光电技术及应用

DOI：10.16818/j.issn1001－5868.2019051200

基于微透镜阵列的光场显微测量方法研究

杨　帆[1,2*]，严　伟[2]，李凡星[1,2]

（1. 中国科学院大学，北京 100049；2. 中国科学院光电技术研究所，成都 610209）

摘　要： 与传统成像技术相比，光场成像技术能够利用光场中光线的传播方向信息，采用计算成像的方式极大地提高成像系统的景深。而传统的光学显微镜分辨率越高，景深越小。文章结合光场成像技术和传统光学显微镜，通过在显微镜一次像面插入微透镜阵列，提高显微镜景深，实现光场的显微三维测量。该系统通过单次曝光即可获得光场的四维光场信息，通过数字重聚焦技术和清晰度评价函数完成光场显微测量。实验结果表明，基于微透镜阵列的光场显微测量方法是可行的。测量系统以牺牲 16 倍横向分辨率为代价，将显微镜头景深提高了近 100 倍。

关键词： 光场成像；微透镜阵列；数字重聚焦；深度提取

中图分类号： TP391　**文献标识码：** A　**文章编号：** 1001－5868(2022)02－0395－05

Light Field Microscopic Measurement Based on Microlens Array

YANG Fan[1,2], YAN Wei[2], LI Fanxing[1,2]

(1. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, CHN; 2. Institute of Optics and Electronics, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610209, CHN)

Abstract: Compared with the traditional imaging technology, the light field imaging technology can utilize the propagation direction information of the light in the light field, and the computational imaging method can greatly improve the depth of field of the traditional imaging system. The higher the resolution of the traditional optical microscope, the smaller the depth of field. Therefore, in this paper, the light field imaging technology and traditional optical microscope was combined by inserting a microlens array on the primary image plane of the microscope, to improve the depth of field of the microscope, and realize the three-dimensional measurement of light field microscopy. The system can obtain the four-dimensional light field information of the light field through a single exposure, complete the light field microscopic measurement through digital refocusing technology and sharpness evaluation function. The experimental results show that the light field microscopy measurement method based on the microlens array is feasible. The measurement system increases the depth of field of the microscope head by nearly 100 times at the expense of 16 times the lateral resolution.

Key words: light field imaging; microlens array; digital refocus; depth extraction

0　引言

光场的实质是描述空间中所有光线传播的过程。事实上，传统成像是记录通过光学系统进入图像传感器像素点的光线强度。区别于传统成像，光场成像不仅记录了光场的光线强度分布，还能利用二维传感器记录光场的光线传播方向信息，通过后期计算成像的方法实现先拍照后对焦的功能。其理论依据是 Levoy 等提出的光场渲染理论[1]（Light Field Rendering，LFR），在此基础上，Ren 等研制出一系列的手持光场相机[2]，德国 Raytrix 公司也开始致力于高端光场成像设备的开发，用于科研和工

收稿日期：2019－05－12.

*通信作者：杨　帆　E-mail：fanyang514@163.com

业领域。

光场成像技术的日益成熟也给显微成像领域带来了启发。目前最常用的方法就是在传统显微镜的中继像面上插入微透镜阵列[3]，记录被传统显微成像忽略的光线方向信息，通过光场重聚焦[4]解决传统显微镜的景深问题。早在 2006 年 Levoy 与 Ren 就首次将光场成像应用在显微领域并研制出光场显微镜(Light Field Microscopy，LFM)[5-7]。LFM 通过单次曝光，结合计算机数值计算，即可获得多视角、不同焦深的显微图片。这也为实现光场深度提取提供了可能性。利用光场理论进行显微成像较其他方法具有一定的优势。光场数据充分利用了所有光线的位置和方向信息，在单次曝光获取光场图像后，只需对光场图像进行处理即可完成深度提取。该成像方法系统简单，成像原理清晰可靠，精确度较高，使用范围广泛。

本文基于光场成像技术，提出一种基于微透镜阵列的光场显微测量方法，对微透镜阵列的参数与显微镜参数的匹配关系进行了分析。并将微透镜阵列插入光学显微镜的中继像面来搭建实验系统，利用光场重聚焦算法和清晰度评价函数对光场图像进行处理得到待测物体的深度分布。实验结果证明了光场显微测量的可行性，在实验系统中 10× 显微镜头景深提高了近 100 倍，且横向分辨率达到 8.8 μm。

1 光场显微测量系统设计

光场显微测量系统的设计关系到测量系统的分辨率和纵向测量范围。光场成像原理是测量系统的理论支撑，设计原则应符合光场成像和显微成像的特点，其核心微透镜阵列的参数设计直接影响传感器阵列的利用率和成像质量。

1.1 光场成像原理

光场成像与传统成像最大的区别就是利用微透镜阵列和二维传感器记录光线的传播方向[8]，通过计算的方法完成先拍照后对焦。

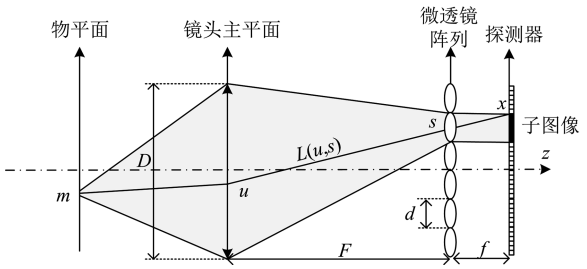


图 1 光场成像原理示意图

由图 1 所示光场成像原理图可知，微透镜阵列单个子透镜对应的子图像强度为整个镜头平面到达微透镜单元的光线积分：

$$I_{s_1}=\int_{s_1-d/2}^{s_1+d/2}\int_{-D/2}^{D/2}L(u,s)\,\mathrm{d}s\,\mathrm{d}u \tag{1}$$

式中，s_1 为某一子透镜的中心坐标，d 为子透镜的大小，L 为光场中的一个采样。在光线传播过程中，从物平面到主镜头平面再到微透镜阵列平面都是同一条光线，因此有 $L(u,s)=L(m,u)$，推导出子图像总强度为

$$I_{s_1}=\int_{m}^{m+\Delta m}\int_{-D/2}^{D/2}L(m,u)\,\mathrm{d}m \tag{2}$$

式中，m 为物平面坐标，D 为显微镜头通光口径。由此可知子图像就是对光场的一个位置的采样，所有的子图像共同对主镜头光场即物平面的位置采样，位置采样的分辨率由子口径的尺寸决定，采样点数由子口径的数量决定。子图像中探测器上任意一个像素的强度为对应子透镜到达该像素的光线积分：

$$I_x=\int_{s_1-d/2}^{s_1+d/2}L(s,x)\,\mathrm{d}s \tag{3}$$

式中，I_x 为子图像的强度，由几何关系可知：

$$(x-s)/f=(s-u)/F \tag{4}$$

其中，f 为微透镜的焦距，F 为物镜焦距。变换后代入式(3)有：

$$I_x=\int_{s1-d/2}^{s1+d/2}L\left(\frac{Fx+fu}{F+f},x\right)\mathrm{d}u \tag{5}$$

从式(5)可以看出，子图像中的每一个像素是对该子透镜成像孔径的一个子口径采样，即像素点是对微透镜位置采样中的一个方向采样，因此光场的方向分辨率取决于子透镜对应的像素点个数。

1.2 光场显微测量系统方案

通常情况下，在光场成像系统设计中为了充分利用探测器像元，令子图像两两相切，主镜头的口径、焦距和微透镜的口径、焦距应当满足如下关系：

$$D/F=d/f \tag{6}$$

在此情况下方能最大程度地利用探测器像元。

本文在显微成像系统的设计中，采用了数值孔径为 0.28 的 10 无限共轭显微物镜、入瞳口径为 24 mm 的聚焦透镜和 2 048×2 048 分辨率像元尺寸为 5.5 μm 的图像探测器。根据上述微透镜阵列的设计原则，微透镜阵列设计参数为：微透镜单元的数量为 128×128，子口径大小为 88 μm，每个子透镜对应的像元数为 16×16。

基于微透镜阵列的光场显微测量系统的总体设计方案如图 2 所示，主要由显微物镜、聚焦透镜和光场传感器构成，其中光场传感器由微透镜阵列和图像传感器耦合形成。

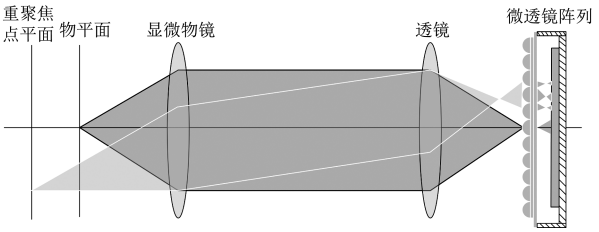


图 2　光场显微成像系统结构

根据系统各器件的参数耦合关系，通过合适长度的光学镜筒和光学转接件搭建测量系统。

1.3　系统分辨率

在显微系统中分辨率通常是指横向分辨率，也就是能够分辨两个物体的最小距离。而在光场显微成像系统中，应当用横向分辨率和纵向分辨率来共同描述检测系统分辨率。

在光场成像原理中，微透镜阵列的子口径是对场景的一个位置采样，光场显微成像的本质是通过牺牲显微物镜的横向分辨率换取纵向分辨率，因此，本文设计的测量方案横向分辨率应该等于微透镜阵列子口径与显微镜头的比值。

$$\varepsilon = d/M \tag{7}$$

式中，M 为显微镜头的放大倍数，d 为微透镜阵列子口径大小。在光场成像系统中，纵向分辨率是指区分开不同物体深度的能力，往往用景深来表示。在传统显微镜中，系统物理景深通常远大于几何景深，所以传统显微镜景深由物理景深决定：

$$\Delta_1 = n\lambda/(NA)^2 \tag{8}$$

式中，NA 为显微物镜数值孔径，n 为物方折射率。在光场显微成像中，一次像面插入微透镜阵列，用系统横向分辨率换取纵向分辨率。此外光场显微成像能够通过光场重聚焦提取不同焦深的图像从而增大景深。此时，光场显微系统增大的景深可以近似由下式表示：

$$\Delta_2 = N^2 n\lambda/2(NA)^2 \tag{9}$$

式中，N 为微透镜阵列单个透镜对应传感器像元个数。结合式(8)和(9)可知，光场微纳检测系统景深可由下式近似表示为

$$\Delta = \Delta_1 + \Delta_2 = \frac{(2+N^2)\lambda n}{2(NA)^2} \tag{10}$$

在本文设计的测量系统中，微透镜阵列的子口径大小设计为 88 μm，传感器像元大小为 5.5 μm，显微镜头放大率为 10×。综合所有参数，检测系统的横向分辨率将达到 8.8 μm，显微镜头景深提高 113 倍。

2　光场显微测量图像处理方法

2.1　光场重聚焦

根据经典辐射理论，如图 3 所示，一次像面上的辐射照度等于来自主镜头各个位置并抵达该点的所有光线的辐射照度的权重积分，其积分公式如下：

$$E_F(s,t) = \frac{1}{F^2}\iint L_F(s,t,u,v)\cos^4\theta \,\mathrm{d}u\,\mathrm{d}v \tag{11}$$

在光场成像中，由于记录了光线传播方向，可以将记录的所有光线重新投影到不同像距的新平面形成新的成像面，从而实现重聚焦。图 3 所示说明了光线投影积分的坐标变换，假如将光线重新投影到聚焦算子为 α 的重聚焦平面，定义四维基本变换 $\boldsymbol{B}_\alpha$：

$$\boldsymbol{B}_\alpha = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -\alpha & 1 \\ 0 & 1 & 0 & \alpha \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \tag{12}$$

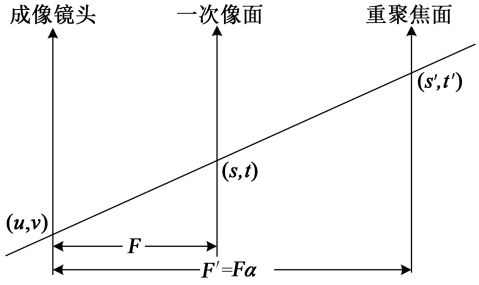


图 3　光场重聚焦原理图

忽略光学渐晕衰减因子，代入式(11)，重聚焦的图像表达式为

$$E_{(\alpha,F)}(s',t') = \frac{1}{F^2}\iint L_F(B_\alpha[s',t',u,v])\,\mathrm{d}u\,\mathrm{d}v \tag{13}$$

将四维光场变换到频域为

$$G_F(f_s,f_t,f_u,f_v) = F^4(L_F(s,t,u,v)) \tag{14}$$

根据傅里叶切片成像理论，(s',t') 上的强度分布是光场 L 的一个切片投影积分。因此经过切片处理后得到二维图像频谱：

$$G_F'(f_s,f_t) = \frac{1}{F^2}G_F(\boldsymbol{B}_\alpha^{\mathrm{T}} \cdot [s',t',u,v]^{\mathrm{T}}) \tag{15}$$

逆变换后得到二维图像表达式：

$$E_{(a,F)}(s',t')=F^2(G_F'(f_s,f_t)) \tag{16}$$

2.2 聚焦深度提取

2.2.1 对焦测距原理

聚焦深度提取方法是根据不同聚焦深度的图像清晰度的判断来获取深度信息的方法[9-10]。光场重聚焦通过计算的方法方便快捷地获取多幅不同焦深的图像序列,通过计算图像中每个像素最清晰时所在的重聚焦图像获取深度信息。其测量步骤一般分为三步:(1)通过数字重聚焦算法获得不同焦深的光场图像;(2)使用适当的清晰度评价算子对序列光场图像各区域进行清晰度评价和清晰度曲线优化;(3)计算场景各区域成像最清晰时所在的图像序列,进而对整个场景进行深度估计。

聚焦测量原理如图 4 所示,采集到三角形光场数据后,通过重聚焦算法将图像重新聚焦到 1～7 个平面,对每个平面 A 点成像区域进行清晰度评价,在平面 5 时 A 点清晰度达到峰值,根据聚焦到平面 4 的重聚焦系数即可判断 A 的深度信息。

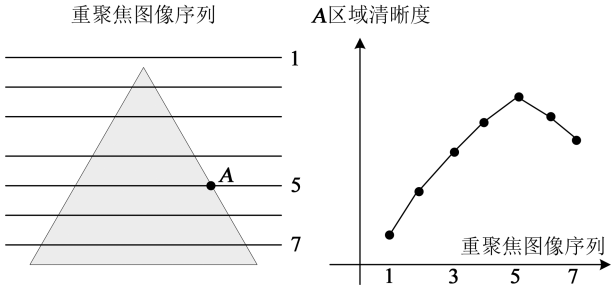


图 4 聚焦深度提取原理

2.2.2 清晰度评价函数

常用的清晰度评价函数有基于灰度差的均方差函数、平均梯度函数、拉普拉斯算子、最大灰度差函数、基于边缘检测的 Sobel 算子等。根据本检测系统的特性,对清晰度评价函数也提出了一些要求,要求清晰度评价函数简洁、精度高、峰值单一等。

拉普拉斯算子是一种典型的边缘检测方法,在频谱表现为高频信息量,在图像上表现为细节信息量的大小。通过边缘检测的结果可以客观地反映出图像的清晰度。拉普拉斯算子实质上也是一种梯度函数,它的函数表达式为

$$L=\frac{1}{6}\begin{bmatrix}1 & 4 & 1\\ 4 & -20 & 4\\ 1 & 4 & 1\end{bmatrix} \tag{17}$$

$$D(f)=\sum_x\sum_y |G(x,y)| \tag{18}$$

其中,$G(x,y)$是像素点(x,y)处拉普拉斯算子的卷积。而在计算图像清晰度时,窗口大小的设置也是至关重要的。小窗口计算速度快,结构偶尔在微小区域出现偏差,容易受噪声影响。相比于小窗口设置,大窗口计算图像目标边缘检测效果差,影响深度估计的精度。若将窗口大小设置为 m,则以 $f(x,y)$为中心的目标区域清晰度可以表示为

$$D_m=\sum_{f(x,y)\in m} D(f(x,y)) \tag{19}$$

2.2.3 三维测量

对采集到的光场原始图像进行数字重聚焦,获得视场内感兴趣目标的清晰图像,根据图像像素强度分布和测量系统的实际放大倍率即可完成目标横向尺寸的测量。在景深范围内遍历整个变焦算子进行重聚焦获得不同焦深的图像序列,遍历整个视场通过清晰度评价函数获得视场内目标的深度信息,最终完成三维测量。

3 实验

我们根据微透镜阵列的参数设计,加工了相应的微透镜阵列,并与图像传感器耦合形成光场传感器,搭建了光场显微测量系统。

3.1 光场显微成像测试

首先采用均匀面光源作为成像目标,用于去除探测器噪声对成像质量的影响和光场图像的标定。随后用分辨率板作为目标,采集光场图像,初步验证测量系统的正确性和分辨率。采集结果如图 5。

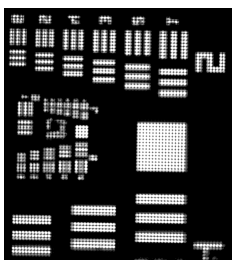


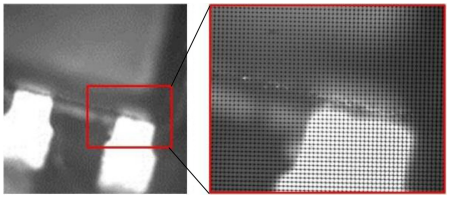
图 5 分辨率板光场原始图像

由分辨率板的光场图像可知,通过肉眼判断,系统能够分辨红圈中的三条线,每两条线的间距约为 24 个像素点,初步可以判断检测系统的分辨率优于 13.2 μm,大致与理论计算结果相同。

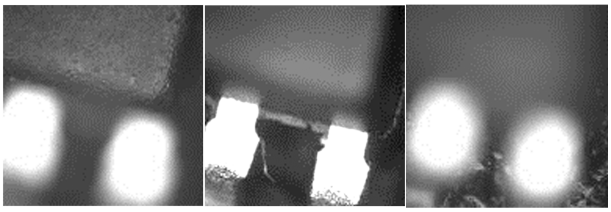
3.2 光场数字重聚焦

使用具有一定深度信息的样本进行光场图像采集,实际采用一块小芯片的一角,主要特征体现为芯片表面、芯片引脚与封装外壳面、底座。通过粗调焦旋钮将检测系统大致聚焦到待测结构即可。对采集

到的光场图像进行数字重聚焦处理，分别聚焦到芯片表面、芯片引脚位置和底座，结果如图 6 所示。



(a)　原始图像



(b)　聚焦点为芯片上表面　(c)　聚焦点为芯片引脚　(d)　聚焦点为底座

图 6　芯片光场原始图像及不同聚焦点图像

3.3　深度信息提取

对如图 6 所示光场图像进行重聚焦后的序列图像清晰度进行测量，以芯片引脚为目标区域，设置不同窗口大小、清晰度与相应变焦算子重聚焦图像的关系曲线如图 7 所示。可以看出，窗口越小包含的图像像素越少，测量偏差较大，对清晰度变化不敏感。而较大窗口的结果证明了该方法的可行性，测量曲线具有良好的单调性，符合清晰度评价函数的要求。而大窗口同样存在问题，受周围像素点的影响，清晰度测量的准确性降低。

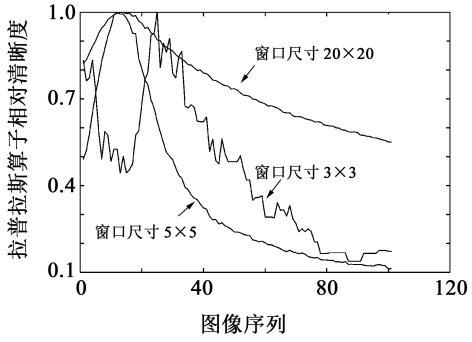


图 7　芯片引脚图像清晰度评价函数

遍历视场内每个区域进行数字重聚焦的深度信息提取，可得图 8 所示待测结构的深度信息图。首先利用清晰度评价函数找到引脚成像最清晰时的聚焦算子，设置该聚焦算子对应的图像灰度值为最大值 64，改变聚焦算子，得出整个场景的深度信息。考虑节约计算时间成本，灰度梯度范围设置较小，因此深度提取结果表现一般。

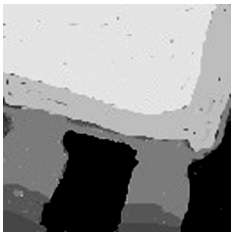


图 8　目标场景深度图

4　结论

本文对光场成像原理进行了分析，对测量系统进行设计并搭建了光场显微测量系统，得到了白光照明下的分辨率板和芯片显微光场图像，并利用数字重聚焦处理得到不同焦深的图像序列。实验结果表明，本文光场显微测量系统以牺牲 16 倍横向分辨率为代价换取了 100 倍的景深，初步验证了光场显微测量的可行性。光场显微图像采集和数字图像处理的方法为显微三维测量提供了新的思路。

参考文献：

[1] Levoy M, Hanrahan P. Light field rendering[C]// Conf. on Computer Graphics and Interactive Techniques, 1996: 31-42.

[2] Ren N. Light field photography with a hand-held plenoptic camera[D]. Stanford: Stanford University Cstr, 2005.

[3] Ren N. Fourier slice photography [J]. ACM Trans. on Graphics, 2005, 24(3): 735-744.

[4] Wang Z, Zhang X. Research of structured light measurement auto-focus system[J]. Computer Engin. & Appl., 2011, 47(9): 72-74.

[5] Levoy M, Zhang Z, McDowall I. Recording and controlling the 4D light field in a microscope using microlens arrays[J]. J. of Microscopy, 2009, 235(2): 144-162.

[6] Ren N. Digital light field photography[D]. Stanford: Stanford University, 2006: 38-39.

[7] Levoy M, Ng R, Adams A, et al. Light field microscopy[J]. ACM Trans. on Graphics, 2006, 25(3): 924-934.

[8] Wilburn B, Joshi N, Vaish V, et al. High performance imaging using large camera arrays [J]. ACM Trans. on Graphics (TOG), 2005, 24(3): 765-776.

[9] Tao M W, Hadap S. Depth from combining defocus and correspondence using light-field cameras[C]// Proc. of the IEEE Inter. Conf. on Computer Vision, 2013: 673-680.

[10] Wilburn B S, Smulski M, Lee H H K, et al. Light field video camera[C]// Media Processors 2002. Inter. Society for Optics and Photonics, 2001.

作者简介：

杨　帆(1992—)，男，湖南省石门县人，博士研究生，助理研究员，主要研究方向为微电子装备。