

Çok Noktadan Otomatik Odaklama Kontrollü Sayısal Mikroskop

Ahmet Gürol KALAYCI¹, Hüseyin ALTUĞ², Suat ÖZKORUCUKLU²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Enerji Araştırmaları Arş.Uyg.Merkezi, Isparta

²Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Isparta

Özet: Bu çalışmada, sayısal optik mikroskoplarda otomatik odaklama yapılmasını sağlayan elektronik devre kontrollü bir mekanik sistemin tasarımı ve görüntü işleme yazılımı ile birlikte gerçekleştirilmiştir. Çok noktadan kontrol yöntemi temelinde dayanan bu sistem ile homojen yüksekliğe sahip olmayan objelerin incelenmesinde mikroskobun otomatik odaklanması sağlanmıştır. Objelerin şekillerine göre görüntü üzerinde belirlenen sabit on bir nokta aracılığı ile objenin şekline en uygun odaklama noktası belirlenir ve motorlu mekanizma ile mikroskobun Z eksenindeki konumu en uygun noktaya taşınır. Çalışmalar otomatik odaklama sisteminin %90 doğruluk ile çalıştığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Optik, Mikroskop, Otomatik odaklama, Görüntü işleme, Keskinlik, Evrişim

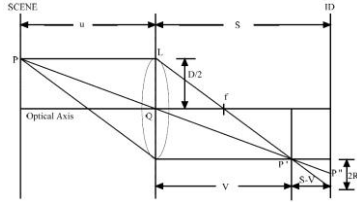
Multipoint Auto Focus Controlled Digital Microscope

Abstract: In this study, a mechanical system design for a digital optical microscope that capable of electronic circuitry controlled auto-focusing and image-processing software was carried out. Auto focusing of the microscope was achieved by this system based on a multi-point control method for investigation of the objects with nonhomogeneous height. According shape of the object, the most appropriate focus point was determined by means of the eleven-fixed point on the image and motorized unit will adjust the Z-axis location of the microscope accordingly. Studies have shown that the auto focusing system work with 90% accuracy.

Keywords: Optic, Microscope, Auto focus, Image processing, Sharpness filter, Convolution filter

1. Giriş

Optik sistemlerde görüntü, ışığın bir mercekle sistemi üzerinden geçirilerek ekrana vurdurulması ile elde edilir. Oluşan zahiri görüntü merceğin özelliğine ve merceğin objeye olan uzaklığına göre mercekten sabit bir uzaklıkta oluşur (Şekil 1).



Şekil 1. Dışbükey merceğin geometrisi

Mikroskoplarda odaklama işleminde mercek sistemi sabit tutularak objenin mercek sistemine uzaklığı veya mercek sisteminin objeye olan uzaklığı değiştirilerek odaklama yapılmaktadır. Mikroskoplarda obje ile mercek sistemi arasındaki mesafe oldukça küçüktür. Çalışmalarda büyütme katsayısı küçük ise odaklama işlemi incelenen objenin bütün yüzeyi için yapılabilir. Büyütme faktörü arttıkça odaklama geniş yüzeyler için yapılamaz. İncelenecek objenin yüzeyinin özelliğine göre farklı noktalar için ayrı odaklama işlemi uygulamak gereklidir. Bu çalışmada, çok noktadan kontrol yöntemi ile otomatik odaklama yapabilen, obje ile mercek sistemi arasındaki uzaklığı ayarlayabilen ve alınan sayısal görüntü üzerinde ölçüm ve filtreleme yapabilen bir yazılım hazırlanmıştır.

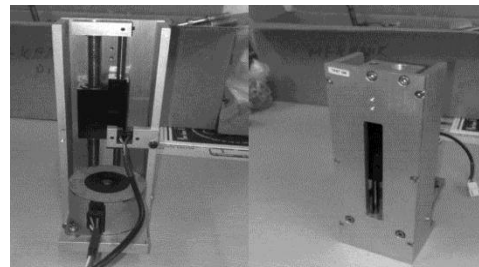
2. Materyal ve metot

2.1. Optik sistem

Optik sistem olarak 20x ile 90x arasında büyütme yeteneğine sahip USB mikroskop kullanılmıştır. Görüntü çözünürlüğü 1.3 Megapiksel'dir ve üstten aydınlatma özelliğine sahiptir.

2.2. Mekanik sistem

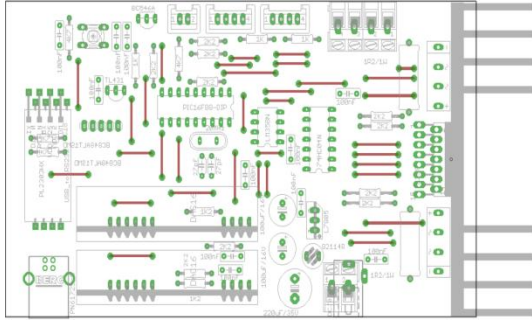
Tasarlanan mekanik sistem (Şekil 2.) usb mikroskobun yerleştirilmesini sağlayacak bir Z eksen düzeneği ile bu düzeneğin hareketini sağlayacak dişli ve kayış sisteminden oluşmaktadır. Sistem üzerine 7.5⁰ dönme açısına sahip bir step motor bağlıdır. Step motorun 24 dişe sahip bir dişli kayış aracılığı ile 12 dişe sahip bir dişliye bağlanmıştır. İkinci dişli ise Z eksenini oluşturan sonsuz mil ile bağlıdır. Sonsuz mil üzerinde hareket eden doğrusal kızak üzerine de usb mikroskobun yerleştirileceği yuva yapılmıştır. Mekanizma bir adımda 0.675 mm hareket etmektedir.



Şekil 2. Mikroskop için motorlu Z eksen mekanizması

2.3. Elektronik sistem

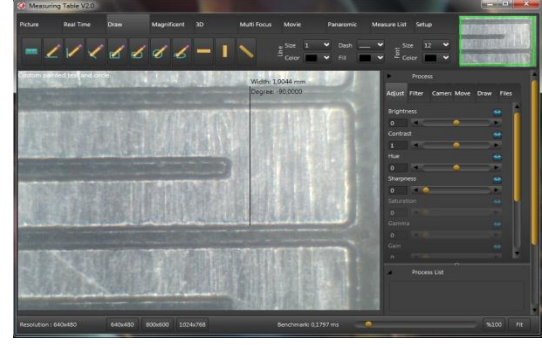
Elektronik sistem, step motor için bir mikrostep sürücü ve limit algılayıcı ünitelerinden oluşmaktadır. Tasarımı yapılan elektronik devre yerleşim planı Şekil 3' de verilmiştir. Devre 1/1 ile 1/200 bölme hassasiyeti ile çalışmaktadır. Step motor full step modunda 1/1 bölme oranında sürüldüğünde bir adımda mikroskop kamerasının hareketi 0.00675 mm'dir. Motor full step modunda 1/20 mikroadım ile sürülürse bir adım $0.00675/20 = 0.0003375$ mm'dir. Adımlar bilgisayardaki otomasyon programı aracılığı ile hesaplanmakta ve elektronik devreye gönderilmektedir. Ayrıca mekanik sistem üzerinde bulunan limit anahtarlarından gelen veriler elektronik devre ile kontrol edilmektedir. Hareket limitlerine gelindiğinde sistem otomatik olarak durmaktadır. Elektronik sistemin kaç adım atacağı, ne yöne doğru hareket edeceği bilgisayar üzerindeki yazılımı tarafından kontrol edilmektedir.



Şekil 3. Tasarlanan elektronik devrenin yerleşim planı

2.4. Otomasyon yazılımı

Yazılım Windows tabanlı bilgisayarlarda çalışmak üzere Delphi programlama dili ile hazırlanmıştır. Yazılım ile elektronik devrenin ve limit algılayıcılarının durumları kontrol edilmekte, görüntü işleme yazılımından gelen bilgiler doğrultusunda motora gerekli adım sayısı, yön ve mikroadım bilgileri gönderilmektedir. Ayrıca, elektronik devreden gelen alınan yol, algılayıcı durum bilgisi gibi değerler de program içinde değerlendirilmektedir. Otomasyon yazılımı elektronik sistemin kontrolünü yaparken ayrıca görüntü işleme yazılımı ile bağlantılı olarak çalışarak görüntü işleme teknikleri ile objelerin boyutlarının ölçülmesi gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır (Şekil 4).



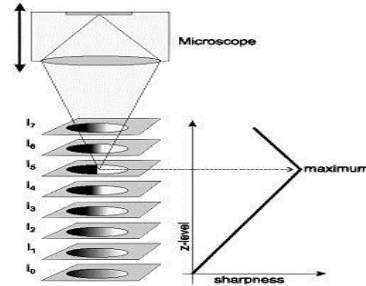
Şekil 4. Otomasyon ve görüntü işleme yazılımı

2.5. Görüntü işleme yazılımı

Görüntü işleme yazılımı (Şekil 4) otomasyon yazılımı ile tümleşik olarak tasarlanmıştır. Usb üzerinden sisteme gelen görüntü bilgilerinin gerçek zamanlı olarak bilgisayar ekranında görüntülenmesi ve görüntü üzerine uygulanacak filtreleme ve odak kalitesinin hesapları, metrik ölçümler bu yazılım aracılığı ile yapılmaktadır. Yazılım, kenar belirleme filtreleri ile birlikte renk geçiş keskinliklerinin hesabını yaparak görüntünün odaklama kalitesini belirlemektedir. Görüntü işleme yazılımı bu fonksiyonlara ek olarak görüntülerin saklanması, çok odaklı görüntü birleştirme, mikroskopik görüntülerden video görüntüsü oluşturma gibi özellikler içermektedir.

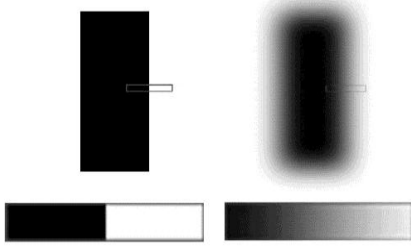
2.6. Odaklama kalitesinin ölçülmesi

Şekil 5 ve Şekil 6'da gösterildiği gibi elde edilen görüntüde odaklama doğru ise görüntü üzerinde keskin kenar geçişleri oluşur. Bu keskin kenarlarda pikseller arası geçişlerde renk seviyeleri arasında büyük farklılıklar vardır.



Şekil 5. Z Ekseninde hareket ile odaklama [3]

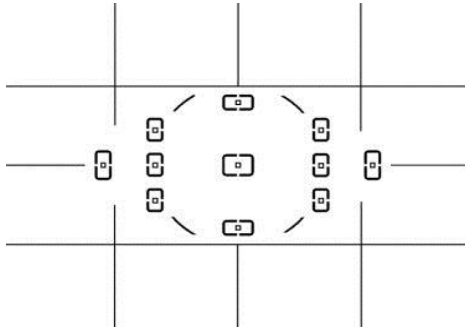
Odaklama kalitesi düştükçe resim üzerindeki kenarlar giderek yumuşamaya başlar. Renk geçişlerindeki yumuşama renk geçişlerindeki keskinlikleri azaltır. Odaklama kalitesinin ölçümünde önce görüntü üzerine kenar belirleme filtresini uygulanır. Sonra filtre uygulanmış görüntü üzerinde pikseller arası renk geçiş seviyeleri belirlenir. Renk geçiş seviyelerinin düşük olduğu alanlar odaklamanın bozuk, seviyenin yüksek olduğu alanlar odaklamanın iyi olduğu alanlar olarak kabul edilir.



Şekil 6. Odaklama kalitesine göre renk dağılımları

Bütün resim üzerinde görüntü filtresini uygulayarak kenar karşılaştırması yapmak işlemin hızını ve kalitesini düşürmektedir. Ayrıca tüm görüntü üzerinde işlem yapmak belirli odak noktalarının belirlenmesini de engellemektedir. Büyütmeye katsayısı arttıkça görüntünün tamamı üzerinde tam net görüntü elde etmek mümkün değildir. Düzgün şekilli olmayan bir kristal parçasını incelerken kristalin kimi yüzeyleri merceğe sistemine yakın kimi yüzeyleri uzaktır. Dolayısıyla tüm yüzey üzerinden sadece istenilen bölgenin odaklanmasının net olarak yapılması gereklidir. Eğer kristal yüzeyin tamamının net olarak görüntülenmesi gerekiyorsa çok odaklı görüntü füzyonu tekniği kullanılmalıdır.

Otomatik odaklama işleminde önce görüntü alanı üzerinde odaklanmanın yapılacağı bölgeler Şekil 7'de gösterildiği gibi belirlenir. Burada on bir adet odaklama alanı belirlenmiştir. Bu alanlarda önem sırası içten dışa doğrudur. Merkezdeki alan birinci öncelikli alandır. Bu alanın hesaplanan değerinin büyük olması beklenir.



Şekil 7. Görüntü üzerindeki odaklama alanları

2.7. Evrişim filtresi

Evrişim (convolution) filtresi, matris yapısındaki filtre çekirdeğinin görüntü üzerinde hareket ettirilerek, görüntü piksellerinin değerlerinin tek tek filtre çekirdeği değerleri ile karşılıklı çarpılıp, çarpımların toplamının alınması işlemidir.

Çizelge 1. 3x3 filtre çekirdeği

1	1	1
1	-8	1
1	1	1

Çizelge 1'de verilen 3x3 filtre çekirdeğinin alanlarının toplamı $1+1+1+1-8+1+1+1=0$ 'dır.

Toplam sıfır çıkarsa bölme oranı 1 kabul edilir. Sıfırdan farklı bir değer çıkarsa bölme oranı olarak çıkan değer alınır. Çizelge 1'de verilen çekirdek için bölme oranı 1 alınmalıdır. Bölme oranı belirlendikten sonra filtre çekirdeği resim üzerinde 0x0 noktasının üzerine yerleştirilir ve çekirdeğin her hücresi görüntü üzerindeki hücreler ile tek tek çarpılır, çarpımlar toplanır. Toplam değer daha önce elde edilen bölme değerine bölünür ve sonuç çekirdeğin ortasına gelen görüntü hücresine yazılır. Bu işlem filtre çekirdeği bir sağa kaydırılarak çekirdek tüm görüntü üzerinde hareket ettirilerek devam edilir.

$$f(x, y) * h(x, y) = \frac{1}{MN} \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} f(m, n)h(x - m, y - n)$$

Evrişim filtresi uygulanırken kullanılan çekirdek 3x3 olduğu için asıl görüntüde kenarlar bu işleme tabi tutulamaz. Bu sorunu çözmek için her kenara matris boyutunun bir eksiğinin yarısı kadar resmin tekrarlayan kenarlarını ve sütunlarını eklemek gereklidir. Örneğin, 3x3 çekirdek için X eksenine $(3-1)/2=1$ satır, Y eksenine için ise $(3-1)/2=1$ sütun asıl görüntü üzerine eklenir. Bu yöntemle hesaplanan değere göre görüntünün 1. sütununu görüntünün 0. sütununa, 7. sütununu 8. sütununa, 1. satırını 0. satırına, 7. satırını 8. satırına kopyalanır. 8x8 çözünürlüğe sahip görüntü 10x10 çözünürlüğe yükselmiş olur. Şekil 8'de dışta koyu renk ile yazılmış alanlar asıl görüntüye eklenmiş tekrarlanan satır ve sütunlardır.

Bu örnekte evrişim filtresinin çarpım değeri $15 \times 1 + 15 \times 1 + 17 \times 1 + 15 \times -8 + 17 \times 1 + 17 \times 1 + 17 \times 1 + 15 \times 1 = 8$ olarak hesaplanır ve merkez değeri ise $8 / 1 = 8$ olarak bulunur ve asıl görüntüde 1x1 adresinde bulunan 15 yerine 8 değeri yazılır.

Çizelge 2. Görüntü matrisi

15	15	17	30	32	45	15	15	27	27
15	15	17	30	32	45	15	15	27	27
17	17	15	15	32	32	32	15	27	27
17	17	17	17	25	32	32	32	32	32
17	17	17	17	17	17	32	32	32	32
17	17	17	32	27	27	27	27	27	27
32	32	17	32	17	17	15	27	27	27
32	32	32	32	17	17	15	15	15	15
17	17	17	32	17	17	15	15	15	15
17	17	17	32	17	17	15	15	15	15

2.8. Kenar belirleme işlemi

Kenar belirleme işleminde keskinlik (sharpness) filtresi uygulanır. Filtreyi oluşturan H_x ve H_y çekirdekleri ayrı ayrı görüntü üzerine uygulanarak X ve Y eksenindeki kenarları elde edilir [2].

$$H_x = \begin{vmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & -6 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{vmatrix} \quad H_y = \begin{vmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -6 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \end{vmatrix}$$

H_x ve H_y çekirdekleri Şekil 9' deki gerçek görüntüye uygulandığında Şekil 10 ve Şekil 11' de verilen görüntüler elde edilmiştir. Bu uygulamanın sonucunda gerçek görüntü üzerindeki renk geçişleri keskinleştirilmiş ve görüntünün bir renk geçiş haritası elde edilmiştir. Görüntüde kenar olmayan alanlar siyaha yakın renk ile gösterilmektedir.



Şekil 8. Orijinal görüntü

Filtreleme sonrasında elde edilen görüntülerde kenarların gözüktüğü noktalardaki pikseller ile bu piksellere komşu olan pikseller arasında renk değerlerinde farklılıklar mevcuttur. Komşu piksellerde kenarlar yok ise rengin toplam değeri 0'a yaklaşır, kenarlar mevcut ise renk değerleri kenarın keskinliğine göre 0'dan büyük değer alır. Bu komşu piksellerin renk değerlerinin farkı görüntüdeki keskinliği belirtir.

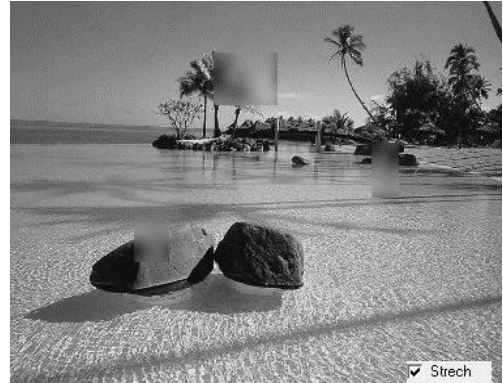


Şekil 9. Dikey kenar belirleme filtresi uygulanmış orijinal görüntü



Şekil 10. Yatay kenar belirleme filtresi uygulanmış orijinal görüntü

Kenar belirleme filtresinin bozuk odaklamalı alanlarda etkisini görmek için gerçek görüntü üzerinde üç ayrı bölgeye gauss filtresi uygulanarak Şekil 12 elde edilmiştir.



Şekil 11 Gauss filtresi uygulanmış görüntü

Bu görüntü üzerinde kenar belirleme işlemi yapıldığında odaklamanın bozulduğu bölgelerde Şekil 13 ve Şekil 14' te görüldüğü gibi kenar geçiş çizgileri oluşmamış ve bu bölgeler odaklamanın bozuk olduğu bölgeler olarak kabul edilmiştir.



Şekil 12. Dikey kenar filtresi uygulanmış gauss görüntüsü



Şekil 13. Yatay kenar filtresi uygulanmış gauss görüntüsü

2.9. Matematiksel odaklama hesabı

Matematiksel odaklama hesabı; incelenen bölge için bir pikselin renk değeri ile bir önceki komşu pikselin renk değeri arasındaki farkların toplamları bulunarak hesaplanmıştır. Bu işlem dikey kenar belirleme ve yatay kenar belirleme işlemleri için ayrı ayrı yapılmalıdır [2]. Yatay ve dikey kenar belirleme filtrelerinden elde edilen değerler toplanarak seçilen alan için odaklama değeri elde edilir.

$$I_x(i, j) = \sum_{l=1}^5 I(i, j + 1 - 3) * H_x(3, l), I_y(i, j)$$

$$= \sum_{l=1}^5 I(i + k - 3, j) * H_x(3, k)$$

$$S_y = \sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (I_x^2(i, j) + I_y^2(i, j))}$$

Şekil 14' deki 1,3,6,9,10 numaralı alanlar deniz yüzeyi üzerinden alınan parçalardır. 1 numaralı alan en küçük değere sahiptir. Düz deniz yüzeyi görüntüsü olduğu için renk geçiş değeri küçüktür. 3,6,9,10 numaralı alanlarda düz deniz görüntüsü olmasına rağmen hesaplanan değerler yüksektir. Deniz yüzeyindeki dalgalanma ve yüzey üzerinde oluşan ağaçların gölgeleri hesaplanan değeri yükseltir. 7 numaralı hesap kaya yüzeyinde yapılan hesaplamadır ve kayanın yapısından dolayı hesaplanan değer yüksektir. 2 numaralı alan en yüksek değere sahip alandır. Değerin büyük çıkması deniz ve ağaç dallarının arasındaki renk farklılığının büyük olmasıdır. Görüntüde renklerin homojen dağılımı değiştikçe hesap sonuçları büyük çıkmaktadır.

4,5,11 numaralı alanlar gauss filtresi ile bulanıklaştırılmış alanlardır ve hesaplanan değerler 10'dan küçük çıkmıştır. Bu alanlar odaklaması bozuk olan alanlardır. Hesaplamaların sonrasında en az beş veya beşten yüksek alanın değerinin 20'den büyük olması odaklamanın doğru yapıldığını gösterir. Yapılan hesaplamalarda beşten küçük alanın değeri 20'den küçükse resmin bütününde odaklamanın uygun değerlerde olmadığı kabul edilir.



Şekil 14. Otomatik odaklama alanları

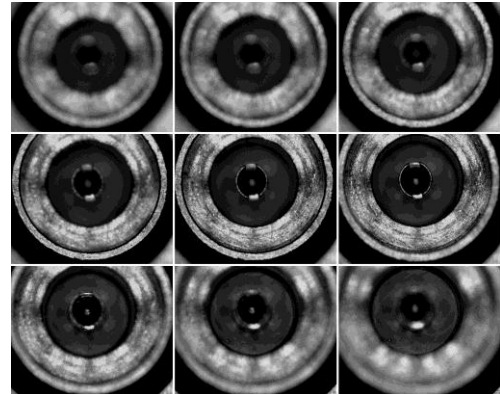
Çizelge 3'te hesaplanan değerler gösterilmektedir.

Çizelge 3. Alanlara göre odak kalitesinin hesabı

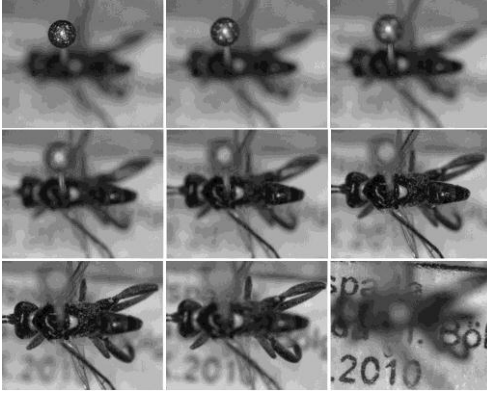
1	49
2	260
3	108
4	4
5	5
6	187
7	170
8	254
9	185
10	239
11	9

3. Bulgular

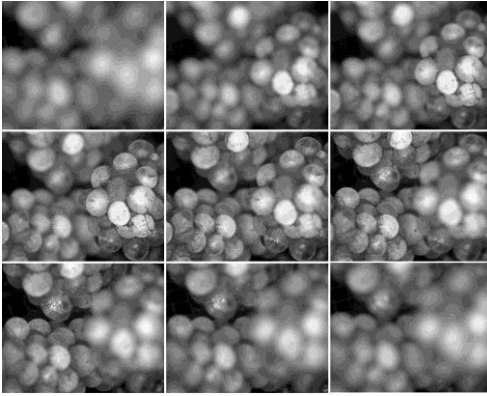
Tek görüntü üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre gerçek zamanlı görüntüler üzerinde görüntü işleme yazılımı ile birlikte otomasyon kontrol yazılımı uygulanmıştır. Uygulama çalışmalarında farklı objeler kullanılmıştır. Bu objeler farklı büyüklük, boyutlarda ve türlerde seçilmiştir. Seçilen objelerin yüksekliklerinin eşit olmamasına dikkat edilmiştir. Objeler üzerinde yapılan çalışmalarda merkeze yakın seçilen odaklama alanlarından elde edilen sonuçların çalışmalarda öngörülen sonuçlar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Merkeze yakın noktalara toplanmış olan odaklama alanları görüntü merkezinde odaklamanın daha iyi yapılmasını sağlamıştır.



Şekil 15. Çizelge 4'ün 1-9 satırlarının görüntüleri



Şekil 16. Çizelge 4'ün 10-18 satırlarının görüntüleri



Şekil 17. Çizelge 4'ün 19-27 satırlarının görüntüleri

Şekil 16-18 tasarlanan mekanizma ile elde edilen toplam 27 görüntüyü, çizelge 4 ise bu görüntüler üzerinde yapılan otomatik odaklamanın odaklama noktalarına göre matematiksel sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4. Otomatik odaklama hesap sonuçları çizelgesi

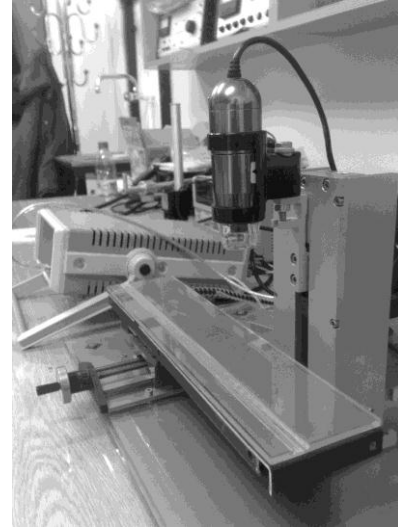
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	22	24	22	22	39	41	27	20	19	19	20
2	21	23	25	24	29	31	46	26	21	40	20
3	23	21	19	32	34	33	42	26	24	25	23
4	42	28	18	37	40	51	48	24	22	34	35
5	116	33	18	187	108	146	198	32	22	203	171
6	242	20	19	182	378	252	243	24	25	187	252
7	43	24	18	43	280	291	51	23	28	39	36
8	29	24	16	30	35	106	26	27	32	34	18
9	26	34	52	22	23	49	25	77	48	21	20
10	87	167	62	58	83	108	61	39	76	56	52
11	91	75	86	63	60	96	84	42	104	53	65
12	67	66	107	56	72	90	76	56	102	62	48
13	51	61	87	76	66	87	99	63	100	67	49
14	53	58	65	98	73	90	107	86	93	62	76
15	70	63	200	58	89	146	179	91	255	59	179
16	125	52	97	46	99	106	80	139	63	72	69
17	66	69	57	41	91	76	89	101	72	85	74
18	68	39	68	47	69	61	42	67	80	57	61
19	29	28	26	28	30	80	30	46	122	71	56
20	37	25	24	25	28	38	30	24	32	19	29
21	45	27	27	32	29	34	25	24	53	25	33
22	36	26	30	28	28	87	33	63	126	61	78
23	25	31	36	37	51	76	40	46	29	19	25
24	15	126	39	73	122	30	112	26	25	13	31
25	36	287	61	28	55	37	33	25	19	20	26
26	26	33	31	20	30	22	30	20	20	12	21
27	15	35	26	28	27	18	24	20	21	18	28

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada elektronik kontrollü otomatik odaklama işlemi yapabilen bir sayısal görüntüleme sistemi, gerekli yazılım ve uygulamaları ile beraber geliştirilmiştir (Şekil 18).

Yapılan çalışmalar uygulanan yöntemin başarılı olduğu göstermiştir. Tespit edilen alanlara göre

yapılan odaklama kontrollerinde odaklama değerlerinin doğru olarak hesaplandığı ve mikroskobun Z ekseninde uygun konuma otomatik olarak taşınmıştır.



Şekil 18. Otomatik odaklamalı sayısal mikroskop

Yapılan örnek çalışmalarda merkeze yönelik odaklama her zaman başarılı olmuştur. Özel çalışmalarda örneğin bir böceğin anatomik olarak incelenmesinde farklı yüksekliğe sahip gövde için odaklama öncelikli olarak görüntünün orta merkezinde bulunan alan için yapılmaktadır. Daha aşağıda kalan bacakları için odaklamanın yapılması mümkün olmamaktadır. Bu işlem için elle motorun kontrol edilerek odaklamanın yapılması mümkünse de odaklama alanları içinden istenilen alanın seçilmesine yönelik veya görüntü üzerinden fare ile işaretlenecek alanın odaklanmasına yönelik bir ek kontrolün sisteme eklenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Sistemde tespit edilen bir diğer sorun ise kullanılan sayısal mikroskop kamerasından kaynaklanmaktadır. Kameranın tepki hızının düşük olması motorun Z ekseninde hareketi sırasında elde edilen görüntülerin bulanık olmasına ve bu sırada yapılan matematiksel hesapların hatalı çıkmasına neden olmaktadır. Bunu engellemek için hareketin durmasından sonra hesaplamaların yapılması gerekmektedir. Daha hızlı görüntü tepkimesi olan kameralar ile odaklama işlemi hızını arttırmanın mümkün olacağı düşünülmektedir.

5. Kaynaklar

- [1] Huang, C. C., 2001, High Speed Passive Autofocus Technique, Master Thesis, Department of Institute of Mechanical Engineering, Yuan-Ze University[2] Zamofing, T., Hügli, H., Applied multifocus 3D microscopy, SPIE Vol 5265-19,2003.
- [3] Tim Jackson, 2004, Nikon D70 Focus test chart, <http://focustestchart.com/chart.html>