



DRIE VERSCHILLENDE MICROSCOOPCAMERA'S VERGELEKEN

Johan Steketee

Jan Vethlaan 9, 3141 KJ Maassluis

Steketee, J. 2012. Three digital microscope cameras compared. *Coolia* 55(3): 117–122.

Adaptation problems of the popular Bresser microscope camera with Windows 7 made it necessary to search for suitable cameras which can avoid the problems. Three camera's perform equally well, differing mainly in the field of view.

Na de publicatie van het artikel over het fotograferen van microscoopbeelden met behulp van de Bresser MicroCam (Steketee, 2010; in het vervolg aan te halen als *Vorige Artikel*) hebben verschillende mensen zo'n camera aangeschaft. De meesten gaven de voorkeur aan de MicroCam 5.0 met een resolutie van 2592×1944 , niet omdat deze camera *meer* details van het object zou weergeven dan de MicroCam 1.3, want dat wordt bepaald door het microscoopobjectief, maar omdat de details met net iets mooier contrast worden afgebeeld.

De laatste tijd komen er diverse meldingen dat na aanschaf van een nieuwe laptop met Windows 7 de camera niet meer door het programma MikroCamLab wordt herkend. Ook enkele desktop bezitters hadden dezelfde klacht, die waarschijnlijk te wijten is aan de wijze waarop het programma de grote (beeld) datastroom via de USB 2 poort moet verwerken. De fabrikant weet aanvankelijk de klachten aan niet optimaal werkende USB poorten en gaf diverse aanwijzingen ter verbetering, echter zonder resultaat. Een oplossing werd ook bemoeilijkt omdat zij het probleem niet konden reproduceren, maar men is nu toch overtuigd van de ernst van de klacht en er is contact gelegd met de softwarefabrikant om het probleem op te lossen.

Omdat steeds meer mensen met Windows 7 geconfronteerd zullen worden, heb ik gezocht of er misschien alternatieve oplossingen zijn in de vorm van andere camera's in een vergelijkbare prijsklasse en met dezelfde resolutie van 2592×1944 . Dit had het volgende resultaat:

1. DinoEye AM 7023 eyepiececamera, te koop bij de firma Digiformat uit Lisse voor € 421.
2. CMEX 5000 die voor € 470 door Euromex in Arnhem wordt geleverd.

Beide camera's hebben een lensvatting die past in een oculairtubus van 23,2 mm, zij het dat de DinoEye vatting 22,95 mm meet en daarom nogal losjes in de tubus zit. Dat is natuurlijk eenvoudig te verhelpen met een stukje tape om de lensvatting. Wat moeilijker te verhelpen is de te grote sterkte van het afbeeldingslensje van de DinoEye, waardoor na het scherpstellen van het microscoopbeeld en het plaatsen van de camera in de oculairtubus, de objecttafel weer verder omhoog geplaatst moet worden om een scherp camerabeeld te krijgen. Dit is dus ook niet te compenseren door de camera eventueel met een tussenringetje wat hoger te plaatsen: het microscoop tussenbeeld ligt gewoon te diep voor de camera. Een mogelijkheid zou ook zijn de toepassing van een andere lens of een hulp(voorzet)lens, maar de leverancier liet weten dat deze niet beschikbaar zijn.





Figuur 1. De 3 camera's naast elkaar: Bresser MicroCam, CMEX 5000 en DinoEye AM7023 (v.l.n.r).

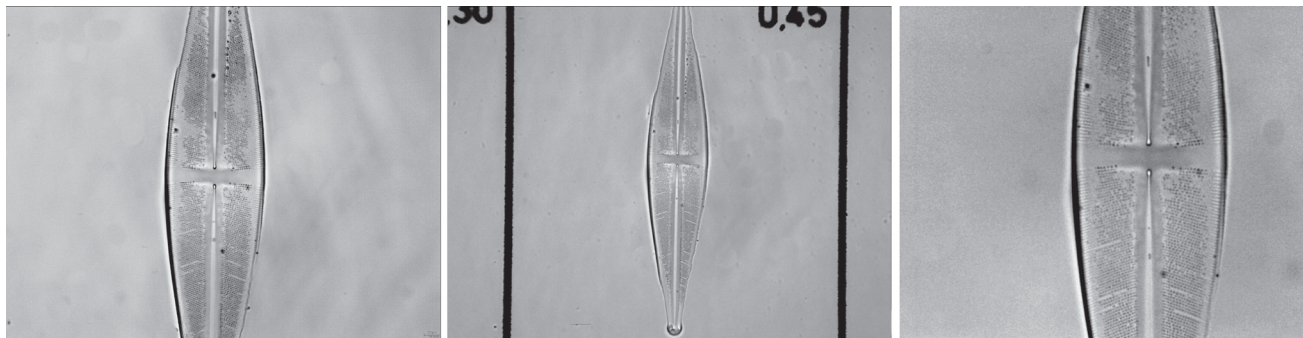
In Figuur 1 zijn de beide camera's afgebeeld tezamen met de reeds bekende Bresser MicroCam.

De software van de CMEX (ImageFocus v3) en de DinoEye (DinoCapture 2.0) laat zich eenvoudig installeren en de bijbehorende camera's worden direct herkend, ook bij gebruik van Windows 7 op de computers die problemen vertonen met de MicroCam. De onhebbelijkheid van ImageFocus om de installatie te weigeren zonder toestemming van de Administrator kan eenvoudig omzeild worden door rechtsklikken op het Setup.exe bestand en dan te kiezen voor "Uitvoeren als Administrator". (Daarom ontgaat mij ten enenmale de zin van een dergelijke 'beveiliging'.)

Praktische resultaten

We zijn nu gereed om foto's te maken met de camera's en gebruiken daarvoor weer het testplaatje met de Diatomee *Stauroneis phoenicenteron*, dat in het vorige artikel ook beschreven is en waarvan de detailgrootte ongeveer $0,45\ \mu\text{m}$ bedraagt. Met een $40\times$ -objectief met Numerieke Apertuur 0,65 en blauw licht kunnen deze details goed zichtbaar gemaakt worden.

In Figuur 2 zijn drie foto's naast elkaar geplaatst, gemaakt met elk van de drie camera's, waaruit blijkt dat het gezichtsveld van de camera's verschillend is: de DinoEye zoomt als het ware in op het beeld, terwijl de CMEX juist een groothoek-effect vertoont.



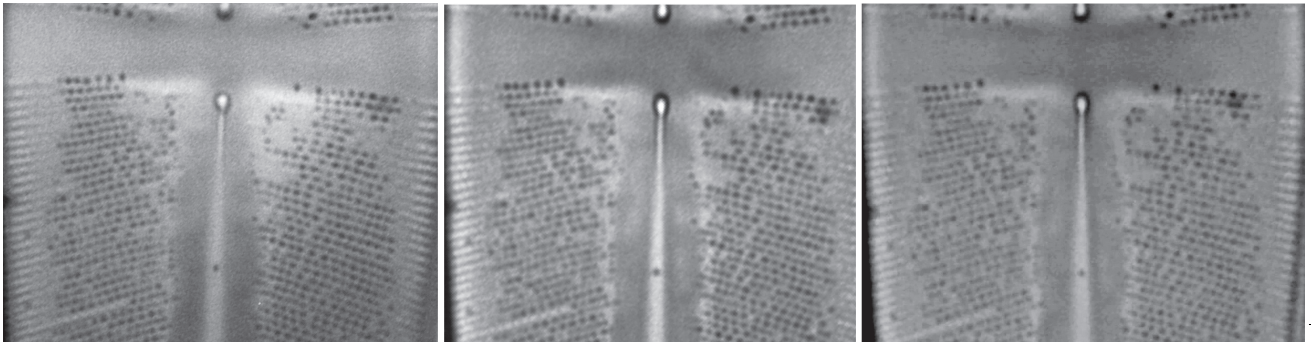
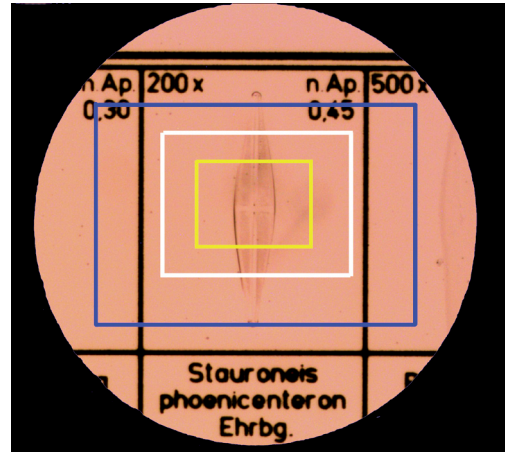
Figuur 2. Microfoto's met $40\times$ objectief; links MicroCam, midden CMEX en rechts DinoEye.

Figuur 3 laat zien welk gedeelte van het gezichtsveld van de combinatie objectief $40\times$ met WideField oculair $10\times$ door de verschillende camera's wordt gebruikt, waarbij de blauwe lijnen betrekking hebben op de CMEX camera, de witte lijnen op de MicroCam en de gele lijnen op de DinoEye camera. Door deze verschillen is het erg moeilijk om de beeldkwaliteit te vergelijken. Er zijn nu eenmaal geen zoom microscoop-objectieven en de oplossing om het camera-objectief van de DinoEye te voorzien van een hulplens is ook niet realiseerbaar, zoals reeds vermeld.



Figuur 3. De verschillen in gezichtsveld van de camera's.

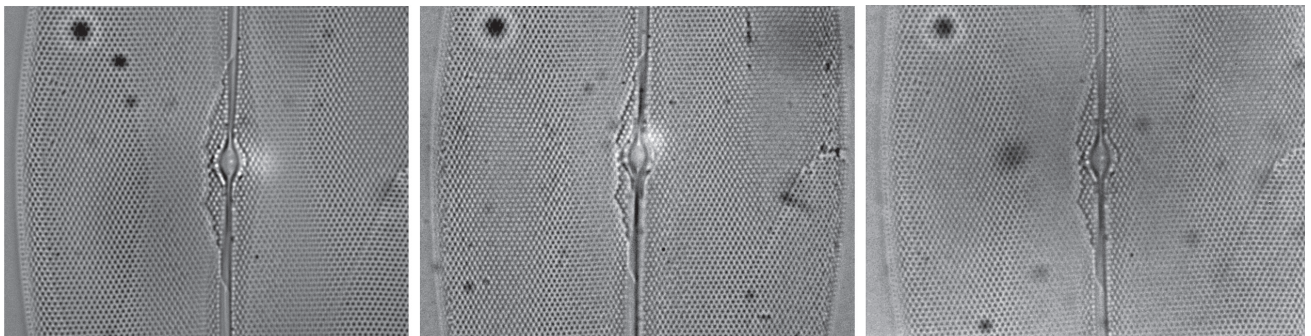
Om toch een indruk te krijgen zijn in Figuur 4 drie uitsneden naast elkaar geplaatst, die aangepast zijn aan de grootte van het DinoEye beeld. Dat betekent wel dat de beide andere beelden digitaal enigszins vergroot moesten worden, wat natuurlijk gaat ten koste van de resolutie. Des te opmerkelijker is dan ook dat er nauwelijks verschil in de details van de beelden is te zien.



Figuur 4. Details van de microfoto's van figuur 2; links MicroCam, midden CMEX en rechts DinoEye.

Met het 100× objectief en immersie-olie zijn op dezelfde wijze plaatjes gemaakt van *Pleurosigma angulatum* waarvan de details ongeveer $0,32 \mu\text{m}$ groot zijn. In Fig. 5 zijn deze details in de drie foto's eveneens keurig afgebeeld, waarbij wel opgemerkt dient te worden dat hier gekeken moet worden naar die gebieden waarop scherpgesteld is. De scherptediepte is namelijk zo gering dat zelfs de kleinste verplaatsing van de objecttafel met behulp van de fijnregeling al leidt tot zichtbare verschuiving van het scherptegebied. De scherptediepte vergroten door verkleining van het apertuurdiafragma was hier geen optie, omdat dat al snel leidt tot aantasting

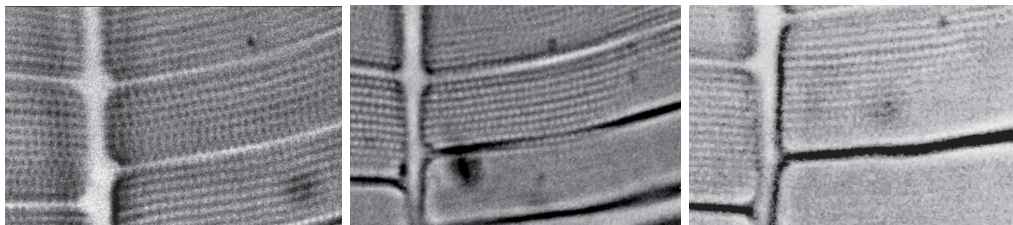
Figuur 5. Details van *Pleurosigma angulatum* in dezelfde volgorde als in Figuur 4.





van het scheidend vermogen zoals in het vorige artikel is aangetoond. Het is mij dan ook niet gelukt om voor de verschillende foto's exact hetzelfde scherptegebied te kiezen.

Tot nu toe doen de drie camera's, wat weergave van de details betreft, nauwelijks voor elkaar onder en daarom heb ik nog een derde Diatomee in de strijd geworpen: *Surirella gamma* met details die niet groter zijn dan $0,18\text{ }\mu\text{m}$. Om het onderste uit de kan te halen werd niet alleen tussen object en objectief, maar ook tussen het objectglas en de condensor immersie-olie aangebracht. De (numerieke) apertuur van de verlichting kan namelijk nooit groter worden dan 1 als er lucht tussen condensor en objectglas zit en volgens de theorie van Abbe kan pas bij voldoende scheve verlichting het maximale scheidend vermogen bereikt



Figuur 6. Links Bresser MicroCam 5.0; midden CMEX 5000; rechts DinoEye AM 7023.

worden. Omdat in een normale afdruk de details niet zichtbaar zijn, worden in Figuur 6 vergrotingen weergegeven om een indruk te geven van wat ik op mijn computerscherm heb waargenomen.

Bij de MicroCam zijn de “kraaltjes” in het midden nog net van elkaar gescheiden te zien evenals bij CMEX 5000, terwijl bij de DinoEye de kraaltjes aan elkaar geregen liggen. Ook hier geldt dat in de beelden gezocht is naar die gebieden waar de scherpte maximaal is.

Software

Het programma dat bij de CMEX wordt meegeleverd heet ImageFocus v 3.0 en biedt de mogelijkheid om op redelijk eenvoudige manier een foto te maken van het microscoopbeeld omdat net zoals in het programma MikroCamLab van Bresser een automatische belichtingsregeling en een automatische witbalans aanwezig zijn. In het beeld kan getekend worden en er kan ook tekst worden toegevoegd. Wie bedreven is in beeldbewerking kan handmatig kleur, contrast en dergelijke aanpassen, maar de praktijk leert dat de meeste mensen dit liever in hun eigen beeldbewerkingsprogramma doen, zoals bijvoorbeeld PhotoShop.

Een zeer belangrijke vraag, zo niet de belangrijkste, is natuurlijk of metingen mogelijk zijn. Dat kan op dezelfde manier als bij de MicroCam, zoals dat in het vorige artikel al is beschreven: door een lijn te trekken van het ene punt naar het andere. Ook hier wordt aanvankelijk een aantal pixels in het beeld geteld en men moet dus een ijking uitvoeren (calibreren), die duidelijk beschreven staat in ‘ImageFocus hulp’. Het plezierige van dit meetprogramma is dat de metingen onafhankelijk zijn van de resolutie waarin het beeld is opgenomen en opgeslagen. Enkel de gekozen vergroting van het microscoop-objectief hoeft onthouden te worden om later, als men nog nieuwe metingen aan het object wil uitvoeren, in het ImageFocus programma weer in te voeren achter ‘Calibratiebestand’.

Dit in tegenstelling tot het programma MikroCamLab dat bij de Bresser wordt meegeleverd. Hier moeten voor elk gekozen objectief drie ijkingen worden uitgevoerd: één voor de laagste, één voor de middelste en één voor de hoogste resolutie. Het is dus belangrijk om bij





de foto's behalve het gebruikte objectief ook de gekozen resolutie te vermelden. De DinoEye camera wordt vergezeld van het programma DinoCapture 2.0, dat eveneens de mogelijkheid biedt om metingen te verrichten in de beelden. Alleen de ijkprocedure is tamelijk afwijkend: Na het trekken van een lijn tussen twee punten in het beeld van het ijkobject, bijvoorbeeld op een afstand van 500 μm , moet in het hokje voor de vergrotingsfactor net zolang een getal worden ingevoerd tot naast de meetlijn 500 μm verschijnt. Gelukkig is ook hier deze vergrotingsfactor niet afhankelijk van de gekozen resolutie en wordt hij bij de beelden opgeslagen. ImageFocus en DinoCapture bieden ook de mogelijkheid om een video-opname te maken, die waarschijnlijk door mycologen weinig benut zal worden.

De systeemeisen van de programma's lopen uiteen van 1,7 GHz en 512 Mb geheugen (MicroCamLab), Pentium IV of hoger en 1 Gb (ImageFocus v3) tot 2,4 GHz en 2 Gb voor DinoCapture 2.0. Dat laatste is beslist noodzakelijk omdat de gebruikte laptop de beschikking had over 900 Mb en af en toe de mededeling gaf dat het programma gestopt was. De fabrikant adviseert zelfs een Intel i-processor en 4 Gb.

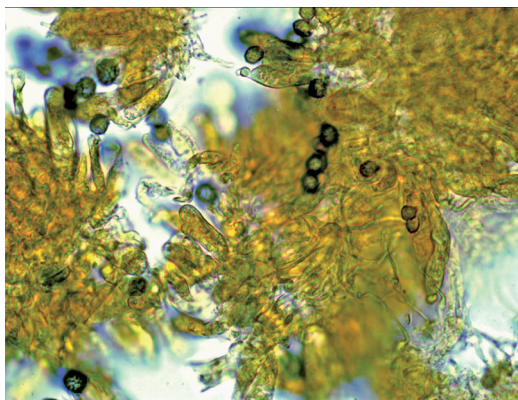
Wanneer iemand een der camera's aanschaf, kan ik voor een soort snelstart handleiding zorgen, waardoor men aan de hand van een aantal punten snel een foto kan maken en daarin metingen kan verrichten.

Enkele foto's

Jaap Wisman was zo vriendelijk om wat materiaal van *Russula fragilis* uit het herbarium te sturen, waardoor we wat foto's konden maken met de verschillende camera's met een microscoop-objectief 40 $\times$ en 100 $\times$ van een Olympus BH-2 microscoop.

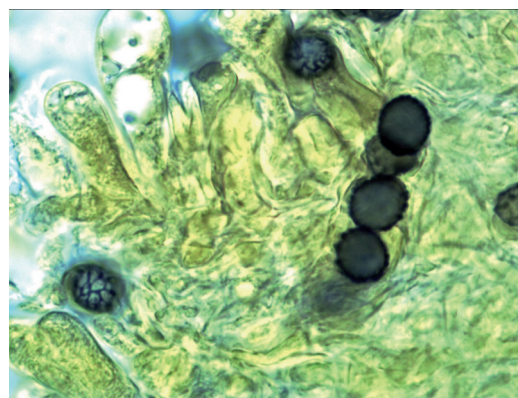
Duidelijk blijkt ook hier weer het verschil in gezichtsveld (lees: optische vergroting) tussen de drie camera's. De CMEX zou men een groothoekcamera kunnen noemen vergeleken met de beide andere en de DinoEye een tele. De scherptediepte van de DinoEye is daardoor zeer klein waardoor het moeilijker is om verschillende lagen in het preparaat scherp in beeld te brengen. Dat is ook de reden waarom ik geen opnamen heb gemaakt met een stereomicroscoop, hoewel bij elk van de camera's ook een verloopstuk wordt geleverd passend op de 30 mm tubus van zo'n microscoop.

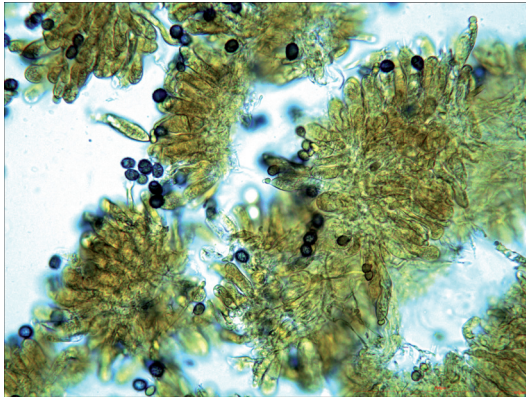
Een oplossing voor het scherptediepte-probleem ligt mogelijk in het gebruik van stacking software, waarbij achter elkaar een aantal opnamen worden gemaakt, elk op een ander scherptevlak. Die opnamen worden door de software met elkaar gecombineerd zodat een veel groter gebied scherp



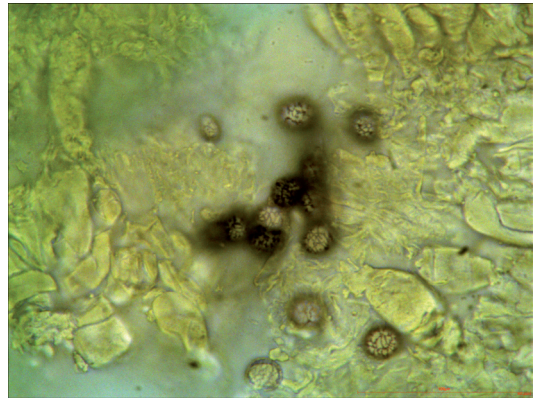
Figuur 7. *Russula fragilis* met Micro/Cam 5.0 en 40 $\times$.

Figuur 8. *Russula fragilis* met MicroCam 5.0 en 100 $\times$.



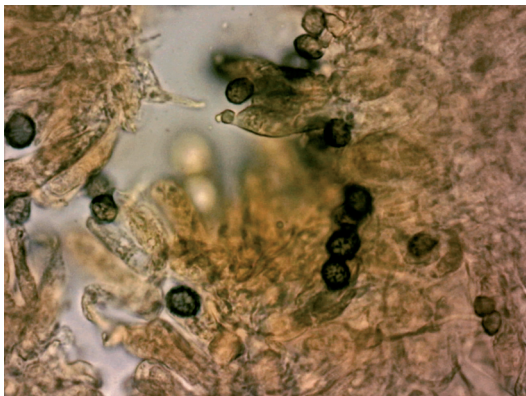


Figuur 9. *Russula fragilis* met CME X DC5000 en 40×.

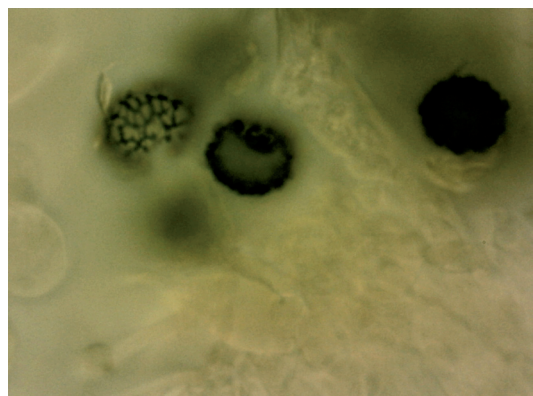


Figuur 10. *Russula fragilis* met CME X DC5000 en 100×.

Figuur 11. *Russula fragilis* met DinoEye AM 7023 en 40×.



Figuur 12. *Russula fragilis* met DinoEye AM 7023 en 100×.



wordt afgebeeld. Euromex verkoopt ook dergelijke software onder de naam ImageFocus Stacking software. Voor foto's met de stereomicroscoop zal dat zeker bruikbaar zijn, maar niet voor de microscoop, omdat het kiezen van meerdere opeenvolgende scherptevlakken heel moeilijk te realiseren is, zoals onder de Praktische resultaten al is vermeld. In dat opzicht blijkt het beeld zoals we dat met onze eigen ogen in de microscoop waarnemen, met geen enkele camera te evenaren.

Tot slot: Welke camera verdient de voorkeur? Zoals blijkt uit Figuur 6 zijn ze alle drie in staat om details van 0,18 μm nog weer te geven met minimale verschillen. In dat geval zal de voorkeur van de een uitgaan naar de "grootte" van de CME X, terwijl een ander juist kiest voor iets meer tele-effect van de MicroCam of nog meer tele-effect van de DinoEye. De voor- en nadelen van de camera's zijn voldoende beschreven om hierbij een persoonlijke keuze te maken.

Literatuur

Steketee, J., 2010. Fotograferen van microscoopbeelden. Coolia 53(4): 181–185.

