

Optiset pinsetit kuvankäsittelyopas

ImageJ:n asennus

Tässä työssä käytetään kuvien käsittelyyn sekä analysointiin ImageJ-nimistä ilmaisohjelmaa (ladattavissa sivulta <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Hiukkasten liikeratojen määrittämistä varten pitää ohjelmaan asentaa erillinen liitännäinen joka löytyy asennusohjeineen osoitteesta <http://mosaic.mpi-cbg.de/?q=downloads/imagej>. Sivustolta löytyy myös tarkempi ohje liitännäisen käytöstä ja sen eri parametrien merkityksestä.

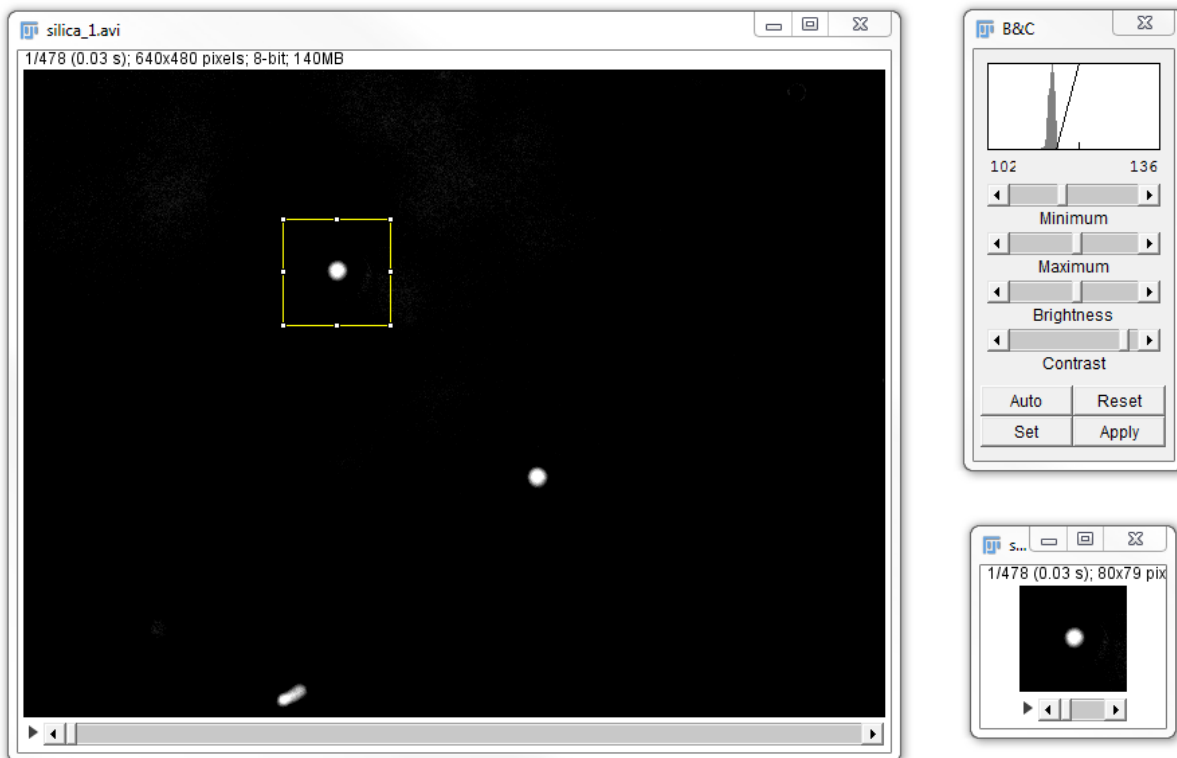
ImageJ-softasta on myös valmiiksi paketoitu versio nimeltä Fiji (<http://fiji.sc/Fiji>), jota suosittelisin käyttämään alkuperäisen ImageJ:n sijasta. Fijin mukana on valmiina kasa liitännäisiä, mutta partikkeleiden seurantaan tarkoitettu ParticleTracker ei tule valmiiksi asennettuna. Sen asentaminen onnistuu seuraavasti:

1. **Help -> Update Fiji**
2. **Manage update sites ->** valitse **“MOSAIC ToolSuite” ->** paina **Close**
3. **“plugins/Mosaic_ToolSuite/Mosaic_ToolSuite.jar”** pitäisi näkyä päivityslistassa, jonka jälkeen **“Apply Changes”**-nappia painamalla Fiji asentaa kyseisen paketin.
4. Käynnistä Fiji uudelleen, jonka jälkeen ParticleTracker-plugini pitäisi löytyä **Plugins -> Mosaic -> Particle Tracker 2D/3D** -valikosta

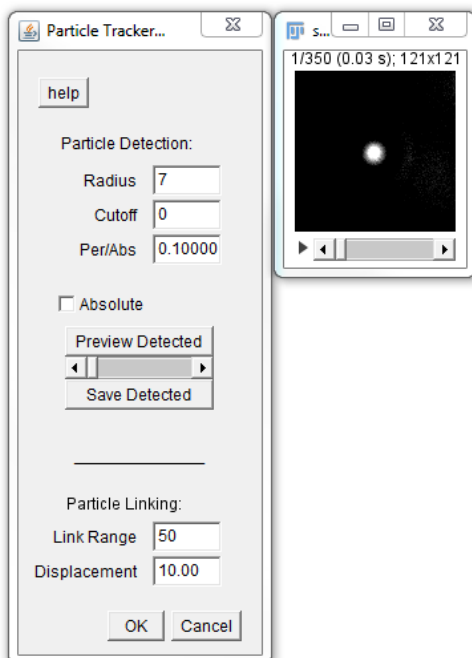
Lasikuulien liikkeen määrittäminen

1. Avaa tallentamasi kuvasarja valitsemalla **File -> Open**
2. Muuta **Image -> Properties** -valikosta kenttien “slices” ja “frames” arvot keskenään.
3. Kuvan kontrastia voi parantaa valikosta **Image -> Adjust -> Brightness/Contrast** löytyvän työkalun avulla. Tarkoituksena on saada partikkelit näyttämään suunnilleen samalta kuin kuvassa 1. Kokeile myös **Process -> Subtract Background**
4. Jotta hiukkasen liikeratojen määrittäminen nopeutuisi, kannattaa alkuperäisestä videosta rajata noin 80x80 pikselin kokoinen alue pinseteissä olevan partikkelin ympäriltä “maalaamalla” haluttu alue ja valitsemalla **Image -> Crop**

Lopulta videon pitäisi näyttää suunnilleen samalta kuin kuvassa 1 oikeassa alakulmassa oleva ja hiukkasen koordinaattien paikantaminen voidaan aloittaa.



Kuva 1



Kuva 2

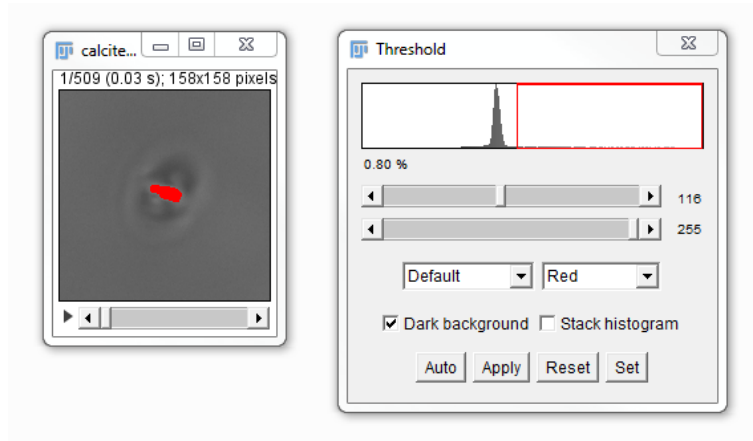
5. Valitse **Plugins -> Mosaic -> Particle Tracker 2D/3D**, jolloin aukeaa Kuvan 2 mukainen ikkuna. Tärkein määriteltävä parametri on hiukkasen säde, jonka arvon pitäisi olla noin 7-8 pikseliä. Aseta **"Cutoff"**-arvo nolaksi, **"Per/Abs"** välille 0.1-0.5 ja **"Link Range"** välille 50-100. Jos kontrasti videossa on hyvä, niin näiden parametrien tarkoilla arvoilla ei ole hirveästi merkitystä hiukkasen keskipisteen määrittämisen kannalta. **"Preview Detected"**-painiketta painamalla voi tarkistaa löytyykö kuvasta yksi hiukkanen vai useampia.
6. Painamalla **"OK"**-painiketta käy ParticleTracker koko kuvasarjan läpi ja näyttää kuvan 3 taustalla näkyvän tiivistelmän tuloksista. Jos ParticleTracker löytää useamman kuin yhden hiukkasen liikeradan, niin tällöin asetuksia tulee muuttaa kunnes vain yksi liikerata on jäljellä.
7. Valitsemalla **"All Trajectories to Table"** saat partikkelin koordinaatit näkyviin.
8. Valitsemalla **File -> Save as** voi tulokset tallentaa esim. tekstitiedostoksi, jonka voi ladata Matlabiin tulosten käsittelyä varten.

File	Edit	Font	Results							
Trajectory	Frame	x	y	z	m0	m1	m2	m3	m4	
1	1	0	61.670	59.626	0	46.766	4.061	18.844	94.559	500.54
2	1	1	61.512	61.417	0	47.278	4.095	19.136	96.625	514.28
3	1	2	60.665	61.737	0	47.094	4.077	18.975	95.442	506.18
4	1	3	57.576	59.799	0	47.686	4.079	18.975	95.338	504.85
5	1	4	60.040	59.840	0	45.864	4.023	18.541	92.592	488.45
6	1	5	62.832	60.508	0	47.229	4.068	18.892	94.824	501.87
7	1	6	60.678	60.806	0	47.177	4.117	19.315	97.854	522.29
8	1	7	59.986	59.982	0	45.460	4.009	18.448	92.082	485.89
9	1	8	59.048	60.088	0	45.791	4.007	18.423	91.841	483.72
10	1	9	60.476	60.964	0	46.863	4.113	19.297	97.804	522.38
11	1	10	59.462	60.216	0	46.722	4.077	19.000	95.744	508.82
12	1	11	60.022	59.747	0	46.012	4.024	18.557	92.709	489.11
13	1	12	59.015	60.803	0	46.078	4.068	18.928	95.280	506.04
14	1	13	59.831	59.372	0	46.535	4.039	18.659	93.309	492.49
15	1	14	61.556	57.913	0	46.209	4.007	18.405	91.625	481.97
16	1	15	60.769	60.604	0	47.011	4.125	19.381	98.284	524.92
17	1	16	60.020	58.350	0	45.794	4.015	18.495	92.355	487.19
18	1	17	61.416	58.737	0	46.500	4.031	18.597	92.897	489.91
19	1	18	59.614	61.060	0	47.576	4.166	19.758	101.060	543.93
20	1	19	59.862	60.514	0	46.748	4.044	18.704	93.634	494.66
21	1	20	59.731	59.340	0	46.450	3.994	18.273	90.593	474.50
22	1	21	59.965	58.935	0	45.368	4.012	18.488	92.399	487.92
23	1	22	60.060	61.360	0	45.753	3.999	18.342	91.205	479.18
24	1	23	59.993	61.280	0	46.286	4.017	18.482	92.080	484.39

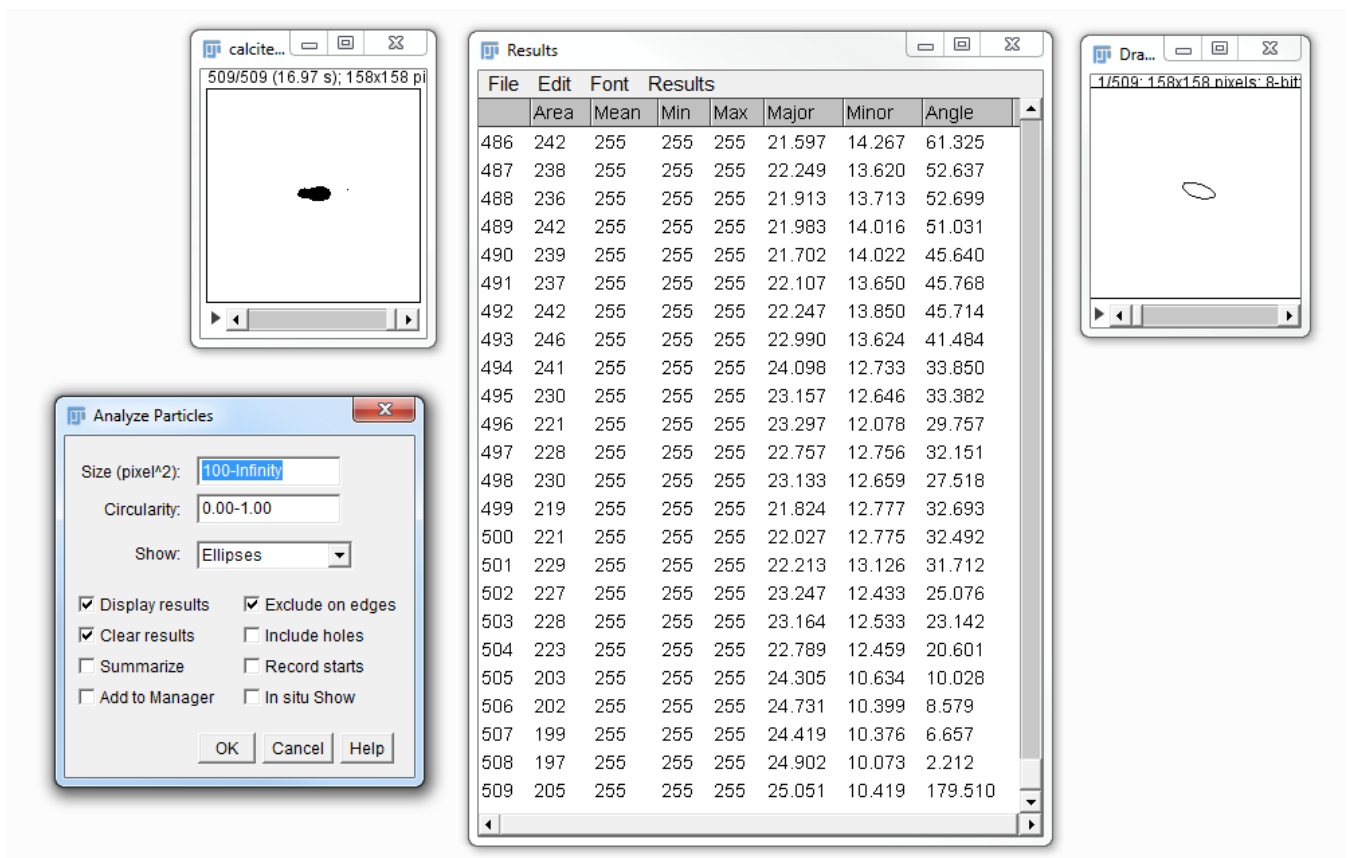
Kuva 3

Kalsiittihiukkasen pyörimisnopeuden määrittäminen

1. Avaa tallentamasi kuvarsarja valitsemalla **File -> Open**
2. Muuta **Image -> Properties** -valikosta kenttien "slices" ja "frames" arvot keskenään.
3. Rajaa noin 160x160 pikselin kokoinen alue pinseteissä olevan partikkelin ympäriltä "maalaamalla" haluttu alue ja valitsemalla **Image -> Crop**. Kokeile myös **Process -> subtract Background**.
4. Valitse **Image -> Adjust -> Threshold** ja "**Dark Background**", jonka jälkeen muuta intensiteetin alarajaa kunnes saat jotain Kuvan 4 tapaista. Paina tämän jälkeen Apply ja OK.
5. Valitse **Analyze -> Analyze Particles...** ja kokeile ensin kuvan 5 mukaisia asetuksia. Kuvassa 5 Results-ikkunan vasemmalla puolen on video kohdan 4. jälkeen, Results-ikkuna ja toinen video ovat partikkelianalyysin tuloksia. Ideana on, että videon jokaisesta kuvasta löytyy vain yksi hiukkanen, kuten tässä esimerkissä. Tämän jälkeen datan voi tallentaa jälleen kerran tekstitiedostoksi ja hoitaa loput mittausdatan käsittelystä Matlabilla. Pyörimisnopeuden määrittämisessä voi olla esim. Matlabin fft-funktiosta apua.



Kuva 4



Kuva 5