

文章编号:1671-5497(2006)Suppl.2-0091-06

视觉控制在压电驱动细胞 注射装置中的应用

李欣欣¹, 肖献强², 杨志刚¹, 程光明¹

(1. 吉林大学 机械科学与工程学院, 长春 130022; 2. 合肥工业大学 机械与汽车学院, 合肥 230009)

摘要:提出了基于数字图像处理技术的细胞注射视觉控制系统,采用人工交互控制与计算机自动定位相结合的闭环视觉控制方法,通过 CCD 数字图像采集系统识别出细胞和注射针尖的位置信息,并进行细胞和针尖之间相对距离的动态自动定位和反馈控制。结果表明:控制系统自动定位精度达到 $0.05 \mu\text{m}$,提高了细胞注射精度,解决了目前在细胞注射过程中人工操作工作量大、定位精度不高以及自动化程度低等问题。

关键词:计算机应用;视觉控制系统;数字图像处理;细胞注射装置;自动定位;压电体
中图分类号:TP273 **文献标识码:**A

Application of vision control technology to cell injection device driven by piezoelectrics

Li Xin-xin¹, Xiao Xian-qiang², Yang Zhi-gang¹, Cheng Guang-ming¹

(1. College of Mechanical Science and Engineering, Jilin University, Changchun 1320022, China; 2. College of Mechanical and Automobile Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: A vision control system for the cell injection device based on the numeric image processing technology was proposed. The system adopts a closed-loop vision control method based on the combination of the artificially mutual control and the automatic orientation by computer. The position informations of the cell and the injector needlepoint were recognized by a CCD numeric image collection system, and the dynamic automatic orientation of the distance between the cell and the needlepoint and its feedback control were carried out. The results show that the proposed control system improves the precision level of the cell injection, and achieves the precision of $0.05 \mu\text{m}$, providing a solution of the problems in the existing cell injection process, such as the tedious manual operation, the poor orientation precision, and the low-level automation, etc.

Key words: computer application; vision control system; numerical image processing; cell injection device; automatic orientation; piezoelectrics

近年来,生物工程、细胞和基因工程在国民经济发展中所处的地位愈来愈重要。在细胞克隆、细胞杂交、染色体以及胚胎移植等细胞操作技术

中,对细胞进行药物注射是最常见和最基本的操作。细胞注射是将药液注射进入针尖内孔径为 $1-5 \mu\text{m}$ 的玻璃微针内,通过精确定位以及微位

收稿日期:2005-05-25.

基金项目:“863”国家高技术研究发展计划项目(2002AA421350).

作者简介:李欣欣(1952-),男,副教授.研究方向:压电驱动与控制技术. E-mail:XXX5582@163.com

移调整,使针尖刺入细胞核内进行微量药物注射的过程。动物细胞的直径大约在 $20\ \mu\text{m}$,细胞核直径大约在 $5\ \mu\text{m}$,要求药液分辨率在 $10\text{--}8\ \mu\text{L}$ 级以上^[1-4]。目前国内多家研究机构都进行了应用于细胞或显微操作的微操作机器人系统的研究,并取得了一些阶段性的成果。从已取得的成果来看,微操作的关键技术之一的细胞抓取主要是利用 CCD 和显微镜等组成的多级光学放大系统进行操作现场放大供操作人员观察,然后由操作人员人工定位。这种方法成功率低而且效率不高,特别是定位不精确以及自动化程度不高。在过去的几年里,机器视觉控制无论是在理论上还是在实际应用方面都取得了一定的进展^[5,6]。作者提出利用 CCD、控制计算机、显微镜以及图像采集卡等组成细胞注射视觉控制系统,通过人工交互控制与计算机自动定位相结合的方法,实现了快速、准确地针尖定位,提高了细胞注射的精度和自动化程度。

1 视觉控制系统的组成与原理

1.1 细胞注射装置的原理

细胞注射装置的基本原理是利用一个由精密电动机驱动的宏动台实现细胞的抓取以及移动进入微操作范围内。这个宏动台的工作过程如下:首先由操作人员给系统指定需要抓取的细胞,接下来由系统自动定位和抓取到这个指定的细胞并移动进入由压电驱动器驱动的手机微操作注射台的移动范围内,最后由压电驱动器微操作台实现细胞的注射定位,直到完成整个细胞注射过程。

1.2 视觉控制系统的组成

视觉控制系统是由计算机、图像采集卡、CCD 摄像机、显微镜、压电微动平台控制器、VC++ 编写的数字图像处理软件以及串口通信数据线组成的闭环反馈控制系统。图 1 为视觉控制系统的结构图。

系统中的宏动台主要有 2 个功能,一是完成毛细玻璃管对目标细胞的抓取和吸附,二是利用精密电动机实现较大范围内的移动进入带有注射针的压电微动台的微操作范围内。系统中的压电微动台是利用压电驱动器具有精密驱动和微小位移的优点制作的,主要用于注射针注射时的移动定位。

工作时首先由电动机宏动台将抓取到的细胞移动至压电微动台的移动范围内,接着由压电微

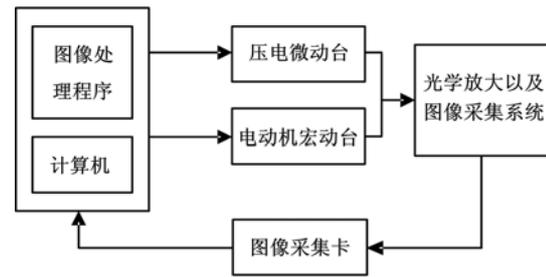


图 1 视觉控制系统结构图

Fig. 1 Framework of vision control system

动台进行定位调整,将注射针头对准吸附在毛细玻璃管上的细胞,并调整附着有细胞的毛细玻璃管与注射针至同一水平直线上。然后系统根据细胞的直径及压电驱动器的步长精度计算出压电驱动器应该移动的步数进行注射微操作。压电微动台的位移精度为 $0.05\ \mu\text{m}$,最大驱动力可达 $23\ \text{N}$,并可根据需要对驱动电压进行调整。

数字图像采集系统为由显微镜和 CCD 摄像机组成的两级放大系统,用于获得细胞注射的现场图像数据以及放大抓取细胞的操作现场供操作人员观察。图像采集卡主要的作用是把 CCD 采集的图像数据送入计算机的内存,供 VC++ 编写的数字图像处理程序调用和处理。

1.3 控制系统工作原理

数字图像采集系统将细胞抓取过程以及注射过程的图像数据通过图像采集卡送入计算机内存。视觉系统通过 VC++ 编写的数字图像处理程序首先将彩色图像转换成灰度图像,图像处理程序通过灰度直方图程序模块统计处理灰度分布特性,利用灰度直方图找出阈值分割,区别出背景和目标物体,再对目标图像进行细胞轮廓的提取获得细胞的中心位置,同时程序利用全局变量记下这个位置信息,最后再利用系统中创建的含有注射针尖位置信息的特殊模板和下面介绍的模板匹配技术对目标图像进行注射针的模板匹配,在程序正确匹配出图像后,利用式(4)计算出针尖的位置,同时程序记下针尖的位置信息。

在 VC++ 数字图像处理程序正确地识别出目标细胞的位置以及注射针尖的位置后,其程序中的视觉控制模块可计算出目标细胞和注射针尖的相对位置,并通过串口通信协议与电动机宏动台以及压电微动台控制器进行通信,把细胞送入压电微动台的移动注射范围内;然后再通过压电微动台实现细胞的精确定位。在此过程中,CCD

等数字图像采集系统不断地把目标细胞和注射针尖的实时位置图像通过图像采集卡输入计算机内存,这样程序就不断地进行处理识别、发送相应的移动控制协议,直到把细胞精确地送入指定的注射位置,整个控制过程构成了一个闭环视觉控制系统。

2 细胞轮廓的提取

2.1 彩色图像变换成灰度图像

由于图像采集卡获得的是 24 位彩色图像,为了获得更高的图像处理速度,应将彩色图像转化为灰度图像。一般情况下彩色图像每个像素用 3 个字节表示,每个字节对应着 R、G、B(红、绿、蓝)分量的亮度。转换后的灰度图像的每个像素用一个字节表示该点的灰度值,它的值在 0—255 之间,数值越大,该点越白,即越亮,数值越小则越黑。

2.2 图像预处理

现实中图像在形成、传输以及接受过程中,不可避免地存在着外部干扰和内部干扰,如数字化过程中的量化噪声、图像传输过程中的误差以及人为因素等。因此在图像转换成灰度图像后要进行除噪处理,本文采用中值滤波法进行除噪处理。

图像增强是图像处理的最基本手段,它往往作为各种图像分析与处理时的预处理过程。图像增强的目的是通过对图像灰度的修正来改善图像的视觉效果,提供直观、清晰、适合于分析的图像。直方图均衡化算法是图像增强空域法中最常用、最重要的算法之一。其原理是把一幅已知灰度概率分布的图像中的像素灰度做某种映射变换,使它变成一幅具有均匀灰度概率分布的新图像,即图像变得更清晰,本文主要采用直方图图像增强法。

2.3 边缘检测

图像边缘检测是进行图像分割的重要依据^[7],它是一种使图像的轮廓更加突出的图像处理技术。在对图像进行特征提取和轮廓提取之前,一般都要进行边缘检测^[8]。Sobel 边缘检测算子是一种较好的边缘检测算子。它主要利用水平边缘算子和垂直边缘算子对每个点作卷积,2 个算子模板独立工作,最后将 2 个卷积结果的最大值作为该点的输出值。

2.4 图像分割

由图像采集卡输入到计算机内存中的图像数

据经过灰度转换及除噪、增强处理后,为了进行细胞注射还必须识别出各个细胞,这就需要对图像进行分割。图像分割的基础就是像素间的相似性和跳变性,所谓的“相似性”是指某个区域内的像素具有某种相似的特性,如灰度一样;所谓“跳变性”是指特性不连续,如灰度值突变。图像分割就是把图像分割成若干个有意义区域的处理技术。这些区域互不交叠,每个区域内的灰度值相近,不同区域间的灰度值有着明显的区别。

本文采用阈值分割的方法对灰度图像进行图像分割^[9-11]。阈值分割主要利用图像中要提取的目标物体与背景在灰度上的差异,选择一个合适的阈值,通过判断图像中的每个像素的灰度属性是否满足阈值的要求来确定图像中该像素点是属于目标区还是属于背景区,从而产生二值图像。该方法计算简单,而且总能用封闭而且连通的边界定义不交叠的区域,被分割图像的灰度值的区别越明显该方法越有效。

在使用阈值分割方法时,选择合适的阈值成为正确分割的关键。在进行阈值分割前首先从图像的灰度分布直方图中统计出图像的灰度信息。由于物体和背景之间的灰度级有明显的区别。因此灰度分布直方图上会有 2 个比较明显的峰值,一般选择 2 个峰值之间的最小值作为最佳阈值 T 。

2.5 细胞轮廓的提取

完成了图像中细胞的阈值分割以后,还须进行细胞轮廓的提取,以便于细胞注射控制系统准确地识别出单个细胞。对于进行过阈值分割的图像进行轮廓提取的原理如下:利用一个 3×3 的矩阵模板依次处理图像中的每个像素,如果中间的像素为黑(模板中的 0),且它的 8 个相邻点皆为黑(模板中的 1—8 像素),则将该点删除。最后图像中剩下的就是细胞的轮廓图。

3 细胞注射针的定位

为了实现细胞注射装置注射过程中的视觉控制,在识别出细胞位置的前提下,必须能够识别出注射针的针尖位置,这样才能判断出细胞和针尖的相对位置,进而通过 VC++ 编写的视觉控制程序模块发送相应的控制协议来驱动微动平台进行相应位置的微移动。

由于注射针尖细长而且针尖的末端逐渐变小,所以采用单像素直接识别的方法来处理针尖

的定位不是很理想。为此,作者利用图像匹配的方法来解决针尖的定位问题,如图2所示。图像匹配是指在计算机识别事物的过程中,经常把在不同时间、不同成像条件下对同一事物的两幅或多幅图像在空间上对准,或者根据已知模式到另一幅图像中寻找相应的模式。

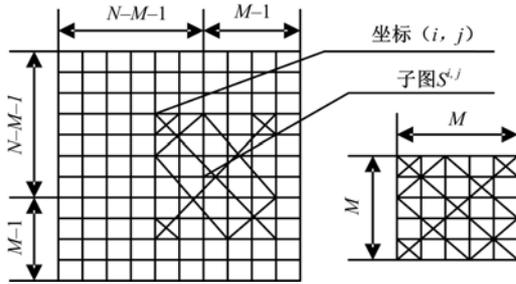


图2 图像匹配搜索示意图

Fig.2 Sketch map of image matching search

设模板(阈值为 T)叠放在搜索图 S 上,模板覆盖下的那块搜索图叫做子图 $S^{i,j}$,其中 i,j 为这块子图左上角的像素点在 S 图中的坐标,称为参考点,从图2中可看出, i,j 的取值范围为 $1 < i,j < N - M + 1$ 。

比较 T 和 $S^{i,j}$,若两者一致,则 T 与 $S^{i,j}$ 之差为零。所以,可用下式来衡量 T 与 $S^{i,j}$ 的相似程度

$$D(i,j) = \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [S^{i,j}(m,n) - T(m,n)]^2 \quad (1)$$

展开式(1),得

$$D(i,j) = \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [S^{i,j}(m,n)]^2 - \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [S^{i,j} \times T(m,n)] + \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [T(m,n)]^2 \quad (2)$$

式(2)右边第3项表示模板的总能量,是一个常数,与坐标 (i,j) 无关;第1项是子图 $S^{i,j}$ 的能量,它随 (i,j) 位置的变化而缓慢改变;第2项是子图和模板的相互关系,随坐标 (i,j) 而改变, T 与 $S^{i,j}$ 匹配时这项值最大,因此可用下式作相似性测度:

$$R(i,j) = \frac{\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [S^{i,j}(m,n) \times T(m,n)]}{\sqrt{\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [S^{i,j}(m,n)]^2} \sqrt{\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^M [T(m,n)]^2}} \quad (3)$$

从被搜索图像上的(1,1)坐标处开始进行模

板匹配,每次计算匹配相似性后,保留这次匹配计算的 $R(i,j)$ 数值以及获得这个数值的坐标 (i,j) 。将这个数值与上一个坐标处的 R 数值相比较,取两者中较大的 R 值,同时系统记下较大 R 值处的坐标。这样依次处理整个被搜索图像上的每个像素,最终获得最大 R 值的位置被认为是最终匹配成功的位置 (i,j) 。但图像匹配成功还不能直接获得针尖的具体位置,还需通过创建含有位置信息的特殊模板来计算针尖的位置。本系统中创建的含有位置信息的特殊模板结构如图3所示。

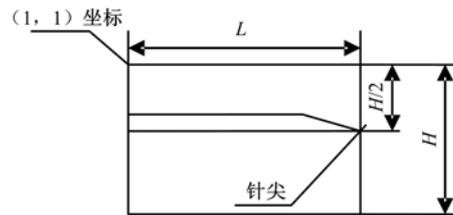


图3 模板结构

Fig.3 Template framework

从图3中可以得出,如果模板在被搜索图上找到相应的模板匹配处,假设模板的(1,1)坐标和被搜索图上的 (i,j) 坐标相对应,且模板的长为 L ,高为 H ,则针尖的坐标 (x_{point}, y_{point}) 为:

$$\begin{cases} x_{point} = i + L \\ y_{point} = j + H/2 \end{cases} \quad (4)$$

这样系统就能够准确地定位出针尖在图像中的坐标。

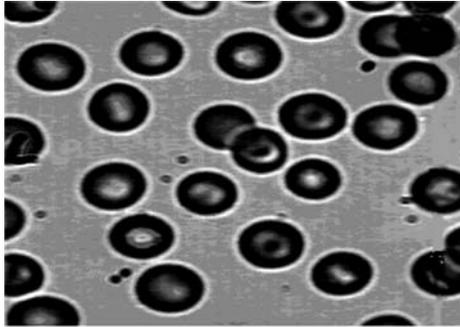
4 实验

系统进行标定后,数字图像采集系统实时采集现场数据,进行数字图像程序处理。处理后的灰度图像的灰度分布直方图如图4所示,由图可见最佳阈值为 $T = 110$ 。接下来利用获得最佳阈值进行阈值分割(见图5),然后进行目标细胞轮廓的提取,提取的细胞轮廓如图6所示。最后根据式(4)计算出的针尖位置,进行注射针尖的模板匹配,匹配的结果如图7所示。由 CCD 以及显微镜组成的两级光学放大系统可使控制系统的定位精度达到 $0.05 \mu\text{m}$ 。

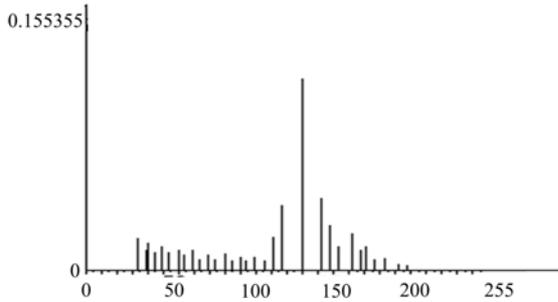
视觉控制系统在注射针不断移动的情况下动态地识别出针尖和细胞的相对距离,设识别出的细胞的位置为 (x_1, y_1, z_1) ,针尖的位置为 (x_2, y_2, z_2) ,则宏动台或者微动台在 xyz 方向上相应的移动距离为 $(|x_1 - x_2|, |y_1 - y_2|, |z_1 - z_2|)$ 。

在针尖向细胞移动的动态定位过程中,系统

中有一个模块程序采集并记录了针尖从开始点直到刺入细胞中心这段时间内一些离散的时间点和此时针尖与细胞的相对距离,如图 8 所示。



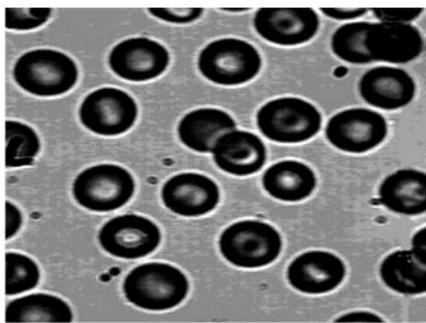
(a) 细胞灰度图像



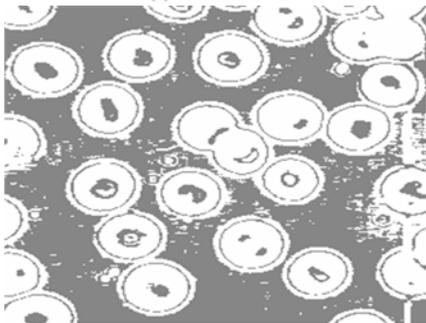
(b) 细胞灰度图像灰度分布图

图 4 细胞灰度图与它的灰度直方图

Fig. 4 Cell gray picture and its gray-level histogram



(a) 细胞灰度图像



(b) 阈值分割后的结果

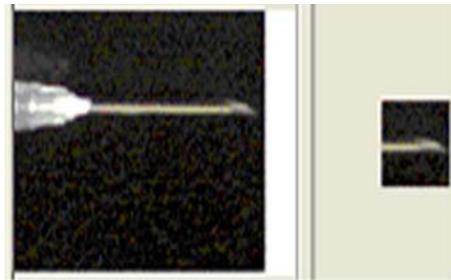
图 5 阈值 $T = 110$ 的图像处理结果

Fig. 5 Cell picture processing result at $T = 110$

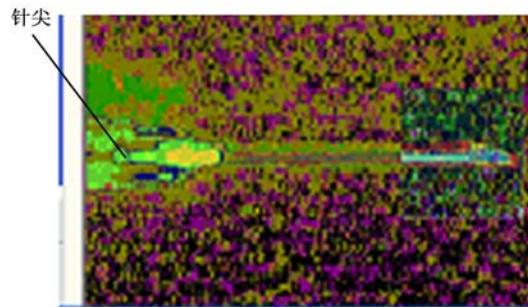


图 6 轮廓提取的效果示意图

Fig. 6 Sketch map of extracting contour of cell



(a) 注射针的工作现场图与模板



(b) 匹配结果图

图 7 匹配结果的程序抓图

Fig. 7 Result of matching from screen

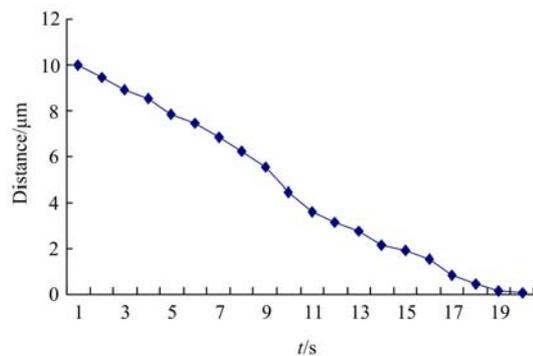


图 8 针尖与细胞的距离和时间的拟合曲线

Fig. 8 Fitting curve of distance between cell and needlepoint versus time

5 结束语

研究的视觉控制系统定位精度达到像素级,并实现了高精度动态自动定位,解决了目前在细胞注射过程中人工操作工作量大、定位不准确以及效率低等问题。随着生物工程以及基因工程等领域的不断发展,基于计算机视觉控制的技术也必将得到不断地发展和广泛地应用。

参考文献:

- [1] 章海军,黄峰. 压电陶瓷冲击驱动机构在微细进给与操作中的应用[J]. 浙江大学学报:工学版,2000,34(5):519-521.
Zhang Hai-jun, Huang Feng. Piezo impactdrive mechanism for precise approach and manipulation[J]. Journal of Zhejiang University (Engineering Science), 2000,34(5):519-521.
- [2] 刘天军,侯丽雅,章维一. 细胞微量注射装置的研究[J]. 机械工程学报,2004,40(5):161-164.
Liu Tian-jun, Hou Li-ya, Zhang Wei-yi. Research on the device of cell medicine microinjection[J]. Chinese Journal of Mechanical Engineering, 2004,40(5):161-164.
- [3] Ho C M. Micro-electro-mechanical system(MEMS) and fluid flows[J]. Annual Review of Fluid Mechanics, 1998, 30:579-612.
- [4] Gallardo B S, Gupta V K, Eager F D, et al. Electrochemical principles for active control of liquid sonomillimeterscales[J]. Science, 1999, 283:57-60.
- [5] 毕树生,宗光华. 用于生物工程的微操作机器人系统的若干问题[J]. 仪器仪表学报,2000,21(6):560-563.
Bi Shu-sheng, Zong Guang-hua. Some issues on bio-micromanipulator system[J]. Instrument and Appearance Transaction, 2000,21(6):560-563.
- [6] 赵清杰,连广宇,孙增圻. 机器人视觉伺服综述[J]. 控制与决策,2001,16(6):849-953.
Zhao Qing-jie, Lian Guang-yu, Sun Zeng-qi. Survey of robot visual servoing[J]. Control and Decision, 2001, 16(6):849-953.
- [7] 赵玮,宗光华,毕树生. 微操作机器人的视觉伺服控制[J]. 机器人,2001,23(2):146-150.
Zhao Wei, Zong Guang-hua, Bi Shu-sheng. Visual servo control of robot micromanipulator[J]. Robot, 2001, 23(2):146-150.
- [8] Health A, Sarkar S, Sanocki T, et al. Comparison of edge detectors: a methodology and initial study[J]. Computer Vision and Image Understanding, 1998, 69(1):28-54.
- [9] Kittler J, Illingworth J. Minimum error thresholding[J]. Pattern Recognition, 1986, 19(1):41-47.
- [10] Kapur J N, Sahoo P K, Wong A K C. A new method for gray-level picture thresholding using the entropy of the histogram[J]. Comput Vis Graph Image Process, 1985,29(3):273-285.
- [11] Orlando J, Tubias Rui Seara. Image segmentation by histogram thresholding using fuzzy sets[J]. IEEE Trans Image Processing, 2002, 11(12):1457-1465.