

影像相關概論（二）

多重影像處理--讓顯微鏡影像拍得更寬廣 看得更深入

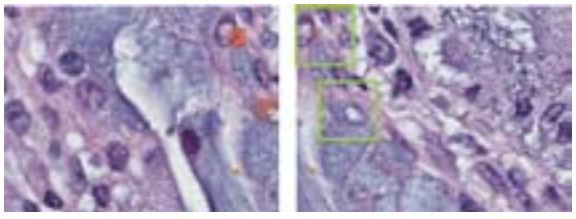
林沛穎 撰

在發表論文或是作seminar簡報時，附上幾張高品質的影像作為實驗佐證，往往能吸引讀者目光，為研究主題大大地加分。在上一回的影像相關概論中（vol.27－從拆解影像元素，進入影像處理），我們談到如何修正顯微鏡影像的色溫以及強化局部影像，以得到清晰卻又不失色彩真實度的影像。然而，有些起因於顯微鏡物理光學限制的問題，是無法單純地藉由影像處理來獲得改善的！您是否也正好為這樣的問題而感到煩惱呢？

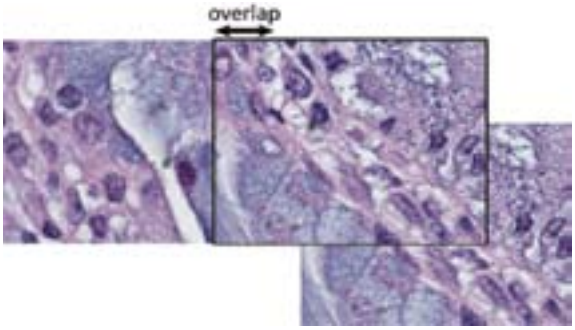
煩惱一、提高放大倍率，就沒有遼闊的視野
解決方案：顯微鏡電動載物台＋縫圖軟體＝創造大範圍顯微影像

在擷取顯微影像時，您是否還在為了放大倍率與視野範圍的抉擇而傷腦筋呢？為了要清楚探視樣本的細節，提升放大倍率的結果，會使得視野範圍縮小而難以一窺全貌。這樣的問題，其實可以很輕易地用特殊的縫圖（image stitching）軟體來解決，合成一張兼具高倍率與大範圍的完整圖像。

所謂的縫圖，是一種將多張XY平面上連續擷取的影像結合起來的影像處理技術。一般來說，縫圖的影像處理過程中，主要包含兩個部分：比對（image matching，見圖一）與融合（image blending，見圖二）。首先比對出兩兩圖片間相同的特徵點，也就是重疊的部分，然後將重疊的部分作縫合之後，再把接縫處作色彩的調和與校正，使得圖片能相融在一起，不會有色彩不連續的現象。為了達到最佳的縫圖品質，在擷取影像的時候，就得注意影像間是否保留重疊的區域，此外，固定顯微鏡光源強度與相同曝光時間，能確保縫合出來的影像不會有色差的問題。



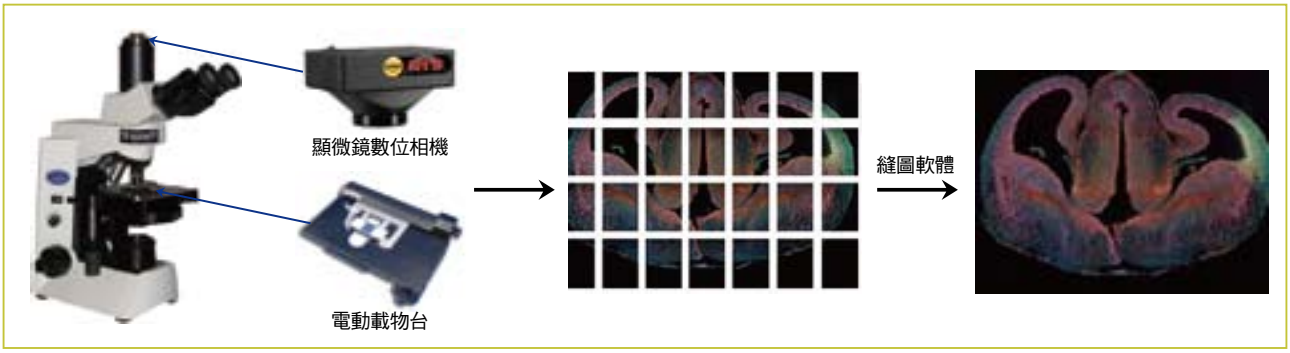
圖一、Image matching，比對兩圖相同之特徵點。



圖二、Image blending，融合兩圖間重疊之區域。

而早期為了要實現這樣的影像縫合，事前每張獨立影像的取得，通常都以手動的方式去調整樣本的位置並拍照，試想您每拍完一張就要調整樣本位置一次，對於大面積範圍的樣本來說，這樣的作業方式既不精準且耗時。具有電動載物台的自動化顯微鏡，搭配顯微鏡相機，可自動化擷取連續XY軸位移之影像。

然而，這樣高階的自動化顯微鏡所費不貲，若您因為經費考量而躊躇不決的話，別煩惱，您還有其他的選擇！來自美國的Ludl公司，提供一系列的顯微鏡自動化模組，幫助您將現有顯微鏡升級成為自動化系統。Ludl的電動載物台模組，可執行高精準度的XY軸位移，以軟體同時驅動電動載物台與相機，能進行自動化的樣本位移拍攝，實現自動化的縫圖系統！(見圖三)

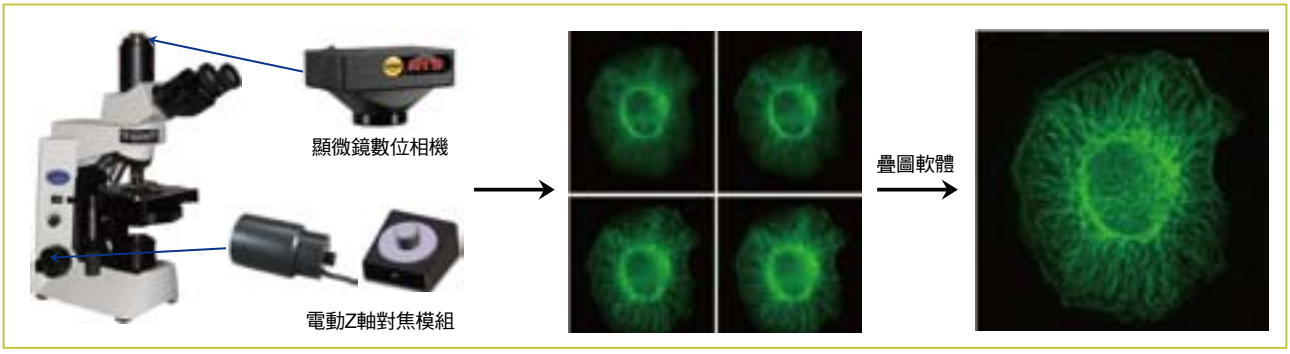


圖三、完整顯微鏡自動化縫圖系統。

煩惱二、拍立體的sample，老是有些地方無法對焦
解決方案：顯微鏡電動Z軸對焦模組＋疊圖軟體＝創造層層清晰的顯微影像

焦距清晰是一張高品質影像的要素之一，若影像失焦，則會呈現細節模糊不清、色彩不夠鮮明等樣貌。但在某些情況下，我們很難避免影像失焦的問題，例如拍攝一較為立體的樣本。舉例來說，實體顯微鏡景深涵蓋範圍廣，所以通常用來觀察具立體性的樣本，像是斑馬魚、實驗動物臟器…等等，但在對焦時，卻還是常發生某些區域焦距清楚，其他部分卻失焦模糊的困擾。另外，操作正立或倒立顯微鏡，若使用高倍率物鏡，由於景深較淺的緣故，有時景深範圍無法涵蓋樣本景深，就會產生不易對焦的現象。以上種種難以克服的失焦問題，其實也可藉由特殊的疊圖（image stacking）軟體來處理，能針對連續拍攝的多張不同焦距影像，將每張影像焦距清楚的細節抓出來，疊合成一張全面清晰的圖像。

Ludl 的電動Z軸對焦系統，結合顯微鏡數位相機，使用者可自行設定Z軸移動間距與拍攝張數，進行自動化連續Z軸位移拍攝。模擬共軛焦顯微鏡擷取影像的原理，顯微自動疊圖系統能幫您創造層層清晰、無景深限制的影像(見圖四)，讓您不必耗費大筆金錢與時間，卻能獲得媲美共軛焦顯微鏡的影像。



圖四、完整顯微鏡自動化疊圖系統。

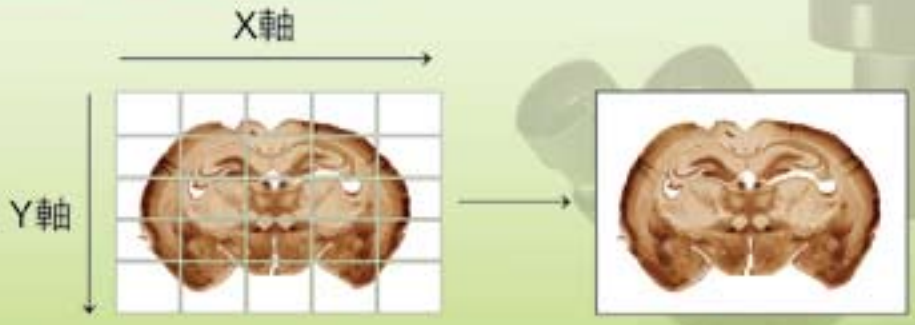
Ludl
Electronic
Products Ltd.



顯微鏡 電動模組
實現自動化系統的夢想

電動載物台 創造超大範圍的顯微影像

婉美掃描式顯微鏡



電動Z軸對焦模組 創造層層清晰的顯微影像

比擬共軛焦顯微鏡









顯微鏡 馬上升級!