

Methode: **Videomikroskopie**
Beurteilungshilfen für die Auswahl von Videokameras

Literatur: Blätter 10 und 11

Anwendungsbereich:

Alle Mikroskope mit ausreichender Beleuchtung

Als Videomikroskopie bezeichnet man ganz allgemein die Aufnahme, Wiedergabe und Weiterverarbeitung mikroskopischer Bilder mit den Mitteln der modernen Videotechnik. Man kann dieses relativ junge Gebiet der Mikroskopie in fünf Bereiche gliedern:

1. Das mikroskopische Bild wird mit einer für das sichtbare Spektralgebiet empfindlichen Videokamera aufgenommen und einem beliebig großen Kreis von Beobachtern über eine praktisch unbegrenzte Zahl von Monitoren gezeigt, zum Beispiel in Klassenräumen und Hörsälen. Dabei kann das Monitorbild mit Hilfe spezieller Geräte, sogenannten Video-Equalizern oder mit anderen Steuergeräten, die zwischen Kamera und Monitore geschaltet sind, manipuliert werden. Beispielsweise lassen sich Kontrast und Konturenschärfe erhöhen, Schatten korrigieren und die Farben aussteuern. Elektronisch eingblendete Pfeile können im Joy-Stick-Betrieb in jede Richtung verschoben werden und beliebige Stellen im Präparat markieren. Daten und Muster werden von Computern dem mikroskopischen Bild auf dem Monitor überlagert. Mit einem Videorecorder können alle Vorgänge aufgezeichnet, später geschnitten oder nach speziellen Methoden weiterverarbeitet werden.

2. Das von der Videokamera analog aufgenommene und später digitalisierte Bild wird in den Bildspeicher eines Computers übernommen. Diese Technik ermöglicht die Sichtbarmachung von Strukturen, die sich normalerweise nicht vom Bilduntergrund abheben würden. Bereits vor etwa 40 Jahren haben L. E. FLORY (1) und A. K. PARPART (2) gezeigt, daß man den Kontrast des mikroskopischen Bildes mit Hilfe der Videotechnik steigern kann. Daraus entwickelte sich die Video-Enhanced Contrast (VEC) Microscopy. 1981 haben R. D. ALLEN und Mitarbeiter (3) in Zusammenarbeit mit HAMAMATSU PHOTONICS durch Kombination dieser Methode mit der elektronischen Bildverarbeitung das AVEC-DIC- und AVEC-POL-Verfahren entwickelt. Diese Abkürzungen stehen für **Allen Video Enhanced-Contrast-Differential Interference Contrast** bzw. **-Polarisation**. Der Kontrast des TV-Bildes eines mikroskopischen Objekts wird zunächst analog verstärkt. Dann wird es digitalisiert und von einem Bildcomputer abgespeichert. Nach dem Defokussieren des Mikroskops empfängt die Kamera nur noch den unsauberen Bilduntergrund und die Bildfehler der Optik. Beides zieht der Computer vom ersten Bild, dem Gesamtbild, ab. Zurück bleibt das

gereinigte Bild des Objekts. Mit Hilfe der AVEC-DIC-Mikroskopie konnten ALLEN und Mitarbeiter 1981 und ALLEN und WEISS 1987 (4) als erste die nur 25 nm dicken Mikrotubuli des Cytoskeletts lebend beobachten und fotografieren. Die AVEC-POL-Mikroskopie macht auf gleiche Weise die schwache Doppelbrechung vieler biologischer Objekte sichtbar, die wegen des ständig vorhandenen Streulichtuntergrundes vom Auge nicht wahrgenommen wird. Durch Kombination der Videokamera mit einem Bildcomputer kann, wie HÄUSLER und KÖRNER (5) gezeigt haben, auch die Schärfentiefe des mikroskopischen Bildes praktisch unbegrenzt erweitert werden.

3. Videokameras mit höchstempfindlichen Bildsensoren sind als Restlichtverstärker wirksam (VIM = video intensified microscopy im Gegensatz zu VEM = video enhanced microscopy). Damit kann beispielsweise eines der schwierigsten Probleme der Fluoreszenzmikroskopie, die schonende Untersuchung lebender Zellen bei möglichst hoher Auflösung, überwunden werden. Bei minimaler Anregungsenergie wird das schwache Photonensignal des fluoreszierenden Objektes in ein sichtbares Analogbild umgesetzt. Diese Technik ist u. a. die Grundlage der Fluoreszenz-Analog-Cytochemie (6).

4. Man kann die Videokamera mit Sensoren für die nicht sichtbaren Spektralbereiche ausrüsten. Bereits eine ganz normale Schwarzweiß-Videokamera (ohne IR-Filter) ist für den Bereich von etwa 400 bis 1200 nm, also bis ins nahe Infrarot, empfindlich. Solche Kameras spielen heute in der UV- und IR-Mikroskopie eine große Rolle.

5. Bei der automatischen Bildanalyse ist an die Stelle der Flying spot-Systeme und des Objektscannings das Bildscanning mit Videokamera getreten. Diese kann das mikroskopische Bild in ausreichend kleine Teilchen (Pixel) zerlegen, die dann vom Computer weiterverarbeitet werden. Solche Systeme ermitteln u. a. die Anzahl bestimmter Teilchen, die Fläche, die Konturlänge und den Durchmesser mikroskopischer Objekte, die Häufigkeitsverteilung solcher Größen und andere Parameter.

Anpassung der Videokamera an das Mikroskop

Videokameras besitzen meistens das international übliche C-Objektivgewinde und werden deshalb mit einem sog. C-Mount Adapter am Mikroskop befestigt. Dieser ist in der Regel so kurz, daß der Sensor genau in der Ebene des reellen Zwischenbildes liegt.

Meistens wird erwartet, daß auf dem Monitor mit der Größe des Sehfeldes vergleichbare Bilder dargestellt werden, doch ist die Ausnutzung des Zwischenbildes oder Okular-Zwischenbildes durch folgende Relation gegeben:

$$\text{Zwischenbildausnutzung} = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der Kamera}}{\text{Sehfeldzahl}}$$

wenn der Sensor im direkten, vom Objektiv erzeugten Zwischenbild liegt oder

$$\text{Zwischenbildausnutzung} = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der Kamera}}{\text{Sehfeldzahl} \times M_{\text{Projektiv}}}$$

wenn der Sensor in Höhe der (gedachten) Filmebene im vergrößerten Bild des Okulars oder Projektivs liegt.

Bild 1 zeigt die Anordnung des CCD-Sensors im mikroskopischen Bild.

	Sensor im direkten Zwischenbild			Sensor im vergrößerten Bild eines Projektivs
1/2" CCD	SZ = 18 	SZ = 25 	SZ = 32 (q _{Tub} = 0,8) 	SZ = 18 Projektiv 3,2:1
2/3" CCD				

Bild 1

Nach BEYER - RIESENBERG 1988

Die Formeln und Bild 1 zeigen, daß das größte Feld bei der Anordnung des CCD-Sensors im reellen Zwischenbild des Objektivs gegeben ist. Der Nachteil der Methode liegt hauptsächlich darin, daß die Bildfehler, die normalerweise vom Okular oder Projektiv kompensiert werden, auf dem Sensor voll wirksam sind. Deshalb sollte man hier gut korrigierte Objektive, am besten Plan-Objektive oder Achromate mit erweiterter Bildfeldebnung

verwenden. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, daß das Auflösungsvermögen der Objektive manchmal nicht voll ausgeschöpft werden kann. Hingegen wird bei der Nachvergrößerung des Zwischenbildes durch ein Okular oder Projektiv die durch ein Mikroskopobjektiv noch aufgelöste kleinste Objektstruktur auf einen Wert vergrößert, der über der Linien bzw. Punktstruktur des Sensors liegt. Einige Mikroskophersteller bieten Videokamera-Adapter an, deren eingebaute Optik die optimalste Anpassung ermöglicht. Ich habe mir ein Video-Mikroskop für Auflicht und Durchlicht sowie simultane Auflicht-Durchlichtbeleuchtung zusammengestellt, bei dem der Bildübertragungsfaktor durch den Tubusfaktor 1,3 des Vertikal-Illuminators begünstigt wird. Hier kann ohne Foto-Okular bzw. Projektiv gearbeitet werden.

Noch wichtiger als die Ausnutzung des Zwischenbildes ist die auf dem Monitor dargestellte Objektfeldfelddiagonale $2y$:

$$2y = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der VK}}{M_{\text{Objektiv}} \times q_{\text{Tubus}} \times M_{\text{Projektiv}}}$$

(q_{Tubus} = evtl. Faktor der Tubuslinse, VK = Videokamera)

Die hier geschilderten Besonderheiten der Videokamera müssen bei ihrer Anpassung an das Mikroskop berücksichtigt werden, was unter Umständen einige mechanische Änderungen erforderlich macht.

Für Camcorder gelten andere Bedingungen als für Videokameras. Die Anpassung von Camcordern an das Mikroskop wurden 1991 vom Verfasser (9) und 1996 von BALZER & MATHIAS (10) beschrieben.

Wenn sich der CCD-Sensor im reellen Zwischenbild des Mikroskops befindet, ist der Abbildungsmaßstab auf dem Monitor durch folgende Beziehung festgelegt:

$$M_{\text{Monitor}} = M_{\text{Objektiv}} \times q_{\text{Tubus}} \times \frac{\text{Diagonale Monitor}}{\text{Diagonale CCD-Sensor}}$$

Wenn sich der CCD-Sensor jedoch in der Bildebene eines Projektivs befindet, gilt die Beziehung:

$$M_{\text{Monitor}} = M_{\text{Ob}} \times q_{\text{Tu}} \times M_{\text{Proj}} \times \frac{\text{Diagonale Monitor}}{\text{Diagonale CCD-Sensor}}$$

Eine Tubuslinse mit dem häufig verwendeten Faktor 0,8x vergrößert das abgebildete Objektfeld um den Faktor 1,25.

Um dem Beobachter eine auf dem Monitor dargestellte Struktur als aufgelöst erscheinen zu lassen, ist ein bestimmter Betrachtungsabstand w und ein förderlicher Vergrößerungsmaßstab einzuhalten:

$$M_{\text{förderlich}} = 500 \dots 1000 \text{ A} \times \frac{w}{250}$$

Bei Arbeiten in der Nähe des Mikroskops + Monitor genügt ein 14"-Monitor den Anforderungen. Für Klassenräume und Hörsäle sind möglichst große Bildschirme wünschenswert.

Die Aussagekraft von Datenblättern für Videokameras ist eingeschränkt, wenn es sich um die Beurteilung ihrer Eignung für die Mikroskopie handelt. Die veröffentlichten Daten werden zum Teil unter völlig anderen Verhältnissen ermittelt, als sie am Mikroskop herrschen. Wichtige Angaben, wie z.B. Dynamik, Modulationstiefe, Farbtreue usw., sind üblicherweise in den Datenblättern nicht enthalten. Die Qualität des in der Mikroskopie gewünschten Ergebnisses hängt nicht allein von den Eigenschaften der Kamera ab, sondern ist nur so hoch, wie das schlechteste Glied in der Übertragungskette (z.B. Optik und Monitor).

Dieser Beitrag ist nur als Beurteilungshilfe zu den Angaben im Datenblatt einer Kamera im Hinblick auf die Videomikroskopie bzw. Videomikrografie zu verstehen, nicht als Empfehlung bestimmter Fabrikate.

1. Bildsensor, (Aufnahmeelement, Pickup-Element, Pickup-Device)

Heute werden nur noch Halbleiterbildwandler in den Kameras verwendet, die im Vergleich mit den früher üblichen Aufnahmeröhren (Plumbicon, Saticon u.ä.) viele Vorteile haben und ständig weiter entwickelt werden. Die Bezeichnung CCD steht für "Charge Coupled Device". In den heutigen Videokameras werden nur ein oder drei Bildwandler (CCD) verwendet, die eine Fläche von 1/2 bis 2/3" (künftig 1/3") haben. Diese Maße sind hiistorisch bedingt. Die Größe der Abtastfläche legt den Bildausschnitt und den Nachvergrößerungsfaktor fest. Der Bildausschnitt erfaßt nur einen Teil des im Okular sichtbaren Sehfeldes. Ein 1/2" Sensor mit einer Aufnahmefläche von 4,8 x 6,4 mm = 8 mm diagonal bildet nur etwa 50 % der Fläche eine 2/3"-Sensors ab, dessen Aufnahmefläche 6,6 x 8,8 mm = 11 mm diagonal beträgt. Je kleiner der Sensor ist, um so größer sind die Probleme in der Mikroskopie. Die Entwicklung tendiert zu immer kleineren Sensoren (z.B. 1/3"). Im Vergleich hierzu: Das Kleinbildfilmformat von 24x36 mm entspricht einer Diagonalen von 43 mm und ist somit um den Faktor 4 größer als ein 2/3"-CCD-Chip.

1.1 Angaben zum CCD-Sensor

1/2" IT CCD mit Mosaikfarbfilter

1/2" = Aufnahmefläche 4,8 x 6,4 mm = 8 mm diagonal.

IT = Interline Transfer (auch ILTS) = Funktionsprinzip der meisten CCD-Sensoren.

CCD = Halbleiterbildwandler.

Mosaikfarbfilter = Filterart vor dem Bildsensor. Daran ist sofort zu erkennen, daß es sich um eine 1-CCD-Farbkamera handelt.

1/2" FT CCD

1/2" = Aufnahmefläche wie oben.

FT = Frame Transfer = Funktionsprinzip einiger CCD-Sensoren für Schwarzweißkameras. Bei gleicher Größe und Pixelzahl etwas bessere Auflösung und Dynamik gegenüber ILTS-Sensoren.

3x 2/3" Hyper HAD-IT CCD

2/3"= Aufnahme­fläche 6,6 x 8,8 mm = 11 mm diagonal.
 Hyper HAD = Herstellerbezeichnung des Sensortyps.
 IT = Interline Transfer (s. oben).
 CCD = Halbleiterbildwandler. 3 Stück .

1.2 Pixel, Pixelanzahl (Bildpunkte, Bildelemente) Auflösungsvermögen

Als Pixel bezeichnet man den Punkt auf dem Bildsensor, an dem das auftreffende Licht eine Potentialveränderung bewirkt. Hier wird die optische Information in elektrische umgewandelt. Der einzelne Bildpunkt (Pixel) auf dem CCD-Sensor kann quadratisch oder rechteckig sein. Die Anzahl der Bildpunkte pro Sensor ist ein Anhaltspunkt für die Bildauflösung der Kamera, obgleich die Auflösung noch von einer Reihe weiterer Faktoren abhängig ist. Je größer die Anzahl der Pixel, desto höher ist die Auflösung. Üblich sind Werte von **vertikal 582**. Sie entsprechen der in der CCIR-Norm festgelegten Zeilenzahl mit Bildinhalt. Bei dem heute noch üblichen Seitenverhältnis 4 : 3 (Breite zu Höhe) ergibt sich für quadratische Pixel ein Wert von **horizontal 776**. In Zukunft wird das Seitenverhältnis möglicherweise 16:9 betragen. Wenn im Datenblatt 786 (H) x 581 (V) angegeben wird, so bedeutet das im Klartext: 786 horizontal (Breite) x 581 vertikal (Höhe), was ca. 450.000 Bildpunkten entspricht. Es kann sein, daß die Angaben höher sind. In diesem Falle ist zu bedenken, daß vielleicht nicht alle Bildpunkte genutzt werden oder die Kamera keiner aktuellen Fernsehnorm entspricht und somit inkompatibel ist.

Die **horizontale Auflösung (H)** gibt die Anzahl von vertikalen Linien an, die gerade noch unterscheidbar sind. Aber Vorsicht! Hier handelt es sich per Definition um schwarze und weiße Linien, also um Maximalkontrast im Schwarzweißbild (Luminanz). Es werden verschiedene Kunstgriffe angewandt, diese Auflösung zu erhöhen. Im Farbbild können sie zu Farbdeckungsfehlern führen, im SW-Bild jedoch einen deutlichen Auflösungsgewinn ergeben. Hier werden unter idealen Bedingungen bis zu 750 vertikale Linien unterschieden. Der Begriff "Zeile" bezieht sich auf die vertikale Auflösung.

Für die Videomikroskopie bzw. Videomikrografie sind alle diese Angaben nur eingeschränkt aussagefähig und können nur als unverbindliche Orientierungshilfe beim Kameravergleich dienen. Übliche Werte für 3-CCD-Kameras sind 720 TV-Linien (Luminanz) und für 1-CCD-Farbkameras 440 TV-Linien.

Aus der Praxis:

Eine 1-CCD-Kamera mit einem Sensor, der 604 (H) x 576 (V), also etwa 350.000 Bildpunkte mit einer Pixelgröße von 10 (H)x15,6 (V) μm besitzt und dem ein Mosaikfarbfilter vorgeschaltet ist, kann bei Verwendung eines normalen Achromaten 40x/0,65 ohne Okular (Sensor im reellen Zwischenbild) die Struktur von *Stauroneis acuta* auf dem Bildschirm eines normalen Fernsehgerätes auflösen. Unter sonst gleichen Bedingungen wird die Struktur der Testdiatomee *Pleurosigma angulatum* mit einem Achromaten 60x/0,85 aufgelöst. Im Schwarzweißmodus ist das Ergebnis mit

einem CCD-Sensor zu erzielen, der nur 290 000 Pixel hat. Die Auflösung der feinen Strukturen solcher Testobjekte ist nicht allein von den Kameraeigenschaften abhängig, sondern nur so gut wie das schlechteste Glied in der Übertragungskette von Mikroskop, Kamera, Signalform und Monitor.

Für die Übertragung eines mikroskopischen Bildes auf normale Fernsehgeräte in Schulen etc. würde bereits eine 1-CCD-Farbkamera mit 290.000 Pixel (bei sonst guten Eigenschaften) den Anforderungen genügen. Bei höheren Ansprüchen (Bildverarbeitung etc.) sollte man den technischen Daten der Kamera große Aufmerksamkeit widmen, wobei auch eine benutzerfreundliche Bedienung und gute Ergometrie zu beachten sind.

1.2.1 Strahlenteilung, Filter

Für die Separierung der Farbauszüge vor den Sensoren werden unterschiedliche optische Systeme verwendet. Bei 3-CCD-Kameras wird häufig ein Prismenblock, seltener ein Spiegelfilter verwendet. Der Prismenblock ist lichtstark und garantiert eine sehr gut Farbtrennung. Das Spiegelfilter ist kleiner und leichter. Bei 1-CCD-Kameras werden u.a. Streifenfilter verwendet. Diese bestehen aus Bündeln von je drei verschiedenfarbigen vertikalen Farbstreifen. Heute überwiegen jedoch die Mosaikfilter. Hier handelt es sich um 8-er Blöcke mit vier verschiedenen Farben. Sie haben den Nachteil, daß es bei sehr feinen Strukturen zur Moireebildung kommen kann.

2. Die wichtigsten Eigenschaften der Kamera-Elektronik

2.1 Standard, Signalsystem (Sync System)

Man versteht unter diesen Begriffen die Fernsehnorm, nach welcher die Kamera arbeitet. Sie muß mit allen nachgeschalteten Geräten übereinstimmen. Für Deutschland gilt **CCIR/ PAL Standard** bzw. CCIR PAL. Diese Norm schreibt bei 25 Bildern pro Sekunde im Zeilensprungverfahren 625 Zeilen, davon 582 mit Bildinhalt, sowie eine spezielle Art der Farbverarbeitung verbindlich vor. Zum Vergleich: NTSC ist der US-amerikanische Standard EIA. Beide Systeme sind untereinander nicht kompatibel.

2.2 Empfindlichkeit (typical Sensitivity)

Diese Angabe bezieht sich auf eine definiert beleuchtete Testvorlage und liefert einen Anhaltspunkt dafür, wieviel Licht die Kamera zum ordnungsgemäßen Arbeiten ohne elektronische Verstärkung benötigt. Die **minimale Beleuchtungsstärke** ist die Lichtmenge, ab der die Kamera Hell und Dunkel und im besten Falle anfängt, Farben zu unterscheiden. Diese Angaben sind für die Mikroskopie praktisch unbrauchbar. Hier wird eine bedeutend hellere Beleuchtung gefordert, als die Datenblätter ausweisen.

Die Schwachlichtverfahren stellen der üblichen Videografie Schwierigkeiten entgegen. Wo eine Farbkamera kaum noch ein Bild liefert, kann eine Schwarzweißkamera immer noch mit Erfolg eingesetzt werden. Der Grund für diese Schwäche der Farbkamera ist darin zu sehen, daß hier ein straffes Ausfiltern des Infrarotanteils des Lichtes notwendig ist und eine farbliche Filterung der CCD-Bildaufnehmer zu deutlichen Lichtverlusten führt.

Eine Begrenzung der Lichtempfindlichkeit ist die Tatsache, daß Videokameras immer in einem festen Zeitraster arbeiten. Hierdurch ist gleichzeitig die Belichtungszeit pro Bild nach oben begrenzt. In Europa ist eine Beleuchtungszeit von $20 \text{ ms} = 1/50$ Sekunde die Obergrenze der standardmäßig erreichbaren Belichtungszeit, das sind 5 Bilder pro Sekunde. Wenn man zur Erhöhung der Empfindlichkeit eine Verlängerung der Belichtungszeit pro Bild erreichen möchte, muß man dafür sorgen, daß am Ende ein normgerechtes Signal zur Verfügung steht. Der einfachste Weg hierzu ist der Einbau eines Bildspeichers in die Kamera. Das Bild aus dem CCD-Sensor wird dann nach der festgelegten Belichtungszeit in den Bildspeicher eingelesen und von dort aus in Normfrequenz dargestellt. Mit einer Kombination aus langzeitbelichtungsfähigem CCD und Bildspeicher könnten beliebig lange Belichtungszeiten realisiert werden, wenn nicht der Dunkelstrom der Technik im Wege sein würde. Dieser Dunkelstrom, auch thermisches Rauschen genannt, wird genauso im CCD gesammelt, wie die durch einfallende Photonen frei werdende Nutzelektronen. Im Falle normaler Belichtungszeiten stört das Dunkelstromsignal nicht, weil es deutlich unterhalb des Rauschens liegt. Erst bei längerer Belichtungszeit macht sich das Dunkelstrombild störend bemerkbar. Dieses Phänomen kann durch Kühlung des Bildaufnehmers beträchtlich verringert werden. Als Kühlelemente werden üblicherweise Peltierelemente verwendet. Ihr begrenzter Wirkungsgrad führt jedoch dazu, daß eine beträchtliche Menge Abwärme entsteht. Es muß also dafür gesorgt werden, daß diese Abwärme aus der Kamera transportiert wird. Das ist mit einer Flüssigkühlung im geschlossenen Kreislauf möglich. Eine Kühlung mit Flüssigstickstoff würde eine Kühlung des CCD auf -180 Grad ermöglichen, was Belichtungszeiten von mehreren Stunden erlaubt. Das ist in der Mikroskopie niemals erforderlich. Kameras mit Peltierkühlung erreichen Temperaturen von unter -25 Grad. Sie ermöglichen Belichtungszeiten von bis zu drei Minuten, doch ist davon auszugehen, daß keine Anwendung in der Mikroskopie längere Belichtungszeiten als 20 Sekunden erfordert. Das ist das tausendfache der normalen Belichtungszeit. Kameras mit Peltierkühlung erlauben die Kombination der Fluoreszenz mit anderen lichtschluckenden Kontrastverfahren und genügen den Anforderungen. Für das menschliche Auge sind Bilder, die mit mehr als 20 Sekunden Beleuchtungszeit aufgenommen sind, kaum noch auswertbar. Es ist auch davon auszugehen, daß nur ein sehr geringer Anteil fluoreszenzmikroskopischer Anwendungen oder andere Schwachlichtverfahren eine effektivere Kühlung des CCD-Sensors erfordern. Als Faustregel mag gelten, daß immer dann, wenn eine normale Videokamera noch die Andeutung eines Bildes liefert, mit einer langzeitbelichtungsfähigen Kamera ohne Kühlung gearbeitet werden kann.

2.3 Verstärkung (Gain)

Das Signal kann elektronisch angehoben werden und ermöglicht auch bei schlechten Lichtverhältnissen brauchbare Bilder. Diese Verstärkung ist aber immer mit einer Verschlechterung des Signals verbunden, weil alle Fehler und das Rauschen (s. nächsten Abschnitt) mit verstärkt werden. Die Signalverstärkung kann manuell in Stufen, kontinuierlich oder mit Hilfe einer automatischen Steuerung AGC erfolgen. Die Maximalverstärkung liegt in der Regel bei $+18 \text{ dB}$.

2.4 Signal-Rausch-Abstand, Störspannungsabstand (S/N)

Hier wird das Verhältnis zwischen der echten Bildinformation und den Effekten angegeben, die während der Bilderzeugung entstehen. Diese Effekte verfälschen das Bild. Als Rauschen bezeichnet man die Unruhen in statischen, homogenen Bildbereichen. Das Maß dB ist das logarithmische Verhältnis zweier Größen, wobei eine Steigerung um 6 dB einer Verdoppelung des Wertes entspricht. Dieser Wert, der ein guter Anhaltspunkt für den direkten Kameravergleich ist, sollte möglichst groß sein und etwa 50 dB oder mehr betragen.

2.5 Weißabgleich (Whitebalance)

Die Kamera ist auf die Farbtemperatur des Arbeitslichtes eingestellt, in der Mikroskopie meist auf 3200 K (Halogen-Kunstlicht) oder 5600 K (Tageslicht). Auch manuelle Regelungen für Rot und Blau werden angewendet (MANU). Viele Kameras besitzen eine automatische Einstellung auf Weiß (AWB). Es gibt aber auch Kameras mit Nachführungsautomatik (ATW). Letztere funktioniert in der Regel nur bei einem sehr hohen Weißanteil und ist für die Mikroskopie ungeeignet.

2.6 Detail/Sharpness-Regelung

Hierbei handelt es sich um die Möglichkeit der elektronischen Kantenanhebung zur Steigerung des Schärfeneindrucks, nicht der tatsächlichen Schärfe des Bildes. Durch Schattenbilder kann die Benutzung dieser Regelung zu Bildverfälschungen führen.

2.7 Shuttergeschwindigkeit, Integrationszeitregulierung

Bei zu hellem Licht oder um Bewegungsunschärfen auszugleichen, entspricht diese Funktion der Belichtungszeitregelung einer Fotokamera. Sie kann manuell in Stufen, aber auch durch eine Regelungsautomatik eingestellt werden, die als CCD-Iris bezeichnet wird. Letztere ist z.B. in der Lage, Helligkeitsunterschiede beim Vergrößerungswechsel automatisch auszugleichen. Die Angabe im Datenblatt 1/125 - 1/10.000 cont. CCD-Iris bedeutet, daß diese Kamera eine stufenlose manuelle Verschlusszeitregulierung von 1/125 bis 1/10.000 Sekunde ermöglicht und eine Regelungsautomatik besitzt.

2.8 Gamma-Umschaltung

Ähnlich der Gradation bei Fotomaterial beeinflußt diese Schaltung das Kontrastverhalten. Die Steilheit der Übertragungsfunktion ist auf 0,45 festgelegt, kann aber bei manchen Kameras auf den Wert 1 umgeschaltet werden.

2.9 Zeilensprung (Interlaced)

Durch dieses Verfahren wird der Flimmereffekt durch Verdoppelung der Zahl der Bildwechsel pro Sek. reduziert. Ein Halbbild besteht aus den ungeradzahligen Zeilen, das andere aus den geradzahligen, = 2x 25 Wechsel der Halbbilder = 50 x Bilderwechsel. Einige Kameras ermöglichen eine Umschaltung, durch die beide Halbbilder

nicht ineinander verschachtelt, sondern aufeinander ausgegeben werden. Die Lichtausbeute wird erhöht (wichtig z.B. für die Fluoreszenzmikroskopie), die vertikale Auflösung jedoch halbiert.

2.10 Autoscan (Multisync)

Einige Kameras haben die Fähigkeit, auch andere Frequenzen (Angabe in Hz) bzw. Signalformen wie VGA Standard aus PC's zu verarbeiten.

2.11 Digitalisierung

Es gibt heute bereits Videokameras mit integriertem digitalen Rechnerinterface. Sämtliche Parameter können vom Rechner aus eingestellt werden und das Bild wird digital in den Hauptspeicher des Rechners eingelesen. Dadurch können hochklassige Bildverarbeitungsaufgaben gelöst werden.

Video, Foto und digitale Bildverarbeitung fließen immer mehr zusammen. Als Beispiel sei die Farbvideokamera CF 20 DX von Kappa genannt. Hier realisiert die Primärdatengewinnung 24 bit reale Farbtiefe bei gleichzeitig hoher Farbstabilität. Durch die in weitem Umfang vom Computer aus einstellbare Belichtungszeitregelung kann die Kamera an extrem unterschiedliche Ausnahme-situationen - bis hin zur völligen Dunkelheit- adaptiert werden. Typische Anwendungen dieser digitalen Kamera liegen im Bereich der Fluoreszenzmikroskopie und digitalen Fotografie.

Für die Archivierung und Weiterverarbeitung steht uns heute eine ganze Reihe von Systemen zur Verfügung. Diese reicht vom normalen Videorecorder über den Still Videorecorder bis hin zur digitalen Speicherung des Bildes in Originalqualität in Bildverarbeitungssystemen. Speziell die Verarbeitungssysteme erlauben nicht nur die Extraktion relevanter Daten, sie können darüberhinaus mit Hilfe moderner Laserbelichter (Laserdrucker) auf Film- oder Overheadfolie in Fotoqualität übertragen werden, wobei der Videoprinter übergangen wird.

Zukunft der Videotechnik und Videomikroskopie

Möglicherweise wird die CCD-Kamera in nächster Zukunft durch die HDRC-Kamera abgelöst (HDRC-Kamera-Chip = High Dynamic Range CMOS). Es gibt bereits eine "Experimental Camera EC", die HDRC2-EC, mit 256 x 128 Pixeln, digitalem und analogem Ausgang (Rechner Schnittstelle). Eine HDRC-Kamera bewältigt extreme Helligkeitsunterschiede, hohe Objektgeschwindigkeiten und unkontrollierbare Beleuchtungsverhältnisse. Eine sichere Bildaufnahme ist auch in reflektierender oder unkontrolliert beleuchteter Umgebung möglich. Eine Störung der Kamera durch Gegenlicht ist nicht möglich. Darüberhinaus ist sie auch im nahen Infrarot empfindlich. Die Kamera wurde am Institut für Mikroelektronik in Stuttgart (IMS) entwickelt.

Leistungsmerkmale des HDRC-Kamera-Chips

Sensortyp	HRRC2
Pixelanzahl	32768
Organisation orthogonales Gitter	256 x 128
Pixel-Pitch in X-/Y-Richtung	symmetrisch 36µm/36µm
Zugriffsarten	wahlfrei/stereo
Füllfaktor	>41 Prozent
Formatdiagonale	10,3 mm
Ausgangskanäle	3
maximale Pixelausleserate	3
Vollbilder/sek	maximal 420
Pixelzugriffszeit	140 ns
Dynamikbereich	1000000 / 1

Die Pixelanzahl wird bei der Weiterentwicklung sicher noch erhöht.

Auch Stereobilder sind in der Videotechnik keine Zukunftsmusik mehr. Die VIDISYS GmbH mit Sitz in Sauerlach hat unter dem Namen "Tristar" ein PC-Overlayboard entwickelt, mit dem sich in einem "Fenster" unter Windows monoskopische und stereoskopische Bewegtbilder unter Beibehaltung des 24-bit Farbraumes darstellen lassen. Die Stereobilder werden als Bildpaare gespeichert. Das Gesamtbild läßt sich auf dem PC-Monitor in flimmerfreier 100 Hz-Technik ohne Zeilensprung wiedergeben.

Literatur:

1. FLORY, L.E.: The Television Microscope.
Cold Spring Harbour Sympos. 16, 505-509 (1951).
2. PARPART, A.K.: Televised microscopy in biological research.
Science 113, 483 - 484 (1951).
3. ALLEN, R.D. et al.: Video enhanced Contrast-Differential Interference Contrast (AVEC-DIC).
Microscopy, Cell Motility 1, 291-302 (1981).
4. ALLEN, R.D. & D.G. WEISS: Mikrotubuli als intrazelluläres Transportsystem.
Spektrum der Wissenschaft April 1987.
5. HÄUSLER, G. & E. KÖRNER: Abbildung mit erweiterter Schärfentiefe. ZEISS-Inform. 29, 9 - 13 (1986).
6. WANG, Y.L. et. al.: Fluorescent Analog Cytochemistry of Contractile Proteins.
Meth. Cell. Biology 25, 1 (1982).
7. GÖKE, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie.
Franckh-Stuttgart 1988.
8. HAUSMANN, K., N. HÜLSMANN u. M. ROMETSCH: Mikro-Videografie
MIKROKOSMOS 77, 371-376 (1988).

9. GÖKE, G.: Videomikroskopie.
MIKROKOSMOS 80, 174 - 181 (1991).
10. BALZER, J. u. E. MATHIAS: Der Camcorder am Mikroskop .
MIKROKOSMOS 85, 23-24 (1996).
11. HEERICH, V. u. P. MORITZ: Videomikroskopie für Fluoreszenz.
LABORPRAXIS Nr. 3 (1993).

Anbieter von Videokameras (unvollständige Liste)

AVT Horn Langertstr. 76 D-73431 Aalen
Kappa Messtechnik GmbH Kleines Feld 6 D-37130 Gleichen
Sony Deutschland GmbH Hugo-Eckener-Str. 20 D-50829 Köln
POXITRONIC Robert-Bosch-Str. 34 D-64625 Bensheim
DALSA GmbH Gutenbergstr. 11 D-82178 Puchheim
Photo Med GmbH Hafenstr. 32 a D-22880 Wedel
Dr. Seitner GmbH Mühlbachstr. 20 D-82229 Seefeld
VDS Vosskühler Weisse Breite 7 D-49084 Osnabrück
Pulnix Europe Ltd Steinbruch 5 D-63755 Alzenau
KSV-Instruments LTD P.O. Box 128 FIN-00381 Helsinki
EEV Ltd Waterhouse Lane, Chelmsford, Essex CM1 2QU, England
NET Vertriebsgesellschaft mbH Hermann-Löns-Str. 19 D-82216 Gern
linden

Auch die Mikroskophersteller und meisten Anbieter von Mikroskopen und Mikroskop-Zubehör sind bei der Beschaffung und Anpassung geeigneter Videokameras behilflich.