

## 콜로니 픽킹 로봇 시스템의 개발(Ⅰ) - 콜로니 검출 영상처리 알고리즘 -

### Development of Robot System for Colony Picking (I) - Image processing algorithm for detecting colony -

이현동 김기대 나건영 임용표  
정희원 정희원  
H. D. Lee K. D. Kim K. Y. Na Y. P. Lim

#### ABSTRACT

An image processing algorithm was developed for a robot system which was used in gene study. The robot system achieved a job of colony picking. The colony included DNA of an organism. The robot picked up the colony in petri-dish, which included the cultivated colony in medium, by a picking pin, and moved the colony to wellplates. The vision system consisted of an image acquisition system which acquired the image information of colony, an illumination device which irradiated the object once when it got the image of it, a computer and so on. The image processing algorithm distinguished the colony and detected colony positions. Performance test of the developed algorithm showed that the distinguishing success rate of colony and detecting success rate of colony positions were over 96%.

**Keywords :** Colony picking, Image processing, Camera calibraion.

#### 1. 서 론

인간 계놈 프로젝트가 지속적으로 진행됨에 따라 계속적으로 대량의 유전체 정보가 밝혀지고 있으며, 이미 밝혀진 유전체의 염기서열을 바탕으로 다양한 생물의 전체 유전자의 기능을 효율적으로 해석하는 기술의 개발이 요구되고 있다. 식물 계놈 프로젝트 또한 식량 확보라는 단순하면서도 전략적인 차원에서 가장 절실히 요구되는 기본 과학기술 연구분야이다.

계놈(genome)은 유전자(gene)와 염색체(chromosome)의 합성으로 한 생물체가 지닌 모든 유전 정보의 집합체이고, 동종의 재결합 DNA 분자를 포함하는 동일 세포의 개체를 클론(clone)이라 하며, 클론의 집합체를 콜로니(colony)라 한다. 생물체의 모든 유전정보를 가진 계놈은 핵산(nucleotide acid)이라 불리는 염기로 이루어져 있으며, 이들은 서로 상보적인 쌍을

이루어 두 가닥으로 형성되어 있다. 이를 한 쌍의 base pair라 한다.

유전자를 포함하고 있는 DNA 단편이 재조합 DNA 분자(recombinant DNA molecule)를 생산하기 위해 벡터(vector)라는 원형 DNA 분자속에 삽입된다. 벡터는 유전자를 숙주세포로 운반하는 운반체(vehicle) 역할을 하며, 숙주세포는 여러 형태의 세포가 있으며, 그 중에 박테리아가 일반적으로 사용된다.

숙주세포가 분열될 때, 재조합 DNA 분자의 복제물이 자손에게 전달되며 거기서 벡터 복제가 일어난다. 수 많은 세포 분열이 일어난 후, 동일한 숙주세포의 콜로니, 혹은 클론이 생성된다.

이때 숙주세포의 분열은 배양액을 담은 용기에서 이루어진다. 박테리아 속의 배양된 콜로니에 재조합 DNA가 포함되어 있지 않으면 푸른색을 띠고, 재조합 DNA가 포함되어 있으면 흰색을 띠게 된다. 이

The article was submitted for publication in August 2003, reviewed and approved for publication by the editorial board of KSAM in October 2003. The authors are K. D. Kim, Professor, H. D. Lee, K. Y. Na Research Assistant, Agricultural Machinery Engineering, Chungnam National Univ., Daejeon, Korea. and Y. P. Lim Horticulture science, Chungnam National Univ., Daejeon, Korea. The corresponding author is K. D. Kim Dept. of Agricultural Machinery Engineering, Chungnam National Univ., Daejeon, 305-764, Korea, Tel: +82-42-821-6711. E-mail : <kdkgm@cnu.ac.kr>

흰색의 콜로니만을 추출해 내는 것을 바로 콜로니 퍽킹(colony picking)이라 한다.

현재 실험실내에서 행해지는 퍽킹 작업은 숙련된 기술자가 행할 때 시간당 평균 360개의 콜로니를 퍽킹 할 수 있으나, 계속된 작업과 과다한 시력 사용으로 인한 피로로 인해 연속작업이 불가능한 상태이다. 퍽킹 작업의 자동화를 위해서는 콜로니의 판별 및 위치 인식을 위한 영상처리 알고리즘이 필요하다. 장 등(1997)은 마스크를 이용한 배양세균의 인식 및 계수를 위한 영상 처리 알고리즘이 개발 시험한 결과 인식 및 계수의 성능은 양호하였다. 그러나 본 연구에서 원하는 콜로니의 인식과는 그 방법에 차이가 있다고 판단되어, 인식 및 분리, 그리고 퍽킹 가능여부의 판단까지 가능한 새로운 알고리즘을 개발하게 되었다.

따라서, 본 연구는 수작업에 의존하고 있는 콜로니 퍽킹을 자동화하기 위해 콜로니 퍽킹 로봇 시스템을 개발하기 위한 전 단계 연구로서 콜로니의 판별 및 위치검출을 위한 영상처리 알고리즘을 개발하는데 목적이 있으며, 구체적으로는,

- 1) 배양된 콜로니의 특징을 파악하고,
- 2) 콜로니 특장에 적합한 콜로니 검출 영상처리 알고리즘을 개발하고,
- 3) 성능시험을 통한 성능 및 문제점을 제시하고 향후 발전방향을 제시한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 공시재료

본 연구에 사용된 재료는 종묘회사에서 사용하는 inbred 라인중 지부계 배추의 잎에서 추출한 배추 게노믹 DNA를 가지고 있는 BAC clone을 37°C 암상태에서 18시간동안 배양한 콜로니를 대상으로 실험을 실시하였다. 배양된 콜로니의 특징을 살펴보면, 형태 면에서 대부분 원형을 유지하고 있지만 크기는 다양하였다. 또한 다른 DNA를 가진 콜로니가 몇 개씩 무리(이하 콜로니 집락)를 이루며 연결되어 있는 현상도 있다. Fig. 1에 실험에 사용된 콜로니를 나타내었다.

콜로니의 크기는 독립적인 것이 0.3 ~ 3.0mm의 직경을 나타내며, 콜로니 집락의 크기는 다양하였다.

### 나. 하드웨어 설계

배양용기에 배양된 콜로니의 판별 및 위치검출을 위해서 콜로니 영상을 획득할 수 있는 영상 획득장치를 구성하였다.

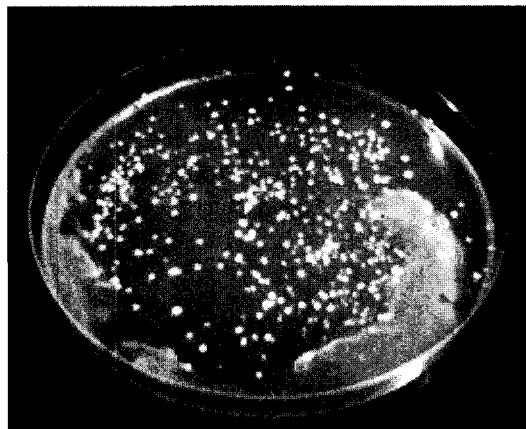


Fig. 1 The photo of cultivated colony used in performance test.

영상 획득장치는 저조도 digital color CCD 카메라 및 카메라 렌즈, 렌즈의 조리개 및 줌 기능을 수동으로 제어하는 렌즈 콘트롤러, 영상정보를 PC에 전달하는 frame grabber, 대상물체를 비추기 위한 조명장치 등으로 구성되었다. 카메라는 콜로니 내의 재조합 DNA 유무에 따른 색깔을 구별해야 하기에 (주)삼성전자社의 SCC-347 Color CCD 카메라를 사용하였으며, 렌즈도 (주)삼성전자社의 SLA 854C M208X 8배 줌 렌즈를 사용하였다.

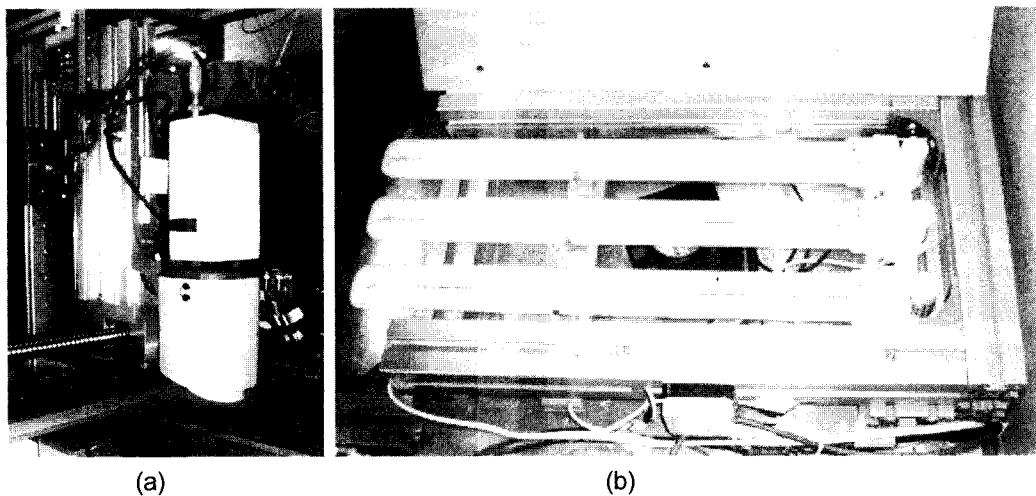
조명장치는 배양액에 의한 빛의 반사현상, 인식 하여야 할 콜로니의 색상, 투명 용기 등의 특성을 고려하여 역치값으로 확인히 구분될 수 있도록 후면조명으로 설계, 제작하였다. 광원은 36W 주광색 삼파장 형광등을 사용하였고, 광원과 대상물체 사이에 2 mm 반투명 흰색 아크릴을 삽입하여 직광에 의한 입력화상의 잡음을 방지하였다. 조명장치의 조도는 광원면에서 영상획득 높이만큼 떨어진 50 ~ 60 mm 거리에서 20,500 ~ 21,400 lux를 나타내었다. Fig. 2에 본 연구에 사용된 카메라와 조명장치를 나타내었다.

영상처리용 Frame grabber는 NTSC/PAL RGB, 640 × 480 화소, 30 frames/sec의 Integral Technologies社 FlashBus MV 보드를 사용하였다. Table 1에 카메라, 렌즈 그리고 Frame grabber의 제원을 나타내었다.

### 다. 소프트웨어 설계

#### (1) 영상 측도설정

영상측도 설정에는 크게 2가지로 나눌 수 있는데, 첫째는 카메라와 인식물체사이의 거리에 따른 영상



(a)

(b)

Fig. 2 The pictures of the CCD camera and the illuminator used ; (a) CCD camera attached to system, (b) illuminator.

Table 1 The specifications of camera and frame grabber used

Device	Item	Specifications
Camera	Power (mA)	24 VAC, 300
	Type	NTSC, color
	Effective pixel	768 × 494
	Scanning frequency	INT : 15.734kHz(H), 59.94 Hz(V) LL : 15.750 kHz(H), 60 Hz(V)
	S/N ratio (dB)	under -48
	Intensity of Illumination (Lux)	under 0.8
Camera Lens	Focal length (mm)	8.5~68 (8X ZOOM)
	IRIS	Auto Iris 1.4~close
	Optical back focal length (mm)	11.69mm
Frame grabber	Video decoder	NTSC/PAL RGB,
	Video format	24 bit RGB, Y8 monochrome
	Video output display	resolution 640×480, 30 frames/sec, 60 fields/sec

내에서의 1화소당 실제길이의 산출이며, 둘째는 카메라의 왜곡에 따른 영상의 보정이 그것이다.

본 연구에서는 정해진 위치에 가로세로 10 mm의 정방형 격자가 그려진 도면을 위치시켜 획득 영상 내의 왜곡현상이 적은 중앙부에서 1 화소당 실제길이를 회귀분석에 의해 식으로 나타내었다.

또한, 획득한 영상내에서는 중앙에서 벗어난 부위가 카메라의 왜곡현상인 불록 현상에 따라 실제 길이 및 형상과 다르게 나타나게 된다. 이에 따라서 카메라 보정을 실시하여 영상의 변두리에서도 중앙에서와 같은 길이 및 형상을 산출할 수 있도록 카메라

보정을 실시하였다.

Fig. 3은 카메라 보정을 위하여 5 mm 간격의 격자와 동심원을 그리고 그 중앙을 중심으로 5° 간격으로 사선을 그린 도면을 나타낸 것이다.

카메라 보정은 영상내의 임의의 점이 영상 중앙부에서 떨어진 거리와 실제 거리와의 차이를 계산하여 그 차이를 보정해 줌으로써 카메라 왜곡에 따른 영상내 거리와 실제거리와의 차이를 보정하였다.

카메라의 영상획득거리를 일정하게 한 후, Fig. 4의 도면 중앙  $O(0, 0)$ 를 영상 중앙  $O_p(0, 0)$ 와 일치시킨다. 영상획득거리에 따른 5mm에 해당하는 화소

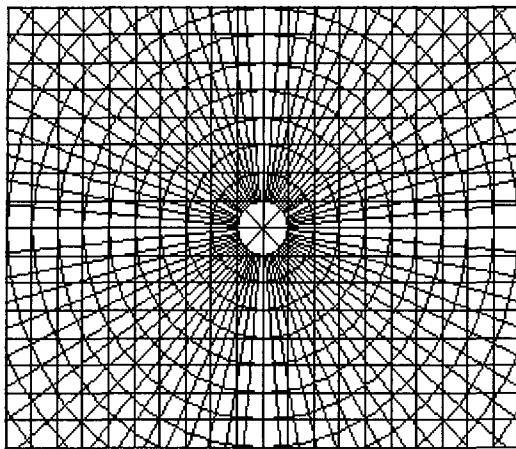


Fig. 3 The drawing of 5mm interval mesh and concentric circle used in camera calibration.

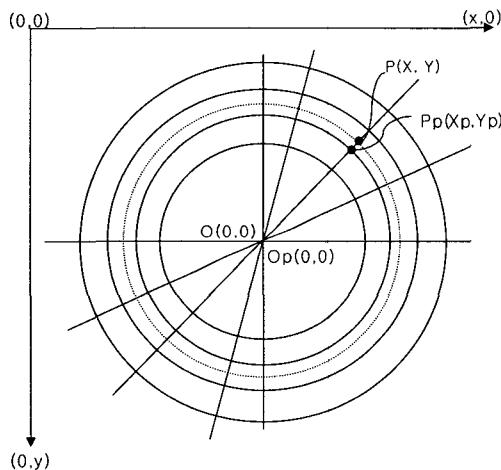


Fig. 4 The principle of camera calibration method.

수를 이용하여 Fig. 4의 중앙을 지나며  $5^\circ$  간격을 이루며 그어진 선과 동심원과의 교점  $P(X, Y)$ ,  $P_p(X_p, Y_p)$ 을 영상 및 실제 도면에서 검출하여  $\overline{OP}$ 와  $\overline{OP}_p$ 의 차를 산출해 내었다. 이러한 과정을 각 동심원별 각각도 사선별로 실시하여 그에 따른 실제 거리와의 차이를 산출해 내어 카메라 보정을 실시하였다.

#### (2) 콜로니 추출 영상처리 알고리즘

콜로니 픽킹 시스템 제어 프로그램은 window 상에서 구동되는 Microsoft社의 Visual Basic 6.0 프로그램 언어를 사용하여 개발되었다. 프로그램은 콜로니의 영상을 획득한 후 이진영상 분할, 라벨링, 윤곽추출,

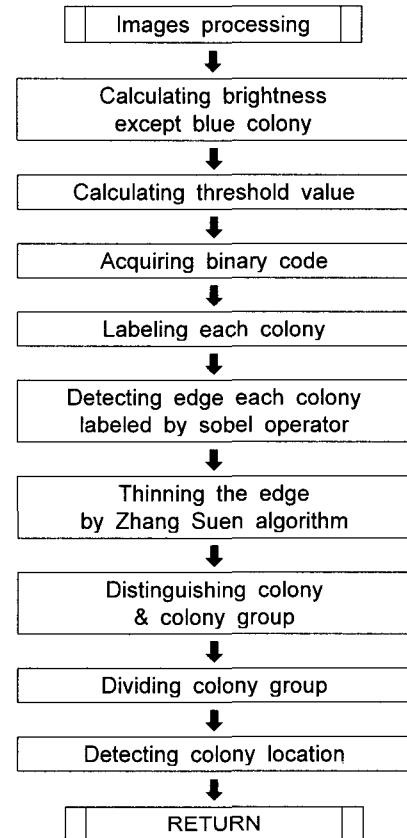


Fig. 5 The flow-chart of image processing.

세선화 과정을 통하여 콜로니만을 분리 하였고, 분리된 콜로니 영상에서 콜로니의 위치를 검출하였다. Fig. 5에는 영상처리의 흐름도를 나타내었다.

#### (3) 영상획득 방법

콜로니의 영상을 획득하기 위해서는 콜로니가 배양된 배양용기의 영상을 획득하여야 한다. 배양된 콜로니는 직경이  $0.3 \sim 3.0$  mm이며 원형으로 되어있어, 본 연구에서 구성한 영상획득 시스템으로 획득한 영상을 처리하기 위해서는 독립된 콜로니 1개당 20개 이상의 화소가 포함되어 있어야 정확한 영상처리를 할 수 있다. 본 연구에서는 획득한 영상의 질을 감안하여 콜로니와 카메라와의 간격을 50 mm로 설정하였으며, 이때 콜로니가 20개 이상의 화소를 포함하기 위해서는 독립된 콜로니의 크기가 0.5 mm 이상이어야 하기에 콜로니의 크기가 0.5 mm 미만인 콜로니(전체 픽킹 가능 콜로니의 6% 미만)는 영상처리 알고리즘에서 제외되도록 하였다. 또한, 콜로니와 카메라와의 간격을 50 mm로 설정하였을 경우 가로

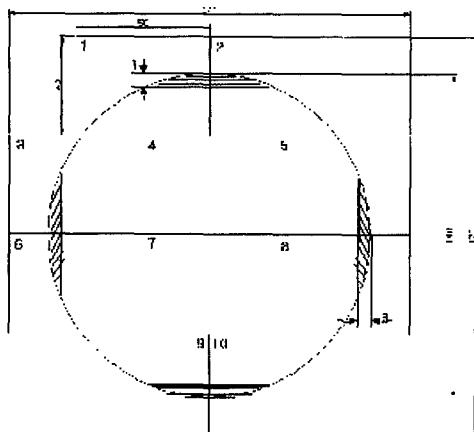


Fig. 6 The lay-out of image capture area.

세로 획득영상의 크기는 58×43 mm가 되어 전체 콜로니 배양용기의 영상을 한 번에 획득할 수 없어 Fig. 6과 같이 10번에 걸쳐 콜로니의 배양된 영상을 획득하였다.

#### (4) 이진영상 분할

영상입력 장치를 통하여 들어온 콜로니 영상 신호 (Fig. 7(a))에는 R, G, B 3원색의 정보가 포함되어 있으며, 이 3원색을 이용하여 재조합 DNA가 포함되어 있지 않은 푸른색 콜로니와 재조합 DNA가 포함된 흰색 콜로니를 분리하고, 식 (1)을 이용하여 칼라 영상을 흑백영상으로 바꾼 후 히스토그램 기법을 이용하여 히스토그램에서 콜로니와 배경을 나눌 수 있는 최저 골부분을 자동으로 찾아 문턱값을 설정하여 흰색 콜로니만의 이진영상을 추출하게 하였으며 수동으로도 문턱값을 설정할 수 있도록 하였다. 그 후 가우시안 마스크를 이용하여 잡음 제거 및 smoothing을 실시하였다(Fig. 7(b)).

$$Ye = 0.3R + 0.59G + 0.11B \quad \dots \dots \dots (1)$$

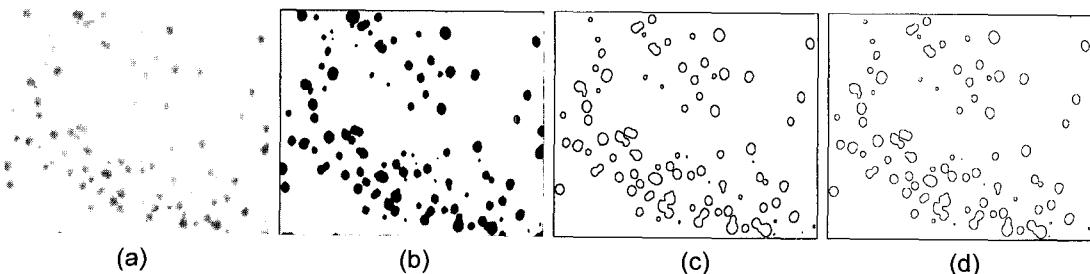


Fig. 7 The image processing method ; (a) original image, (b) binary image, (c) edge detection, (d) thinning.

이진영상에서 얻어진 각 콜로니들을 순차적 알고리즘<sup>5)</sup>을 이용한 라벨링을 통해 연결된 화소들끼리 묶었다. 이때 전체 영상의 테두리(경계) 부분에 닿아 있는 콜로니들은 본 처리에서 제외시켰다. 영상내의 라벨링된 각 콜로니 부분들은 소벨 연산자를 이용한 윤곽선 추출법으로 콜로니 부분을 폐곡선 형식(Fig. 7(c))으로 나타냈다. 그 후 Zhang Suen 세선화 알고리즘<sup>5)</sup>을 이용하여 윤곽선을 1화소의 연결된 폐곡선으로 표시하였다(Fig. 7(d)).

#### (5) 콜로니 추출

콜로니의 추출은 이진영상에 의해 추출된 영상에서 라벨링된 콜로니 각각에 대하여 원형도( $R$ , 식(2))를 계산하여 독립된 하나의 콜로니인지, 콜로니 집락 인지를 구별하여 추출하였다.

$$R = \frac{A_p}{A_c} \times 100 \quad \dots \dots \dots (2)$$

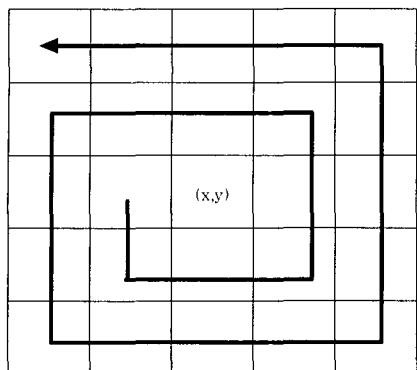
where,  $R$  = roundness, %

$A_p$  = a number of pixels of labeled colony

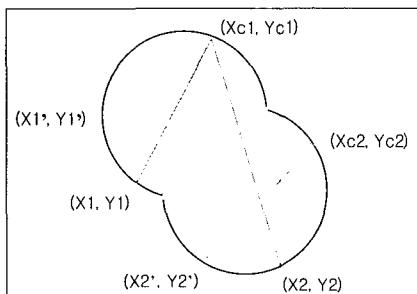
$A_c$  = a number of pixels of a least circumscribed circle of labeled colony

이진영상으로 표현된 콜로니 영역을 독립된 콜로니와 2개 이상의 콜로니가 붙어있는 집락으로 구분하기 위하여 각 영역의 원형도를 계산하였다. 원형도가 임계값 이상이면 독립된 콜로니로, 임계값 이하이면 콜로니 집락으로 인식하도록 하였는 바, 임계값은 예비실험 결과 85로 설정하였다. 임계  $R$ 값이 85 이상인 콜로니는 하나의 콜로니로 인식하여 원 중심을 영상 축도설정에 의한 X, Y 좌표 값으로 위치를 나타내었다.

콜로니 집락은 Fig. 8(a)의 5×5 마스크를 이용하여 세선화된 영상에서 근접 테두리 화소를 찾아내어 화



(a)

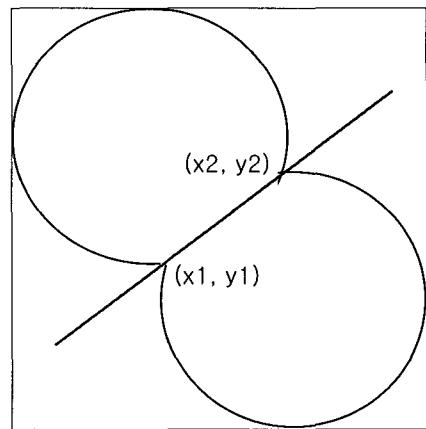


(b)

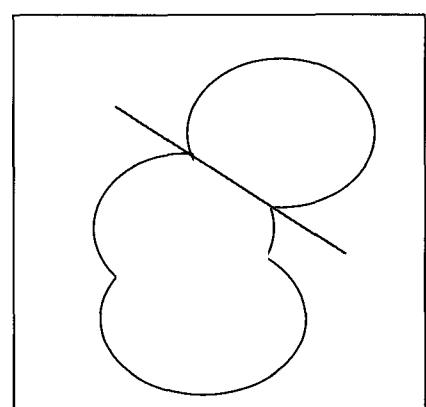
Fig. 8 The schematic diagram of colony detection algorithm ; (a)  $5 \times 5$  mask, (b) calculation of distance between two pixels.

소의 위치를 차례로 입력받은 후 Fig. 8(b)에서처럼 임의의 한 점을 시작으로 테두리에 있는 모든 점에서 나머지 화소까지의 거리를 구하여 최소의 거리를 나타내는 두 점의 연결선이 콜로니가 붙어있는 경계로 인식하게 하였다. 여기서 임의의 한 점에서 다른 점까지의 거리가 전체 둘레길이의 1/2.5배 이내에 해당되는 점은 계산에서 제외시켜 최소거리로 인식하지 않도록 하였다.

다음으로, Fig. 9(a)에서처럼 최소거리로 인식된 두 점  $(x_1, y_1), (x_2, y_2)$ 의 위치를 구하고 두 점을 지나는 직선을 구하였다. 이 직선에 의해 콜로니 집락은 두 부분으로 나누어지며 두 부분으로 나누어진 콜로니 집락은 각각 원형도를 계산하여 독립 콜로니임을 재차 인식해야 한다. 이때 한 콜로니 집락에 있는 각 점들은 직선과 비교하여 직선의 어느 편에 있는 것 인지를 인식해야 한다. 콜로니 집락을 둘로 나누는 직선의 방정식에 콜로니 집락안에 있는 임의의 한 점  $(x, y)$ 의  $x$ 를 대입하여 나오는  $Y$ 값과 임의의 한 점



(a)



(b)

Fig. 9 The schematic diagram of image processing for dividing colony group ; (a) detection of boundary, (b) colony group.

$(x, y)$ 의  $y$ 값을 비교하여 식 (3)과 같이 크기에 따라  $(x, y)$ 의 위치를 정하도록 하였다. 콜로니 집락내의 모든 점의 위치가 정해지면 각 부분별 원형도를 계산하여 원형도가 예비실험에서 시행착오법으로 설정된 임계  $R$ 값 70 이상이면 독립된 하나의 콜로니로 인식하고, 70 이하이면 Fig. 9(b)와 같이 제 3의 콜로니 집락인 것으로 인식하게 하였다. 제 3의 콜로니 집락으로 인식된 부분은 픽킹시 오염 방지를 위해 픽킹에서 제외시켰다.

```

if  $y < Y (=ax + b)$  then
    point( $x, y$ ) is under the line .....(3)
if  $y > Y (=ax + b)$  then
    point( $x, y$ ) is over the line

```

### 라. 콜로니 판별 성능시험

본 시험에서는 배양된 콜로니의 위치를 영상처리를 통하여 검출하기 위하여 배추 계노믹 DNA를 가지고 있는 BAC clone을 37°C 암상태에서 18시간동안 배양한 콜로니를 대상으로 시험을 실시하였다. 우선 독립적인 콜로니 및 콜로니의 위치를 정확하게 인식하는가를 판단하는 시험을 실시하였고, 콜로니 추출 알고리즘을 통한 콜로니 집락을 독립된 콜로니로 나누어 인식하는지를 알아보았고, 수작업에 의한 콜로니의 인식과의 비교를 통한 알고리즘의 신뢰성을 검증하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 영상 측도설정 결과

##### (1) 영상획득거리에 따른 1 화소당 실제길이

영상획득거리에 따른 영상내 1화소당 실제 길이의 산출 결과는 식 (4)와 같다. 영상평면( $640 \times 480$ )에서 비교적 영상의 왜곡현상이 적은 측정영역( $X = 270 \sim 370$ ,  $Y = 190 \sim 290$ )에서 유효하며,  $h$ 는 40 mm 이상에서 유효하다. 이때의 좌표상의 원점은 X축 320번째 화소, Y축 240번째 화소이다.

$$D = \frac{10}{0.003h^2 - 1.20h + 163.79} \quad \dots\dots\dots (4)$$

where,  $D$  = The distance per 1 pixel, mm

$h$  = distance between camera and objects, mm

$R^2 = 0.9999$

##### (2) 카메라 캘리브레이션

Fig. 10에서 보는 바와 같이 실제 도면에서의  $P$ 점은 카메라 왜곡에 의해  $P_p$ 로 인식하게 된다. 따라서, 원점과  $P$ 점의 거리  $\overline{OP}$ 는 영상내에서  $\overline{OP_p}$ 로 인식되며, 그에 따라 거리의 오차  $\overline{P_pP}$ 가 발생하게 된다. 따라서 콜로니 영상의 획득 시 콜로니의 크기, 한 개의 배양용기당 획득할 영상의 수 등을 고려하여 카메라와 배양용기 사이의 거리를 50 mm가 되도록 설정한 후, 이 오차  $\overline{P_pP}$ 가 원점을 지나는 사선의  $\theta$

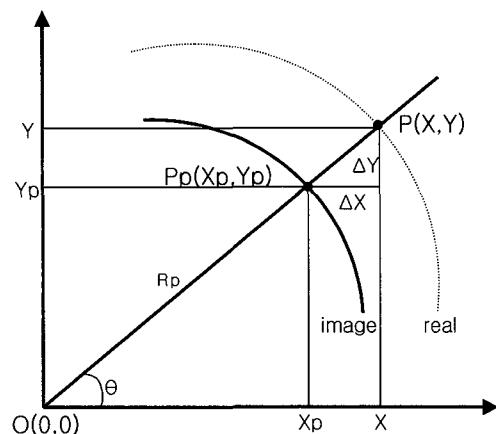


Fig. 10 The error according to distance between zero point and one point by camera distortion.

각에는 관계없이 각 동심원 반지름에 따른 오차의 차이가 존재할 것으로 사료되어 실측하여 계산한 결과 사선의  $\theta$  각에는 관계가 없고 동심원의 크기, 즉 원점에서부터 떨어진 거리에 의해 오차가 변화하는 것으로 나타났다. 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

Table 2를 살펴보면 동심원의 크기가 커질수록, 즉 원점에서부터의 거리가 멀어질수록 오차의 크기가 커지는 것으로 나타났으며, 이를 회귀분석에 의한 원점에서부터 멀어진 거리에 대한 오차의 관계를 식(5)에 나타냈다.

$$E_p = 0.002936 R_c^2 - 0.0647R_c + 0.3658 \quad \dots\dots\dots (5)$$

at  $|R_c| \geq 6$

$$E_p = 0 \quad \dots\dots\dots$$

at  $|R_c| < 6$

where,  $E_p$  = error of  $(\overline{P_pP})$  according to converted distance between  $P$  point and zero point, mm

$R_c$  = converted distance of  $R_p$  using image calibration, mm

$R^2 = 0.9999$

식(5)에 의해 얻어진 원점에서부터 떨어진 거리에 따른 영상에서 산출한 거리와 실제 거리와의 차

Table 2 The error according to distance between zero point and  $P$  point

	Converted distance between $P$ point and center (mm)					
	10	14.93	19.75	24.47	29.06	33.49
Error according to distance between $P$ point and center (mm)	0	0.07	0.25	0.53	0.94	1.51

$\overline{P_p}$  를 이용하여 실제 거리를 산출하였다. 식(5)는 비교적 카메라 왜곡이 적은 영상중앙에서부터 X, Y 방향으로  $\pm 6$  mm 이내에서는 유효하지 않다. 카메라 식(4)에 의해서 구하여진 카메라 영상획득거리에 따른 1 화소당 실제 거리를 이용하여 임의의 점의 거리를 환산하고 환산된 거리를 식(5)에 대입하여 환산 거리별 실제 오차값을 계산하게 하였다. 오차값을 이용하여 식(6)에 의한 실제 오차거리를 보정하면 카메라 왜곡에 의한 실제 거리의 오차를 제거할 수 있다. Fig. 11처럼 방안지에 임의의 점을 표시하고 카메라 캘리브레이션에 의해 보정된 계산에 의해 정확한 좌표가 구해졌는지와 그에 따른 픽킹 헤드가 임의의 점에 정확히 위치하는지를 알아보는 실험을 실시한 결과, Table 3과 같이 카메라 왜곡은 본 연구에서 개발한 캘리브레이션 알고리즘에 의해 정확히 보정되는 것을 알 수 있었다.

$$\theta = \tan^{-1} \left( \frac{Y_p}{X_p} \right)$$

$$\Delta Y = E_p \cdot \sin \theta$$

$$X = X_c + \Delta X$$

$$Y = Y_c + \Delta Y$$

where,  $\theta$  = angle of line passing zero point and P point, °

$E_p$  = error distance according to converted distance,  
mm

$\Delta X$  = error of X direct, mm

$\Delta Y$  = error of Y direct, mm

$X_c$  = converted  $X_p$  distance, mm

$Y_c$  = converted  $Y_p$  distance, mm

X = real X distance, mm

**Y** = real Y distance, mm

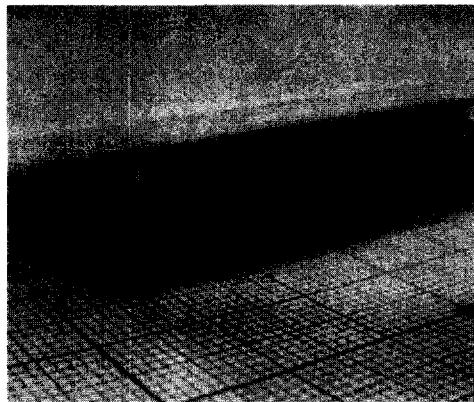
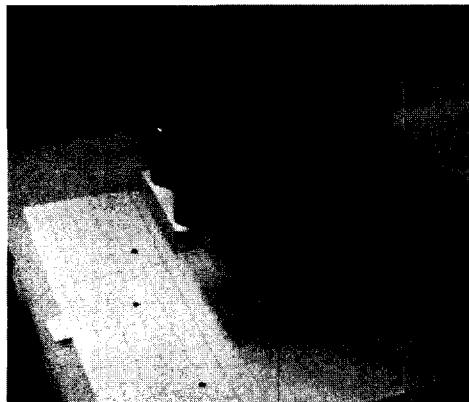


Fig. 11 The picture of colony picking robot system used in camera calibration.

Table 3 The results of correcting of camera distortion by camera calibration

Camera recognition distance (mm)	Converted X distance (mm)	Converted Y distance (mm)	Error distance (mm)	Camera distortion revision distance (mm)	Calculated coordinate	Real coordinate
18.20	-6.93	-16.83	0.18	18.38	( -7.0, -17.0)	( -7, -17)
19.60	-14.81	12.84	0.25	19.85	(-15.0, 13.0)	( 15, 13)
6.32	2.00	-6.00	0.00	6.32	( 2.0, -6.0)	( 2, -6)
11.31	8.00	8.00	0.00	11.31	( 8.0, 8.0)	( 8, 8)
25.19	-20.50	-14.64	0.62	25.81	(-20.0, -15.0)	(-21, -15)
21.77	20.65	6.88	0.37	22.14	( 21.0, 7.0)	( 21, 7)
4.00	4.00	0.00	0.00	4.00	( 4.0, 0.0)	( 4, 0)
10.77	-10.00	4.00	0.00	10.77	(-10.0, 4.0)	(-10, 4)
22.88	19.62	-11.77	0.44	23.32	( 20.0, -12.0)	( 20, -12)
18.49	-17.81	4.95	0.19	18.68	(-18.0, 5.0)	(-18, 5)

#### 나. 콜로니 판별 성능실험 결과

본 실험에서는 배양된 콜로니의 위치를 영상처리를 통하여 검출하기 위하여 배추 게노믹 DNA를 가지고 있는 BAC clone을 37°C 암상태에서 18시간동안 배양한 콜로니가 들어있는 총 10개의 배양용기를 실험에 사용하였다. 독립된 콜로니의 크기는 최대 직경 3.0 mm에서 최소 직경 0.3 mm로 크기가 다양하였다.

우선 본 연구에서 개발한 콜로니 추출 알고리즘을 통한 독립된 콜로니를 추출하였으며 2개 이상의 콜로니가 연결되어 있는 콜로니 집락은 알고리즘에 의해 독립된 콜로니들로 정확히 나누어 인식하는지를

수작업에 의한 콜로니 인식과의 비교를 통해 알고리즘의 신뢰성을 검증하였다.

콜로니의 판별은 각 라벨링된 콜로니의 화소 개수가 판별에 영향을 주게 된다. 본 연구에서 개발된 알고리즘은 콜로니의 화소 수가 적어도 20개 이상이 되어야 정확하게 판별되나 20개 이하의 화소 개수를 나타내는 콜로니는 콜로니 집락이라 하더라도 독립된 콜로니로 인식되는 오류를 범하기에 20 화소, 즉 카메라와 콜로니와의 간격이 50 mm 일 때, 직경 0.5 mm 미만의 콜로니는 판별에서 제외하였다.

Fig. 12는 영상처리에 의해 각 라벨링된 부분이 독립된 콜로니 및 콜로니 집락으로 인식되고 콜로니 집락은 다시 독립된 콜로니로 인식되는 결과를 나타

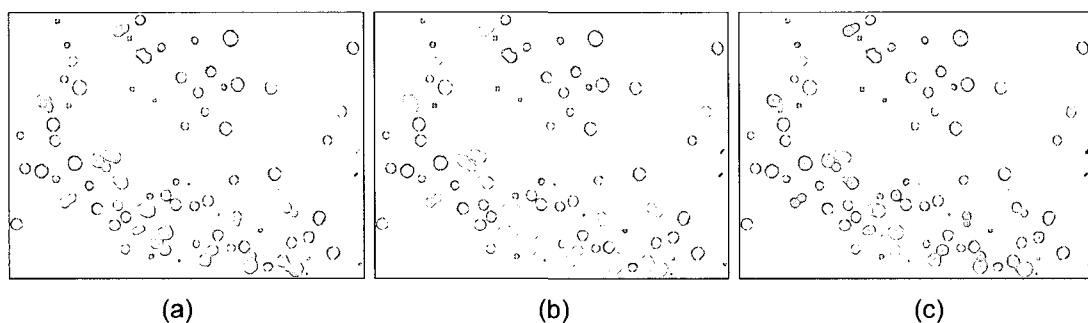


Fig. 12 The examples of performance test resulting from the image processing algorithm; (a) detecting circularity, (b) detecting boundary of colony group, (c) dividing colony group.

Table 4 The results of distinguishing and detecting position of colony in performance test

No. of petri-dish	No. of individual colony			No. of group consisted of two colony and No. of colony divided					
	By manual (EA)	By image processing (EA)	error (%)	By manual (EA)		By image processing (EA)		error (%)	
				group	divide	group	divide	group	divide
1	520	519	99.8	35	68	37	65	105.7	95.6
2	597	600	100.5	27	51	27	48	100	94.1
3	634	632	99.7	20	36	23	36	115	100.0
4	536	532	99.3	42	71	41	69	97.6	97.2
5	578	581	100.5	30	53	30	52	100	98.1
6	490	485	99.0	26	41	25	39	96.2	95.1
7	610	608	99.7	16	26	14	25	87.5	96.2
8	564	564	100.0	39	72	37	70	94.9	97.2
9	645	638	98.9	38	66	39	64	102.6	97.0
10	604	603	99.8	29	54	29	53	100	98.1
average	577.8	576.2	99.7	30.2	53.8	30.2	52.1	100.0	96.8

내는 그림으로서 (a)는 원형도를 통한 콜로니 집락을 판별하는 영상이며, (b)는 콜로니 집락의 테두리 좌표를 입력받는 영상, 그리고 (c)는 콜로니 집락으로부터의 위치를 검출한 영상의 예를 보여주고 있다.

영상처리 성능실험 결과는 Table 4에 나타냈다. 수작업에 의한 독립된 콜로니 및 콜로니 집락의 판별과 영상처리에 의한 판별을 비교한 결과, 독립된 콜로니의 인식은 수작업의 경우와 비교해 볼 때 평균 99.7%(S.D. 0.55)의 인식률을 나타냈으며, 2개의 콜로니가 연결되어 있는 콜로니 집락의 경우도 수작업과 비교해 볼 때 96.8%(S.D. 1.70)의 인식률을 나타내었다. 그러나 3개 이상의 콜로니가 연결되어 있는 콜로니 집락의 위치 검출의 경우는 콜로니 핵킹시 인접 콜로니에 접촉돼 오염될 수 있기에 콜로니 판별 및 위치검출에서 제외하였다. 따라서, 본 영상처리 알고리즘을 통해 96% 이상의 콜로니를 검출할 수 있는 것으로 사료된다.

#### 4. 요약 및 결론

계놈(genome)은 유전자(gene)와 염색체(chromosome)의 합성으로 한 생물체가 지닌 모든 유전 정보의 집합체이고, 동종의 재결합 DNA 분자를 포함하는 동일 세포의 개체를 클론(clone)이라 하며, 클론의 집합체를 콜로니(colony)라 한다.

본 연구에서는 현행 수작업으로 진행되는 콜로니 핵킹을 자동화하기 위해 콜로니 핵킹 로봇 시스템을 개발하기 위한 전단계 연구로서 콜로니의 판별 및 위치검출을 위한 영상처리 알고리즘을 개발하였으며, 그 구체적인 연구결과는 다음과 같다.

- 1) 본 시스템은 저조도 digital color CCD 카메라 및 카메라 렌즈, 렌즈 콘트롤러, frame grabber, 조명부 등으로 구성되었다.
- 2) 배양된 콜로니의 영상은 배양용기에 후면조명을 가하여 영상을 획득하였으며, 콜로니의 위치정보

는 획득된 영상에서 콜로니 판별 및 위치검출 알고리즘을 통하여 입력받도록 하였다.

3) 푸른색의 콜로니를 제외한 흰색의 콜로니 이진 영상을 이용하여 원형도를 측정한 후 독립된 콜로니와 2개 이상의 콜로니가 연결된 콜로니 집락으로 나누어 판별하였으며, 콜로니 집락 분리 알고리즘을 이용하여 연결된 2개 이상의 콜로니의 위치를 검출하였다.

4) 콜로니 판별 및 위치검출 결과, 독립적인 콜로니의 경우 99%, 콜로니 집락의 경우 96% 이상 인식 및 판별이 가능한 것으로 나타났다.

#### 참 고 문 헌

1. 김성로, 강해석, 황순자, 김봉기, 김문현. 1997. Segment에 근거한 부분적으로 가려진 2차원 물체인식. 제 6회 영상처리 및 이해에 관한 워크샵 논문집:147-152.
2. 이현동. 2003. DNA 칩 제작을 위한 로봇 시스템의 개발. 충남대학교 박사학위논문.
3. 이현동, 김기대, 김찬수, 나건영, 임용표. 2003. 콜로니 핵킹 로봇 시스템의 개발(I) - 콜로니 위치 확인 영상처리 알고리즘 -. 한국농업기계학회 2003 동계학술대회 논문집 8(1):215-220.
4. 이현동, 김기대, 김찬수, 김정필, 정혁. 1999. 조직 배양체 이식로봇 시스템의 개발(II) - 기계시각 시스템 -. 한국농업기계학회지 24(1):41-50.
5. 장동혁. 2002. 디지털 영상처리의 구현. 정보케이트.
6. 장지홍, 황현, 강국희. 1997. 컴퓨터 시각을 이용한 배양 세균의 자동 인식 및 계수. 산업식품공학회지 1(1):65-70.
7. Pavlidis, T. 1978. A review of algorithm for shape analysis. J. of Computer Graphics and Image Processing 7:243-258.