

ImageJ – zpracování mikrofotografií

- ❖ Volně šiřitelný program, rozšířený po celém světě, pořádají se i kurzy, viz www...
- ❖ Stažení, instalace, dokumentace: <http://imagej.nih.gov/ij/>

Výhody programu:

- 1) freeware – lze legálně instalovat kdekoli
- 2) vysoká kvalita – vyvíjen mikroskopiky, již dlouho...
- 3) dobrá nápověda – hojně používán, na www spousta informací ...

⇒ většinu toho, co mikroskopik potřebuje, lze najít na Google stylem: ImageJ něco

1

(1/1) Vzhled, ovládání, nápověda.

a) Ovládání přes menu:

Příklad, otevření souboru:
Menu → File → Open

b) Ovládání přes ikony/tools:

Příklad, výběr pravouhlej oblasti:
Icons → Rectangular → [vybrat myší oblast]

Ikonky pro výběry oblastí Čáry, úhly, body... Další nástroje (texty, barvy, makra...)
(po najetí myší nad ikonu se objeví stručná nápověda)

Nápověda

Menu → Help ...

Google → hledat cokoli potřebujeme, například: ImageJ insert scale bar

2

(1/2) Princip práce: více nezávislých oken

Okno #1: hlavní okno programu

Okno #2: otevřený obrázek (s měřítkem a 3mi měřeními)

Okno #3: výsledky měření

Angle	Length
1 -26.075	130.815
2 -111.801	134.629
3 -46.414	143.233

Lze otvírat další okna, například:

- lze mít více otevřených obrázků
- speciální okna na úpravy jasu, měřítko...

Poznámka: toto je vlastně ukázka, jak vypadá v ImageJ ruční měření délek, viz též str. 7.

3

(2) Základní operace: otevření, uložení, zavření obrázku ...

Otevření obrázku

Menu → File → Open

Alternativa: přetáhnout obrázek na ikonu nebo hlavní okno programu

* je možno mít otevřeno více obrázků současně v nezávislých oknech
to se často hodí při zpracování sérií mikrofotografií (např. úprava na stejný jas)

Uložení obrázku

Menu → File → Save ... (uložení ve stejném formátu)

Menu → File → Save as ... (zde je možnost změny formátu)

Zavření obrázku

Menu → File → Close

Alternativa: normálně zavřít okno s obrázkem.

Doplňk: převod barevného obrázku na šedou škálu

Menu → Image → Type → 8-bit

* další možnosti a podrobnosti: Google – hledat: ImageJ convert grayscale

4

(3/1) Měření v obrázcích :: kalibrace

- ❖ Kalibrace obrázku je (téměř vždy) nutný krok před měřením.
- ❖ Program **před kalibrací** měří v pixelech, **po kalibraci** měří v zadaných/kalibrovaných jednotkách.

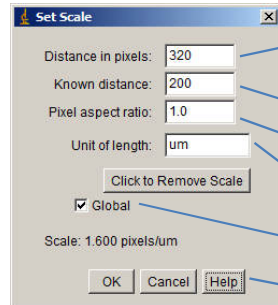
Kalibrace obrázku

Základní/ruční postup:

- Menu → Analyze → Set Scale ...
- Vložit všechny údaje do okna [Set Scale]

Alternativní postup:

- označit čáru známé délky (Icons → Straight)
- Menu → Analyze → Set Scale ...
- Doplnit údaje v okně [Set Scale]



- nějaká vzdálenost na obrázku X (zde X = 320 pixelů) od které známe skutečnou délku Y (zde Y = 200 μm) (použijeme-li alternativní postup, je předvyplněno)
- sem zadáme hodnotu Y (zde 200)
- aspektní poměr pixelu je (téměř) vždy 1
- sem zadáme jednotky Y (zde μm) (mikroskopický program ví, že $\text{um} = \mu\text{m}$)
- pokud zaškrtneme, kalibrace se bude týkat všech obrázků (do zavření programu nebo překalibrování)
- ... a tady je podrobná nápověda k tomu všemu

5

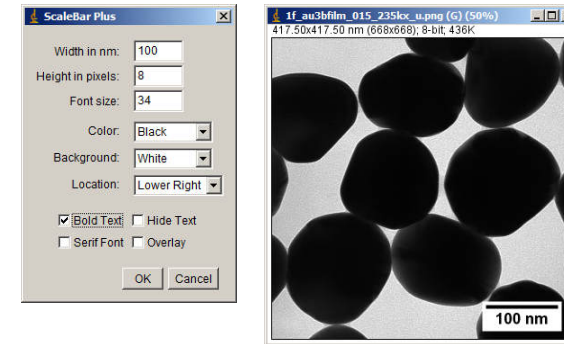
(3/2) Měření v obrázcích :: vložení měřítka

Předpoklad: máme kalibrovaný obrázek (nemáme-li, měřítko se vloží v pixelech).

Vložení měřítka

Menu → Analyze → Tools → Scale Bar

Otevře se okno [ScaleBar Plus], v něm si zvolíme položky, měřítko je rovnou v obrázku.



Mikrofotografie = TEM/BF, Au nanočástice na C-filmu

[M:\MIREK\3PRACE\1PUBL\06SAND\09_SAND.3\1FIGS\1CASTICE\1f_au3bfilm_015_235kx_u.png].

6

(3/3) Měření v obrázcích :: ruční měření

Předpoklad: máme kalibrovaný obrázek (nemáme-li, měříme jen v pixelech).

Proč se tomu říká ruční měření: přímo označujeme objekty myší; jsou i automatické varianty.

Příprava na měření

- Menu → Edit → Options ...
(Line Width = tloušťka měřicí čáry
(Colors = barva měřicí čáry

- Menu → Analyze → Set Measurements...

Otevře se okno [Set Measurements] – v něm si označíme potřebné (Area – aby měřilo plochy, Add to overlay – aby zůstávaly měřené čáry v obrázku ...

* Poznámka:
úhly a délky se měří automaticky
v předvolbách se nezaškrťávají

Měření délek

- Vybrat nástroj: Icons → Straight
- Označit délku pomocí myši
- Je-li vše Ok, stisknout na klávesnici M
- Délka se sama zapíše do okna [Results]
- Označit další délku ...
- Když máme dost, uložit výsledky:
[Results] – File – Save as...

	Angle	Length
1	-29.876	54.203
2	-20.225	40.497
3	-26.862	86.313

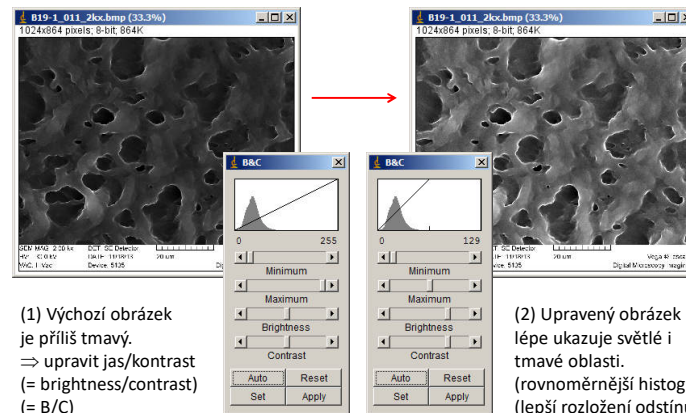
Měření ploch

jako měření délek, jen vybrat nástroj na měření plochy (Icons → Rectangular, Oval...) + je třeba zaškrtnout v [Menu → Analyze → Set Measurements...] volbu Area

7

(4/1) Úpravy obrázků :: jas/kontrast.

Úprava jasu a kontrastu: Menu → Adjust → Brightness/Contrast ...



(1) Výchozí obrázek je příliš tmavý.
⇒ upravit jas/kontrast (= brightness/contrast) (= B/C)

(2) Upravený obrázek lépe ukazuje světlé i tmavé oblasti.
(rovnoměrnější histogram) (lepší rozložení odstínů)

Mikrofotografie = termoplastifikovaný škrab, lomová plocha [Z:\VEGA\B19-1\b19-1_011_2kx.bmp].

8

(4/2) Úpravy obrázků :: gama.

(1) Východí obrázek – příliš tmavý: nejdříve upravit B/C (viz přechodí stránka).

(2) Upravené B/C; nyní ještě trochu zesvětlit tmavé plochy: *Menu - Process - Math - Gamma*

(3) Finální obrázek: upravené B/C/G.

9

(4/3) Úpravy obrázků :: výřezy.

(1) Východí obrázek. Zaujala nás oblast s částicí.

(2) Výběr zajímavé oblasti: *Icons → Rectangular → [Vybrat oblast myši]*
Uložení oblasti (do clipboardu): *Menu → Edit → Copy*

(3) Vložení výběru do nového obrázku: *Menu → File → New → Internal Clipboard*

(4) Uložení výřiznutého obrázku do souboru: *Menu → File → Save as ...*

Síťovaný PE plněný ATH pro výrobu kabelů;
[Z:\VEGA\B42-2\SE_BSE_LOM\041_70_1-5kx.bmp].

10

(5) Další možnosti programu ImageJ.

Na předchozích stránkách byl stručný přehled základních operací s obrázky v oblasti elektronové mikroskopie – stručně zopakování:

- ❖ **Základní manipulace s obrázky:**
otevření, uložení, zavření obrázku. (+ stručně převody formátů).
- ❖ **Měření v obrázcích:**
kalibrace, vložení měřítka, měření délek (+ stručně měření ploch).
- ❖ **Úpravy obrázků:**
úpravy jasu/kontrastu/gama, výřezy.

V nápovědě a na internetu je možno najít nepřeberně dalších aplikací, například:

- ❖ Další jednoduché operace s obrázky:
rotace, převracení, změny velikosti, histogramy, čárové profily ...
- ❖ Složitější manipulace s obrázky:
filtrování, vyhlazování, potlačování šumu, binarizace, Fourierovy transformace ...
- ❖ Zásuvné moduly = plugins:
například rychlé počítání objektů, práce s 3D-obrázky (tj. sériemi 2D-obrázků) ...

Některé věci mohou být jednodušší v jiných programech, pár věcí ImageJ zvládá těžko nebo vůbec, ale jinak jde o kvalitní, stabilní, univerzální program, dostupný každému.

11

(6) Pár poznámek na závěr.

Neboli: žádná pravda není absolutní.

Základní manipulace z obrázky lze (někdy) dělat pohodlněji přímo v softwaru dodávaném z daným mikroskopem, ALE ten bývá komerční a nainstalovaný jen u daného mikroskopu a leckdy nabízí méně možností než ImageJ.

Úpravy jasu/kontrastu/gama jsou mocná zbraň, ALE ne vždy pomohou – ještě lepší je nasnímat kvalitní obrázky přímo na mikroskopu (snad všechny řídicí programy mikroskopů ukazují histogram nebo něco podobného on-line/živě, tj. během sběru obrázku – pokud ano, rozhodně používat).

Výřezy jsou fajn, ALE ztrácíme jimi rozlišení v pixelech – lepší je mít mikrofotografii rovnou ve správném zvětšení. Pokud potřebujeme uměle zvýšit rozlišení výřezu, aby nebyl obrázek zubatý, může pomoci: *Menu → Image → Scale ...* (ale reálné rozlišení tím pochopitelně nezískáme)

Prohlížení obrázků a jejich sekvencí je v ImageJ samozřejmě možné, ALE na to je program zbytečně těžkopádný, lépe použít jiný velmi kvalitní volně šiřitelný program:

IrfanView → <http://www.irfanview.com>

IrfanView umí otevřít téměř jakýkoli formát, pohodlně listuje sekvencemi, umí i výřezy a řadu dalších věcí, umí i jednoduché editace, neumí vkládání měřítka a podobně.

12