孔径;M表示显微镜的总放大倍数,即物镜放大倍数与目镜放大倍数的乘积;k为常数(0.24~0.34)。在这个区域中图像的清晰度函数可以近似用高斯分布曲线表示如下:

$$df(z) = \frac{1}{2\sqrt{\pi}\sigma} \exp\left(-\frac{(z-\mu)^2}{\sigma^2}\right) \quad (2)$$

当物镜的数值孔径和显微镜总放大倍数一定时,物镜工作距离与成像景深也确定了。物体沿物镜光轴由远而近向物镜移动时,所看到的图像从不清晰逐步变为清晰,经过一个最清晰点,又变为不清晰。在

这过程中实时地截取系列图像,用计算机对图像处理,确定最清晰的成像点,即图2中 $z=\mu$ 点。图像清晰度是图像的特征之一,即对比度。对这个特征进行判别的有力工具是对图像空间矩阵进行正交变换,提取特征值。其中最常用的正交变换是Fourier变换,将空间域矩阵变换到频率域中。Fourier变换具有以下优越性:(1)对一定的噪声和光照条件引起的图像整体灰度值变化,其频率函数在交变域中不敏感;(2)对图像发生平移变化不敏感;(3)对图像空间矩阵的转置和镜向变化不敏感。

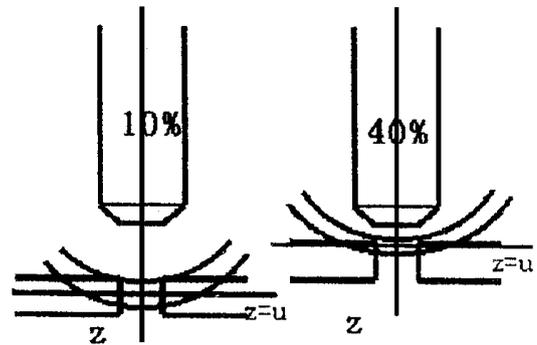


图2 最清晰成像点

利用Fourier变换可以将图像清晰特征转换为频率分布特征。当图像清晰时,表示在该图像的某些区域中灰度值变化明显,对比度大,频域中表现为某个特征频率分量比较丰富;相反当图像模糊时,图像灰度值变化平缓,对比度小,对应的特征频率含量少。

二维离散Fourier变换如下式所示^[3]:

$$F(u, v) = \sum_{x=0}^M \sum_{y=0}^N f(x, y) e^{-\frac{2\pi i}{MN}(xu+ yv)} \quad (3)$$

$f(x, y)$ 为空间域图像灰度值函数, $F(u, v)$ 为对应的频率函数, M, N 分别为空间域中在X和Y方向上的最大坐标。

在用计算机对图像数据进行处理时,二维实函数 $f(x, y)$ 满足以下条件:

$$0 \leq f(x, y) \leq 255 \quad (4)$$

图像灰度值均值为

$$\bar{f} = \frac{1}{MN} \sum_{x=0}^M \sum_{y=0}^N f(x, y) \quad (5)$$

即图像中的直流量。该量相对于图像频谱函数的中心点,即:

$$\bar{f} = F(u_0, v_0) \quad (6)$$

u_0, v_0 为频域的中心点。相当于在频谱中心点处

有一直流分量, 试验表明: 该直流分量远大于任何交流分量. 在获取图像过程中, 外界光照条件发生变化时, 必然会导致图像灰度函数的均值发生变化. 但这与图像清晰与否无关, 不仅对图像特征的判别无益, 还容易产生计算误差. 因此在对图像进行 Fourier 变换之前, 要对原始图像进行去均值处理:

$$f'(x, y) = f(x, y) - \bar{f} \quad (7)$$

对 $f'(x, y)$ 进行二维离散 Fourier 变换, 得到不含直流分量的二维频谱函数

$$F'(u, v) = \sum_{x=0}^M \sum_{y=0}^N f'(x, y) e^{\frac{2\pi}{MN}(xu+ yv)} \quad (8)$$

对图像函数进行 Fourier 变换后, 得到该图像的二维频率分布函数. 但能够表示原图像特征的频率值常分布在靠近中心点附近的某个邻域中, 称这个频率域为图像的特征频域. 在该特征域以外, 特别是在较高频区域中, 所包含的频率分量都是各种噪声频率. 这些分量对图像处理不仅没有帮助, 有时还会引起判断错误. 所以得到频率函数后, 要对其进行低通滤波处理, 计算过程如下^[4]:

$$F_L(u, v) = \begin{cases} F'(v, u) \\ 0 \end{cases} \quad (9)$$

$$\frac{(u - u_0)^2 + (v - v_0)^2 \leq R_L}{\text{其他}}$$

R_L 为低通滤波器的特征频率半径.

3 纵向信息获取方法分析 (The method analysis of capturing positional information in Z-direction)

将空间图像矩阵变换到频域中, 得到的二维频域函数是一个复变函数:

$$F(u, v) = R(u, v) + jI(u, v) \quad (10)$$

进行低通滤波后, 得出在特征域中的频谱:

$$F_L(u, v) = R_L(u, v) + jI_L(u, v) \quad (11)$$

定义能量函数为

$$E^2(u, v) = R_L^2(u, v) + I_L^2(u, v) \quad (12)$$

表示图像特征域中各频率分量的能量分布. 在该特征域中所含频率的总能量为

$$\bar{E}^2 = \sum_{\phi} E^2(u, v) \quad (13)$$

ϕ 表示特征域. 当物体成像不清晰, 即在特征域内所含频率分量少, 总能量 \bar{E}^2 少. 通过调整物体与物镜之间的距离, 使成像清晰时, 在特征域中所含频率分量比较丰富, \bar{E}^2 也比较大. 当 \bar{E}^2 达到最大值时, 所对应的图像就是最清晰的. 此时成像物体与显微

镜物镜之间的距离等于该物镜的工作距离. 在实际计算中, 根据需要对以上算法作了一些改进.

求总能量过程是一个离散点累加过程, 累加区域是以频域中心点为圆点, 以 R_L 为半径的圆. 直接计算很不方便. 根据 Fourier 变换的性质可以得出以下结论: 当 $f(x, y)$ 为实数时, 其变换对 $F(u, v)$ 满足以下条件:

$$F(u, v) = F^*(-u, -v) \quad (14)$$

即

$$\begin{cases} R(u, v) = R(-u, -v) \\ I(u, v) = -I(-u, -v) \end{cases} \quad (15)$$

由能量函数的定义可以得出:

$$E^2(u, v) = E^2(-u, -v) \quad (16)$$

能量谱关于中心点对称, 通过对系列图像的能量谱分析(参照图 4)认为: 不论图像清晰与否, 其能量分布大致呈环状状态. 为此在计算中可作如下简化: (1) 只计算能量谱中的上半部分, 即 $u \geq 0$ 的部分; (2) 在上半平面以中心点为原点, 均匀地选取若干条特征射线, 如图 3 所示.

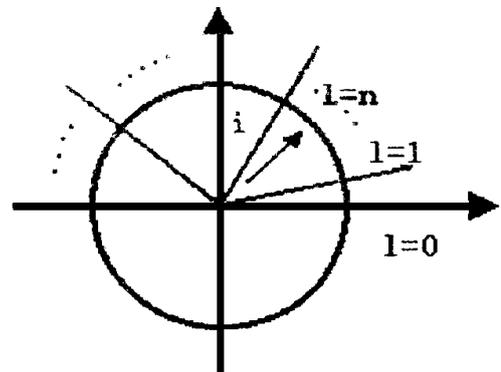


图 3 均匀地选取若干条特征射线

沿着这些特征线的方向作离散点的累加. 计算过程如下:

$$\bar{E}^2 = \sum_{l=1}^L \sum_{i=1}^I E^2(l, i) \propto \bar{E}^2 \quad (17)$$

微操作机器人的所有操作过程都是在显微镜下进行的, 操作员只能看到很小一部分工作空间, 物体与物镜的绝对距离对实际操作意义不大. 我们希望在這個显微工作空间中能自动确定一个相对原点, 作为 Z 方向的运动参考点. 为此定义了新变量——离焦量,

$$\epsilon = \frac{1}{\bar{E}^2} \quad (18)$$

当 ϵ 达到最小时, \bar{E}^2 最大, 对应图像最清晰, 此

时定义 $z=0$, 为 z 轴的坐标原点. 通过高精度步进电机定位控制, 以达到在 z 轴的位置信息获取.

4 实验数据分析(The analysis of experimental data)

本节以微操作工具末端的定位过程为例, 将上述内容通过实例实现. 微操作工具由玻璃管经专用设备控制而成. 显微镜是重庆光学仪器厂生产的倒置式光学生物显微镜, 物镜放大倍数是 40, 数值孔径 NA 是 0.6, 摄像副目镜放大倍数是 4, 空气介质的折射率为 1. 由式(2)可以计算出景深距离为

$$2\sigma = \frac{kn}{NA \cdot M} = \frac{0.24 \cdot 1.0}{0.6 \cdot 4.40} = 0.0025\text{m m}$$

试验中以步距为 $3\mu\text{m}$ 控制微操作工具沿着物镜光

轴, 由远而近地移动. 采集下对应点的图像信息, 经数据处理后做离散 Fourier 变换和滤波处理, 得到图像在特征域中的能量谱分布. 图 4 为采集下的部分图像; 图 5 为对应的能量谱分布图; 其中较大的数值(图像的辉度值)对应较亮的点; 图 6 中的系列曲线为对应于图 5 的频谱在特征域中 沿线频率分布的一维曲线图. 对应各图像计算的离焦量 ϵ 列于表 1 中, 图 7 为 $\epsilon-n$ 曲线, 其中当 $n=5$ 时 ϵ 取得最小值, 这个值对应最清晰的图像. 将此时成像物体在 z 方向所处的位置定义为该坐标系在 z 轴的坐标原点, 即运动的参考点. 以上过程由计算机自动完成, 最后确定的清晰图像与人的感觉一致.

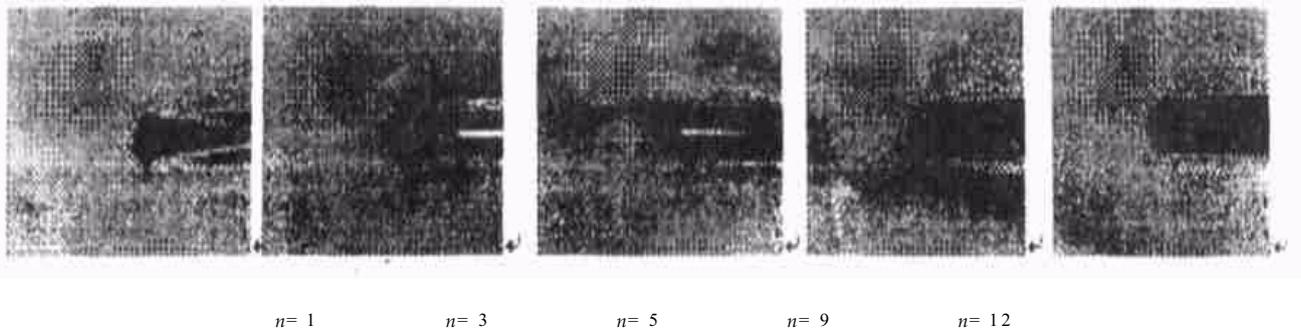


图 4 采集下对应点的部分图像

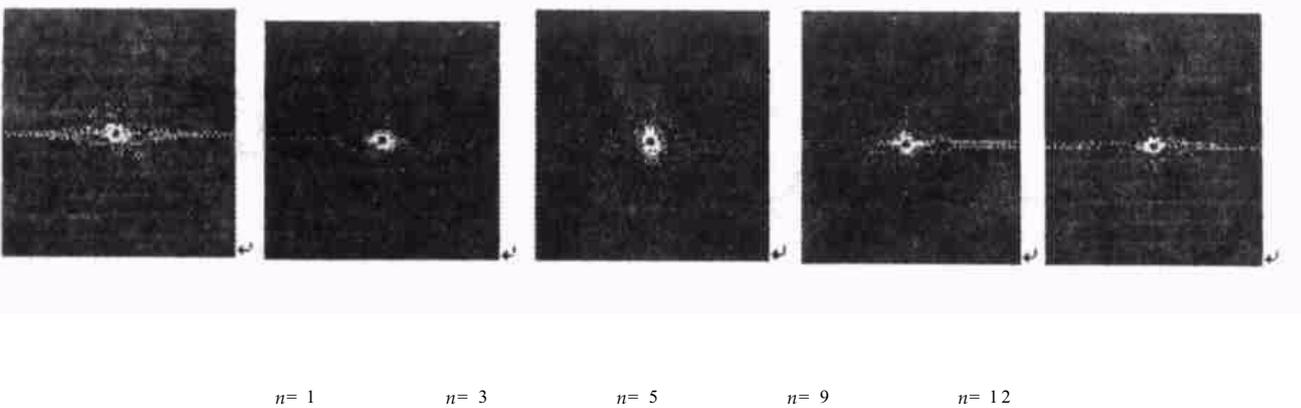


图 5 对应的能量谱分布图

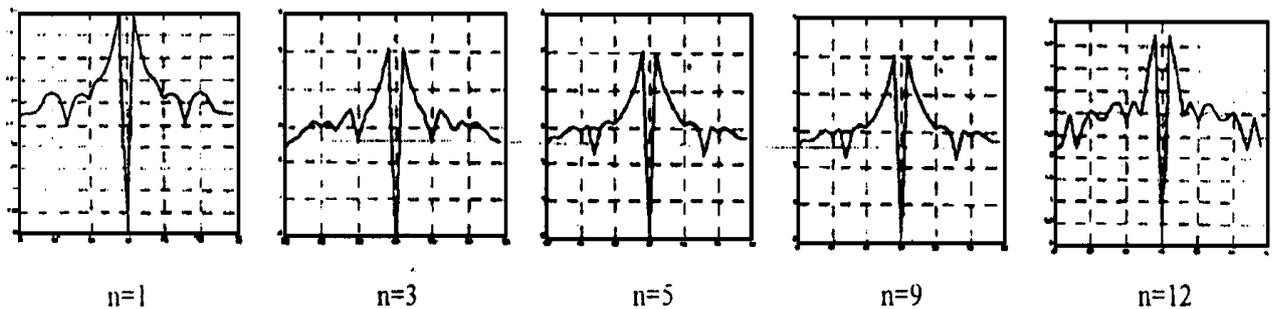
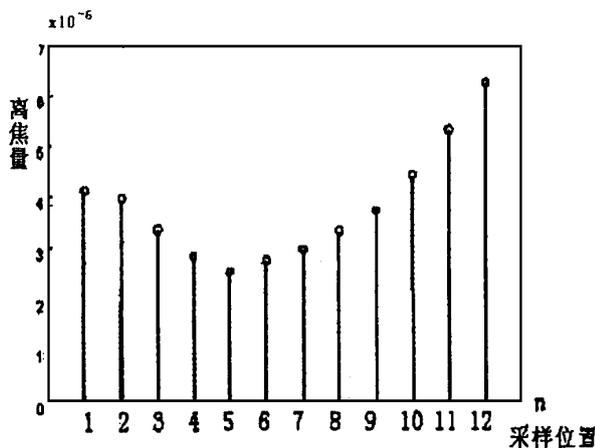


图 6 对应于图的频率分布曲线图

图 7 ϵ_n 曲线图

5 结论(Conclusion)

在微操作机器人系统中,对微操作工具或操作目标体 z 方向定位是一个很困难的关键问题.在此之前试验了多种定位方法,都因为各方面条件的限制没有得到满意的结果.现在根据微操作系统的运动反馈信息是显微视觉图像这一特点,根据显微镜成像原理和物镜固有特性,提出了上述 z 方向自动定位和位置信息获取的方法,在理论上证明了可行性并进行了系列试验,得出目前为止最好的,即定位精度最高的结果,其定位精度为 $2.5\mu\text{m}$,与物镜的景深参数相符合.但是这种方法也存在缺点,因为要对显微图像进行实时的预处理,二维离散 Fourier 变换、滤波,实时计算出图像的离焦量,计算量很大.所

以在操作中需要很长时间,过程比较缓慢.但是这毕竟是由人工手动操作向自动操作走出的重要一步,对微操作机器人系统实现自动化具有非常重要的意义.下面的工作将是在现有工作的基础上,进一步研究、利用微操作机器人系统的各种特性、资源,研制出性能可靠、计算效率高、简洁实用的定位控制算法.我们也希望得到同行专家的帮助.

参考文献 (Reference)

- 1 舍英,伊力奇等.现代光学显微镜.科学出版社,1996年
- 2 姚俊恩等.生物医学超微结构与电子显微镜技术.科学出版社,1980年
- 3 Kenneth R. Castlenon. Digital Image Processing. Prentice Hall 1996
- 4 荆晓远等.基于奇异值特征的图像特征及人脸识别.信息与控制,1992,2
- 5 刘连臣.微操作机器人及显微视觉伺服控制系统的研究.南开大学博士学位论文,1998年
- 6 杨宜民,程良伦.微细作业系统的现状、构成及其应用.机器人,1998

作者简介:

- 张建勋 (1961-),工学博士,研究领域:自动控制系统与机器人控制,精密运动控制与数字信号处理.
- 薛大庆 (1972-),男,硕士.研究领域:数字信号处理,数字图像处理等.
- 卢桂章 (19-),男,博士生导师,教授,南开大学信息科学学院院长.研究领域:自动控制理论与应用,机器人系统的运动控制与规划.