

“本书是科研人员处理图像不可或缺的资源”——Eric J. Wexler, Adobe生物图像咨询组专家

SCIENTIFIC IMAGING with PHOTOSHOP Methods, Measurement, and Output

PHOTOSHOP

科学图像处理

——方法、测量与输出

(美) Jerry Sedgewick 著
黄晓磊 李化 译

New
Riders



清华大学出版社

PHOTOSHOP

科学图像处理

——方法、测量与输出

美) Jerry Sedgewick 著
黄晓磊 李化 译

清华大学出版社
北 京

Authorized translation from the English language edition, entitled Scientific Imaging with Photoshop: Methods, Measurement, and Output, 9780321514332 by Jerry Sedgewick, published by Pearson Education, Inc, publishing as New Riders, Copyright © 2008.

All rights reserved. No part of this book may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording or by any information storage retrieval system, without permission from Pearson Education, Inc. CHINESE SIMPLIFIED language edition published by TSINGHUA UNIVERSITY PRESS, Copyright © 2009.

本书中文简体字版由 New Riders 授权清华大学出版社在中华人民共和国境内(不包括中国香港、澳门特别行政区及中国台湾地区)出版、发行。未经出版者书面许可,不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号 图字: 01-2009-1935

本书封面贴有清华大学出版社防伪标签,无标签者不得销售。

版权所有,侵权必究。侵权举报电话: 010-62782989 13701121933

图书在版编目(CIP)数据

Photoshop 科学图像处理——方法、测量与输出/(美)塞奇威克(Sedgewick, J.)著;黄晓磊,李化 译。
—北京:清华大学出版社,2009.5

书名原文: Scientific Imaging with Photoshop: Methods, Measurement, and Output
ISBN 978-7-302-19884-0

I. P… II. ①塞… ②黄… ③李… III. 图形软件, Photoshop IV. TP391.41

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 052616 号

责任编辑:王 军 李 阳

装帧设计:孔祥丰

责任校对:成凤进

责任印制:孟凡玉

出版发行:清华大学出版社

地 址:北京清华大学学研大厦 A 座

<http://www.tup.com.cn>

邮 编:100084

社 总 机:010-62770175

邮 购:010-62786544

投稿与读者服务:010-62776969, c-service@tup.tsinghua.edu.cn

质 量 反 馈:010-62772015, zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn

印 装 者:三河市春园印刷有限公司

经 销:全国新华书店

开 本:185×230 印 张:18 字 数:359 千字

版 次:2009 年 5 月第 1 版 印 次:2009 年 5 月第 1 次印刷

印 数:1~3000

定 价:98.00 元

本书如存在文字不清、漏印、缺页、倒页、脱页等印装质量问题,请与清华大学出版社出版部联系调换。联系电话:(010)62770177 转 3103 产品编号:029682-01

译者序

数字图像处理技术上的发展正在给科学研究带来一些新的进步，同时也带来了新的挑战。Photoshop作为一款功能强大的图像处理软件，不仅在平面设计、摄影、视觉创意、绘画等领域拥有毋庸置疑的权威，而且正逐渐成为科研人员进行高端科学图像处理和分析的必备工具之一。学术出版物为保证数据的真实性，会对数字图像的优化处理工作施加多种限制。在遵循现有学术规范的前提下，科研人员可以利用 Photoshop 制作出符合出版要求的科学图像。

随着科研水平的不断发展，从日益增多的大量数字图像中提取信息，保持高效的工作流程，根据管理要求进行图像记录等工作可能变成一件很困难的事情。本书为这些问题提供了很好的解答，它针对不同的Photoshop版本分别给出了相应的解决方案。考虑到科研工作对图像处理具有高度的敏感性，本书突出介绍了使用Photoshop等图像增强软件从数字图像中提取数据所带来的影响。初级用户可以从本书中学到基本的图像处理方法；高级用户则可以学习使用Photoshop的自动操作功能。作者Jerry Sedgewick是一位资深的科研图像处理专家，曾在美国明尼苏达大学的生物医学图像处理实验室长期担任执行主管。Jerry Sedgewick早在Photoshop推出之初就开始关注其在科研领域的应用，经过长期的项目实践，总结了一系列针对各类图像的Photoshop处理方法。

本书严密跟踪科学研究中从数字成像到出版的整个过程，详尽介绍了在各个阶段使用Photoshop进行图像处理的具体操作。本书共分为三大部分：第Ⅰ部分介绍可视化数据表示应遵循的学术规范、科学图像处理的规则以及相关的背景知识；第Ⅱ部分介绍在科学图像获取、校正和最终输出阶段中使用Photoshop进行操作的具体步骤及注意事项；第Ⅲ部分重点关注使用Photoshop进行图像分割与量化的详细步骤。

本书由黄晓磊、李化翻译，全书最后由李化统一校稿。由于时间仓促，且译者水平有限，译文中可能存在错误疏漏之处，敬请广大读者批评指正。请将您的反馈信息发送至邮箱 wkservice@vip.163.com，我们将不胜感激。

译者
2009年2月

目 录

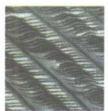
◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇ 第 I 部分 学术规范与背景知识 ◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇◇

第1章 可视化数据及其学术规范.....	3
----------------------	---



1.1 可视化数据的精确表示.....	4
1.1.1 误表示发生的时机.....	5
1.1.2 图像的种类.....	7
1.1.3 创作者须知.....	8
1.1.4 使用标准与参考值.....	8

第2章 图像通用规则.....	11
-----------------	----



2.1 规则.....	12
2.2 图像获取阶段.....	13
2.2.1 准备样本.....	13
2.2.2 优化成像系统.....	14
2.2.3 关闭自动过滤功能.....	14
2.2.4 位深度.....	15
2.2.5 裁切.....	18
2.2.6 明场图像白平衡的颜色.....	19
2.2.7 噪声图像与帧平均.....	21
2.2.8 存档.....	23
2.2.9 操作规程.....	23
2.3 后期处理阶段.....	24
2.3.1 全局修正及应用.....	24
2.3.2 裁切与修齐.....	25
2.3.3 颜色模式变换.....	25

2.3.4	改变位深度	27
2.3.5	颜色校正	28
2.3.6	数码相机中的彩色噪声	28
2.3.7	合并及图像栈功能	29
2.3.8	标志、文字、标尺	31
2.4	适应输出阶段	31
2.4.1	减少位深度	31
2.4.2	白色(或黑色)极限	32
2.4.3	调整图像大小	32
2.4.4	颜色模式的变换: 从RGB到CMYK	35
2.4.5	文件格式	36
2.4.6	说明文档	36
2.5	后期处理中禁止的操作	37
2.5.1	污点修正	37
2.5.2	从一幅图像向另一幅图像移取特征	38
2.5.3	有目的地操作可视化数据	38
2.5.4	改变图像大小(子采样)	38
2.5.5	使用亮度/对比度工具	39
2.5.6	复制/粘贴操作	39

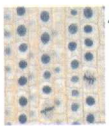
第3章 特定图像类型的规则 41

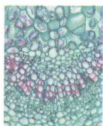


3.1	测量OD/I的图像	42
3.1.1	平板扫描仪上的电泳样本	43
3.1.2	图像获取	43
3.1.3	后期处理	47
3.1.4	使用照相机/扫描光束系统获取测量OD/I的图像	47
3.1.5	图像获取	48
3.1.6	后期处理	51
3.2	表示性图像	54
3.2.1	图像获取	55
3.2.2	后期处理	57
3.2.3	适应输出	60
3.3	用于量化和可视化的图像	61
3.3.1	可视化	62
3.3.2	图像获取	63

3.3.3 后期处理.....	64
-----------------	----

第 II 部分 输入、校正与输出

第4章 获取最佳输入.....	71
 4.1 用标准(复式)显微镜获取图像.....	72
4.1.1 精确表示.....	72
4.1.2 均匀照明.....	73
4.1.3 减少噪声.....	73
4.1.4 显微镜设置.....	73
4.1.5 在相机或获取软件中获取图像.....	74
4.2 激光共聚焦扫描系统.....	83
4.2.1 按照用途分类的共焦成像.....	84
4.2.2 共焦系统的成像步骤.....	85
4.3 平板扫描仪.....	88
4.3.1 平板扫描仪的预扫描设置.....	89
4.3.2 通用的扫描过程.....	91
4.3.3 关于扫描的几点提示.....	93
4.4 立体显微镜成像.....	94
4.4.1 控制眩光与照明.....	95
4.4.2 关于复杂样本成像的几点提示.....	97
4.5 环境成像.....	98
4.5.1 曝光时间与光圈.....	98
4.5.2 照明.....	98
4.5.3 校准相机.....	102
4.6 PowerPoint及其他程序中的图像.....	102
4.6.1 将复制粘贴作为(低劣的)解决方法.....	103
4.6.2 保持分辨率不变的最佳方法.....	104
第5章 Photoshop设置与标准过程.....	109
 5.1 颜色和对比度匹配的方法.....	110
5.2 颜色设置.....	113
5.2.1 非同步.....	114
5.2.2 工作空间.....	114
5.2.3 颜色管理方案.....	115
5.2.4 转换选项.....	116

5.3	标准过程	117
5.3.1	输出色阶和Color Sampler工具	118
5.3.2	寻找黑色和白色参考点	118
5.3.3	设置白色和黑色输出色阶	118
第6章	打开图像与初始化步骤	123
 6.1	图像校正流程表	124
6.2	打开图像	126
6.2.1	Bridge 数据库程序(适用于CS2和CS3)	126
6.2.2	Smart Object或复制图像	127
6.2.3	打开时存在问题的文件	128
6.2.4	在Adobe Camera Raw中打开图像	131
6.2.5	打开多幅图像, 合并为一幅图像	133
6.2.6	用于合成或分层的图像栈	136
6.2.7	打开多幅图像进行照片合并(照片缝合)	139
6.3	预校准修正	140
6.3.1	Indexed Color(转换为RGB Color)	141
6.3.2	校正不均匀照明	141
6.3.3	问题图像	145
6.3.4	减少噪声	148
第7章	颜色校正与最终步骤	157
 7.1	明场颜色校正与RGB颜色转换为CMYK	158
7.1.1	精确的颜色校正	158
7.1.2	参考区域	159
7.1.3	色调与饱和度	159
7.1.4	彩色噪声	160
7.1.5	白色或灰色吸管方法	160
7.1.6	与参考图像的颜色匹配	163
7.1.7	其他手动或自动颜色校正方法	167
7.1.8	降低饱和度、修正色调, 使图像符合CMYK标准	172
7.1.9	彩色边缘现象与彩色噪声的消除	175
7.2	明场图像彩色模式到灰度模式的变换	175
7.3	单色暗场图像	177
7.3.1	设置黑白极限与亮度匹配	178

7.3.2	单色图像转换为灰度图像	180
7.3.3	彩色化灰度图像	181
7.3.4	修正现有的颜色	182
7.3.5	显示共区域化/共存	183
7.3.6	使图像符合CMYK标准	183
7.3.7	彩色化、脱色动作	187
7.4	利用伪彩色和彩色化将灰度图像转换为彩色图像	188
7.4.1	根据颜色表伪彩色化图像	188
7.4.2	色调分离	190
7.5	灰度图像的调色	191
7.6	锐化	192
7.6.1	Unsharp Mask锐化方法	193
7.6.2	High Pass锐化方法	194
7.7	Gamma	196
第8章	制作插图/图解与适应输出	199
8.1	制作插图或图解	200
8.1.1	自动的保留分辨率法	201
8.1.2	手动的保留分辨率法	203
8.1.3	自动的出版分辨率法	204
8.1.4	手动的出版分辨率法	205
8.1.5	匹配图像背景	208
8.1.6	为插图添加文字	209
8.1.7	对齐文本、编号及符号	212
8.1.8	将文本和直线图层合并为单个图层	215
8.1.9	符号、形状及箭头	215
8.2	编辑图表	217
8.3	图像中的局部图	218
8.4	针对输出的重采样(Image Size)	219
8.5	锐化、Gamma、CMYK Color及保存插图	221
8.6	输出	223
8.6.1	喷墨打印	223
8.6.2	激光打印	229
8.6.3	电子文档	230



第III部分 分割与量化

第9章 从背景中提取相关特征	237
9.1 使用Photoshop还是体视学来分割图像	238
9.1.1 体视学	238
9.1.2 计算机辅助图像测量	239
9.1.3 混用两种方法	239
9.1.4 手动测量	240
9.2 计算机辅助测量中分割图像的过程	240
9.2.1 针对需要的校正检查图像	242
9.2.2 特征聚集或求平均特征	244
9.2.3 彩色图像: 寻找对比度最高的灰度通道或者根据颜色选择	245
9.2.4 识别特征与背景的边界	249
9.2.5 应用High Pass滤镜	249
9.2.6 使用Threshold进行二值化	251
9.2.7 修改二值化的图像	252
9.2.8 参考区域	256
9.2.9 使用相关图像测试分割过程	257
9.2.10 直方图和线性直方图匹配	257
9.2.11 创建动作(或脚本)将所有步骤自动化	259
9.3 手动分割	260
9.3.1 使用网格分割图像	260
9.3.2 创建小的、固定的选区	261
9.3.3 使用Lasso或Magic Wand工具手动选择	262
第10章 测量图像	265
10.1 测量所选择的特征	266
10.2 在旧的Photoshop版本中获取测量值	272
10.3 在Photoshop中测量共区域化/共存	273
10.4 使用数据库/电子表格程序来区分特征	274
参考文献	277

第 I 部分

学术规范与背景知识

第1章 可视化数据及其学术规范

第2章 图像通用规则

第3章 特定图像类型的规则



第 1 章

可视化数据及其学术规范

在科学研究领域，图像大体上可以分为两类：原始图像和校正后的图像。原始图像一般直接从成像设备中获取，且没有用软件进行过任何校正。校正后的图像，有时也称为“美化的图像”，通常用于演示和出版。

如果人们对图像的内容产生了怀疑，这时，图像究竟是原始图像还是校正后的图像就变得非常重要。众所周知，图像是实验数据的可视化论据，如果对它的内容进行某些改动，很容易被认为是学术上的不道德行为。当然，如果确实从其他图像中截取了某些内容，或者为了满足实验的假设而有意图地对可视化数据进行修改，这肯定是学术不道德行为。区分到底是某种程度上的校正还是内容上的增加，唯一的途径就是查看原始图像。

琼脂糖中第一天的细菌菌落(天蓝色链霉菌)，用于纵向比色分析(colorimetric study)。使用1×镜头的Leica NZ FL3立体显微镜来拍摄图像；使用SPOT RT相机以及SPOT Advanced 4.6版本的获取软件(诊断仪器、标准高度、MI)；用Photoshop CS3 Extended 10.1版本(Adobe公司，San Jose, CA)完成颜色校正、锐化、裁切以及重采样；标尺为10mm。

于是产生了下面一种观点：如果图像是作为实验结果的可视化论据来使用，就只能使用原始图像。决不允许对可视化数据做任何更改，也不能因为成像设备的不一致性或缺陷而对图像进行任何校正。

这种观点所依据的是不正确的假设。在这些假设中，下面两种(非官方的)假设的呼声最高。

- 只要操作仪器的人知识足够丰富，通过成像系统和有关的测量仪器获取到的可视化表示总是与眼睛看到的(三维样本或场景转换成二维表示，这其中存在固有的限制)一致。
- 图像出现问题，通常是因为没有经过精心准备样本或染料和着色剂的使用不够规范：操作人员的能力需要进一步提高。

尽管这两种假设在大多数情况下都是正确的，但它们均基于一个错误的前提：如果操作正确，测量仪器本身能够产生精确的表示。

1.1 可视化数据的精确表示

应该尽最大努力来保证可视化数据的表示效果，使它看起来跟通过眼睛观察到的图像是基本一致的。换句话说，作为论据的图像必须是所看到景象的真实再现。与正确表示不符的任何偏差都是一种误表示(misrepresentation)，而其对应的图像存在某种程度上不精确的数据。

除非对光密度或强度(optical density or intensity, OD/I)进行过测量，精确表示通常需要进行后期处理(post-processing)。大多数情况下，因为成像设备和有关测量仪器上的限制，基本都要对图像进行后期处理。这些成像设备和仪器的限制主要包括：许多相机在光检测器上使用了反锯齿功能，导致图像模糊；测量仪器在近距离检测上的限制，导致图像产生噪声；能量来源存在可变性。鉴于上述几个原因，要想为可视化数据提供很好的表示效果，必须对原图像进行校正。

另外，因为成像和显示设备的限制，下面几个原因也会导致原始图像不能正确表示。

- 屏幕校正(screen calibration)。可能显示屏幕无法正确显示彩色及灰度级(grayscale level)的强度和渐变(图1-1A)，也有可能屏幕上显示的渐变或强度并不精确，当这些没有正确表示的图像发布或出版后，这种不精确性要么保留了下来，要么其色彩和对比度发展成了更大的误表示。通过色彩和对比度管理程序(Photoshop)对图

像进行后期处理，可以获得比原图像更好的表示效果(图1-1B)。

- **色调偏移(hue shift)**。如果使用数码相机拍摄或用扫描仪来扫描一幅彩色图像，得到的图像可能产生“色调偏移”现象(图1-1C)。这时，图像中的整体色彩都会向某种色调偏移，比如红色或绿色。即使对相机进行了白平衡设置，仍然会产生这种现象。根据相机、平板扫描仪以及其他类型扫描仪的品牌的不同，这种偏移程度亦不相同。为了使最终的图像比扫描得到的图像有更好的还原表示(图1-1D)，需要对其色彩偏移进行后期的校正处理。
- **动态范围(dynamic range)**。对象或样本上的一些重要特征可能超出图像录制设备的动态范围。这时，这些特征在图像上显示为纯白色或纯黑色(图1-1E)，无法包含任何细节信息。通常，如果研究人员获取这幅图像的的目的是要表示其他较暗或较亮部分的特征的细节，他们就会放大(或者减少)这些特征。因为如果不具备更改灰度值之间关系的能力(比如，将与较亮值相关的较暗值调亮)，图像就成为样本的一种误表示。这时，要为原始图像创建一种更加真实的表示效果(图1-1F)，仍然要对其进行后期处理。

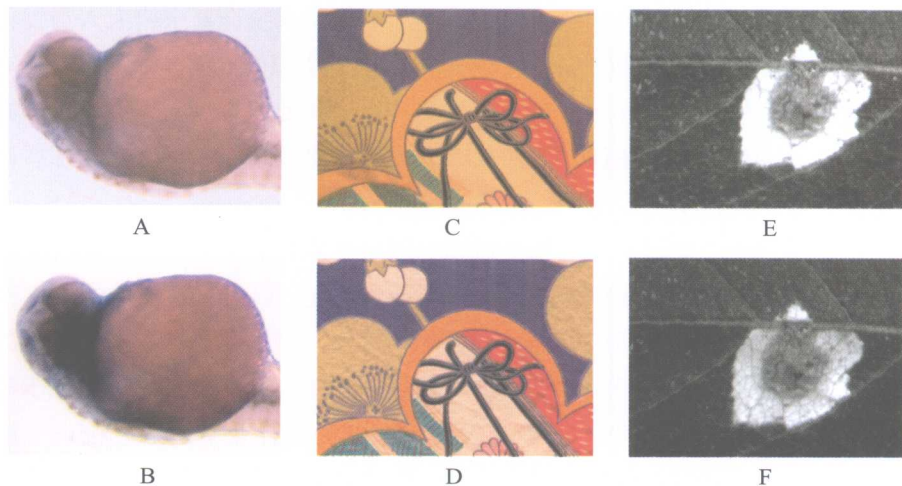


图1-1 样本在各种成像和观察条件下显示出来的差异

1.1.1 误表示发生的时机

前面讨论的都是关于正确使用了测量仪器的情况下的后期处理问题。不过，这并不是说要摒弃在获取样本前所必须进行的准备工作，也不是否定在成像设备和测量仪器的使用

上需要进行培训。在后期处理之前,必须保证正确地使用了这些设备。

同时,还要考虑另外一个因素:怎样保证以各种各样的输出方式精确地表示图像。这些输出方式主要包括:硬拷贝(印刷品和海报)、计算机屏幕、电子文档、在会议上利用便携式投影机进行投影,以及出版发行。

因为相关的输出设备或软件会对图像的表示进行修改,致使图像在某种程度上变得不精确,因此,原始图像必须适应每一种输出方式。

综上所述,可视化论据的误表示潜伏在三个阶段:拍摄图像(获取阶段)、校正图像(后期处理阶段)和图像适应输出(适应阶段)。

关于各种成像系统的弊端的论述已经非常多了。这些成像系统主要包括:数码相机、摄像机、带有光电倍增管(photomultiplier, PMT)的扫描光束系统,以及平板扫描仪。第4章将介绍在图像获取阶段经常发生的错误。

在图像处理领域,关注的重点主要集中在两个方面:一是哪些情况下会存在可视化数据的误表示,二是研究人员会有意图地对可视化数据进行修改来获取需要的实验结果。当然,修改可视化数据只是一种可能性,但是,科学出版物系统会要求研究人员提供能支持其实验结果的副本,使得系统能完成自我数据校正。使用像Photoshop CS3这样的后期处理程序对图像进行正确的处理,并对所有实验人员进行这些处理方法的培训,可以减少可视化数据的误表示。本章把关于图像方面的改进通常称为“校正”,以区别于那些诸如“改变”或“操作”等广泛使用的术语。

校正图像以符合特定的输出标准也是后期处理中必须做的工作。对图像进行的改变不外乎下面几种情况:调整灰度或色彩的亮阶、校正对比度,以及变换图像的格式和模式。

请注意,绝不能省略图像适应输出这一步骤,否则,将图像复制到不同类型的输出环境中时可能变成可视化数据的误表示(图1-2,左图)。现在,许多研究人员依赖于硬件设备和软件来解释、修改可视化数据,或者是求助于印刷出版行业中的颜色校正专家进行校正,这些过程很可能导致可视化数据的修改。由此可见,图像的复制应该更多地控制在研究人员的手中(图1-2,右图)。通过本书提供的参考材料,研究人员可以防止在研究过程中会出现的(目前并没有公开声明的)最大的误表示:复制到输出时引发的误表示。