

显微图像的计算机采集及其应用*

姜 军

(昆明物理研究所 昆明 650223)

摘 要 显微图像的计算机采集是由显微镜、CCD摄像头、视频采集卡和计算机完成的,它实现了显微图像的计算机采集与管理,最高放大倍数可达1000倍,分辨率可达 $1\mu\text{m}$.该系统可以在科学研究和分析中发挥重要作用.

关键词 显微镜, CCD摄像头, 视频采集, 计算机, 分辨率

A MICRO-IMAGE COMPUTER CAPTURE SYSTEM AND ITS APPLICATIONS

JIANG Jun

(Kunming Institute of Physics, Kunming 650223, China)

Abstract A micro-image computer capture system composed of a microscope, CCD camera, video capture card and computer has been developed. It can perform the computerized capture and management of micro-images, with a maximum magnification of 1000 and resolution of $1\mu\text{m}$. This system may prove very valuable to scientific research and analysis.

Key words microscope, CCD camera, video capture, computer, differentiation

1 前言

随着科学技术的发展,人们对微观世界的探索也在不断发展.但人眼对细微物体的分辨率有限,必须借助显微工具的帮助才能观察到更为精细的微观世界.人眼的分辨率仅为 0.2mm ,光学显微镜的分辨率为 200nm ,而扫描电镜的分辨率则可高达 2nm .尽管扫描电镜具有分辨率高、景深大的优点,但它的设备昂贵,操作复杂,因此在科学研究中应用最广泛的还是光学显微镜.光学显微镜可分为很多种,从功能上来分,有检查显微镜、照相显微镜和电视显微镜等.有了这些设备,人们可以通过照相或录像的办法将肉眼观察到的微观图像进行记录并保存下来.

随着计算机技术的飞速发展,出现了显微镜和计算机相结合的产物,在国外一些大公司生产的新型显微镜上都配有计算机图像处理系统.简单地说,显微图像的计算机采集系统就是将显微镜中观察到的图像用计算机采集下来并进行图像处理.该系统集中了照相显微镜和电视显微镜的优点,实现了对图像的实时采集,并可达到较高的分辨率.此外,它可对采集的图像进行分类管理和检索,查找起来非常方便快捷,还可对图像进行编辑合成、特殊处理

等.通常这类显微镜都非常昂贵,我们利用一套现有的电视显微镜进行改造,组成了一套简单的计算机显微图像采集系统.

2 系统组成及特点

2.1 系统组成及功能

本系统是由下列部件组成:OLYMPUS U-TR30光学显微镜、TeLi CCD摄像头(此两部件为电视显微镜的主要部件)、FLY VIDEO视频采集卡、166MHz主频以上的计算机.

该系统的连接也较简单,如图1所示.先将视频卡插入计算机的插槽内,并安装相应的软件,将CCD摄像头的视频输出连接到视频卡的视频输入接口,连接就算完成了.图像采集的过程如下:被观察的样品经显微镜成像,由CCD摄像头转换为视频信号,再输入到视频采集卡,由计算机采集成图像保存并处理.

本系统的功能是将显微镜中观察到的显微图像存储到计算机中并进行图像处理.本系统功能参数如下:(1)显微镜物镜有三组 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$;(2)

* 2000-10-12收到初稿,2001-01-02修回

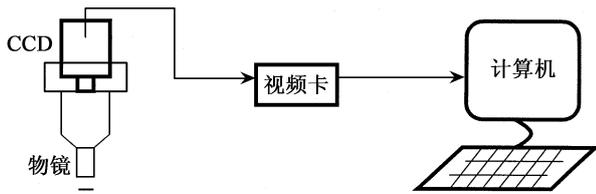


图1 系统连接图

CCD摄像头为 752×576 像素;(3) 视频采集卡的最高分辨率为 640×480 ,也可选择 320×240 、 160×120 等.计算机视频采集卡的分辨率根据配置的不同可达 1024×1024 以上,我们选用的是 640×480 的分辨率,价格相对便宜,色彩可达 24M 真彩色.

2.2 系统的分辨率和放大倍数

决定系统分辨率的因数有:物镜的分辨率、CCD 摄像头的分辨率、视频采集卡的分辨率.

系统的分辨率主要决定于物镜的分辨率,物镜的分辨率由下式给出:

$$d = \frac{\lambda}{2 N.A.}, \quad (1)$$

式中 λ 为入射光的波长, $N.A.$ 为物镜的数值孔径.由(1)式可知,物镜的数值孔径越大,系统的分辨率就越高.以 20 倍物镜为例,它的数值孔径为 0.4,设入射光波长为 $0.55\mu\text{m}$ (黄绿光),则可得物镜的分辨率约为 $0.69\mu\text{m}$.

决定系统放大倍数的因数有:物镜的放大倍数、CCD 摄像系统的放大倍数、视频采集卡的分辨率、计算机图像处理.

经测量,本系统最高放大倍数可达 $1000 \times$ (此放大倍数是通过按 640×480 的实际图形大小打印后计算得到,此外还可在计算机上实现电子变倍).也就是说, $1\mu\text{m}$ 的物体经放大后可达 1mm ,人眼完全

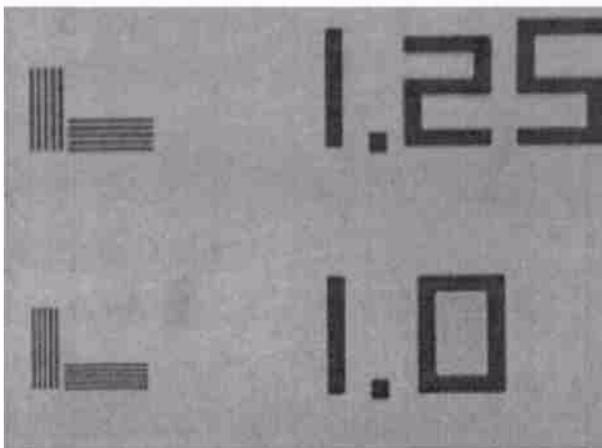


图2 $1\mu\text{m}$ 线宽的图形($20 \times$)

可以分辨,因此系统的分辨率至少可达到 $1\mu\text{m}$.图 2 为 $1\mu\text{m}$ 的线宽图形.

2.3 计算机图像采集系统的优点

(1) 实时采集,所见即所得.不需像照相显微镜一样需要曝光、显影、冲印,且焦距、亮度、对比度等可随时调节;

(2) 分辨率较高,可达 640×480 甚至更高的显示分辨率, $1\mu\text{m}$ 的观察分辨率;

(3) 一般显微镜只能供一人进行观察,该系统可供多人同时观察并进行讨论;

(4) 采集的图像以文件方式存储在硬盘上,可实现对图像的分类管理,检索非常方便;

(5) 可对图像进行编辑合成及特殊处理;

(6) 由于是数字图像,可多次拷贝不变形,或刻录到光盘上永久保存.

3 应用实例

3.1 图像采集

图 3 是选用 $20 \times$ 物镜时从显微镜中观察到的一光盘上密密麻麻的坑点图形,光盘坑点的间距为 $1.6\mu\text{m}$,采集分辨率为 640×480 (本文中的图像均是由 640×480 大小的图像转换而来,由于篇幅所限,图形大小略作调整),图像格式为 *.BMP.

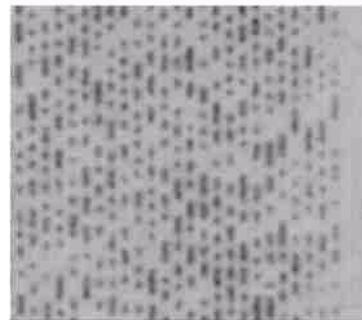


图3 图像采集实例

3.2 电子变倍

该系统可实现电子变倍,可将人眼不能分辨的图形再放大,以观察图形的细节,图 3 的原图坑点太密,观察起来很费力,通过计算机放大处理后就很容易观察到坑点的情况.

3.3 图像编辑与合成

采集到的图像存储于计算机后,可用 Photoshop 等图像编辑软件进行编辑,例如可改变图像大小、任意截取图像、图像合成、加入文字说明(如图 4)、绘图、调节亮度对比度、反转图像、加入特殊效果等.图

像合成在工艺分析中非常有用,将经过不同工艺后的图形合成在一起进行对比,分析起来就非常直观.

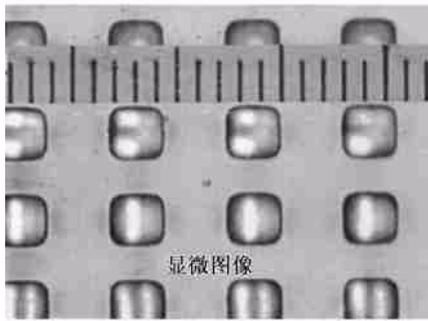


图4 图像合成.文字说明

3.4 小线宽测量

小线宽测量是图像合成的一个应用,其原理是将标尺和要测量的图形分别记录下来,再将两个图形合为一个图形(见图4),即可由图中粗略测出图形的线宽,而且非常直观.如果要精确测量图形的线宽,必须先定标.图4水平方向上有640个像素,标尺的最小刻度为 $10\mu\text{m}$,利用计算机可测出 $100\mu\text{m}$ 共包含有310个像素,设要测量的图形包括 N 个像素,则图形的长度为 $(N \times 100) / 310 = N / 3.1$.例如测出小孔的长度为83个像素,通过计算可得到小孔的尺寸为 $83 / 3.1 = 26.77\mu\text{m}$.一般的测距显微镜精度只能达到 $10\mu\text{m}$,而本系统在放大倍数为 $1000 \times$ 时,通过多次测量取平均值,测量精度可达 $\pm 1\mu\text{m}$.

3.5 大景深对准

本系统还可应用到一些特殊的场合,如光刻时的大景深对准.一般光刻对准时,上下图形的距离在 $20\mu\text{m}$ 左右,这样既可同时看清上下两个图形又可方便地进行对准.但当对准距离大于 $20\mu\text{m}$ (如 $100\mu\text{m}$)时,一般的显微镜由于景深小就无法同时看清上下两个图形,给对准带来困难.利用该套系统实现大景深的对准的原理如下:先将两个平面找平,再将显微镜的焦距对准上表面,记录下一个图像,然后调焦使下表面清晰,接着将两个图像重叠,通过软件处理使上面的图像“透明”,以便同时观察上下两个图形.保持上表面不动,移动下表面的图形来和上表面进行对准,对准后的图形如图5所示.

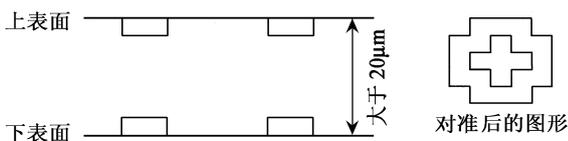


图5 大景深对准

大景深对准实例如图6所示.图6中(a),(b)图是当掩模版和样品相距 $100\mu\text{m}$ 时的图形.可以看到,当聚焦在掩模版上时,十字图形很清楚,但看不到下面的图形;当聚焦在样品上时,掩模版的图形又变得模糊.通过软件处理后,将两个图形在计算机上合成得到图6(c),可以很清楚地看到两个图形的对准情况.

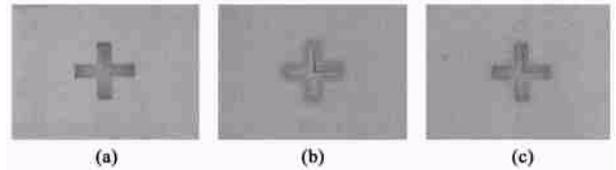


图6 大景深对准实例

3.6 短时间的活动图像记录

该系统还可实现短时间(几分钟)的活动图像记录,且可达30帧/s的采集速度,画面平滑连贯.它可观察微观物体的变化情况,如果是固定样品,只需缓慢移动显微镜或载物台,就可观察整个样品表面的情况.活动图像存储的格式为*.AVI,但占用硬盘空间较大,录好后可配上解说及背景音乐等.利用一些软件压缩工具,还可将活动图像压缩成MPEG-I格式,制作成VCD.

4 结束语

光学显微镜是应用非常广泛的一种工具,将它与计算机图形处理技术相结合,可以使它的功能大大增强,并广泛适用于科研生产的各个领域.本系统总的说来结构不太复杂,价格也相对便宜,是一种很好的观察分析工具.

致谢 在本系统的构建和本文写作过程中,得到我所蔡毅老师和庄继胜老师的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

参 考 文 献

- [1] 孙业英.光学显微分析.北京:清华大学出版社,1997[Sun Y Y. Micrologic Analysis of Optics. Beijing: Tsinghua Univ. Press, 1997(in Chinese)]
- [2] 杨自本等.小尺寸测量.北京:中国计量出版社,1997[Yang Z B et al. The Measurement of Micro Dimension. Beijing: The China Metrology Press, 1997(in Chinese)]
- [3] 吴乐南等.多媒体及其相关技术的原理及应用.南京:东南大学出版社,1996[Wu L N et al. The Principle and Application of Multimedia Technology. Nanjing: Dong Nan Univ. Press, 1996(in Chinese)]