



FOTOGRAFEREN VAN KLEINE OBJECTEN MET EEN DIGITALE MICROSCOOPCAMERA

Johan Steketee

Jan Vethlaan 9, 3141 KJ Maassluis

Steketee, J. 2013. Photography of small objects with a digital microscope camera. *Coolia* 56(3): 137-142.

Two different digital microscope cameras are compared. Both serve as a microscope with integrated camera that can transmit the captured images via a USB connection to a computer. Thanks to the integrated lens, particularly small objects can be magnified and imaged. Both cameras, the USB 9.0MP and the USB 2.0MP have the same (microscope) lens but differ in camera-resolution. Details smaller than 5 μm can be resolved by the 9.0MP camera but not by the 2.0MP.

Tijdens de werkweek in Noordlaren liet Elze Dijkman een kleine microscoopcamera zien waarmee ze kleine objecten direct kon fotograferen en de foto's opslaan op een laptop. Het betrof de Conrad Digitale Microscoopcamera USB 2.0 Mp die met een resolutie van 1600×1200 pixels 10 tot 200 maal vergrote beelden kan produceren en door Conrad voor € 70 (art.nr. 19 13 41) wordt geleverd (zie Figuur 1).

De camera kan via een USB-kabel direct op de computer (laptop) worden aangesloten en heeft dan meteen de beschikking over een regelbare (2 standen) verlichting met 8 led's die in een ringvorm om de lens zijn gegroepeerd. Als de meegeleverde software eScope op de computer is geïnstalleerd, wordt de camera direct herkend.

Het meegeleverde statiefje is minder geschikt om op een handige manier sterk vergrote beelden van kleine korstjes te maken, vandaar dat Elze adviseerde om het statiefje dat afgebeeld is in Figuur 1 (Conrad 19 13 48) voor € 25 erbij te kopen. De hoogte ervan is 20 cm en het is niet alleen voorzien van een kruistafel, maar ook van een extra continu regelbare ledverlichting om objecten van onderaf te verlichten. Deze verlichting kan met een meegeleverde USB-kabel eveneens op de computer worden aangesloten.

Om hinderlijke reflecties van de ringverlichting tegen het glas van het statiefje te voorkomen is de camera voorzien van een draaibaar polarisatiefilter waarmee zeer effectief de reflecties onderdrukt kunnen worden. Overigens is het aan te bevelen om het object op een zwart of gekleurd papier ondergrond te leggen, zodat het door het glas gereflecteerde licht het objectief niet kan bereiken (wat anders tot contrastvermindering zou kunnen leiden).

De camera is ook te koop met een 9 Mp sensor, waarmee een beeldresolutie van 3488×2616 bereikt kan worden en Elze vroeg zich af of hiermee nog veel mooiere en/of detailrijkere beelden gemaakt zouden kunnen worden. Reden voor mij om deze camera eens aan te schaffen om te kunnen vergelijken.

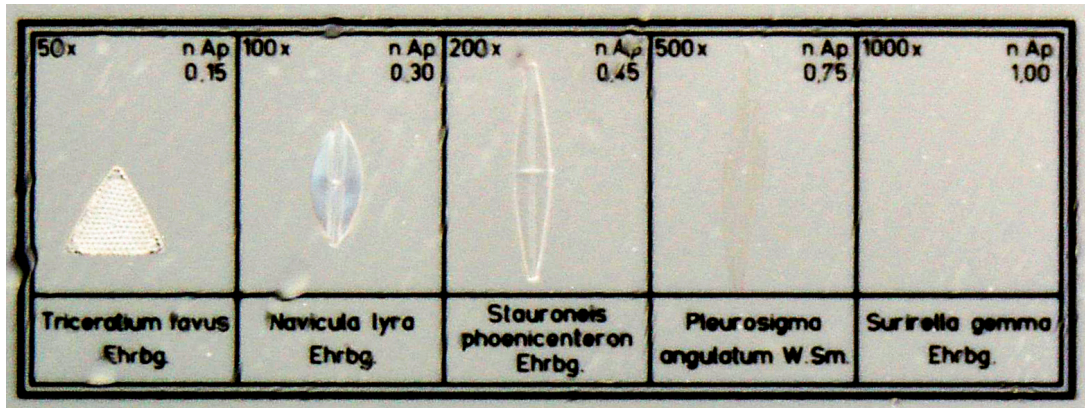
Figuur 1. *Microscoopcamera met statief.*



Vergroting

Het scherpstellen van de camera kan worden geregeld met de blauwe ring: helemaal rechtsom gedraaid (gezien vanaf boven in Figuur 1) staat de camera scherpgesteld op oneindig. Door de ring linksom te draaien, kunnen dichtbij gelegen voorwerpen worden scherpgesteld; de grootste vergroting is het handigst in te stellen door de ring bijna helemaal linksom te draaien (macrostand van het objectief) en daarna de camera vanuit de laagste stand iets omhoog te bewegen tot het beeld scherp wordt weergegeven. Met de blauwe ring kan dan de scherpte optimaal worden ingesteld. De vergroting die bereikt kan worden is natuurlijk sterk afhankelijk van het computerscherm dat gebruikt wordt of de wijze waarop het beeld wordt geprint: zo is de totale breedte van het testplaatje in Figuur 2: 1,17 mm en als dit op een A4 wordt geprint met een breedte van 20 cm is de vergroting dus $170\times$, maar fullscreen op mijn computerscherm $340\times$.

Overigens bewijst Figuur 2 wel dat door gebruik te maken van de onderverlichting bij het statiefje, het ook mogelijk is om een foto te maken van een preparaat, mits het gaat om wat grovere structuren (zie verder onder ‘Scheidend vermogen’). Het resultaat is natuurlijk niet te vergelijken met opnamen via een microscoop zoals eerder besproken in Coolia 53(4).

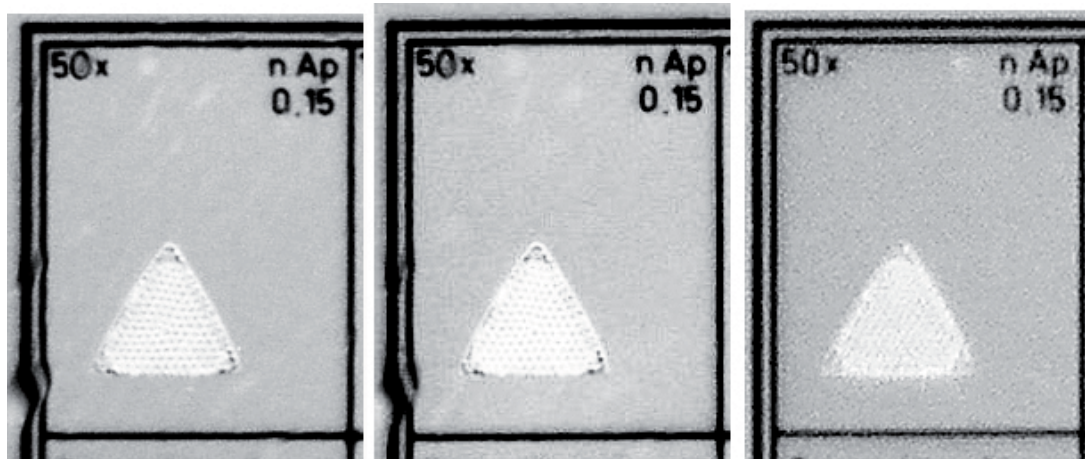


Figuur 2. Diatomee testplaatje opgenomen met de 9.0 Mp camera en verlichting van onderaf.

Scheidend vermogen

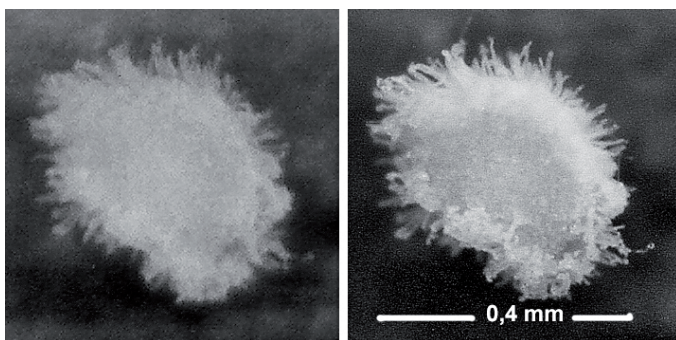
De kleinste details die nog gescheiden kunnen worden waargenomen zijn bij deze 9.0 camera theoretisch $2,4\text{ }\mu\text{m}$ (Zie Kader ‘Toelichting’ aan het eind). In de praktijk blijkt inderdaad dat de fijne details van *Triceratium favus* met een grootte van $5\text{ }\mu\text{m}$ in Figuur 3 nog net zichtbaar zijn (hopelijk ook in de gedrukte versie van dit artikel). We zitten hier wel op de grens van het scheidend vermogen, geheel in overeenstemming met de in het testplaatje geadviseerde Numerieke Apertuur van 0,15. (De in het Kader berekende waarde is in onze situatie 0,14.)

Ter vergelijking is het testplaatje met dezelfde vergroting ook gefotografeerd met de lagere resolutie van de 9.0 Mp camera (2048×1536 , middelste beeld) en ook met de 2.0 Mp camera (1600×1200 , geheel rechts).



Figuur 3. Detail van een foto met de 9.0 Mp camera in de resolutie 3488×2616 (links) en met 2048×1536 (midden). Het rechterplaatje is opgenomen met de hoogste resolutie van de 2.0 Mp camera, 1600×1200 .

Ook de fijne haartjes van het Dofpaars wolschijfje met een dikte van ca. $5 \mu\text{m}$ zijn in Figuur 4 (detailvergroting) nog goed zichtbaar, zij het dat ook hier de lagere resolutie van de 2.0 Mp camera duidelijk zichtbaar wordt.



Figuur 4. Detailfoto van het Dofpaars wolschijfje met 2.0 Mp camera (links) en 9.0 Mp camera (rechts).

Software en metingen

Met de bijgeleverde software eScope kunnen bij de 9.0 Mp camera 4 verschillende opnameresoluties worden ingesteld, te weten: 3488×2616 , 2560×1920 , 2048×1536 en 800×600 . De laatste resolutie is ook steeds de resolutie waarmee het beeld bekeken kan worden voorafgaand aan de opname (preview) en het is dus niet mogelijk om vooraf te beoordelen hoe het beeld er in de hoogste resolutie uit gaat zien wat details betreft. De reden hiervan is natuurlijk dat het instellen/scherpstellen erg moeizaam wordt bij hoge resoluties (lees: grote beeldbestanden), maar toch is het jammer dat je niet als laatste voorbereiding voor de opname nog even wat kunt bijstellen (trimmen), zoals dat bij andere microscoopcamera's meestal het geval is. Nu rest alleen de mogelijkheid om nog even het lage resolutiebeeld fullscreen te bekijken.





Wel kunnen de camera-instellingen, zoals helderheid, contrast, kleur etc. indien gewenst worden gewijzigd.

In de praktijk is het gebruik van de resolutie 3488×1920 alleen zinvol als je het plan hebt om enorme vergrotingen te maken. Zo zijn een aantal beelden voor dit artikel in de hoogste resolutie opgenomen omdat we dan, om ruimte te besparen, een uitsnede ervan kunnen maken. Zeker als je met een aantal foto's met verschillend scherpstelvlak een zogenaamde stack wilt maken, zijn die grote 9 Mb bestanden vaak aanleiding tot het vastlopen van een programma zoals CombineZP. Voor dit doel kan beter gebruik gemaakt worden van de 2048×1536 resolutie van de 9.0 m camera, waarmee nagenoeg hetzelfde resultaat bereikt wordt zoals blijkt uit Figuur 3. Het is dus jammer dat men de 2.0 camera niet voorzien heeft van een 3.0 M sensor die het scheidend vermogen van het objectiefje volledig benut zou hebben.

Ook kunnen metingen in een gemaakte foto worden verricht na een voorafgaande ijking, die uitgevoerd kan worden met het bijgeleverde ijkplaatje. De procedure staat heel duidelijk beschreven in de handleiding, die via Help is op te roepen en het daarbij geproduceerde ijkgetal (Magnification) is bruikbaar voor alle foto's die met dezelfde vergroting zijn gemaakt. Dat betekent dat het ijkgetal pas opnieuw moet worden bepaald als er iets gewijzigd is aan de stand van de blauwe ring (zie Figuur 1) Het ijkgetal is (gelukkig) ook onafhankelijk van de gekozen resolutie van de foto, behalve bij 800×600 , waar de vergroting enigszins afwijkt van de andere resoluties. In de praktijk zal echter nooit gebruik gemaakt worden van deze lage resolutie voor het maken van een foto en de ijking moet dus ook niet bij deze waarde plaatsvinden.

Het is zonder meer mogelijk om in een later stadium nog metingen te verrichten in een reeds opgeslagen foto en het daarbij gebruikte ijkgetal wordt daarbij zelfs al in het Magnification veld getoond.

Enkele resultaten

Om een indruk te krijgen van de mogelijkheden volgen nog enkele praktijkopnamen, waarvan Figuur 6 is gemaakt met de 2.0 Mp camera en de resolutie 1600×1200 . De andere foto's zijn gemaakt met de 9.0 Mp camera en Figuur 10 geeft een voorbeeld van een meting via het eScope programma.



Figuur 5. Rood bekermos. (Foto: Johan Reydon)



Figuur 6. Gewone wimperzwam (*Scutellinia scutellata*) (diam. = ca 5 mm). (Foto: Elze Dijkman)

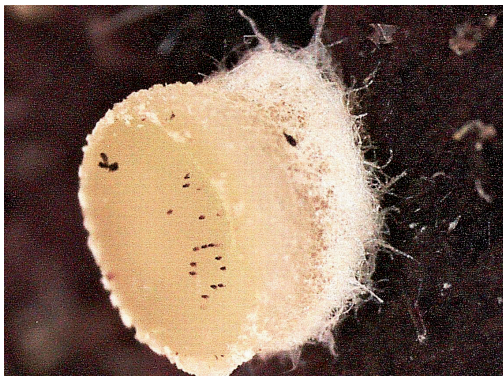




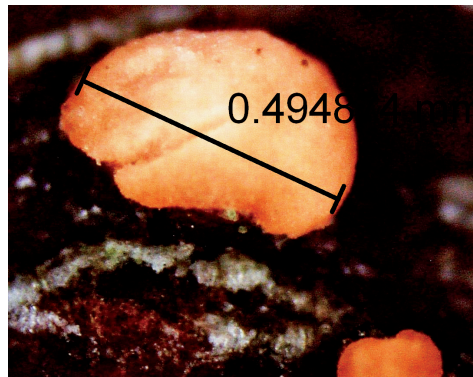
Figuur 7. *Hangkommetjes* (*Merismodes spec.*).



Figuur 8. *Witbruin franjekelkje* (*Lasio-belonium variegatum*) (*diam.* = 0,8 mm).



Figuur 9. *Gewoon spikkelschijfje* (*Ascobolus furfuraceus*) (*diam.* = 0,45 mm).



Figuur 10. *Meniezwammetje* (*Nectria spec.*).



Figuur 11. *Vlieskelkje* (*Hymenoscyphus spec.*).



Figuur 12. *Wijdmazig lantaarntje* (*Cribraria rufa*) (*diam.* = 0,7 mm).





Conclusie

De vraag van Elze kan nu aldus beantwoord worden: Hoewel de grens van het scheidend vermogen van het objectiefje van beide camera's ligt bij $2,4\text{ }\mu\text{m}$, is de 2.0 Mp camera niet in staat om details met een grootte kleiner dan $5\text{ }\mu\text{m}$ af te beelden. De 9.0 Mp, die slechts € 30 duurder is, verdient daarbij de voorkeur, wat niet zeggen wil dat met de 2.0 Mp camera geen mooie foto's gemaakt kunnen worden van wat grotere objecten, zoals Figuur 6 laat zien.

Wie geen stereomicroscopie heeft of om wat voor reden dan ook geen stereomicroscopie met bijbehorende camera wil meesjouwen, kan met deze camera toch aardige plaatjes maken en zelfs, ook achteraf, zeer nauwkeurige metingen verrichten.

Bij een te geringe scherptediepte kunnen eenvoudig een aantal foto's gemaakt worden waarbij de scherpte met de blauwe ring telkens iets verlegd wordt en met een stacking programma zoals CombineZP of Helicon Focus worden samengevoegd. Dat laatste programma biedt een extra mogelijkheid om het resultaat nog te verbeteren: als een bepaald onderdeel toch wat minder scherp is dan in het origineel, kan dat origineel naast het stacking resultaat gelegd worden en met een kloongereedschapje (stempeltje) wordt automatisch dat onderdeel vervangen.

Met dank aan Elze Dijkman en Johan Reydon voor het beschikbaar stellen van de foto's in Figuur 6 en 5, aan Ina Venne voor het materiaal voor Figuur 7 en Grieta Fransen en de werkgroep Zoetermeer voor het overige materiaal. Stip Helleman was zo vriendelijk om het Witbruin franjkelkje te determineren.

Foto's van de auteur, tenzij anders vermeld.

Literatuur

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

Steketee, J., 2012. Drie verschillende microscoopcamera's vergeleken. Coolia 55(3): 117–122.

Toelichting

Het scheidend vermogen van een microscoop is afhankelijk van de Numerieke Apertuur $NA = n \sin \sigma$, waarin σ de halve openingshoek van het objectief is en n de brekingsindex van het medium waarin het object zich bevindt, hier lucht, dus $n=1$. (De openingshoek is de hoek waaronder de diameter van een objectief gezien wordt vanuit het voorwerp). De diameter van het objectief is $2,8\text{ mm}$ en de voorwerpsafstand bij maximale vergroting is ca 10 mm . Daaruit volgt dat $\sin \sigma = 0,14$.

Dat betekent dat de kleinste details die nog gescheiden kunnen worden weergegeven volgens Abbe ($d = 1,22 \lambda / 2 NA$) minstens $2,4\text{ }\mu\text{m}$ groot moeten zijn. De vergroting van het objectief kon worden gemeten en bedroeg 2,5; een detail van $2,4\text{ }\mu\text{m}$ wordt op de sensor dus $6\text{ }\mu\text{m}$ groot.

De sensorbreedte is voor de 9.0 M camera $6,1\text{ mm}$, dus de pixelafstand $1,75\text{ }\mu\text{m}$ ($6100/3488$). Voor de 2.0 M camera met een sensorbreedte van $6,72\text{ mm}$ is dit $4,2\text{ }\mu\text{m}$ ($6720/1600$). Aangezien voor het goed gescheiden afbeelden minstens twee pixels nodig zijn, betekent dit dat de 2.0 M camera details van $2,4\text{ }\mu\text{m}$ niet meer kan scheiden.

