

DOI: 10.19650/j.cnki.cjsi.J2514788

# 基于预测-验证峰值策略的高内涵 显微成像自动对焦算法研究

李泽躲<sup>1</sup>, 刘智勇<sup>1</sup>, 廖广兰<sup>1,2</sup>

(1. 华中科技大学机械科学与工程学院 武汉 430074; 2. 湖北工业大学机械工程学院 武汉 430068)

**摘要:**针对高内涵显微成像系统对自动对焦速度与精度的双重严格要求,提出了一种基于主动采样与迭代加权曲线拟合的峰值搜索策略,旨在以最少的采样次数实现稳定、精确的焦点定位。该方法首先通过 4 个初始采样点建立二次曲线模型,初步预测焦点区域,进而构建“预测-验证-优化”的闭环机制。在每一轮迭代中,系统基于当前拟合模型主动选择信息量最大的位置进行采样,并结合加权最小二乘法动态降低离群噪声点对拟合结果的影响。为进一步提高搜索的可靠性,引入不确定性评估机制,通过分析拟合残差分布与采样点聚集程度,量化模型预测的可信度,并以此作为迭代终止的判定依据。同时,采用固定规模的智能点集管理策略,始终保持 4 个最具代表性的采样点参与建模,确保模型持续聚焦于最优区域附近,在提升计算效率的同时增强局部刻画能力。实验表明,该方法在不同初始位置条件下均可稳定收敛,平均仅需 6~8 次采样即可达到 $\pm 4 \mu\text{m}$ 的对焦精度。相较于传统方法最快 5.75 s 的采样时间,该方法最快仅需 2.75 s 即可完成对焦,效率提升超过 50%,且在高噪声、非线性干扰等复杂成像环境下仍保持优秀的鲁棒性与适应性。该研究为实现高通量显微成像中的快速、精准自动对焦提供了一种可靠的技术方案。

**关键词:** 主动采样; 加权曲线拟合; 迭代优化; 不确定性评估; 自动对焦

中图分类号: TH742 TP391.7 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 460.4030

## Research of autofocus algorithms for high-content microscopy imaging based on the prediction-verification peak strategy

Li Zeduo<sup>1</sup>, Liu Zhiyong<sup>1</sup>, Liao Guanglan<sup>1,2</sup>

(1. School of Mechanical Science & Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

2. School of Mechanical Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

**Abstract:** To address the stringent autofocus requirements of high speed and accuracy for the high-content microscopy imaging systems, this study proposes a peak search strategy based on the active sampling and iterative weighted curve fitting, which aims to achieve the stable and precise focus positioning with the fewest sampling steps. The method begins by establishing a quadratic curve model using four initial sampling points to predict the focus region, thereby constructing a closed-loop mechanism of "prediction-verification-optimization." In each iteration, the system actively selects the sampling position with the highest information gain based on the current fitted model, while dynamically reducing the impact of outlier noise on the fitting results through the weighted least square criterion. To further enhance the reliability of search, an uncertainty assessment mechanism is introduced as the criterion for iteration termination, which quantifies the credibility of model predictions by analyzing the distribution of fitting residuals and the clustering of sampling points. Simultaneously, a management strategy of fixed-scale intelligent point set is employed by consistently maintaining the four most representative sampling points for modeling, which ensures that the model remains focused on the vicinity of optimal region. This approach improves the computational efficiency while enhancing the local characterization capabilities. Experimental results show that the method achieves the stable convergence under different initial position conditions, requiring an average of only 6 to 8 sampling steps to achieve the focusing accuracy within  $\pm 4 \mu\text{m}$ . Compared to the fastest sampling time of 5.75 seconds for traditional methods, the proposed method completes focusing as fast as 2.75 seconds and provides the efficiency improvement of over 50%. Moreover, it

maintains the excellent robustness and adaptability in the complex imaging environments with high noises and nonlinear interference. This study provides a reliable technical solution to achieve the rapid and precise autofocus in the high-throughput microscopy imaging.

**Keywords:** active sampling; weighted curve fitting; iterative optimization; uncertainty evaluation; auto-focusing

## 0 引言

在高内涵显微成像系统中,自动对焦技术的性能直接决定了系统能否实现高通量、高精度的细胞分析。该类应用对聚焦过程的速度与精度提出了极为严格的要求:一方面,系统需在成千上万的显微视野中快速完成对焦,任何不必要的机械运动或采样延迟都会显著降低整体吞吐效率,延长实验周期;另一方面,为准确捕捉细胞结构的细微特征并进行可靠定量,对焦精度必须达到极高水准,从而确保所获图像清晰锐利,能够真实还原细胞层面的精细信息。

然而,自动对焦过程中速度与精度之间存在难以调和的固有矛盾:为实现高速对焦,必须严格控制采样步数、缩短机械运动与图像采集时间;而传统高精度对焦方法则依赖于在焦平面附近进行密集采样,以准确捕捉清晰度曲线的峰值。这种“采样密度决定定位精度”的传统思路,在高内涵成像的大规模视野扫描中面临严峻挑战——若对每个视野均实施细步距、多位置的全局搜索,将导致系统吞吐量急剧下降,难以满足高通量筛查的时效要求。因此,在高内涵成像的实际应用中,自动对焦算法必须在极其有限的采样次数内,实现对焦位置的精准估计。这意味着算法需具备“以小见大”的推断能力,即基于稀疏采样点智能推断清晰度函数的整体形态,并规划出兼顾效率与确信度的搜索路径。该路径不仅要在前期快速逼近焦点区域,还需在临近焦点时具备抗噪声干扰、避免过冲或陷入局部极值的能力。

传统方法面临着诸多挑战:Zhang 等<sup>[1-3]</sup>指出,爬山法易受噪声干扰陷入局部极值,采样效率低;Wang 等<sup>[4-5]</sup>指出,曲线拟合法受限于固定步进策略,难以兼顾速度与精度;文献[6-7]指出,斐波那契搜索则因忽视图像内容特征,在实际噪声环境中稳定性不足。此外,当前研究大多集中于基于深度学习的方法,尚明皓等<sup>[8-10]</sup>提出,而这类方法却受限于移植性差和硬件要求高等问题,难以在通用低配置平台上实现有效应用。可见,开发一种能够在有限采样下兼顾对焦速度与精度的通用方法,具有重要的现实意义。

为此,本研究提出一种基于实时预测的主动聚焦策略。该方法通过动态加权拟合与闭环采样机制,在每次迭代中智能预测峰值位置并主动验证,仅以极少量采样即可实现高精度对焦,有效突破了传统方法在速度与精度之间的权衡瓶颈,显著提升了复杂成像环境下的对焦稳健性。

## 1 自动对焦系统原理与实现

对焦系统的本质是一个基于图像的闭环反馈过程,其核心是通过“清晰度测量”与“焦点定位”两个步骤实现<sup>[11-14]</sup>。首先,利用清晰度评价函数对图像质量进行量化评估;进而,采用特定的搜索策略,引导系统快速定位至清晰度最高的焦点位置。

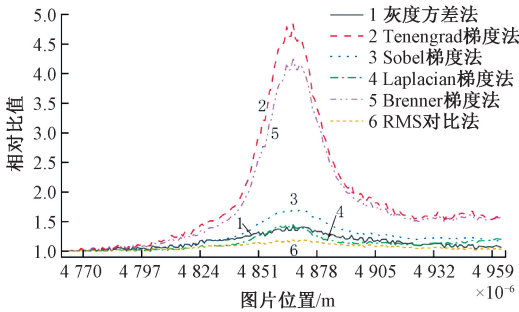
### 1.1 清晰度评价函数

清晰度评价函数作为自动对焦算法的核心,其设计直接决定了系统的对焦性能:计算轻量级的函数能实现高速对焦,但可能在复杂场景下因抗干扰能力弱而失准;而计算复杂、鲁棒性强的函数能确保在不同光照和纹理条件下准确锁定焦点,但会牺牲对焦速度。因此,评价函数的选择本质上是系统在速度与精度之间寻求最佳平衡的关键<sup>[15]</sup>。

Liu 等<sup>[15-19]</sup>指出清晰度函数基本原理:对焦准确的图像拥有最丰富的边缘细节和低频信息,因而显得锐利;而离焦图像则因细节模糊、高频成分减少而显得平滑。该函数通过计算像素梯度、统计方差或分析频域能量等数学方法来提取和衡量这些信息,并输出一个评价价值。这个值具有一个关键特性——在对焦最清晰时达到峰值,离焦时则下降。自动对焦系统正是通过驱动镜头并寻找这个评价价值的峰值点,来完成精准对焦的。

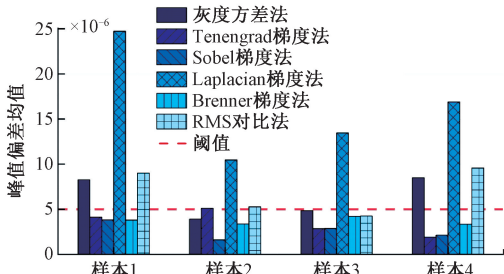
基于高通量成像对计算效率的严格要求,本研究首先从计算速度维度对常用清晰度评价函数进行初步筛选,最终确定6种候选函数。包括4种梯度函数(Tenengrad、Sobel、Laplacian、Brenner)、灰度方差(variance)和RMS(root mean square)对比法等。在低倍镜下,视野较大,样本的边缘轮廓清晰,适合使用对边缘敏感的梯度函数,它们能有效地捕捉和强化轮廓的锐利变化。在高倍镜下,视野狭窄,景深极浅,样本整体对比度大但细节纹理可能更复杂,适合使用灰度方差或Laplacian 梯度函数。

通过系统性的对比测试,包括在不同样本结构及成像条件下的性能评估,如图1(a)所示,Tenengrad、Brenner与Sobel函数均能突出表征清晰度变化。具体而言,如图1(b)所示,Brenner与Sobel的峰值偏差均值均低于设定阈值,而Sobel的偏差值整体更小、稳定性更好。综合分析表明,Sobel函数在评价鲁棒性方面具有最优表现。因此,本研究选用Sobel梯度法作为自动对焦过程中的清晰度评价标准。



(a) 不同评价函数当前清晰度值与初始值比值

(a) The ratio of the current sharpness value to the initial value for different evaluation functions



(b) 不同评价函数在多组样本下的对焦表现

(b) The focusing performance of different evaluation functions across multiple sample sets

图1 评价函数性能表现

Fig. 1 Evaluation of function performance

## 1.2 常用搜索策略

自动对焦系统中,镜头驱动与焦点搜索策略的核心目标是在复杂的场景中快速精准地定位最佳对焦位置。常用的策略包括变步长爬山法、迭代曲线拟合法和斐波那契搜索法,它们分别基于不同的原理与适用场景,共同构成自动对焦的控制基础。

### 1) 变步长爬山法

该方法采用分阶段调整搜索步长的策略,以缓解固定步长爬山法在收敛速度与对焦精度之间的固有矛盾。其基本流程为:(1)通过试探确定对焦方向,随后以较大步长进行快速粗搜以逼近峰值区域;(2)在检测到评价函数极值后,切换为小步长精搜,从而实现对焦位置的准确定位。

### 2) 迭代曲线拟合法

该方法首先大步长在在对焦范围内采集一组离散位置的清晰度评价,随后利用这些数据点构建一条拟合曲线(常见模型包括高斯分布、多项式函数或样条插值)。通过对该曲线进行数学求导或极值搜索,系统可直接计算出理论最佳对焦位置,并迅速将镜头驱动至该点。再进行小步长再搜索实现准确对焦。

### 3) 斐波那契搜索法

斐波那契搜索法是一种基于最优区间缩减理论的全局搜索策略,其数学基础为斐波那契数列生成的黄金分

割比例。系统首先根据镜头的物理对焦范围确定初始搜索区间,随后按照黄金分割比例选取区间内的两个对称点,计算其清晰度评价并通过比较舍弃数值较低一侧的子区间。在剩余区间内重复上述过程,逐步压缩搜索范围直至区间长度小于设定阈值,最终精确定位全局极值点。

## 2 预测-验证峰值策略

这是一种基于实时预测的主动聚焦策略,其核心在于将加权曲线拟合与动态采样紧密结合,形成一个高效的闭环搜索系统。该算法仅维护4个关键采样点,在极大精简数据量的前提下,仍能确保数据的有效性与处理的高效性。在每次迭代中通过加权拟合预测峰值位置,并主动对该点进行采样,随后以“优胜劣汰”方式更新点集,确保数据始终围绕最优解区域。整个过程通过不确定性评估机制自主判断收敛:一旦测量值预测值高度吻合且模型置信度达到阈值,则立即终止搜索。该方法以最少的采样次数实现快速、精准的焦点定位,特别适用于对效率与精度有要求的自动对焦场景。

### 2.1 预测-验证峰值原理

基于预测点可信度较高这一特性,采用加权最小二乘法进行曲线拟合,Zuo等<sup>[20]</sup>提出,通过权重函数在拟合过程中充分利用高可信度点,能够实现优化下一次预测。权重函数定义如式(1)所示。

$$w_i = e^{-0.01 |x_{tail} - x_i|} \quad (1)$$

式中: $x_{tail}$ 为最新得到的预测点,置于数据序列尾部; $x_i$ 为当前计算点; $w_i$ 即为赋予 $x_i$ 的权重。该函数通过指数衰减自然地赋予距离 $x_{tail}$ 越近的点更高的权重 $w_i$ ,进而有效利用高可信度数据提升预测精度。

进一步的,可以得到权差计算函数如式(2)所示。

$$\theta = \sum_{i=1}^4 (y_i - ax_i^2 - bx_i - c)^2 \quad (2)$$

为求解使误差平方和最小的参数,令目标函数 $\theta$ 对3个待定系数 $a$ 、 $b$ 、 $c$ 的偏导数为0,由此得到相应的正规方程组。该方程组可表示为矩阵公式,即:

$$\begin{bmatrix} \sum_{i=1}^4 w_i & \sum_{i=1}^4 w_i x_i & \sum_{i=1}^4 w_i x_i^2 \\ \sum_{i=1}^4 w_i x_i & \sum_{i=1}^4 w_i x_i^2 & \sum_{i=1}^4 w_i x_i^3 \\ \sum_{i=1}^4 w_i x_i^2 & \sum_{i=1}^4 w_i x_i^3 & \sum_{i=1}^4 w_i x_i^4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^4 w_i y_i \\ \sum_{i=1}^4 w_i x_i y_i \\ \sum_{i=1}^4 w_i x_i^2 y_i \end{bmatrix} \quad (3)$$

在获得二次曲线拟合参数后,其峰值位置 $x_{peak}$ 按式(4)计算峰值计算,即:

$$\hat{x}_{peak} = \begin{cases} -b/2a, & -a > 10^{-10} \\ \text{Max}\{x_l, x_r\}, & a > 10^{-10} \\ \text{Max}\{x_i\}, & |a| \leq 10^{-10} \end{cases} \quad (4)$$

峰值位置  $\hat{x}_{peak}$  的计算方法为:当二次项系数  $a$  的绝对值  $>$  阈值  $10^{-10}$  时,表明拟合曲线具有明确的抛物线特性,此时有两种情况:1)  $a > 0$ , 峰值点由其极值公式  $\hat{x}_{peak} = -b/2a$  确定;2)  $a < 0$ , 峰值点由  $x_l, x_r$  当中较大者确定;当  $a$  的绝对值  $\leq$  阈值  $10^{-10}$  时,表明曲线近似线性或为平坦直线,此时将峰值位置设定为采样点横坐标的最大值  $\text{Max}\{x_i\}$ , 以符合实际应用中对趋势终点的判断。

在对焦过程中,对焦终止的关键判断依据由一个综合不确定性函数实现。该函数的设计结合了统计学与清晰度-位置曲线的特性,由4个核心指标构成,并通过加权方式整合其贡献:

#### 1) 鲁棒性残差估计

$$I_{MAD} = \frac{\text{median}(|y_i - ax_i^2 - bx_i - c|)}{\Phi^{-1}(0.75)} \quad (5)$$

式中:  $\Phi^{-1}$  为标准正态分布的逆累积分布函数,  $\Phi^{-1}(0.75)$  取 1.4826。

#### 2) 曲率变化度量

$$k_i = \frac{y_{i+1} - y_i}{x_{i+1} - x_i} \quad (6)$$

$$I_{STABLE} = \begin{cases} 1, & k_1 \cdot k_2 \cdot k_3 \geq 0 \\ 0, & k_1 \cdot k_2 \cdot k_3 < 0 \end{cases} \quad (7)$$

式中:  $k_i$  为当前点斜率;  $k_1, k_2, k_3$  分别代表按顺序采集的4个数据点所构成的3段连续折线的斜率。

#### 3) 峰值偏移惩罚

$$I_{OFFSET} = \text{EXP}\left(\frac{\text{Max}(x_{predicted} - x_i)}{\text{Max}(x_i) - \text{Min}(x_i)} - 1\right) \quad (8)$$

式中:  $\text{EXP}(\cdot)$  表示自然指数函数;  $x_{predicted}$  为所预测峰值的横坐标。

#### 4) 模型拟合度

$$M_{fit} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^4 \left(y_i - \frac{1}{4} \sum_{i=1}^4 y_i\right)}{\sum_{i=1}^4 (y_i - ax_i^2 - bx_i - c)^2} \quad (9)$$

不确定性函数  $U$  是4个子项指标的加权合成:

$$U = \omega_1 I_{MAD} + \omega_2 I_{STABLE} + \omega_3 I_{OFFSET} \quad (10)$$

式中:权重  $\omega_1, \omega_2, \omega_3$  并非固定不变,而是由模型拟合优度  $M_{fit}$  动态赋值。具体策略为:  $\omega_1$  恒定为最大权重;  $I_{STABLE}$  在曲率不一致时触发一个固定高惩罚值(即高权重);  $\omega_1$  恒为小权重;而  $M_{fit}$  则作为可靠性系数,值越高则对  $\omega_2$  和  $\omega_3$  等数据相关权重进行越大的折扣,以此动态调整最终不确定性的量级。

## 2.2 预测-验证峰值方法

该搜索策略的核心在于构建了一个“预测-验证-优化”的智能闭环,具体算法流程如图2所示。

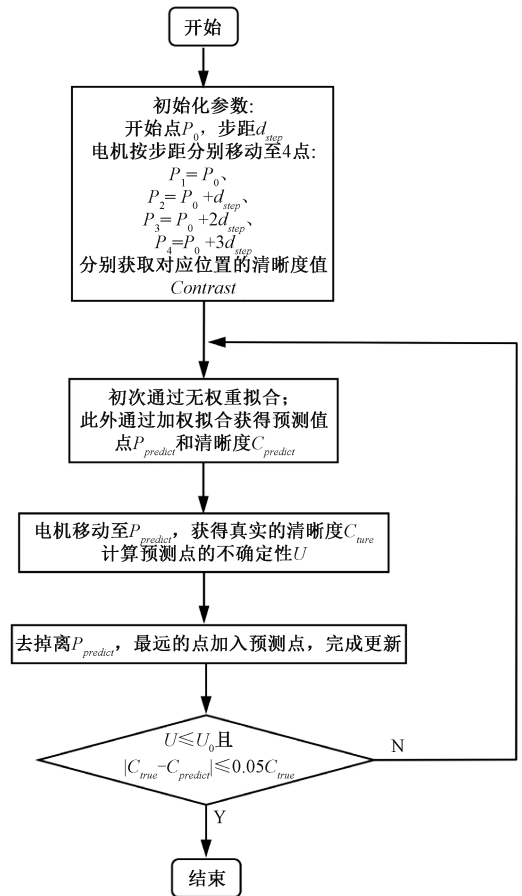


图2 预测-验证算法流程

Fig. 2 Flowchart of the predict-validate peak algorithm

它不依赖全局扫描,而是通过迭代计算主动逼近最佳焦点,其工作流程可精炼为3个核心阶段:

第1阶段为迭代预测与主动验证,如图3(a)所示,即基于当前数据点集进行鲁棒二次曲线拟合,预测最佳焦点位置及其理论对比度值。驱动电机主动移动至预测位置进行采样验证,获取真实对比度数据。

第2阶段是动态优化与收敛判断,如图3(b)所示,采用“淘汰最远点”策略更新数据池,始终保持数据点集中在当前最优区域。计算本次采样的实际值与预测值的相对误差,同时评估拟合模型的不确定度。当相对误差  $< 5\%$  且不确定度达到稳定阈值时,判定收敛。

当第2阶段当前预测点满足收敛要求,进行第3阶段,如图3(c)所示,即精确定位与输出将电机精确定位至满足收敛条件的最佳焦点位置,完成整个对焦流程。

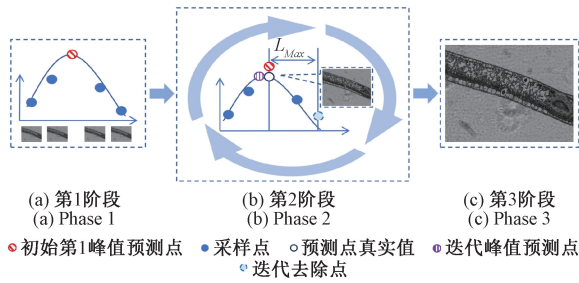


图 3 曲线拟合流程

Fig. 3 Diagram of the curve fitting process

### 3 实验设计与结果分析

为全面评估本文所提出的主动采样聚焦策略的综合性能,本章设计了多组对照实验。实验内容包括不同初始位置下的收敛性分析,以搜索效率与精度作为评价指标,与 3 类传统方法进行了对比。进一步的,还针对实验结果,对本文算法的抗噪声干扰能力及场景适应性进行了深入分析。

#### 3.1 测试平台

高内涵显微成像系统 (CellAnalyzer™, 联华智造 (武汉) 生物科技有限公司) 是一种集成了自动化控制、多尺度成像与智能分析的先进科研平台。如图 4 所示,该系统集成了高性能自动化硬件平台,包括覆盖 4~60 倍的系列物镜及转盘、多通道光源成像模块、高精度电机控制系统以及高灵敏度科学级相机,共同构建了一个稳定、可靠的显微成像系统。该平台具备快速精准的多视野拼接能力,支持长时间活细胞动态观测与多靶点荧光图像采集,为获取高质量原始数据提供了坚实保障,从而确保后续图像分析的准确性与可重复性。

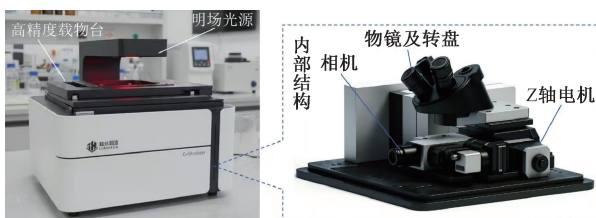


图 4 高内涵显微成像系统

Fig. 4 High-content imaging system

通过高精度电动载物台与集成式温控培养系统的协同工作,系统能够在维持细胞正常生理状态的条件下,实现对细胞增殖、迁移、凋亡等生物学过程的长时间动态追踪。所获取的图像数据可经由内置智能分析模块直接输出多维度定量结果,包括细胞计数、形态参数、荧光共定

位等统计指标,为药物筛选、功能基因组学、肿瘤机制研究等前沿领域提供可靠的实验数据支撑。

#### 3.2 多场景实验设计

##### 1) 场景设置

为验证算法对初始位置的鲁棒性,实验针对文本采样位置设置了 3 种可能场景:(1) 采样位置位于对比度峰值左侧;(2) 采样位置范围包括峰值;(3) 采样位置位于峰值右侧。其可能场景如图 5 所示。

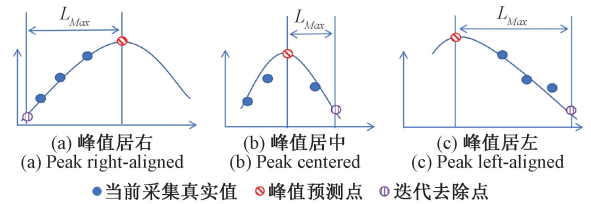


图 5 采样点与峰值点位置情况

Fig. 5 Positions of sampling points and peak points

##### 2) 评估标准

搜索效率与最终定位精度是衡量对焦算法的核心指标。从单步分析,决定最终对焦速度的在于 3 个方面,即图像采集与分析、数据分析与电机位移。从搜索整体来看,单位采集的曝光采集耗时、算法耗时外,属于固定耗时,以采集样本个数计算,占整体耗时的大部分;而不同搜索策略下的实际路径长度,属于附加耗时,占整体耗时的小部分。于是可以得到总耗时公式如式(11)所示。

$$TC = nT_0 + \frac{1}{v} \sum |\Delta x_i| \quad (11)$$

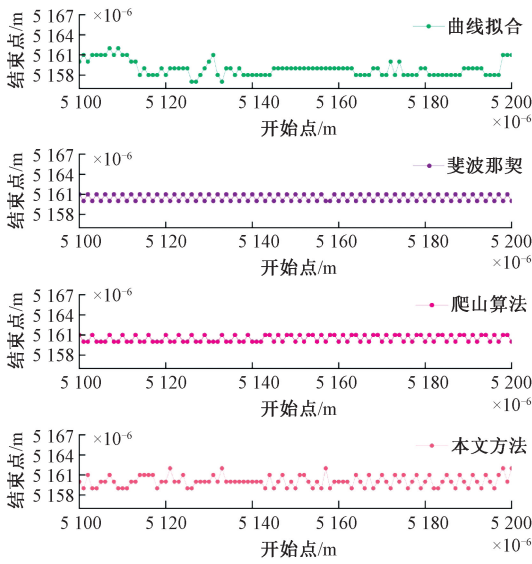
式中:  $T_0$  单位步长耗时;  $n$  为采集点数;  $v$  为电机移动速度;  $\sum |\Delta x_i|$  为实际路径长度。

高内涵显微成像系统中,10 倍镜观察对象通常清晰图像与对焦距离有关,最佳焦平面  $\pm 5 \mu\text{m}$  观察到的图像都可以被视为清晰图像,而超过  $8 \mu\text{m}$  以内视为次清晰图像,  $8 \mu\text{m}$  以外则视为不清晰图像,据此可以得到对精准度计算公式,即:

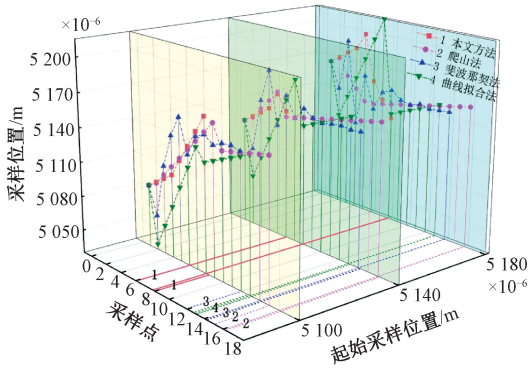
$$ACC = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \rho(|\hat{x}_{peak}^{(i)} - x_{peak}|) \quad (12)$$

式中:  $x_{peak}$  为真实峰值位置;  $\hat{x}_{peak}^{(i)}$  为搜索峰值位置;  $\rho(\cdot)$  为密度函数,输入参数  $> 8$  时为 0,输入参数  $\leq 5$  时为 1,其他为 0.5。

在标准的单波峰场景下,变步长爬山法与斐波那契搜索法的重复收敛效果最佳,在不同搜索位置下波动幅度最小;迭代曲线拟合法的起伏最为明显;本文算法表现居中,整体变化趋势如图 6(a) 所示。观察图 6(b) 从收敛速度来看,变步长爬山法所需采集点最多,为 15~16 次;迭代曲线拟合法与斐波那契搜索法约为 13 次;而本文算法仅需 6~8 次,收敛效率显著优于其他方法。



(a) 正常波峰下4种算法的重复收敛性  
(a) Repeatability of convergence for the four algorithms under normal peaks



(b) 3种采集点下4种方法的采样次数  
(b) Sampling counts of the four methods under three sampling-point conditions

图6 各种算法效果对比示意

Fig. 6 Performance comparison diagram of various algorithms

在4种荧光通道下,4种算法均能有效获得较清晰的平面,如图7所示。

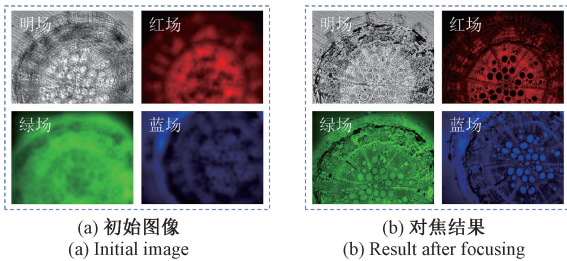


图7 4种光源环境下的对焦效果

Fig. 7 Focusing performance under the four lighting conditions

在大量实验下,得到表1数据的分析结果:在准确率方面,本文算法与斐波那契搜索法表现最佳,最高分

别达到0.987和0.985,迭代曲线拟合法次之为0.972,变步长爬山法最低为0.962;在时间效率上,本文算法耗时最低仅2.75s,显著优于迭代曲线拟合法、斐波那契搜索法和变步长爬山法。各方法在离峰值点最近的“中”场景下性能普遍最优,而本文算法在两侧场景下仍保持高精度与低耗时。综合分析表明,本文算法在准确率、时间开销及场景适应性方面均具有明显优势,综合性能最优。

表1 不同搜索算法在3种场景下的结果

Table 1 Results of different search algorithms under three scenarios

搜索算法	实验场景	ACC	TC/s
变步长爬山法	中	0.962	6.75
	左	0.934	8.42
	右	0.912	7.31
迭代曲线拟合法	左	0.963	5.84
	右	0.952	5.87
斐波那契搜索法	中	0.985	6.65
	左	0.972	7.15
本文算法	右	0.973	7.01
	中	0.987	2.75
本文算法	左	0.972	3.21
	右	0.975	3.47

通过对各算法的对比分析发现:在存在数据噪声的情况下,变步长爬山法易陷入局部极值,导致对焦精度下降,甚至因方向误判而造成对焦失败;斐波那契搜索法虽具有一定鲁棒性,但其性能高度依赖峰值处于预设区间内,适用范围受限,灵活性不足;迭代曲线拟合法则因采用固定步长与固定采集点数,导致对焦效率较低,时间开销较大。相比之下,本文算法结合曲线拟合与变步长搜索策略,通过动态调整采样点位置与数量,在保证精度的同时有效提升了对焦速度与噪声适应能力。

### 3.3 抗噪与场景适应性分析

#### 1) 抗噪性能分析

在实际对焦过程中,多种因素可能引入显著噪声,进而影响搜索算法的稳定性与准确性。具体而言,环境光线的突变会导致图像信噪比下降,相机采样电路固有的电子噪声会污染对焦评价数据,而评价函数在低对比度区域的误判则会进一步放大数据波动。在上述因素的综合影响下,实际对焦过程会形成难以消除的噪声,其典型表现如图8所示。

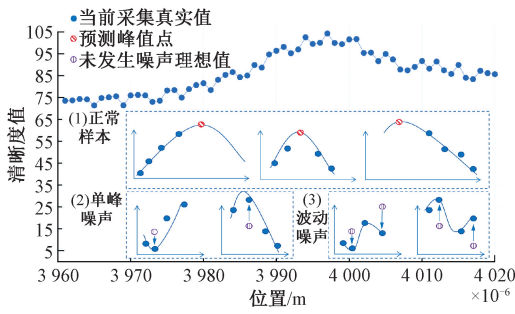


图 8 实际清晰度局部波形

Fig. 8 Local waveform of actual sharpness

分析发现,噪声波动图的 4 点采样中可能情况只有 3 种:(1)正常样本;(2)单峰噪声;(3)波动噪声,如图 8 所示。

实际情况中,噪声通常以局部噪声为主,整体依然呈现一致变化规律,如图 9 所示,而本文算法采样中步距设置为  $6 \mu\text{m}$  及其以上时,采集样本绝大多数为正常样本,以此可以避免局部噪声影响,加权拟合也可以消除噪声的影响。

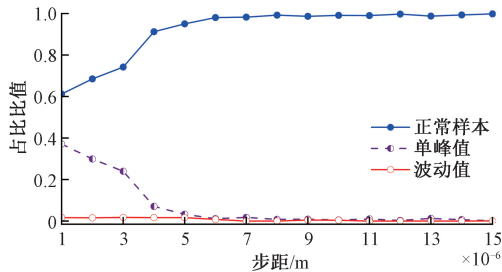


图 9 不同步距下重复实验中 3 种采样可能情况比例

Fig. 9 Ratio of three sampling cases vs. step size in repeated trials

### 2) 场景适应性分析

为确保对焦算法的有效性,本文算法需要满足两个前提:

(1) 如上文所述,为了避免局部噪声点的影响,初始采集步距必须大于合理值  $\Delta x$ ,即:

$$\begin{cases} \Delta x = n \cdot d_{\min}, n = 1, 2, 3, \dots, m \\ \text{s. t. } \forall [C(x_i + \Delta x) - C(x_i)] > 0 \end{cases} \quad (13)$$

式中:  $d_{\min}$  为电机最小步距;  $C(\cdot)$  为采集位置清晰度计算函数;  $x_i$  为峰值单侧点。

(2) 本文算法基于二次函数拟合原理,这要求样本采集必须集中于峰值邻近区域。如图 10 所示,若采集到的数据无法有效拟合为二次曲线,则表明不满足算法的

应用前提,可能导致对焦无法收敛。

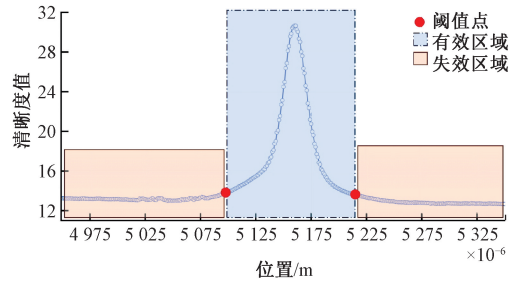


图 10 图像采样有效区域

Fig. 10 Effective region of interest for image sampling

邻近区域阈值的具体计算如式(14)所示。

$$\text{Threshold} = x_{\text{peak}} \pm \gamma(f_{\text{cur}}) \quad (14)$$

式中:  $\gamma(\cdot)$  为经实验得到的不同倍镜的成像下,显著变化区间映射关系,焦距越大其值越大,例如,这里 4 倍镜取  $300 \mu\text{m}$ , 10 倍镜取  $100 \mu\text{m}$ ;  $f_{\text{cur}}$  为物镜焦距。

## 4 结 论

本文针对高内涵显微成像自动对焦系统中高精度与高效率定位的需求,提出一种预测-验证峰值策略,并通过与变步长爬山法、迭代曲线拟合法、斐波那契搜索法系统对比,分析结果,得出的结论为:

- 1) 本文算法在保证对焦精度的同时,显著提升了搜索效率,在较少采样次数内实现快速收敛;
- 2) 算法具备良好的鲁棒性,在不同初始位置和噪声环境下均能保持稳定的对焦性能;
- 3) 适用于小范围快速对焦场景,在峰值附近区域表现出优异的局部搜索能力;
- 4) 算法的适用范围依赖于对焦评价函数在峰值附近的单峰特性,若无法在该区域内有效拟合二次曲线,则可能影响收敛效果。

综上,本文算法在精度、速度与鲁棒性等方面均展现出显著优势,适用于实际对焦系统中具有噪声干扰和小范围搜索需求的应用场景。

### 参考文献

[ 1 ] ZHANG Y P, LIU L Y, GONG W T, et al. Autofocus system and evaluation methodologies: A literature review[J]. Sensors and Materials, 2018, 30(5): 1165-1174.

[ 2 ] DIMEO P, SUN L, DU X. Fast and accurate autofocus

- control using Gaussian standard deviation and gradient-based binning [J]. *Optics Express*, 2021, 29(13): 19862-19878.
- [3] ZHANG Y X, SHI ZH X, WANG H Q, et al. An efficient autofocus method for microscope based on the improved first-order derivative Gaussian filtering operator[J]. *Optics & Laser Technology*, 2024, 170: 110225.
- [4] WANG G B, HUANG J W, LYU J B, et al. Fast autofocusing algorithm based on variable step search and curve fitting applied in the near-and far-field detection system with a common optical path [J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2023, 41(6): 1742-1748.
- [5] 张蒙, 李亚娟, 邓重阳. NURBS 曲线拟合的最小二乘渐进迭代逼近优化算法[J]. *计算机辅助设计与图形学学报*, 2020, 32(4): 568-574.
- ZHANG M, LI Y J, DENG CH Y. Optimizing NURBS curves fitting by least squares progressive and iterative approximation[J]. *Journal of Computer-Aided Design & Computer Graphics*, 2020, 32(4): 568-574.
- [6] WANG X, WANG Y M, WU H F, et al. Fibonacci multi-modal optimization algorithm in noisy environment[J]. *Applied Soft Computing*, 2020, 88: 105874.
- [7] KARA OGLU A. Optimal sample lens positioning in digital camera systems [J]. *ArXiv preprint arXiv: 2407.01789*, 2024.
- [8] 尚明皓, 余飞鸿. 变焦显微三维测量系统的研究进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2021, 58(16): 36-48.
- SHANG M H, YU F H. Research on microscopic 3D measurement system based on focus variation[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2021, 58(16): 36-48.
- [9] LIAO J, CHEN X, DING G, et al. Deep learning-based single-shot autofocus method for digital microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(1): 314-327.
- [10] FUJIMURA Y, IYAMA M, FUNATOMI T, et al. Deep depth from focal stack with defocus model for camera-setting invariance[J]. *International Journal of Computer Vision*, 2024, 132(6): 1970-1985.
- [11] LIU Q ZH, MAO X T, WANG J SH, et al. FAN: Fourier assignment network for autofocus based on deep learning[J]. *Optics & Laser Technology*, 2025, 186: 112579.
- [12] WANG ZH H, ZHANG X, CHEN X D, et al. High-robustness autofocusing method in the microscope with laser-based arrayed spots [J]. *Optics Express*, 2024, 32(4): 4902-4915.
- [13] WANG Y, WU CH, GAO Y L, et al. Deep learning-based dynamic region of interest autofocus method for grayscale image[J]. *Sensors*, 2024, 24(13): 4336.
- [14] GUO CH Z, MA Z L, GUO X, et al. Fast auto-focusing search algorithm for a high-speed and high-resolution camera based on the image histogram feature function[J]. *Applied Optics*, 2018, 57(34): F44-F49.
- [15] LIU C S, TU H D. Innovative image processing method to improve autofocusing accuracy [J]. *Sensors*, 2022, 22(13): 5058.
- [16] 毕天华, 杜文华. 一种改进的 Brenner 清晰度评价函数[J]. *电子测量技术*, 2019, 42(9): 80-84.
- BI T H, DU W H. Improved Brenner definition evaluation function [J]. *Electronic Measurement Technology*, 2019, 42(9): 80-84.
- [17] 郑博文, 刘绍锦, 沈铖武, 等. 基于区域加权的图像清晰度评价算法[J]. *电子测量技术*, 2024, 47(11): 44-50.
- ZHENG B W, LIU SH J, SHEN CH W, et al. Image clarity evaluation algorithm based on region weighting[J]. *Electronic Measurement Technology*, 2024, 47(11): 44-50.
- [18] PIAO W Y, HAN Y Q, HU L Y, et al. Quantitative evaluation of focus measure operators in optical microscopy[J]. *Sensors*, 2025, 25(10): 3144.
- [19] NASIBOV H. Evaluation of focus measures for hyperspectral imaging microscopy using principal component analysis[J]. *Journal of Imaging*, 2024, 10(10): 240.
- [20] ZUO Y J, ZUO H W. Weighted least squares regression with the best robustness and high computability [J]. *Axioms*, 2024, 13(5): 295.

## 作者简介



李泽躲, 2024 年于武汉理工大学获得学士学位, 现为华中科技大学硕士研究生, 主要研究方向为医疗器械、机械视觉算法。

E-mail: lizeduo@hust.edu.cn

**Li Zeduo** received his B.Sc. degree from Wuhan University of Technology in 2024. He is currently a master's degree candidate at Huazhong University of Science and Technology. His main research interests include medical devices and machine vision algorithms.



刘智勇(通信作者),2013 年于武汉理工大学获得学士学位,2018 年于华中科技大学获得博士学位,现华中科技大学副教授,主要研究方向为微纳传感器、微纳加工制造与电子封装检测。

E-mail: zhiyong\_liu@ hust. edu. cn

**Liu Zhiyong** ( Corresponding author ) received his B. Sc. degree from Wuhan University of Technology in 2013, and his Ph. D. degree from Huazhong University of Science and Technology ( HUST ) in 2018. He is currently an associate professor at HUST. His main research interests include micro/nano sensors, micro/nano fabrication, and electronic packaging inspection.



廖广兰,1997 年于华中理工大学获得学士学位,2000 年于华中科技大学获得硕士学位,2003 年于华中科技大学获得博士学位,现为华中科技大学机械学院教授,主要研究方向为微纳制造、故障诊

断与状态监测。

E-mail: guanglan. liao@ hust. edu. cn

**Liao Guanglan** received his B. Sc. , M. Sc. and Ph. D. degrees all from Huazhong University of Science and Technology ( HUST ) in 1997, 2000 and 2003, respectively. He is currently a professor at the School of Mechanical Science and Engineering, HUST. His main research interests include micro/nano manufacturing, fault diagnosis, and condition monitoring.