

DOI: 10.19650/j.cnki.cjsi.J2108871

面向显微操作的生物自动化捕捉系统研究^{*}

樊启高,赵 然,时 帅,黄文涛,毕恺韬
(江南大学物联网工程学院 无锡 214122)

摘 要:在生物显微操作实验中,安全稳定地捕捉生物目标具有极其重要的意义。针对传统人工操作效率低、可重复性差等问题,提出了一套面向显微操作的生物自动化捕捉系统,通过视觉反馈以及闭环控制,使用微移液管自动化抽吸在液体生长介质中的生物对象。首先采用粒子群算法对传统图像分割算法进行优化,以实现视野中生物目标与移液管位置的同步实时跟踪;然后建立了微移液管捕捉过程的动力学模型,采用非线性干扰观测器来抑制模型参数的不确定性及环境干扰,并建立了闭环控制系统;最后通过实验验证系统性能。实验测得系统的图像平均分割时间为 81.05 ms,捕捉平均所需时间 1.85 s,捕捉平均最大误差 0.34 mm,捕捉成功率 94%。实验表明,系统可以在不同光源及视野中存在微量干扰的环境下实现准确、快速、无损捕捉生物对象,并具有良好的鲁棒性。该方法的潜在应用包括胚胎玻璃化冷冻、胚胎干细胞移植、卵裂球活检、细胞力学性质检测等。

关键词:显微操作;自动化;视觉伺服;动力学;运动控制

中图分类号: TP273 TH79 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 510.40 510.80

Research on the biological automatic capture system for micromanipulation

Fan Qigao, Zhao Ran, Shi Shuai, Huang Wentao, Bi Kaitao

(School of Internet of Things Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In the biological micromanipulation experiment, it is of great significance to capture biological targets safely and stably. The traditional manual operation has problems of low efficiency and poor repeatability. To address these issues, a set of biological automatic capture system for micromanipulation is proposed. Through visual feedback and closed-loop control, the micropipette is used to automatically aspirate biological objects in a liquid growth medium. Firstly, the particle swarm optimization algorithm is used to optimize the traditional image segmentation algorithm to realize the synchronous real-time tracking of the biological target in the field of view and the position of the pipette. Then, the dynamic model of micropipette capture process is formulated, the nonlinear disturbance observer is used to suppress the uncertainty of model parameters and environmental disturbance, and the closed-loop control system is established. Finally, the performance of the system is evaluated by experiments. Results show that the average image segmentation time of the system is 81.05 ms, the average capture time is 1.85 s, the average maximum error of capture is 0.34 mm, and the capture success rate is 94%. The experiments show that the system can accurately, quickly and undamaged capture biological objects in the environment with trace interference in different light sources and visual fields, which has good robustness. The potential applications of this method include vitrification of embryos, embryonic stem cell transplantation, blastomere biopsy, cell mechanical property detection, etc.

Keywords: micromanipulation; automation; visual servo; dynamics; motion control

0 引 言

近年来,随着生物医学研究的深入,生物显微操作技

术已经成为国内外研究的重点方向^[1]。其中,生物细胞或胚胎的捕捉是最基础的操作之一,现有的捕捉技术包括微流控芯片^[2]、光学捕捉^[3]、介电泳^[4]、声学捕捉^[5]、微移液管捕捉^[6]等。实现显微捕捉操作的首要需求,就

收稿日期:2021-11-15 Received Date: 2021-11-15

^{*} 基金项目:江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目(GDZB-138)、江苏省自然科学基金(BK20210475)、江苏省自然科学基金(BK20200623)项目资助

是操作过程必须维持生物体正常的生理功能。目前,多种生物医学临床应用都需要在对应的培养液环境中进行。如人工授精过程中精子插入卵母细胞之前,必须保证精子一直处于培养溶液中。通过使用微移液管将生物对象与培养基共同吸入移液管内,可以有效减少其暴露在空气中的时间,且相比于其他捕捉技术,微移液管捕捉过程中由设备所产生的损伤很小。因此采用微移液管捕捉技术可有效提高操作对象的存活率^[7]。

使用微移液管进行捕捉操作具有悠久的历史,由于其高特异性、高精密度、低损伤的特点,被广泛应用于胚胎干细胞移植、卵裂球活检、人工授精、细胞力学性质检测等操作中^[8-12]。然而,由于将生物目标吸入微移液管并保持的过程涉及非线性动力学(如生物体积随时间发生变化、移液管中的培养基质量的变化、抽吸通道中微小污染物影响),目前对此过程没有系统的计算方法,导致基于微移液管抽吸的自动化捕捉系统设计难度加大。目前使用微移液管进行细胞尺度的操作多靠人工完成,这也是制约生物显微操作技术进步的一大难题^[13-14]。

除此之外,自动化微操作系统的控制方法也是研究的主要问题之一。文献[15]提出了一种基于自适应控制的细胞捕捉模型,通过实时估计和更新捕捉目标的长度与速度,达到自动化抽吸不同大小生物对象的目的。文献[16]采用自适应滑膜控制进行卵母细胞的去核操作,在抑制超调和提高精度方面有较好的表现。文献[17]设计了一个自动胚胎玻璃化冷冻系统,系统采用比例积分微分(proportion integral differential, PID)控制器,在处理速度、存活率和发育率3方面都优于传统人工操作。文献[18]采用位置-速度双闭环PID控制器驱动步进电机,实现微移液管的精确可靠抽吸。这些方法大多依靠精确的运动模型进行跟踪试验,而忽略了实际操作中的多种不确定性干扰。

本文将以实现显微视野下对丰年虾卵的捕捉为例,构建一种面向显微操作的生物自动化微操纵平台,通过将生物对象抽吸并维持在含有培养液的微移液管内,减少其在移动过程中受到的损伤。针对实际实验中,光线亮度不稳定及培养液中存在微量杂质干扰的问题,对图像处理算法进行了优化。建立捕捉过程的动力学模型,并根据该模型设计了一种基于干扰观测器的PD控制器,用以削弱捕捉过程中不确定性干扰给系统带来的影响。实验结果表明,系统能够快速、稳定地将实验对象移动到微移液管内的目标位置,并具有良好的鲁棒性。

1 视觉检测与目标跟踪

图像视觉检测算法的计算速度与准确率是实验成功与否的关键,可以保证捕捉的实时性与准确性。

1.1 执行器末端 Z 轴定位

如图1所示,为了保证在捕捉过程的成功率,需要将执行器末端即微移液管口与待捕捉目标保持同一高度。文献[15]采用触底检测的方法进行执行器末端的高度定位,根据执行器下降中产生的微小滑动判断其已经到达底部。该方法被验证已有较高的成功率。然而由于玻璃微移液管易碎的特点,管口直径较小的微移液管容易在实验的过程中出现损坏。故本文采用清晰度检测算法对执行器末端的高度进行估计。具体步骤为实验测得微移液管刚好接触培养皿底部的临界清晰度指标,实际操作时事先将显微视野聚焦于培养皿底部,通过微移液管在显微视野里上下移动时清晰度的数值判断其是否已经到达培养皿底部。

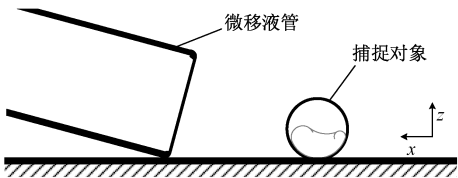


图1 捕捉位置示意图
Fig. 1 Capture position diagram

常用清晰度评价函数在实验平台上的数值对比如图2所示,表1为各评价算法实际所花费时间的对比。兼顾数据的差异性与算法的速度之后,选用 Tenengrad 算法进行执行器末端 Z 轴定位。

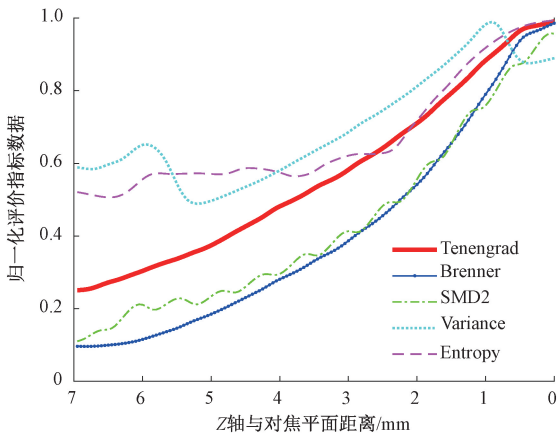


图2 清晰度指标对比
Fig. 2 Comparison of clarity evaluation

表1 算法速度对比
Table 1 Algorithm speed comparison

算法	Tenengrad	Brenner	SMD2	Variance	Entropy
平均耗时/ms	14. 03	365. 18	1 429. 67	1 080. 42	2. 05

Tenengrad^[19]是一种基于梯度的清晰度评价函数,通过 Sobel 算子估算图像的梯度信息并进行平方运算,通过扩大梯度信息分辨图像的清晰度。其清晰度定义为:

$$F = \begin{cases} \sum_x \sum_y [G(x,y)]^2, & G(x,y) > T \\ 0, & G(x,y) < T \end{cases} \quad (1)$$

式中: $G(x,y) = \sqrt{G_x^2(x,y) + G_y^2(x,y)}$ 。 $G_x(x,y)$ 、 $G_y(x,y)$ 分别为图像与 Sobel 算子 g_x 、 g_y 的卷积:

$$g_x = \frac{1}{4} \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix}, g_y = \frac{1}{4} \begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix} \quad (2)$$

算法通过将图像在水平以及竖直方向进行模板运算,并加权平均后进行微分,对图像的噪声有一定的抑制能力。

1.2 执行器末端与捕捉目标检测

如图 1 所示,捕捉的成功率与微移液管距捕捉目标的距离密切相关。过长的距离会导致捕捉所需负压过大,控制难度增加;过短的距离会导致捕捉目标与管口接触过多,捕捉对象易受伤害。因此,需要精确定位待捕捉目标与执行器末端即微移液管口的位置。

针对实验环境中容易出现光照不均匀、培养皿中有微量漂浮物出现的情况,主要采用最大类间方差法 (Otsu) 进行图像二值化处理。Otsu 算法^[20]是一种常用的图像二值化分割算法,选定合适的阈值后,通过该阈值计算像素区域之间的类间方差,可按灰度特性将图像分为目标和背景两部分,从而弱化不同光照强度以及视野中微量杂质带来的不利影响。然而 Otsu 算法运算较为冗余,使得检验不能保证实时性。所以采用粒子群优化算法 (particle swarm optimization, PSO) 对 Otsu 进行优化,通过种群中个体间的协作与信息共享,加快 Otsu 算法最大类内方差值的最佳阈值 T_{best} 的寻找速度,且算法参数少,适用于实时优化。

PSO 算法^[21]可以将最优解问题转化为模仿鸟类群体的觅食行为,通过群体的信息交互实现问题的智能化求解。鸟的数量对应粒子群的规模 m ,每个粒子都有两个基本特征,即位置信息 $x_i = (x_1, x_2, x_3, \dots, x_m)$ 和速度信息 $v_i = (v_1, v_2, v_3, \dots, v_m)$,位置信息代表当前的阈值信息 T ,速度信息对应阈值更新速度。算法根据个体类内方差最大值 P_{best} 和全局类内方差最大值 G_{best} 不断迭代,更新位置信息与速度信息,最后达到最优解。迭代算法的表达式如下:

$$v_i^{n+1} = \omega v_i^n + c_1 r_1 (P_{best}_i^n - x_i^n) + c_2 r_2 (G_{best}_i^n - x_i^n) \quad (3)$$

$$x_i^{n+1} = x_i^n + v_i^{n+1} \quad (4)$$

式中: ω 为惯性权重,使粒子有搜索空间的能力,提高算法性能; c_1 、 c_2 为学习因子; r_1 、 r_2 介于 (0,1) 之间的常数。

算法通过合理选择 ω 与 c_1 、 c_2 的取值,调节其全局寻优与局部寻优的能力,从而加快计算效率,提高运算速度。

将视野下的图像经过缩小处理减少运算时间;将图像进行 Guassian Blur 高斯滤波处理,平滑处理的同时保留更多的图像特征;通过 PSO 优化的 Otsu 算法得到处理后的二值化图像,针对实验环境中不同部位亮度差异以及微量漂浮物干扰,计算局部的阈值,进而将目标与背景分割;将处理后的图像进行膨胀处理,进一步将培养皿内微小漂浮物过滤掉;最后进行图像轮廓检测,视野中面积最大与次大轮廓即为视野中的执行器与捕捉目标。选取两组轮廓最左侧的点,即为执行器末端与捕捉目标所在位置。

1.3 捕捉过程检测

如图 3 所示,捕捉过程发生在执行器末端到达目标附近指定位置后,分为捕捉物在移液管外和进入移液管两个阶段,在此期间需要通过视觉跟踪获得目标的实时位置反馈给闭环控制。捕捉过程伴随着负压吸取培养液,所以检测算法需要有一定的鲁棒性,以应对抽吸过程中的微小震动以及培养液中的微量杂质的干扰。

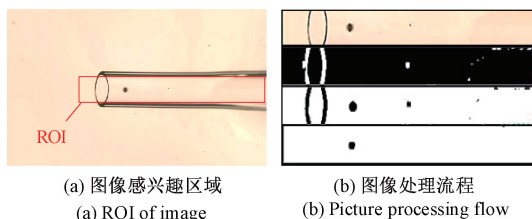


图 3 图像处理

Fig. 3 Picture processing

由于实际捕捉过程发生速度较快,对检测算法的速度要求极高。如图 3(a) 所示,在执行器末端到达指定位置后,根据微移液管的位置设置感兴趣区域 (region of interest, ROI),只对 ROI 内的图像进行检测计算,可以大大减少运算时间。

微移液管到达规定位置后,将感兴趣区域中的图像二值化处理,存储为背景图像。对接下来每一帧的二值化图像与背景帧做帧差运算,筛选轮廓最大的图像作为捕捉对象当前运动位置。处理过程如图 3(b) 所示,从上至下依次为感兴趣区域图像、背景图像、二值化图像、帧差处理后图像。在生物对象在移液管内的移动过程中,通过 Kalman Filter 卡尔曼滤波器,将移动过程中的误检测过滤,保证检测结果的准确。

2 捕捉控制

捕捉控制分为两个阶段,为执行器末端的位置控制与捕捉过程的控制。基于捕捉对象胚胎或细胞重量小、

易损伤,捕捉过程涉及非线性动力学的特点研究了基于干扰观测器的PD控制策略,在满足捕捉成功率的同时,减小对目标的伤害,保证个体存活率。

2.1 捕捉过程动力学分析

捕捉过程采用精密压力控制器连接微移液管实现抽吸压力的控制。为了精确控制微移液管内捕捉对象的位置,必须将对象的运动动力学集成于闭环控制器中。捕捉过程如图4所示。

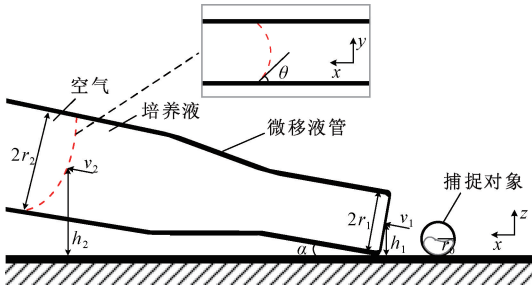


图4 捕捉系统示意图

Fig. 4 Diagram of the capture system

假设抽吸过程中培养液做定常流动,且为不可压缩流,根据流体连续性方程,可得:

$$\rho v_1 A_1 = \rho v_2 A_2 \quad (5)$$

式中: ρ 为培养液密度; A_1 和 A_2 分别为移液管口与气液交界(图4虚线)处移液管的截面积。由此可得微移液管管口液体流速 v_1 与气液交界面处流速 v_2 的关系为:

$$v_2 = \left(\frac{r_2}{r_1}\right)^2 v_1 \quad (6)$$

式中: r_1 和 r_2 分别为移液管口与气液交界处的内径。压力控制器输出端口压力为 p_1 ,微移液管管口压力为 p_2 ,根据伯努利方程可得:

$$\rho g h_1 + p_1 + \frac{1}{2} \rho v_1^2 = \rho g h_2 + p_2 + \frac{1}{2} \rho v_2^2 \quad (7)$$

式中: h_1 和 h_2 分别为微移液管口与气液交界处的液面高度。将式(6)代入式(7),计算表面张力引起的压力变化,有:

$$v_1 = \left[\frac{2}{k \cdot \rho} \left(\rho g \Delta h + \Delta p - \frac{2\sigma \cos \theta}{r_2} \cos \alpha \right) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

式中: $k = 1 - \left(\frac{r_2}{r_1}\right)^4$; $\Delta h = h_2 - h_1$; $\Delta p = p_2 - p_1$; σ 为流体的表面张力系数; θ 为气液交界处接触角; α 为移液管与底面的夹角(图4)。将待捕捉物体视为刚性球体,由于微移液管口靠近目标,目标附近的流体速度可近似等于移液管口处的流体速度。根据斯托克斯定律,培养液中待捕捉物体所受粘滞阻力为:

$$F_s = 6\pi\eta r_0 v_1 \quad (9)$$

式中: r 为物体半径; η 为液体的粘滞系数。由此可得物体被吸入微移液管的运动方程如式(10)所示。

$$F_s = \cos \alpha (m \ddot{x}_0 + c \dot{x}_0) \quad (10)$$

式中: c 为液体的阻尼系数; x_0 为物体位移在 XY 平面上的投影。

2.2 控制器的设计

在目标抽吸的过程中,存在培养基的质量与阻尼系数均会随时间变化、目标物体体积变化、移液管内壁不光滑、连接导管中存在微小颗粒等干扰因素,使抽吸过程涉及非线性动力学,传统控制方法并不能达到精确控制。采用干扰观测器技术,可以获取叠加在控制输入上的扰动值,并补偿给控制系统,对系统的非线性干扰有很好的抑制效果。

由式(8)~(10)可得输入压力变化与位移的关系。

$$\text{令 } a_1 = \frac{6\sqrt{2}\pi\eta r_0}{\sqrt{k\rho}}, a_2 = \left(\rho g \Delta h - \frac{2\sigma \cos \theta}{r_2} \cos \alpha \right), x = x_0 \sec \alpha,$$

引入系统扰动 τ ,可得:

$$\frac{a_1(\Delta p + a_2)}{|\Delta p + a_2|} \sqrt{|\Delta p + a_2|} - \tau = m \ddot{x} + c \dot{x} \quad (11)$$

对式(11)适当简化,系统状态方程如下:

$$\ddot{x} = -A\dot{x} + Bu - d \quad (12)$$

式中: $A = \frac{c}{m}$, $B = -\frac{a_1}{m}$, $u = \frac{(\Delta p + a_2)}{|\Delta p + a_2|} \sqrt{|\Delta p + a_2|}$, $d = \frac{\tau}{m}$,其中 u 为系统的输入, d 为系统的总体干扰。

定义干扰观测器为:

$$\begin{cases} \dot{\hat{d}} = k_1(\hat{v} - \dot{x}) \\ \dot{\hat{v}} = -A\dot{x} + Bu - \hat{d} - k_2(\hat{v} - \dot{x}) \end{cases} \quad (13)$$

式中: $\hat{d}$ 为对参数 d 的估计; $\hat{v}$ 为对参数 $\dot{x}$ 的估计。设计Lyapunov函数:

$$V = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{k_1} \tilde{d}^2 + \tilde{v}^2 \right) \quad (14)$$

式中: $\tilde{d} = d - \hat{d}$; $\tilde{v} = \dot{x} - \hat{v}$ 。对式(14)两边时间 t 求导,得:

$$\dot{V} = \frac{1}{k_1} \tilde{d}(\dot{d} - \dot{\hat{d}}) + \tilde{v}(\ddot{x} - \dot{\hat{v}}) \quad (15)$$

将式(12)~(14)代入式(15),得:

$$\dot{V} = \frac{1}{k_1} \tilde{d} \dot{d} - \tilde{d}(\hat{v} - \dot{x}) + \tilde{v}(-d + \hat{d}) + \tilde{v}k_2(\hat{v} - \dot{x}) \quad (16)$$

相较于观测器的动态特性,干扰 d 的变化并不明显,故式中 $\dot{d} \rightarrow 0$,最终可得:

$$\dot{V} = -k_2 \tilde{v}^2 \leq 0 \quad (17)$$

即观测器估计误差全局稳定。

在控制过程中,通过观测器得到系统受到的干扰 d

并实时补偿到 PD 控制器中,构成基于干扰观测器的 PD 控制策略,即:

$$u = K_p e + K_d \frac{de}{dt} + \frac{1}{\alpha_0} \hat{d}$$

(18)

式中: K_p 、 K_d 分别为 PD 项中的比例项、微分项系数; e 为位移误差; $\frac{1}{\alpha_0} \hat{d}$ 为观测器项。

3 实验验证

3.1 系统介绍

本文设计的捕捉系统原理如图 5 所示。系统由机械平台驱动模块、机械臂驱动模块、压力泵驱动模块、视觉反馈模块 4 部分组成。

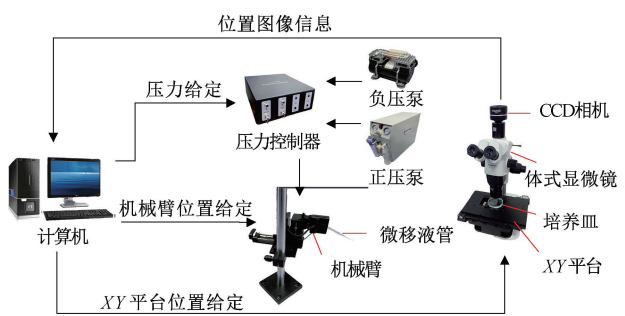


图 5 系统原理

Fig. 5 System schematic diagram

机械平台驱动模块由 XY 微位移平台组成,用于固定培养皿以及沿 XY 方向调整视野内捕捉对象的位置;机械臂驱动模块由机械臂与微移液管组成,用于沿 XYZ 方向移动微移液管;压力泵驱动模块由气压控制器与正压泵、负压泵组成,用于目标捕捉过程中的气压控制;视觉反馈模块由 CCD 摄像头组成,用于观察显微视野下目标的实时状态并传回计算机,所有模块与计算机相连,通过计算机传递指令完成操作。

自动化捕捉系统的操作流程包含 4 个步骤:1) 目标在显微视野中的搜寻,用于将待捕捉目标移动至显微镜视野内;2) 执行器末端的 Z 轴定位,用于驱动执行器末端与待捕捉目标保持同一高度;3) 执行器末端的 XY 轴定位,用于驱动执行器末端到达目标附近适合捕捉的位置;4) 抽吸压力控制,用于目标的吸持以及固定。

本文捕捉实验选择对象为丰年虾卵,卵平均直径 0.20 mm,所用微移液管管口内径 1.25 mm,显微镜放大倍数 13 倍,移液管与平面夹角 15°。通过视觉检测实验以及捕捉实验探究捕捉系统的稳定性、快速性与鲁棒性。

3.2 视觉检测实验

为验证分析本文基于 PSO 优化的 Otsu 算法针对系统的具体分割性能,分别对传统 Otsu 算法、遗传算法优化的 Otsu 和本文算法进行了对比实验,数据如表 2 所示。选用灰度级 256,PSO 算法参数为种群规模 $m = 20$,迭代次数 10 次,惯性权重系数 $\omega = 0.5$,学习因子 $c_1 = c_2 = 2.0$ 。3 种算法的实际分割效果如图 6 所示,相较于原始 Otsu 算法,PSO 优化后的算法在保证分割效果的情况下,将运算时间减少了 65.27%。

表 2 算法分割性能

Table 2 Algorithmic segmentation performance

分割算法	最佳分割阈值	分割时间/ms
Otsu 算法	130	233.408 5
遗传算法优化 Otsu	133	182.953 1
PSO 算法优化 Otsu	136	81.053 5

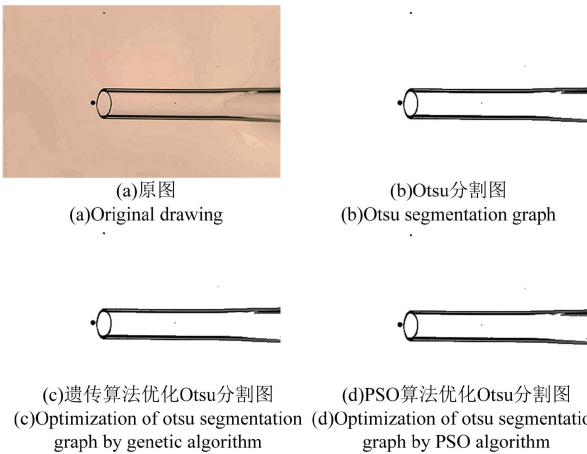


图 6 图像分割效果对比

Fig. 6 Image segmentation effect comparison

对目标捕捉过程中,精确的视觉定位是系统稳定运行的关键,实验过程中,可能会出现目标移动速度过快以致摄像头无法实时捕捉到目标具体位置的情况。实验测定了 125 组目标追踪实验,以评估目标追踪成功率,详细数据如表 3 所示。

表 3 目标追踪结果

Table 3 Target tracking results

目标移动速度/(mm·s ⁻¹)	追踪成功	追踪失败
0 < v ≤ 1.41	45	0
1.41 < v ≤ 1.75	38	2
1.75 < v ≤ 2.25	35	5

结果分为 3 组,经试验测定,目标移动速度小于 2.25 mm/s 时,追踪成功率可达 94.4%。而目标移动速度大于该值,追踪成功率较低,因此在捕捉开始前,需将微移液管口与目标距离合理设计,保证在不损伤目标的情况下,降低目标抽吸过程的初始移动速度至 2.25 mm/s 以下,从而能保持较高的追踪成功率。经实验验证,目标移动到微移液管内 2.6 mm 的情况下,管口与目标距离设定为 0.65 mm。

3.3 捕捉实验

微移液管尖端的精确控制是自动化捕捉系统的关键之一。系统根据捕捉目标位置和微移液管的位置规划出一条直线路径,并采用基于视觉反馈的 PID 控制器实现移液管的运动控制。为验证控制器精度,对应实际捕捉过程,控制机械臂带动微移液管跟踪一条直线路径,轨迹跟踪效果如图 7 所示。微移液管在 19.6 s 的时间走完整条路径,平均速度为 0.593 mm/s。跟踪误差如图 8 所示,最大跟踪误差为 0.052 mm,平均误差 0.038 mm,均方根误差 0.041 mm,结果表明控制方法能够满足系统的精度要求。

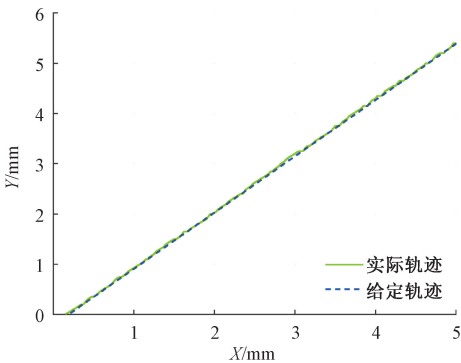


图 7 移液管尖端轨迹跟踪

Fig. 7 Pipette tip trajectory tracking

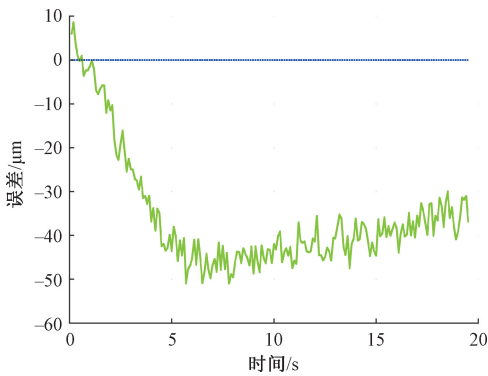


图 8 移液管尖端轨迹跟踪误差

Fig. 8 Error of pipette tip trajectory tracking

系统通过控制压力泵的气压输出来捕捉生物目标,捕捉过程采用干扰观测器来应对系统中的不确定扰动。为了验证控制器的性能,对基于干扰观测器的 PD 控制与传统 PD 控制效果做了对比试验。捕捉前、捕捉后的目标位置示意图如图 9 所示,初始位置与目标位置间的距离为 3.25 mm。丰年虾卵捕捉实验中本文所用控制器与 PD 控制器的控制效果对比如图 10 所示。

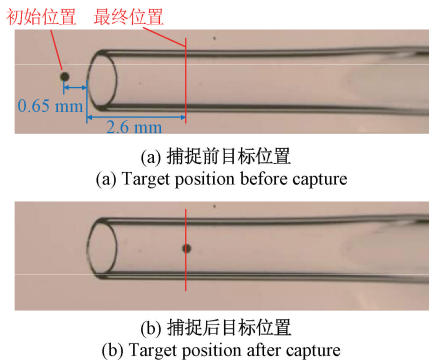


图 9 捕捉过程

Fig. 9 Capture process diagram

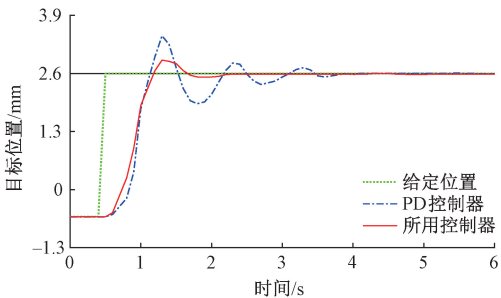


图 10 捕捉效果对比

Fig. 10 Capture effect comparison

实验的 50 个对象中,47 个对象捕捉成功,捕捉成功率 94%,捕捉失败的原因因为卵粘附在培养皿底部,初始输入压力不能驱使其移动,进而导致捕捉失败。在捕捉成功的实验中,系统捕捉平均所需时间为 1.85 s,平均最大超调 0.34 mm,目标定位的成功率为 100%。

为进一步验证捕捉控制器的性能,进一步对斑马鱼胚胎及青鳉鱼胚胎进行了捕捉实验。实验选用斑马鱼胚胎直径 1.02 mm,胚胎表面光滑;选用青鳉鱼胚胎直径 0.89 mm,胚胎表面有绒毛。图 11(a)、(b)所示分别为斑马鱼胚胎图像、青鳉鱼胚胎图像,图 11(c)、(d)所示分别为斑马鱼胚胎捕捉实验、青鳉鱼捕捉实验。实验结果表明,本文所用控制器与 PD 控制器都可以实现对不同规格及形态的捕捉目标精确定位。其中,基于干扰观测器的 PD 控制策略在超调量和稳定时间方面都有更好的发挥,更适合应用于自动捕捉系统的运动控制中。

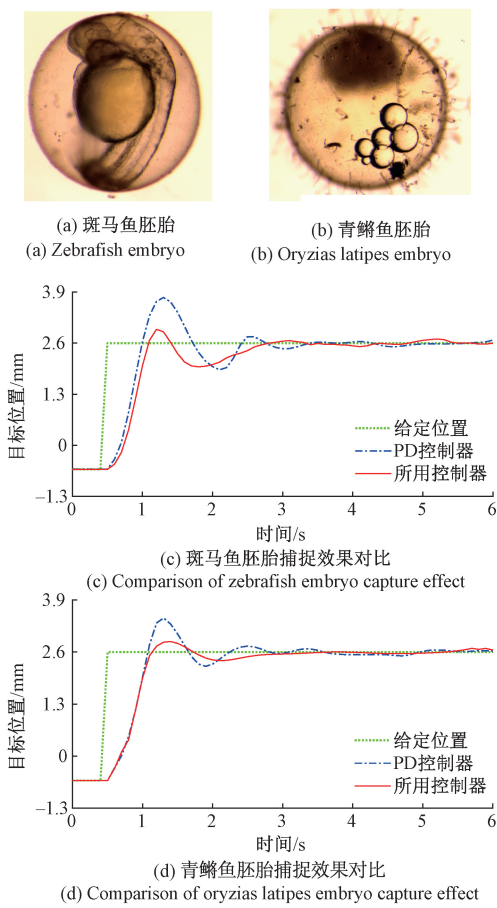


图 11 不同生物对象捕捉效果对比

Fig. 11 Comparison of capture effects on different biological objects

为验证捕捉控制器的控制效果,对微移液管内的实验对象进行了轨迹追踪实验。控制器驱动实验对象沿一维往返轨迹追踪的效果如图 12 所示。实验对象在 7.1 s 的时间走完整条路径,平均速度为 2.12 mm/s。

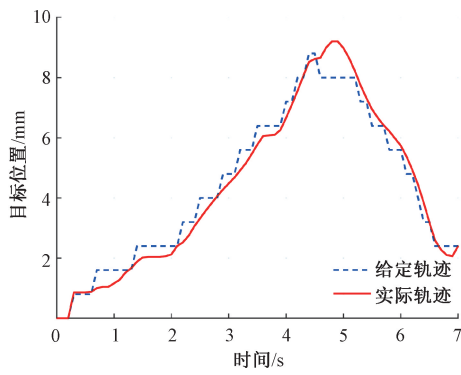


图 12 生物目标轨迹跟踪

Fig. 12 Biological targets trajectory tracking

跟踪误差如图 13 所示,最大跟踪误差 0.384 mm,平均误差 0.154 mm,均方根误差 0.169 mm,可以认为在该实验系统中,所用控制方法能够快速、稳定地将实验对象移动到目标位置。

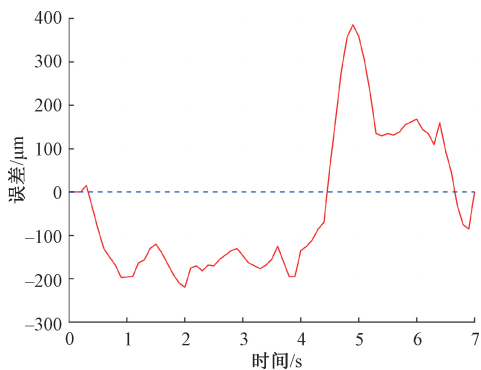


图 13 生物目标轨迹跟踪误差

Fig. 13 Error of biological targets trajectory tracking

为验证系统的鲁棒性,在系统稳定后,通过给定输入压力的波动进行干扰实验。两种控制方法对外界干扰的控制如图 14 所示。针对外界扰动,带有干扰观测器的 PD 控制策略与传统 PD 控制策略的控制结果相比,超调更少,收敛更快,体现了该控制方法良好的鲁棒性。

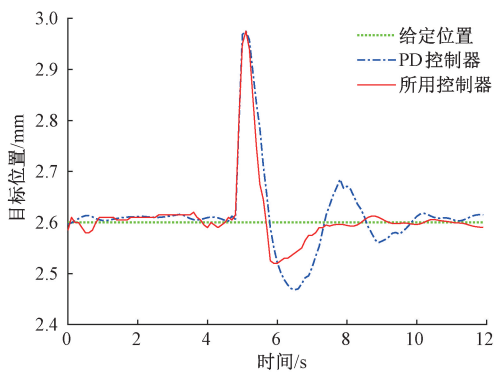


图 14 对于外界干扰的控制结果

Fig. 14 Control results for external disturbances

4 结 论

本文设计了一个面向显微操作的生物自动化捕捉系统。首先利用 Tenengrad 清晰度算法解决了微移液管的 Z 轴精确定位问题。然后提出了一种适用于系统图像分割的 PSO 优化 Otsu 算法,结合形态学运算,可以避免系统因光照不均匀、含微量漂浮杂质等环境因素对图像的干扰。实验测得优化后的图像算法可以将运算时间减少

65.27%,目标追踪成功率可达94.4%。最后提出了一种描述胚胎运动的动力学模型,该模型描述了生物目标捕捉到微移液管内部的运动过程。基于动力学模型和视觉算法,设计了一种基于干扰观测器的PD控制器,对捕捉过程中的非线性干扰进行补偿,用于微移液管内生物目标的自动化抽吸和定位。在丰年虾卵的捕捉实验中,该控制策略捕捉目标平均所需时间为1.85 s,平均最大超调0.34 mm,目标定位成功率100%,目标捕捉成功率94%。斑马鱼胚胎和青鳉鱼胚胎的捕捉实验表明,系统在捕捉不同规格形态的生物对象时,控制器的超调量、稳定时间均优于标准PD控制器。实验验证了系统可以实现快速、无损、稳定地捕捉生物目标,并具有良好的鲁棒性。

参考文献

- [1] HUANG H, DAI C, SHEN H, et al. Recent advances on the model, measurement technique, and application of single cell mechanics [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6248.
- [2] 黄彩虹,易定容,金福江,等.单细胞分离方法及仪器研究进展[J]. *仪器仪表学报*, 2020, 41(5): 140-153.
HUANG C H, YI D R, JIN F J, et al. Research progress of single cell separation methods and instruments [J]. *Chinese Journal of Scientific Instrument*, 2020, 41(5): 140-153.
- [3] 常婉晴,郭云霞,崔玉军,等.单细胞光学操纵方法研究进展[J]. *中国科学:生命科学*, 2020, 50(6): 575-588.
CHANG W Q, GUO Y X, CUI Y J, et al. Research progress of single cell optical manipulation methods [J]. *Chinese Science: Life Sciences*, 2020, 50(6): 575-588.
- [4] 金鑾,王浩,王艳敏,等.一种基于非接触式介电泳捕获微颗粒和癌细胞的微流控芯片的研究[J]. *现代化工*, 2020, 40(1): 145-149.
JIN L, WANG H, WANG Y M, et al. Research on a microfluidic chip based on non-contact dielectrophoresis to capture micro particles and cancer cells [J]. *Modern Chemical Industry*, 2020, 40(1): 145-149.
- [5] 张文俊,牛丽丽,刘秀芳,等.基于单微泡共振细胞捕获研究[A]. *中国声学学会*, 2018:2.
ZHANG W J, NIU L L, LIU X F, et al. Study on resonance cell capture based on single microbubble [A]. *Chinese Acoustic Society*, 2018:2.
- [6] TABATABAEI M, TAFAZZOLI-SHADPOUR M, KHANI M M. Altered mechanical properties of actin fibers due to breast cancer invasion: Parameter identification based on micropipette aspiration and multiscale tensegrity modeling[J]. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 2021, 59(3): 547-560.
- [7] ZHANG X P, LEUNG C, LU Z, et al. Controlled aspiration and positioning of biological cells in a micropipette [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2012, 59(4): 1032-1040.
- [8] BLANCA, GONZÁLEZ-BERMÚDEZ, GUSTAVO, et al. Advances in micropipette aspiration: Applications in cell biomechanics, models, and extended studies [J]. *Biophysical Journal*, 2019, 116(4): 587-594.
- [9] WANG Z, HU Y, WEI J, et al. Visual servoed robotic mouse oocyte rotation [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2019, 67(8): 2389-2396.
- [10] HATZEL J N, STOKES J A. Intracytoplasmic sperm injection[J]. *Equine Reproductive Procedures*, 2021: 187-189.
- [11] USA B, BC C, TGA D, et al. Nanonewton scale adhesion force measurements on biotinylated microbeads with a robotic micropipette[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 602: 291-299.
- [12] WONG C Y, MILLS J K. Cell extraction automation in single cell surgery using the displacement method[J]. *Biomedical Microdevices*, 2019, 21(3): 1-11.
- [13] GONG H, LI L, QIU J, et al. Automatic cell rotation based on real-time detection and tracking [J]. *IEEE Robotics and Automation Letters*, 2021, 6(4): 7909-7916.
- [14] WANG H, BAI K, CUI J, et al. Three-dimensional autofocusing visual feedback for automated rare cells sorting in fluorescence microscopy[J]. *Micromachines*, 2019, 10(9): 567.
- [15] SHAN G, ZHANG Z, DAI C, et al. Model-based robotic cell aspiration: Tackling nonlinear dynamics and varying cell sizes [J]. *IEEE Robotics and Automation Letters*, 2019, 5(1): 173-178.
- [16] ZHAO X, CUI M, ZHANG Y, et al. Robotic precisely

- oocyte blind enucleation method[J]. Applied Sciences, 2021, 11(4): 1850.
- [17] LIU J, SHI C, WEN J, et al. Automated vitrification of embryos: A robotics approach [J]. Robotics & Automation Magazine IEEE, 2015, 22(2): 33-40.
- [18] 张晓亮,王弼陡,罗刚银. 一种具监测功能的高精度微量移液器的设计[J]. 北京生物医学工程, 2019, 38(4): 407-416.
- ZHANG X L, WANG B D, LUO G Y. Design of a high-precision micropipette with monitoring function [J]. Beijing Biome-dical Engineering, 2019, 38 (4): 407-416.
- [19] YANG C, CHEN M, ZHOU F, et al. Accurate and rapid auto-focus methods based on image quality assessment for telescope observation [J]. Applied Sciences, 2020, 10(2): 658.
- [20] 吴京城,洪欢欢,施露露,等. 反背景差分结合 Otsu 的细胞图像分割方法[J]. 电子测量与仪器学报, 2021, 35(4): 82-89.
- WU J CH, HONG H H, SHI L L, et al. Cell image segmentation method based on anti background difference and Otsu [J]. Journal of Electronic Measurement and Instrumentation, 2021, 35 (4): 82-89.
- [21] 张玉欣,金江春植,白晶,等. 基于 PSO_GRNN 网络的肺内静态压力值测量方法[J]. 仪器仪表学报,

2020, 41(5): 174-184.

ZHANG Y X, JIN J CH ZH, BAI J, et al. Based on PSO_ prediction method of intrapulmonary static pressure based on GRNN network [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2020, 41(5): 174-184.

作者简介



樊启高 (通信作者), 2008 年于中国矿业大学获得学士学位, 2013 年于中国矿业大学获得博士学位, 现为江南大学副教授, 主要研究方向为机器人技术、智能传感器和物联网技术。

E-mail: qgf@jiangnan.edu.cn

Fan Qigao (Corresponding author) received his B. Sc. degree and Ph. D. degree both from China University of Mining and Technology in 2008 and 2013, respectively. He is currently an associate professor at Jiangnan University. His main research interest includes robotics, intelligent sensors and IOT technology.



赵然, 2019 年于湖南大学获得学士学位, 现为江南大学硕士研究生, 主要研究方向为机器人技术、生物医疗技术。

E-mail: 6191915026@stu.jiangnan.edu.cn

Zhao Ran received his B. Sc. degree from Hunan University in 2019. He is currently a M. Sc. candidate at Jiangnan University. His main research directions are robotics and bio-medical technology.