

DESARROLLO DE UN SISTEMA PARA LA DIGITALIZACION DE IMAGENES EN MICROSCOPIA OPTICA Y ELECTRONICA

Francisco Caleyo, Francisco Cruz y Ernesto Estevez, Laboratorio de Análisis Estructural, Facultad de Física-IMRE, Universidad de La Habana.

RESUMEN

Se describe el desarrollo de un sistema para la digitalización de imágenes en microscopía óptica y electrónica. El sistema cuenta de: (i) una tarjeta interfase, para microcomputadoras IBM xt/AT (o compatibles), destinada a la adquisición de las imágenes generadas en microscopios electrónicos de barrido (SEMs), de transmisión (TEMs) y ópticos (en los dos últimos casos cuando incorporan fuentes de video convencionales); (ii) un programa encargado del manejo de la tarjeta interfase durante la digitalización, así como del almacenamiento y tratamiento de las imágenes capturadas. Se presentan algunos resultados y aplicaciones del sistema destinadas a la incorporación de las Técnicas de Procesamiento Digital de Imágenes (TPDI) en microscopios que no cuentan con las mismas de forma integrada.

ABSTRACT

This paper describes the development of a system for image digitization in electron and optical microscopy. The system consists of: (i) an interfase board for IBM XT/AT (or compatible) PC that provides the necessary hardware for the digitization of images generated in scanning (SEM), transmission (TEM) and optical microscopes; (ii) a software driver that handles the interfase during image digitization, likewise the storage and processing of acquired images. Some results and applications of this system that make possible the appliance of Digital Image Processing Techniques in non computerized microscopes are presented.

1. INTRODUCCION

El uso de las TPDI en el campo de la microscopía óptica y electrónica adquirió un impulso significativo en la pasada década [1-3]. Esto trajo como resultado la incorporación de estas técnicas en los microscopios de última generación de forma integrada, lo que multiplicó sus potencialidades y campos de aplicación considerablemente. El sistema que se describe, el cual se ha denominado MIDS (Microscopic Images Digitizer System), ha sido diseñado con el objetivo de extender el uso de las TPDI a microscopios de generaciones anteriores que no cuentan con estas técnicas a través de su conexión, con ayuda de una tarjeta interfase, a una microcomputadora personal que controla el proceso de digitalización y el tratamiento de las imágenes. Por su diseño modular, desde el punto de vista electrónico y de programación, este sistema puede ser utilizado, con mínimas modificaciones, en una gama extensa de SEMs, (posiblemente todos los instalados en el país), también en TEMs y microscopios ópticos que

incorporen fuentes de video convencionales con norma NTSC o CCIR para televisión monocromática [4,5]. Las secciones que siguen describen las características de diseño electrónico de la tarjeta interfase y el programa encargado de su manejo.

2. DESCRIPCION DEL SISTEMA

2.1. La Tarjeta interfase

El proceso de adquisición de las imágenes microscópicas se realiza con ayuda de una tarjeta interfase que se conecta directamente al bus de la microcomputadora a través de los slots de expansión de la misma. En la figura 1 se muestra su diagrama de bloques. El bloque de Control del Bus (1) acondiciona las señales del bus de la microcomputadora y decodifica el espacio de direcciones de los puertos asignados a la tarjeta a partir de la dirección 300H [6]. En el bloque de Acondicionamiento de Video (2) la señal de entrada, en el caso que provenga de un SEM, se preprocesa en un atenuador programable que

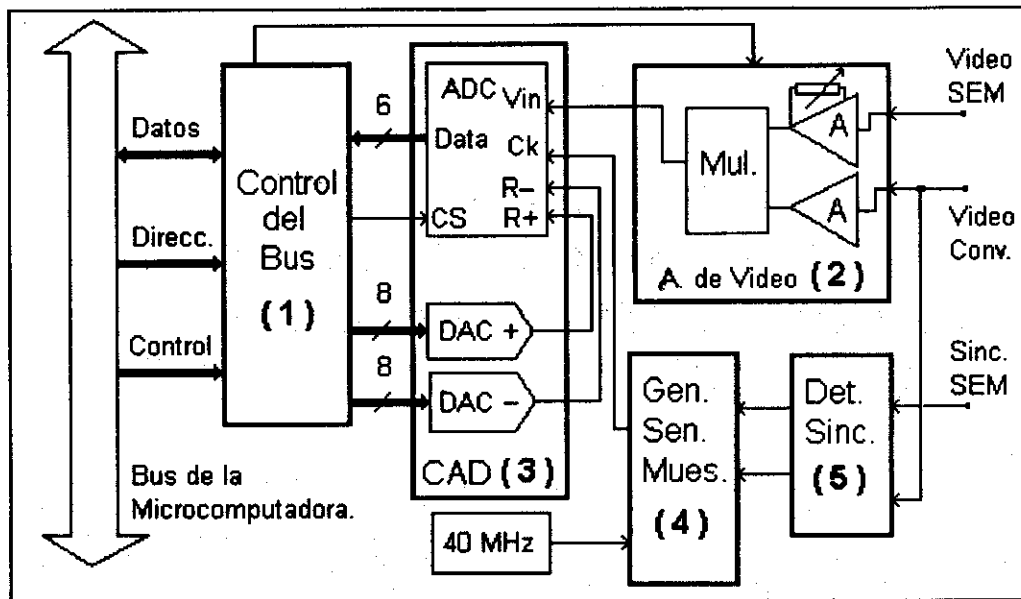


Figura 1. Diagrama de bloque de la interfase

posee un rango de compresión que va desde 0.05 hasta 0.5. Cuando esta se toma de una fuente de video convencional (1Vpp para las normas NTSC y CCIR [5]), se amplifica de forma invariable ($G = 2$) con el objetivo de ampliar su rango dinámico y disminuir su relación señal-ruido (se considera el ruido generado en la interfase, no al presente originalmente en la señal de video). Por medio de un multiplexor analógico controlado por software

se selecciona cual de las dos entradas se va a digitalizar. La salida del multiplexor se conecta a un convertor analógico-digital presente en el bloque de conversión CAD (3).

El bloque de conversión CAD (3) se compone de un convertor AD tipo paralelo de 6 bits CA3306E cuyas referencias se controlan (por software) con dos convertidores DA de 8 bits DAC0800 [7]. Esto posibilita el ajuste dinámico del

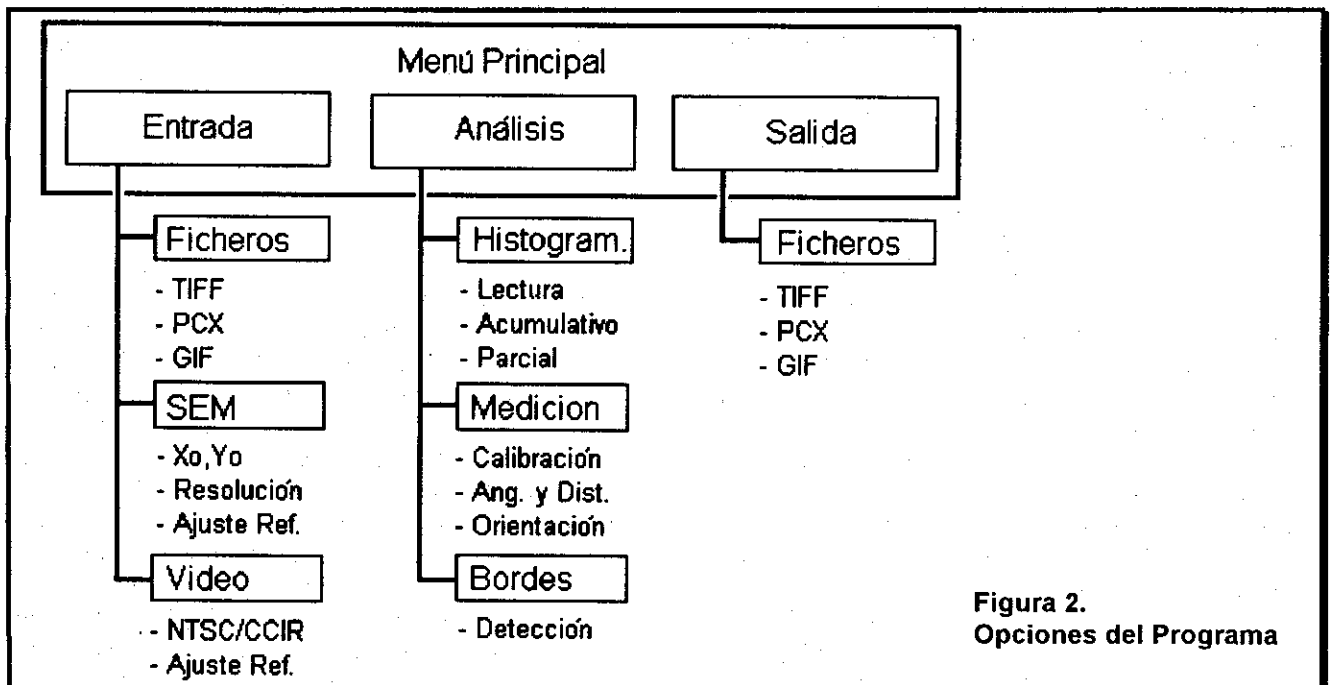


Figura 2. Opciones del Programa

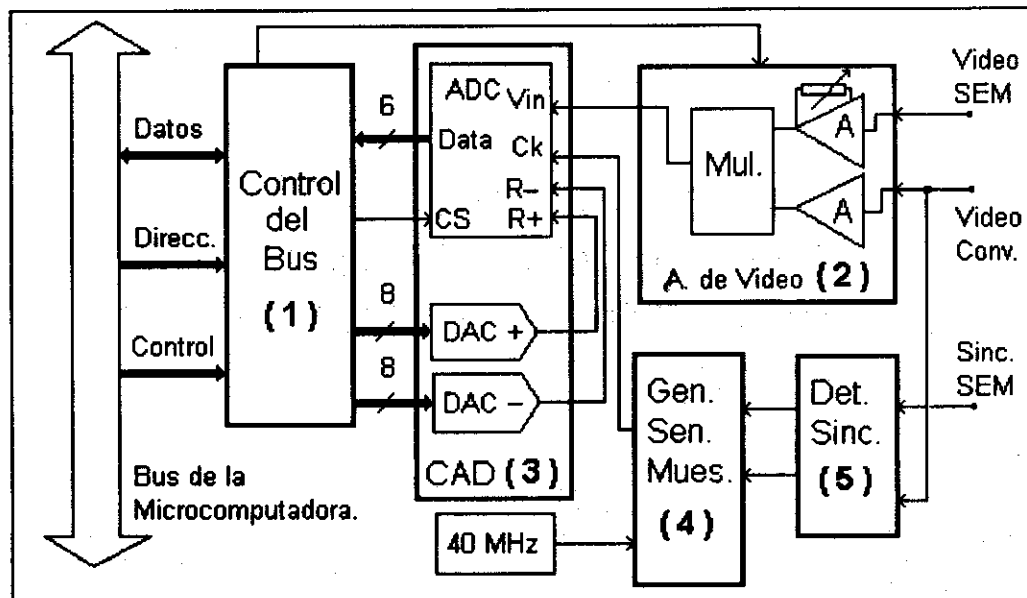


Figura 1. Diagrama de bloque de la interfase

posee un rango de compresión que va desde 0.05 hasta 0.5. Cuando esta se toma de una fuente de video convencional (1Vpp para las normas NTSC y CCIR [5]), se amplifica de forma invariable ($G = 2$) con el objetivo de ampliar su rango dinámico y disminuir su relación señal-ruido (se considera el ruido generado en la interfase, no al presente originalmente en la señal de video). Por medio de un multiplexor analógico controlado por software

se selecciona cual de las dos entradas se va a digitalizar. La salida del multiplexor se conecta a un conversor analógico-digital presente en el bloque de conversión CAD (3).

El bloque de conversión CAD (3) se compone de un conversor AD tipo paralelo de 6 bits CA3306E cuyas referencias se controlan (por software) con dos conversores DA de 8 bits DAC0800 [7]. Esto posibilita el ajuste dinámico del

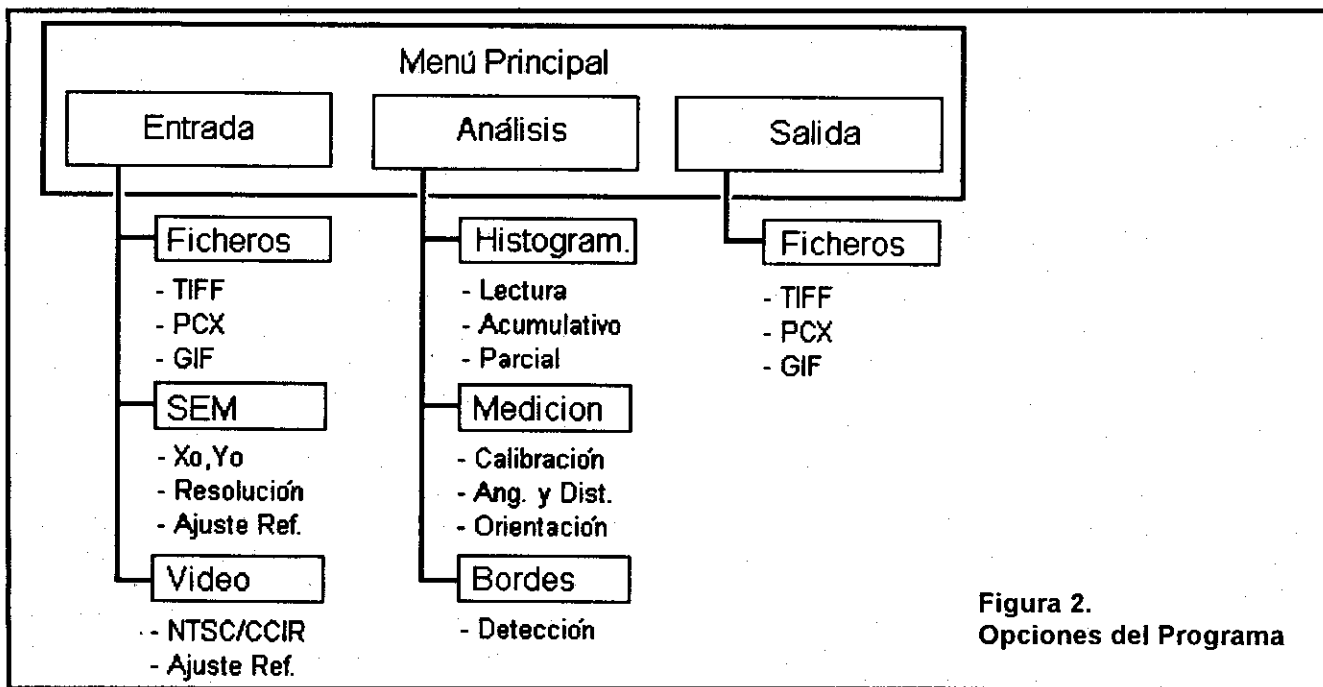


Figura 2. Opciones del Programa

contraste y la saturación de la imagen "on line" durante la captura. La señal de reloj del CA3306E se toma del bloque de Generación de Señal de Muestreo (4). La misma se programa con una frecuencia que se determina de acuerdo al tipo de entrada de video (SEM o convencional) y la resolución espacial seleccionada para la captura. Para evitar errores de fase entre los puntos de la imagen de una línea a la otra [8] esta señal se sincroniza con los pulsos de comienzo de línea y cuadro provenientes del bloque de Detección de Sincronismo (5). En el caso del SEM estos pulsos se extraen de los circuitos de sincronismo del microscopio ya sea en forma digital o analógica. En el video convencional se separan directamente de la señal del video tanto en la norma NTSC como en la CCIR.

Resumiendo las características técnicas de la tarjeta se tiene: (i) resolución espacial programable en el caso del SEM (1024 x 768, 512 x 480 ó 256 x 240 para tiempos de barrido de 5, 10, 20 y 40 ms en el modo de 1000 líneas por cuadro) y fija para el video convencional (512 x 480); (ii) 64 niveles de grises con posibilidad de ajuste dinámico de contraste y saturación de la imagen durante la captura.

2.2. El programa

Con el objetivo de controlar la tarjeta interfase se diseñó, en lenguaje C++, un programa que se basa en el uso de una interfase gráfica para el usuario y el mouse. El mismo se denominó MIDS y dió nombre al sistema como un todo. MIDS se concibió con el propósito de garantizar la mejor calidad posible para la imagen durante la adquisición. A ello se debe su organización y las opciones que se seleccionaron para conformarlo. La Figura 2 muestra la estructura de este programa. Lo más destacable del mismo se resume en: (i) programación de los parámetros de digitalización como: resolución, punto inicial para la captura (X_0 , Y_0), norma de video (NTSC o CCIR) y ajuste del contraste y la saturación de la imagen (Ajuste Ref.); (ii) posibilidad de leer y generar ficheros de imágenes con formatos TIFF, PCX y GIF [4], lo cual permite su posterior

procesamiento en otros programas desarrollados con ese fin; (iii) posibilidad de realizar análisis del histograma (global y parcialmente), así como mediciones de ángulo y distancia (de forma individual o en conjuntos) una vez calibrado el sistema en relación de aspecto y longitud patrón.

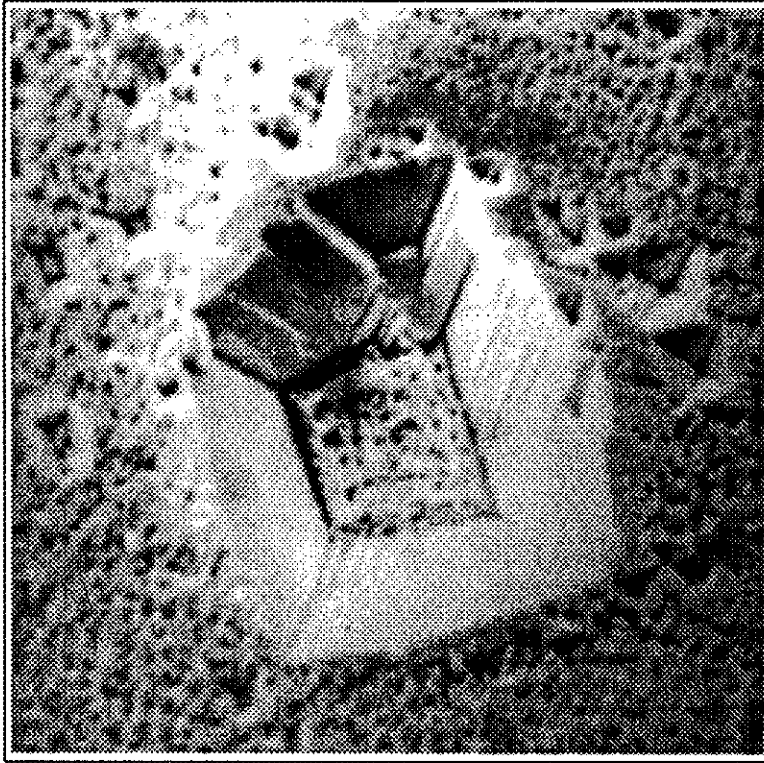
RESULTADOS

El apéndice A contiene la impresión digital de dos imágenes digitalizadas con el MIDS. En (a) se muestra una imagen obtenida en un SEM REM-100U de procedencia rusa (Facultad de Física, Universidad de La Habana) que corresponde a una figura de corrosión en una aleación de FeNi. La temática del estudio de la orientación preferencial de cristalitas en materiales magnéticos se aborda actualmente con ayuda del MIDS en este centro. En (b) se muestra una imagen, de un corte en un tejido biológico, capturada en el STEM Hitachi del Hospital Hermanos Ameijeiras. Ambas imágenes, una vez digitalizadas con el MIDS, se imprimieron en una impresora laser HP LaserJet III con el programa Photo Styler 1.0 de Aldus Corp.

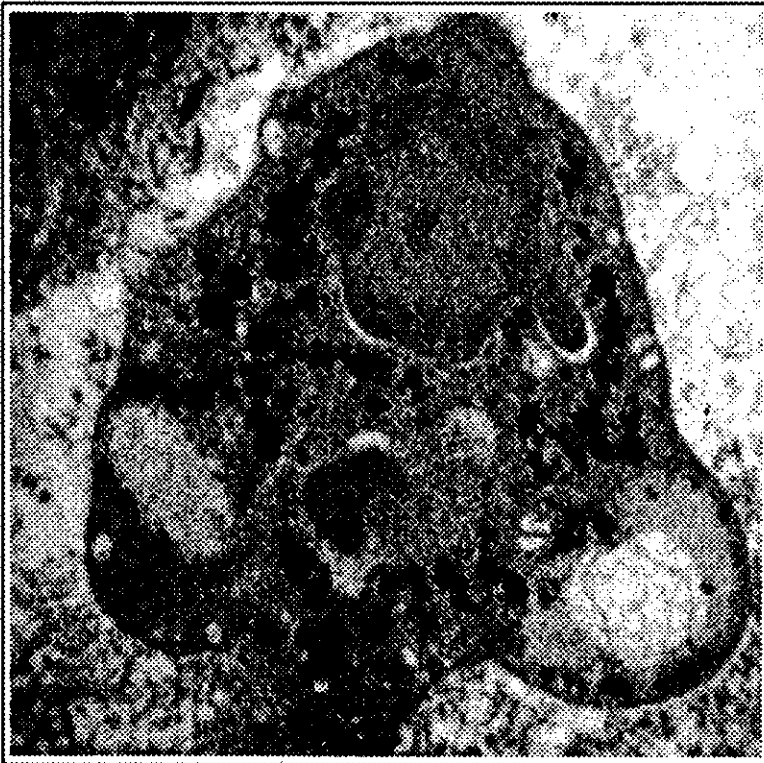
4. CONCLUSIONES

Se ha desarrollado un sistema capaz de incrementar las prestaciones de los microscopios electrónicos y ópticos de generaciones que no incorporan las TPDl extendiendo estas técnicas a los mismos. La utilización del MIDS, en conjunto con otros programas para el procesamiento digital de imágenes, constituye una herramienta de un valor incuestionable según la experiencia de los autores. En un futuro cercano el sistema descrito debe ser mejorado con la extensión de los niveles de grises de las imágenes capturadas a 256 y la inclusión de otras opciones en el programa. Su reducido costo y el uso cada vez mayor de las microcomputadoras personales en las investigaciones aplicadas hacen de este sistema una opción viable en los laboratorios de microscopía del país.

APENDICE A
Imágenes capturadas con el MIDS



(a)



(b)

5. REFERENCIAS

- [1] RICKMAN, M.; L. SIKLOS; F. JOO and J.R. WOFF (1990): x-y Recording in Transmission Electron Microscopy. A Versatil and Inexpensive Interface to Personal Computers with Aplication to Stereology, Journal of Microscopy, 159, Pt. 3, pp. 289-299.
- [2] RUSS, J.C. and J.C. RUSS (1985): Image Processing in a General Purpose Microcomputer, Journal of Microscopy, 35, Pt. 1, pp. 627-638.
- [3] RUSKA, E. (1987): The Development of the Electron Microscope and of Electron Microscopy, Reviews of Modern Physics, 59(3), Part I, pp. 627-638.
- [4] LINNDLEY, C.A. (1991): Practical Image Processing in C. John Wiley & Sons, Inc., New York .
- [5] RODRÍGUEZ, L.; M. VIDAURRAZAGA y J.R. ALVAREZ (1991): Televisión II, ENPES, La Habana.
- [6] EGGBRECHT, L.C. (1983): Interfacing to the IBM Personal Computer, Howard W. Sams & Co., Inc., Indianapolis, Indiana.
- [7] (1989): Data Adquisition Linear Device Data Book, National Semiconductor.
- [8] CIARCIA, S.(1987): Build a Gray Scale Video Digitizer, Part II, BYTE, 12(7): pp. 129-138.