

Insecten fotografie – superresolutie macro 2

Verslag van het aanleren van een techniek



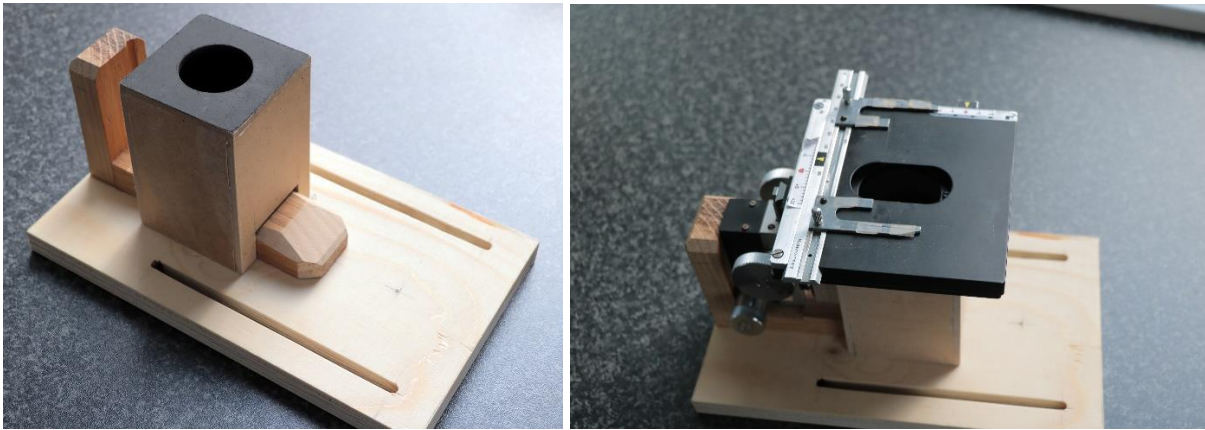
Sipke Wadman

September 2019

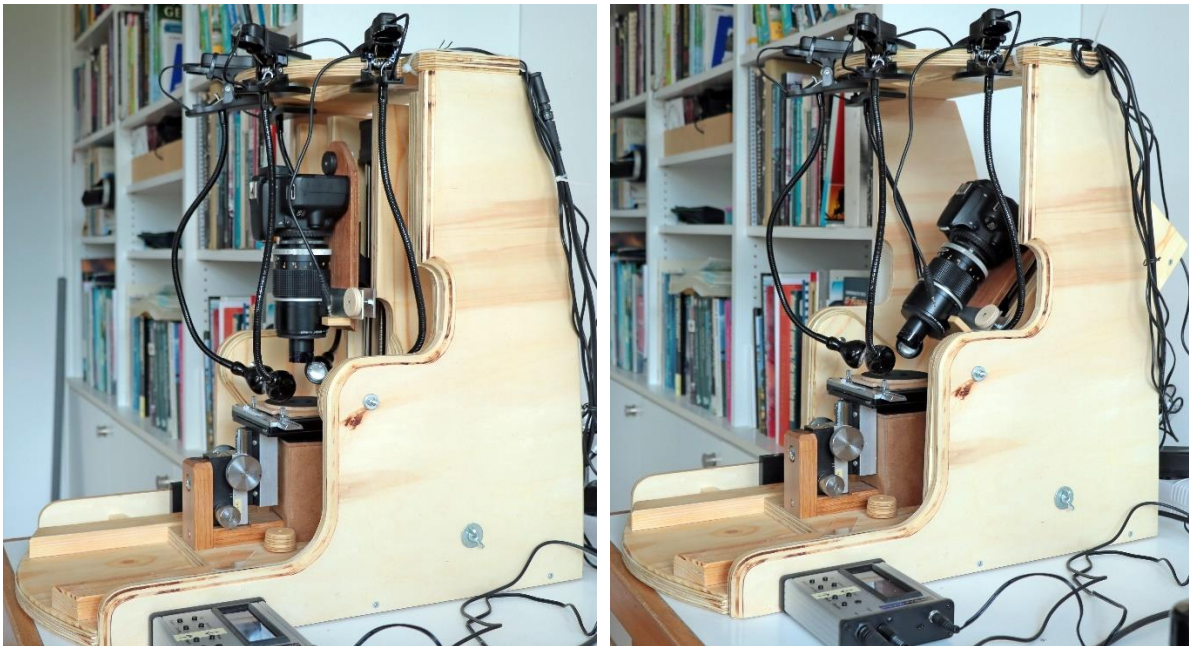
Dit verslag is het vervolg op **Insecten fotografie – superresolutie macro deel 1** waarin ik beschrijf hoe mijn eerste pogingen tot het maken van insectenfoto's verlopen zijn. Ik ben tot de conclusie gekomen dat het voor de oplossing van bepaalde problemen nuttig zou zijn een opstelling te hebben waarbij de camera kantelbaar zou zijn. Het vergt wat denk- en timmerwerk maar het is hobby, hè. Het zal wel niet meteen goed gaan maar als alles goed gaat leer je er niks van.



Een echte toevoeging is een light trap, die invallend licht wegvangt en zorgt voor een zwarte achtergrond. die onder de objecttafel komt en moet zorgen voor een echt donkere achtergrond. Ook nieuw is een rotatietafeltje met centrale opening.



Onderdelen zijn zowat klaar. Nu nog lakken tegen het stoffen en dan testen.



Het is duidelijk wel een groter en zwaarder apparaat geworden maar het kan ook meer. Het vaste frame is gemaakt van berken multiplex 18mm, dat een wat hogere demping heeft. De camera kan bijna 90 graden kantelen om het focuspunt en wordt door twee schijfremmen in een ingestelde stand geblokkeerd. Helemaal plat liggen zal niet zonder meer gaan maar dat hoeft meestal ook niet. Zou het wel moeten dan kan ik de remmen verwijderen. Verder heb ik de onderste twee moeren die de camera bevestigen vervangen door klemmen die ik alleen een kwartslag hoeft te draaien; veel handiger.

Ik begin met een heel klein zweefvliegje dat ik in de heg op de camping in Renswoude ving. Het is maar een mm of twee en er zijn ook maar 377 foto's nodig om hem er op te krijgen, mooi voor een test. Wat direct opvalt is de mooie zwarte achtergrond, een resultaat van mijn light trap onder het objectglas. Ik heb maar ca 11 levels achtergrond tegen 50 – 100 eerder.

Hier is het gestitchte ruwe beeld:



Verder kan ik ook kantelen, ik doe eerst ca 15 graden . In dat proces raakt het objectief de diffuser waardoor het glas verschuift en in een stuk of tien verschoven beelden in mijn stack krijg, die een dubbel beeld veroorzaken. Wanneer ik de eerste tien beelden weglaat uit de stack kun je mooi zien dat ik twee aanzichten krijg, een beetje verdraaid. Ik zou zo zelfs stereoscopische beelden kunnen maken! Ik maak een nieuwe diffuser van een koffiebekertje, met een uitsparing. Ik moet wel

uitkijken dat ik geen reflecties op het glas krijg daardoor; wellicht moet ik dan zonder diffuser werken zodat de achtergrond als het ware tussen de lampen door gereflecteerd wordt.



Verder blijken er in de praktijk natuurlijk allerlei aanvaringen te ontstaan tussen onderdelen als ik naar vlakkere hoeken ga; tot ca 45 graden gaat alles goed en hierbij blijkt meteen wat het nut is van mijn verticale tafelinstelling. Bij loodrechte afbeelding heb je een X,Y instelling nodig, als je horizontaal fotografeert heb je een X,Z instelling nodig en onder tussenliggende hoeken een ontbonden combinatie daarvan. De camera kan daarnaast nog langs zijn as verschuiven natuurlijk.

Het probleem is met name de Y-as knop van mijn tafel die tegen het cameraframe aan botst. Dit was volkomen verwacht, en ik kan dat voorkomen door een glazen objectplaat te maken die voor de tafel uitsteekt. Dat is weer een andere verbouwing, voor later.

Overigens geldt voor alle foto's die ik maak met deze optiek een schaal van $0,46 \mu$ per pixel. Een beestje van 4,6 mm heeft dus een afmeting van 10000 pixels. Veel beesten zijn groter dan dat en dat levert beelden op soms van meer dan 50000 pixels lang. Je kunt dan niet meer in PS met *.jpg files werken maar met een large document format.



Door mijn draaibare objecttafel kan ik nu gemakkelijk draaien om de verticale as, wat weer een heel ander aanzicht geeft.



En draaien kan natuurlijk ook. Ook hier weer een onopgemerkt dubbel beeld. Dit zijn nog ruwe minimaal bewerkte beelden, gemaakt voor de test, er moet nog postprocessing plaatsvinden.

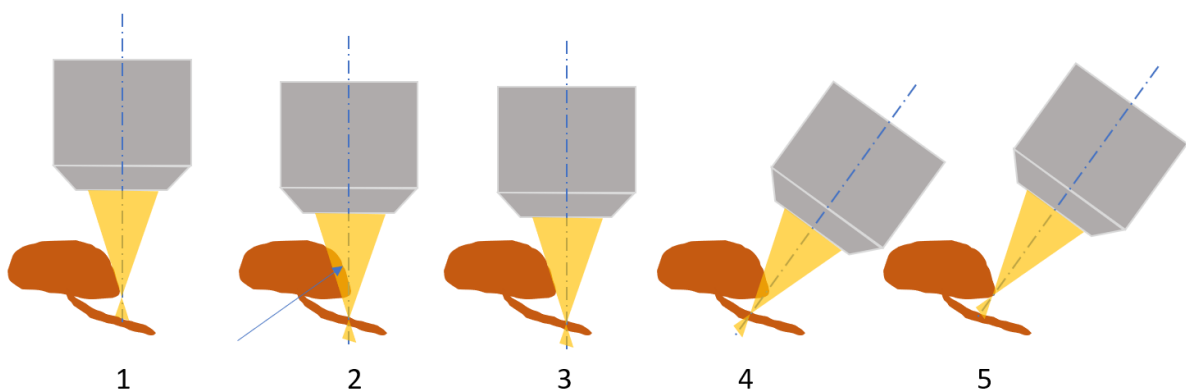
Dat levert nog wel wat verbetering op. Ik gebruikte Lab mode, maskeren in een kopielaag en deleten in een tweede kopielaag, tegen een zwart gevulde extra laag.



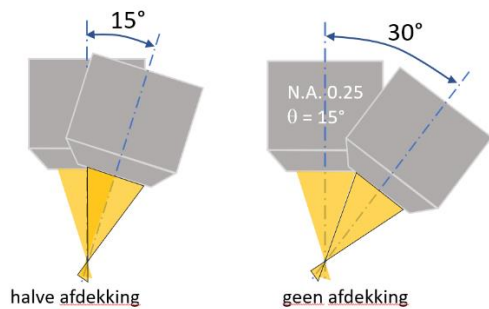
Een klein vliegje is het maar, maar wel prachtig Ik stuur het maar eens naar het IVN, met de vraag of zij geïnteresseerd zijn na de mislukking van mijn contact met Nederpix.

Hun antwoord is half geïnteresseerd. We wachten maar eens af. Na een week antwoordt de IVN afdeling in Zwolle die vraagt wat precies de bedoeling is. Daarna heb ik er niets meer van gehoord.

Ondertussen heb ik nog eens gekeken naar het schuine straal verhaal. Ik kan nu de tubus kantelen, maar hoe ver moet dat? De beschouwing is simpel en toch heb ik het op de bonnefooi niet goed gedaan. Voilà de overweging.



In fig 1 ben ik scherp op het bovendee (lijf) , het onderste (poot) is onscherp. Bij 2 is het andersom met dit verschil dat de onscherpte van het lijf over het scherpe pootje heen zit en voor de bekende voorgrondwaas zorgt. Andersom is dat niet zo . Bij 3 is de rand van die onscherpte maar tevens heb ik dus een stukje poot dat wazig is. Als ik kantel, in 4, heb ik hetzelfde als 2 maar ik zie meer poot, onder het lijf. Bij 5 is het optimaal en heb ik alles in verticale projectie scherp. Alleen kan ik het kleine stukje poot gebruiken onder het lijf, want door de hoek is het perspectief veranderd en moet je dus wat rechttrekken. Hoeveel moet je dan kantelen? Voor optimaal resultaat is dat 30° bij mijn NA 0.25.



Ik had een iets kleinere hoek gegokt, namelijk slechts 13°. Ik moet dus nog een schaalverdeling aanbrengen op de microscoop zodat ik de juiste hoek in kan stellen.

Testbeestje hierbij is Sjoerd's frambozenbeestje uit Rheinfelden, dat ik aan één zijde schuin heb gefotografeerd. 1474 foto's. Voor de loodrechte foto's maakt de azimuth-positie van het beestje niet uit, behalve voor de overlap-passing van de verschillende opnamen. Voor de schuine foto's is het beestje dwars gedraaid zodat ik recht onder het lijf kan kijken. De rand van het lijf vergeten we even. We zien hier een deel uit de foto's recht van boven en onder 13°.



Wat we zien klopt met de theorie. Het beest is gedraaid om er recht onder te kunnen kijken maar zo zijn de originelen niet gemaakt. Dat is dus les 1: maak ze allemaal in dezelfde oriëntatie. Verder hoeft je alleen maar het deel onder het lijf scherp te hebben, een korte stack dus. Dit stukje poot kun je dan in de loodrechte foto monteren.



We zien daarbij dat het perspectief is veranderd waardoor e.e.a. niet goed past en waardoor oppervlakteglans etc. ook wat verandert. Maar het principe werkt dus wel hoewel er wel wat postprocessing nodig is. Het probleem is er nog wel maar je ziet het dan niet meer zo duidelijk.



Nog even los van dit effect heb ik het frambozenbeestje netjes gestitched en een raar beest is het wel hoor. Niet moeders mooiste. Vol stekels en met opgefrommelde pootjes. Hij heeft een soort stekels op zijn rug ook en hij is ook een beetje scheef.





Sjoerd heeft opgezocht wat het is. Het blijkt een onvolwassen fase te zijn van *Verluea rhombea*. Hij heeft de ontwikkeling gevolgd en het wordt een soort wantsachtig kevertje.

Er is ook nog een klein wespje dat ik vond bij een zonnige wandeling in de Jura. Het ligt een beetje schuin uit zichzelf, en door de camera 30° te kantelen krijg ik een aardig zij-aanzicht. Een heel mooi beestje.



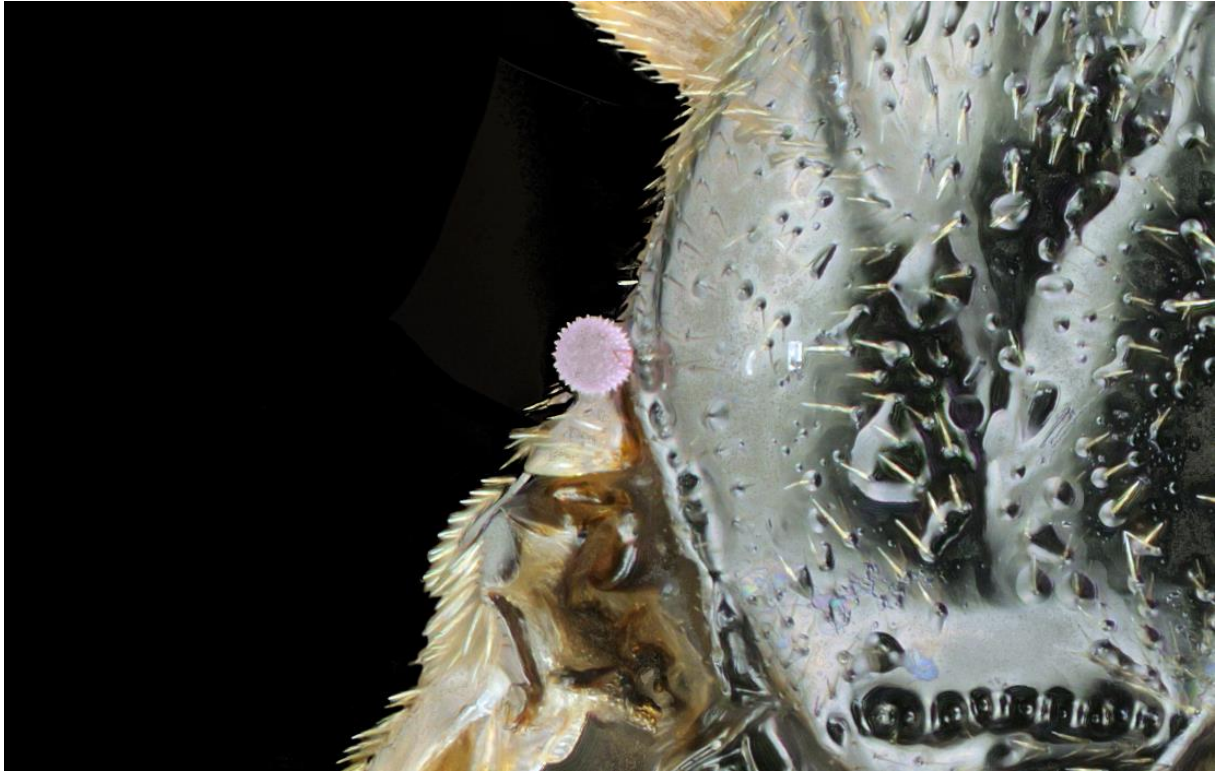
Helaas is halverwege de camera-accu leeg dus het moet nog een keer over, nu met het andere beestje. De tweede keer zijn er weer wat andere dingen mis, zoals meer stof maar mooiere antennes, en ik maak dus een combinatie van de twee foto's.



Natuurlijk heeft het beest ook een bovenaanzicht:

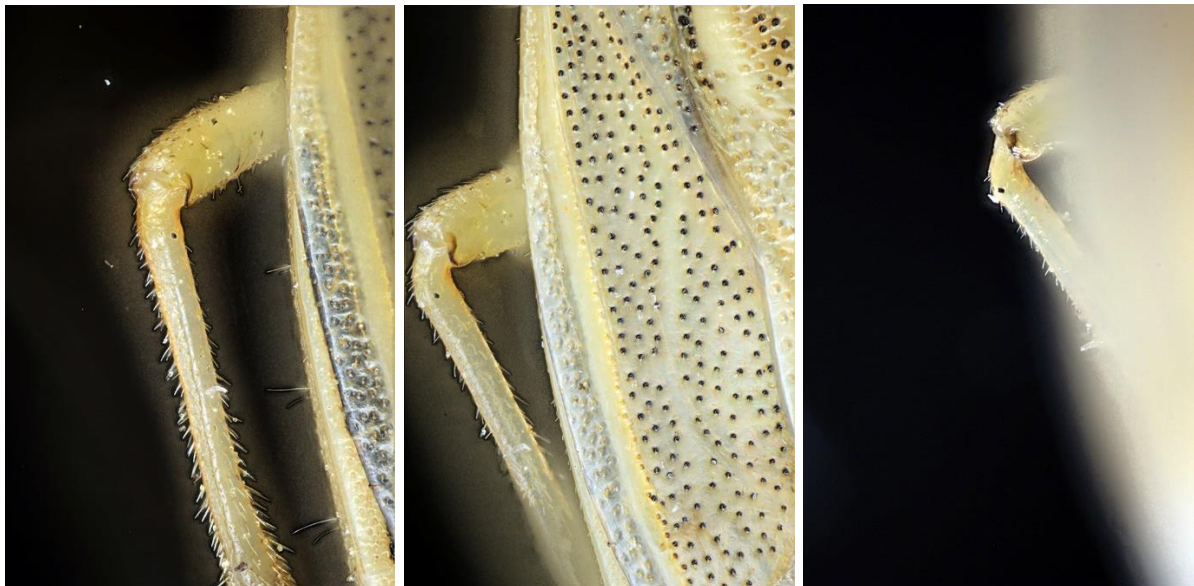


Het heeft wel leuke details: voor het eerst vind ik enkele stuifmeelkorrels vastgekleefd aan het beestje. Roze stekelige bolletjes van 60 μ .



Voor het eerst ga ik nu een beestje fotograferen waarvan het me is gelukt de pootjes een beetje fatsoenlijk te laten uitsteken via mijn gaasje en EtAc blikje. Het is een beestje dat ik vond in een bloei-aar van een vlasleeuwebekje in Soerendonk. Ik kantel de camera voor de hele lengte van de pootjes, niet alleen de bovenkanten, op 30°. De camera batterijen doen moeilijk. Mijn reserve accu, niet origineel, loopt steeds meer klem in de camera en is er moeilijk in en uit te krijgen maar hij doet het nog wel.

Natuurlijk bega ik weer wat domheden, verkeerde kant fotograferen bijvoorbeeld, waardoor ik bijna helemaal geen pootjes meer zie maar ik kom er op tijd achter. Dat geeft me wel de mogelijkheid om te vergelijken wat er gebeurt bij -30°, 0° en +30° kanteling. Ook hier is het perspectief vervormd.

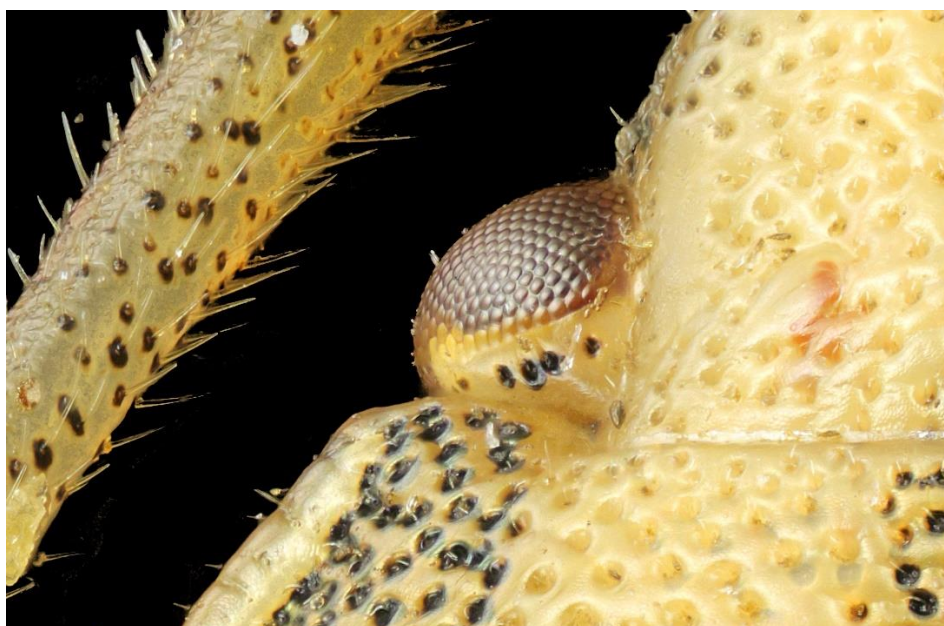
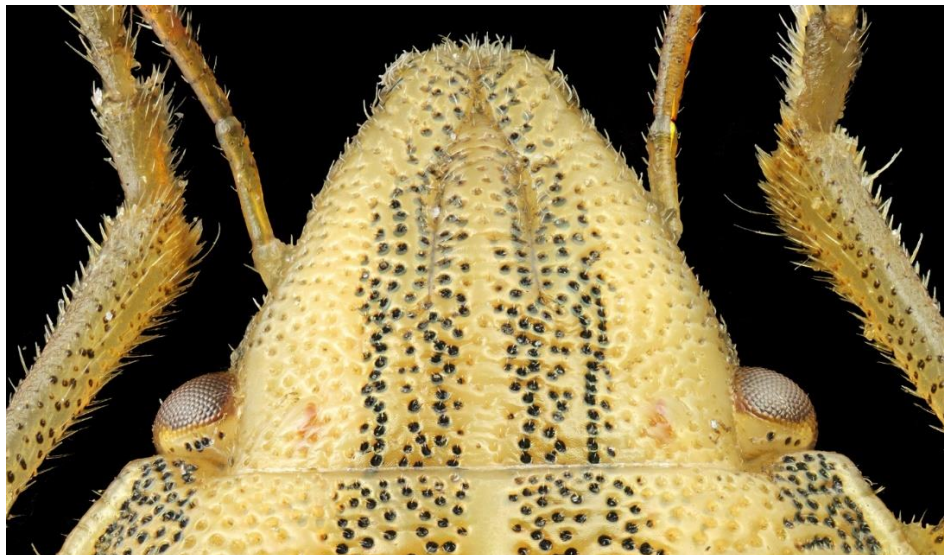


De middelste foto is de 0° foto, recht van boven. Links is de 30° foto die ik wil gebruiken om de aansluiting op het lijf kloppend te maken. Je kunt het verschil in perspectief goed zien aan het zwarte stipje onder de 'knie'. Je kun het beeld wel vervormen tot het past maar het perspectief krijg je nooit meer goed.

Wel worden het weer 2807 foto's. Voor deze Canon D100 camera zijn dat inmiddels 52971 foto's totaal. Dat is over de helft van zijn formele levensduur; ik ben benieuwd hoe lang dat nog goed gaat.

Het laat mij ook nadenken over de 'ideale' apparatuur. Het zou een APS-c formaat zijn van 20 Mpix, met een elektronische sluiters, een 100 – 150 mm lens, een netvoeding, een snelle HDMI uitgang voor een monitor, triggerbaar door de Stackshot via een kabeltje. Een four thirds formaat zou ook nog wel kunnen maar dan moet ik een kortere tube lens gebruiken, zeg 100 mm. En ook graag een computer die 10 x zo snel is. En de X,Y,Z tafel zou wat stabielere mogen zijn. Wordt een kostbare zaak natuurlijk dus ik laat het allemaal maar even zo. Ik ben met pensioen tenslotte dus ik heb de tijd, maar ja.

Het leeuwenbekbeestje heeft een mooie lichte kleur en een mooi koppie. Jammer dat ie geen lange wimpers heeft.



Het hele beest ziet er als volgt uit, natuurlijk drastisch verkleind:



Ondertussen ving ik op de tuintafel nog zo'n ontzettend klein rood-oranje spinnetje dat heel hard kan lopen. Het is geen insect maar een kleine mijt en ik ben toch heel benieuwd hoe die er uit ziet. Het is inderdaad heel klein en ik heb maar 237 opnames nodig om hem af te beelden. Helaas mis ik dan wel het voetje van de linker voorpoot maar allà. Magnifiek trouwens, alle functionaliteit, gevoel, gezicht, geur, gewrichten, spieren, innervatie, etc. in hersens van minder dan 0.1 mm.



We zien hier heel duidelijk een preparatieprobleem: het beest ligt vastgekleefd in een soort kleurloze olieachtige blubber. Ik weet niet of dat een gefractioneerde condensatie is van een component uit de nail polish remover (Het spul bevat naast ethylacetaat ook citronellaolie en geraniol en een triglyceride maar ik weet niet hoe veel) of dat het uit het beest zelf komt. Gezien de hoeveelheid prut denk ik dat het het eerste is, het vult de onderste rand van het glazen potje, zo veel kan nooit uit zo'n klein beestje komen. In mijn gaas-stikpot heb ik dat nog niet gezien; die kan via het gaas een klein beetje ventileren en daarin blijft ook geen damp over na enkele uren. Om deze reden heb ik ook geen verdere moeite gestoken in de postprocessing van dit beeld; je krijgt dat nooit meer goed.

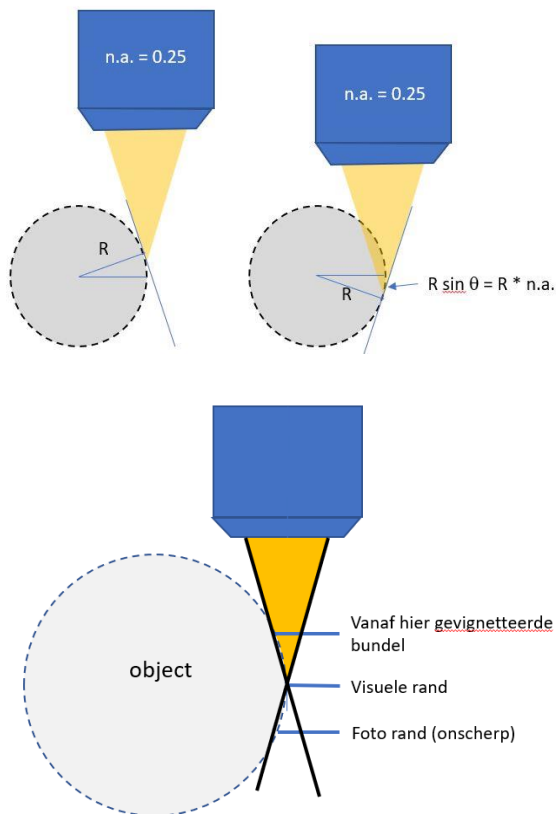
Ik zou eens moeten proberen een fles zuivere ethylacetaat te krijgen, en ook een fles gedenatureerde alcohol die ik dan tot 70% kan verdunnen, de concentratie die het beste werkt voor conservering. Verdrinken in een bak alcohol is een andere gangbare methode, alleen schijnt er verkleuring te kunnen optreden. EtAc is nergens te krijgen, niemand weet wat het is zelfs, maar je kunt het gewoon bestellen bij bol.com maar wel voor 15 Euro/liter.

Volgende proef is gedaan met een snuittorretje dat ik in de rand van de deksel van de groene klike vond, en zo heet ie dus ook. Klein beestje maar (542 opnames), een beetje stoffig geworden. Hij is vrij hoog en ik kan hem alleen maar op zijn zij leggen, of plat op zijn rug. Die kleintjes zijn haast niet te manipuleren met een fijne pincet, erg lastig. Zo'n klein beestje komt in één keer in beeld en ik kan / hoef dus geen meelopende verlichting te gebruiken. Ik doe alle vier lampen tegelijk aan. Het is anders wel een schatje, hoor. Er zit wat stof op maar dat is gemakkelijk weg te werken. Leve PS.



Het is zo leuk dat het op het oog een gewoon donkergrijs torretje is, uit de vuilnisbak nota bene, en dat je er dit soort details en kleuren in kunt vinden. Die oranje pootjes, daar zie je dus helemaal niks van.

Met dit beestje kan ik mooi nog eens kijken naar de rand van het beeld. Er is nog iets aan de hand

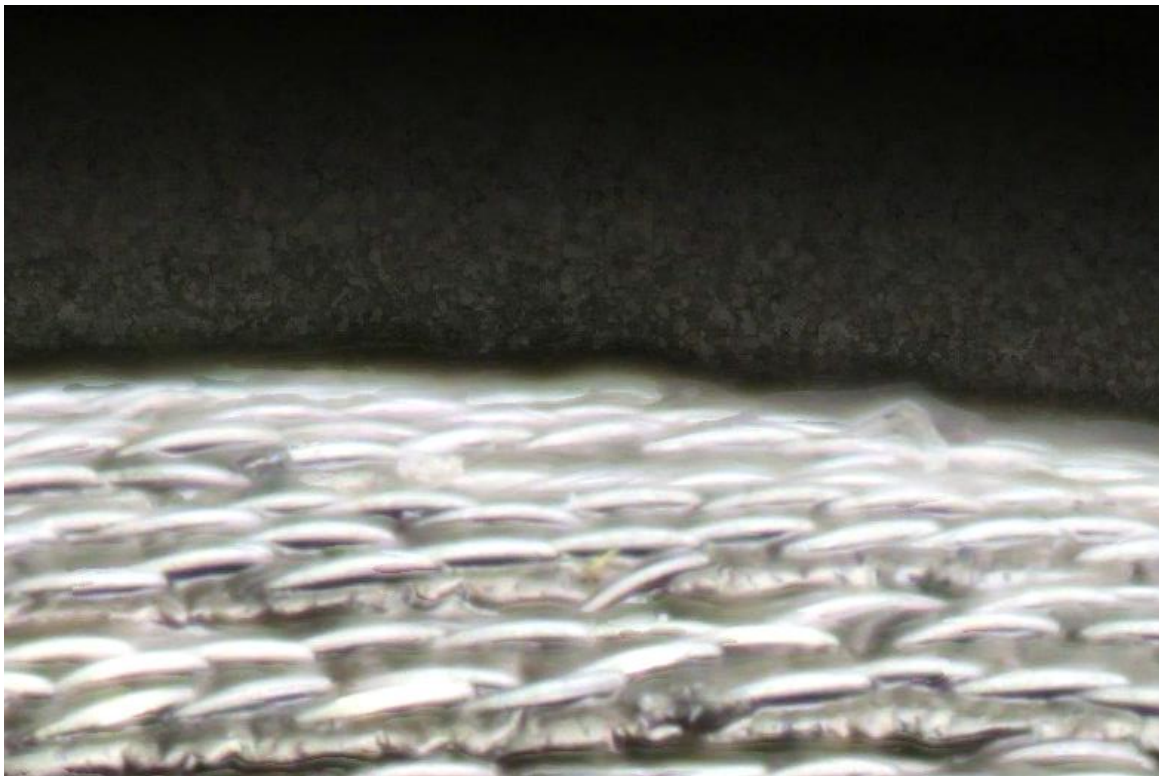


met de 'schuine bundel'-methode die ik beschreef in Deel 1. Dit treedt ook op bij de volle bundel waar die door delen van het object gevignetteerd wordt. Als je met vergroting kijkt naar de rug van het diertje dan kijk je scherend langs de rand. Bij mijn grote NA is het echter niet éénduidig waar je dan de rand ziet. De ene kant van de apertuur ziet iets anders dan de andere kant. Een deel van de rand is in focus en een ander deel niet, afhankelijk van waar je zit in de bundel. Omdat er in de apertuurkegel verschillende raaklijnen aan het onderwerp getrokken kunnen worden, krijg je in verschillende delen van de bundel verschillende randen met verschillende scherptes. Het is een variant op beeldparallax bij stitchen van niet goed gemaakte panoramafoto's maar dan binnen één bundel. Dat zie je terug als een vaagheid van de rand. Bij postprocessing is dan de vraag waar je de rand af moet snijden.

Het beeld is in focus in het kruispunt van de randstralen, in de figuur dus de punt van de driehoek. Als je door de focus stack heenloopt, begin je in focus te zijn als de linker raaklijn van de

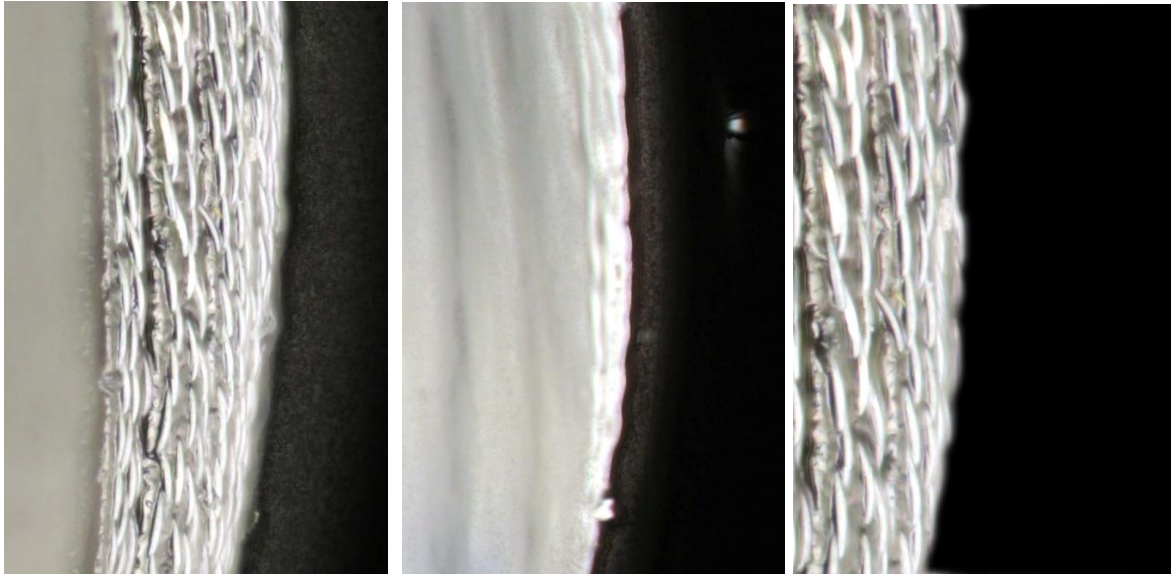
bundelkegel het object raakt. De hele kegel doet nog mee hier. Het oppervlak maakt daar nog een hoek met de hoofdas. Als je verder zakt tot het midden van het focusgebied, is de hoofdas rakend aan het oppervlak, maar slechts de helft van de bundel doet nog mee. Nog verder zakken brengt het focus nog verder omlaag maar er gaat steeds minder van de kegel meedoen in het scherpe deel, zodat het wordt vervaagd door de onscherpe delen die er boven liggen. Dit gaat door tot de raaklijn de rand van de bundel bereikt. Het scherpe beeld zelf wordt daardoor steeds minder scherp omdat er steeds meer diffractie optreedt door het smaller worden van de apertuur die nog meedoet. Het dieptegebied waarover zich dit afspeelt is $2R \sin \theta$, ofwel $D * n.a.$

Als je de doorsnee van bovenstaand snuitorretje als een cirkel beschouwt, is de doorsnee = 0,97 mm. Dit zou leiden tot een scherptezone van 242 μ in mijn geval. Dat zijn 16 stappen van 15 μ ! Heel veel dus. Wanneer je in het ruwe (4 x vergrote deel-) beeld naar de rug kijkt zie je het probleem: van onderaf komend wordt het beeld steeds vager tot aan een soort hobbelige vaagheid die in de achtergrond overgaat. Dat is in feite een 'geknepen' afbeelding van delen die achter de rand liggen. Je kijkt om de hoek hier, eigenlijk. Die wil je niet zien, maar hoe ver dan wel? In de postprocessing snij je dat af, maar waar precies?



Het ontstaan van dit effect zie je mooi wanneer je de objectiefapertuur afdekt behalve een randje aan de zijkant: een dunne schuine bundel blijft dan over. Als die smalle bundel in het linkse of rechtse deel van de apertuur zit, zijn de resultaten zeer verschillend. Bij de ene kijk je over de rand heen, maar wel vervaagd, en bij de andere nog niet eens tot aan de rand. De scherptediepte is toegenomen natuurlijk, maar bij het stacken moet je weer de alignment inschakelen want de opvolgende lagen zijn sterk verplaatst door de schuinheid van de bundel.

Onderstaande drie plaatjes zijn gemaakt op dezelfde positie, alleen is de objectieflens afgedekt op een spleetje na aan resp. de linkerkant en de rechterkant.



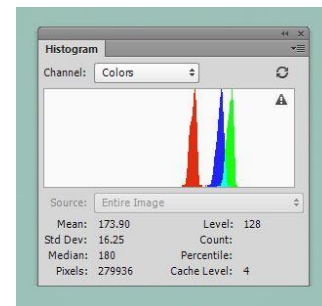
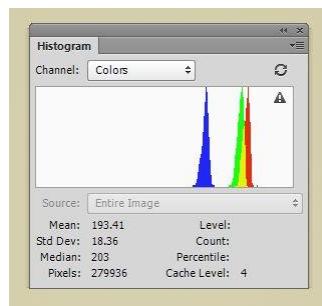
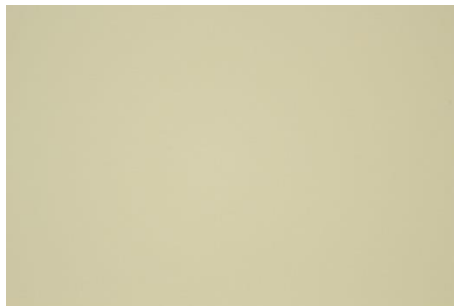
Schuine bundel links

schuine bundel rechts

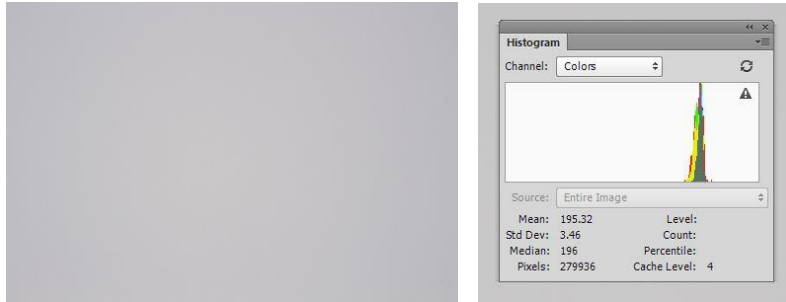
postprocessed - handwerk

En deze beelden met alle tussenliggende vormen samen mijn 'normale' beeld! De meest waarschijnlijke afsnijding is halverwege het vervaagde gebied; in de meeste gevallen is dat wel herkenbaar. In het rechtse bovenstaande plaatje is dat zo gedaan. Het is overigens geen probleem bij scherpe hoekige randen, alleen bij die waarbij een oppervlak langzaam wegbuigt. De conclusie is dus dat de rand die je op afstand met het oog ziet, met zeer kleine n.a. dus, ergens binnen de gefotografeerde rand ligt, en die moet je dus afsnijden.

Een heel ander onderwerp is nog het bestaan van kleurzweem. Ik gebruik IKEA Jansjö LED lampjes voor mijn verlichting. Dit zijn warme witte LEDs, met een rood/geel overschot dus. Ik maak eens een opname van een neutrale grijskaart door mijn microscoop met de camera op gloeilamplicht witbalans ingesteld en kijk hoe de kanalen verdeeld zijn.



We zien dat blauw achterblijft waardoor het beeld een gele zweem krijgt. Als ik een lichtblauw filter tussenzet (Roscolux 363) komt blauw op peil maar blijft rood een beetje achter, met als gevolg een blauwzweem.



PS kan dat echter prima corrigeren via cntrl-L en de grijswaarde pipet, en dit heb ik gedaan bij al mijn beelden tot nu toe, dus daarover hoef ik me niet druk te maken.

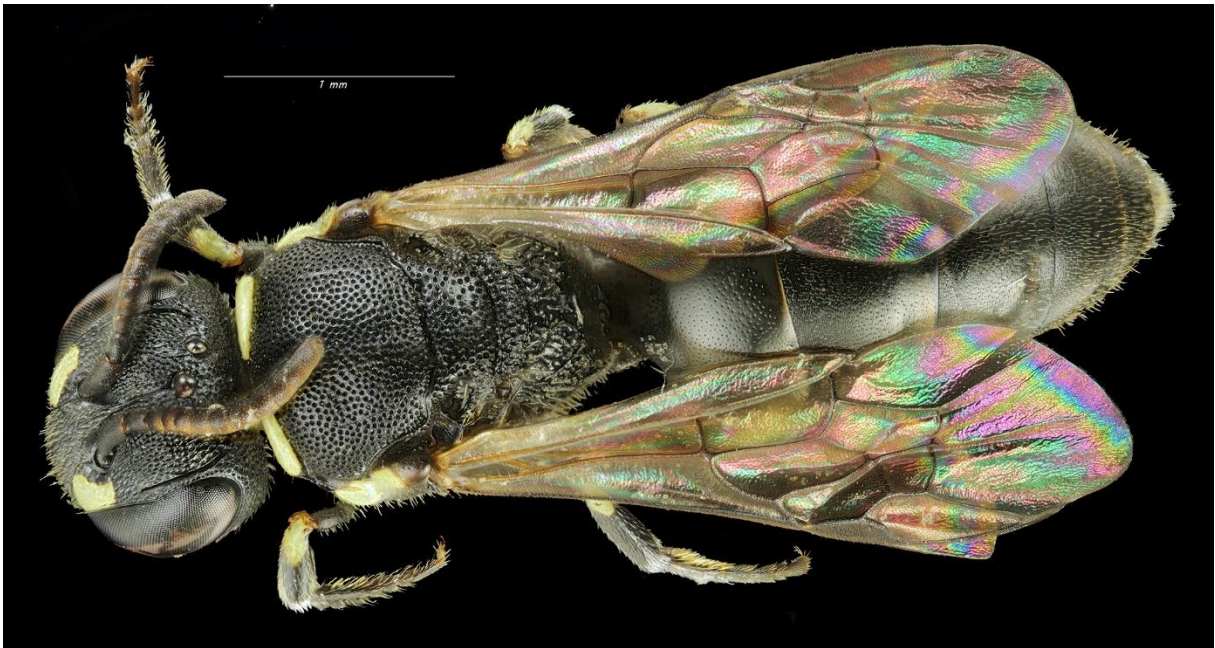
Welaan, ik vind in de Achilleas in de tuin een kleine lichtgele wants, en die is de pineut. Het is verbazend hoe zo'n klein beestje toch zomaar 1439 opnames vereist. Verwonderlijk ook dat zo veel van die kleine beestjes die ik vang wantsen zijn, te oordelen naar het feit dat vele een driehoekig scutellum hebben.



Net als in een eerder beestje zitten hier ook allemaal stuifmeelkorrels op, gele dit keer want ze zijn van de gele achillea's.



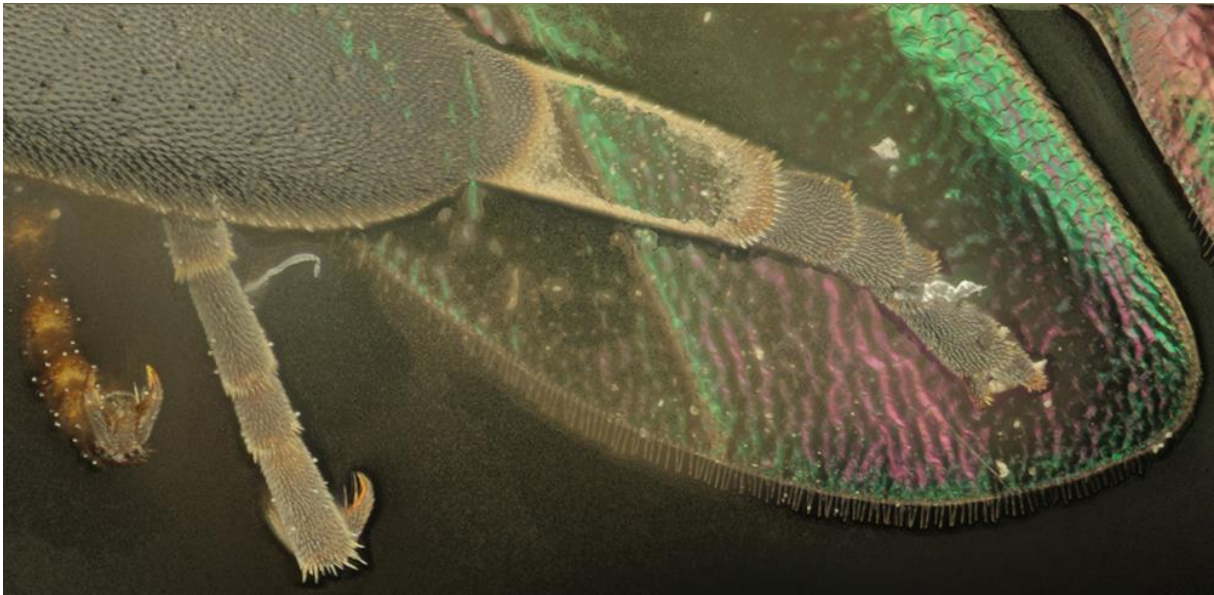
Tijdens een werkbezoek aan Thermes-Magnoac in Zuid-Frankrijk heb ik nog een paar insectjes die me opvielen kunnen bemachtigen. Dit is een klein beestje gevonden op een muur in de zon. Op het oog zag het er een beetje gekleurd uit maar het blijkt zwart te zijn met hier en daar een geel plekje en Newton-interferentiekleuren in de vliesvleugels.



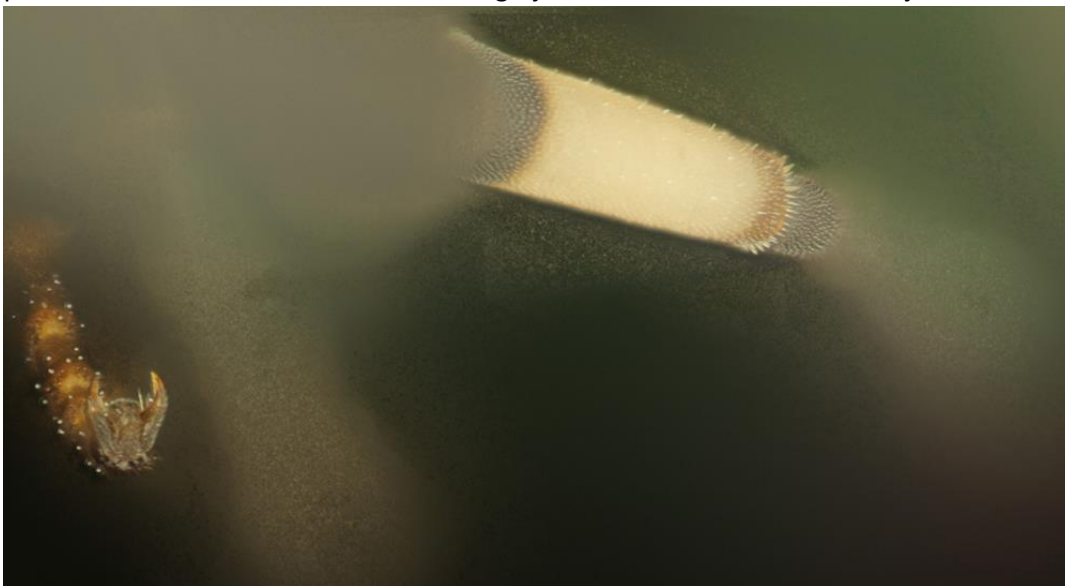
Dit is het eerste beestje waarvan de foto in twee dagen klaar is: een avond fotograferen, een ochtend stacken en stitchen, en een middag nabewerken. Dit was ook niet een hele moeilijke.

Ik heb een nog wat grotere sluipwesp gevangen die wat lange uitsteeksels heeft, en dat betekent dus lange rijen foto's. Ook steken poten en vleugels nogal uit naar boven en dat betekent diepe stacks, tot 324 diep. Het puntje van één van de voelsprietten is er af gebroken bij een poging hem wat te fatsoeneren. Door de lengte van het beest, ca 2 cm, moet ik de lampjes wat verder weg zetten om die slaglengte mogelijk te maken, dat betekent zwakker licht, dus ik doe ze alle vier aan. Ik had al wel lege accu's meegemaakt, nu ook weer, maar de kaart vol nog niet. Hij stopt bij 3770 opnamen. Ik ben inmiddels de tel kwijt wat ik allemaal gehad heb en wat niet, dus ik hoop dat hij compleet is. Het blijkt natuurlijk niet zo te zijn dus er zijn nog twee extra stacks nodig.

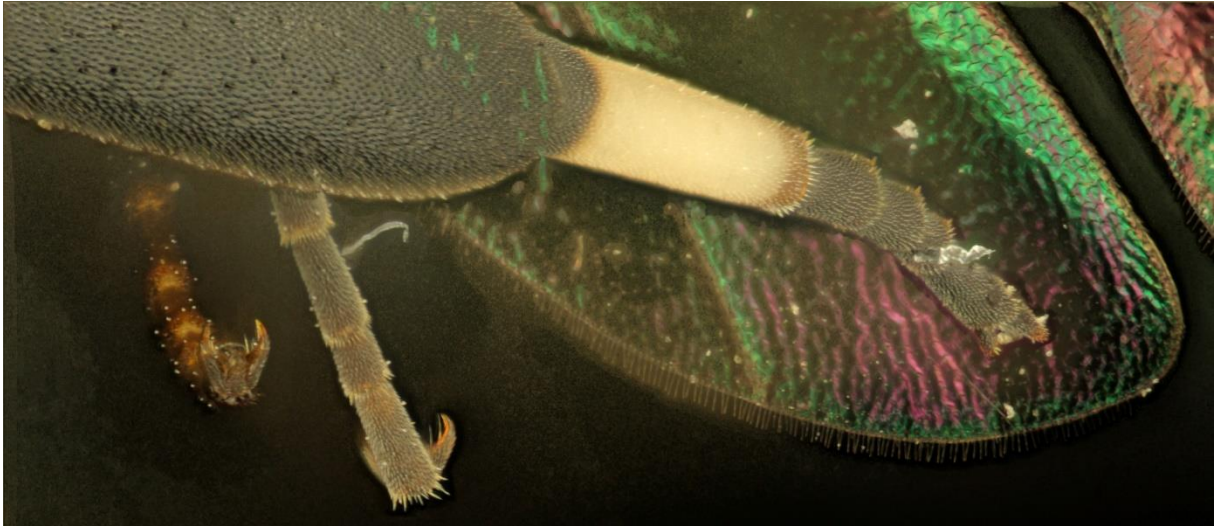
En weer leer ik een nieuw lesje. Wat Picolay er van maakt hangt af van wat er al is aan reeds gestackte achtergrond. Later leer ik dat Picolay een 'prefer high frames' instelling heeft die daar rekening mee houdt.



Hier zien we dat er een gat ontstaat in het pootje waardoorheen de vleugel zichtbaar is. Die vleugel is blijkbaar scherp genoeg om hem te laten besluiten dat het daar klaar is. Als je het stukje poot er uit haalt en alleen stackt, gaat het wel goed, en zelfs met betere kleur en contrast, die je er later in kunt plakken. Misschien ook kan dit een uitweg zijn voor die vervelende halo's bij haren.



In PS is dat dan weer eenvoudig te combineren:



Tja, er zijn wat probleempjes die komen doordat het beest zo onhandig ligt. Er zit ook een druppel olie (?) op het oog. Verder is het uitgestrekte beest nogal lang, daardoor ie 48738 pixels lang zodat ik gedwongen ben op halve resolutie te werken, anders kan het niet in PS. Ik bewaar de stacks wel op volle resolutie. Maar de detaillering op de 'makkelijke' plaatsen is fantastisch.





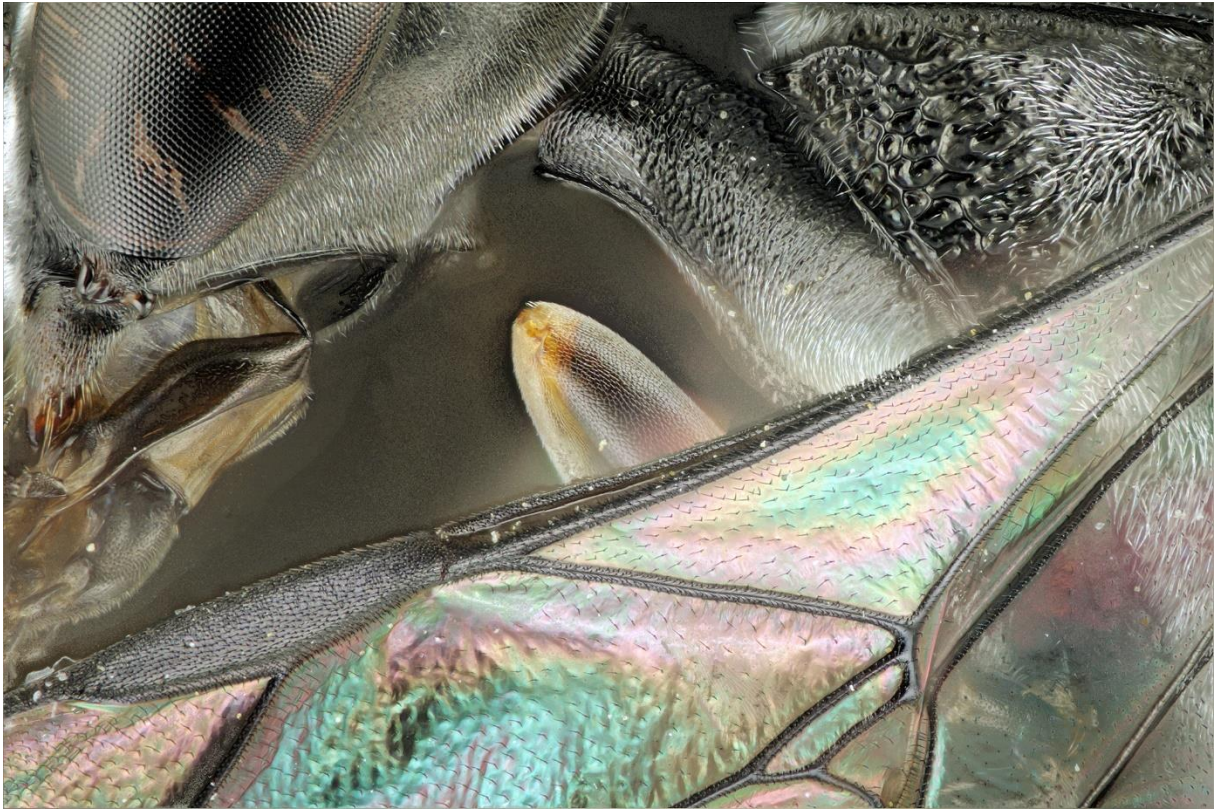
We kijken nog maar eens even naar de andere kant van het wespje. Weer 1149 opnames.



Hier zien we geen oliedruppels op het oog maar juist wel dat er gekleurde vegen in zitten. Ik weet niet of die er in gekomen zijn of dat ze er direct al waren. Ook is de onderste vleugel nu de bovenste en die steekt omhoog en zit daarom danig in de weg, zodat de monddelen haast niet te zien zijn. Ik maak de serie daarom niet helemaal af. De houding van het beest wordt steeds belangrijker, en de techniek zelf steeds minder belangrijk.

Een deel van deze opname serie heb ik gemaakt om te zien of het uitmaakt voor het stacken of je van onder naar boven gaat of van boven naar onder. Inderdaad blijkt dat (een beetje) zo te zijn. Ik maak

vrij diepe (230 en 243) stacks waarbij ik begin- en eindposities van de stack instel als eerst naar boven als startpositie, of eerst naar onder als startpositie. De respectievelijke resultaten zijn als volgt.



Er is een klein verschil bij de 'keel' van het beest, en ook is er een klein verschil in vervorming. Het hangt er maar van af wat het programma als het scherpste ziet, de voorgrond of de achtergrond. Niet onverwacht: vooral bij diepliggende of doorschijnende onderdelen is dit een probleem.

Het wordt tijd om met de huidige stand van zaken eens nadere contacten te zoeken. Via via kom ik terecht bij Theo Peeters van het Natuurmuseum Tilburg, waar een insectenwerkgroep actief is. Op 17 september ga ik er 's avonds heen en ik word vriendelijk ontvangen. Het is een zeer serieuze club van 11 aanwezige entomologen en er is een grote verzameling.



Ik laat ze mijn foto's zien en ze staan paf. Ze snappen mijn drijfveer en ze geven me wat adviezen en contacten, om te beginnen de directrice en public relationsmevrouw, die ik het volgende mailtje stuur.

- *Mail aan Natuurmuseum -*

Na een paar uur komt er al antwoord van Theo, die ik het briefje ook gestuurd had:

- *Enthousiast met wat opmerkingen – we gaan iets samen doen.*

Kijk – schitterende foto's - dat schiet tenminste op. Mijn foto's zijn naar hun standaard kennelijk niet al te slecht; ik hoef me dus niet te schamen. Ik ben wel benieuwd hoe het zal gaan met die hele kleine beestjes. Ik heb er een paar gezien en die zijn inderdaad heel erg klein. Het is een wonder dat ze nog alles hebben wat nodig is om te leven: zintuigen, spieren gewrichten, stofwisseling, voortplanting, gedrag, enzovoort.



Nog even over vergroting en scherpte. Ik werk nu vrijwel diffractiebegrensd door mijn N.A. 0.25. De limiet is dus de natuurkunde zelf, niet de optische opstelling. Zou je die langer maken dan krijg je zogenoemde 'lege vergroting' : wel meer pixels maar niet meer detail.

Van Lisette kreeg ik een KIIJK tijdschrift met SEM foto's van beestjes er in. Die zijn veel scherper en dat is logisch voor een electronenmicroscoop; je haalt daar wel zo'n 100 x de optische resolutie door de veel kortere De Broglie golflengte van versnelde electronen. Wat je hier ziet is ook niet het beestje zelf maar een gedroogd (SEM's werken in hoog vacuüm !) en met goud opgedampt beestje, anders kun je niet

SEM-men door oplading etc. Het is dus een beestvormig metalen huidje. In mijn NatLab-tijd heb ik een SEM cursus gevolgd bij mijn legendarische collega Riet Borchert en heb ik ook wel dergelijke foto's gemaakt.

Het zijn altijd zwart-wit foto's, in dit geval met de computer kunstmatig ingekleurd. Met optische microscopie waar ik mee bezig ben hebben we wel echte kleuren; het is tenslotte zichtbaar licht en zichtbare, eigen kleuren die ook op het dier zelf zitten en ook hun eigen signaal-betekeningen hebben natuurlijk.

Ondertussen was er nog een cicade die ik dood gevonden heb op tafel in de camper, in Amiens. Het is een relatief eenvoudig beest om te fotograferen hoewel er wel diepe stacks aan te pas komen. Hij steekt bevallig een van zijn vleugels onder het dekschild uit. Hij is een beeltje geel-groenig.



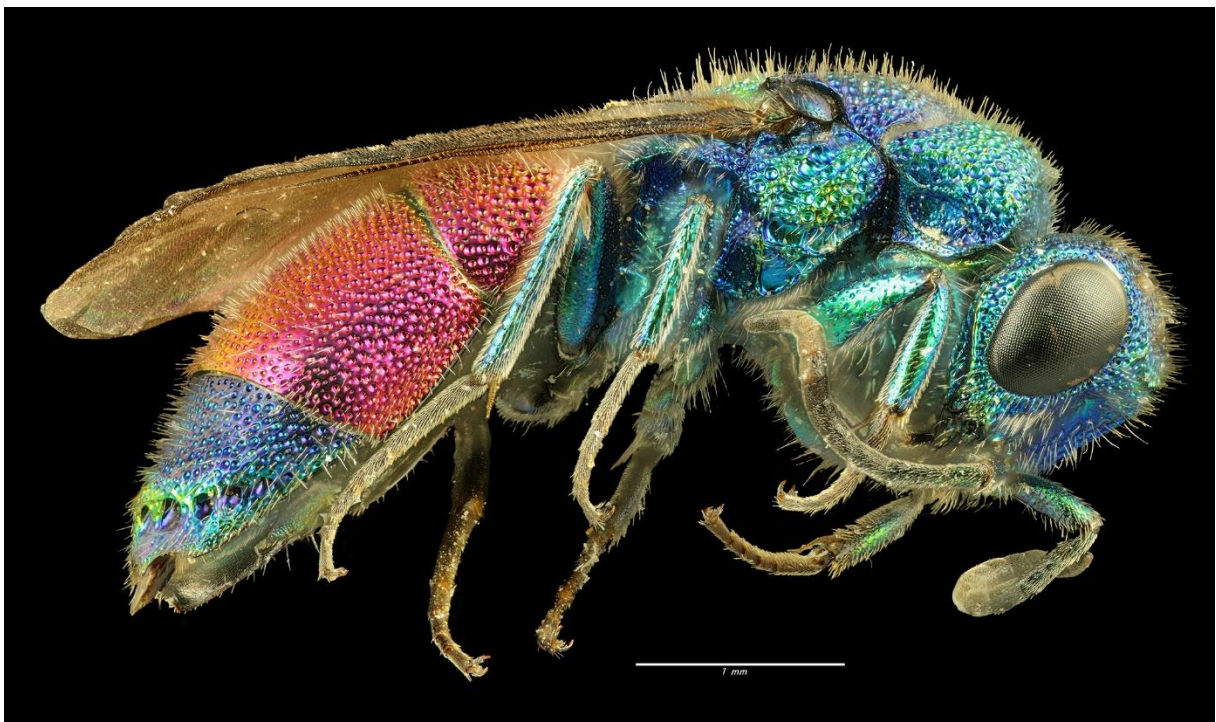
Hij heeft twee samengestelde ogen – ommatidia – en twee lens-ogen – ocelli – die mooi te zien zijn in een detail uit de foto van het geheel. Bij veel vliegen en wantsen heb ik dat ook gezien.



In Thermes had ik nog meer gevangen: een klein kevertje dat een beetje blauwe metalige glans had. Ik zie die glans nu niet meer terug. Kevertje van nog geen halve cm, maar wel 1302 opnames. De camera zit nu op 64851 clicks. Het is een nogal stoffig beest, maar ik doe toch een snelle postprocessing. Alweer een soort wants zo te zien; ik schijn alleen maar wantsen te vangen.



Behalve dit heb ik ook nog een leuk gekleurd beestje gevonden in Thermes. Het is wel een beetje opgefroren. Het heeft zowat alle kleuren van de regenboog in metaalglans. Echte interferentiekleuren. Hier heb ik ook weer die problemen met haartjes. Ik kan ze wat makkelijker te lijf als ik ze in het lightness kanaal van de Lab mode aanpak; de kleuren blijven dan gelijk in tegenstelling tot RGB mode.



Ik heb nog wat zitten klooiën met instellingen van het stacking programma Picolay. Picolay verwacht een reeks die opgenomen is van boven naar beneden. Je kunt de volgorde omdraaien met Image list / Reverse order als je het andersom gedaan hebt. Het zijn 151 lagen om te stacken.



Picolay Standaard current parameter settings



Photoshop stack

We zien meteen al dat PS niet zulke fraaie stacks maakt, veel opgevulde vage stukken er in waar nog wel degelijk detail aanwezig was. Je kunt bij Picolay nog aangeven welke lagen voorrang krijgen: bovenliggende of onderliggende. Instelling 0 heeft nul effect, 50 is het maximum. Voor mijn soort objecten lijkt toch Prefer High de beste. Uiteraard hoeft dat alleen bij dingen met overlappen in de diepte, pootjes die echt voor andere liggen.



Standard prefer high 50



Standard prefer low 50

Ondertussen kreeg ik ook antwoord van Fiona Zachariasse, directeur van het Brabants Museum.

Ze lijkt geïnteresseerd. Mooi. We zullen zien.

Maar dan dit!



Theo Peeters van de insectenwerkgroep heeft me een buisje met oefenmateriaal gestuurd. Miniwespjes in 70% alcohol. Ik weet niet wat ik zie! Stofjes zijn het, zo klein. Je moet echt onder het binoculair kijken om te zien dat er pootjes en vleugeltjes aan zitten. Ik wist niet dat we zulke kleine beestjes hadden in Nederland. Hij stuurt er ook wat naaldjes bij om ze op te kunnen prikken.

Tja, ik zal al blij zijn als ik ze uit het buisje krijg en op een glaasje gelegd. Dit is echt een andere

categorie werk. Misschien heb ik mijn 40x objectief nodig; probleem is dat dat geen LWD objectief is en een werkafstand van slechts 0,47 mm heeft. Maar wel en N.A. van 0.65. Het zou ook een belichtingsprobleem opleveren – ik wil donkerveldbelichting en daar is dan erg weinig ruimte voor. We zullen zien.

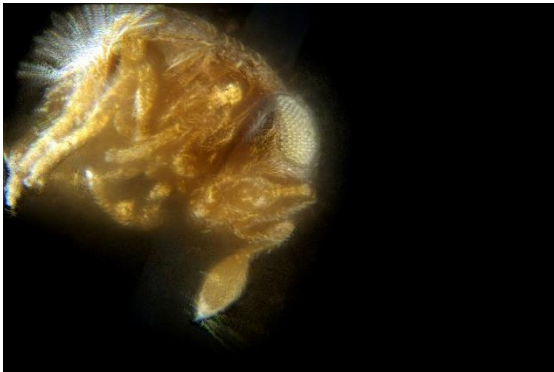
Eerste poging: Met een tandestokerpuntje vis ik een wespje uit het buisje met alcohol, en plaats hem op een objectglaasje. Ik laat 'm even liggen om te drogen en maak de opnames. Het wespje valt binnen één frame, hoeft dus alleen gestackt te worden en niet gestitched. Het wordt wel een verrassend diepe stack: 157 frames, voor zo'n miniem beestje. De pootjes steken kennelijk nogal omhoog. Ik gebruik alle vier lampen, 1/15 sec. Ik gebruik nu een opzet van 10 μ voor de stack frames. Het plaatje is in de highlights een beetje overbelicht, moet ik even op letten. Hier de ruwe stack en de gepostprocesste stack:



We zien hier wel dat het prepareren een probleem is. Deze beestjes zijn zo klein dat ik al blij ben dat ze niet onder mijn neus wegwaaien, laat staan dat ik ze zou kunnen manipuleren. En op een naaldje prikken is helemaal out of range voor mij. Er is ook een hoop stof te zien. Dat kan niet van het beest komen want die zwemt in de alcohol. Laat ik mijn objectglaasjes eens schoonmaken met zeep, dat blijkt te helpen. Er is best wat detail te zien, maar ik zit wel tegen de diffractielimiet aan:



Het beest lijkt geen vliesvleugelige te zijn; het zijn eerder een soort kwastjes of veertjes. Er zijn nog meer van die kleine friemeltjes: Een wespje zonder vleugels? Nu op 1/40 belicht. Hier weer het ruwe full frame beeld en het bewerkte:



Het is natuurlijk heel klein en ik probeer het eens met mijn 40x objectief. Het heeft een N.A. van 0.65 en het zou dus fijnere details moeten kunnen weergeven. Het frame is wel gevuld nu maar het ziet er niet best uit: scherp met een een dikke sferische aberratie wolk daaromheen. De werkafstand is ook maar 0.47 mm, dat is natuurlijk moeilijk want daarmee druk je hem net niet plat. Het beeld vignetteert ook, zodat het achterlijf verdwijnt. Opzet is 5 μ . Verder geen diffuser gebruikt bij de

verlichting, en 1/6 sec belicht. Dit gaat dus zo niet. Dit objectief heeft duidelijk een dekglas nodig en een plat object! Een 40 x LWD objectief, dat het wel goed doet, kost alleen 3000 Euro. Dat gaat ook niet.

Deze beestjes zijn zo vreselijk klein dat ik ze helaas verder niet kan bewaren. Ze vallen van het glaasje af en ze zijn weg. Zelfs in een klein doosje zie je ze niet meer terug. Ik denk dat ik er te kippig voor ben – hoewel kippen een uitstekend gezichtsvermogen hebben; wandelende microscoopjes zijn het.

Terug naar de proefexemplaren miniwespen. Weer een vleugelloos exemplaar, die iets groter lijkt dan de rest. Nou, toch leuk.



En dan, als laatste maar even, is er nog een heel dun wespje mét vleugels. Het lijkt dat het van dezelfde soort is als de eerste, maar hij belandt op zijn kop op het glas en ik zie geen kans hem er recht op te leggen. Maar voor deze proef, alla. Ik maak er een minimaal bewerkte versie van.



Het valt in goede aarde op de preparatie na. Dat is ook niet mijn ding. Ik ga maar gewoon verder; ik heb nog een dode groene vlieg uit de tuin. Die is toch wat groter, en in mijn eerste reeks opnames beslaat die al 4254 opnames. Ik weet nog niet eens of ik hem helemaal heb. Eerst stacken dan maar. Blijkt achteraf dus van niet.

Ik gebruik steeds de Picolay stacker; die werkt beter dan PS voor dit doel. Ik wil toch even kijken of andere programma's het ook goed doen. Er is ook nog het oudere Combine ZP, en ImageJ en Gimp zouden het ook moeten kunnen. Dit gaan we eerst proberen.

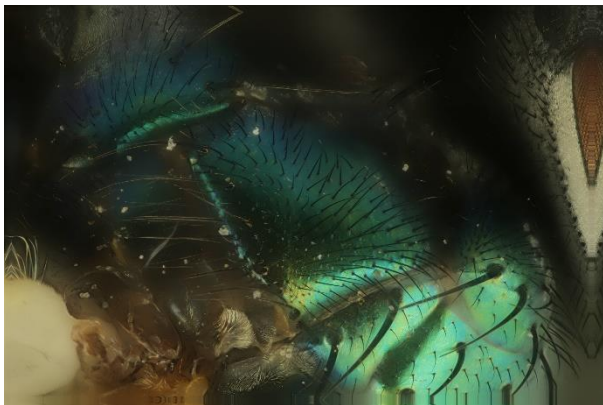
Combine ZP biedt verschillende algoritmes. Het duurt wel heel lang allemaal, vooral de Pyramids.



Do Stack



Do soft stack



Weighted average



Pyramid do stack



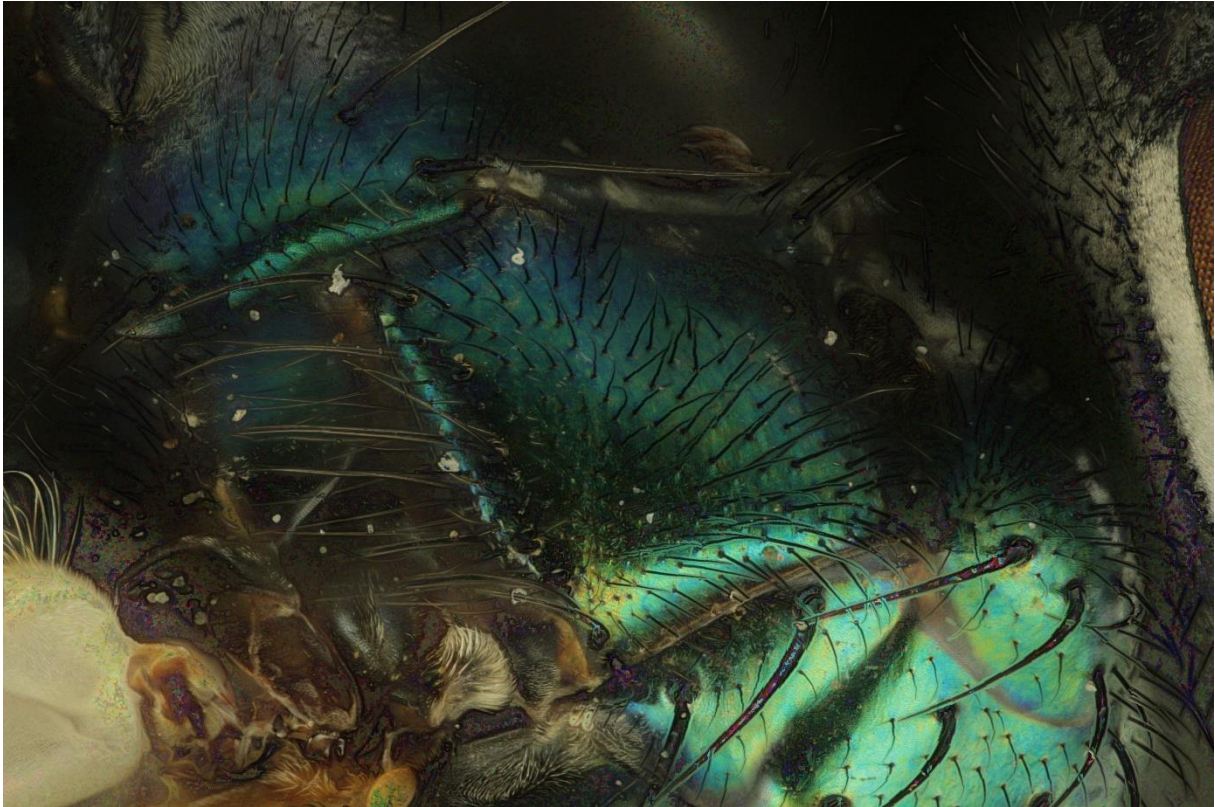
Pyramid max contrast



Pyramid weighted average

De weigted averages hebben weinig contrast en verliezen fijne details, bijvoorbeeld in het lichte ding linksonder. De Do Stacks geven de haren rechtsonder niet goed weer; ze worden doorzichtig. Als je nauwkeurig kijkt is de Pyramid maximum contrast het beste compromis. Er zit wel een extra rand om de foto's heen, die het beeld plaatselijk gespiegeld weergeeft. Dat moet je er later nog af halen.

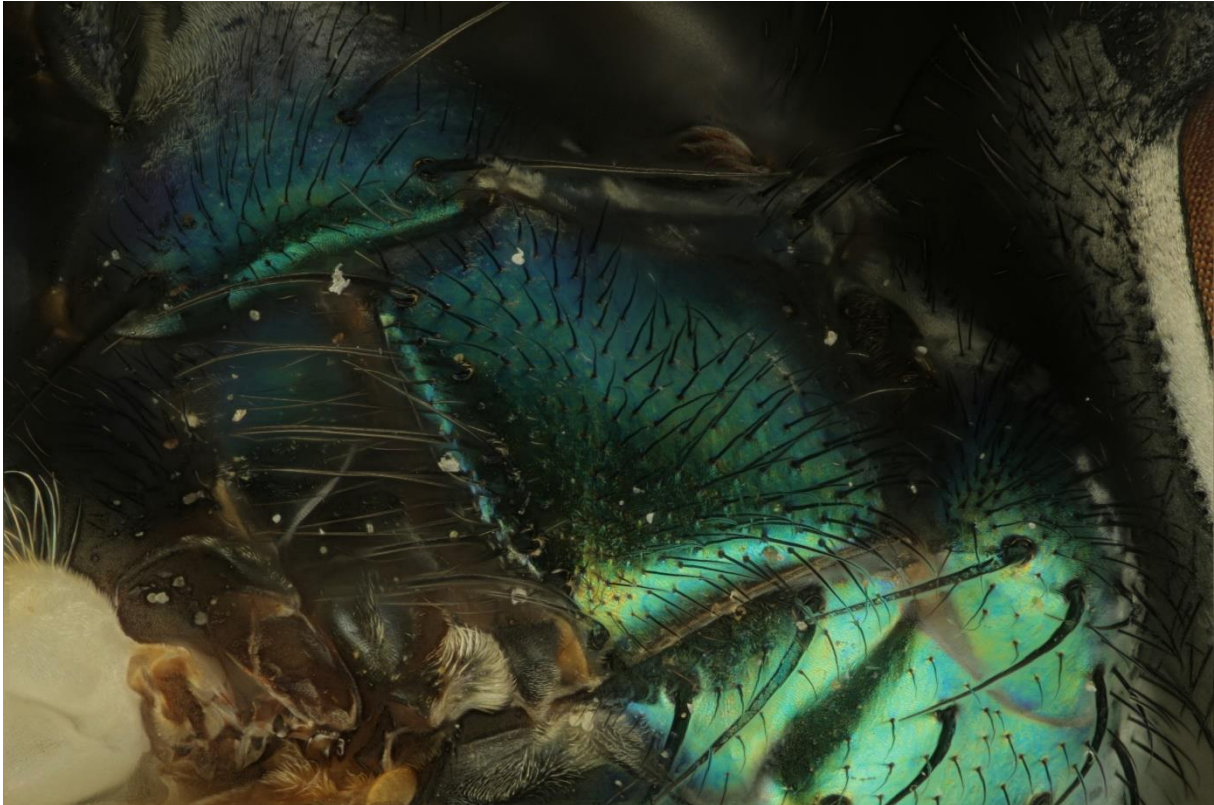
ImageJ doet het een beetje anders. Je moet vanuit de explorer een hele serie in ImageJ slepen, zodat ie de hele reeks opent. Dan moet je er een stack van maken, een soort filmpje waar je doorheen kunt scrollen met een slider. Dan is er een Stack Focuser Plugin, die kleur voor kleur doet, elk kanaal apart, en het duurt lang. Het resultaat is so-so, zie de haren rechtsonder, en de vlekken op het lichte deel linksonder. Maar heel slecht is het nou ook weer niet.



De andere mogelijkheid is natuurlijk Photoshop, dat is de volgende.



Onder ons gezegd bakt PS er niks van; vage vlekken en kronkelige haren.



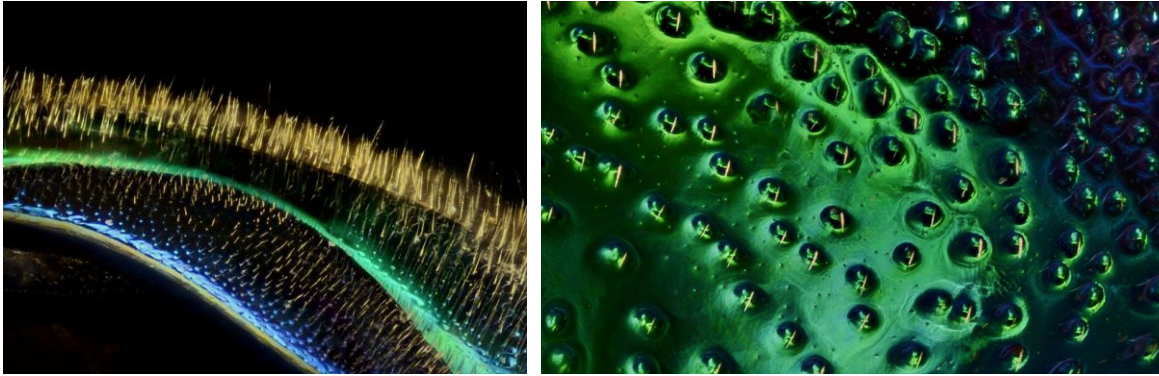
De Picolay stack is ook niet perfect, zie ook de haren, maar OK. De fijnstructuur in het lichte deel blijft aanwezig. Hoe Picolay werkt weten we niet maar we zien in de meeste gevallen dat de Pyramid methode het beste werkt voor deze beelden.

Ik heb eens gekeken naar de betaalde stacking software, wie wat gebruikt in de wereld. Levon Biss gebruikt Zerene of Helicon, en voor zijn workflow Capture One. Om alles aan elkaar te plakken Photoshop. Inderdaad doe ik dat laatste ook als ik verschillend belichte delen aan elkaar moet zetten; ICE kan het dan niet. Vaak kan ICE het wel beter dan ik zelf trouwens.

Nog even bij Biss kijken. Het lijkt er op dat hij alleen goed geprepareerde grote beesten neemt, met scherpe randen, die hij op een naald plakt zodat ze van alle kanten te bekijken zijn. Hoe hij ze stabiel houdt in plasticine weet ik niet. Hij vindt ook maar 1% van de beschikbare beesten geschikt om te fotograferen. Dat is wel heel beperkend.

Ik zie trouwens dat hij sinds kort ook delen van beesten als 'landschap' afbeeldt. Dat commentaar had ik op de fotoclub ook al gehad. Is inderdaad wel leuk maar toch een toevallig aftreksel.





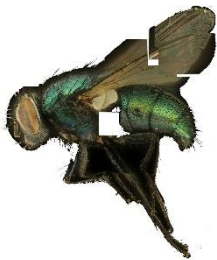
Voor het stacken: Er zijn meerdere andere mogelijkheden, maar twee programma's steken er bovenuit: Zerene en Helicon. Ze zijn kostbaar: 189 en 200 dollar respectievelijk. Er wordt in de fora opgemerkt dat Helicon veel sneller is dan Zerene. Ze hebben ook een betere website. Eerst zijn hier wat plaatjes die van de Helicon website komen, plus wat details daaruit waarin ik bekende problemen herken: halo in haren en rare overlap effecten in haren.



Van de Zerene website komen deze wat grovere en daardoor wat mindere plaatjes:



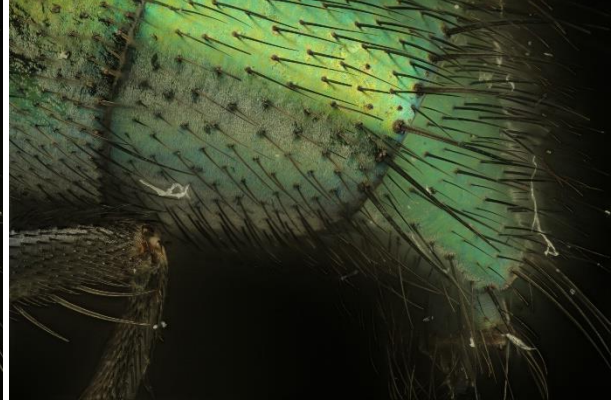
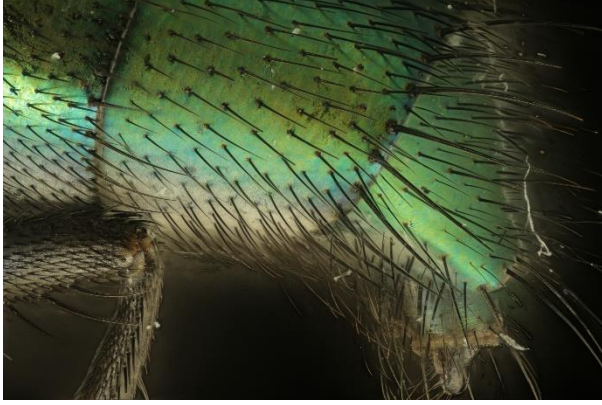
Ook dezelfde problemen dus, maar wel in mindere mate dan Picolay. Opvallend is wel de lichte achtergronden, vaak gekleurd zelfs. Dat gekleurde vind ik een beetje link vanwege de weerschijn die dat kan geven. Ik heb dat in het begin gemerkt bij witte achtergronden. Je kunt het altijd achteraf nog toevoegen. Ik vind het ook niet mooi.



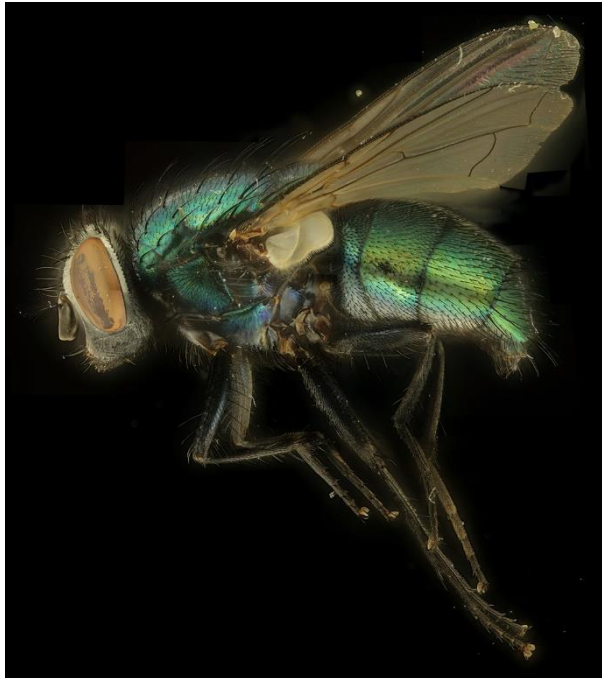
Ik ga verder met de vlieg. Die heeft tot nu toe 37 stacks opgeleverd, totaal ruim 4000 opnames. Het stacken doe ik toch gewoon met Picolay, want dat heb ik, en dat gaat het snelst hoewel toch een hele dag werk. Dit is een forse stapel stacks, en het gaat dan ook niet in één keer goed. Er ontbreekt een stuk in het midden en er zijn problemen met de vleugels: er zijn stukken weg en doordat ze achter elkaar zitten en doorschijnend maar niet doorzichtig zijn, twee scherpe vlakken die niet goed gescheiden worden. Ik doe dit opnieuw met de twee vlakken in een aparte stack. Twee hele nieuwe vleugels dus.

Hoppa! 1126 foto's erbij. De camera zit nu op 72219 clicks. Het vliegje is nu 5408 opnames.

Door een vergissing met de verlichting kan ik nu heel mooi zien hoe veel invloed dit heeft bij zo'n glimmend beest. Verlicht van boven en verlicht van onder:



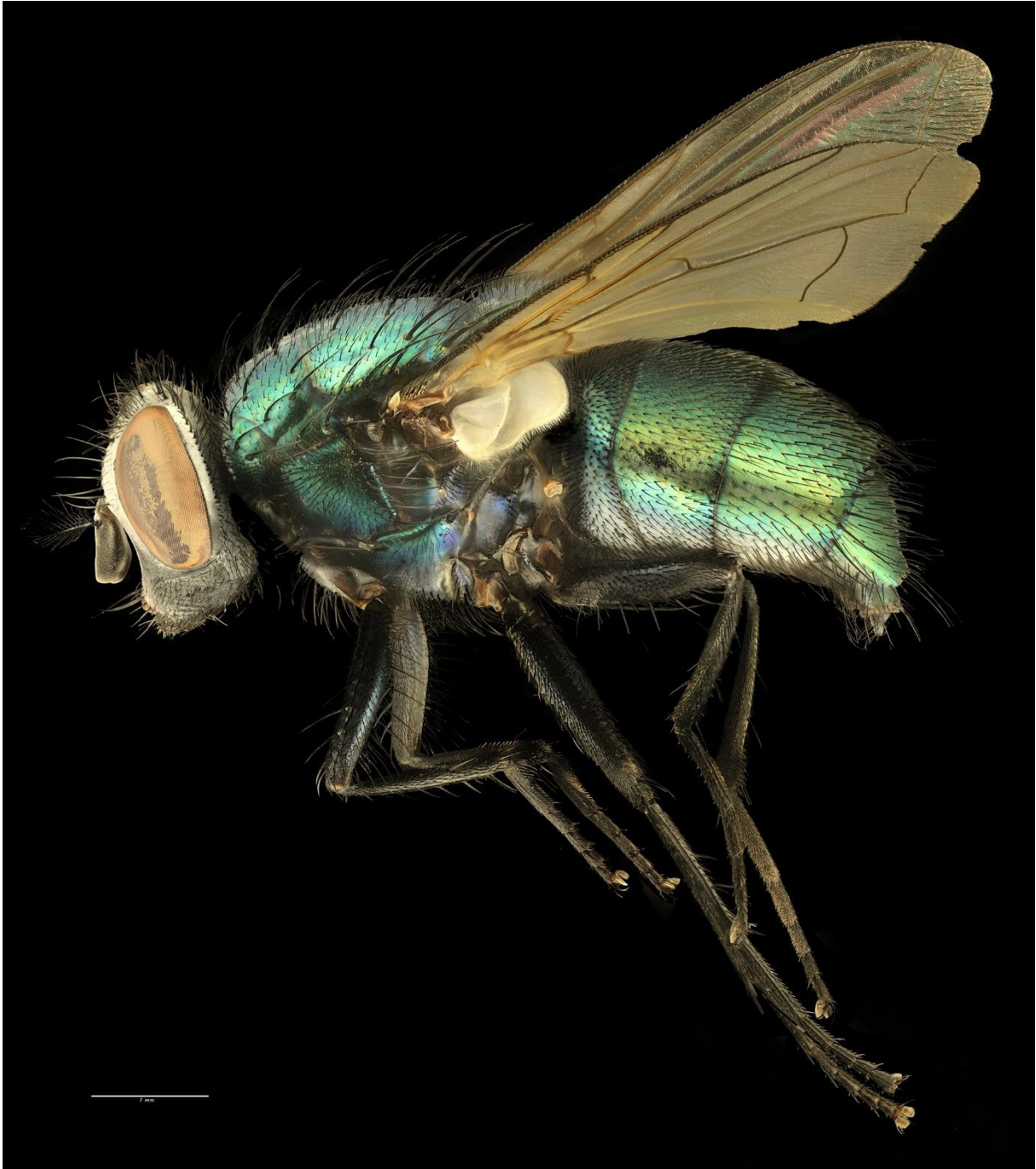
Let ook op de zichtbaarheid van het stofje links van het midden! Het zijn uiteindelijk 45 stacks geworden. Met wat knip- en plakwerk is er nu een ruwe file, nog vol halo en stof. Hij moet wel als *.PSB opgeslagen worden want met correctielagen er bij is ie groter dan 2 GB, wat PS in *.JPG files nog kan bewerken.



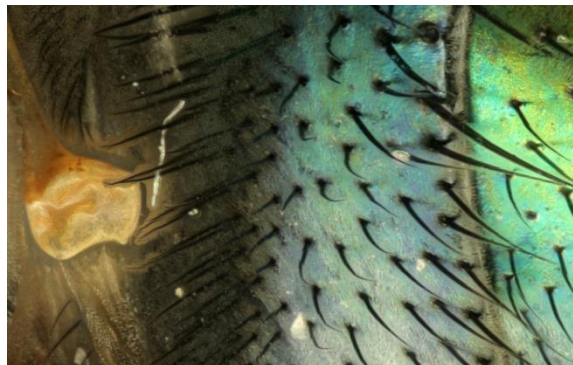
Ik stitch de stacks nog steeds met ICE, maar die maakt eigen keuzes welk deel die uit een stack kiest. Als ik dat niet wil moet ik het zelf doen in Photoshop maar dat is een enorm karwei. Alternatief is misschien om de stackbeelden vooraf te croppen zodat het mindere deel er niet meer aan zit, maar dat geeft natuurlijk ook misfits met als gevolg zwarte blokjes in het beeld.

Het is met achteraf gemaakte stacks, zoals hier de laatste serie na twee dagen, altijd een probleem dat er iets is veranderd aan de ligging van het beest, ook al is er niemand met zijn vingers aangeweest. Er is wat trekken en duwen in Photoshop voor nodig om dat weer helemaal goed passend te krijgen.

Het is net of ie echt vliegt! Na heel wat uren postprocessen (haren uitknippen, stof - zand, haartjes, stuifmeel – verwijderen) is het beest klaar. Hij is wel mooi geworden dacht ik.



Maar ja, toch zie je als kniesoor natuurlijk wel weer wat problemen. Achter het haltertje, dat wat ongelukkig belicht was in de gestichte stack, zitten dubbel afgebeelde haren.



In de oorspronkelijke stack 25 is dat niet zo. Ik heb een stukje vavan die stack op het hele beeld gemonteerd en in het doorzichtige deel is er dus een passingsfout. Makkelijk op te lossen natuurlijk; doe ik nog wel eens.

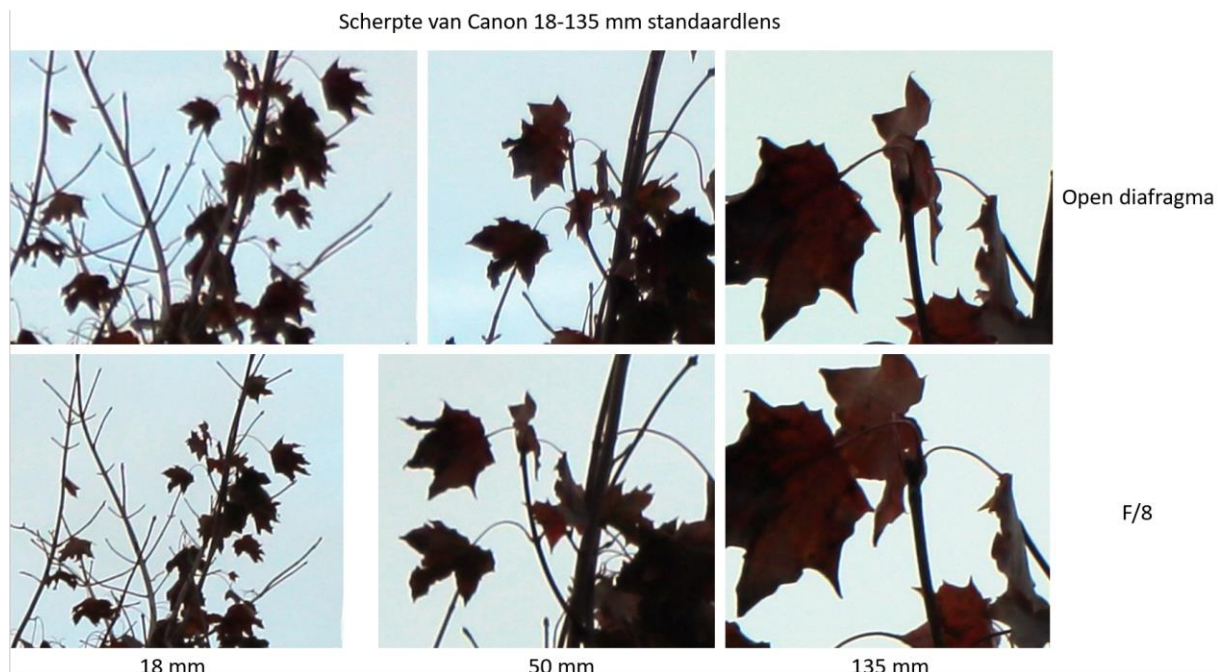
Het verdient dus ook aanbeveling nog wat beter te letten op de richting van de belichting. Ik heb hier meelopende belichting boven – achter – onder – voor gebruikt met telkens twee lampen, maar bij bijvoorbeeld de poten is dat niet optimaal want die liggen op ongeveer 45° en daar heb ik geen lampenpaar voor. Ik zou wel het objectplateau kunnen verdraaien maar dat heeft het risico dat het beest wat verschuift of kantelt en dan past er niets meer.

Vergroting van het beeldveld.



Voor wat grotere beesten is het handig om een wat groter veld in beeld te hebben. Ik heb met de 135 mm tube lens een schaal van 0,46 μ per pixel, en ik denk dat dat wel omhoog zou mogen naar het dubbele. Dat geeft me een groter beeldveld, en dus hoef ik minder stacks te maken. Ik wil maar eens proberen of mijn gewone standaardlens van 18 – 135 mm dit kan; er zitten wel veel meer lenzen in dan in mijn oude 135 mm F/2.8 lens met gevaar voor reflecties zoals ik die ook had in mijn 90 mm macrolens. Ik probeer eerst

even hoe scherp deze standaardzoom is op een contrastrijk beeld van een boom tegen de lucht bij verschillende instellingen.



Het plaatje met open diafragma op 50 mm brandpunt (F/5) lijkt het scherpste maar duidelijk is wel te zien dat de cameraverscherping aan staat (faithful, sharpness 3). Die verscherping lijkt alleen maar een contrastverhoging te zijn van de randen, geen profielverscherping in de geest van reverse Savitzky-Golay of zo. De camera staat ingesteld op de één na laagste verscherpingstap.

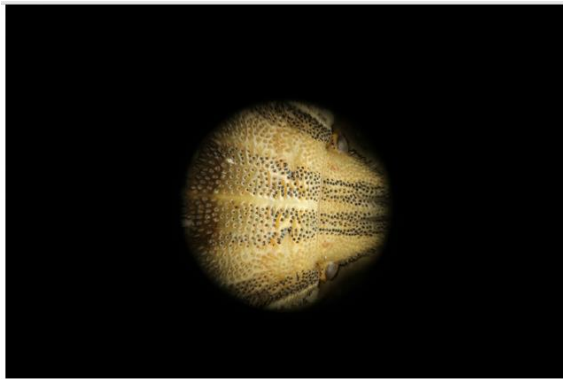


Toch is de overgang maar een pixel of 2 tot 3, overeenkomstig de diffractielimiet. Ik kan dus wel proberen deze lens als tube lens te gebruiken. Ik moet wel even wat met plakband en zo doen want het microscoopobjectief past natuurlijk niet op de 67 mm filterdraad.

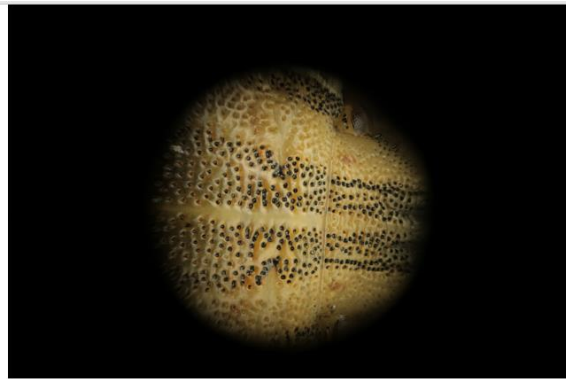
Het probleem zit hem natuurlijk in de combinatie van ligging van de intreepupil, de vignettering, en het veld van het microscoopobjectief. Bij de vastbrandpunt 135 ligt de pupil helemaal achterin, bij de standaardzoom is het véél kleiner en de plaats is variabel met de F instelling. Het is even een gedoe met plakband en vulringen maar het gaat. Ook mijn Yongnuo panoramalens 50 mm F/1.8 neem ik mee.



De oorspronkelijke stack met de 135 mm F/2,8 lens ziet er uit als bovenstaand. De zoamlensbeelden zijn als volgt:



50 mm F/5



85 mm F5,6



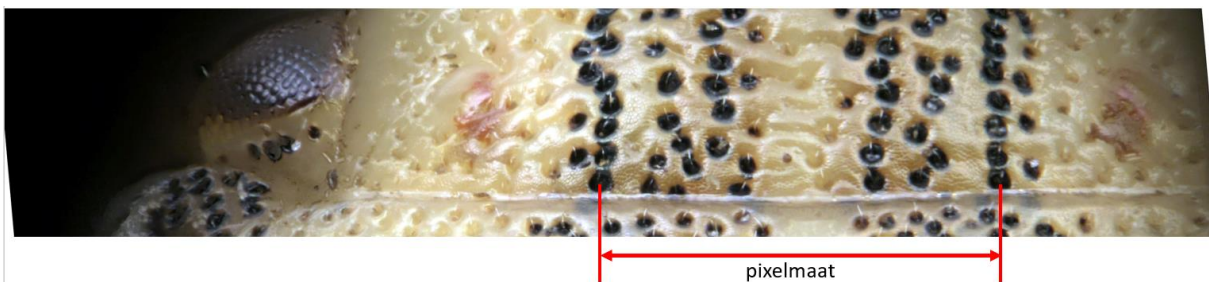
135 mm F 5,6



50 mm F/1,8

Het is duidelijk dat er een enorme vignettering optreedt, vooral bij de korte brandpunten. Bij de 50 mm F/1,8 lens komt het objectief wel op ca 2 cm vóór het glas te zitten; deze ligt wat verdiept maar geeft toch een bruikbaar beeld alleen met veel minder resolutie. Bij mijn Panagor vast brandpunt lens en ook bij de Canon zoom is dat maar een paar mm. Wat nog wel bekeken kan worden is de schaal, de vergroting van de beelden en de detaillering.

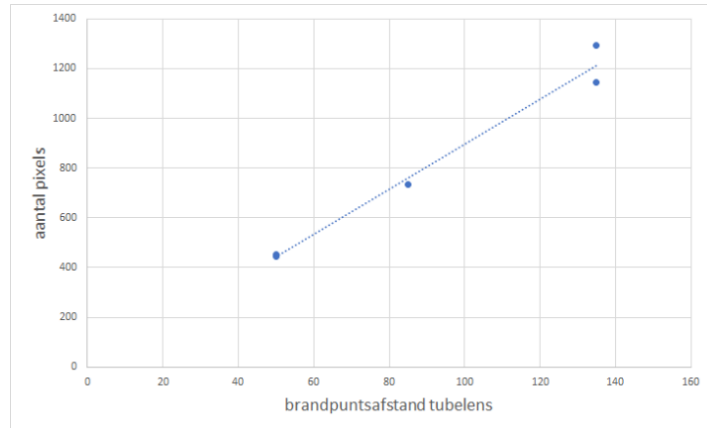
Ik heb bekeken wat de afstand in pixels is van het aangegeven deel van het beeld.



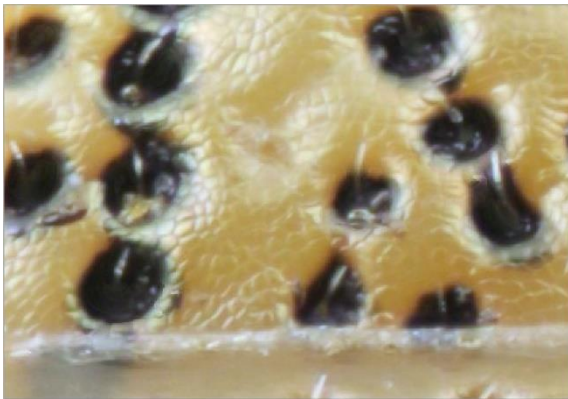
De pixeltelling ziet er als volgt uit:

F mm	Pixelmaat pix
50 zoom	446
50 vast	454
85 zoom	736
135 zoom	1146
135 vast	1293

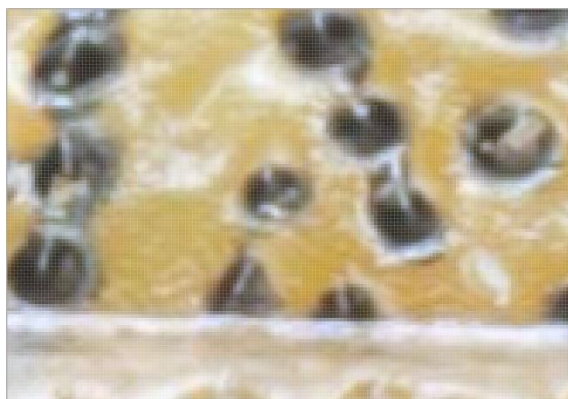
We zien dat er zeker voor 135 mm nogal verschil in vergroting is; kennelijk klopt die instelling niet erg.



Wat veel belangrijker is, is de mate van detail die we zien in de verschillende foto's, ondanks de verschillen in pixelschaal. Eerst maar eens zien wat we hadden. Ik vergroot het middenstuk uit de bovenstaande strook en maak screenshots uit PS.



Panagor 135 mm prime F/2,8 @ 300%

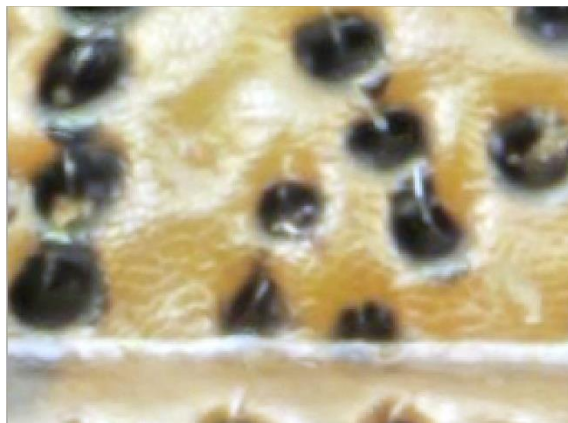


Yongnuo 50 mm prime F/1,8 @ 800%

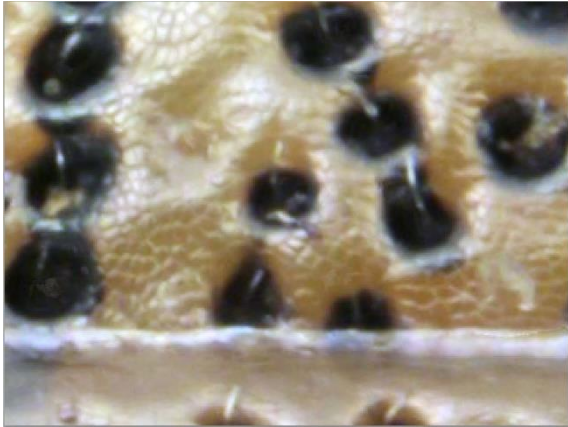
En dan drie instellingen van mijn standaardzoom



Canon 18-135 @ 50 mm F/5 @ 800%



Canon 18-135 @ 85 mm F/5,6 @ 500%



Canon 18 – 135 @ 135 mm F/5,6 @ 300%

Het lijkt er op dat fotograferen met korter brandpunt vooral een vermindering van detail geeft, maar inderdaad wel een groter veld. Mijn sensor blijft met APS-c natuurlijk wel even groot, maar de pixelschaal verandert wel dramatisch.

Beelden met 50 mm opgenomen zijn 165 pixels breed met een pixelschaal van $2,7 \mu$ /pixel, dat met 85 mm zijn 254 pixels breed met een schaal van $0,73 \mu$ /pixel en met 135 mm zijn 438 pixels breed met een schaal van $0,46 \mu$ /pixel als vanouds.



Ik zou nog naar een wat langer brandpunt kunnen gaan zelfs zoals 200 mm maar dat kost weer een hoop geld (499 Euro deze tweedehandse) en het is maar de vraag wat het oplost. Bij 135 mm reeds loop ik aan tegen de resolutie van het objectief dus daar verwacht ik niet veel van. Mijn oorspronkelijke keus voor mijn oude Panagor lens was dus nog niet zo gek; ik vind zelfs dat die het een fractie beter doet dan de Canon zoom, terwijl die veel moderner is en overigens een prima lens. De twee 135 mm foto's hebben wel een iets andere verlichting; het is dus niet helemaal volledig vergelijkbaar.

Als ik ooit eens optiek ga vervangen/ een ander microscoopobjectief ga gebruiken, dan moet e.e.a. zeer degelijk getest worden dus.

Wat natuurlijk ook nog kan is een echte tubelens te gebruiken. Bijstaande ITL200 mm van Thorlabs schijnt veruit superieur te zijn; kost 451 Euro.

Ik moet altijd nog eens kijken wat eigenlijk de scherpte is van een normale fotoprint, die je krijgt van een afdrukcentrale. Die zien er behoorlijk scherp uit, althans voor mijn kippige ogen. Ik pak een klein printje waar Bregje en Kriss op staan en die leg ik onder de microscoop en ik maak een stack (62 diep). Het blijkt dat zo'n print zijn eigen pixels heeft, uit blokjes bestaat dus. Er zitten lichte lijntjes tussen de blokjes, kennelijk is dat een eigenschap van de plotter die het papier belicht. De periode is ca 160 pixels, ofwel 74μ . Dat is ca 343 dpi.

THORLABS Create an Account

Products Home | Rapid Order | Services

Products Home / Optical Systems / Objective Lenses, Scan Lenses, and Tube Lenses / ITL200

ITL200 - Tube Lens, f = 200 mm, External M38



Part Number: ITL200 - [Ask a technical question](#)

Package Weight: 0.09 kg / Each

Available: Today

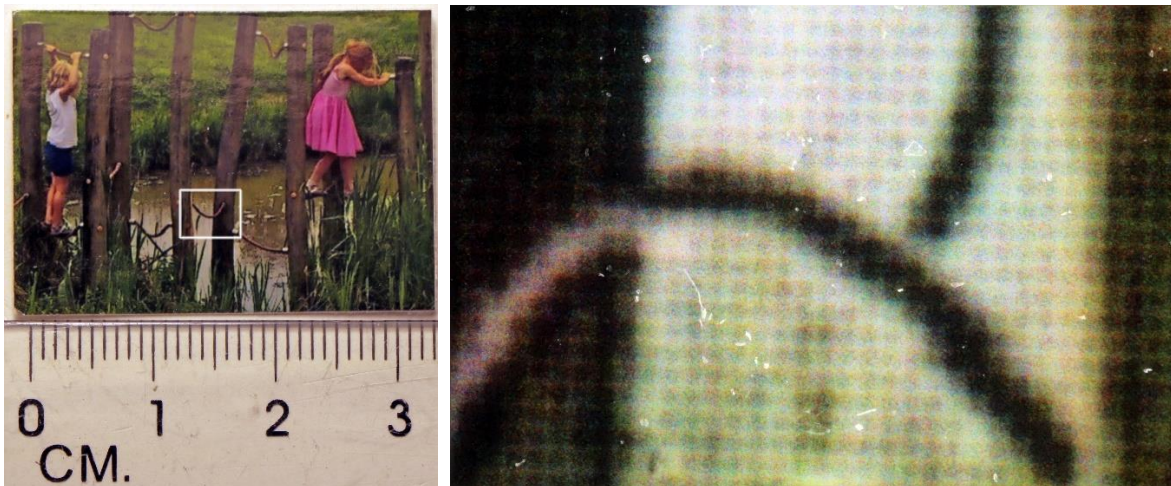
RoHS: RoHS

Price: 451,50 €

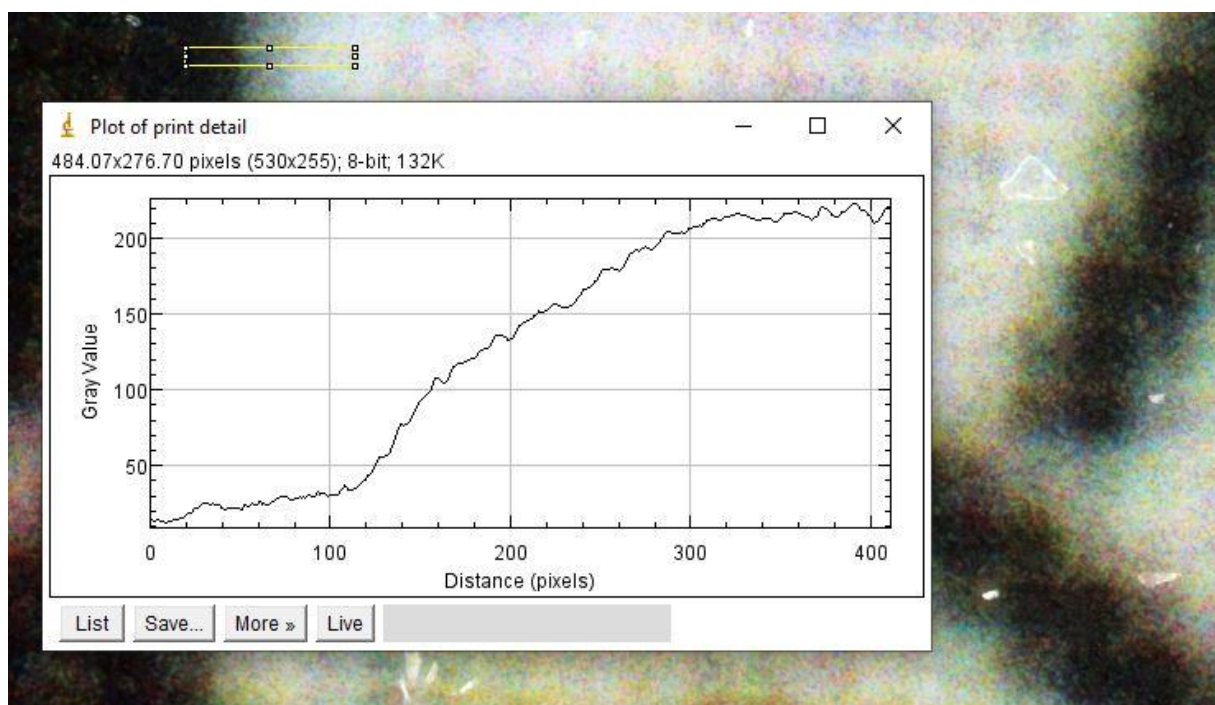
Add To Cart: Qty:

Release Date: 04.09.2014

[Zoom](#)



Bekijken we (in ImageJ) het profiel van een licht-donker overgang dan zien we dit:

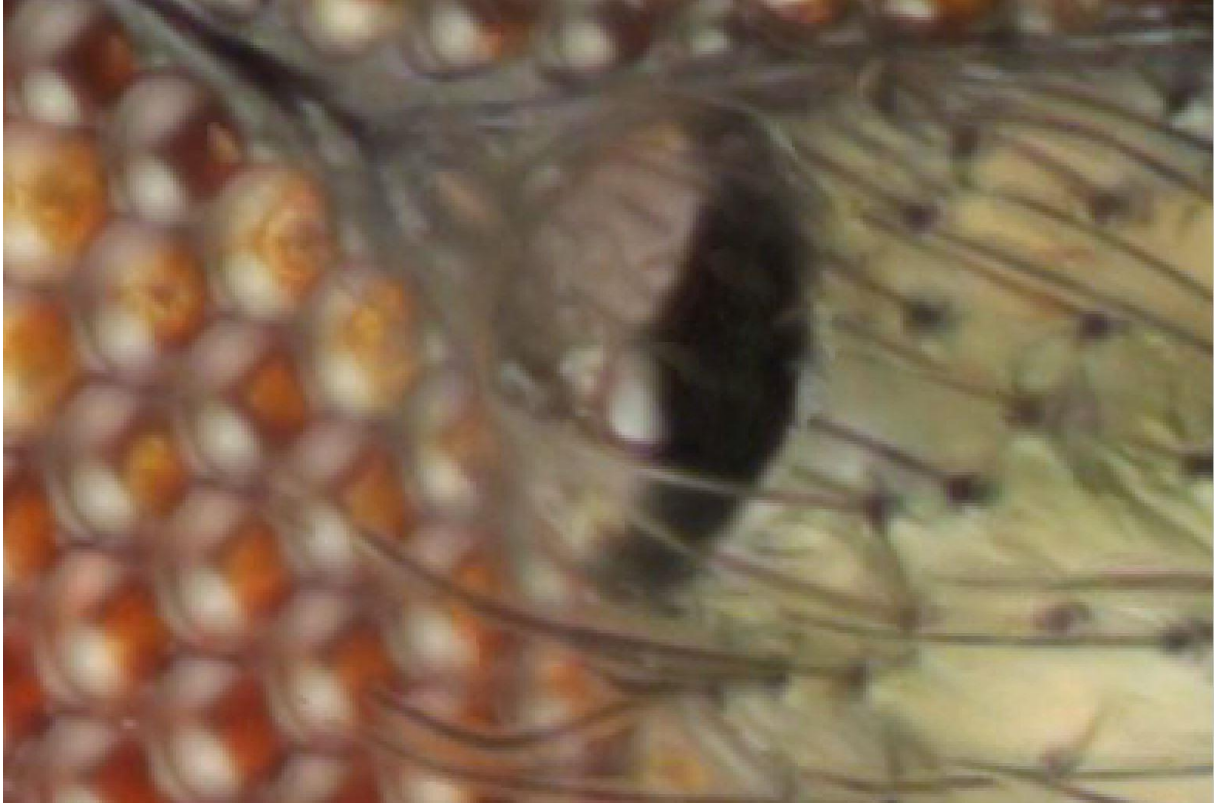


Ruwweg rekenend met de 20%/80% regel is de overgang ongeveer 150 pixels breed, dat is 70μ . Komt ongeveer overeen met het blokjespatroon, daarop gesuperponeerd nog een aanzienlijke ruis / korrel van het fotopapier. Dat is precies 1 boogminuut gerekend op 250mm kijkafstand; ofwel een visus van 100%. Da's vast niet zo maar.

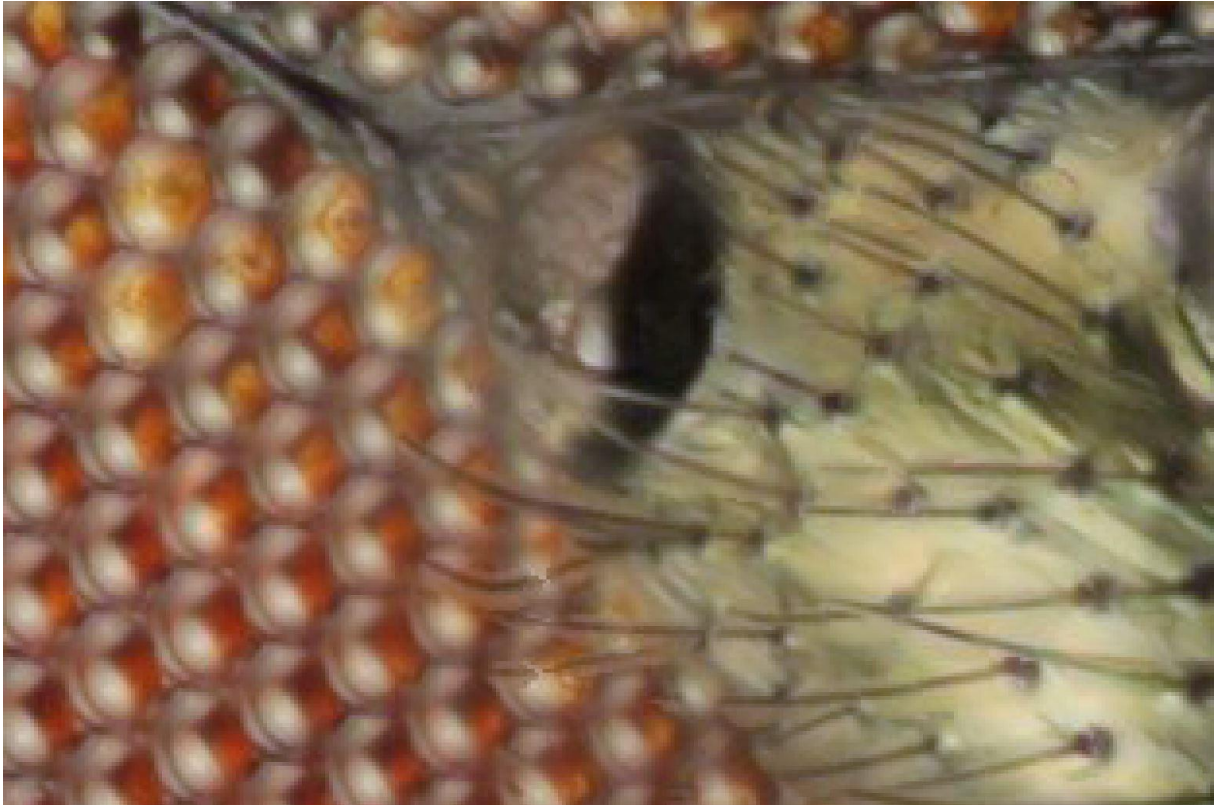
Ondertussen heeft Directeur Fiona Zachariasse van Natuurmuseum Brabant gereageerd met een verheugende mail waaruit blijkt dat ze graag een activiteit samen willen doen gebruik maken van mijn foto's.

Ik heb op 25 oktober Fiona ontmoet in Tilburg om kennis te maken, terwijl we met Bregje en Kriss het museum bezochten. Prima intensities trof ik er aan.

Ondertussen experimenteer ik verder. Ik probeer of het stacken versneld kan worden door de beelden eerst te verkleinen of dorr de camera op M-resolutie te zetten. Die geeft 3456 x 2504 pixels, veel minder dus, zou zo maar een factor twee tijdwinst kunnen geven. Ik neem een serie van 50 beelden op volle grootte (5184 x 3456 pixels) en in PS verkleind tot 3000 x 2000 pixels, een iets sterkere verkleining dus nog. De 50 grote beelden kosten 145 seconden om te stacken, de verkleinde kosten 52 seconden. Veel sneller dus, ongeveer in verhouding met de 3 x minder pixels. Het resultaat is echter ook verslechterd zoals te zien uit een paar sterk vergrote delen uit de stacks.



Detail uit Vol beeld 5184 x 3456 pixels



Detail uit Verkleind beeld 3000 x 2000 pixels

Het volbeeld lijkt wat zachter maar heeft echt meer details. Er zijn ook wat haken en artefacten, net onder het midden in twee haren. Ik moet het dus zo laten.

In Leenderstrijp had ik een aanvaring met een klein vliegje, met gele stipjes er op. Het beest had zijn smalle vleugeltjes op elkaar in de lengte gevouwen zodat het een heel smal geheel was, nog geen millimeter. Na de stikpot had ie ze echter uitgevouwen als om weg te vliegen, en zijn pootjes ingetrokken. Ik heb op mijn rotatietafeltje een hefboompje gemaakt zodat ik het makkelijker kan draaien en probeer zo het beestje zo gunstig mogelijk te belichten. Dat valt nog niet mee. Voor de pootjes zou het wel kunnen maar het lijf is moeilijk omdat er ook vleugeltjes overheen steken. Het meelopen van de belichting is dan gemakkelijker. En als je gaat draaien ben je *in no time* de tel kwijt.



Het is een smal beest dus je kunt het zelfde frame dan beter twee keer belichten, elk van een kant en dan later monteren. Nog een poging dan maar, weer 2440 opnames. Je ziet trouwens wel dat als het

beest een weekje ligt, dat het uitdroogt wellicht en daardoor wat deuken krijgt, in het borststuk en in de ogen. Ik heb ook de indruk dat het patroon van lichtere facetten in de ogen verandert met het uitdrogen; ze worden lichter bruin.

Voor het stitchen gaat ICE niet zo goed omdat ik meerdere verschillende belichtingen heb. Het meeste moet dus in PS gebeuren, met aandacht voor enkele notoire probleemgebieden zoals de harige randjes van vleugels die over iets anders heen liggen. Ook wil ik een beetje doorzichtigheid van vleugels bewaren zoals van de voorste vleugel op de glimmende rug; het deel dat het achterlijf afdekt krijgt alleen maar een zweem van de kleur die er achter zit. Je moet het wel kunnen onderscheiden van de interferentiekleuren in het achterdeel van de vleugelvliezen.

Jammer dat de pootjes weer zo rommelig liggen. Het beest verdoven onder mijn spangaasje was niet te doen want het is een vlieg en die is meestal te snel gevlogen.



Ik begin trouwens steeds meer last van stof te krijgen. Ik weet niet wat het is maar het zweeft rond en komt overal op, dus ook op mijn apparaat. Ik zal er eens een Swiffer doekje bij leggen, dat werkt heel goed tegen losliggend stof. Orde en netheid op de werktafel is dus geboden.

Ik zie een groot aantal dooie vliegjes op mijn Pinguicula vetblad plantje zitten. Ik probeer eens dat te fotograferen. Ik haal de kruistafel weg en ik zet de hele bloempot er onder. Verschuiven doe ik dan met de hand. Het is maar een klein beestje dus 6 stacks zijn genoeg. Ik kan niet mijn koffiebeker diffuser gebruiken dus ik neem gewoon twee kale lampjes. Dat zie je ook wel aan het resultaat: allemaal rare glimmertjes. Het is wel duidelijk dat het als vliegje niet goed met je afloopt als je op zo'n blaadje vol lijmdruppels landt.

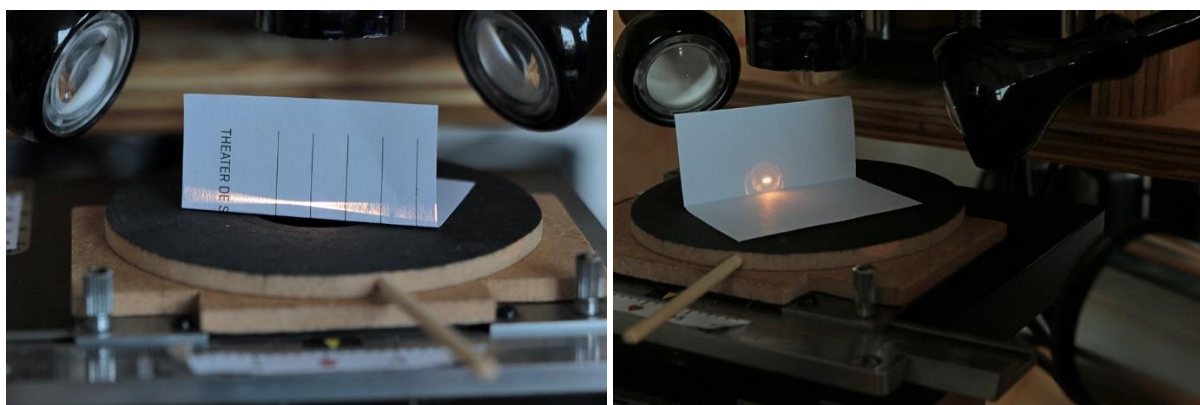


Op deze schaal is alles doorzichtig en je ziet dus geen relief in het blad. Met het blote oog ook nauwelijks maar de lijmdruppels zie je wel; zijn in dit beeld alleen verdwenen. Misschien kan een andere belichting daar iets aan verbeteren.

En nu een reeds oud idee: Het lichtmes als mogelijkheid op het haloprobleem bij haren en onder een schild uitstekende pootjes te vermijden. De methode is eigenlijk alleen bedoeld voor confocale fluorescentiemicroscopie maar ik ga het toch proberen. Ik maak het van een Avantes spleet van 1 mm x 200 μ - ik heb ook smallere - dat ik met een LED uitlicht en projecteer op het objectvlak met een 50 mm Hastings projectieoculair (een symmetrisch triplet). Het geheel staat op een labjack om grof de hoogte in te stellen; de fijne instelling kan met de objecttafel. Hij staat dus op een vaste hoogte, wat de toepassing beperkt. Hij zou met de camera mee moeten bewegen maar dat is wat meer constructie voor nodig; eerst dit maar eens proberen. In een light sheet microscoop staan optiek en lichtmes stil en beweegt het object door het focus. Bij mij beweegt de camera bij het maken van een stack en het object staat stil. De spleet kan vergroot of verkleind worden afgebeeld, afhankelijk van de diepte instelling van het oculair.



De verlichte plek op het object is een horizontaal vlak met de afmetingen van de spleet.



In deze eerste testopstelling zit er nog wat zwakkere zooi door reflectie omheen maar dat ligt ver uit het vlak dus zal ik daar geen last van hebben. Het lichtmes kan in verticale richting voor en achter focus nog wat dunner gemaakt worden door de N.A. van de lens wat te diafragmeren met een spleet.

Ik doe een test met mijn tweekleurig goudhaantje, dat van die moeilijke haren heeft. Ik laat het lichtmes meezakken met de camera door aan de labjack te draaien zodanig dat de scherpte steeds ongeveer in het verlichte stuk zit. Heel lastig want het is steeds maar een smalle scherpe strook in de 200 μ verlichte laag maar het gaat om het idee. De beweging was wat hakkelig waardoor er zeker wat dontere stroken in zullen komen. Het is moeilijk te zien of het licht van het mes op de goeie diepte zit. Het verschil is dramatisch. De middelste foto's van de 196 diepe stacks (2,9 mm) zijn onderstaande, met verlichting door 1 lampje zonder diffuser en met het lichtmes. Het licht komt hier wel van verschillende kanten; het lichtmes van een ca 60° ruimere richting.



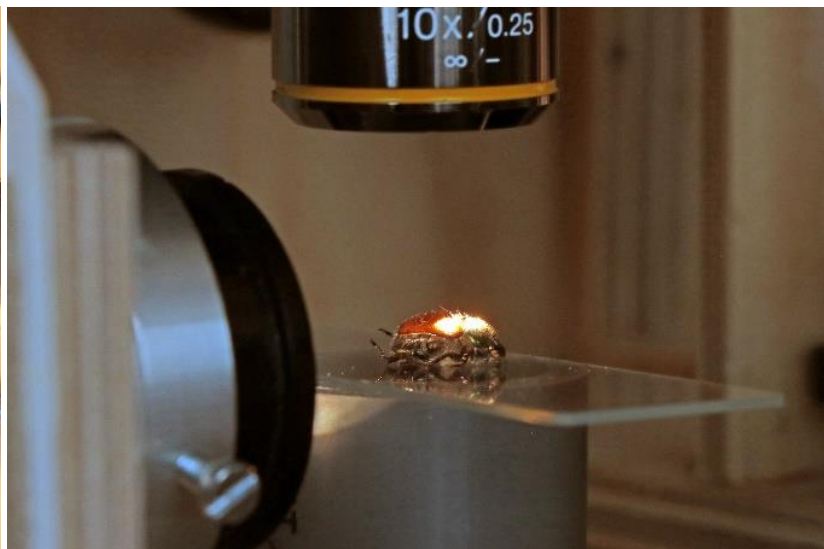
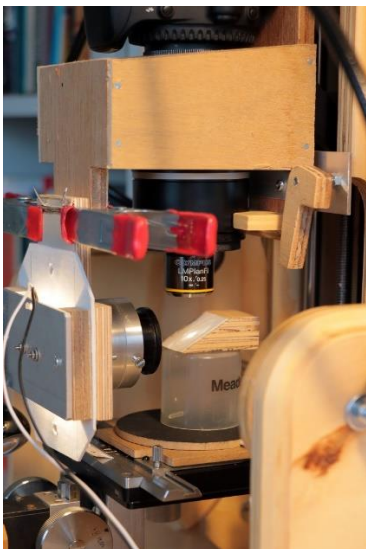
Bekijken we de gehele stack dan is er zeker wel verschil!



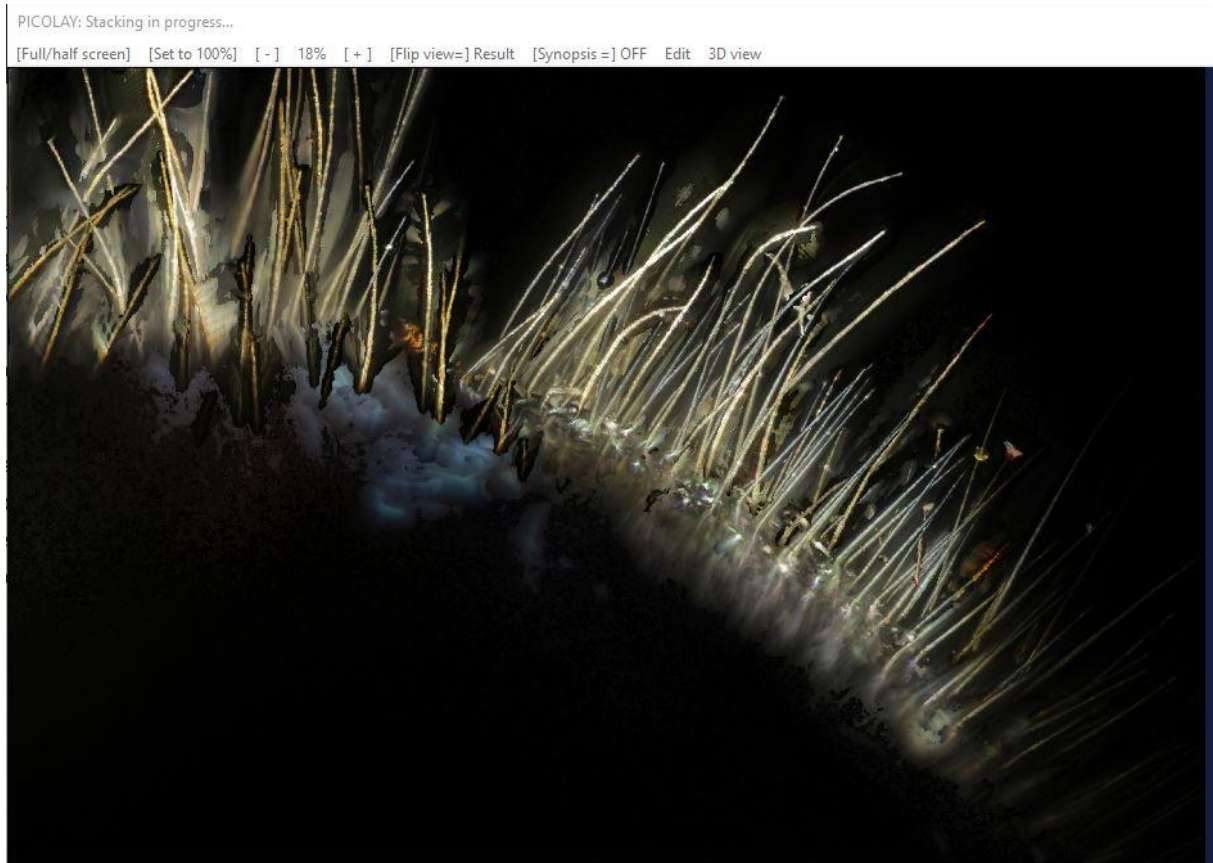
Lampje

Lichtmes

Inderdaad is de halo nagenoeg verdwenen. Omdat dat lichtmes zo'n sterk gerichte bundel heeft zijn er meteen ook problemen met hoogglans reflecties die overbelicht raken. De verlichting door het mes is ook feller: 1/250 sec ipv. 1/60 sec, en toch nog een stuk lichter. Zou best een factor 10 meer licht kunnen zijn. We zien ook dat het deel rechtsboven ontbreekt doordat dat buiten het verlichte veld viel. Ik moet de spleet dus wat meer vergroten; voordeel daarbij is dat de lichtmes tubus wat korter wordt, maar de projectieafstand wat langer. Je zou het wel bijvoorbeeld voor alleen de haren kunnen gebruiken. Het is duidelijk dat het lichtmes met de camera mee moet bewegen.



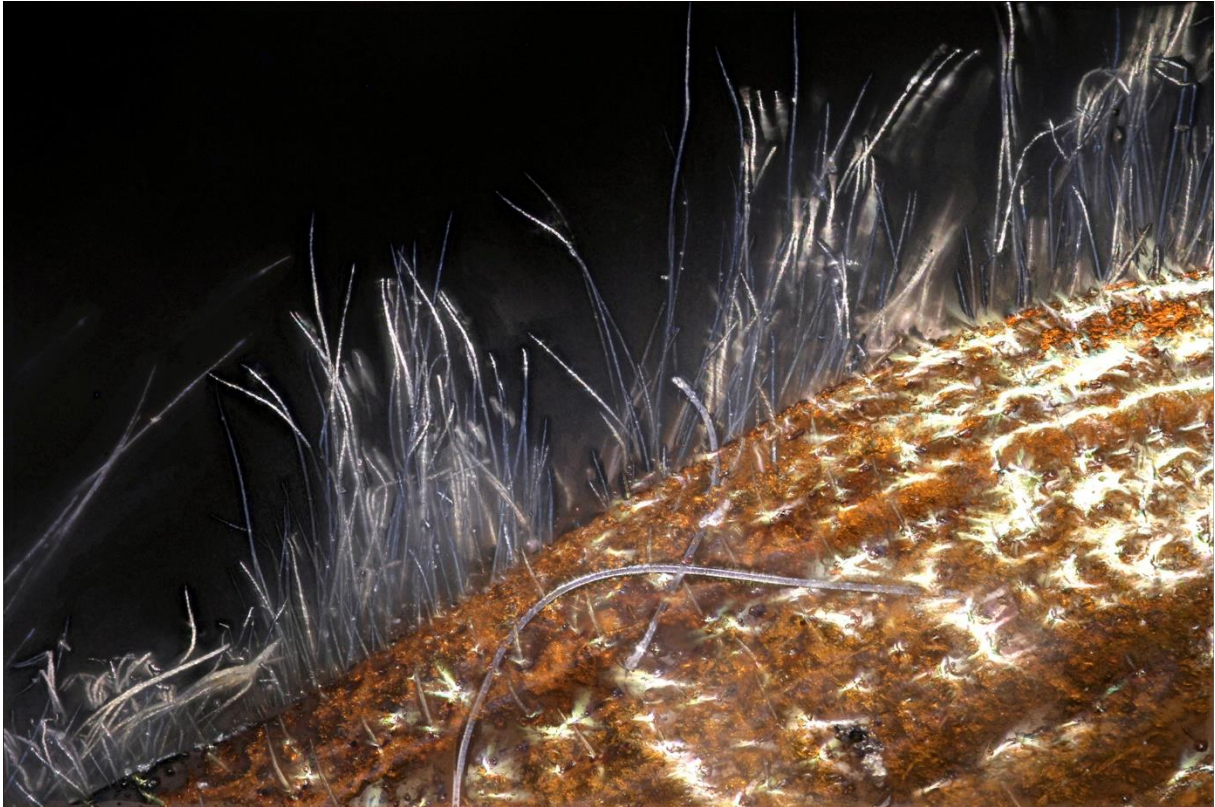
Ik maak dus een provisorische constructie rond de camera waar ik de lichtbron aan vast kan maken en ik probeer het aldus nog eens met een meelopen lichtmes. Ik gebruik nu een 20 mm Huygens oculair achterstevoren voor de projectie van de spleet, dat een redelijk beeld van de spleet geeft, 2 ½ maal vergroot. Het licht komt nu recht van voren, niet van de zijkant zoals in het vorige geval. Daarmee vult het juist de breedte van het beeldveld op; de dikte van het lichtmes is daarmee 500µ geworden. Wellicht wat veel maar we moeten zien. Ik zoek het goede kruispunt van microscoop-as en lichtbron-as met mijn 30° microtekst blokje. Het is erg lastig dit op de goede plek te krijgen, ook al omdat het afstellen provisorisch is met een paar knijpers. Dit zou in de toekomst gecontroleerder moeten worden.



We zien wel heel mooi dat er maar een smalle diepte-band tegelijk belicht wordt, zoals blijkt uit dit tussenliggende beeld van een laagje of dertig. Het hele ruwe beeld (stack van 267) is dit:

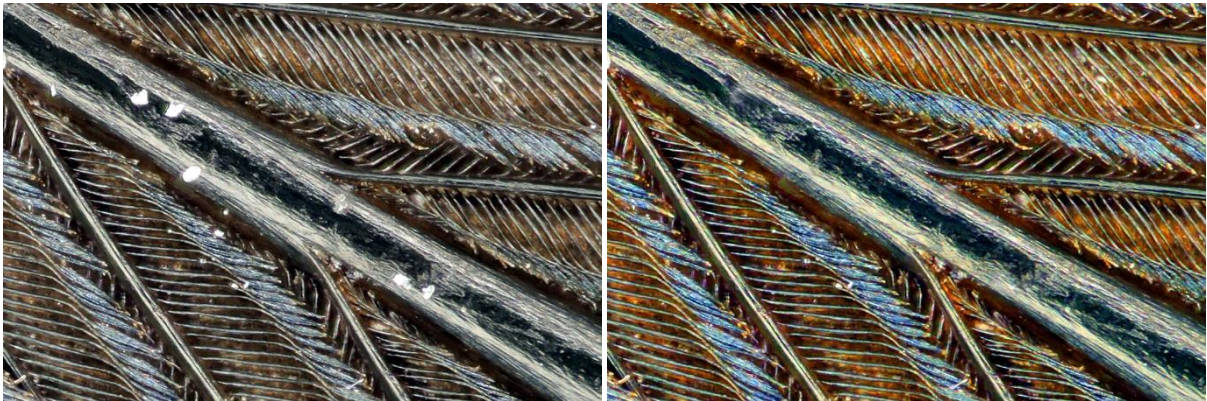
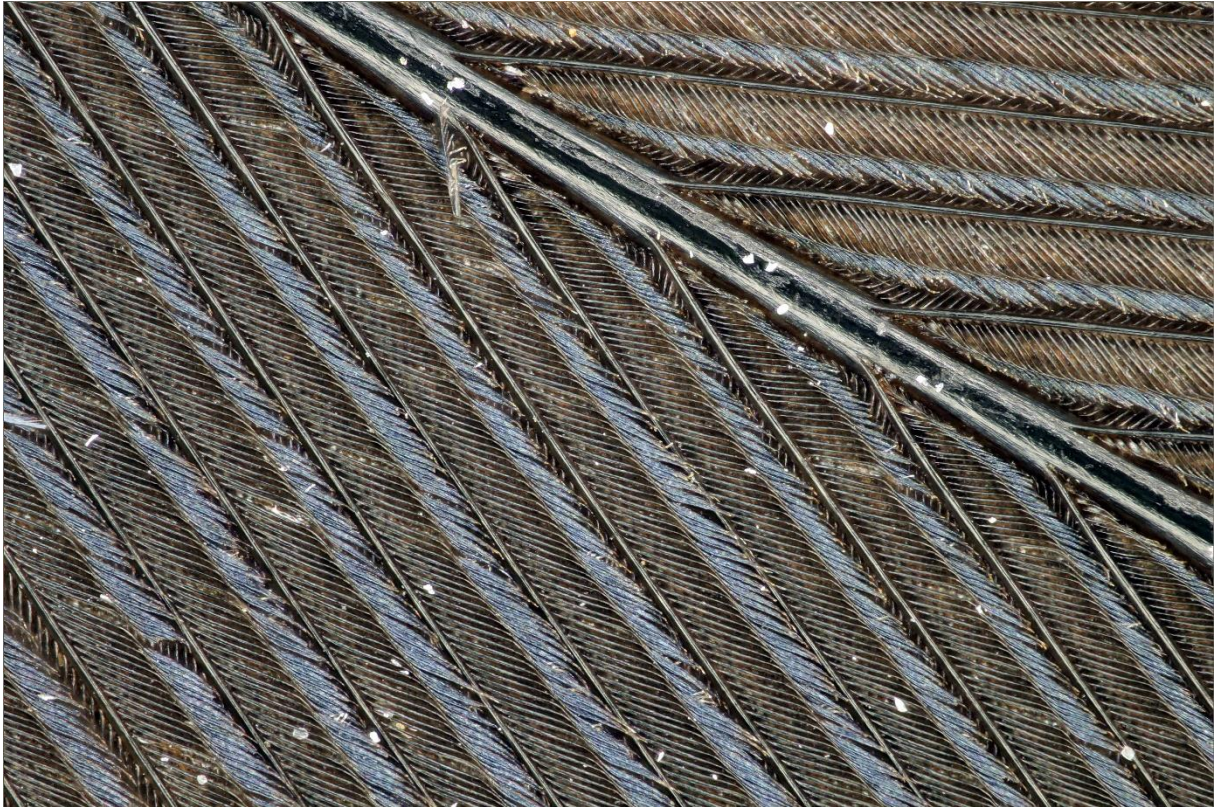


We zien hier dat we inderdaad het halo-probleem door meeverlichte onscherpe delen grotendeels vermijden maar dat we er een ander probleem voor terugkrijgen, dat ik niet goed snap. Het ontstaat door het zich verplaatsen van beelden van haren als ze door het focus lopen; de vergroting in het onscherpe deel verandert. Terwijl de stack gevormd wordt kun je dat zien gebeuren, en het veroorzaakt weer ander storend licht tussen de haren in, zoals links boven in bovenstaand plaatje. Dat effect was al bekend maar kennelijk zijn de haren bij deze donkere achtergrond langer 'scherp' dan eerder het geval was zodat ze toch in de stack meegenomen worden. Er ontstaan dan dubbele of driedubbele afbeeldingen zoals goed te zien rechts in dit beeld (merkwaardigerwijs links niet) waarbij het lichtmes niet goed was uitgericht. Wat ook blijft zijn de sterke speculaire reflecties door de gerichte lichtbron.



Conclusie van deze exercitie is dat het een probleem oplost maar je krijgt er een ander probleem voor terug, dat het beeld er niet fraaier op maakt. Waarschijnlijk is het beter om gewoon met meelopend diffuus licht te werken zoals in alle voorgaande gevallen en het in postprocessing op te lossen. Maar als je het niet probeert weet je het niet.

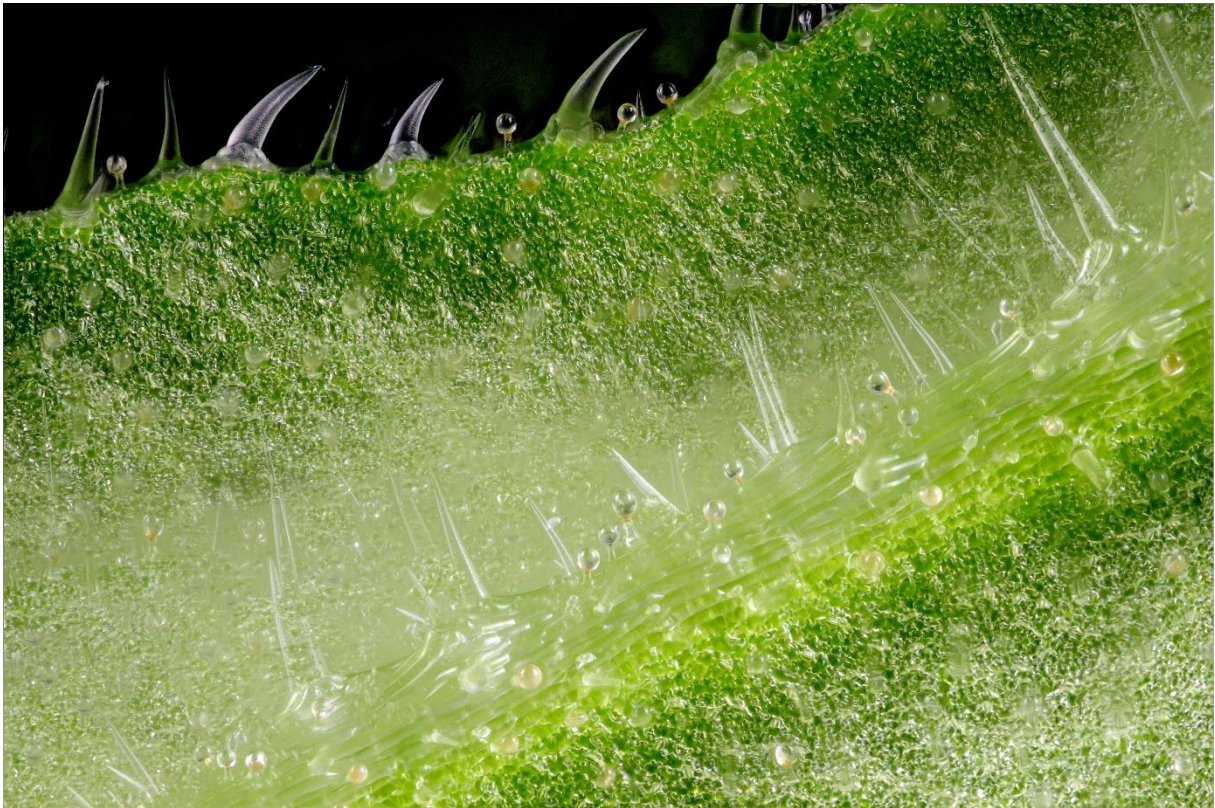
Een monster dat ik al lang in de la had liggen is een verloren veertje van een kauw. Het is een kleine moeite die ook even te fotograferen en op een regenachtige dag kan dat mooi even. Het is winter nu en er zijn toch geen beestjes. Er zit aan de bolle kant van de veer een zwakke blauwgroenige gloed, maar die verdwijnt op het eerste gezicht onder de microscoop, waar blijkt dat de kleur gewoon bruinzwart is. Als je naar een detail kijkt en dat een beetje ontstofst en je voert de verzadiging wat op blijkt toch die blauwgroene gloed boven te komen: hij is afkomstig van de dunne eindjes van de baarden die over de onderliggende heen liggen. Structuurkleuren, maar de structuur zelf is submicroscopisch op nanometerschaal en die zien we niet. Het zou leuk zijn eens een veertje met echte structuurkleuren te fotograferen maar dat heb ik even niet.



Om dezelfde reden maak ik een reeks foto's van een bloemknop van de kamerplant Gynura, die groen is en vol paarse haartjes zit. Afgeknipt en direct gefotografeerd. Er ontstaat een verrassend beeld. Een soort Science Fiction oerwoud. En ongetwijfeld zwaaien die sprietten rond om argeloze bezoekers te vangen en verstrikken. Gelukkig zijn ze nog geen millimeter lang.

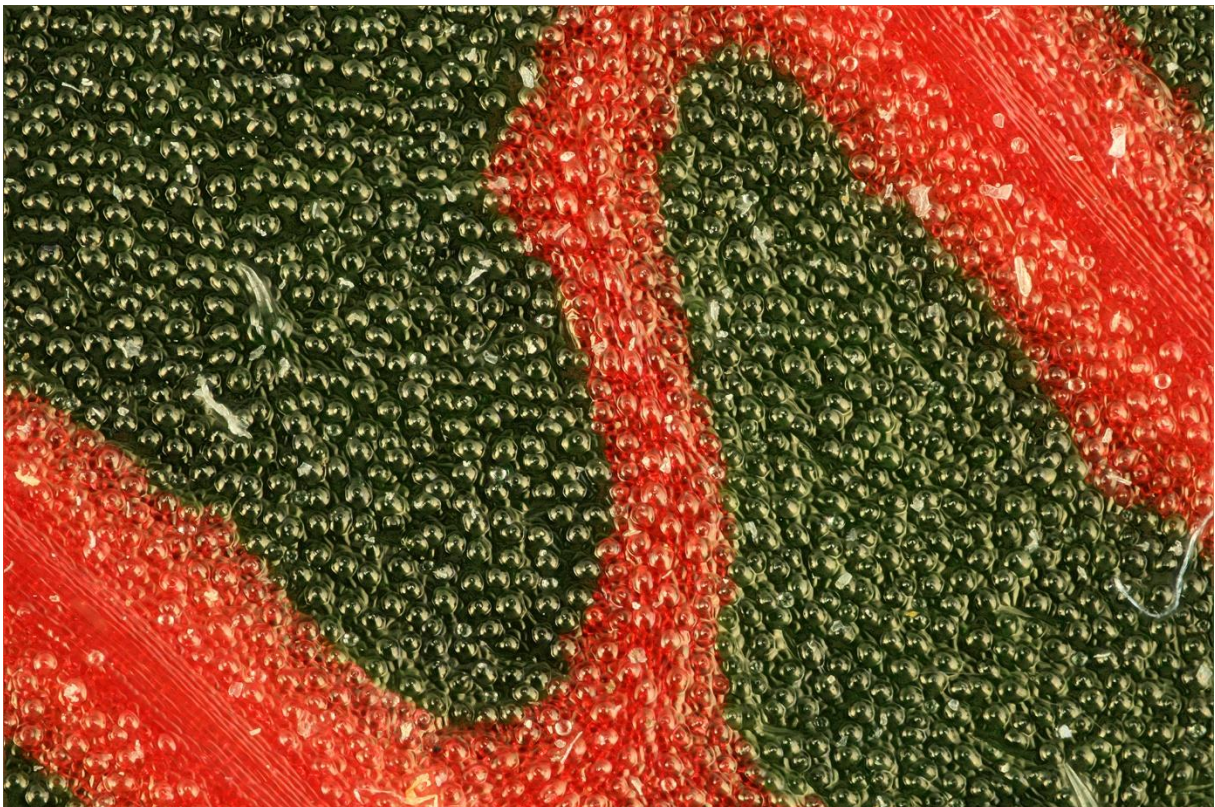


Ik neem ook een paar foto's van de onderkant van een citroengeraniumblad, dat lijkt of het tot de tanden gewapend is, maar het ruikt alleen maar als je het aanraakt.





Er zijn nog meer leuke plantjes. In de kamer hebben we een potje staan met plantjes met witte en rode adertjes op het blad en dat is wel leuk om eens te bekijken. Bij veel planten had ik het probleem dat ze bewegen omdat ze tijdens de opnamen meteen een beetje verwelken. Kennelijk is het zo dat als je snel genoeg werkt dan lukt het toch.



Toch heel wat stof op een plantje dat gewoon in huis staat. Je ziet er niks van maar het is er dus toch wel.

Ondertussen heb ik een themafoto Oog voor Detail ingestuurd naar de Fotobond en hij wordt gepubliceerd met lovend commentaar. High Five!



Oog voor Detail

Hoe meer je ziet, hoe rijker je leven is. Dat geldt voor iedereen en zeker voor fotografen. Zien heeft te maken met de kwaliteit van je ogen, maar vooral met je vermogen om op te letten. Ontwerpers en architecten maken eerst een ontwerp in hoofdlijnen en gaan vervolgens detailleren. Wie daar goed in is, verfijnt zijn ontwerp met mooie details, waardoor een ontwerp een rijkere uitstraling krijgt. Goede fotografen kruipen in hun onderwerp, zoekend naar beelden waar je de kijker mee verrast. Details zijn meestal heel klein, maar kunnen ook heel groot zijn. Een grote boom kan een klein maar onmisbaar detail zijn in een nog groter landschap.



De geselecteerde foto's in het thema Oog voor Detail laten steeds op een andere manier zien hoe je details belangrijk kunt maken.

Sipke Wadman fotografeerde de onderkant van een kever. Wat een ontelbare hoeveelheid details zien we hier! En hoe technisch perfect is er door Sipke gefotografeerd! Zelf kan ik het niet aanzien als er een kever op zijn rug ligt te spartelen. Ik weet niet hoe snel ik het dier weer op de been moet brengen. Voor Sipke ging er kennelijk een wereld open. Op de foto gaat het niet om een enkel belangrijk detail maar om een stortvloed van details. De kever zelf is als motief niet belangrijk meer. De anatomische les over insecten is daarvoor in de plaats gekomen.

Ondertussen (Nov 2019) vind ik op Petapixel een belangwekkende mevrouw Alison Pollack, die zwammen fotografeert. Ik zou dat ook kunnen proberen in dit beestjesloze wintertijdperk; het ziet er prachtig uit. Een paar voorbeelden:



In terms of gear and technique, she uses a Sony a7R II with a Sony 90mm f/2.8 Macro lens. From there, she'll add a Raynox 250 super macro diopter (voorzetlens 8 dioptrie = 125 mm) "to get about 2.5x more magnification," and places the whole setup on a sturdy tripod. For the tiniest subjects, anything that's 1 millimeter or less, Pollack will use the Laowa 25mm f/2.8 2.5-5X ultra macro lens to reveal the detailed textures.

Once she has her subject lined up, she uses focus stacking in order to capture more than the most infinitesimal slice of focus. The stacks themselves vary in size depending on which of the two setups she's

using.

"With the Sony macro lens and the Raynox diopter, my stacks are typically 10-50 images, all shot in the field manually," explains Pollack. "With the ultra macro lens, especially at 4 or 5x, the depth of field is only about 0.05 millimeters, and I use an automated rail (the Cognysis Stackshot) to take 100-300 images for stacking, in my home studio."

*Finally, she'll pull the stack into either Helicon Focus or Zerene Stacker software to create the initial composite, then Lightroom for minor post-processing after that. Given enough light (**she prefers natural light**, but will use flash if need-be) and a sufficiently still day (she calls wind "the enemy" when focus stacking) the results ... well ... they speak for themselves.*

Een vraag van mij is dan over de belichting. Als je zo dichtbij gaat zit je je zelf in het licht. Aan reflecties in de foto's zie je steeds iets anders. Ik zal maar eens kijken wat ik kan doen; ik heb de spullen er voor: macrolens 90 mm, microscoopobjectief, apo-vergroter lens en een set tussenringen. Ik kan de camera op een sleetje zetten. Een stevig statief op zachte bosgrond is misschien wel moeilijk.

Als eerste probeer ik maar eens wat meniezwammetjes die ik in een broekbos vond. Het is nog niet zo makkelijk om leuke dingen te vinden maar ze moeten er wel zijn.



Ik begrijp niet goed waarom, maar de hele kleur is weg en het lijkt meer op een bak met aardappels. Geen succes dus, er is ruimte voor verbetering.



Het volgende dat ik op Petapixel vind (dec 2019) is een Amerikaan die zulke macrofoto's van mineralen maakt, maar volgens zijn website ook van insecten en nog wat andere dingen. Het raakt in de mode! Hij is beroepsfotograaf en reist de wereld rond, exposeert en verkoopt. Hij doet het technisch op dezelfde manier als ik en dat zijn wel mooie plaatjes, ja. Hij heeft wel een stevigere (Nikon) microscooptafel dan ik. Hij gebruikt ook LED lampjes; hij heeft er wel kleurfilters voorop

geplakt en dat is wel een goed idee. Zijn camera staat op een statief net als bij Levon Biss horizontaal op de Stackshot rail, je kunt dus alleen foto's van een zijkant maken. Hij claimt 25000 shots per foto, en daar klopt iets niet. Hij maakt panorama's van 70 foto's van 350 lagen diep (10μ opzet = 3.5 mm gang, voor een vlak gepolijst mineraal?), met een Canon 5D full frame camera met 70-200 mm lens. Laten we zeggen 3 mm per frame afgebeeld, 1 mm overlap, is 2 mm effectief, keer 7×10 frames = 20 mm veld lange zijde of iets dergelijks. Heel groot dus. De 5D sluitenlevensduur is nominaal 200,000 clicks, dus dan is ie met een nieuwe camera met 8 foto's klaar. Ik vermoed dat hij net als Levon Biss niet laat zien hoe het echt gaat, hij is ook commercieel.

Ik heb op zolder nog een ongeorganiseerde doos met mineralen staan van mama; ik zal dat ook eens proberen.

Each of These Extreme Macro Mineral Photos is Made Up of Over 25,000 Individual Images



Extreme macro photographer [Chris Perani](#) specializes in capturing the natural world in extreme detail. His latest series "[Minerals](#)" gives us a peek at the intricate structure of minerals, fossils, shells, and gems like never before, with each photograph created by stacking over 25,000 photos together.

Extreme macro—[as many our readers know](#)—is one of the most exacting genres of photography. When capturing something that small, no matter the lens, you'll need to focus stack many images together in order to get your subject in focus. But while most extreme macro photographers stack tens or maybe a few hundred images together, each of Perani's images are made up of *over 25,000 individual photos* captured about 10 microns apart—for reference, the width of a human hair is about 75 microns.

25,000 shots might seem like overkill, but it's a necessity when you're shooting with the kind of setup that Perani uses. He's capturing each image through a 200mm Canon lens with either a 5x or 10x [Nikon microscope objective](#) attached to the end of it, as you can see in this behind these scenes photos he shared with *PetaPixel*:

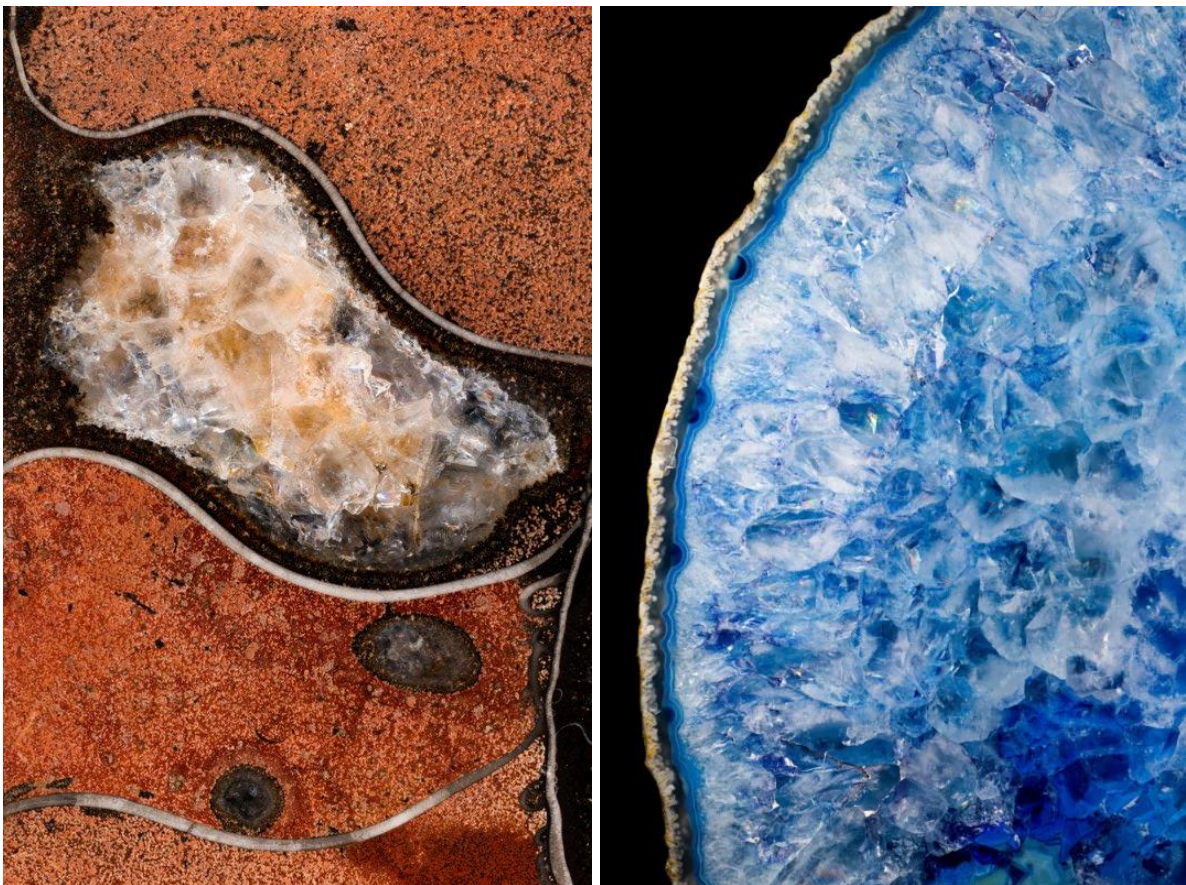


“The depth of field on an objective is almost nonexistent,” Perani tells *PetaPixel*. “To achieve a truly focused shot, I use [a Cognisys stackshot automatic focus rail](#) that moves the lens no more than 10 microns per photo. This yields 350 exposures, each with a sliver in focus, that is composited together into a single file.”

So, how come the final shot is made up of 25,000 photos? Because in order to get the final image he must do this again... 70 more times.

“This [350-photo] file is one piece of a seventy piece puzzle,” says Perani. “The process is repeated seventy more times for every section of the subject. The photos are then composited and pieced together to create the final image.”

When it all comes together, you get these incredible extreme macro photographs that showcase the natural flaws and purities of minerals at a level of detail you’ve never seen before:

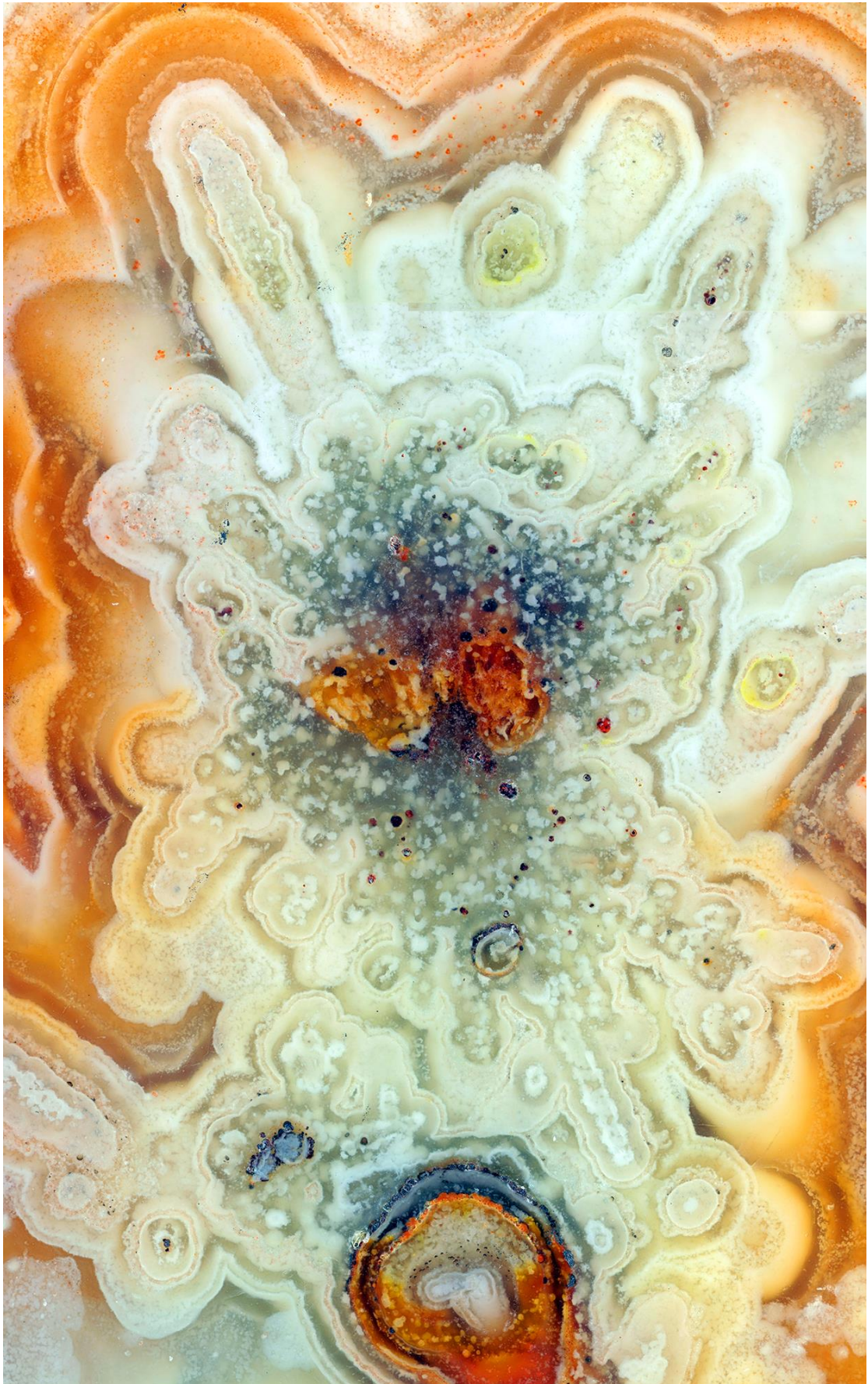




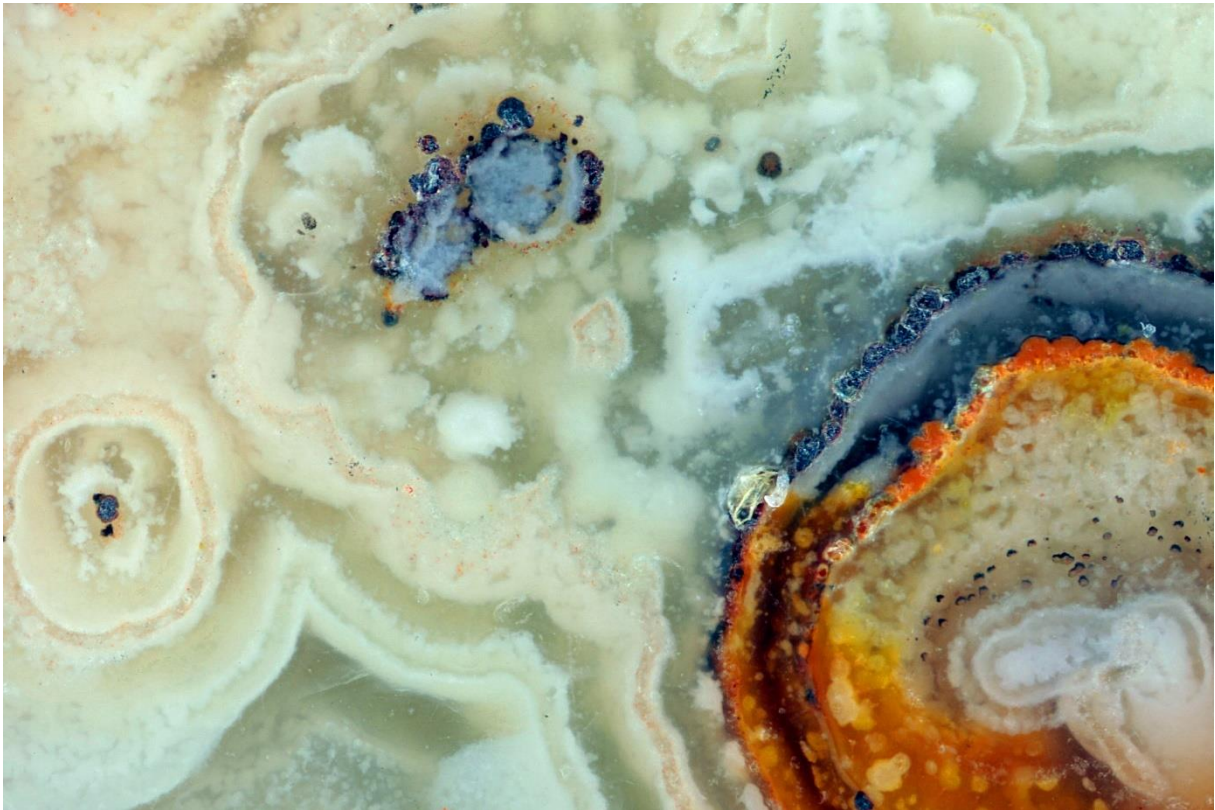
Ik had een gepolijste agaat kiezel op zolder liggen in mama's mineralendoos en daar heb ik een proefje mee gedaan. Het is een steentje van ca 3 x 4 cm waarvan ik een klein stukje fotografeer in 10 aaneensluitende stacks van 25 – 35 diep, 15 μ stappen; totaal 383 opnames. Het is een vrij vlak gekleurd geheel, een beetje crème en bruin zoals dit. Je hebt geen idee van de schaal.



Als je het hele ding neemt en je doet wat postprocessing dan wordt het een interessanter beeld:



Het is dus een kwestie van de juiste samples hebben, met daarin ook fraaie details:



Maar heel moeilijk is het niet. Ik heb met 4 lampjes belicht, met diffuser. Soms zie je nog wel wat slijpkrassen. Een ander voorbeeld van dezelfde steen, over de rand, 72 frames diep, is dit:

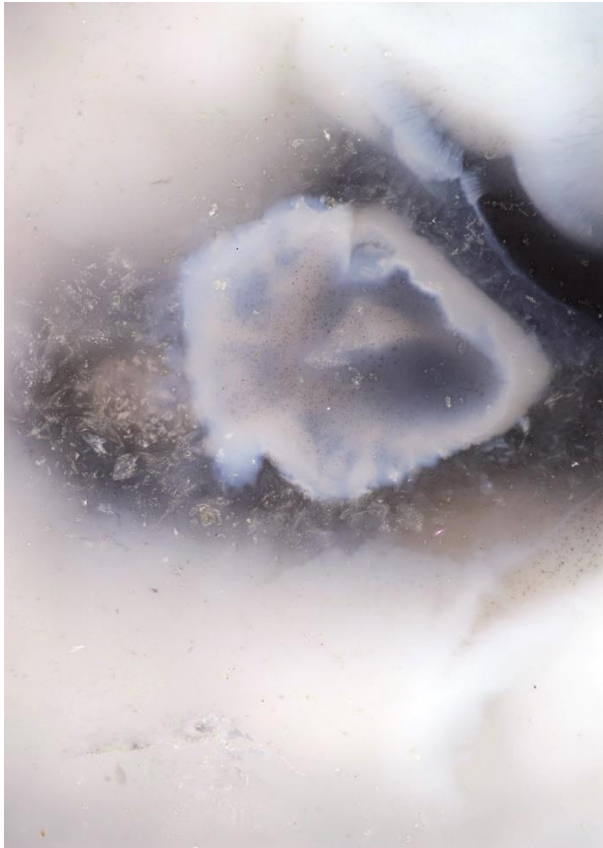




Met een ander stuk mineraal, en doorgezaagde geode vol kwartskristallen, heb ik een andere opzettafel nodig. Ok maak die van een houten plaat die op de bodem ligt met daarop een houten ring waar de geode in ligt. Het is wel stabiel maar ik heb geen mooie X,Y beweging meer; dat wordt dus gokken. Even voorzichtig beginnen met dit transparante materiaal. Ik gebruik geen diffuser.



We zien inderdaad meteen al het handmatige opzetprobleem; ze sluiten net niet aan. Voor de rest – ach ja.



De transparante kristallen aan de binnenrand in de diepte geven een ander gezicht. Er zijn verschillende reflecterende vlakken die oplichten. Ik heb nu gewerkt met custom white balance op een lampje op de diffuser.

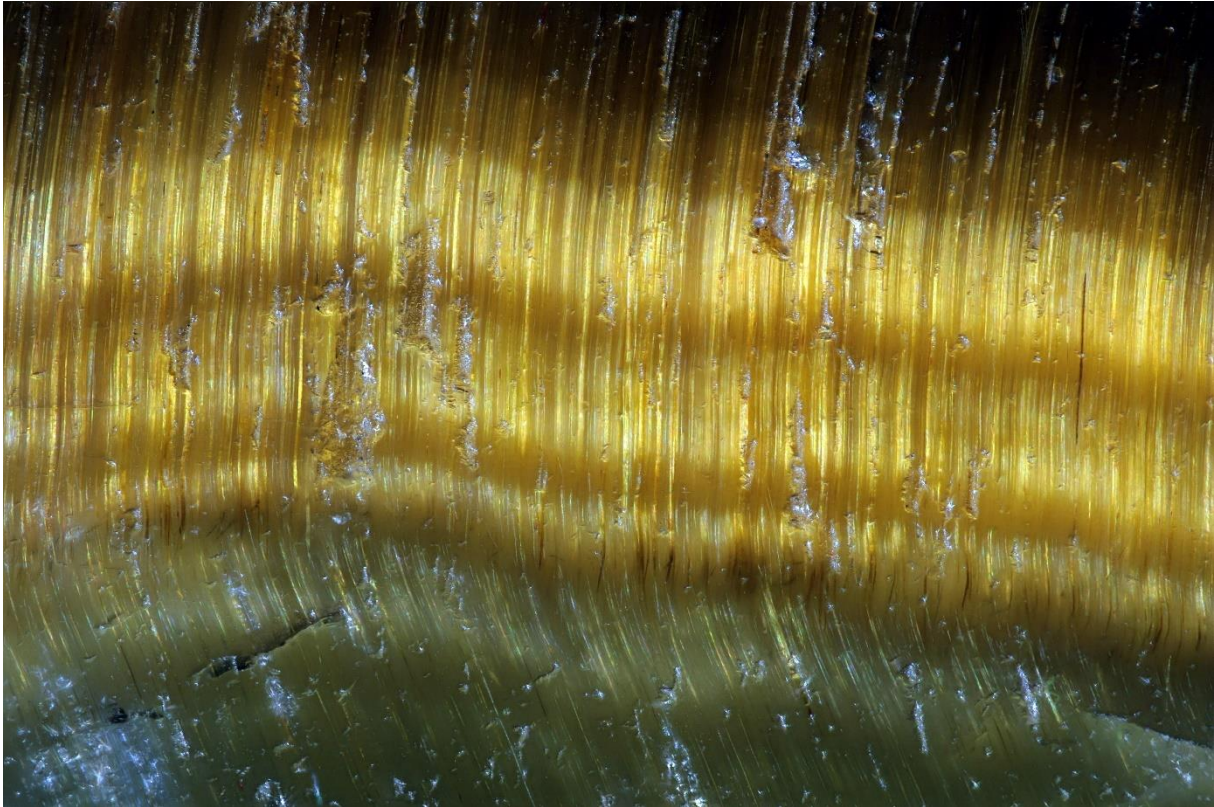


Ik ga nog maar even wat andere mineralen proberen want ik weet niet zeker of ik dit nu zo interessant vind. Het is een nog dooiere boel dan dode insecten.

Ik heb nog een flink stuk tijgeroog. Op het Internet wemelt het van allerlei spirituele informatie met betrekking tot mineralen. Deze steen vibreert met mijn plexus-chakra, jaja, maar er is ook andere informatie over. Wikipedia:

Tijgeroog ontstaat door de verkiezeling van zwartblauwe asbestvezels die crocidoliet worden genoemd. Daarbij ontstaan vaste insluitels van haarachtige kristallen in het kwarts. Door de oxidatie van de oorspronkelijke crocidolietvezels ontstaan de goud glanzende limonietvezels van de steen. Het mineraal crocidoliet (van Grieks krokè, "draad, vezel") [1] is de gevaarlijkste, [2] donkerblauwe vorm van asbest en wordt ook wel blauwe asbest genoemd. [1] Het is een vorm van het amfibole mineraal riebeckiet en heeft de samenstelling $\text{Na}_2\text{Fe}_3+2\text{Fe}_2+3\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$. Het mineraal limoniet is een ijzer- en zuurstofhoudend hydroxide met de chemische formule $\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Dit mineraal mag echter niet verward worden met goethiet. Limoniet is de onvolkomen gekristalliseerde vorm van goethiet.

Het is dus kwarts met geoxideerde asbestvezels er in, ijzer oxyde / hydroxide, roest dus en daarom geelbruin in een transparante matrix.



Een andere vondst is Orpiment of Auripigment (As_2S_3) 1462 opnames

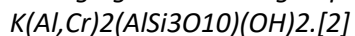
Het doorzichtig tot doorschijnend citroengele, oranjegele of bruingele orpiment heeft een parelglans, een vaalgele streepkleur en het mineraal kent een perfecte splijting volgens het kristalvlak [010]. Het kristalstelsel is monoklien. Orpiment heeft een gemiddelde dichtheid van 3,52, de hardheid is 1,5 tot 2 en het mineraal is niet radioactief. Het mineraal is sterk pleochroïsch, van wit tot grijswit met een lichtrode tint.

Orpiment is een mineraal dat wordt gevormd in hydrothermale aders van lage temperatuur, in hete bronnen en als een verweringsproduct van arseen-houdende mineralen, voornamelijk realgaar. De typelocatie is niet gedefinieerd. Het mineraal wordt onder andere gevonden in de Twin Creeks mijn, ten noorden van Winnemucca, Humboldt County, Nevada, Verenigde Staten.



Er is ook nog een stukje silicaatachtige steen bij met wat laagjes groene Fuchsite, volgens een labeltje, dat een soort groen suikerlaagje van kleine kristalletjes is. 16 stacks, 926 frames. Volgens Wikipedia:

Fuchsite, also known as chrome mica, is a chromium (Cr) rich variety of the mineral muscovite, belonging to the mica group of phyllosilicate minerals, with the following formula:



Trivalent chromium replaces one of the aluminium (Al) atoms in the general muscovite formula producing the apple green hue distinctive of fuchsite. It is often found in minute micaceous aggregates (with individual plates barely visible), as a major component of chromium rich phyllitic or schistose metamorphic rocks of the greenschist facies.



Het valt nu heel erg op dat er enorm veel gruis op het oppervlak zit. Deels waarschijnlijk het materiaal zelf maar deels zeker ook wel door de chaos in die stenendoos waar alles door elkaar ligt. Goed te zien op een detail. Het lijkt me beter de volgende steen eerst eens af te spoelen onder de kraan.

Ik doe alles met een opzet van 15 μ , en dat werkt prima voor deze monsters.

Dan heb ik nog een monster van Bariet met calcietskristallen, een zogenoemde hanenkam, die nogal diepe groeven heeft. Ik maak de opzet dus 20 μ en dan nog zijn de stacks 150 frames diep. Totaal 1596 frames. Ik heb het eerst onder de kraan afgespoeld, en dat blijkt wel te helpen tegen het losse gruis. Je vingers gaan er een beetje rubberachtig van stinken. Dat is raar want bariet lost niet op in water; oplosbaarheidsproduct 10^{-10} , en calcietskiet ook niet, oplosbaarheidsproduct 10^{-8} , dus er moet nog een andere verontreiniging zijn. Het is niet zuiver want het is bruin, en BaSO_4 is kleurloos. Je kunt allerlei foto's van bruine exemplaren met soortgelijke structuur vinden die sterk op mijn exemplaar lijken dus het zal toch wel kloppen.

Ik maak foto's met mijn kruistafelschaaltjes want in tegenstelling tot kevertjes raak je met die mineralen compleet de weg kwijt, en dan nog mis ik er één! Alles lijkt op elkaar. Je hebt ook totaal geen gevoel voor diepte en de scherpe delen van de stacks sluiten niet precies aan.



Nou, wat mineralen betreft laat ik het hier maar bij. Ik vind het minder interessante beelden ondanks de juichkreten van PetaPixel.

2019 loopt ten einde op dit moment. Het vriest en er zijn geen insecten, vindbaar voor mij. De activiteiten staan nu op een laag pitje. Mooi moment om dit tweede deel af te sluiten in afwachting van het vervolg in het nieuwe seizoen. Ik ga zeker verder; de ontwikkelingen zijn nog niet klaar; ik ben tenslotte ook geen jaar bezig hiermee.