



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104181685 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 03

(21) 申请号 201410365758. 5

(22) 申请日 2014. 07. 29

(71) 申请人 杭州卓腾信息技术有限公司

地址 310000 浙江省杭州市西湖区天目山路
160 号国际花园西塔楼 1905、1906 室

(72) 发明人 叶志前 姜磊 王鑫鑫

(74) 专利代理机构 北京联瑞联丰知识产权代理
事务所 (普通合伙) 11411

代理人 高文迪

(51) Int. Cl.

G02B 21/24 (2006. 01)

G02B 21/36 (2006. 01)

G02B 7/36 (2006. 01)

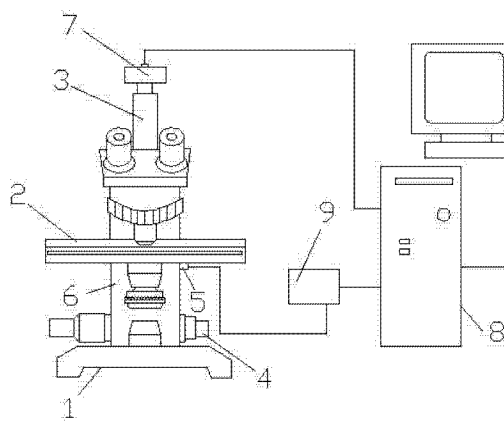
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

基于显微镜的数字切片自动聚焦装置及其方法

(57) 摘要

本发明的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置及其方法,包括三目显微镜和计算机,三目显微镜上安装有可沿 Z 轴方向自由移动的自动载物平台、安装有与计算机相连的数码相机的扫描目镜和进行聚焦作用的调焦旋钮;聚焦方法为改进的过峰变步长爬山式聚焦搜索方法,快速得到清晰的具备视野图像。本发明采用高精度的自动载物平台,可由计算机发出指令,控制该自动载物平台进行 Z 轴方向上进行移动,采用改进的过峰变步长爬山式聚焦搜索方法,同时采用高速数码相机与高精度自动载物平台配合,可减少数字切片扫描时间,减少机械误差对聚焦效果的影响,克服了传统固定步长聚焦算法陷入震荡等问题,快速精准实现确定最佳焦平面。



1. 基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,包括三目显微镜和计算机,其特征在于:所述三目显微镜上安装有自动载物平台、扫描目镜和调焦旋钮,所述自动载物平台用于沿 Z 轴方向自由移动;所述扫描目镜上安装有数码相机,该数码相机与计算机相连;所述调焦旋钮上连接有 Z 轴电机;所述 Z 轴电机连接有自动载物平台控制器,该自动载物平台控制器与计算机相连。

2. 根据权利要求 1 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,其特征在于:所述自动载物平台可拆卸地安装在三目显微镜上,该自动载物平台在 Z 轴电机的作用下,沿 Z 轴方向移动。

3. 根据权利要求 2 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,其特征在于:所述自动载物平台沿 Z 轴方向重复定位精度小于 $0.5\mu\text{m}$ 。

4. 根据权利要求 1 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,其特征在于:所述数码相机为高速面阵数码相机,通过 USB3.0 连接线与计算机连接,该高速面阵数码相机的帧频为 100 帧以上。

5. 根据权利要求 1 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,其特征在于:所述自动载物平台上固连有聚焦套筒,所述调焦旋钮与 Z 轴电机通过聚焦套筒连接。

6. 一种基于权利要求 1 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法,其特征在于,包括如下步骤:

图像采集:设定自动载物平台的 Z 轴初始位置,通过图像采集模块进行图像采集;

清晰度计算:通过清晰度计算模块得到当前视野图像清晰度值;

Z 轴长距位移:长距调节自动载物平台的 Z 轴方向位置,并再次采集当前局部视野图像;

清晰度比较:通过清晰度判定模块测试得到图像清晰度判定结果;

最佳聚焦平面判定:根据图像清晰度模块的判定结果,反馈给计算机,并由计算机控制寻找最佳聚焦平面。

7. 根据权利要求 6 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法,其特征在于,所述步骤具体为:

1) 设定自动载物平台位于 S_0 处,通过图像采集模块对初始图像进行采集;

2) 通过清晰度计算模块对步骤 1) 采集的初始图像进行清晰度计算,得到初始图像的清晰度 T_0 ;

3) 调节自动载物平台沿 Z 轴方向移动步长 L 至 S_1 位置, $S_1 = S_0 + L$, 通过图像采集模块对 S_1 处图像进行采集;

4) 根据步骤 2) 计算得到 S_1 处图像的清晰度 T_1 ;

5) 由清晰度判定模块对 T_0 和 T_1 的大小进行判断,得到下述两种判定情况;

6) 当 $T_1 < T_0$ 时,清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器,进而调节自动载物平台移动步长 $-1.5L$ 至 S_{2I} 位置, $S_{2I} = S_1 - 1.5L = S_0 - 0.5L$, 进行 S_{2I} 处图像的采集,并由步骤 2) 得到 S_{2I} 处图像的清晰度 T_{2I} , 且变换步长 $L' = L/2$; T_{2I} 与 T_0 通过清晰度判定模块进行二次比较;

7) 当 $T_1 \geq T_0$ 时,清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器,进而调节自动载物平台移动步长 L 至 S_{2II} 位置, $S_{2II} = S_1 + L = S_0 + 2L$, 进行 S_{2II} 处图像的采集,并由步骤 2)

得到 S_{2II} 处图像的清晰度 T_{2II} , 步长 L 不变; T_{2II} 与 T_1 通过清晰度判定模块进行二次比较;

8) 根据清晰度判定模块判断的结果分别重复步骤 6) 和 7), 直至自动载物平台在可移动距离小于短距步长 $L^\#$ 时, 停止搜索, 出现清晰度 $T_N = T_{N-1}$, 得到最清晰位置范围 $S_{N-1} \sim S_N$;

9) 在 $S_{N-1} \sim S_N$ 位置范围内进行短距自动跟焦方法, 该方法的步骤同步骤 1) ~ 8), 所述移动距步长为 $L^\#$, 直至自动载物平台可移动距离小于极限步长 L^* 时, 停止搜索, 得到最清晰位置 S'_N 的图像。

8. 根据权利要求 7 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法, 其特征在于, 步骤 2) 中所述清晰度计算步骤为:

1) 分别计算图像的 0 度、45 度、90 度、135 度四个方向的共生矩阵, 该共生矩阵的计算公式为: 设 $f(x, y)$ 为一幅二维数字图象, 其大小为 $M \times N$, 灰度级别为 Ng , 则满足对应空间关系的灰度共生矩阵为

$$G(i, j) = C\{(x_1, y_1), (x_2, y_2) \in M \times N | f(x_1, y_1) = i, f(x_2, y_2) = j\}$$

其中, $C(x)$ 表示集合 x 中的元素个数, 显然 G 为 $Ng \times Ng$ 的矩阵, 若 (x_1, y_1) 与 (x_2, y_2) 间距离为 d , 两者与坐标横轴的夹角为 θ , 则可以得到各种间距及角度的灰度共生矩阵 $G(i, j, d, \theta)$;

2) 利用共生矩阵计算清晰度值: 图像清晰度值 T 的计算公式为:

$$T = \sum_{n=0}^{k=1} n^2 \left\{ \sum_{|i-j|=n} G(i, j) \right\},$$

T 反映了图像的清晰度和纹理沟纹深浅的程度; 纹理沟纹越深, 其值越大, 视觉效果越清晰; 反之, 其值越小, 则沟纹越浅, 视觉效果越模糊。

9. 根据权利要求 7 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法, 其特征在于: 所述 $L = 30 \mu m$, $L^\# = 5 \mu m$ 。

10. 根据权利要求 7 所述的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法, 其特征在于: 所述的 $L^* = 0.5 \mu m$ 。

基于显微镜的数字切片自动聚焦装置及其方法

技术领域

[0001] 本发明涉及显微镜自动聚焦技术领域,尤其涉及一种基于显微镜的数字切片自动聚焦装置及其方法。

背景技术

[0002] 数字切片成像过程中,聚焦是一个非常关键的步骤,聚焦效果直接影响图像成像的清晰度,直接影响数字切片的扫描质量。

[0003] 显微镜常用的自动聚焦方法主要采用爬坡函数搜索当前视场的最佳聚焦,通常基于一个视场,定长移动 Z 轴位置抓取若干幅图像,再计算这些若干幅不同 Z 层面图像的图像清晰度,最大的图像清晰度对应的那幅图像的平面就是最佳聚焦面。这种方法简单有效,能得到每个视场的最佳聚焦图像。但这种情况下固定的步长很容易使聚焦陷入振荡。

发明内容

[0004] 为解决以上问题,本发明提供了一种快速、精准的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置及其方法。

[0005] 本发明提供的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置,包括三目显微镜和计算机,所述三目显微镜上安装有自动载物平台、扫描目镜和调焦旋钮,所述自动载物平台用于沿 Z 轴方向自由移动;所述扫描目镜上安装有数码相机,该数码相机与计算机相连;所述调焦旋钮上连接有 Z 轴电机;所述 Z 轴电机连接有自动载物平台控制器,该自动载物平台控制器与计算机相连。

[0006] 本技术方案中自动载物平台的控制元件——自动载物平台控制器与计算机相连,可由计算机上设计的程序控制自动载物平台运作,自动载物平台 Z 轴电机的控制下,进行 Z 轴方向的移动。

[0007] 自动载物平台控制器通过串口与计算机连接,获取并接收计算机的运动指令;该自动载物平台控制器连接有 Z 轴电机,通过接收到的运动指令传递给 Z 轴电机,以控制 Z 轴电机的运动状态;该 Z 轴电机的状态也可以通过数据线返回给自动载物平台控制器并通知计算机作出相应的处理。

[0008] 进一步的,所述自动载物平台可拆卸地安装在三目显微镜上,该自动载物平台在 Z 轴电机的作用下,沿 Z 轴方向移动。

[0009] 本技术方案中自动载物平台为优选的高精度自动载物平台,可由步进电机控制自动进行 Z 轴方向运动,使得测量精度可控,不会受硬件机械误差影响。

[0010] 进一步的,所述自动载物平台沿 Z 轴方向重复定位精度小于 $0.5\mu\text{m}$ 。

[0011] 本技术方案中具体描述了自动载物平台可在电机的带动下实现 Z 轴方向的自由移动,使显微镜的自动聚焦更为精确,更利于快速寻找最佳聚焦平面。

[0012] 进一步的,所述数码相机为高速面阵数码相机,通过 USB3.0 连接线与计算机连接,该高速面阵数码相机的帧频为 100 帧以上。

[0013] 本技术方案中采用的高速面阵数码相机可使全景显微成像的速度大幅度大提高,缩短了本自动聚焦方法的时间。

[0014] 进一步的,所述自动载物平台上固连有聚焦套筒,所述调焦旋钮与 Z 轴电机通过聚焦套筒连接。

[0015] 本技术方案中具体描述了调焦旋钮与 Z 轴电机的连接方式, Z 轴电机通过聚焦套筒控制调焦旋钮的转动,实现目镜对载物台上玻片样本区域的自动聚焦,保证目镜采集的画面清晰。

[0016] 进一步的,数字切片自动聚焦方法,包括如下步骤:

[0017] 图像采集:设定自动载物平台的 Z 轴初始位置,通过图像采集模块进行图像采集;

[0018] 清晰度计算:通过清晰度计算模块得到当前视野图像清晰度值;

[0019] Z 轴长距位移:长距调节自动载物平台的 Z 轴方向位置,并再次采集当前局部视野图像;

[0020] 清晰度比较:通过清晰度判定模块测试得到图像清晰度判定结果;

[0021] 最佳聚焦平面判定:根据图像清晰度模块的判定结果,反馈给计算机,并由计算机控制寻找最佳聚焦平面。

[0022] 本技术方案描述了该基于显微镜的数字切片自动聚焦装置进行聚焦的方法,聚焦方法为改进的过峰变步长爬山式聚焦搜索方法,同时采用高速数码相机与高精度自动载物平台相互配合,快速得到清晰的局部视野图像。采用上述方法,可减少数字切片扫描时间,减少机械误差对聚焦效果的影响,克服了传统固定步长聚焦算法陷入震荡等问题,快速精准实现确定最佳焦平面。

[0023] 显微镜聚焦准确再采集的图像清晰度比较高,聚焦不准再采集的图像比较模糊。通过分析采集图像的清晰度特征可以得出清晰度和焦距的分布曲线。通过算法寻找曲线峰值的过程就是图像自动聚焦的过程。

[0024] 进一步的,所述步骤具体为:

[0025] 1) 设定自动载物平台位于 S_0 处,通过图像采集模块对初始图像进行采集;

[0026] 2) 通过清晰度计算模块对步骤 1) 采集的初始图像进行清晰度计算,得到初始图像的清晰度 T_0 ;

[0027] 3) 调节自动载物平台沿 Z 轴方向移动步长 L 至 S_1 位置, $S_1 = S_0 + L$,通过 图像采集模块对 S_1 处图像进行采集;

[0028] 4) 根据步骤 2) 计算得到 S_1 处图像的清晰度 T_1 ;

[0029] 5) 由清晰度判定模块对 T_0 和 T_1 的大小进行判断,得到下述两种判定情况;

[0030] 6) 当 $T_1 < T_0$ 时,清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器,进而调节自动载物平台移动步长 $-1.5L$ 至 S_{2I} 位置, $S_{2I} = S_1 - 1.5L = S_0 - 0.5L$,进行 S_{2I} 处图像的采集,并由步骤 2) 得到 S_{2I} 处图像的清晰度 T_{2I} ,且变换步长 $L' = L/2$; T_{2I} 与 T_0 通过清晰度判定模块进行二次比较;

[0031] 7) 当 $T_1 \geq T_0$ 时,清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器,进而调节自动载物平台移动步长 L 至 S_{2II} 位置, $S_{2II} = S_1 + L = S_0 + 2L$,进行 S_{2II} 处图像的采集,并由步骤 2) 得到 S_{2II} 处图像的清晰度 T_{2II} ,步长 L 不变; T_{2II} 与 T_1 通过清晰度判定模块进行二次比较;

[0032] 8) 根据清晰度判定模块判断的结果分别重复步骤 6) 和 7), 直至自动载物平台在可移动距离小于短距步长 $L^{\#}$ 时, 停止搜索, 出现清晰度 $T_N = T_{N-1}$, 得到最清晰位置范围 $S_{N-1} \sim S_N$;

[0033] 9) 在 $S_{N-1} \sim S_N$ 位置范围内进行短距自动跟焦方法, 该方法的步骤同步骤 1) ~ 8), 所述移动距步长为 $L^{\#}$, 直至自动载物平台可移动距离小于极限步长 L^* 时, 停止搜索, 得到最清晰位置 S'_N 的图像。

[0034] 本技术方案中具体描述了该基于显微镜的数字切片自动聚焦装置进行聚焦的方法步骤, 其中步骤 1) ~ 8) 为长距自动聚焦步骤, 原理是: 在焦距位置没有任何预估的情况下执行的聚焦算法, 经过反复的爬坡计算最终将清晰度锁定在曲线的峰值位置。在数字切片扫描开始进行之后, 实际的焦距位置已经有一定的初步判定, 被控制在平台移动一起的误差 (3-6 μm) 之内, 聚焦方法则进入步骤 9), 用短距自动跟焦算法进行自动聚焦, 短距自动跟焦算法原理和长距自动聚焦的一样, 但是峰值的搜索范围被控制在峰值两边的很小区间, 一般沿 z 轴方向移动三次就可以确定聚焦点, 大大缩短整个数字切片扫描聚焦时间。单次聚焦原理见图 3。

[0035]

[0036] 根据上述步骤搜索下去即使对焦范围很大也能很快找到准焦平面并且可以有效地避免局部极值的干扰。

[0037] 进一步的, 步骤 2) 中所述清晰度计算步骤为:

[0038] 1) 分别计算图像的 0 度、45 度、90 度、135 度四个方向的共生矩阵, 该共生矩阵的计算公式为: 设 $f(x, y)$ 为一幅二维数字图象, 其大小为 $M \times N$, 灰度级别为 N_g , 则满足对应空间关系的灰度共生矩阵为

$$[0039] \quad G(i, j) = C\{(x_1, y_1), (x_2, y_2) \in M \times N | f(x_1, y_1) = i, f(x_2, y_2) = j\}$$

[0040] 其中, $C(x)$ 表示集合 x 中的元素个数, 显然 G 为 $N_g \times N_g$ 的矩阵, 若 (x_1, y_1) 与 (x_2, y_2) 间距离为 d , 两者与坐标横轴的夹角为 θ , 则可以得到各种间距及角度的灰度共生矩阵 $G(i, j, d, \theta)$;

[0041] 2) 利用共生矩阵计算清晰度值: 图像清晰度值 T 的计算公式为:

$$[0042] \quad T = \sum_{n=0}^{k=1} n^2 \left\{ \sum_{|i-j|=n} G(i, j) \right\},$$

[0043] T 反映了图像的清晰度和纹理沟纹深浅的程度; 纹理沟纹越深, 其值越大, 视觉效果越清晰; 反之, 其值越小, 则沟纹越浅, 视觉效果越模糊。

[0044] 进一步的, 所述 $L = 30 \mu\text{m}$, $L^{\#} = 5 \mu\text{m}$ 。

[0045] 进一步的, 所述的 $L^* = 0.5 \mu\text{m}$ 。

[0046] 本发明提供的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置采用高精度的自动载物平台, 可由计算机发出指令, 控制该自动载物平台进行 Z 轴方向的进行自由移动, 采用改进的过峰变步长爬山式聚焦搜索方法, 同时采用高速数码相机与高精度自动载物平台配合, 可减少数字切片扫描时间, 减少机械误差对聚焦效果的影响, 克服了传统固定步长聚焦算法陷入震荡等问题, 快速精准实现确定最佳焦平面。

附图说明

[0047] 图 1 为本发明的结构示意图；

[0048] 图 2 为本发明中自动聚焦方法的流程图；

图 3 为单次聚焦原理图。

具体实施方式

[0049] 为了使本发明实现的技术手段、创作特征、达成目的与功效易于明白了解，下面结合具体图示，进一步阐述本发明。

[0050] 实施例 1

[0051] 如图 1 所示，本实施例提供的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置，包括三目显微镜 1 和计算机 8，该三目显微镜 1 上安装有自动载物平台 2、扫描目镜 3 和调焦旋钮 4，该自动载物平台 2 可拆卸地安装于三目显微镜 1 上，用于沿 Z 轴方向移动，且沿 Z 轴方向重复定位精度为 0.09 μ m，该自动载物平台 2 固连有聚焦套筒 6；该扫描目镜 3 上安装有高速面阵数码相机 7，通过 USB3.0 连接线与计算机 8 连接，该高速面阵数码相机 7 的帧频为 120 帧；所述调焦旋钮 4 上通过聚焦套筒 6 与 Z 轴电机 5 相连；该 Z 轴电机 5 均通过 RS232 连接线连接自动载物平台控制器 9，由自动载物平台控制器 9 控制 Z 轴电机 5 的运行；该 Z 轴电机 5 用于控制自动载物平台 2 沿 Z 轴方向移动；该自动载物平台控制器 9 与计算机 8 相连。

[0052] 如图 2 所示，本实施例的基于显微镜的数字切片自动聚焦方法为：

[0053] 1) 设定自动载物平台位于 S_0 处，通过图像采集模块对初始图像进行采集；

[0054] 2) 通过清晰度计算模块对步骤 1) 采集的初始图像进行清晰度计算，得到初始图像的清晰度 T_0 ；

[0055] 3) 调节自动载物平台沿 Z 轴方向移动步长 L 至 S_1 位置， $S_1 = S_0 + L$ ，通过图像采集模块对 S_1 处图像进行采集；

[0056] 4) 根据步骤 2) 计算得到 S_1 处图像的清晰度 T_1 ；

[0057] 5) 由清晰度判定模块对 T_0 和 T_1 的大小进行判断，得到下述两种判定情况；

[0058] 6) 当 $T_1 < T_0$ 时，清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器，进而调节自动载物平台移动步长 $-1.5L$ 至 S_{2I} 位置， $S_{2I} = S_1 - 1.5L = S_0 - 0.5L$ ，进行 S_{2I} 处图像的采集，并由步骤 2) 得到 S_{2I} 处图像的清晰度 T_{2I} ，且变换步长 $L' = L/2$ ； T_{2I} 与 T_0 通过清晰度判定模块进行二次比较；

[0059] 7) 当 $T_1 \geq T_0$ 时，清晰度判定模块传递判定信号至自动载物平台控制器，进而调节自动载物平台移动步长 L 至 S_{2II} 位置， $S_{2II} = S_1 + L = S_0 + 2L$ ，进行 S_{2II} 处图像的采集，并由步骤 2) 得到 S_{2II} 处图像的清晰度 T_{2II} ，步长 L 不变； T_{2II} 与 T_1 通过清晰度判定模块进行二次比较；

[0060] 8) 根据清晰度判定模块判断的结果分别重复步骤 6) 和 7)，直至自动载物平台在可移动距离小于短距步长 $L^\#$ 时，停止搜索，出现清晰度 $T_N = T_{N-1}$ ，得到最清晰位置范围 $S_{N-1} \sim S_N$ ；

[0061] 9) 在 $S_{N-1} \sim S_N$ 位置范围内进行短距自动跟焦方法，该方法的步骤同步骤 1) ~ 8)，所述移动距步长为 $L^\#$ ，直至自动载物平台可移动距离小于极限步长 L^* 时，停止搜索，得到最清晰位置 S'_N 的图像。

[0062] 其中, $L = 30 \mu\text{m}$, $L^\# = 5 \mu\text{m}$, $L^* = 0.5 \mu\text{m}$ 。

[0063] 上述步骤 2) 中清晰度计算步骤为:

[0064] 1) 分别计算图像的 0 度、45 度、90 度、135 度四个方向的共生矩阵, 该共生矩阵的计算公式为: 设 $f(x, y)$ 为一幅二维数字图像, 其大小为 $M \times N$, 灰度级别为 N_g , 则满足对应空间关系的灰度共生矩阵为

[0065] $G(i, j) = C\{(x_1, y_1), (x_2, y_2) \in M \times N | f(x_1, y_1) = i, f(x_2, y_2) = j\}$

[0066] 其中, $C(x)$ 表示集合 x 中的元素个数, 显然 G 为 $N_g \times N_g$ 的矩阵, 若 (x_1, y_1) 与 (x_2, y_2) 间距离为 d , 两者与坐标横轴的夹角为 θ , 则可以得到各种间距及角度的灰度共生矩阵 $G(i, j, d, \theta)$;

[0067] 2) 利用共生矩阵计算清晰度值: 图像清晰度值 T 的计算公式为:

[0068]
$$T = \sum_{n=0}^{k=1} n^2 \left\{ \sum_{|i-j|=n} G(i, j) \right\},$$

[0069] T 反映了图像的清晰度和纹理沟纹深浅的程度; 纹理沟纹越深, 其值越大, 视觉效果越清晰; 反之, 其值越小, 则沟纹越浅, 视觉效果越模糊。

[0070] 本发明提供的基于显微镜的数字切片自动聚焦装置采用高精度的自动载物平台, 可由计算机发出指令, 控制该自动载物平台进行 Z 轴方向的进行自由移动, 采用改进的过峰变步长爬山式聚焦搜索方法, 同时采用高速数码相机与高精度自动载物平台配合, 可减少数字切片扫描时间, 减少机械误差对聚焦效果的影响, 克服了传统固定步长聚焦算法陷入震荡等问题, 快速精准实现确定最佳焦平面。

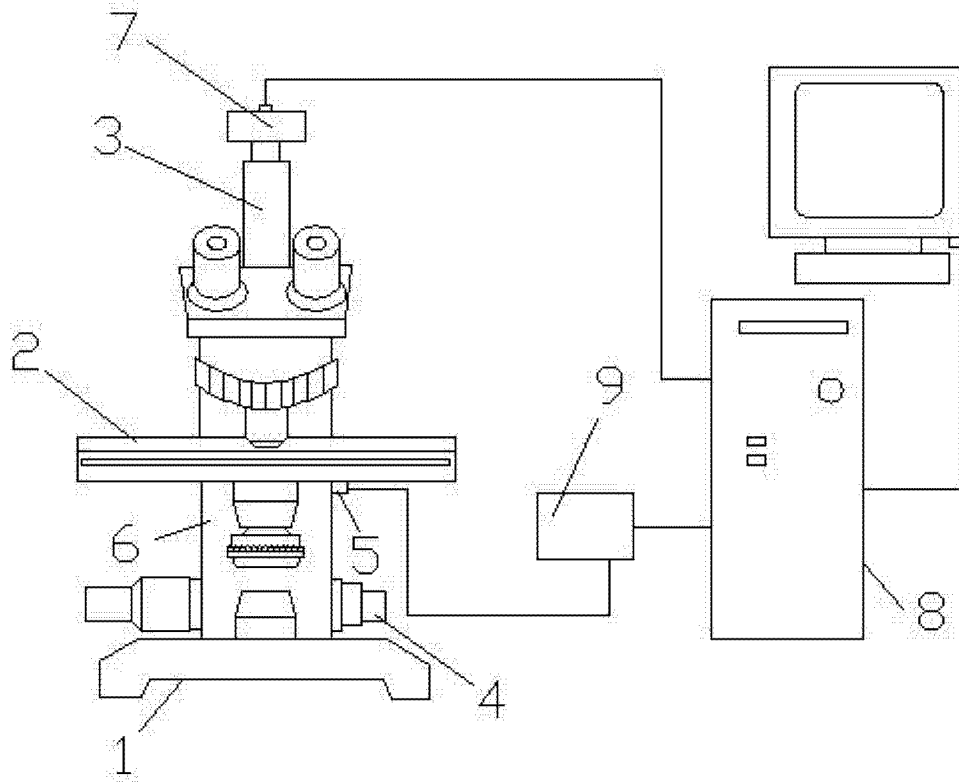


图 1

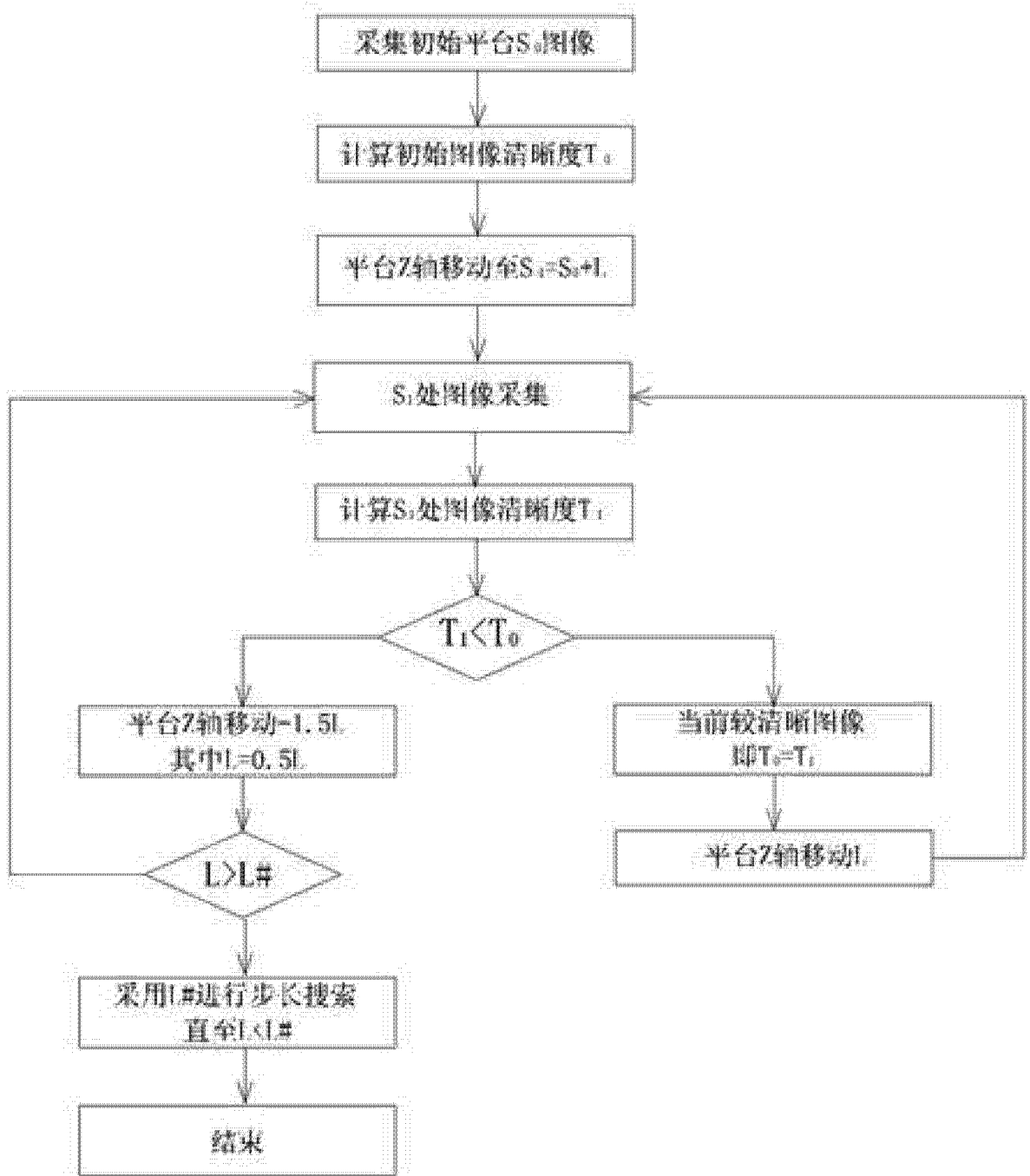


图 2

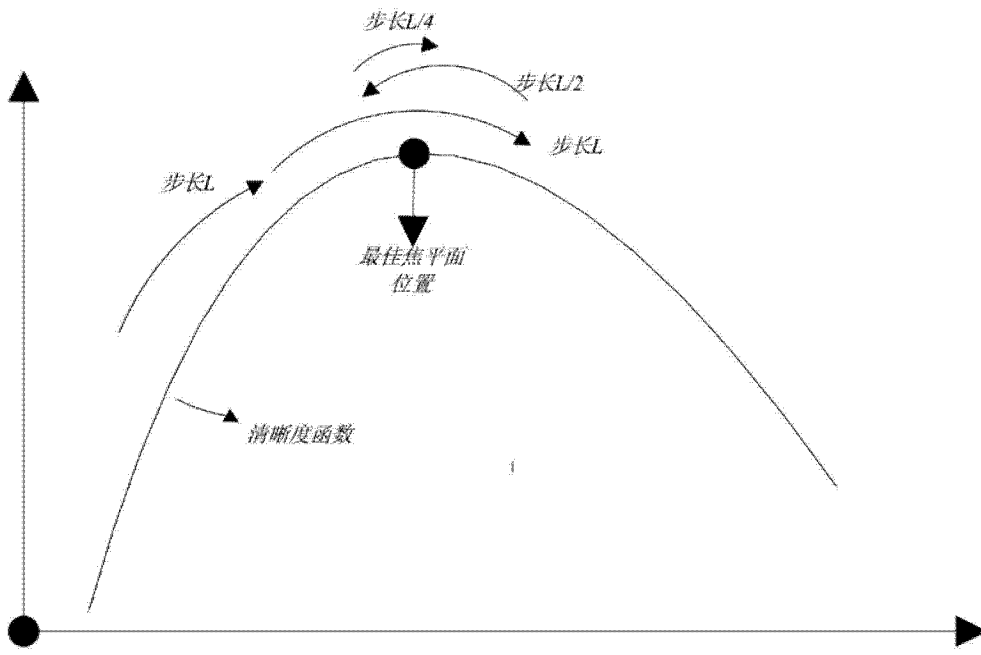


图 3