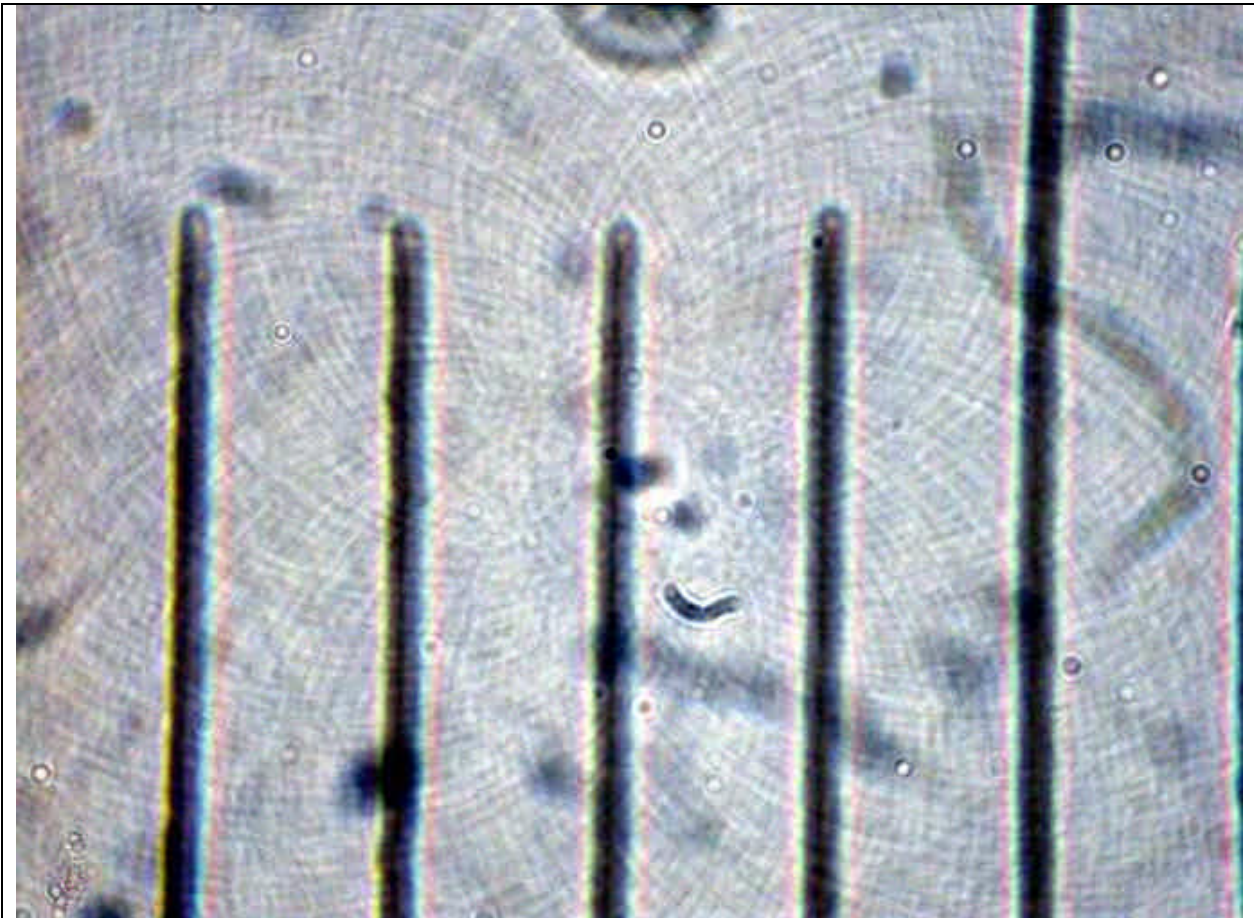


Methode zur völligen Vermeidung von Ringartefakten unter Ölimmersion (100x-Objektiv) bei Coolpix 4500 mittels Beschränkung auf die kleinstmögliche Brennweite (Zoom-Stellung auf maximaler Weitwinkel)

H.-O. Baral, Nov. 2004

Über das Thema der Ringartefakte bei Consumer-Kameras besonders der Coolpix-Reihe ist in Foren schon sehr viel geschrieben worden (*Ref. 1-2*). Schon mancher glaubte, durch spezielle Fokus- und Zoomoptionen sowie Mikroskopeinstellungen die Ringe unterdrücken zu können. Spätestens wenn man den Kontrast der Fotos erhöht, wurden die störenden Ringe dann aber oft doch sichtbar.



Ringartefakte der Coolpix 4500, Objektiv 100x, Okular 10x, Brennweite 32 mm (= maximaler Zoom), Kontrast stark erhöht, Aperturblende des Kondensors recht stark zugekehrt. Die scharf abgebildete Fussel rechts unterhalb der Mitte befindet sich in der Kameraoptik. Abstand zweier Striche = 10 μm . Dieses Rosettenmuster ist für die 4500 typisch, andere Modelle machen konzentrische Ringe.

Die hier vorgestellte Methode ist eigentlich längstens bekannt (*Ref. 4-6*), wird aber möglicherweise bislang nur von wenigen genutzt. Sie benützt die Einstellung „maximaler Weitwinkel“ (max. WW = minimaler Zoom, Brennweite bei Coolpix 4500: 7,85 mm, bei Coolpix 990: 8,2 mm, die Brennweiten können in den „Meta-Daten“ zu jedem Bild eingesehen werden) neben den ohnehin empfohlenen Parametern „Unendlich“ und „ganz geöffnete Blende“. Hiermit gelingt es, selbst bei Ölimmersion (1000x) ringfreie, scharfe Mikrofotos mit der Coolpix 4500 zu machen. Ich muss aber betonen, dass ich das Untenstehende nur für diese Kamera intensiv getestet habe, und dass es möglicherweise nicht bei jedem Exemplar gleich gut funktioniert. Andererseits zeigt mein Exemplar besonders starke Ringartefakte, und vorläufige Tests mit einer 990 und einer 995 zeigen, dass es auch

bei diesen Fabrikaten funktioniert. Außerdem gibt es offensichtlich Serien der Coolpix 4500, die diese Ringartefakte nur sehr schwach zeigen.

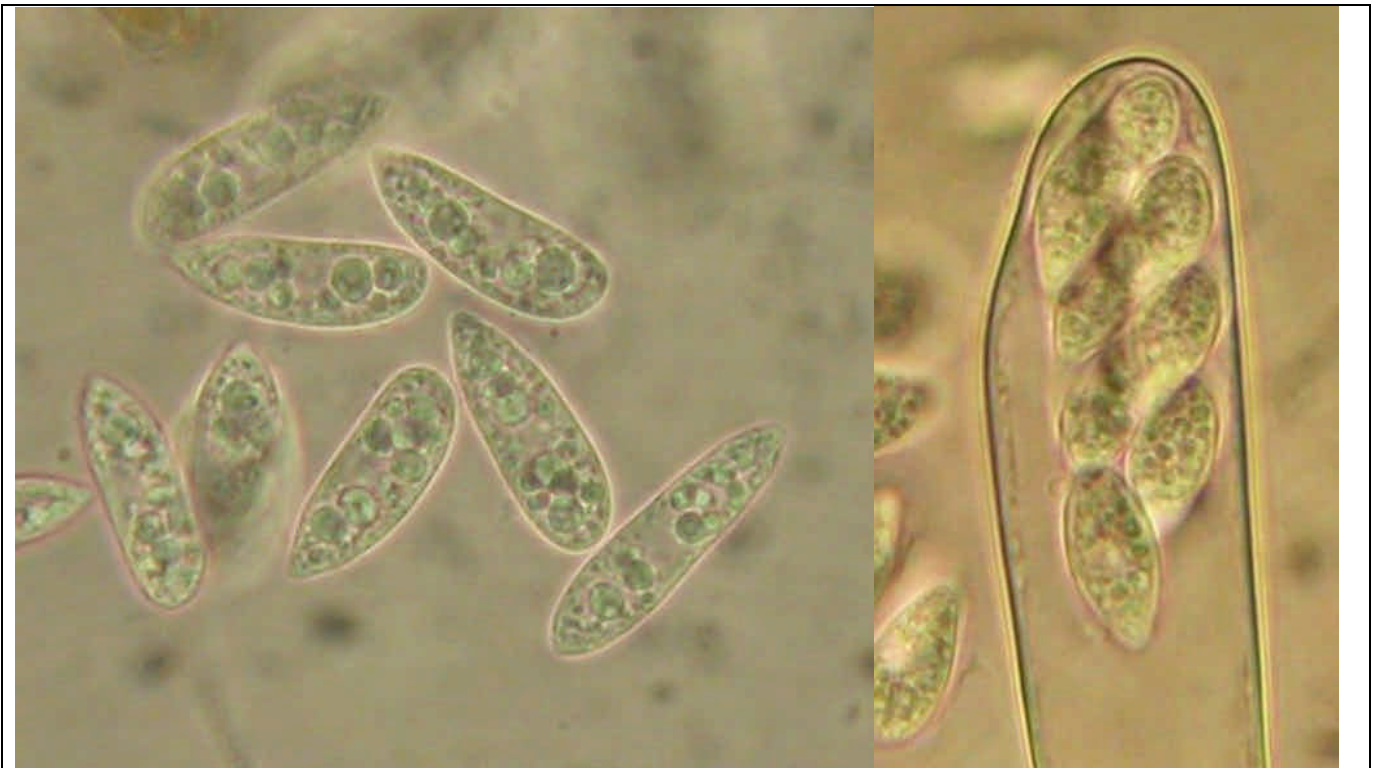
Bereits K. Henkel (Ref. 3) wies etwas versteckt auf diese Erkenntnis hin, ohne aber auf die praktischen Konsequenzen näher einzugehen: „Viele Anwender haben beobachtet, daß bei Einstellung des Coolpix-Objektivs auf $f = 8,2$ mm, Entfernung Unendlich und Blende $f:2,6$ die Artefakte nahezu verschwinden.“ An dieser Stelle sei gleich angemerkt, dass meine Versuche gezeigt haben, dass es bei der Coolpix 4500 vorteilhaft ist, den manuellen Fokus auf Makro statt Unendlich zu stellen (siehe unten).

Sicher werden Mikrofotos besser, je weniger Linsensysteme sich im Strahlengang befinden, wenn man also ganz auf Okular und Kameraobjektiv verzichtet und zum Beispiel eine Spiegelreflex-Kamera benützt. Doch bietet die hier geschilderte Methode den Coolpix-4500-Geschädigten wenigstens die Möglichkeit, mit ihrer Kamera doch noch brauchbare Fotos zu machen.

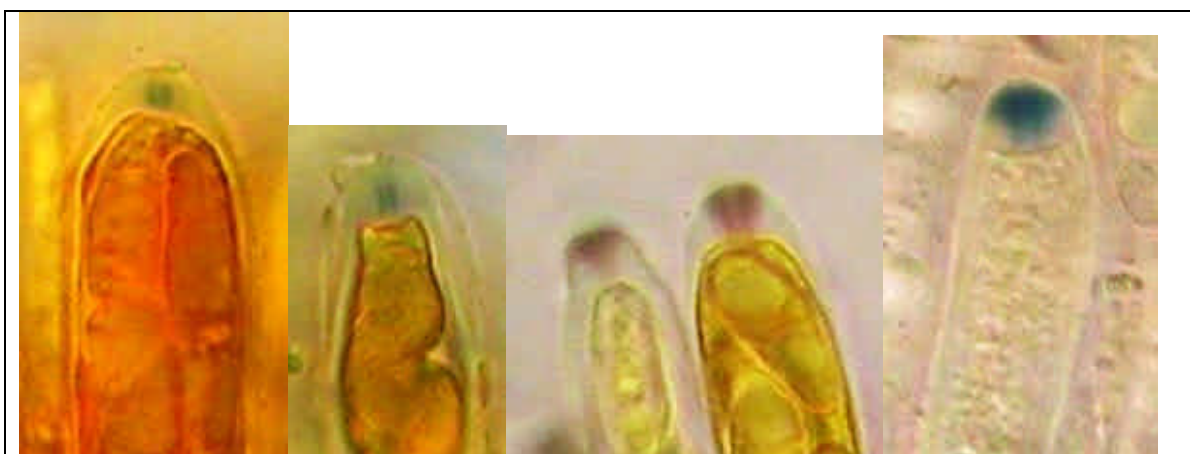
Die folgenden drei Bilder sind bei Ölimmersion gemacht (100x Objektiv, 10x Okular), bei höchster Kameraauflösung (4 Megapixel). Die Bilder wurden nachträglich sehr stark am Rand beschnitten. Außerdem wurden sie im Kontrast übermäßig stark erhöht, um die Ringe deutlicher zu machen. Das linke Bild (max. WW) ist in der Auflösung nicht verändert worden, die beiden anderen wurden auf 60% bzw. 40% verkleinert (resized), um in der Größe mit dem linken Bild in etwa übereinzustimmen.



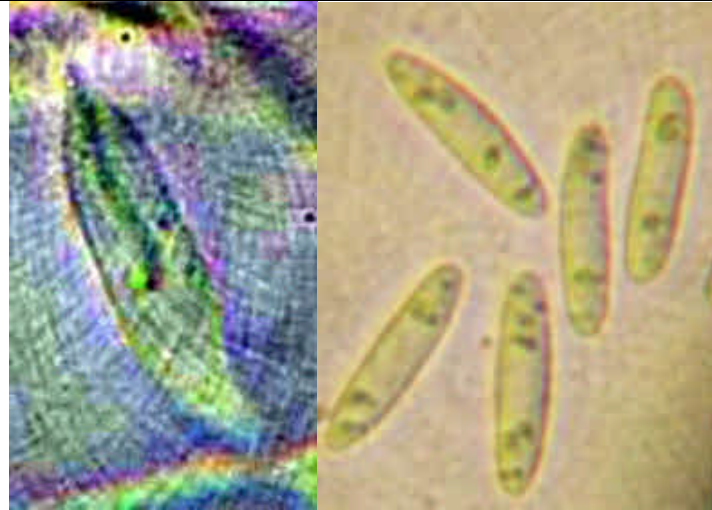
Hier noch zwei weitere Beispielfotos von lebenden Zellen, ebenfalls 1000x Ölimmersion, max. WW, Kontrast nur wenig erhöht. Es sind keine Ringartefakte zu sehen. Größe der Sporen links: 17-25 x 5.8-6.7 μm , die winzigen Öltropfen in den Sporen messen etwa 0,1-0,3 μm , die großen etwa 1-3 μm .



Die nächsten 4 Fotos sollen illustrieren, dass die Methode durchaus auch Details auf ultrastruktureller Ebene abbildet. Die Amyloidringe der toten Asci (als schwarzblaue bzw. violettrote Striche zu sehen) messen bei den beiden linken Fotos etwa 1,5-2 x 1-1,5 μm , die Wanddicke dieser Ringe etwa 0,2-0,4 μm . Der Kontrast der Fotos wurde nachträglich deutlich erhöht.



Hier noch zwei Beispiele, wie Fotos bei mittlerem bis hohem Zoom mit meiner Coolpix 4500 werden:



Starke Ringartefakte bei hohem (links) und mittlerem Zoom (100x-Objektiv). Kontrast links extrem, rechts mäßig erhöht, Auflösung der Kamera bei 1024 x 768 Pixel.

Zur Methode: Es wurde von verschiedener Seite zwar schon immer darauf hingewiesen, dass mit dem Zurücknehmen des Zooms die Ringe schwächer werden (gemeint waren besonders die Modelle 990 und 995), jedoch bezog sich diese Aussage oft mehr darauf, den Telebereich zu meiden. Die Ringe der (zumindest meiner) Coolpix 4500 lassen sich jedoch bei Ölimmersion einzig dadurch völlig vermeiden, dass man den Zoom ganz auf Weitwinkel stellt. Die dabei auftretende starke Vignettierung muss in Kauf genommen

werden. Das ist aber halb so

schlimm, wenn man höchste Auflösung (4 Megapixel) wählt und nachher die gewünschten Teile ausschneidet. Bei dieser Zoomeinstellung (max. WW) werden mit dem 100x-Objektiv die Details in gerade noch genügender Auflösung dargestellt, und zwar so, dass noch keine oder wenig Unschärfe durch unnötige Vergrößerung entsteht. Man sieht dann Strukturen bzw. Wandstärken von etwa 0,2-0,3 µm Durchmesser fast so gut wie beim Betrachten durch die Okulare. Bei mittlerem Zoom würde hingegen die große Auflösung von 4 Megapixel bereits zu sehr unscharfen, weil unnötig großen Bildern führen.



Kameraeinstellung für ringfreie Mikrofotografie: 1. Max. WW. 2. Manuell auf max. Makro (rot). 3. Zeitautomatik (A). 4. Blende 2,6. 5. Auflösung 2272 x 1704 Pixel.

Die so gemachten Fotos vertragen in der Nachbearbeitung problemlos eine deutliche Kontrasterhöhung, und das, obwohl die 4500 meines Wissens die stärksten Artefakte (überkreuzte Ringe) der Coolpix-Serie produziert. Für Aufnahmen mit dem 40x-Objektiv (teilweise selbst beim 100er) kann sogar ein automatischer Weißabgleich mit starker Kontrasterhöhung angewendet werden und ergibt gute Resultate. Ein weiterer Vorteil ist, dass in der Optik der Kamera befindliche Verunreinigungen weit weniger sichtbar werden. So ist eine in meiner Kamera bei starkem Hereinzoomen am 40x- und 100x-Objektiv sehr störende, ziemlich scharf abgebildete Fussel bei max.

WW nur noch sehr unscharf zu sehen.

Verwendet habe ich ein Zeiss Standard-14-Mikroskop ohne Fototubus, mit 100x Phasenkontrast-Objektiv (Achromat) und 10x Brillenträger-Weitfeldokular (CPL W) mit 18 mm Gesichtsfeld (beides von Zeiss), Kondensator mit numerischer Apertur 0,9. Zum Beobachten und Zeichnen am Mikroskop verwende ich hingegen 15x-Euromex-Okulare.

Voraussetzungen zum Gelingen:

- Zoom ganz wegnehmen (maximaler Weitwinkel = „auszoomen“)
- Fokus auf max. Makro und zwar auf Manuell, nicht auf Automatik (kann auch irgendwo stehen, z.B. auf Unendlich, siehe aber unten)
- Belichtungsautomatik auf A (Zeitautomatik)

- Kamerablende ganz öffnen (Blende 2,6)
- Aperturblende (am Kondensator) geringfügig schließen (beim 40x-Objektiv mehr; günstig sind besonders beim 10x-Objektiv auf die Mikroskopleuchte gelegte Graufilter, zur Vermeidung von Überstrahlung)
- Kamera so nah wie möglich ans Okular (Abstand zwischen Frontglas und Okularlinse höchstens 3-4 mm)
- Keine feste Adaption nötig (bei Hellfeld), da Belichtungszeiten 1/60 – 1/250
- Keine zusätzlich vergrößernden Optiken oder Tubusverlängerungen am Mikroskop verwenden
- Eventuell abgebildete Fusseln im Bereich der Leuchtfeldblende durch geringfügige Höhenverstellung des Kondensators entfernen (auf exaktes Köhlern muss gegebenenfalls verzichtet werden)
- Beim 40x-Objektiv kann zuweilen der untere Zoombereich ausgenutzt werden, ohne dass Ringe abgebildet werden. Beim 10x-Objektiv kann bis über die Mitte eingezoomt werden
- Wegen der schlechten Qualität des Vorschaubilds mehrere Fotos bei geringfügig veränderter Mikroskop-Fokussierung (Feintrieb) machen, nachher die gelungenen scharfen Bilder aussortieren
- Ein Weißabgleich der Kamera auf den Hintergrund (vor dem Fotografieren) wurde in diesen Beispielen nicht gemacht, ist aber empfehlenswert

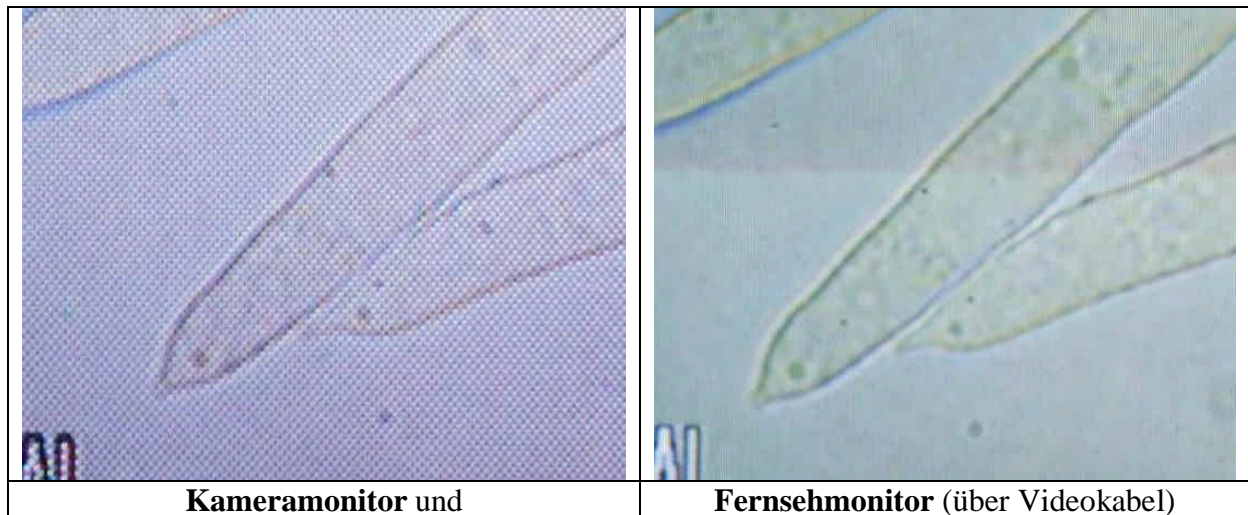


So sieht der Kameramonitor beim Fotografieren bei max. WW aus. Die Auflösung ist tatsächlich nochmals etwa um die Hälfte schlechter als auf diesem Bild, das Erwischen der gewünschten Fokusebene folglich bei kleinen Objekten reine Glücksache.

Der große **Nachteil** der Methode liegt darin, dass man wenig Kontrolle darüber hat, was man fotografiert (besonders bei kleineren Objekten), weil der Kamerabildschirm für diese Methode viel zu wenig Auflösung bietet (auch wenn man eine Lupenbrille aufsetzt, was sehr zu empfehlen ist). Ein Livebild mit hoher Auflösung auf einem Computer-Monitor ist bei den Coolpix-Kameras leider nicht möglich. Jedoch ist es möglich, ein Livebild über das Videokabel auf einen Fernsehmonitor zu schicken. Dieser bietet wesentlich mehr Auflösung als der Kameramonitor (etwa 10 mal so

viele Pixel), sodass diese Methode, wenn auch etwas umständlich, sehr zu empfehlen ist.

Livebild bei Coolpix 995 (G. Marson), Mittlerer Zoom, Vergleich der Auflösung zwischen



Der Nachteil der sehr bescheidenen Bildkontrolle auf dem Kameramonitor vor dem Auslösen dürfte der Grund sein, warum nur wenige den max. WW am Mikroskop ausprobiert bzw. für praktikabel befunden haben. Man kann zwar die Scharfstellung vornehmen, indem man vorübergehend stark hereinzoomt, um anschließend bei ganz zurückgenommenem Zoom auszulösen. Hierbei muss die Blende allerdings wieder auf 2,6 gestellt werden, da sie sich beim Heranzoomen auf Werte um 3-5 stellt, was eine stark erhöhte Vignettierung zur Folge hat. Umgehen lässt sich letzterer Umstand durch die Stellung M (alle Parameter manuell), nur muss dann die Belichtungszeit frei gewählt werden. Außerdem führt diese Methode beim Fotografieren ohne feste Adaption nicht zwangsläufig zu scharfen Bildern, weil sich der wechselnde Druck der Kamera aufs Okular bereits auf die Fokussierung auswirkt.

Lösen ließe sich das Problem der Fokussierung durch Parfokalität. Wenn man nämlich durchs Okular blickend ein Objekt am Mikroskop scharfstellt, dann ist es nicht automatisch auch in der Kamera scharf, wenn diese auf unendlich steht. Wahrscheinlich muss man am Feintrieb des Mikroskops etwas nachregulieren (bei mir sind es im Uhrzeigersinn etwa 1,5 Striche). Da winzige Strukturen schon beim Drehen um etwa 0,1-0,2 Striche unscharf werden können, ist es bei solch dünnen Objekten unumgänglich, eine Serie von Fotos zu machen. Man kann jedoch diesen Wert auf etwa 0,5 Striche reduzieren, indem der Kamera-Fokus manuell ganz auf Makro statt auf unendlich gestellt wird. Fotografiert man durch einen Fototubus, so kann dieser und der Okulareinblick parfokal eingestellt werden durch Veränderung der Länge des Fototubus. Beim Fotografieren durch einen der beiden Okulartuben ist das schon umständlicher: Man kann durch leichtes Herausziehen der Okulare und Einlegen von Plastikringen als Arretierung eine Parfokalität erzeugen, muss aber beim normalen Mikroskopieren die Plastikringe jedesmal wieder herausnehmen. Da ich es gewohnt bin, mit 15x-Okularen zu mikroskopieren, muss ich stets ein Okular wechseln, um fotografieren zu können.

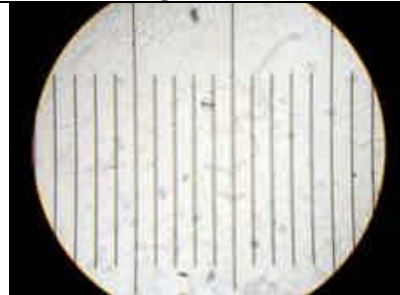
Wenn man beim 100x-Objektiv auch nur ein klein wenig heranzoomt (weit unterhalb des mittleren Zoombereichs), können auch schon die ersten Anzeichen von Ringen auf den Bildern erscheinen, kleine Objekte sind aber immer noch sehr schlecht auf dem Livebild des Kameramonitors zu sehen. Ebenso erhalte ich schwache Ringartefakte, wenn ich bei max. WW oder wenig darüber durch ein 15x-Okular fotografiere (bei 100x-Objektiv). Damit handelt man sich zudem eine unerträglich hohe Vignettierung ein.

Wenn man vom max. WW ein wenig hereinzoomt, vergrößert sich die Vignettierung bei der Coolpix 4500 zunächst überraschenderweise (bei der 990 und 995 anscheinend nicht): Das

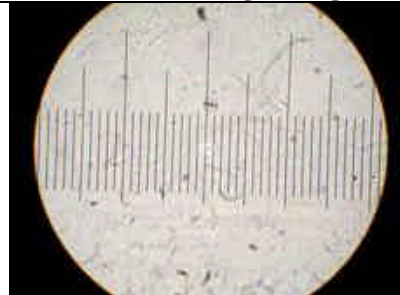
Blickfeld wird also noch kleiner, auch wenn die Kamerablende auf 2,6 gehalten wird! Dieser unerwünschte Effekt kann nur von einer kamerainternen Blende herrühren oder von der Verschiebung von Linsen der Kameraoptik. Vermieden werden kann diese Verengung des Blickfelds nur dadurch, dass man den Fokus auf Makro stellt (entweder ganz: Balken wird rot, oder etwas darüber: Balken weiß). Dann verengt sich die Blende nur vorübergehend. Bei mittlerem Fokus oder Unendlich („Berge“) bleibt die Blickfeldverengung beim Auslösen bestehen. Im Film-Modus ist der Effekt übrigens nicht zu beobachten.

Die Zoomstellung, bei welcher die Ringartefakte bei Objekten mit viel hellem Hintergrund gerade noch nicht auftreten, ist nur ungenau feststellbar und hängt von verschiedenen, schwer fassbaren Parametern ab. Beim 100x-Objektiv traten sie je nach Objekt oder Aperturblichenstellung einmal erst bei Brennweite 11,1 mm auf, ein andermal schon bei Brennweite 9,5 mm. Beim 40x-Objektiv traten sie einmal schon bei 9,5 mm auf, ein andermal erst bei 16,7 mm, also gerade dann, wenn die Vignettierung verschwindet. Beim 10x-Objektiv traten die Ringartefakte etwa ab Brennweite 21,8 mm auf, zuweilen auch erst bei maximalem Zoom (32 mm).

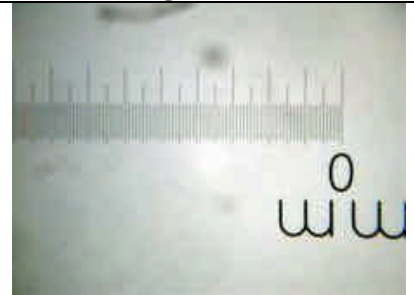
Zoomstellung bei welcher nach starker Kontrasterhöhung meist gerade noch keine Ringartefakte auftreten.



100x-Objektiv, Brennweite 9,5



40x-Objektiv, Brennweite 9,5



10x-Objektiv, Brennweite 18,7



Fotografieren freihand durch ein 10x-Zeiss-Okular (im linken Tubus ein 15x-Euromex-Okular).

Die Kamera halte ich freihand direkt ans Okular, ohne feste Adaption. Dies ist möglich, da das Gewinde der Kameraöffnung gerade so auf den Plastikrand des Zeiss-Okulars passt. Das Frontglas der Kamera kann dabei nie berührt werden. Die Kamera ist somit genau zentriert, kann jedoch verkantet werden, was aber auf dem Monitor sofort zu sehen ist und in geringem Maß sogar erwünscht sein kann. Wichtig ist, so nahe wie möglich ans Okular zu kommen, um eine noch größere Vignettierung zu vermeiden. In dieser Hinsicht ist das von mir nicht getestete Leitz-Okular (#

519750) mit passendem Gewinde offenbar besser geeignet. Was das Verwackeln angeht, hat sich die Verschlusszeit durch die Methode stark verkürzt: Vergleicht man die Bedingungen bei Ölimmersion (Hellfeld), so betrug die Verschlusszeit bei mittlerem Zoom 1/8 oder 1/16, während sie bei max. WW jetzt konstant zwischen 1/60 oder 1/250 liegt. Selbst bewegte

Bilder (z.B. langsam schwimmende Sporen) können deshalb problemlos scharf abgebildet werden.

Seit mir gute Bilder gelingen, entdecke ich in meinen Bildern überall Verunreinigungen, vermutlich, weil die starken Ringartefakte vorher alles verdeckten. Gegen Fusseln am Okular half die Fokuseinstellung Manuell, weil zumindest bei gleichzeitiger Verwendung von Automatik und „Blume“ (= Makro) die Kamera gerne auf die Fusseln im Okular scharfstellt. Gegen solche auf dem Frontglas der Leuchte half das Vermeiden einer ungünstigen Kondensorposition (eventuell ein wenig aus der exakten Köhlerschen Position herausdrehen, Stellung testen mit Haar o.ä. auf dem Frontglas). Man muss also vieles beachten, dann sind aber wirklich scharfe, ringfreie Bilder möglich. Die Fusseln bzw. Wischspuren im Okular und auf der Leuchte sind allerdings immer noch leicht störend wenn auch unscharf. Will man Fusseln im Okular entfernen, ist besonders bei Plastikokularen größte Vorsicht geboten. Offenbar können Kräfte beim Zudrehen Spannungen in der Frontlinse erzeugen, die zum Abplatzen kleiner Glasstücke aus der Mitte der Linse führen (siehe voriges Bild, etwas rechts unterhalb der Mitte).

Guy Marson hat auf der Photokina in Köln einige Kameras auf Ringe getestet. Er hat gefunden, dass die Canon Powershot A-95 auch Ringe macht, und das sogar bei max. WW! Im mittleren Zoombereich war das Ergebnis etwas besser aber keineswegs ringfrei, im Telebereich war es wieder schlechter. Die A-75, A-80 und A-85 hat er nicht getestet. Bei meinen Tests mit der A-75 und A-85 stellte ich bei jeder Zoomposition keine Ringe fest, in Übereinstimmung mit Herrn Rainer Mehnert (Fa. Zeiss), jedoch waren die Testbilder etwas körnig. Gut geeignet für die Mikrofotografie scheint auch die Pentax Optio 750 Z zu sein (fast ringfrei auch bei max. Zoom, G. Marson), bedarf aber noch der Prüfung auf Praktikabilität.

Das Phänomen der Ringe ist offenbar auf den Herstellungsprozess der Plastiklinsen im Kameraobjektiv zurückzuführen. Bei Vorschalten eines Linsensystems erhöht sich mit der Gesamtvergrößerung die Tiefenschärfe kameraintern, während sie auf Objektseite bekannterweise immer kleiner wird. Mit zunehmender Tiefenschärfe in der Kamera (Lichtstrahlen fallen immer mehr parallel durch die Linsen) werden Strukturen auf oder in der Linse immer schärfer mit abgebildet. Deshalb erhöht sich zumindest theoretisch die Sichtbarkeit der Ringartefakte mit der Gesamtvergrößerung. Allerdings beginnen die Ringartefakte bei der Coolpix 4500 je nach Vergrößerung des Mikroskopobjektivs bei sehr verschiedenen Gesamtvergrößerungen sichtbar zu werden.

Für ungezählte Diskussionen, wertvolle Anregungen und Hilfestellungen danke ich Thomas Harbich und Guy Marson. Jegliche Richtigstellungen sowie Hinweise auf eigene Erfahrungen zu diesem Thema sind sehr willkommen.

H.-O. Baral,
Blaihofstr. 42
D-72074 Tübingen
zotto [AT] t - online . de

Ref. 1-2:

<http://f25.parsimony.net/forum62175/messages/5561.htm>: Rezept von P. Bündgens

1. Menü: Fokus Optionen: Autofokus Betriebsart: Serien Autofokus einstellen

2. Den Kondensator auf die Höhe einstellen, bei welchem das Bild im Coolpixmonitor am Hellsten erscheint. (Sehr wichtig). Dadurch wird vermutlich der Austrittswinkel des reellen Bildes Coolpixseitig verkleinert

3. Kamera auf Makro stellen (Blume), einzoomen bis die Blume in gelb erscheint. Wenn das Zoom zu hoch eingestellt wird sieht man die leidigen Ringe wieder

4. Im Mikroskop Präparat scharf stellen

5. Mit der Kamera 1. Druckpunkt des Auslöseknopfes suchen. Die Kamera zoomt in die Schärfenebene. Das Bild im Monitor bewegt sich weiter weg und kommt wieder näher ran. Der Auslöseknopf der Kamera loslassen und erneut 1. Druckpunkt suchen. Mit dem Scharfeinstellungsvorgang der Kamera gleichzeitig mit dem Feintrieb des Mikroskopes das Bild auf "weitesten weg" scharfstellen. In dieser Position projiziert die Kameraoptik die Ringe nicht. Den Auslöseknopf durchdrücken.

<http://f25.parsimony.net/forum62175/messages/4142.htm>: Lange Diskussion über Ringvermeidung

Ref. 3-6:

K. Henkel (18. November 2003). Bericht über die Untersuchung von Artefakten in Mikrofotografien verursacht von den Nikon-Digitalkameras der Modelle Coolpix 990, 995 und 4500 (Homepage der Mikrobiologischen Vereinigung München, <http://www.mikroskopie-muenchen.de/>)

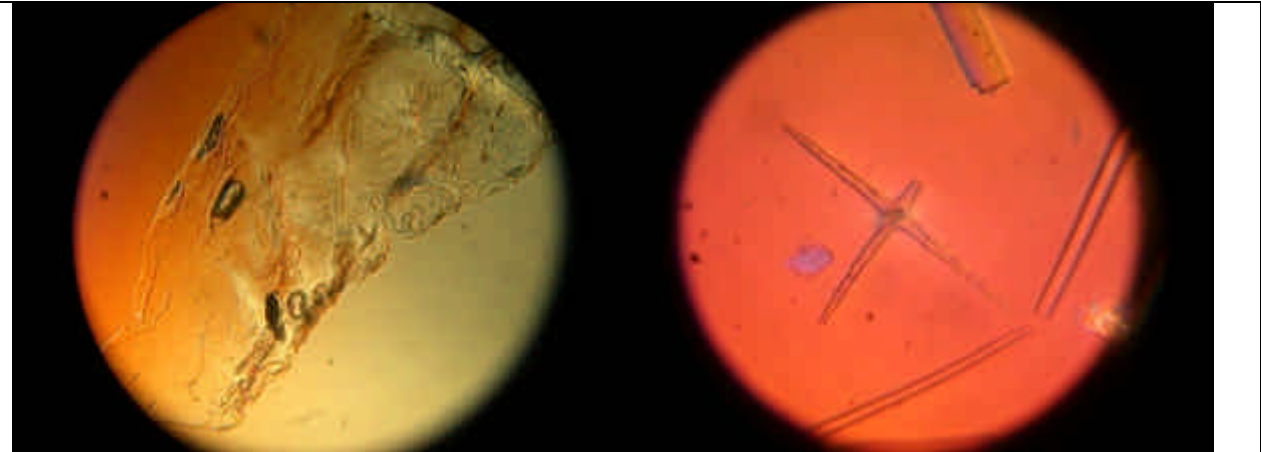
<http://www.usenet.com/newsgroups/sci.techniques.microscopy/msg00417.html>, Henkel

My investigations come to the same practical conclusions yours do. I feel that by using the shortest focal length and maximum aperture my CoolPix 995 has no artifacts I can find using 0.9 n.a. Koehler illumination with a Nachet 60x 1.0 DIC objective. This is the most critical setup I have.

Ted Clark has had similar results on Zeiss and Olympus optics. I have not tried full oil immersion over 0.9 n.a. Ted is able to fill the frame with no artifacts with a Olympus 8X WHK eyepiece and a high eyepoint 10x Zeiss Kpl 20 mm FN eyepiece

<http://www.couger.com/microscope/shootout/shootout.html>, Brian Olson und Gordon Couger:

They can be eliminated by setting the focal length to 8.2mm with f2.6 aperture and focused at infinity. This wastes a good deal of resolution but there seem to be no artifacts that show up at these setting on my scopes. Here is an unenhanced full frame example of some skin cells scraped from my foot and mounted in immersion oil taken with a 40x .65 objective with Mark Simmons's eyepiece adapter on a Nachet 300 in DIC mode. Using the best illumination I could set up. The brown spots are athletes foot fungus. This is the best image I in regards to artifacts that I have been able to get to date. The second picture is a diatom. Neither has any hint of artifacts that I can find. There are a some spots of dirt on the condenser common to both images. The Nachet has no diffusion in the Koehler light system and show every flay in the lighting system. That is one of the reasons I use it in these tests. June 16, 2003



<http://www.usenet.com/newsgroups/sci.techniques.microscopy/msg00391.html>: „Final Report“ von Gordon Couger:

„I feel that by using the shortest focal length and maximum aperture my CoolPix 995 has no artifacts.“