

小型 Wi-Fi 智能显微镜设计

赵英然*, 闫克丁, 杨树蔚

西安工业大学电子信息工程学院, 陕西 西安 710021

摘要 为了摆脱传统显微镜操作繁杂、体积巨大、光源严格等问题,提出了一种小型 Wi-Fi 智能显微镜系统。采用常见网络相机的 CMOS 电路作为显微镜的成像电路,并合理利用网络摄像头感光性强的优势。通信模块采用 ESP8266 模块的 AP 功能实现电脑与显微镜的网络通信,可将图像传输在上位机软件上执行相机参数设置、图像保存等操作。利用 NX12.0 软件设计显微镜的机械结构并通过三维打印技术实现,成本低廉。最终实现了整个系统的配合运转,并通过该显微镜采集到了细胞图像。

关键词 成像系统; 显微镜; ESP8266 模块; Wi-Fi 通信; 网络相机; 三维打印技术

中图分类号 0436

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP202259.2211002

Small Wi-Fi Smart Microscope Design

Zhao Yingran*, Yan Keding, Yang Shuwei

School of Electronic Information Engineering, Xi'an Technological University, Xi'an 710021, Shaanxi, China

Abstract A small Wi-Fi-intelligent microscope system is proposed to get rid of the problems of the traditional microscope's complicated operation, large volume, and limited light source. The common network camera CMOS circuit is used as the microscope's imaging circuit, and the network camera's advantage is reasonably utilized. The communication module adopts network communication between the computer and the microscope, utilizing the AP function of the ESP8266 module. The image can be transmitted to the upper computer software to set the camera parameters and save the image. The cost is low because the mechanical structure of the microscope is designed using NX12.0 software and three-dimensional printing technology. Consequently, the whole system works in conjunction, and the cell image is collected through the microscope.

Key words imaging systems; microscope; ESP8266 module; Wi-Fi communication; network camera; three-dimensional printing technology

1 引言

显微镜实质是一种借助物理方法产生物体放大影像的仪器^[1]。从 1590 年左右第 1 台显微镜的发明,到如今的 400 多年来,显微镜广泛应用在了生物、化学、物理、冶金等各种科研领域,成为了重要的观察/测量仪器。在生命科学领域,光学显微技术为生物样品的检测、疾病诊断提供了有力的影像学依据^[2];在化学领域,可对化学合成的产物进行表征分析来观察原子排列;在物理领域,多用于尺寸测定、表面粗糙测定、颗粒度解析^[3]等;在冶金领域,利用激光显微镜提供的全能型成像系统进行金相组织观察、腐蚀形貌观察、失效分析等,观察分析更多的微观结构细节,同时提高冶金工

作的效率^[4]。

目前的成像方法中,基于明场照明的显微成像侧重于目标的低频信息,是最基本的光学显微镜。而暗场照明相对于明场则利用被样本散射和衍射的光线成像,虽有利于观察样本的表面细节与边缘轮廓,但内部细节较弱。而传统荧光显微成像本质上是利用细胞内不同组分对不同的化学或荧光染料亲和性的不同,形成足够的光强反差从而达到细胞成像的目的。在此基础上,许志兵等^[5]指出荧光偏振调制可通过增强荧光图像稀疏性进而增强图像对比度来获取超分辨尺度的生物分子位置和方向信息,但荧光标记的方法会对细胞产生不可逆的伤害,甚至杀死细胞,无法长时间观察。傅里叶叠层成像虽然能同时实现大视场和高空间

收稿日期: 2021-08-24; 修回日期: 2021-09-22; 录用日期: 2021-10-13

基金项目: 国家自然科学基金(11804263)

通信作者: *2856497933@qq.com

分辨率^[6],但需经过大量迭代计算来得到较为精确的重构结果,耗时长,且无法实时成像。光声显微成像由于其能无创提供活体生物组织结构和功能信息的优点,广泛应用到了多种生物医学成像领域^[7]。2020年,Lü等^[8]为了评估缺血性中风的生理状态,观察了小鼠的脑损伤结构组织,使用高灵敏度碗状阵列光声计算机断层成像在宏观水平上对氧饱和度进行了全视图结构成像和功能成像,然后用高分辨率光声显微镜在微观水平上观察梗死区的血管变化。该方法虽能实现无创、快速、高分辨率、高灵敏度的成像,但是微观观察仍需要对细胞进行染色,无法进行实时观测,且对激光器要求严格,设备成本高昂。

目前市面上销售的智能显微镜,大部分产品不支持二次开发,本研究所采用的海康威视网络相机可获取相应的软件开发工具包(SDK)进行二次开发,并在软件中实时调节图像的各项参数及增益,为以后的实时相位成像奠定了基础。而市面上具有二次开发功能的Wi-Fi显微镜大都为工业相机,成本昂贵。

因此,本文设计并实现了一种小型Wi-Fi智能显微系统,该系统体积小、操作便捷,CMOS成像也解决了传统显微成像需要严格光源的问题。并通过系统化设计,将整体分为显微镜成像子系统、显微镜通信子系统及显微镜软件子系统。

2 Wi-Fi智能显微镜系统

普通光学显微镜由光学系统、机械装置和照明系统等3部分组成。而所设计的小型Wi-Fi智能显微系统的显微镜成像模块选择海康威视网络相机,该相机是基于网络传输的数字化设备,通过网络输出接口直接接入本地局域网,机内内置数字化压缩芯片,将视频数据压缩后经由网络总线传输给用户。除此之外,作为视频监控的网络摄像头在弱光环境下具有很好的感光效果,不需要严格的光源,这对于本设计来说是一个非常有利的条件。所设计系统采用Wi-Fi通信模块将电脑和显微镜建立通信传输,并设计通用界面,建立个性化设置操作。总体系统框图如图1所示。

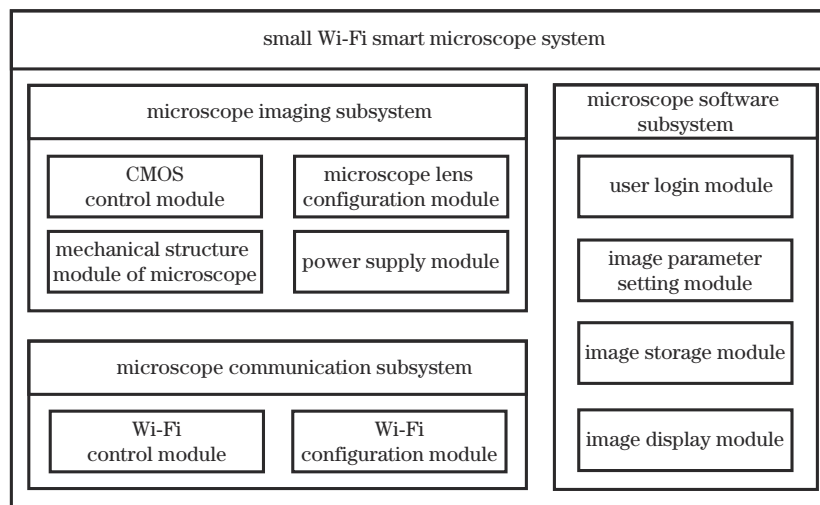


图1 小型Wi-Fi智能显微镜系统框图

Fig. 1 Block diagram of small Wi-Fi smart microscope system

2.1 显微镜成像子系统设计

2.1.1 CMOS控制模块

对于海康威视网络相机,首次使用需通过网络搜索(SADP)软件对其激活。具体操作步骤如下:

- 1) 下载并安装SADP软件,将相机通过网线与网络设备连接并连通电源;
- 2) 运行软件后,SADP软件会自动搜索局域网内的所有在线设备,列表中会显示设备类型、IP地址、激活状态、设备序列号等信息;
- 3) 勾选需要激活的设备,在“激活设备”处设置设备密码,单击“激活”完成激活,成功激活设备后,列表中“激活状态”会更新为“已激活”;

所设计的小型Wi-Fi智能显微镜利用了网络相机的内部CMOS主板,因此对已激活后的相机进行了拆

解,拆解后的实物如图2所示。

为了得到最佳图像,修正白天偏色问题,提升夜晚亮度,在CMOS图像传感器前安装了IR-Cut切换器。

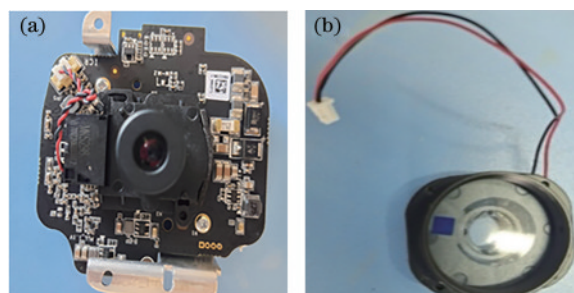


图2 CMOS控制模块。(a) CMOS控制电路;(b) IR-Cut切换器
Fig. 2 CMOS control module. (a) CMOS control circuit; (b) IR-Cut switcher

该切换器内置全光谱透镜薄膜,由微电子电机驱动,在 CMOS/CCD 感光芯片吸收到自然界的各种波长前,双滤光片根据侦测到的实际光线,阻挡/放行通过镜头的光线,使 CMOS/CCD 能够得到最恰当的成像光线。这样后期得到的图像就是一个最佳图像。

2.1.2 显微镜镜头配置模块

物镜使用的是生物显微镜专用的 195 型消色差物镜的 10× 和 20× 两种型号,可进行医疗检测、血常规化验、细菌检测、科学研究等,在本系统中主要用于观察标本。由于 195 系统显微镜物镜后焦长度为 160 mm,为了将显微镜物镜转成 C/CS 接口,加装了 C/CS 延长接环。

2.1.3 显微镜机械结构模块

显微镜结构通过 NX12.0 软件进行构图设计,包括相机固定底座、相机支架、载物台、显微镜底座、支架轴等。通过设计好的三维(3D)模型,由 3D 打印技术

得到实物模型,最后进行合理的组装及配置。部分 3D 构图如图 3 所示。

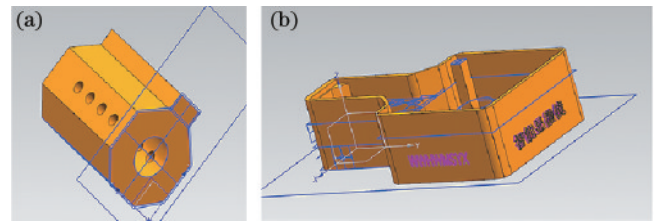


图 3 3D 构图。(a)相机固定底座;(b)相机支架
Fig. 3 3D composition. (a) Fixed base for camera; (b) camera bracket

2.1.4 电源供电模块

网络相机需要 12 V 电源。因此,采用 BJ 聚合物锂电池,电压为 12 V,容量为 1000 mAh,充电电压为 12.6 V。电源电路原理图如图 4 所示。

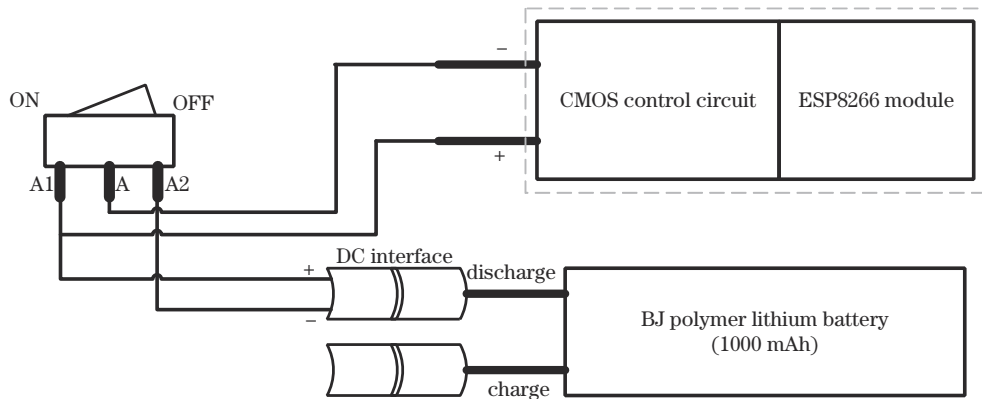


图 4 电源电路原理图
Fig. 4 Schematic diagram of power supply circuit

2.2 显微镜通讯子系统设计

2.2.1 Wi-Fi 控制模块

对于 ESP8266 模块的控制,由于要使用串口调试助手软件,用到了 USB 转 TTL 模块,VCC 引脚连接 5 V 电源引脚;GND 连接 USB 转 TTL 模块的负极;RXD 连接 USB 转 TTL 模块的 TXD;TXD 连接 USB 转 TTL 模块的 RXD,交叉连接,相互发送和接收数据。Wi-Fi 控制模块的接线图如图 5 所示。

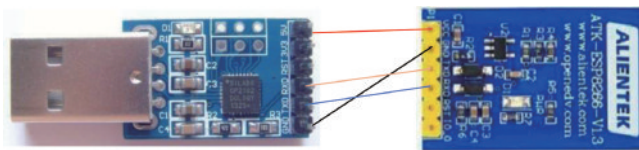


图 5 Wi-Fi 控制模块
Fig. 5 Wi-Fi control module

2.2.2 Wi-Fi 配置模块

为了摆脱传统的网线传输限制,采用集成完整的 TCP/IP 协议栈和 MCU 的 ESP8266 Wi-Fi 模块使显微镜与电脑进行网络通信。既可通过网络设备连接到互

联网,也可作为 Wi-Fi 热点,使其他设备连接到这个模块,实现广域网与局域网的无缝切换。

而所设计系统主要使用 ESP8266 Wi-Fi 模块作为热点,实现局域网环境,因此设置 ESP8266 模块为 AP 模式,将该模块作为热点,实现局域网的无线控制。具体操作步骤如下:

- 1) 通过发送“AT+RST”指令来重启模块。
- 2) 发送“AT+CWMODE=2”指令配置模块为 AP 模式。
- 3) 此时发送“AT+CWSAP=“***”,“**,1,3”指令配置热点名称为“***”,密码为“**”,使用通道 1,加密方式为 WPA2_PSK。这里的通道对应的就是不同的射频频率,假如同一区域内存在相同通道的 Wi-Fi 信号,将会产生不同程度的干扰,从而影响信号质量,因此可以通过设置不同的通道来避免这种干扰。
- 4) 此时用网络相机便可以连接热点。

2.3 显微镜软件子系统设计

为了更加方便查看和操作,设计了配套的显微镜软件界面及流程图,如图 6 所示。

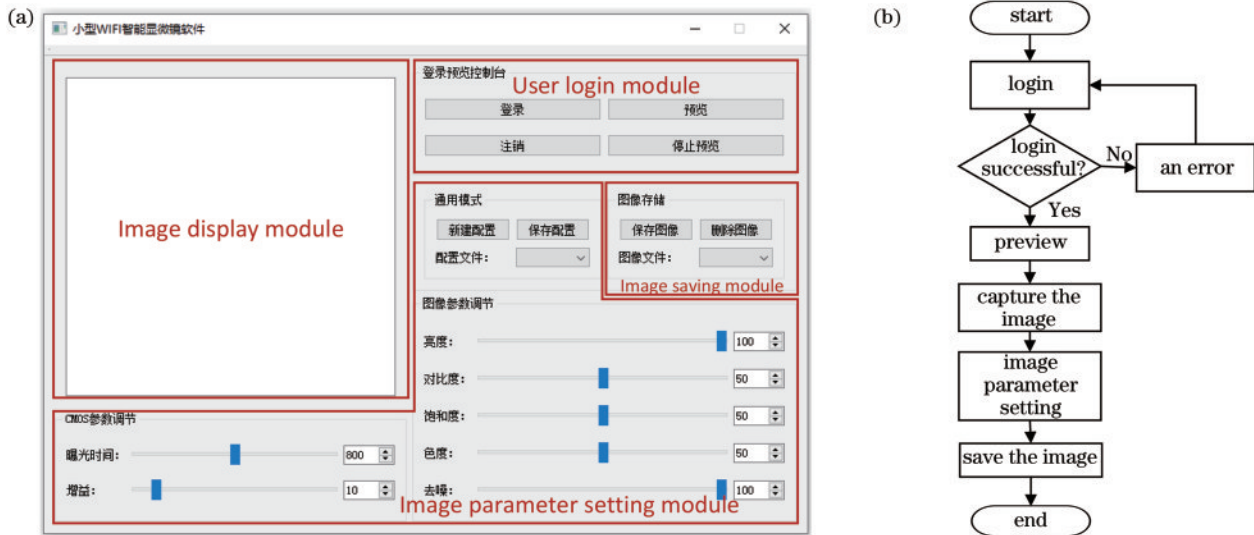


图 6 小型 Wi-Fi 智能显微镜软件子系统。(a) 显微镜软件界面图; (b) 软件使用流程图

Fig. 6 Small Wi-Fi smart microscope software subsystem. (a) Microscope software interface diagram; (b) microscope software interface diagram

2.3.1 用户登录模块

设计软件用户登录模块, 用户可根据设定的账号密码进行私有账户登录, 参数配置文件同步在个人账户中。

2.3.2 图像参数设置模块

在实时显示图像过程中: 可按需对图像亮度、对比度、饱和度等参数进行调节; 并可通过对 CMOS 的曝光时间及参数增益的设置, 使图像清晰度最大化。在进行同一类图像采集时, 可将参数配置存入配置文件中, 以后可通过加载配置文件快速设置参数。

2.3.3 图像存储模块

软件可加载图像文件, 通过“删除图像”按钮实现

指定图像删除, 并设计图像保存功能, 通过“保存图像”按钮实现, 可存储为“.PNG”格式到指定目录下。

2.3.4 图像显示模块

通过摄像头拍摄到的实时细胞图像通过 ESP8266Wi-Fi 模块的 TCP/IP 协议数据传输显示在软件界面的左上方。

3 Wi-Fi 智能显微镜图像采集

各个模块组装完成后, 便可以开始图像的采集工作, 图 7 为组装好的小型 Wi-Fi 智能显微镜实物图。当显微镜与电脑连接 Wi-Fi 模块并通电后, 打开配套软件, 进行用户登录。在软件中通过参数设置, 获取清晰

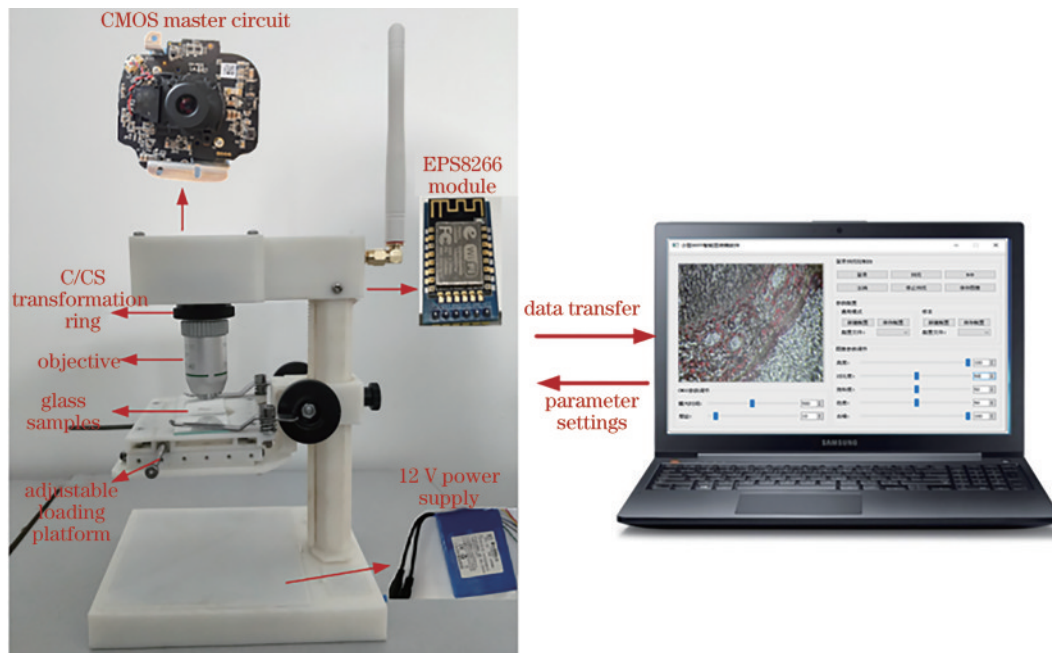


图 7 小型 Wi-Fi 智能显微镜实物图

Fig. 7 Real picture of small Wi-Fi smart microscope

图像并保存。采集到的图像如图 8 所示。

图像经 SDK 中的专家模式数字降噪优化处理,且采集图像的时间不到 1 s,可实时成像,显微镜的视野范围与工作距离、靶面尺寸和焦距有关。所设计系统的工作距离为 5.5 mm(物镜到标本的距离),靶面尺寸

为 9.63556 mm,焦距为 5 mm,计算得到的视野范围约为 10.6 mm。而其分辨率在 10 倍物镜下,使用 USAF1951 分辨率板作为样品,可以清晰分辨 7 组 6 号。查表可知,显微镜光学分辨率达到 2.19 μm 。分辨率板所观察到的图像如图 9 所示。

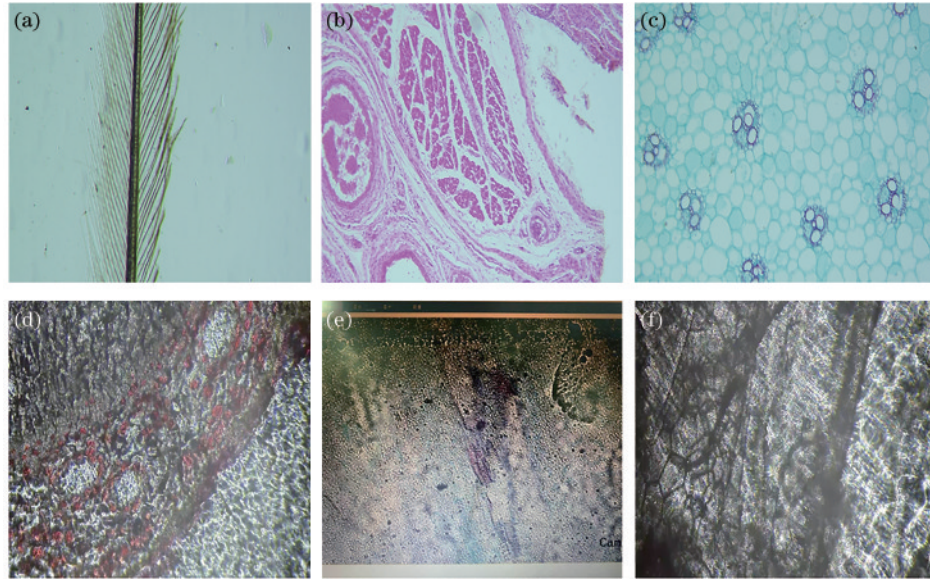


图 8 采集图像展示。(a)鸟羽毛;(b)汗腺切片;(c)单子叶植物茎横切;(d)松树根茎;(e)南瓜根茎;(f)生姜横切
Fig. 8 Image acquisition display. (a) Bird feather; (b) sweat glands slice; (c) monocotyledon stems cross section; (d) pine root; (e) pumpkin root; (f) ginger crosscutting

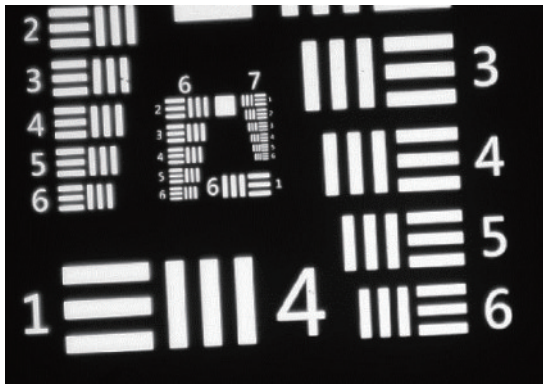


图 9 USAF1951 分辨率板观察到的图像
Fig. 9 Image observed by USAF1951 resolution panel

4 结 论

利用网络相机的 CMOS 电路当作显微镜的主控电路采集细胞图像,实验结果表明:1)网络摄像头在弱光环境下具有的良好感光效果,确实可解决普通显微镜明场光源由于亮度不够导致采集图像不清晰的问题,同时解决了传统显微镜在进行物镜转换时,视野变暗导致重新调焦的问题;2)Wi-Fi 模块可以很好将显微镜与电脑等网络设备联合采集实时图像,无需用目镜观察,并可及时上传图像;3)设计了可移动载物台,通过齿轮传动,调节载物台与物镜间的距离,通过螺母可更加精细调整两自由度的位移。

参 考 文 献

- [1] 王莉, 蒋洪, 孙丽丽. 显微镜的发展综述[J]. 科技信息, 2009(11): 117-118, 133.
Wang L, Jiang H, Sun L L. A review of the development of microscopes[J]. Science & Technology Information, 2009(11): 117-118, 133.
- [2] 孙佳嵩. 基于傅立叶叠层成像的大视场高分辨率定量相位显微成像方法研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2019.
Sun J S. Research on wide-field high-resolution quantitative phase microscopy methods based on Fourier ptychography [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2019.
- [3] 李金华, 潘永信. 透射电子显微镜在地球科学研究中的应用[J]. 中国科学: 地球科学, 2015, 45(9): 1359-1382.
Li J H, Pan Y X. Applications of transmission electron microscopy in the earth sciences[J]. Scientia Sinica (Terrae), 2015, 45(9): 1359-1382.
- [4] 胡加佳, 田志强, 孙晓冉, 等. 激光扫描共聚焦显微镜在冶金行业中的应用[J]. 物理测试, 2017, 35(3): 25-29.
Hu J J, Tian Z Q, Sun X R, et al. Typical applications of the laser scanning confocal microscope in the metallurgical industry[J]. Physics Examination and Testing, 2017, 35 (3): 25-29.
- [5] 许志兵, 周文霞, 徐东东, 等. 荧光偏振调制显微成像技术研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(24): 2400006.

- Xu Z B, Zhou W X, Xu D D, et al. Research progress of fluorescence polarization modulation microscopy imaging technology[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2021, 58(24): 2400006.
- [6] 张韶辉, 周国城, 崔柏岐, 等. 傅里叶叠层显微成像模型、算法及系统研究综述[J]. *激光与光电子学进展*, 2021, 58(14): 1400001.
- Zhang S H, Zhou G C, Cui B Q, et al. Review of Fourier ptychographic microscopy: models, algorithms, and systems[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2021, 58(14): 1400001.
- [7] 龙晓云, 田超. 生物医学光声显微成像: 技术和应用进展[J]. *中国激光*, 2020, 47(2): 0207016.
- Long X Y, Tian C. Biomedical photoacoustic microscopy: advances in technology and applications[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2020, 47(2): 0207016.
- [8] Lü J, Li S, Zhang J D, et al. *In vivo* photoacoustic imaging dynamically monitors the structural and functional changes of ischemic stroke at a very early stage [J]. *Theranostics*, 2020, 10(2): 816-828.