

## Praktikum z experimentálních metod biofyziky a chemické fyziky I.

Vypracoval: Martin Kříž, Vít Marek.

Dne: 15.12.2002

Úloha: 6

### Videomikroskopie a počítačové zpracování obrazu

#### Úkol:

1. Kolik hladin jasu rozpozná lidské oko?
2. Analýza počtu a charakteristických rozměrů vybraných prvků obrazu.
3. Zpracování řezů.
4. Rozlišovací schopnost mikroskopu.

#### Výsledky měření:

1. Určování počtu hladin jasu, které dokáže lidské oko rozeznat, jsme prováděli na obrázku *světlo.lim*. Počet hladin jasu byl v černobílém obrázku kódován pomocí 8 bitového čísla (256 odstínů šedi). Postupným dělením intenzity dvěma a jejího opětovného násobení jsme získali 7, 6 a 5 bit úroveň jasu. Při sedmi bitech bylo v obrázku jen 128 odstínů šedi. Ale přesto jsme nepozorovali okem patrný rozdíl. Teprve u 5 bitů (32 odstínů) jsme okem rozeznali přechody mezi jednotlivými odstíny.

Stejný pokus jsme opakovali i pro námi nasnímaný obrázek brukve (obrázek 1). Na něm nebyli žádné plynulé přechody mezi různými odstíny šedi a tak jsme zrnitost obrazu poznali až při 4 bitové hloubce obrazu.



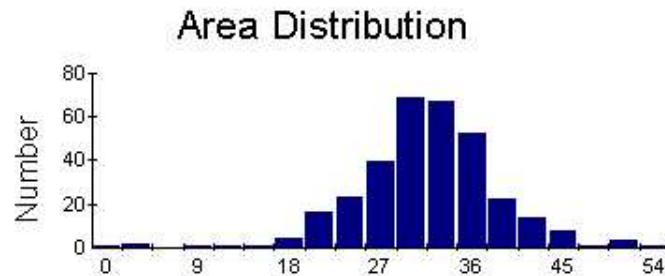
Obrázek 1: Brukev

2. Ke zpracování počtu a charakteristických rozměrů vybraných prvků obrazu jsme použili obrázky *fazol\_gm.lim* a *fazol\_gv.lim*. Po otevření obrázků jsme postupně provedli prahování, nastavení kalibrace, otevření pro odstranění šumu a artefaktů, morfologickou separaci objektů a odstranění okrajů. Získané údaje jsou zaznamenány v tabulce 2. Histogram rozdělení průměrné plochy připadající na jednu fazoli pro soubor

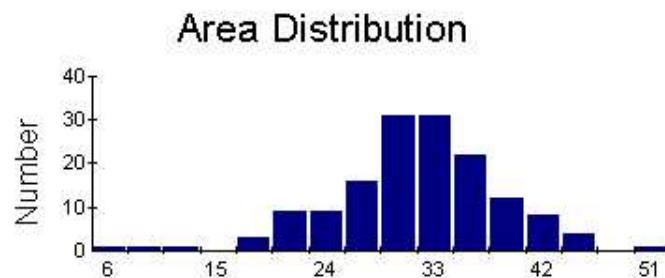
Tabulka 1: Počet a průměrná plocha fazolí

obrázek	počet fazolí	průměrná plocha na fazoli [mm]
<i>fazol_gm.lim</i>	331	$(32,1 \pm 6,7)$
<i>fazol_gv.lim</i>	149	$(33,0 \pm 6,9)$

*fazol\_gm.lim* je v obrázku 2 a pro *fazol\_gv.lim* v obrázku 3.



Obrázek 2: Histogram rozdělení průměrné plochy [mm<sup>2</sup>] připadající na jednu fazoli v souboru *fazol\_gm.lim*



Obrázek 3: Histogram rozdělení průměrné plochy [mm<sup>2</sup>] připadající na jednu fazoli v souboru *fazol\_gv.lim*

3. Pro připravený obrázek krkavice pacienta (soubor *8296.tif*) jsme napsali proceduru, která umožňuje stanovit plochu stěn a světlého průřezu. Získané hodnoty jsou (v jednotkách pixel × pixel):

plocha stěny 54 756

plocha průřezu 42 292

4. Pomocí difrakčního obrazce *Airydisk.lim* a makra *Airy.mac* jsme postupně vytvořili řadu superponovaných difrakčních obrazců bodů. V závislosti na vzdálenosti jejich maxim

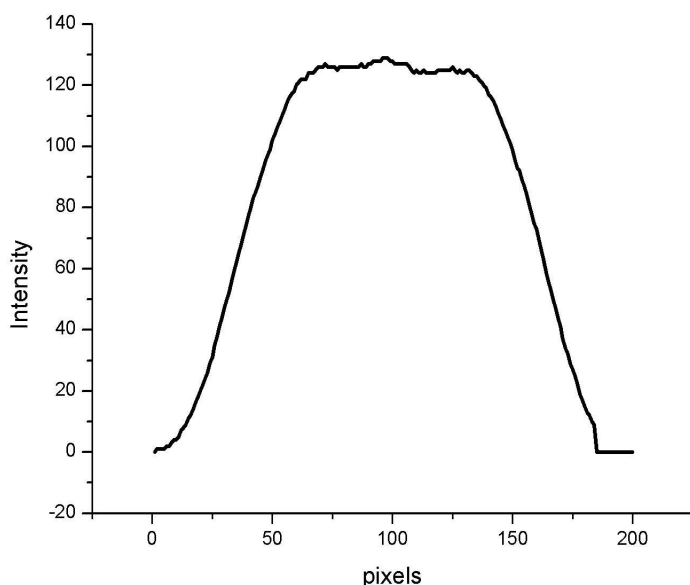
jsme pozorovali, kdy lze okem rozeznat 2 body. Tuto vzdálenost jsme určili na 64 pixelů (Podle Rayleighova kritéria to je 65 pixelů).

Kdybychom věděli, že pozorovaný obraz je pouhou superpozicí dvou difrakčních obrazů dvou bodů, tak by šla teoretická rozlišovací schopnost pod hranici Rayleighova kritéria. V mikroskopické praxi se však s tímto jen asi stěží setkáme. Zdrojem záření bývají složitější struktury než pouhý bod.

Při snižování kontrastu se postupně zmenšuje rozlišovací schopnost. Se snižujícím se kontrastem tak klesá reálná rozlišovací schopnost mikroskopu.

Sledováním hranolových přechodů mezi plochami odlišného jasu jsme se snažili odhadnout, jaký minimální rozdíl jasu je schopno postřehnout lidské oko. U plynulého přechodu jsme úroveň kontrastu stanovili na 37 a u skokového přechodu na 120.

Při snaze vylepšit rozlišovací schopnost mikroskopu pomocí zvýšení kontrastu na narazili na problém, že místo očekávaných dvou bodů jsme pozorovali 3. Při zmenšení vzdálenosti 2 bodů na 63 pixelů vzniklo překryvem mezi oběma body místo s větším jasnem, než mají oba body. Ty pak byli méně patrné. Z přímkového výřezu intenzity na spojnici bodů je to patrné (obrázek 4).



Obrázek 4: Intenzita světla na spojnici bodů vzdálených 63 pixelů