

К. т. н. В. Н. БОРОВИЦКИЙ

Украина, г. Киев, «Информационные программные системы»  
E-mail: Volodymyr\_Borovytsky@iss.org.ua

Дата поступления в редакцию  
25.01 2005 г.

Оппонент к. т. н. С. А. ГОРЬБЕВ  
(НИИ телевизионной техники, г. Одесса)

## ОПТИМИЗАЦИЯ ЦИФРОВОГО ФИЛЬТРА ДЛЯ ОЦЕНИВАНИЯ ФОКУСИРОВКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ В ЦИФРОВОЙ ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ

*Предложенная методика позволяет вычислить оптимальный размер окна цифрового фильтра, при котором обеспечивается максимальное отношение сигнал/шум для показателя фокусировки.*

Одним из ограничений в оптической микроскопии является конечная величина глубины резко изображаемого пространства (РИП) [1]. В тех случаях, когда высота неровностей на поверхности наблюдаемого объекта в поле зрения микроскопа превосходит глубину РИП, оптическое изображение будет содержать как сфокусированные, так и расфокусированные фрагменты [2]. Проведение анализа и измерений поверхности в области расфокусированных фрагментов существенно осложняется, а в ряде случаев — не представляется возможным.

С оснащением оптического микроскопа цифровыми камерами, моторизованными приводами фокусировки и перемещения образца, управляемыми при помощи компьютера, а также с началом широкого использования программных пакетов цифровой обработки изображений начинается этап цифровой микроскопии. Главными преимуществами цифрового оптического микроскопа (далее — микроскопа) являются возможности сохранения, передачи и обработки увеличенных изображений поверхности объектов в цифровом виде, что позволяет не только упростить фиксацию, тиражирование и пересылку изображений, но и существенно повысить их качество [2]. В частности, появилась возможность увеличения глубины РИП микроскопа цифровыми методами [3—10].

Следует подчеркнуть, что цифровые методы увеличения глубины РИП существенно расширили возможности оптической микроскопии [2, 3]. Во-первых, величина глубины РИП уже не будет ограничиваться такими показателями оптической системы микроскопа как числовая апертура, рабочая длина волны и др. Глубина РИП может быть существенно увеличена до величин, на порядки больших по сравнению с глубиной РИП изображения, формируемого оптической системой [9, 10]. В этом случае ограничением глубины РИП будут свойства образца — прозрачность элементов поверхности, величина коэффициента отражения или пропускания, перекрытие верхними слоями нижних, или конечное рабочее расстояние микрообъектива, и т. п. Во-вторых, цифровые

методы увеличения глубины РИП позволили с достаточно высокой точностью сформировать трехмерное изображение поверхности образцов [6]. Это открывает возможности анализа формы наблюдаемых объектов, в том числе в динамике, что необходимо при исследовании роста клеток, изменения формы деталей при механических и температурных нагрузках, газовых разрядов, источников излучения и т. п. Очевидно, что выбор алгоритма расчета показателя фокусировки будет играть определяющую роль в методах увеличения глубины РИП.

К сожалению, в большинстве работ выбор алгоритмов цифрового увеличения глубины РИП базируется на эмпирических данных, при этом не учитываются параметры элементов оптико-электронного тракта и размерные характеристики объектов наблюдения [3—10]. Это принципиально ограничивает возможности получения качественных изображений в оптической микроскопии. Поэтому актуальной и важной задачей является нахождение наиболее оптимальных алгоритмов цифрового увеличения глубины РИП, которые гарантируют получение цифровых изображений наивысшего качества.

Главная идея цифрового увеличения глубины РИП состоит в следующем [6—9] (см. **рис. 1**):

1. В автоматическом режиме с цифровой камеры считывается последовательность цифровых изображений при перемещении положения поверхности образца вдоль оптической оси микроскопа на величину, равную глубине РИП микроскопа. При этом диапазон перемещения выбирается таким, чтобы он перекрыл весь перепад по высоте поверхности наблюдаемого объекта в поле зрения микроскопа. Полученные цифровые изображения сохраняются на носителе информации.

2. Специальное программное обеспечение рассчитывает показатель фокусировки для каждого пиксела, т. е. отсчета изображения, используя информацию об его соседних пикселах. Эта операция проводится сразу над пикселами с одинаковыми индексами во всех цифровых изображениях.

Результирующее изображение формируется путем выбора из пикселов с одинаковыми индексами пиксела с самым высоким показателем фокусировки. Таким образом, результирующее изображение будет содержать только наиболее сфокусированные фрагменты из последовательности цифровых изображений. Кроме того, появляется возможность построе-

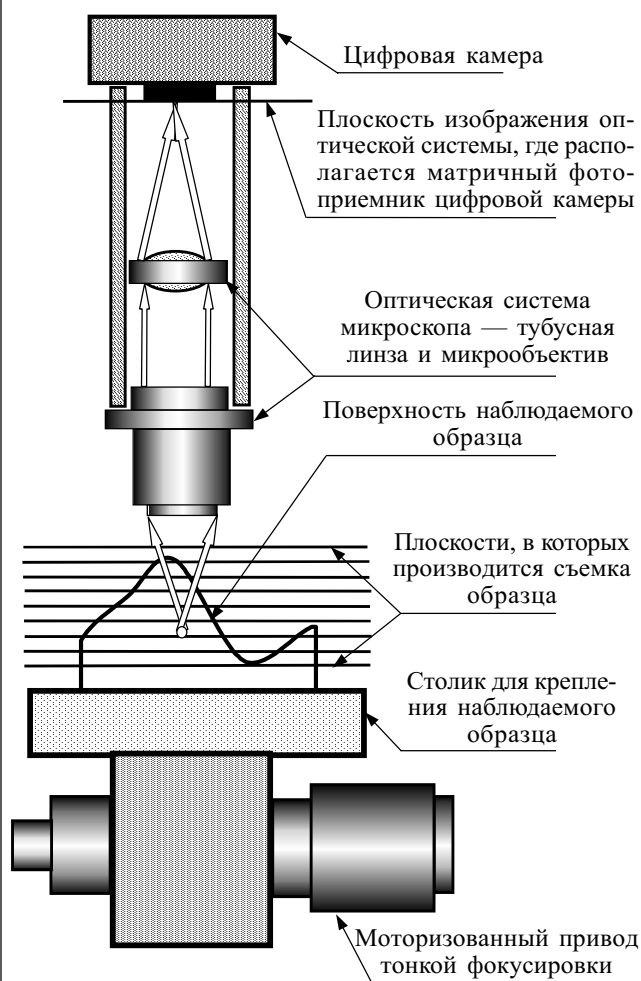


Рис. 1. Схема получения цифровых изображений с увеличенной глубиной резко изображаемого пространства

ния трехмерной карты поверхности образца [3]. Для этого необходимо построить таблицу из координат вдоль оптической оси пикселов с максимальными показателями фокусировки.

Существующие алгоритмы расчета показателя фокусировки могут быть условно разделены на следующие две группы. Первая группа объединяет алгоритмы, исходными данными для которых являются статистические параметры распределения амплитуд — среднеквадратическое отклонение, отношение сигнал/шум, отношение правдоподобия, количество информации и др. [4, 5]. Эти параметры вычисляются в окрестности пиксела, показатель фокусировки которого требуется найти. В большинстве случаев окрестность имеет форму прямоугольного окна. Несмотря на простоту вычисления и понятную интерпретацию численной оценки, алгоритмы первой группы имеют существенный недостаток — показатель фокусировки не содержит информации о пространственной структуре фрагмента изображения в окне. Поэтому, с одной стороны, для получения достоверного значения показателя фокусировки требуется окно большого размера. С другой стороны, для того чтобы не усреднить показатель фокусировки, размеры окна целесообразно уменьшить. Такая неоднозначность в определении

размера ограничивает область применения алгоритмов первой группы.

Вторая группа алгоритмов численного увеличения глубины РИП основана на применении цифровых фильтров высоких пространственных частот [6—10]. В этих алгоритмах показатель фокусировки пиксела рассчитывается как составляющая высоких пространственных частот цифрового изображения. Известно, что расфокусировка подавляет эту составляющую, а цифровое изображение будет содержать только составляющие низких пространственных частот [7]. В сфокусированных фрагментах изображения составляющие высоких пространственных частот будут присутствовать. Следовательно, фильтрация высоких пространственных частот позволяет оценить степень фокусировки для каждого пиксела, т. е. получить показатель фокусировки пиксела.

Благодаря простоте реализации, малым вычислительным затратам и высокой чувствительности к расфокусировке алгоритмы цифрового увеличения глубины РИП второй группы получили широкое распространение в оптической микроскопии [9, 10]. К сожалению, существует фактор, вносящий погрешности в расчет показателя фокусировки. Этим фактором является шум, который присутствует в реальных цифровых изображениях и который содержит составляющие высоких пространственных частот. При фильтрации высоких пространственных частот эта усиленная шумовая составляющая добавляется к полезной составляющей, содержащей информацию о фокусировке, и искажает ее.

Следует отметить, что в большинстве работ, посвященных увеличению глубины РИП, выбор цифрового фильтра осуществляется методом перебора градиентных и осесимметричных фильтров с размерами окон  $2 \times 2$ ,  $3 \times 3$ ,  $5 \times 5$ ,  $7 \times 7$  [6—10]. При этом не учитываются ряд важных факторов, определяющих качество фокусировки. В работах [6, 8—10] игнорируется влияние передаточной функции элементов микроскопа, а в интересной работе [7] не учитывается влияние шумов и минимальных размеров объекта наблюдения. В результате предлагаемые варианты цифровых фильтров не всегда могут обеспечить достаточно высокое качество изображений с увеличенной глубиной РИП.

Задачей данной работы является разработка методики оптимизации цифрового фильтра высоких пространственных частот для вычисления показателя фокусировки в цифровой микроскопии. В отличие от известных работ [3—10] предлагается поставленную задачу рассматривать как задачу согласованной пространственной фильтрации применительно к оптико-электронному тракту микроскопа [11]. То есть искать такой цифровой фильтр, который усиливал бы полезные (информативные для оценки фокусировки) составляющие высоких пространственных частот и подавлял высокочастотные составляющие шума и низкочастотные неинформативные составляющие сигнала. Очевидно, что для решения данной задачи необходимо математически описать процесс прохождения сигналов через оптико-электронный тракт (рис. 2) и выполнить операцию оптимизации цифрового фильтра по критерию максимизации отношения сигнал/шум [11, 12]. Особо

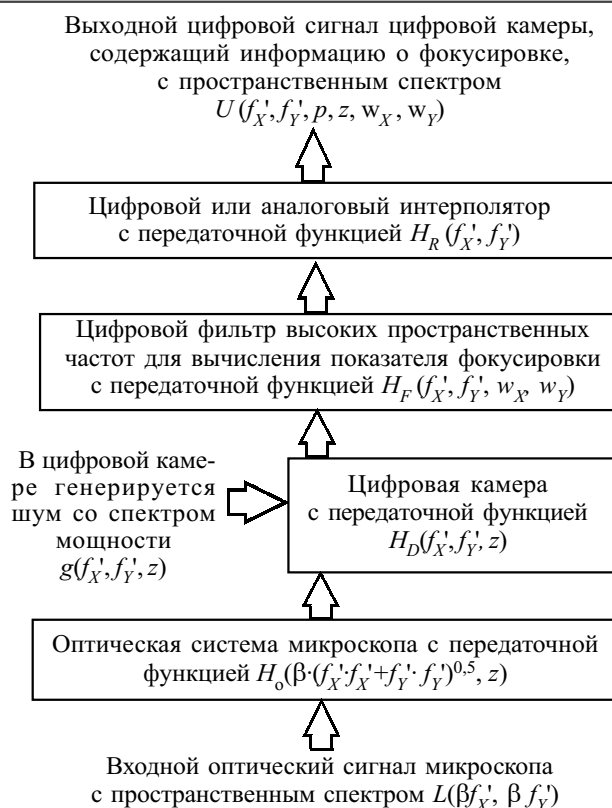


Рис. 2. Прохождение сигнала через оптико-электронный тракт микроскопа

следует подчеркнуть, что под отношением сигнал/шум будет рассматриваться отношение среднеквадратического значения амплитуды полезного (информативного для оценки фокусировки) сигнала в выходном изображении к среднеквадратическому отклонению шумовой составляющей в этом изображении [11].

При исследовании оптико-электронного тракта микроскопа примем следующие допущения, которые широко используются в инженерной практике. (Эти допущения и позволяют упростить математические преобразования и получить результат в аналитическом виде [12].)

1. Элементы оптико-электронного тракта являются линейными фильтрами пространственных частот.

2. Оптическая система является дифракционно ограниченной с круглой апертурной диафрагмой [12].

3. Фоточувствительные элементы цифровой камеры имеют прямоугольную апертуру. Матрица этих элементов имеет постоянный пространственный период [13].

4. Генерация выходного сигнала цифровой камеры сопровождается появлением шумов (см. рис. 2). Эти шумы являются стационарными, эргодичными и имеющими нормальное распределение [11].

5. Параметры оптической системы и цифровой камеры согласованы таким образом, что при пространственной дискретизации оптического сигнала не искажается пространственная структура сигнала [13].

6. Рассматриваются цифровые фильтры высоких пространственных частот двух видов — симметричный и градиентный. Варьируемым параметром таких цифровых фильтров является размер окна [6—10].

С точки зрения пространственной фильтрации оптико-электронный тракт может рассматриваться как последовательность элементов, каждый из которых является фильтром пространственных частот [12] (рис. 2):

— оптическая система — фильтр низких пространственных частот;

— цифровая камера — фильтр низких пространственных частот, периодическая структура фоточувствительных элементов, которая осуществляет пространственную дискретизацию сигнала; в цифровой камере также генерируются шумы;

— цифровой фильтр для оценивания фокусировки является фильтром высоких пространственных частот [7];

— устройство восстановления изображения является фильтром низких пространственных частот; этот фильтр преобразует дискретное цифровое изображение в непрерывное методом аналоговой или цифровой интерполяции [12].

Согласно положениям линейной фильтрации пространственный спектр сигнала и спектр мощности шума в выходном изображении могут быть рассчитаны следующим образом [11, 12] (рис. 2):

$$\begin{aligned}
 U(f'_X, f'_Y, p, z, w_X, w_Y) &= L_{\max} \cdot L(\beta f'_X, \beta f'_Y, p) \cdot K_{DM} \times \\
 &\times H_0\left(\sqrt{(f'_X)^2 + (f'_Y)^2}, z\right) \cdot H_D(f'_X, f'_Y) \times \\
 &\times H_F(f'_X, f'_Y, w_X, w_Y) \cdot H_R(f'_X, f'_Y); \\
 G(f'_X, f'_Y, w_X, w_Y) &= G_{\max} \cdot g(f'_X, f'_Y) \times \\
 &\times |H_F(f'_X, f'_Y, w_X, w_Y)|^2 \cdot |H_R(f'_X, f'_Y)|^2,
 \end{aligned} \quad (1)$$

где  $f'_X, f'_Y$  — пространственные частоты в плоскости изображения оптической системы микроскопа (все вычисления далее будут приведены к плоскости изображения — см. рис. 1);

$\beta$  — линейное увеличение оптической системы микроскопа;

$U(f'_X, f'_Y, p, z, w_X, w_Y)$  — пространственный спектр двумерного выходного полезного цифрового сигнала, который используется для оценивания фокусировки;

$G(f'_X, f'_Y, w_X, w_Y)$  — пространственный спектр мощности шумовой составляющей двумерного выходного сигнала;

$L(f'_X, f'_Y, p)$  — нормированный по максимальному значению пространственный спектр полезной (информационной для фокусировки) составляющей входного сигнала (в данном случае — это нормированный пространственный спектр производной двумерного входного оптического сигнала, который несет информацию о высоких пространственных гармониках);

$p$  — характерный пространственный период наблюдаемого объекта, который характеризует его пространственную структуру;

$w_X, w_Y$  — размеры окна цифрового фильтра для увеличения глубины РИП;

$g(f'_X, f'_Y)$  — нормированный по максимальному значению пространственный спектр мощности шумовой составляющей сигнала, генерируемой в цифровой камере (т. к. в большинстве случаев принимается допущение о том, что шумы разных фоточув-

ствительных элементов цифровой камеры являются некоррелированными, то этот спектр может рассматриваться как двухмерный пространственный спектр белого шума —  $g(f_X, f_Y) = 1$  [12];

$L_{\max}, G_{\max}, K_{DM}$  — максимальные значения полезной составляющей входного сигнала, спектра мощности шумовой составляющей, а также коэффициент пропорциональности между выходным электрическим и входным оптическим сигналами, соответственно (значения этих констант могут быть рассчитаны по известным формулам [11, 12];

$H_0(f', z)$  — оптическая передаточная функция оптической системы микроскопа, которая зависит от величины расфокусировки вдоль оптической оси  $z$ .

Оптическая передаточная функция такой системы может быть записана в следующем виде [14, с. 176]:

$$\begin{aligned}
 H_0(f', z) &= H_0\left(\sqrt{(f_X')^2 + (f_Y')^2}, z\right) = \\
 &= \begin{cases} H_1(f', z) - H_2(f', z) - H_3(f', z), & f' < f_{\max}' ; \\ 0, & f' \geq f_{\max}' ; \end{cases} \\
 H_1(f', z) &= \frac{4}{\pi \cdot W(f', z)} \cdot \cos\left(W(f', z) \cdot \frac{f'}{f_{\max}'}\right) \times \\
 &\times \arccos\left(\frac{f'}{f_{\max}'}\right) \cdot J_1(W(f', z)); \\
 H_2(f', z) &= \frac{4}{\pi \cdot W(f', z)} \cdot \cos\left(W(f', z) \cdot \frac{f'}{f_{\max}'}\right) \times \\
 &\times \sum_{i=1}^{\infty} \left(\frac{(-1)^i}{2i}\right) \cdot \sin\left(2i \cdot \arccos\left(\frac{f'}{f_{\max}'}\right)\right) \times \\
 &\times (J_{2i-1}(W(f', z)) - J_{2i+1}(W(f', z))); \\
 H_3(f', z) &= \frac{4}{\pi \cdot W(f', z)} \cdot \sin\left(W(f', z) \cdot \frac{f'}{f_{\max}'}\right) \times \\
 &\times \sum_{i=1}^{\infty} \left(\frac{(-1)^i}{2i+1}\right) \cdot \sin\left(2i \cdot \arccos\left(\frac{f'}{f_{\max}'}\right)\right) \times \\
 &\times (J_{2i}(W(f', z)) - J_{2i+2}(W(f', z))); \\
 W(f', z) &= 4\pi \frac{f'}{f_{\max}'} \frac{z}{\lambda}. \tag{2}
 \end{aligned}$$

Здесь  $f'_{\max}$  — максимальная пространственная частота оптического сигнала в плоскости изображения, которую пропускает оптическая система [14] (рис. 1):

$$f'_{\max} = \frac{2NA}{\beta\lambda}; \tag{3}$$

$H_D(f_X', f_Y')$  — передаточная функция цифровой камеры, которая содержит двухмерную пространственную структуру фоточувствительных элементов прямоугольной формы [12, с. 104]:

$$H_D(f_X', f_Y') = \frac{\sin(\pi X_E f_X')}{\pi X_E f_X'} \cdot \frac{\sin(\pi Y_E f_Y')}{\pi Y_E f_Y'}; \tag{4}$$

$X_E, Y_E$  — размеры фоточувствительного элемента цифровой камеры [13];

$H_F(f_X', f_Y')$  — передаточная функция линейного цифрового фильтра высоких пространственных частот.

В том случае, когда фильтр имеет окно размерами  $w_X, w_Y$  и матрицу коэффициентов  $a_{i,j}$ , его передаточная функция запишется в следующем виде [15]:

$$\begin{aligned}
 H_F(f_X', f_Y', w_X, w_Y) &= \sum_{j=-\frac{w_Y-1}{2}}^{\frac{w_Y-1}{2}} \sum_{i=-\frac{w_X-1}{2}}^{\frac{w_X-1}{2}} (a_{i,j} \cdot \exp(-2\pi i f_X' X_P - 2\pi j f_Y' Y_P)) = \\
 &= \sum_{j=-\frac{w_Y-1}{2}}^{\frac{w_Y-1}{2}} \sum_{i=-\frac{w_X-1}{2}}^{\frac{w_X-1}{2}} (a_{i,j} \cdot \exp(-2\pi i f_X' X_P) \cdot \exp(-2\pi j f_Y' Y_P)), \tag{5}
 \end{aligned}$$

где  $X_P, Y_P$  — пространственные периоды фоточувствительных элементов цифровой камеры [12, 13].

Рассмотрим *градиентный* линейный цифровой фильтр высоких пространственных частот с матрицей коэффициентов следующего вида [7]:

$$a_{i,j} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix} \tag{6}$$

Передаточные функции подобных фильтров могут быть получены подстановкой матрицы коэффициентов (6) в выражение (5), и после ряда преобразований они запишутся в следующем виде:

$$\begin{aligned}
 H_F(f_X', f_Y', w_X, w_Y) &= \exp\left(2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp(0) - \\
 &- \exp\left(-2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp(0) + \\
 &+ \exp(0) \cdot \exp\left(2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) - \exp(0) \cdot \exp\left(-2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) + \\
 &+ \exp\left(2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) - \\
 &- \exp\left(-2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) + \\
 &+ \exp\left(2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(-2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) - \\
 &- \exp\left(-2\pi \frac{w_X-1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(-2\pi \frac{w_Y-1}{2} f_Y' Y_P\right) = \\
 &= 2 \cdot \sin(\pi(w_X-1)f_X' X_P) + 4 \cdot \sin(\pi(w_X-1)f_X' X_P) \times \\
 &\times \cos(\pi(w_X-1)f_Y' Y_P) = 4 \cdot \sin(\pi(w_X-1)f_X' X_P) \times \\
 &\times (0,5 + \cos(\pi(w_Y-1)f_Y' Y_P)). \tag{7}
 \end{aligned}$$

Аналогичное выражение можно получить для другого варианта градиентного линейного цифрового фильтра высоких пространственных частот:

$$a_{i,j} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & -1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (8)$$

Передаточные функции таких фильтров (8) будут иметь следующий вид:

$$H_F(f_X', f_Y', w_X, w_Y) = 4 \cdot \sin(\pi(w_Y - 1)f_Y' Y_P) \times \\ \times (0,5 + \cos(\pi(w_X - 1)f_X' X_P)). \quad (9)$$

В случае *симметричного* линейного цифрового фильтра высоких пространственных частот матрица коэффициентов имеет вид [15]

$$a_{i,j} = \begin{pmatrix} -1 & 0 & -1 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 8 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & -1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \quad (10)$$

Передаточная функция симметричных цифровых фильтров также может быть получена подстановкой матрицы коэффициентов (10) в выражение (5). Она примет следующий вид:

$$H_F(f_X', f_Y', w_X, w_Y) = 8 \cdot \exp(0) \cdot \exp(0) - \\ - \exp\left(2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp(0) - \exp\left(-2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp(0) - \\ - \exp\left(2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) \cdot \exp(0) - \exp\left(-2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) \cdot \exp(0) - \\ - \exp\left(2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) - \\ - \exp\left(-2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) - \\ - \exp\left(2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(-2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) - \\ - \exp\left(-2\pi \frac{w_X - 1}{2} f_X' X_P\right) \cdot \exp\left(-2\pi \frac{w_Y - 1}{2} f_Y' Y_P\right) = \\ = 8 - 2(\cos(\pi(w_X - 1)f_X' X_P) + \cos(\pi(w_Y - 1)f_Y' Y_P)) - \\ - 4(\cos(\pi(w_X - 1)f_X' X_P) \cdot \cos(\pi(w_Y - 1)f_Y' Y_P)). \quad (11)$$

$H_R(f_X', f_Y')$  — передаточная функция интерполятора двухмерного сигнала. Интерполятор позволяет по отсчетам цифрового сигнала выполнить аналоговую или цифровую интерполяцию и вычислить значения, находящиеся между дискретными отсчетами цифрового изображения. Его передаточная функция имеет вид [12, р. 87]:

$$H_R(f_X', f_Y') = \begin{cases} 1, |f_X'| < \frac{1}{2X_P}, |f_Y'| < \frac{1}{2Y_P}; \\ 0, |f_X'| \geq \frac{1}{2X_P}, |f_Y'| \geq \frac{1}{2Y_P}. \end{cases} \quad (12)$$

Используя математический аппарат (1)—(12), задачу оптимизации цифрового фильтра высоких пространственных частот для оценивания можно сформулировать следующим образом: требуется найти такие параметры цифрового фильтра (размеры окна и коэффициенты) (11), при которых отношение сигнал/шум в принятой формулировке достигло бы максимального значения для заданных пользователем значений остальных параметров микроскопа:

$$\mu = \frac{\sqrt{\int_{\frac{0,5}{X_P}}^{\frac{0,5}{X_P} + \frac{0,5}{Y_P}} \int_{\frac{0,5}{Y_P}}^{\frac{0,5}{Y_P} + \frac{0,5}{X_P}} U^2(f_X', f_Y', p, z, w_X, w_Y) df_X' df_Y'}}{\sqrt{\int_{\frac{0,5}{X_P}}^{\frac{0,5}{X_P} + \frac{0,5}{Y_P}} \int_{\frac{0,5}{Y_P}}^{\frac{0,5}{Y_P} + \frac{0,5}{X_P}} G(f_X', f_Y', w_X, w_Y) df_X' df_Y'}} = \\ = \mu(p, z, w_X, w_Y) \xrightarrow{w_X, w_Y} \max. \quad (13)$$

Для решения поставленной задачи могут быть применены аналитические или численные методы поиска максимума [11].

Рассмотрим пример решения задачи оптимизации цифрового фильтра для типового микроскопа, параметры которого приведены в **таблице**. Для упрощения выполним все вычисления (1)—(13) для случая одномерного входного сигнала.

В качестве входного сигнала выбран оптический сигнал, который формирует тест-объект в виде штриховой миры [12]. Выбор такого тест-объекта обусловлен следующими причинами:

— согласно международным стандартам штриховые миры рекомендуется использовать для оценки качества оптических и оптико-электронных систем, включая микроскопы, которые формируют и обрабатывают изображения [12];

— распределение яркости и его пространственный спектр на поверхности такого тест-объекта могут быть описаны в аналитическом виде, что упрощает процесс компьютерного моделирования процесса формирования изображений с увеличенной глубиной РИП [12];

— характерные размеры наблюдаемых объектов могут быть легко привязаны к размеру штриха такого тест-объекта при оптимизации цифрового фильтра.

Результаты вычислений в виде графиков зависимости отношения сигнал/шум от размеров окна при различных расфокусировках и периодах шпальной миры приведены на **рис. 3**. Следует обратить внимание на характерную особенность этих зависимостей — наличие одного ярко выраженного глобального

## СИСТЕМЫ ПЕРЕДАЧИ И ОБРАБОТКИ СИГНАЛА

максимума, который соответствует оптимальному размеру маски цифрового фильтра.

На рис. 4 представлены графики пространственных спектров сигналов и пространственных передаточных функций элементов цифрового оптического микроскопа для одномерного случая  $f'_y = 0$ , используемый фильтр высоких пространственных частот — симметричный (11),  $p=3$  мкм,  $z=0,34$  мкм. Как видно

из рис. 4, максимальное отношение сигнал/шум достигается только в том случае, если пространственный спектр информационной составляющей сигнала после цифровой камеры будет согласован с передаточной функцией цифрового фильтра.

На рис. 5 показаны цифровые изображения, полученные при помощи цифровой камеры, которая установлена на оптическом микроскопе. В качестве

*Параметры цифрового оптического микроскопа*

Наименование параметра	Значение параметра
Период тест-объекта — четырехшпальной миры	$p=0,3 \dots 3,0$ мкм
Числовая апертура микрообъектива	$NA=0,9$
Линейное увеличение оптической системы микроскопа	$\beta=100$
Рабочая длина волны	$\lambda=0,55$ мкм
Показатель преломления среды в пространстве предметов	$n=1,0$
Дифракционная глубина резко изображаемого пространства [1, с. 190]	$\Delta Z = \lambda n / (2NA^2) = 0,34$ мкм
Предел пространственной разрешающей способности оптической системы микроскопа [14, с. 148]	$d_{\min} = 0,61\lambda / NA = 0,3$ мкм
Максимальная пространственная частота в пространстве предметов оптической системы микроскопа [1, с. 205]	$f_{\max} = 2NA / \lambda = 3333$ линий/мм
Максимальная пространственная частота в пространстве изображений оптической системы микроскопа (3)	$f'_{\max} = 2NA / \beta\lambda = 33,33$ линий/мм
Размеры фоточувствительного элемента	$x_E = y_E = 6,7$ мкм
Пространственный период фоточувствительного элемента	$x_p = y_p = 7,4$ мкм
Диапазон размеров окна исследуемых цифровых фильтров	$w_x \times w_y = 3 \times 3 \dots 50 \times 50$
Вид маски градиентного цифрового фильтра размерами $3 \times 3$	1 0 -1 1 1 1
	1 0 -1 0 0 0
	1 0 -1 -1 -1 -1
Вид маски симметричного цифрового фильтра размерами $3 \times 3$	-1 -1 -1
	-1 8 -1
	-1 -1 -1

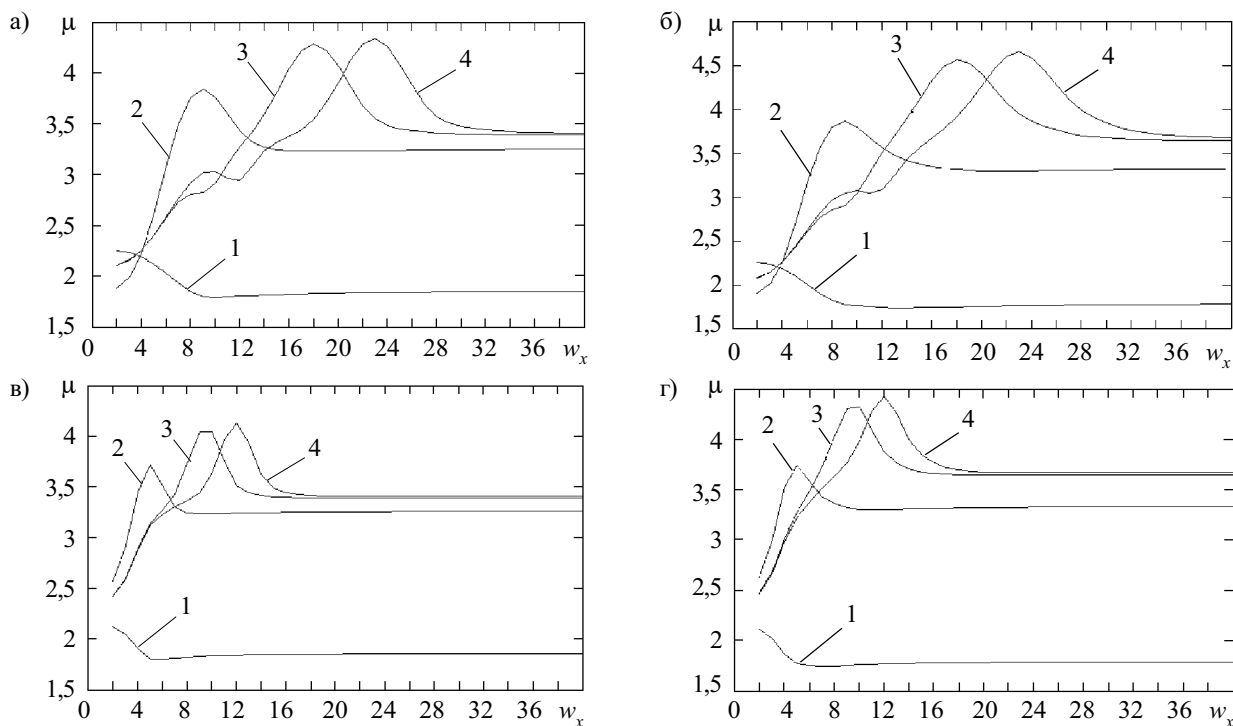


Рис. 3. Зависимость отношения сигнал/шум от размера маски при различных периодах штриховой миры (1 — 0,3 мкм; 2 — 1 мкм; 3 — 2,4 мкм; 4 — 3 мкм):

*a* — симметричный цифровой фильтр, расфокусировка  $0,034$  мкм  $= 0,1\Delta Z$ ; *b* — расфокусировка  $0,34$  мкм  $= \Delta Z$ ; *v* — градиентный цифровой фильтр, расфокусировка  $0,034$  мкм  $= 0,1\Delta Z$ ; *g* — расфокусировка  $0,34$  мкм  $= \Delta Z$

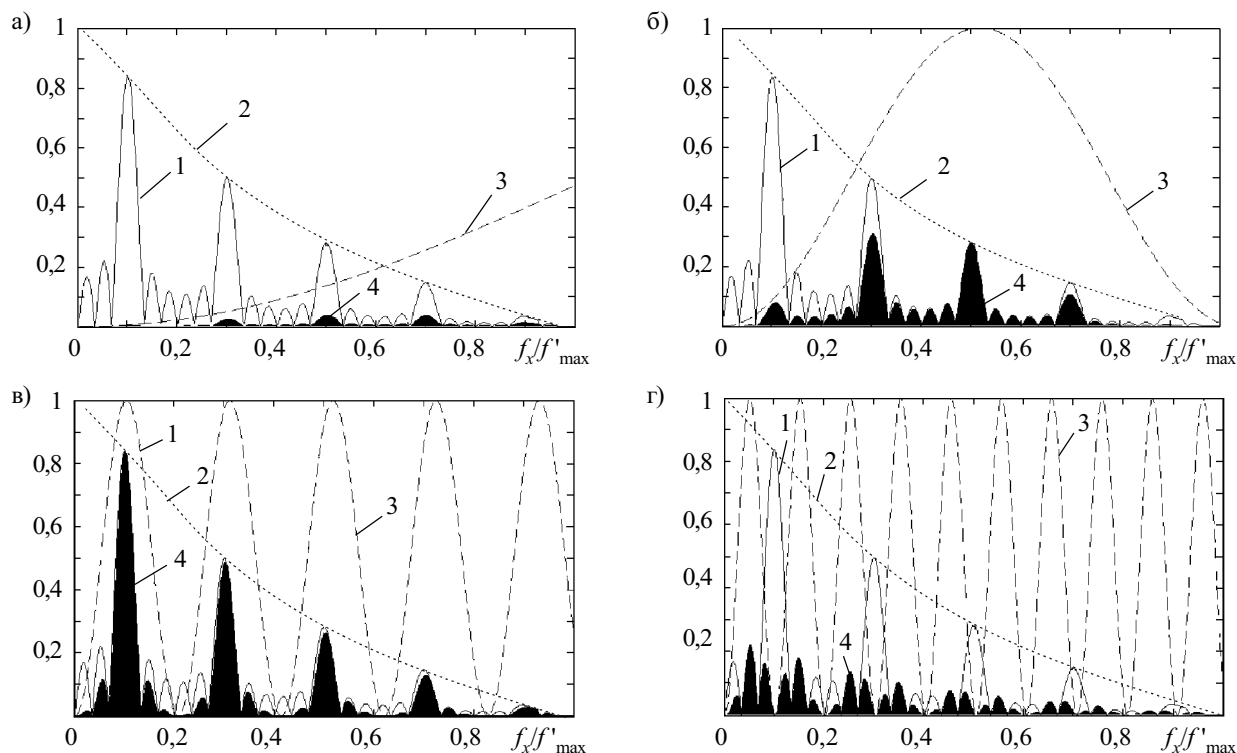


Рис. 4. Нормированные графики пространственных спектров сигналов и пространственных передаточных функций элементов цифрового оптического микроскопа:

$a - w_X=3$ ;  $б - w_X=5$  [7];  $в - w_X=21$  (13);  $г - w_X=43$ ; 1 —  $L(\beta f'_X, p)$ ; 2 —  $H_0(f'_X) H_D(f'_X)$ ; 3 —  $H_F(f'_X, w_X)$ ; 4 —  $U(f'_X, p, z, w_X)$

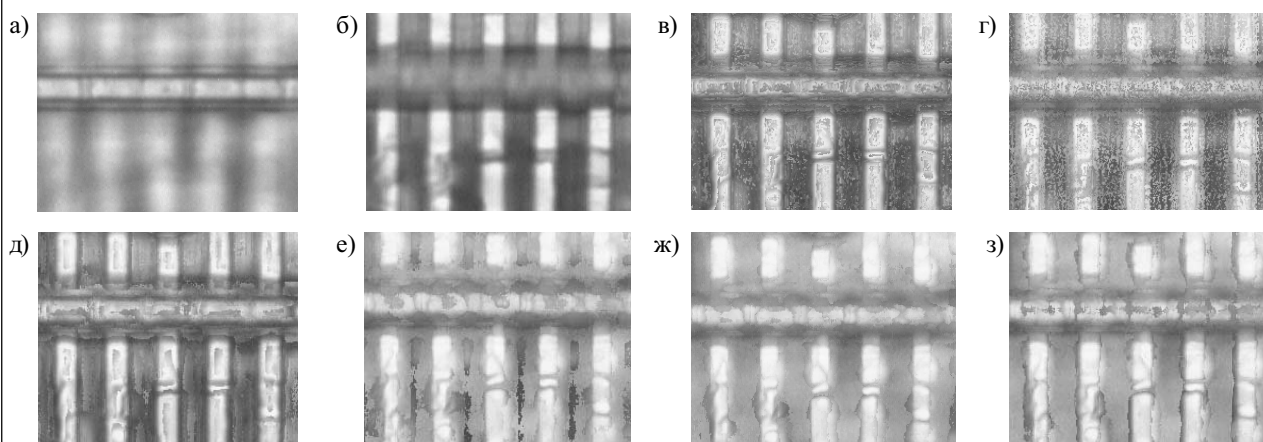


Рис. 5. Цифровые изображения многослойного тест-объекта, полученные при помощи цифрового микроскопа (ширина штриха 1,5 мкм, что соответствует 21–22 пикселям в цифровом изображении):

$a$  — фокусировка на верхний слой;  $б$  — фокусировка на нижний слой;  $в-г$  — изображения с увеличенной глубиной РИП;  $в$  — маска  $3 \times 3$ ;  $г$  — маска  $11 \times 11$ ;  $д$  — маска  $5 \times 5$  [7];  $е$  — маска  $21 \times 21$  (13);  $ж$  — маска  $35 \times 35$ ;  $з$  — маска  $51 \times 51$

наблюдаемого объекта использовался аналог штриховой миры, содержащий штрихи, разнесенные по высоте (рис. 5,  $a, б$ ). Это позволило визуально проанализировать особенности изображений с увеличенной глубиной РИП, которые получены при различных размерах маски цифрового фильтра.

Анализ полученных результатов показывает:

1. Оптимальный размер окна цифрового фильтра прямо пропорционален характерному размеру наблюдаемого объекта, в данном случае — периоду шпальной миры  $p$ . Приближенное значение размера окна симметричного фильтра (10) может быть рассчитано как половина изображения периода шпальной миры

с добавлением размера пятна рассеяния, которые выражены числом пикселей (см. табл.):

$$w_X \approx \frac{\beta}{2X_P} (p + d_{\min}) = \frac{\beta}{2X_P} \left( p + 0,61 \frac{\lambda}{NA} \right);$$

$$w_Y \approx \frac{\beta}{2Y_P} (p + d_{\min}) = \frac{\beta}{2Y_P} \left( p + 0,61 \frac{\lambda}{NA} \right). \quad (14)$$

Эти соотношения отражают сущность согласованной пространственной фильтрации — наилучший цифровой фильтр может быть получен в том случае, когда пространственный спектр полезного сигнала и передаточная функция микроскопа согласованы друг с

другом. Этот факт подтверждается экспериментально: наилучшее качество цифровых изображений достигается только в том случае, когда размер маски цифрового фильтра приблизительно равен ширине изображения штриха в пикселах (рис. 5, *е*). Если размеры маски существенно больше ширины штриха, то качество цифрового изображения снижается из-за снижения контраста и четкости (рис. 5, *ж*, *з*). В противном случае, когда размеры маски существенно меньше ширины штриха, усиливается высокочастотная составляющая шума — видны мелкие детали и шумовая составляющая, которые не информативны для автоматической обработки изображений (рис. 5, *в*, *з*).

Следует отметить, что методика оптимизации цифрового фильтра (1)—(13) основана на объективном показателе качества цифрового изображения (13) и предназначена для систем автоматической регистрации и обработки цифровых изображений на автоматизированных микроскопах [11, 12]. В этом случае максимизация отношения сигнал/шум в обобщенном виде (13) целесообразна [11]. При визуальном анализе изображений, безусловно, требуется учитывать особенности зрительного восприятия человека [16]. Так, зрительная система лучше распознает четкие объекты при наличии высокочастотного пространственного шума, чем менее четкие объекты при низком уровне шумов (рис. 5, *в*, *з*). Поэтому при увеличении глубины РИП в изображениях для визуального анализа размеры маски цифрового фильтра должны быть уменьшены по сравнению со значениями, рассчитанными по предложенной методике (1)—(13) (рис. 5, *д*, *е*).

2. Оптимальный размер окна цифрового фильтра изменяется в малых пределах при больших изменениях расфокусировки (рис. 3, 4). Таким образом, оптимальный размер маски мало чувствителен к малым и средним расфокусировкам, когда размер изображения объекта остается существенно больше размеров пятна рассеяния.

3. Симметричный и градиентный цифровые фильтры имеют подобные зависимости отношения сигнал/шум от размеров окна. При этом оптимальный размер окна градиентного фильтра в два раза меньше оптимального размера окна симметричного фильтра (рис. 3, 4). Видимо, симметричный цифровой фильтр можно рассматривать как совокупность двух повернутых градиентных фильтров (8)—(11).

4. Полученные результаты полностью согласуются с результатами из работы [7]. В этой работе рекомендуется использовать окна типа  $(1, 0, -1)$  вместо окон  $(1, -1)$  для того чтобы согласовать пространственный спектр полезного сигнала с передаточной функцией микроскопа. Это справедливо, если характерный размер наблюдаемого объекта приближается к пределу пространственного разрешения микроскопа [1]. В других случаях, когда наблюдаемые объекты существенно больше предела пространственного разрешения микроскопа, следование этим рекомендациям приведет к ухудшению работы алгоритма цифрового увеличения глубины РИП (рис. 3, 4, 5, *з*). Поэтому можно утверждать, что в работе [7] рассмотрен частный случай методики оптимизации цифрового фильтра для увеличения глубины РИП (1)—(13).

В заключение следует подчеркнуть практическую ценность предложенной методики. В большинстве известных публикаций [6, 8—10], за исключением работы [7], вопросы оптимизации цифровых фильтров не исследовались детально. В программное обеспечение для цифрового увеличения глубины РИП закладываются наиболее распространенные цифровые фильтры высоких пространственных частот — фильтр Собеля  $3 \times 3$  или  $5 \times 5$ , симметричный фильтр  $3 \times 3$  или  $5 \times 5$  [6—10]. Вместе с тем на практике априорная информация о наблюдаемых объектах известна или может быть получена с малыми затратами времени и средств. В этих условиях пользователь микроскопа с цифровой камерой, который знает параметры своего микроскопа, всегда может рассчитать оптимальный размер окна цифрового фильтра для получения наиболее достоверного показателя фокусировки (14). Это позволит ему получать наиболее качественные изображения с увеличенной глубиной резко изображаемого пространства, которые будут иметь минимальный уровень шумов и минимальное количество ошибок выделения сфокусированных фрагментов.

#### Выводы

1. Предложена методика оптимизации цифрового фильтра в цифровом оптическом микроскопе при формировании изображений с увеличенной глубиной резко изображаемого пространства. Эта методика учитывает размерные характеристики наблюдаемого объекта, параметры и характеристики оптической системы, цифровой камеры и цифрового фильтра. Методика позволяет вычислить оптимальный размер окна цифровых фильтров высоких пространственных частот, при помощи которого оценивается фокусировка отдельных пикселей изображения.

2. Оптимальный размер окна цифрового фильтра приблизительно равен сумме минимального размера изображения фрагмента наблюдаемого объекта и размера пятна рассеяния в пикселах. Это отражает тот факт, что для получения наилучшего показателя фокусировки цифровой фильтр должен быть согласован с пространственным спектром наблюдаемого объекта.

3. Показано, что методика определения оптимального размера окна из работы [7] является частным случаем предложенной методики, которая более точно учитывает согласование пространственных спектров объекта произвольной формы и передаточной функции цифрового фильтра.

#### ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ИСТОЧНИКИ

1. Михель К. Основы теории микроскопа. — М.: Машиностроение, 1955.
2. Glasbey C. A. Problems in digital microscopy / Proc. III International Biometric Conference. — Amsterdam, Holland. — 1996. — P. 183—200.
3. Niederost M., Niederost J., Scucka J. Automatic 3D reconstruction and visualization of microscopic objects from monoscopic multifocus image sequence / Proc. International Workshop on Visualization and Animation of Reality-based 3D Models. — Tarasp-Vulpera, Switzerland. — 2003. — P. 10—17.
4. Tang X., L'Hostis P., Xiao Y. An auto-focusing method in a microscopic testbed for optical discs // Journal of NIST. — 2000. — Vol. 105, N 4. — P. 565—569.

5. Краснополюсовский А. С., Скаковская А. М. Автофокусировка электронного микроскопа по изображению / Тр. конф. "УкрОбраз".— Киев, Украина.— 2000.— С. 183—186.

6. Goldsmith N. T. Deep focus: a digital image processing techniques to produce improved focal depth in light microscopy // Image Analysis and Stereology.— 2000.— N 19.— P. 163—167.

7. Boddeke F., Van Viet L., Netten H., Young I. Autofocusing in microscopy based on the OTF and sampling // Bioimaging.— 1994.— N 2.— P. 193—203.

8. NgKuang Chern N., Poo A., Marchelo H. Practical issues in pixel-based autofocusing for machine vision / Proc. IEEE International Conf. on Robotics and Automation, ICRA.— Seoul, Korea.— 2001.— P. 2791—2796.

9. Pech-Pacheco J., Cristobal G., Chamorro-Martinez J., Fernandez-Valdivia J. Diatom autofocusing in bright field microscopy / Proc. Int. Conf. Pattern Recognition.— Barcelona, Spain.— 2000.— P. 15—19.

10. Roca X., Binefa X., Vitria J. New autofocusing algorithm for cytological tissue in a microscope environment // Optical Engineering.— 1998.— N 37(2).— P. 635—641.

11. Шестов Н. С. Выделение оптических сигналов на фоне случайных помех.— М.: Сов. радио, 1976.

12. Holst G. C. Sampling, aliasing, and data fidelity for electronic imaging systems, communications, and data acquisition.—Bellingham: SPIE Press, 1998.

13. Боровицкий В. Н. Выбор цифровой камеры для оптического микроскопа // Технология и конструирование в электронной аппаратуре.— 2004.— № 1.— С. 21—26.

14. Шильман М. Я. Автоматическая фокусировка оптических систем.— Л.: Машиностроение, 1990.

15. Шлюфер Е. Обработка сигналов: цифровая обработка дискретизированных сигналов.— Киев: Либидь, 1992.

16. Красильников Н. Н. Теория передачи и восприятия изображений.— М.: Радио и связь, 1986.

## НОВЫЕ КНИГИ

## НОВЫЕ КНИГИ

**Яценков В. С. Основы спутниковой навигации. Системы GPS NAVSTAR и ГЛОНАСС.— М.: Горячая линия— Телеком, 2005.— 272 с.**

Систематизирована информация о спутниковых навигационных системах GPS NAVSTAR и ГЛОНАСС. Изложена история разработки и создания систем, рассмотрены основные принципы их работы. Приведены характеристики и структура навигационных сигналов, данные о технических возможностях и параметрах действующих систем, даны определения основных понятий и терминов, перечислены наиболее познавательные ресурсы сети Интернет.

Книга предназначена для разработчиков и пользователей навигационных систем различного уровня подготовки, от любителей, эксплуатирующих приемники GPS в быту, до специалистов, использующих навигационные средства в повседневной работе.

Может быть полезна студентам радиотехнических специальностей и аспирантам.



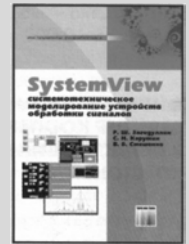
## НОВЫЕ КНИГИ

**Загидуллин Р. Ш., Карумин С. Н., Смешенко В. Б. SystemView. Системотехническое моделирование устройств обработки сигналов.— М.: Горячая линия— Телеком, 2005.— 294 с.**

Изложены основы инженерных методов синтеза и расчета основных классов радиотехнических устройств с использованием пакета программ SystemView компании Elanix, который обеспечивает возможность всестороннего анализа свойств систем, включая алгоритмы аналоговой или цифровой обработки сигналов, синтеза фильтров, анализа и синтеза систем управления и систем связи, моделирования динамических систем на уровне функциональных блоков.

Книга содержит необходимый теоретический материал и значительное количество практических примеров. Особенностью книги является то, что изложение ведется от постановки конкретной радиотехнической задачи, а не от описания возможностей пакета.

Предназначена для разработчиков и специалистов, может быть полезна студентам радиотехнических специальностей.



## НОВЫЕ КНИГИ

**Петров Б. М. Электродинамика и распространение радиоволн: Учебник.— М.: РадиоСофт, 2004.— 558 с.**

Систематически и подробно рассмотрены основные уравнения и положения электродинамики, изучаются возбуждаемые электромагнитные (ЭМ) поля в неограниченном однородном пространстве, теория направляющих систем, граничные задачи о возбуждении или возможности существования ЭМ-волн в направляющих системах и в объемных резонаторах, явления рассеяния и дифракции волн, соответствующие прикладным задачам радиотехники; изложены основные положения геометрической оптики, понятия о нелинейных средах и о распространении ЭМ-волн в неоднородных и анизотропных средах; рассмотрено влияние поверхности Земли, тропосферы и ионосферы на распространение ЭМ-волн различных диапазонов. Особое внимание уделено физической интерпретации явлений электромагнетизма.

378 иллюстраций. Даны примеры расчетов и сформулированы 132 контрольных задачи. Для студентов радиотехнических специальностей.

