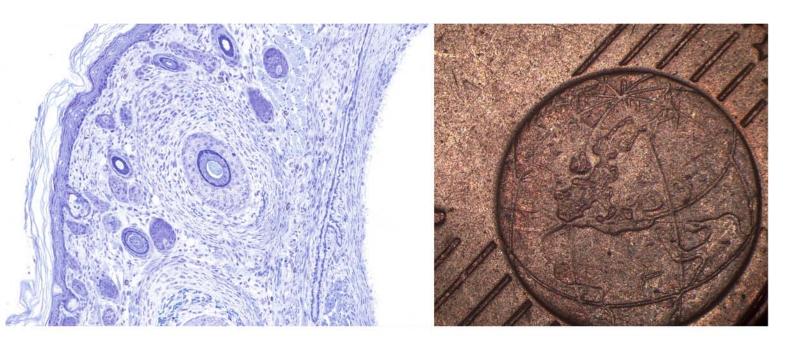
MikroLive

- Kurzanleitung -





Version 4

Inhaltsverzeichnis

MikroLive 4 installieren	3
Lieferumfang	3
Systemvoraussetzungen	
Die Installation der Hardware	
Die Installation der Software	4
MikroLive 4 starten und konfigurieren	4
Der erste Kontakt mit MikroLive 4	4
Eine Mikroskopbeschreibung erstellen	5
MikroLive 4 für Messungen kalibrieren	6
Die Startoptionen der Kamera festlegen	7
Individuelle Bildformate definieren (nur MikroLive MultiFormat)	8
Die Aufnahmeoptionen für Einzelbilder setzen	9
Voreinstellungen, die das Arbeiten mit MikroLive 4 erleichtern	10
Funktionen, die die Arbeit mit MikroLive 4 effektiver machen	11
Histogramm und Pixelinfo	11
Der Standbildmodus	11
Die Zoomfunktion	12
Der Vollbildmodus	12
Die Bildspiegelung	12
Der Monochrom-Modus	12
Einzelbilder, Bildfolgen und Bildstapel speichern	13
Die Speicherung von Einzelbildern	13
Die Speicherung von Bildfolgen	13
Bildstapel erstellen	14
Bilder nach MikroLive 4 reimportieren	15
Messungen und Annotationen in das Bild einfügen	16
Allgemeines zu Messungen und Annotationen	16
Längenmessungen (Zweipunkt) durchführen	16
Längenmessungen (Mehrpunkt) durchführen	17
Flächenmessungen durchführen	17
Kreismessungen durchführen	18

Winter has a second of a decorate fill has a	40
Winkelmessungen durchführen	
Einen Längenmaßstab einblenden	
Textannotationen erstellen und bearbeiten	
Einen Markierungspfeil erzeugen und bearbeiten	
Datum und Uhrzeit einblenden	21
Alle Messungen und Annotationen löschen oder ausblenden	22
Die Datenansicht	22
Objektzählungen durchführen	23
Mikroskopische Objekte mit MikroLive 4 zählen	23
Eine Objektzählung erstellen	23
Eine bestehende Zählung bearbeiten	25
MLI-Dateien verstehen und nutzen	26
Was Sie bei der Arbeit mit MLI-Dateien beachten müssen	26
Das mikroskopische Bild im MLI-Format speichern	26
Eine MLI-Datei in MikroLive 4 öffnen	27
Eine geöffnete MLI-Datei in den Formaten Bitmap, JPEG oder TIFF speichern	27
Bildstörungen mit MikroLive 4 beseitigen	28
Das Bildrauschen reduzieren	28
Ungleichmäßigkeiten in der Ausleuchtung beseitigen	28
Aliasing-Effekte im Livebild verhindern	30
Anhang	31
Anhang 1: Verfügbare Bildformate der Kameras von MikroLive 4	31
Anhang 2: Kameraparameter der von MikroLive 4 unterstützten Kameras	32
Anhang 3: Lösungen für auftretende Probleme	33
Anhang 4: Ressourcen zu MikroLive 4	34

MikroLive 4 installieren

Lieferumfang

Im Lieferumfang von *MikroLive 4* findet sich neben einer gedruckten Version dieser Bedienungsanleitung eine CD mit der zu *MikroLive* gehörigen Software. Die Hardware umfasst neben der Kamera ein hochwertiges USB3-Verbindungskabel (3m) sowie einen Adapterring von CS- auf C-Mount. Dieser Adapterring ist bei Auslieferung bereits im Gewinde der Kamera montiert. Die jeweils aktuelle Version der Software von MikroLive können Sie auch per Download auf mikroskopie.de beziehen (im Bereich "Downloads/Infos" auf der Seite für *MikroLive*.)

Hinweis:

Falls nicht bereits vor dem Erwerb von *MikroLive* vorhanden, sollte ein Objektmikrometer zur Kalibrierung der Software erworben werden (als optionales Zubehör erhältlich).

Systemvoraussetzungen

MikroLive 4 benötigt mindestens einen PC auf der Basis eines Intel® Core i3. Der Arbeitsspeicher sollte zudem nicht unter 8 GB aufweisen. Bitte beachten Sie, dass die aktuellen Versionen von MikroLive mit Sensoren von Sony (MikroLive 6,4MP/3MPplus/5MPplus/MONOplus/MultiFormat) nicht an eine USB2-Schnittstelle angeschlossen werden sollten, da per USB2 die Bildübertragung mitunter gestört sein kann. Für die aktuellen Versionen von MikroLive ist somit eine USB3-Schnittstelle erforderlich. Die Kamera von MikroLive USB3 5MP kann dagegen mit reduzierter Bildrate auch an einer USB2-Schnittstelle betrieben werden.

Die Software von *MikroLive 4* läuft auf den Betriebssystemen Microsoft® Windows® 7 / 8 und 10 (64 Bit-Versionen). Die Auflösung des Grafiksystems sollte mindestens 1920x1080 Pixel betragen. Mikroskopseitig ist ein trinokulares System mit C-Mount-Adapter notwendig. Für die meisten Zwecke ist eine Adaptervergrößerung von 0,5x-0,65x zu empfehlen.

Details und Hinweise zur Adaption an Ihren PC bzw. Ihr Mikroskop können Sie unter den Kontaktangaben am Ende dieser Bedienungsanleitung erfragen.

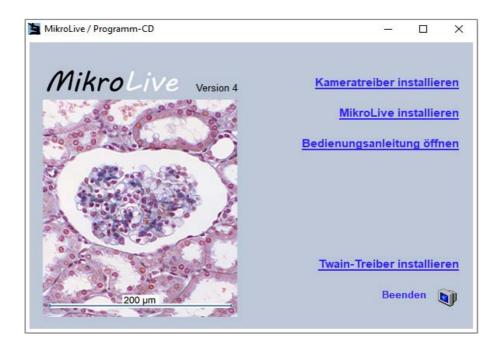
Die Installation der Hardware

Montieren Sie zunächst die Kamera am C-Mount-Adapter Ihres Mikroskops. Beachten Sie, dass der Adapterring von CS- auf C-Mount hierbei zwischen Kamera und C-Mount-Adapter des Mikroskops eingefügt sein muss. Verbinden Sie dann die Kamera per USB-Kabel mit dem PC.



Die Installation der Software

Legen Sie die Programm-CD in das Laufwerk Ihres Rechners ein. Nachfolgend öffnet sich das Auswahlfenster der CD.



Vor der Installation von *MikroLive* müssen Sie den zu Ihrer Kamera gehörenden Treiber installieren, damit *MikroLive* die Kamera auch erkennen und steuern kann. Nach der Installation des Treibers können Sie *MikroLive* selbst installieren. Folgen Sie dabei den Anweisungen der Installationsroutine.

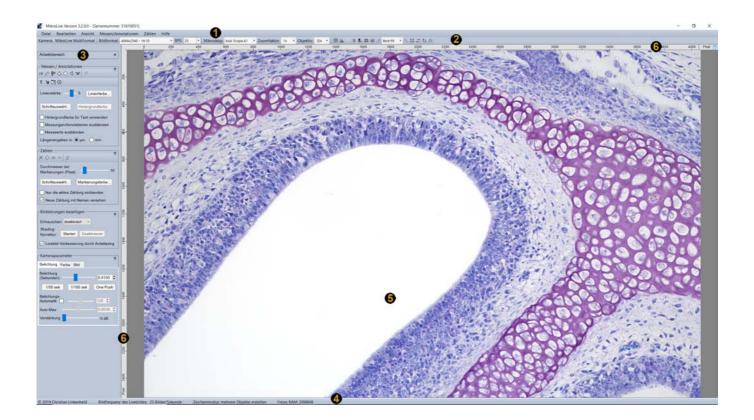
MikroLive 4 starten und konfigurieren

Der erste Kontakt mit MikroLive 4

Nach dem Start von *MikroLive* erscheint zunächst ein Dialogfeld, in welchem Sie für Ihre Kamera ein Bildformat auswählen müssen. Bestätigen Sie Ihre Entscheidung durch <Auswählen>.



Die Programmoberfläche von *MikroLive* umfasst eine Menüleiste (1) und eine Symbolleiste (2). Links findet sich der Arbeitsbereich (3) mit den Boxen "Messen/Annotationen", "Zählen", "Bildstörungen beseitigen" und "Kameraparameter". Am unteren Seitenrand informiert eine Statuszeile (4) über die aktuelle Bildfrequenz. Die Darstellung des mikroskopischen Bildes selbst erfolgt auf der Leinwand (5). Komplettiert wird die Programmoberfläche durch zwei Lineale (6) am Rand der Leinwand. Symbolleiste, Arbeitsbereich, Statuszeile und die Lineale können ausgeblendet werden. Hierdurch vergrößert sich die Leinwand zur Darstellung des mikroskopischen Bildes. Die Funktionen von Arbeitsbereich und Symbolleiste sind über die Menüleiste weiterhin erreichbar.





Wenn Sie mit der rechten Maustaste auf das mikroskopische Bild klicken, gelangen Sie zum zentralen Kontextmenü von *MikroLive*. Hierüber lassen sich alternativ zu Menü- und Symbolleiste sowie dem Arbeitsbereich wesentliche Einstellungen und Aktionen durchführen. Dies erleichtert die Arbeit mit *MikroLive* insbesondere im Vollbildmodus (siehe Seite 12).

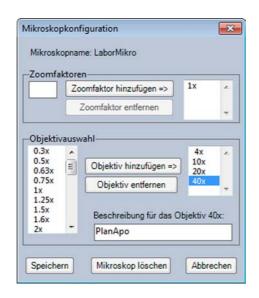
Eine Mikroskopbeschreibung erstellen

Um alle Funktionen von *MikroLive* nutzen zu können müssen Sie dem Programm zunächst wichtige Informationen über Ihr Mikroskop mitteilen. Diese Angaben sind insbesondere dann notwendig, wenn Sie mit Ihrem Mikroskop nach erfolgter Kalibrierung Längen- oder Flächenmessungen durchführen wollen. Wählen Sie hierzu in der Menüleiste *Bearbeiten* | *Mikroskop* | *Neu...* .

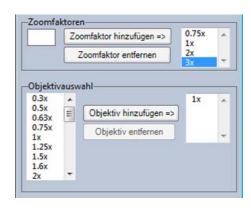


Im sich dann öffnenden Dialogfeld geben Sie zunächst einen Namen für Ihr Mikroskop ein. In der Box "Objektivauswahl" markieren Sie in der linken Listbox nacheinander die an Ihrem Mikroskop montierten

Objektive und fügen diese per Mausklick auf <Objektiv hinzufügen> der Mikroskopbeschreibung hinzu. Eine Beschreibung für das Objektiv müssen Sie nur dann eingeben, wenn Ihr Mikroskop über zwei verschiedene Objektive mit der gleichen Vergrößerung verfügt. Ansonsten ist diese Angabe optional. Manche Mikroskope verfügen über einen so genannten Vergrößerungswechsler, welcher die durch ein Objektiv erzielte Vergrößerung um bestimmte, wählbare Zusatzfaktoren verstärkt. Eine Modifizierung der Objektivvergrößerung kann besonders bei älteren Mikroskopen auch durch einen Zwischentubus erfolgen. Ein solcher Tubus wird beispielsweise für die Einfügung zusätzlicher optischer Bauelemente bei bestimmten mikroskopischen Verfahren benötigt. Verfügt Ihr Mikroskop weder über einen Vergrößerungswechsler noch einen Zwischentubus, können Sie in das linke Textfeld der Box "Zoomfaktoren" einfach eine "1" eintragen und per Klick auf <Zoomfaktor hinzufügen> in die Mikroskopbeschreibung übernehmen. Ansonsten müssen Sie den oder die Zusatzfaktoren nacheinander in das Textfeld eintragen und per Klick auf <Zoomfaktor hinzufügen> in die Mikroskopbeschreibung eintragen.

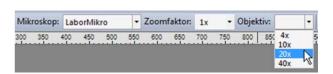


Stereomikroskope besitzen in der Regel nur eine einzige Objektivvergrößerung (oft 1x). Die Variation der Mikroskopvergrößerung erfolgt bei diesen Geräten in der Regel durch einen Zoommechanismus. Bei den meisten Stereomikroskopen verfügt die Zoomeinstellung über eine Anzahl von Rastpositionen, welche die reproduzierbare Einstellung bestimmter Zoomfaktoren ermöglicht. Diese sind dann als Zoomfaktoren in die Mikroskopkonfiguration einzutragen. Die Abbildung rechts zeigt beispielhaft die Eintragungen in das Dialogfeld für ein Stereomikroskop mit Zoomoptik.



MikroLive 4 für Messungen kalibrieren

Nachdem alle notwendigen Angaben zum Mikroskop gemacht wurden, kann die Kalibrierung der Software erfolgen. Für diese benötigen Sie einen so genannten Objektmikrometer (als Zubehör zu *MikroLive* erhält-

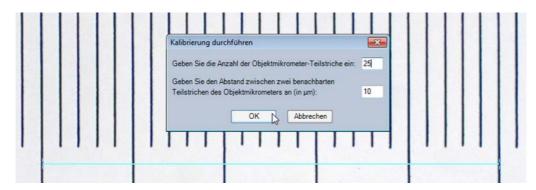


lich). Um eine eindeutige Zuordnung einer Kalibrierung gewährleisten zu können müssen Sie zunächst Mikroskop, Zoomfaktor und Objektiv in der Symbolleiste auswählen.

Legen Sie dann den Objektmikrometer auf den Objekttisch des Mikroskopes auf und bringen Sie dessen Skala in das Bildfeld. Danach klicken Sie mit der Maus auf den Button für die Kalibrierung.



Wenn Sie nun die Maus über das mikroskopische Bild auf der Leinwand bewegen, verwandelt sich der Mauszeiger in ein Fadenkreuz. Setzen Sie nun durch Klicken mit der Maus zwei Markierungen auf möglichst weit von einander entfernten Teilstrichen des Mikrometers. Geben Sie in das erscheinende Dialogfeld die Anzahl der Teilstriche zwischen den beiden mit der Maus gesetzten Markierungen ein. Zur Vervollständigung müssen Sie anschließend noch den Abstand zwischen zwei benachbarten Teilstrichen eingeben.



Die Kalibrierung wird durch einen Mausklick auf den OK-Button abgeschlossen. Sobald eine Kalibrierung für eine Kombination aus Mikroskop, Zoomfaktor und Objektiv vorliegt, wird am Ende des horizontalen Lineals ein Button angezeigt, mit dem ein Wechsel zwischen der Anzeige der Pixelanzahl und der Anzeige von Längeneinheiten möglich ist.

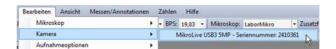




Eine Kalibrierung muss für alle verfügbaren Kombinationen aus Zoomfaktoren und Objektiven Ihres Mikroskops durchgeführt werden. Nach der Kalibrierung empfiehlt sich eine Kontrollmessung. Hierfür messen Sie einfach eine Strecke zwischen zwei Teilstrichen des Objektmikrometers und vergleichen das Resultat mit dem Produkt aus Anzahl der Teilstriche und Teilstrichabstand (Durchführung einer Längenmessung siehe Seite 16).

Die Startoptionen der Kamera festlegen

Um nicht bei jedem Programmstart sämtliche Kameraeinstellungen vornehmen zu müssen können diese als Standard für die Kamera festgelegt werden. Hierzu wählen Sie in der Menüleiste *Bearbeiten* | *Kamera* | *Kamerabezeichnung*.

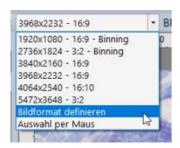


Im sich dann zeigenden Dialogfeld können Sie neben dem Standardformat der Kamera auch festlegen, ob beim Öffnen der Kamera das beim letzten Beenden des Programms verwendete Mikroskop / Objektiv oder auch der Zoomfaktor in der Symbolleiste voreingestellt wird.



Individuelle Bildformate definieren (nur MikroLive MultiFormat)

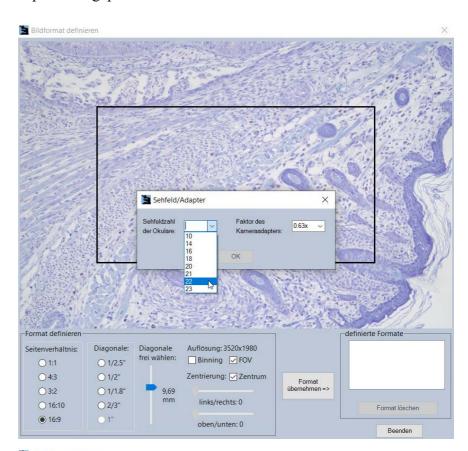
Mit der Version *MikroLive MultiFormat* können neben den bereits vorgegebenen Standardformaten eigene Bildformate erstellt werden. Hierdurch kann dieses Kamerasystem besonders flexibel an unterschiedliche Mikroskope bzw. C-Mount-Adapter angepasst werden. Ein neu definiertes Bildformat kann deshalb beispielsweise den nutzbaren Bildkreis eines Adapters exakt ausfüllen oder bezüglich der Bilddiagonalen an das Sehfeld der Okulare optimal angepasst werden.

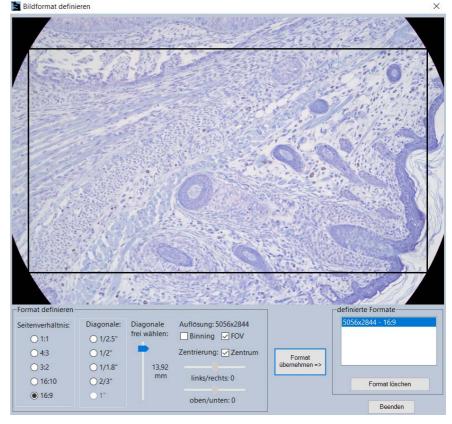


Um ein neues Format zu definieren wählen Sie in der Format-Combobox "Bildformat definieren".

Im sich öffnenden Format-Editor können Sie unten im Bereich "Format definieren" die gewünschten Einstellungen für das neue Format vornehmen. Das Vorschaufenster oben zeigt durch eine schwarze Umrandung den aktuell gewählten Bereich für ein neues Format im Vergleich zum kompletten Sensorformat von 1". Durch Setzen eines Häkchens in der Checkbox FOV ("Field of View") können Sie im sich dann öffnenden Fensterchen die Daten von Okular und Adapter eingeben. Nach Bestätigung durch einen Mausklick auf den OK-Button wird die Umrandung des Sehfeldes der Okulare in das Vorschaubild eingeblendet.

Im Bild rechts wird ein Format definiert, das mit seiner Diagonalen genau dem Sehfeld der Okulare entspricht. Durch einen Klick auf "Format übernehmen" wird dieses individuell definierte Format dauerhaft in die Liste der verfügbaren Formate eingefügt. Dieses Format kann dann auch als Standardformat für die Kamera festgelegt werden (siehe Seite 7).





Die Aufnahmeoptionen für Einzelbilder setzen

Für die Speicherung von Einzelbildern können Sie über die Menüauswahl *Bearbeiten | Aufnahmeoptionen | Einzelbilder...* Vorgaben hinsichtlich Speicherort, Dateiname und Dateityp bestimmen.





Die Möglichkeiten im Register

"Speicherordner/Dateiname" sind selbsterklärend. Wenn Sie die Option "zusätzlich Unterordner aus Datum bilden" wählen, wird das Bild automatisch in einem Unterordner gespeichert, dessen Name dem aktuellen Datum entspricht. Dieser Ordner wird von *MikroLive* automatisch erstellt. Für die Organisation der Bilder kann dies sehr hilfreich sein.

Für viele Zwecke ebenfalls sehr nützlich ist die Hinzufügung eines Zeitstempels zum Dateinamen.

Aufnahmeoptionen für Finzelbilder

Im Register "Dateityp/Bildgröße/Diverses" können Sie zunächst einen gewünschten Dateityp für den Speichervorgang festlegen. Neben den Standardformaten "Windows Bitmap", "JPEG komprimiert" und

"Tagged Image File Format" steht mit "MikroLive Image" noch ein speziell mit *MikroLive* nutzbares Format zur Verfügung, über dessen Eigenschaften Sie auf Seite 26 ("MLIDateien verstehen und nutzen") mehr erfahren.

Bei der Bildgröße haben Sie drei Möglichkeiten:

- ➤ Bei der Auswahl "Originalgröße" wird das Bild genau in der Größe des eingestellten Bildformates gespeichert.
- Für viele Zwecke genügt das Speichern eines verkleinerten Bildes. Hier kann die Wahl "50%" sinnvoll sein.
- Eine weitere Möglichkeit stellt die Option "wie Display" dar. Dann wird das Bild genau so gespeichert, wie Sie es auf Ihrem Display sehen. Dies wirkt sich gegenüber der Auswahl "Originalgröße" natürlich nur dann aus, wenn Sie eine Darstellung abweichend von 100% gewählt haben (z.B. über den Menüeintrag Ansicht | Zoom).

Speicherordner/Dateiname

Dateityp/Bildgröße/Diverses

Dateityp

BMP - Windows Bitmap

JPG - JPEG komprimiert

MLI - MikroLive Image

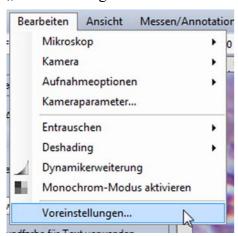
Description of the process of the pr

Die Auswahl der Option "Bild mit gewählten Vorgaben direkt

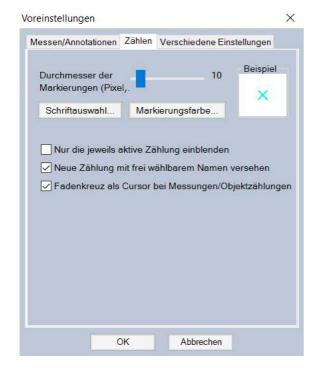
speichern" bewirkt das Speichern eines Bildes mit den gesetzten Vorgaben ohne Einblendung eines weiteren Dialogfeldes. Der Speichervorgang selbst wird am einfachsten durch Drücken der "Leertaste" ausgelöst.

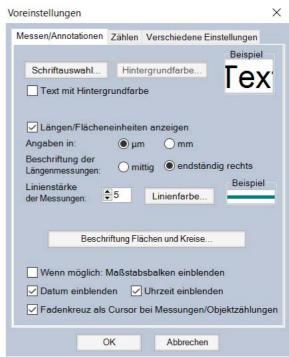
Voreinstellungen, die das Arbeiten mit MikroLive 4 erleichtern

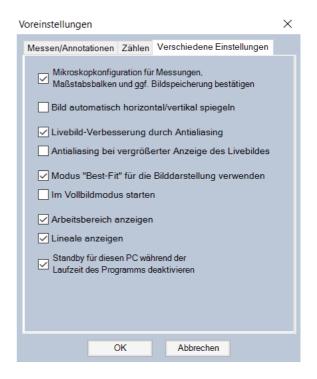
Durch die Auswahl des Menüeintrages Bearbeiten | Voreinstellungen... können Sie das Dialogfeld "Voreinstellungen" öffnen.



Dieses Dialogfeld (Abbildung rechts) ermöglicht die Festlegung zahlreicher Einstellungen von *MikroLive*, welche dann beim Programmstart direkt abgerufen und gesetzt werden. Das Dialogfeld selbst beinhaltet 3 Register. Im Register *Messen/Annotationen* können Sie Vorgaben für die Darstellung von Zeichenobjekten einstellen.





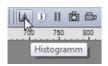


Voreinstellungen für das Zählen von Objekten finden sich im Register Zählen.

Das Register Verschiedene Einstellungen beinhaltet zentrale Einstellungen für MikroLive, die nach dem Setzen eines Häkchens in der zugehörigen Checkbox aktiviert werden. Durch die Einstellung Mikroskopkonfiguration für Messungen, Maßstabsbalken und ggf. Bildspeicherung bestätigen wird bei jeder Operation, bei der die Mikroskopkonfiguration relevant ist, ein Dialogfenster geöffnet, welches eine Bestätigung der eingestellten Konfiguration durch den Nutzer erwartet. Dies ist beispielsweise bei Längenmessungen der Fall. Die Option Livebild-Verbesserung durch Antialiasing bewirkt eine verbesserte Darstellung am Bildschirm, wenn die Zoomstufe nicht 100% ist (siehe Seite 33). Auf die Qualität gespeicherter Bilder hat diese Funktion keinen Einfluss, da die Speicherung immer in optimaler Qualität erfolgt.

Funktionen, die die Arbeit mit MikroLive 4 effektiver machen

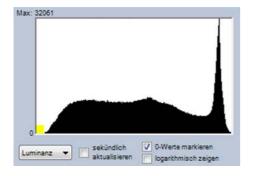
Histogramm und Pixelinfo

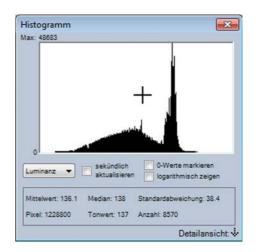


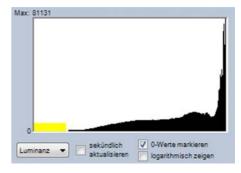
Das Histogramm zeigt die Häufigkeit der im Bild enthaltenen Helligkeitswerte. Hiermit lassen sich beispielsweise Über- und Unterbelichtungen leicht identifizieren.

Sie gelangen zur Histogrammdarstellung über einen Mausklick auf den Histogramm-Button in der Symbolleiste.

Durch einen Klick auf den nach unten gerichteten Pfeil neben "Detailansicht" öffnen Sie eine erweiterte Ansicht des Histogramms, bei der die Anzeige zusätzlich für alle drei Farbkanäle (Rot, Grün und Blau) erfolgt.







Die Abbildung links oben zeigt ein typisches Histogramm für ein Präparat in der Durchlichtmikroskopie bei richtiger Einstellung der Belichtung (Einstellung der Belichtung siehe Anhang 2 "Kameraparameter der von MikroLive unterstützten Kameras" - Seite 32). Der Peak für die Helligkeitswerte rechts entsteht durch den hellen Bilduntergrund. Die weiter links folgenden Werte repräsentieren die Helligkeitswerte des Präparates. Das Histogramm rechts oben stammt vom gleichen Präparat bei leichter Überbelichtung. Die Helligkeitswerte für den Bilduntergrund sind ganz an den rechten Rand des Histogramms gedrängt.



Mit der Funktion "Pixelinfo" können Sie gezielt die Helligkeitswerte interessierender Bildbereiche abfragen. Hierzu aktivieren Sie den Pixelinfo-Modus durch einen Mausklick auf den Pixelinfo-Button in der Symbolleiste.

Wenn Sie nun die Maus über das mikroskopische Bild auf der Leinwand bewegen, verwandelt sich der Mauszeiger in ein Fadenkreuz. Gleichzeitig werden für die aktuelle Mausposition die Helligkeitswerte für die Farbkanäle angezeigt. Der Pixelinfo-Modus wird über das Drücken der rechten Maustaste verlassen.



Der Standbildmodus

MikroLive ermöglicht das Hinzufügen von Annotationen sowie die Durchführung von Zählvorgängen und Messungen direkt im Livebild. Um hierbei Probleme durch eine unbeabsichtigte Verstellung des Mikroskops zu umgehen verfügt MikroLive Standbildmodus über einen Standbildmodus, in welchem das aktuelle Livebild eingefroren wird. Zählungen von sich bewegenden Objekten werden hierdurch überhaupt erst möglich. Die entsprechende Funktion wird durch einen Mausklick auf den Standbild-Button in der Symbolleiste aktiviert bzw. deaktiviert (alternativ z.B. auch über das Kontextmenü).

Die Zoomfunktion

Das mikroskopische Bild kann in seiner Größe den aktuellen Bedürfnissen angepasst werden. Die eigentliche Auflösung des Bildes wird hierbei nicht verändert. Hierzu stellen Sie in der dafür vorgesehenen Combobox in der Symbolleiste die gewünschte Zoomstufe ein. Wenn Sie bei der Auswahl der Zoomstufe "Best-Fit" wählen, wird die Bildgröße an die Ausdehnung der Leinwand optimal angepasst.



Der Vollbildmodus

Bei der Darstellung im Vollbildmodus werden alle Elemente von *MikroLive* ausgeblendet. Sichtbar bleibt dann die Leinwand mit dem mikroskopischen Bild, welches gleichzeitig optimal eingepasst wird. Zur Vollbilddarstellung gelangen Sie durch Mausklick auf den zugehörigen Button in der Symbolleiste (oder alternativ per



Kontextmenü). Das Verlassen des Vollbildmodus erfolgt durch das Drücken der Escape-Taste (<Esc>) oder per Kontextmenü. Der Vollbildmodus eignet sich beispielsweise für Demonstrationszwecke per Beamer. Durch Drücken der Taste <+> können Sie im Vollbildmodus zur Detailbetrachtung in das Bild hineinzoomen. Die Taste <-> ermöglicht dann wieder den Wechsel zur Darstellung der Leinwand mit dem vollständigen Kamerabild.

Die Bildspiegelung

Das Bild von *MikroLive* kann sowohl horizontal als auch vertikal gespiegelt werden. Die gewünschte Ausrichtung der Spiegelung können Sie über die beiden Buttons auf der Symbolleiste oder über die Menüleiste (*Bearbeiten*) auswählen.



Wechsel zum Monochrom-Modus

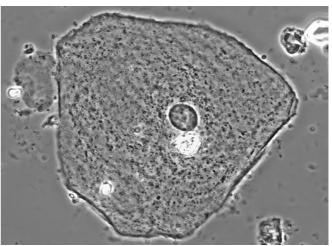
Der Monochrom-Modus

Bei einigen mikroskopischen Aufgabenstellungen kann man auf die Farbe als Informationsträger verzichten, weil hier allein die "Bildhelligkeit" wesentlich ist. Ein Beispiel hierfür ist das Phasenkontrast-Verfahren bei biologischen bzw. medizinischen Untersuchungen. Unter diesen Bedingungen kann der Monochrom-Modus von *MikroLive* oftmals schärfere Bildern liefern, als dies im Farbmodus möglich ist. Ursächlich hierfür ist die Charakteristik mikroskopischer Optik hinsichtlich der Korrektur von Abbildungsfehlern. Diese ist nämlich gerade bei Geräten für die Routine im grünen Farbbereich am besten ausgeführt. *MikroLive* nutzt deshalb im Monochrom-Modus nur den grünen Farbauszug des Kamerabildes.

Der Monochrom-Modus wird durch einen Mausklick auf den entsprechenden Button in der Symbolleiste aktiviert (alternativ auch über das Kontextmenü).



Epithelzelle im Phasenkontrast - Farbmodus von MikroLive



Epithelzelle im Phasenkontrast – Monochrom-Modus

Einzelbilder, Bildfolgen und Bildstapel speichern

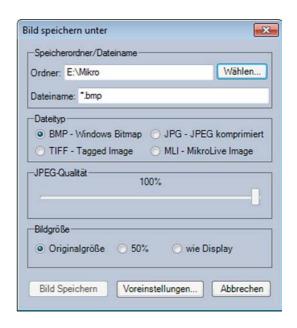
Die Speicherung von Einzelbildern

Die Speicherung von Einzelbildern erfolgt durch einen Mausklick auf den entsprechenden Button in der Symbolleiste, das Drücken der "Leertaste" oder die Tastenkombination <Strg> + <S>.

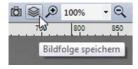


Falls Sie in den Voreinstellungen zur Abspeicherung von Einzelbildern bestimmte Vorgaben gemacht haben (siehe Seite 9), sind diese bereits in dem sich öffnenden Dialogfeld eingetragen.

Zu den Voreinstellungen gelangen Sie auch aus diesem Dialogfeld heraus über den Button "Voreinstellungen...". Wenn Sie in den Voreinstellungen für die Aufnahme von Einzelbildern die Option "Bild mit gewählten Vorgaben direkt speichern" gewählt haben, wird das Bild, wenn möglich, ohne die Anzeige des Dialogfeldes "Bild speichern unter" direkt mit den dort gewählten Voreinstellungen gespeichert.



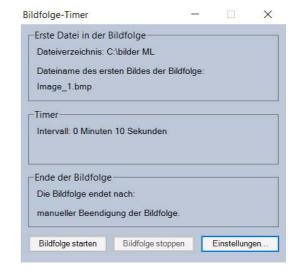
Die Speicherung von Bildfolgen



Bei einer Bildfolge werden Bilder automatisch mit zuvor gesetzten Vorgaben (zeitliche Dauer der Bildfolge, Intervall zwischen den Bildern) gespeichert. Für die Erstellung einer Bildfolge klicken Sie auf den zugehörigen Button in der Symbolleiste (alternativ auch über das Kontextmenü).

Im sich dann öffnenden Dialogfeld können Sie über den Button <Einstellungen...> die gewünschten Vorgaben für die Bildfolge setzen.





Im Dialogfeld zu den Bildfolge-Einstellungen finden sich 3 Register.

Dem im ersten Register ("Ordner/Name") vergebenen Dateinamen wird zur Unterscheidung der Einzelbilder während der Erstellung der Bildfolge ein fortlaufender Index (beginnend mit "1") hinzugefügt.

Im Register "Dateityp/Bildgröße" stehen als mögliche Typen "Windows Bitmap" und "JPEG komprimiert" zur Verfügung. Das programmeigene Format "MikroLive-Image" ist bei Bildfolgen nicht möglich. Sollen Einzelbilder einer Bildfolge mit *MikroLive 4* bearbeitet werden (z.B. die Messung von Längen oder Texthinzufügungen), so können die Bilder mit der Importfunktion von *MikroLive 4* in das Programm reimportiert werden (siehe Seite 15).





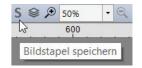
Im letzten Register können Sie schließlich Intervall und Dauer der Bildfolge einstellen. Zudem können Sie bestimmen, ob die Laufzeit der Bildaufzeichnung kontinuierlich in jedes Bild eingeblendet werden soll. Die Einblendung erfolgt standardmäßig links oben.

Nachdem alle Vorgaben gesetzt sind, müssen Sie diese mit <OK> bestätigen.

MikroLive kehrt dann zurück zum ersten Dialogfeld und Sie können die Bildfolge starten.

Bildstapel erstellen

MikroLive 4 ermöglicht das einfache Erstellen von Bildstapeln. Diese können dann beispielsweise mit einer externen Software zur Erweiterung der Schärfentiefe mit einander verrechnet ("gestackt") werden. Das Erstellen eines Bildstapels kann durch Mausklick auf den entsprechenden Button in der Symbolleiste eingeleitet werden.

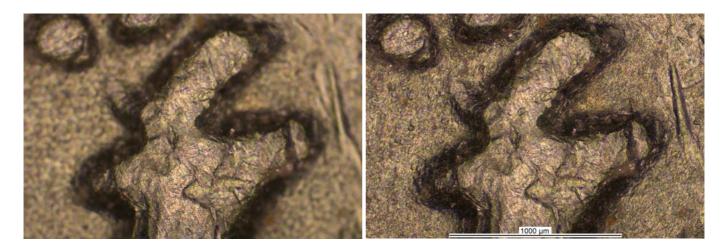


Dies ist alternativ auch über die Menüleiste *Datei* | *Bildstapel erstellen* oder die Tastenkombination <Alt> + <S> möglich.

Nachfolgend können die unterschiedlichen Schärfeebenen einfach per Tastendruck ("Leertaste") aufgenommen werden. Die Aufnahmen des Stapels werden in einem automatisch erzeugten Verzeichnis zusammengefasst. Dieses Verzeichnis findet sich im voreingestellten Speicherordner für Bildaufnahmen (siehe Seite 9). Der Name des erstellten Verzeichnises besteht immer aus einem "S", welches mit einem fortlaufenden Index ergänzt wird (also "S1"…). Die Bilder selbst werden immer im Format "jpg" mit höchster Qualitätsstufe gespeichert.

Zur Beendigung der Stapelerzeugung klicken Sie einfach wieder auf den gleichen Button, wie zur Erstellung des Stapels oder nutzen eine der oben aufgeführten Alternativen. Mit einem separaten Programm zum Stacken von Bildstapeln können dann die Aufnahmen zu einer einzigen Aufnahme verrechnet werden.

Bei Bedarf kann das so erzeugte Bild zur weiteren Bearbeitung (Längenmessungen usw.) wieder nach *MikroLive 4* reimportiert werden (siehe unten). Hierzu muss das Bild in den Formaten "jpg" oder "tif" bzw. "tiff" gespeichert werden. Der Reimport ist nur dann möglich, wenn das erzeugte Bild die gleiche Höhe und Breite in Pixeln, wie die ursprünglichen Einzelaufnahmen des Bildstapels hat.



Ausschnitt einer 1€-Münze unter dem Auflichtmikroskop – links: Einzelaufnahme mit begrenzter Schärfentiefe / rechts: Stack aus 20 Einzelaufnahmen nach Reimport in *MikroLive 4* zum Einfügen eines Maßstabes.

Sie können Bildstapel auch zur thematischen Strukturierung Ihrer Bildaufnahmen einsetzen. Zusammengehörige Aufnahmesequenzen werden hierbei jeweils in einem eigenen Verzeichnis abgelegt.

Bilder nach MikroLive 4 reimportieren

MikroLive 4 ermöglicht den Reimport zuvor gespeicherter Bilder aus den Formaten bmp/jpg/tif. Diese Bilder können dann mit MikroLive 4 bearbeitet werden (Hinzufügen von Textanmerkungen, Längenmessungen, Objektzählungen usw.).

Um ein Bild zu importieren wählen Sie in der Menüleiste *Datei* | *Bild importieren*. Alternativ können Sie den Vorgang durch die Tastenkombination <Strg> + <I> einleiten.



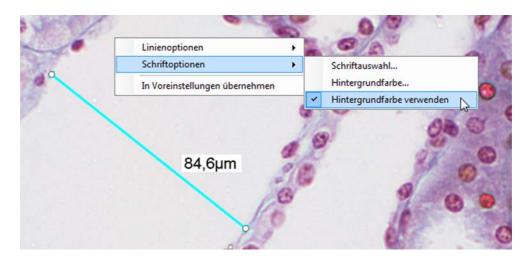
Es können nur Bilder importiert werden, deren Format (Breite x Höhe in Pixeln) *MikroLive 4* für die verwendete Kamera kennt. Das sind die Formate, welche sich auch in der Combobox "Bildformat" zur Auswahl finden. Wurde eine Datei im Format einer ROI gespeichert (siehe Seite 31), so kann diese ebenfalls nicht mehr nach *MikroLive 4* reimportiert werden.

Im Vergleich zum programmeigenen Dateiformat "mli" (siehe Seite 27) werden bei der Speicherung einer Datei in den oben genannten 3 Formaten keine Informationen zum Mikroskop gesichert. Zudem werden die mitgespeicherten Einfügungen direkt in das Bild eingefügt und sind daher nach dem Reimport nicht mehr bearbeitbar. Sie können aber eine Datei in den Formaten bmp/jpg/tif nach einem Reimport auch als mli-Datei abspeichern. Diese Datei ermöglicht dann wieder die volle Flexibilität des mli-Formats.

Messungen und Annotationen in das Bild einfügen

Allgemeines zu Messungen und Annotationen

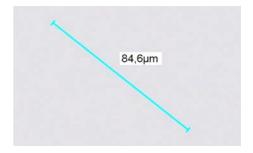
In *MikroLive* können Sie Messungen und Annotationen sowohl im Livebild- als auch im Standbild- Modus erstellen und bearbeiten. Dies macht das Arbeiten mit *MikroLive* besonders effizient und flexibel. Alle Mess- und Annotationsobjekte verfügen über ein eigenes Kontextmenü, mit dessen Hilfe Sie das Erscheinungsbild der Objekte bestimmen können. Hierzu müssen Sie auf ein bestehendes Objekt mit der linken Maustaste klicken und dieses hierdurch aktivieren. Ein Klick mit der rechten Maustaste öffnet dann das Kontextmenü des Zeichenobjektes.



Längenmessungen (Zweipunkt) durchführen

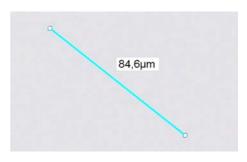


Für die Erstellung einer Längenmessung klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <L>). Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste den Startpunkt der Längenmessung setzen. Den Endpunkt bestimmen Sie mit einem weiteren Mausklick der linken Taste.



Bearbeitung einer bestehenden Längenmessung

Eine bestehende Längenmessung kann mit einem Klick der linken Maustaste auf die Messstrecke oder deren Beschriftung zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktivierte Messstrecke ist an der Darstellung der runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Die Beschriftung einer Längenmessung kann ebenfalls durch Ziehen mit der Maus verschoben werden. Zum Löschen einer Messstrecke müssen Sie diese zunächst aktivieren.

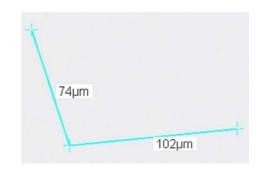


Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird die Messung aus dem Bild entfernt.

Längenmessungen (Mehrpunkt) durchführen



Für die Erstellung einer Mehrpunkt-Längenmessung klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <M>). Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste beliebig viele Messpunkte zur Erstellung einer aus Teilstrecken bestehenden Längenmessung im mikroskopischen Bild setzen. Die Messung wird mit einem Klick der rechten Maustaste abgeschlossen.



Bearbeitung einer bestehenden Mehrpunkt-Längenmessung

Eine bestehende Mehrpunkt-Längenmessung kann mit einem Klick der linken Maustaste auf die Messstrecke oder deren Beschriftung zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktivierte Messstrecke ist an der Darstellung der runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Die Beschriftung einer Längenmessung kann ebenfalls durch Ziehen mit der Maus verschoben werden. Zum Löschen einer Messstrecke müssen Sie diese zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird die Messung aus dem mikroskopischen Bild entfernt.



Flächenmessungen durchführen



Für die Erstellung eines Polygons klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <F>). Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste beliebig viele Eckpunkte eines Polygons im mikroskopischen Bild setzen. Zudem können Sie auch bei gedrückter linker Maustaste den Umriss des zu erstellenden Polygons zeichnen. Das Polygon wird mit einem Klick der rechten Maustaste geschlossen.



Bearbeiten eines Polygons

Eine bestehendes Polygon kann mit einem Klick der linken Maustaste auf den Polygonzug oder dessen Beschriftung zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktiviertes Polygon ist an der Darstellung der runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Die Beschriftung eines Polygons kann ebenfalls durch Ziehen mit der Maus verschoben werden. Zum Löschen eines Polygons müssen Sie dieses zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird es aus dem mikroskopischen Bild entfernt.



Kreismessungen durchführen



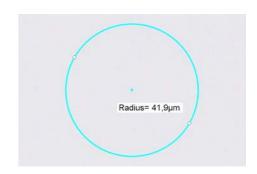
Für die Erstellung eines Kreises klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <K>).

Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste einen Randpunkt des Kreises setzen. Durch einfaches Bewegen der Maus wird der Kreis dann erstellt. Ein weiterer Mausklick mit der linken Maustaste schließt die Erstellung des Kreises ab. Im Bild von *MikroLive* selbst wird der Kreis mit dessen Radius angezeigt. Die Kreisfläche und dessen Umfang können über die Datenansicht von *MikroLive* (siehe Seite 22) eingesehen werden.



Bearbeiten eines Kreises

Eine bestehende Kreisdarstellung kann mit einem Klick der linken Maustaste auf den Kreis oder dessen Beschriftung zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktivierter Kreis ist an der Darstellung der runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Die Beschriftung eines Kreises kann ebenfalls durch Ziehen mit der Maus verschoben werden. Zum Löschen einer Kreisdarstellung müssen Sie diese zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird sie aus dem mikroskopischen Bild entfernt.

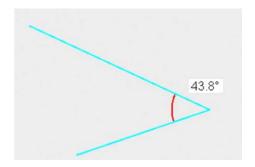


Winkelmessungen durchführen



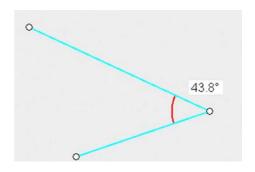
Für die Erstellung einer Winkelmessung klicken Sie mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <W>).

Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste die drei einen Winkel beschreibenden Punkte setzen.



Bearbeitung einer bestehenden Winkelmessung

Eine bestehende Winkelmessung kann mit einem Klick der linken Maustaste auf deren graphischen Elemente zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktivierte Winkelmessung ist an der Darstellung der runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Die Beschriftung einer Winkelmessung kann ebenfalls durch Ziehen mit der Maus verschoben und neu positioniert werden. Zum Löschen einer Winkelmessung müssen Sie diese zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird die Messung aus dem mikroskopischen Bild entfernt.



Einen Längenmaßstab einblenden



Einen Längenmaßstab können Sie durch einen Klick mit der Maus auf den entsprechenden Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches einblenden (alternativ: Tastenkombination <Strg> +).

Bearbeiten des eingeblendeten Längenmaßstabes

Einen eingeblendeten Längenmaßstab können Sie per Klick mit der linken Maustaste auf den Maßstab

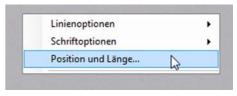
selbst oder dessen Beschriftung zur Bearbeitung aktivieren. Am quadratischen Griffpunkt können Sie bei gedrückter linker Maustaste durch Ziehen die Länge der Skala ändern, wenn Sie



zuvor den Mauszeiger auf dem Griffpunkt positioniert haben. Durch einen Doppelklick auf den zuvor aktivierten Maßstab können Sie zwischen horizontaler und vertikaler Darstellung wechseln. Der Maßstab kann zudem mit der Maus im mikroskopischen Bild an eine beliebige Position verschoben werden.

Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird er aus dem mikroskopischen Bild entfernt.

Weitere Bearbeitungsoptionen erhalten Sie, wenn Sie aus dem Kontextmenü des Maßstabes (Maßstab aktivieren und dann mit der



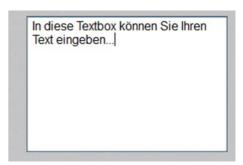
rechten Maustaste klicken) den Menüpunkt "Position und Länge..." aufrufen. Das dann erscheinende Dialogfeld ermöglicht insbesondere auch die Festlegung der Länge und Ausrichtung des Maßstabes für ein bestimmtes Objektiv.



Textannotationen erstellen und bearbeiten

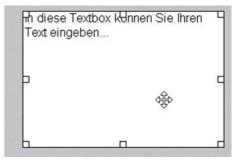


Für die Erstellung einer Textannotation klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <T>). Bewegen Sie den Mauszeiger an die Stelle im mikroskopischen Bild, an der die Annotation platziert werden soll. Bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können Sie dann durch Bewegen der Maus einen Rahmen in beliebiger Größe aufziehen. Sobald Sie die Maustaste loslassen, wird der Rahmen durch eine Textbox gefüllt und Sie können Ihre Textannotation erstellen. Die Eingabe wird durch einen Mausklick außerhalb der Textbox beendet.



Bearbeiten einer bestehenden Textannotation

Eine bestehende Textannotation kann mit einem Klick der linken Maustaste auf diese zur Bearbeitung aktiviert werden. Eine aktivierte Annotation ist an der Darstellung der quadratischen Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Zum Löschen einer Annotation müssen Sie diese zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird sie aus dem mikroskopischen Bild entfernt.



Zur Bearbeitung des Textes einer Annotation müssen Sie mit der linken Maustaste einen Doppelklick auf diese ausführen.

Einen Markierungspfeil erzeugen und bearbeiten



Für die Erstellung eines Markierungspfeiles klicken Sie zunächst mit der Maus auf den zugehörigen Button in der Box "Messen/Annotationen" des Arbeitsbereiches (alternativ: Tastenkombination <Strg> + <P>). Danach können Sie per Klick mit der linken Maustaste Anfangs- und Endpunkt des Pfeiles im mikroskopischen Bild setzen.



Bearbeitung eines bestehenden Markierungspfeiles

Ein bestehender Markierungspfeil kann mit einem Klick der linken Maustaste auf diesen zur Bearbeitung aktiviert werden. Ein aktivierter Markierungspfeil ist an der Darstellung der beiden runden Griffpunkte zu erkennen. Durch Ziehen der Griffpunkte bei gleichzeitig gedrückter linker Maustaste können diese versetzt werden. Zum Löschen eines Markierungspfeiles müssen Sie diesen zunächst aktivieren. Durch Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>) Ihrer Tastatur wird er aus dem mikroskopischen Bild entfernt.



Datum und Uhrzeit einblenden





Sowohl Datum als auch Uhrzeit können in das mikroskopische Bild eingeblendet werden. Die Uhrzeit wird hierbei sekündlich aktualisiert. Die Einblendung erfolgt im Bild rechts unten. Eine freie Positionierung im mikroskopischen Bild ist nach einer Aktivierung des Anzeigebereichs von Datum/Uhrzeit durch einen Mausklick mit der linken Taste möglich. Das Löschen der Anzeige von Datum/Uhrzeit erfolgt ebenfalls nach einer Aktivierung durch das Drücken der Entfernen-Taste (<Entf>).

Über die Voreinstellungen (Siehe Seite 10) können Sie im Register "Messen/Annotationen" die standardmäßige Anzeige von Datum/Uhrzeit aktivieren. Datum bzw. Uhrzeit werden dann nach jedem Programmstart direkt in das mikroskopische Bild eingeblendet.



Alle Messungen und Annotationen löschen oder ausblenden



Mittels des "Radiergummis" in der Box "Messen/Annotationen" können alle Messungen und Annotationen auf einmal gelöscht werden.

Sie können die erstellten Messungen und Annotationen aber auch vorübergehend ausblenden. Hierzu setzen Sie im Arbeitsbereich per Mausklick ein Häkchen in der Checkbox neben "Nur aktive Messung/Annotation einblenden". Dann wird nur ein gerade aktives Objekt eingeblendet.

▼ Nur aktive Messung/Annotation einblenden

Bei der Durchführung einer größeren Anzahl von Messungen können zur Verbesserung der Übersichtlichkeit die Messwerte temporär ausgeblendet werden. Es werden dann nur die Messstrecken angezeigt. Um diese Option zu aktivieren setzen Sie im Arbeitsbereich per Mausklick ein Häkchen in der Checkbox neben "Messwerte ausblenden".

▼ Messwerte ausblenden

Die Datenansicht

Alle Messungen können in der "Datenansicht" tabellarisch aufgelistet werden. Zusätzlich finden sich in der Auflistung auch wesentliche statistische Angaben (Minimum, Maximum, Mittelwert, Median, Standardabweichung). Die Datenansicht wird durch Mausklick auf den entsprechenden Button in der Symbolleiste eingeblendet.





Das Beispiel links zeigt die Datenansicht für eine Reihe von einfachen Längenmessungen.

Über die Zwischenablage von Windows können Sie die Daten z.B. auch in eine Tabellenkalkulation übernehmen.

Bei einfachen Zweipunkt-Längenmessungen kann die Datenansicht zudem noch nach der Markierungsfarbe differenziert werden. Hierdurch können beispielsweise Objektlängen und -breiten getrennt erfasst werden.

Objektzählungen durchführen

Mikroskopische Objekte mit MikroLive 4 zählen

Objekte können mit *MikroLive* einfach per Mausklick im Präparat markiert und gezählt werden. Für derartige Zählungen sollten Sie immer den Standbildmodus von *MikroLive* aktivieren (zur Funktion des Standbildmodus siehe Seite 11) oder ein zuvor gespeichertes *MikroLive* Image (siehe Seite 27) verwenden.

Eine Objektzählung erstellen



Eine neue Objektzählung kann einfach durch einen Mausklick auf einen der beiden ersten Buttons in der Kopfleiste der Box "Zählen" im Arbeitsbereich erstellt werden (Button mit Kreuzsymbol für Kreuze als Markierungsmarken der gezählten Objekte – Button mit Kreissymbol für Kreise als Markierungsmarken). Alternativ können Sie eine Zählung auch über die Tastenkombinationen <Strg> + <X> (Kreuzsymbole) oder <Strg> + <O> (Kreissymbole) erzeugen. Wenn Sie die Option "Neue Zählung mit Namen versehen" in der Box "Zählen" aktiviert haben, öffnet sich zunächst das Dialogfeld "Zählung benennen" für die Eingabe einer Bezeichnung der nachfolgend durchzuführenden Zählung. Von Ausnahmen abgesehen empfiehlt es sich, eine Zählung immer mit einem aussagekräftigen Namen zu versehen. Ist die oben genannte Option nicht aktiviert, erhält die Zählung einfach den Namen "Zählung 1". Nachfolgende Objektzählungen werden entsprechend "Zählung 2" usw. benannt.

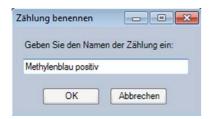
Wenn mehrere Objektzählungen in einem Bild durchgeführt werden sollen, empfiehlt es sich aus Gründen der Übersichtlichkeit, nur die sich gerade in Bearbeitung befindliche Zählung einzublenden. Hierzu kann die Checkbox "Nur die aktive Zählung einblenden" in der Box "Zählen" per Mausklick mit einem Häkchen versehen werden. Diese Funktion kann auch verwendet werden, um alle Zählungen temporär auszublenden.



Nachfolgend wird die Arbeitsweise der Zählfunktion von *MikroLive* am Beispiel der mikroskopischen Erfassung abgestorbener und lebender Hefezellen während des Gärprozesses bei der Herstellung von Wein aufgezeigt. Hierbei wird der zu mikroskopierenden Probe etwas gelöstes Methylenblau hinzugegeben. Abgestorbene Hefezellen nehmen diesen Farbstoff auf und färben sich bläulich. In lebende Hefezellen kann dieser Farbstoff hingegen nicht eindringen. Dies stellt somit eine einfach zu handhabende Methode zur Überwachung des Gärprozesses dar.

Das Bild rechts zeigt das mikroskopische Bild gärender Hefezellen, die mit Methylenblau gefärbt wurden.

Zunächst sollen die abgestorbenen und somit blau gefärbten Hefezellen erfasst werden. Beim Erstellen der Zählung öffnet sich das Dialogfeld zur Eingabe des Namens der Zählung.

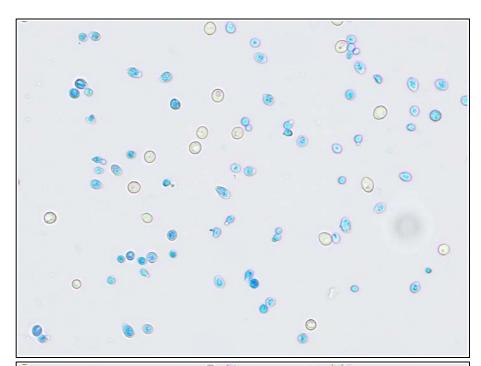


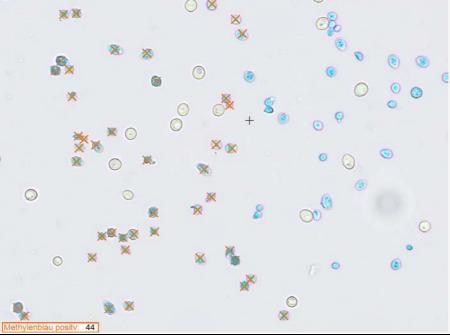
Nach erfolgter Namenseingabe verwandelt sich der Mauszeiger auf dem mikroskopischen Bild in ein Fadenkreuz. Zählmarkierungen werden einfach der Reihe nach durch Drücken der linken Maustaste gesetzt. Nach dem Setzen der ersten Markierung erscheint der Name der Zählung zusammen mit der sich während des Zählvorgangs aktualisierenden Anzahl der gezählten Objekte am Bildrand links unten im Textfeld dieser Zählung. Eine Zählung wird durch Klicken mit der rechten Maustaste oder durch Drücken der Taste Escape (<Esc>) abgeschlossen.

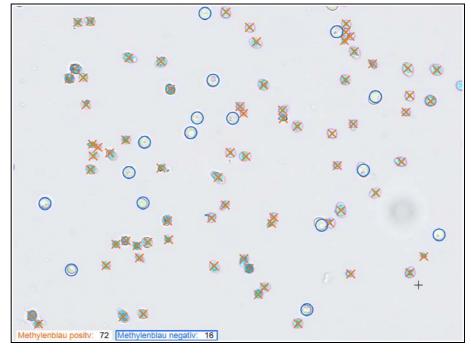
In einer zweiten Zählung werden die noch lebenden Hefezellen erfasst. Zu deren Markierung wird ein blaues Kreissymbol in der Box "Zählen" des Arbeitsbereiches gewählt.

Die Darstellung rechts zeigt die Bildausgabe von *MikroLive* am Ende der Zählung.

Der Name einer Zählung erscheint für eine leichte Zuordnung immer in der Farbe des jeweiligen Zählsymbols.







Eine bestehende Zählung bearbeiten

Die gewünschte Zählung aktivieren

Sie können eine bestehende Zählung jederzeit erneut zur Bearbeitung (z.B. Hinzufügen oder Löschen von Zählmarkierungen) aktivieren. Hierzu müssen Sie einen Mausklick mit der linken Maustaste auf deren Textfeld ausführen. Eine aktive Zählung erkennen Sie an einem Rahmen in der Zählfarbe um deren Textfeld.

Abbildung rechts:

Beide Zählungen sind inaktiv.

Methylenblau positiv: 49 Methylenblau negativ: 21

Abbildung rechts:

Nach einem Mausklick auf deren Textfeld ist die Zählung "Methylenblau negativ" aktiviert.

Methylenblau positiv: 49 Methylenblau negativ: 21

Löschen einer Zählmarke

Eine bestehende Zählmarke kann jederzeit, wie im folgenden Beispiel gezeigt, wieder gelöscht werden.

Die Zählmarke auf der Hefezelle im Bild rechts soll gelöscht werden. Hierzu wird der Mauszeiger möglichst genau auf der Marke positioniert und bei gleichzeitig gedrückter Taste <Alt> ein Mausklick mit der linken Maustaste ausgeführt.



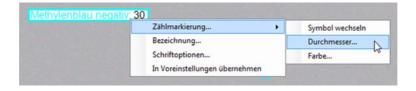
MikroLive identifiziert dann die zu löschende Markierung und hebt diese durch einen roten Kreis hervor. Wurde die richtige Marke identifiziert, müssen Sie den Löschvorgang lediglich noch bestätigen.



Das Erscheinungsbild einer Zählung verändern

Die Lage des Textfeldes einer Zählung können Sie verändern, indem Sie diese aktivieren und dann einfach mit der Maus das Textfeld bei gedrückter linker Maustaste an die gewünschte Position ziehen. Sie können eine Zählung jederzeit nachträglich umbenennen, indem Sie einen Doppelklick auf deren Textfeld ausführen. In dem sich öffnenden Dialogfeld wird einfach der neue Name eingegeben.

Die weiteren Eigenschaften des Erscheinungsbildes einer Zählung können Sie über deren Kontextmenü verändern. Hierzu aktivieren Sie die Zählung zunächst und führen dann auf dem Beschriftungsfeld der Zählung einen Klick mit der rechten Maustaste aus.



MLI-Dateien verstehen und nutzen

Der Aufbau einer MLI-Datei

Wenn Sie ein Bild in den üblichen Dateiformaten "Windows Bitmap" oder "JPEG komprimiert" speichern, werden zuvor erstellte Hinzufügungen (Annotationen, Längenmessungen, Objektzählungen usw.) direkt in das Bild "eingebrannt". Ein späteres Öffnen und Bearbeiten der Zeichenobjekte mit *MikroLive* ist bei diesen Dateien nicht möglich. Eine Datei im Format "MikroLive Image" (= MLI-Datei) besteht dagegen aus drei Bestandteilen. Neben dem mikroskopischen Bild sind dies die Angaben zur benutzten Gerätekonfiguration (Kameratyp, Bildformat, Mikroskopbezeichnung, Zoomfaktor und Objektiv) und die vor dem Speichern erstellten Zeichenobjekte. Diese werden - im Gegensatz zu den beiden eingangs erwähnten Dateiformaten - jedoch nicht in das Bild "eingebrannt", sondern als Beschreibungen separat in der Datei abgelegt. Sie können deshalb eine gespeicherte MLI-Datei jederzeit wieder in *MikroLive* öffnen und Zeichenobjekte verändern, entfernen oder neu erstellen.

Was Sie bei der Arbeit mit MLI-Dateien beachten müssen

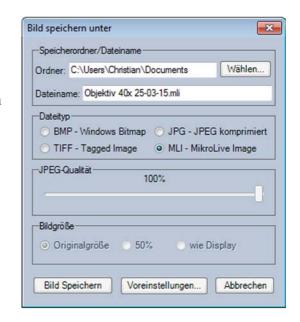
Wenn Sie eine MLI-Datei in *MikroLive* öffnen, wird diese aus der Perspektive des Programms mit ihrem Inhalt genau so behandelt wie das von der Kamera kommende Livebild. Damit dies funktionieren kann, muss Ihre Kamera, mit der das Bild aufgenommen wurde, per USB-Kabel mit dem PC verbunden sein.

Zudem sollten Sie beachten, dass auch die Angaben zu Mikroskop, Zoomfaktor und Objektiv in einer MLI-Datei gespeichert werden. Diese lassen sich nachfolgend nicht mehr ändern.

Das mikroskopische Bild im MLI-Format speichern

Um ein Bild im MLI-Format zu speichern öffnen Sie z.B. durch das Drücken der "Leertaste" das Dialogfeld "Bild speichern unter". Als Dateityp wählen Sie dann "MLI – Mikro-Live Image". Den Dateinamen können Sie frei wählen oder über die Aufnahmeoptionen zum Speichern von Einzelbildern von *MikroLive* automatisch bilden lassen (z.B. aus der Kombination des verwendeten Objektivs und des Datums).

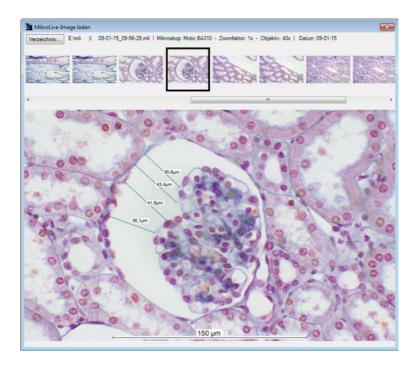
Bei der Speicherung eines Bildes im MLI-Format ist die Option "Bildgröße" nicht verfügbar, da Bilder im MLI-Format immer in der vollen Auflösung des gewählten Bildformates gespeichert werden.



Eine zuvor gespeicherte MLI-Datei können Sie über die Auswahl *Datei* | *MikroLive Image laden* öffnen und bearbeiten.



Nachfolgend öffnet sich das Vorschaufenster der MLI-Auswahl. Mit dem Button <Verzeichnis:...> können Sie durch die Verzeichnisstruktur des Rechners navigieren. In der Bildleiste oben werden alle MLI-Dateien des gewählten Verzeichnisses angezeigt. Im unteren Bereich des Fensters wird eine detailliertere Vorschau der gerade vorselektierten MLI-Datei dargestellt.

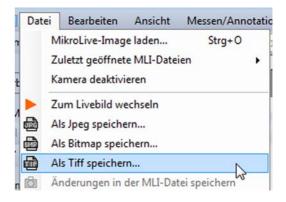


Nach dem Laden der MLI-Datei stehen die gleichen Bearbeitungsmöglichkeiten wie beim Livebild zur Verfügung (Hinzufügen und Bearbeiten von Messungen, Annotationen oder Objektzählungen).

Eine geöffnete MLI-Datei in den Formaten Bitmap, JPEG oder TIFF speichern

MLI-Dateien können nur in *MikroLive* geöffnet werden. Wollen Sie ein MikroLive Image weitergeben oder in einem anderen Programm - z.B. zur speziellen Bildbearbeitung - öffnen, so müssen Sie das Bild in einem der drei Standardformate ("Windows Bitmap", "JPEG komprimiert" oder "Tagged Image File Format") speichern. Hierzu wählen Sie in der Menüleiste unter dem Menüpunkt *Datei* einfach das gewünschte Format aus.

Die ursprüngliche MLI-Datei bleibt hierbei erhalten.



Eine bearbeitete MLI-Datei kann mit den durchgeführten Änderungen z.B. durch Drücken der "Leertaste" jederzeit gespeichert werden.

Bildstörungen mit MikroLive 4 beseitigen

Die Bildqualität in *MikroLive* kann durch verschiedene Maßnahmen optimiert werden. Die hierzu vorhandenen Funktionen finden sich in der Box "Bildstörungen beseitigen" des Arbeitsbereiches.

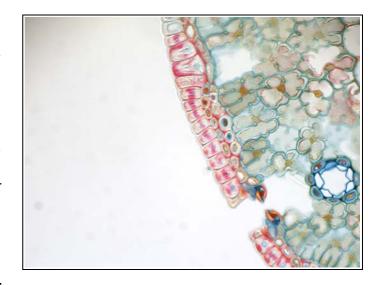


Das Bildrauschen reduzieren

Das Bildrauschen lässt sich durch die Überlagerung mehrerer aufeinander folgender Einzelbilder deutlich reduzieren. Je mehr Einzelbilder hierbei zur Überlagerung kommen, desto stärker ist der das Rauschen reduzierende Effekt. Die Anzahl der sich überlagernden Bilder bestimmen Sie mit der Combobox in der Box "Bildstörungen beseitigen". Diese Methode ist nicht geeignet, wenn sich bewegliche Objekte (z.B. lebende Einzeller) im Präparat befinden, da diese durch den Überlagerungseffekt nur verwischt dargestellt werden.

Ungleichmäßigkeiten in der Ausleuchtung beseitigen

Bei manchen Konstellationen kann es im mikroskopischen Bild zu Vignettierungseffekten kommen. Hierbei findet sich dann ein mehr oder weniger deutlich ausgeprägter Helligkeitsabfall in den Randbereichen des Bildes. Eine weitere Störquelle sind Verunreinigungen im Strahlengang (Staub etc.). Diese machen sich typischerweise als Flecken im mikroskopischen Bild bemerkbar. Die genannten Ursachen bewirken eine Abschattung in Teilbereichen des Bildes ("Shading"). In *MikroLive* kann eine Shading-Korrektur im Livebild durchgeführt werden. Im Bild rechts erkennt man ein Shading durch eine Randvignettierung.



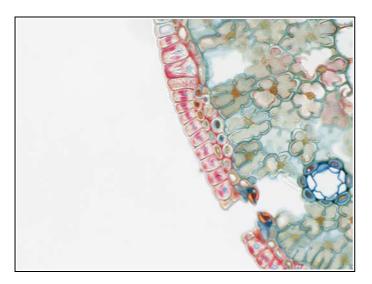


Für die Durchführung einer Shading-Korrektur muss zunächst eine objektfreie Stelle im Präparat gewählt werden. Im mikroskopischen Bild erscheinen dann nur die Störungen (siehe Bild links).

Durch einen Klick auf den Button "Starten" kann die Shading-Korrektur ausgeführt werden. Hierbei wird ein Referenzbild erzeugt, das mit dem jeweils aktuellen mikroskopischen Bild verrechnet wird.

Nach der Durchführung der Shading-Korrektur erscheint das mikroskopische Bild völlig gleichmäßig ausgeleuchtet (Bild rechts).





Das ursprünglich ungleichmäßig ausgeleuchtete Präparat kann nun ohne Störung durch Shading-Effekte betrachtet und dokumentiert werden. Da die Shading-Korrektur rechenaufwändig ist, kann sie bei Bedarf deaktiviert werden (Button "Deaktivieren").

Beim Deaktivieren der Shading-Korrektur bleibt im Gegensatz zum Stoppen (Button "Stoppen") das erzeugte Korrekturbild erhalten – es wird lediglich nicht mit dem aktuellen mikroskopischen Bild verrechnet. Das erneute Aktivieren der Korrektur erfolgt dann auf die gleiche Weise wie zuvor das Deaktivieren.

Wenn für das gerade verwendete Bildformat eine komplette Mikroskopkonfiguration angegeben ist (vollständige Angaben in den Comboboxen "Mikroskop", "Zusatzfaktor", "Objektiv"), speichert *MikroLive 4* das für diese Kombination erzeugte Referenzbild ab. Es kann dann einfach für eine erneute Shading-Korrektur geladen werden. Hierzu genügt ein Mausklick auf den Button "Laden". Ein Klick auf den Button "Neu" löscht ein gespeichertes Referenzbild für die Erstellung eines neuen Bildes.



Um die Wiederverwendbarkeit einer gespeicherten Referenzaufnahme zu verbessern wird zusätzlich zu dieser Aufnahme auch der jeweils eingestellte Gamma-Wert (siehe Seite 32) mit gespeichert und bei erneuter Verwendung der Referenzbildes erneut eingestellt.

Aliasing-Effekte im Livebild verhindern

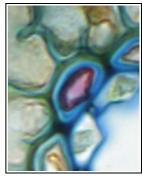
Wenn bei der Zoomeinstellung eine von "100%" abweichende Einstellung gewählt ist, können blockförmige Artefakte im Livebild auftreten (siehe Abbildung rechts). Diese stören insbesondere bei der Darstellung aller Zeichenobjekte im Livebild (Annotation/Messungen/Zählungen).

Sie können diese Störungen im Livebild durch Aktivierung der Antialiasing-Funktion von *MikroLive* unterbinden. Hierzu muss die zugehörige Checkbox in der Box "Bildstörungen beseitigen" mit einem Häkchen versehen werden Livebild-Verbesserung durch Antialiasing.

Das Bild rechts unten zeigt den gleichen Präparatausschnitt wie zuvor. Diesmal ist jedoch das Antialiasing aktiviert.

Da der Antialiasing-Filter ein gewisses Maß an Rechenleistung benötigt, sollten Sie ihn nur aktivieren, wenn er benötigt wird.





Anhang

Anhang 1: Verfügbare Bildformate der Kameras von MikroLive 4

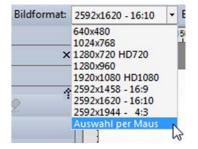
Alle Kameras zu *MikroLive* verfügen über die Möglichkeit unterschiedliche Auflösungen zu nutzen. Diese können beim Programmstart (siehe rechts) oder auch später eingestellt werden.

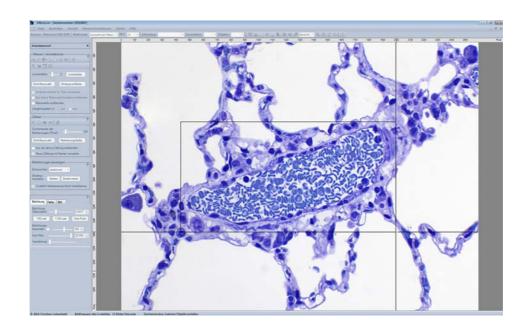
Die Auflösungen mit den Seitenformaten 16:9, 16:10 und 4:3 sind speziell für die Vollbilddarstellung (siehe Seite 12) auf Monitoren mit entsprechenden Seitenverhältnissen konzipiert. Hierzu muss unter Windows ggf. die Taskleiste ausgeblendet werden.

Bei aktivierter Kamera ist zusätzlich noch das Bildformat "Auswahl per Maus" verfügbar. Hiermit kann der dargestellte Bereich exakt auf den gerade relevanten Bildausschnitt begrenzt werden ("Region of Interest" - ROI).

Nach der Auswahl dieser Option verwandelt sich der Mauszeiger über dem mikroskopischen Bild in ein Fadenkreuz. Durch einen Mausklick mit der linken Maustaste werden dann jeweils der obere linke und der untere rechte Eckpunkt des interessierenden Rechtecks gesetzt.







Mit dem Modell MikroLive MultiFormat können zusätzlich individuelle Bildformate definiert und gespeichert werden (siehe Seite 8).

Anhang 2: Kameraparameter der von MikroLive 4 unterstützten Kameras

Die verfügbaren Kameraparameter sind nicht bei allen Kameras identisch. Die nachfolgenden Ausführungen beziehen sich auf das Modell *MikroLive* 6,4MP. Je nach verwendeter Kamera können die verfügbaren Parameter leicht abweichen.

Belichtung

Hinweise:

Mit dem Button "One-Push" oder alternativ mit der Taste <F2> erhalten Sie sehr schnell eine in der Regel optimale Einstellung der Belichtungszeit bzw. der Bildhelligkeit. Dies funktioniert oft wesentlich besser, als die ebenfalls verfügbare Belichtungsautomatik. Bei aktivierter Belichtungsautomatik kann mit dem Schieberegler ein Sollwert für die mittlere Helligkeit eingestellt werden (0-255). Den Regler zur Verstärkung sollten Sie zur Erhöhung der Bildhelligkeit nur dann verwenden, wenn eine Verlängerung der Belichtungszeit alleine nicht genügt.



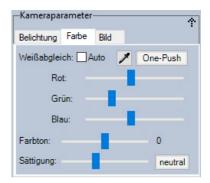
Farbe

Hinweise:

Für den Weißabgleich wählen Sie entweder eine "leere" Stelle im Präparat - es dürfen keine farbigen Objekte im Bild erscheinen - und klicken auf den Button "One-Push" oder Sie verwenden die Pipette und klicken im Bild auf eine weiße bzw. graue Stelle (z.B. den Bilduntergrund im Durchlichtmikroskop). Das Bild darf hierbei nicht überbelichtet sein (ggf. Kontrolle über das Histogramm – siehe Seite 11).

Die Anwendung des automatischen Weißabgleichs ("Auto") ist nur in wenigen Situationen sinnvoll.

Die Schieberegler ermöglichen die gezielte Einstellung der Farbauszüge.



Bild

Hinweise:

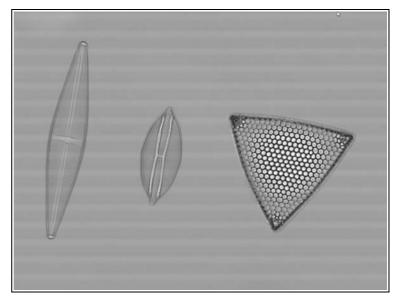
Mit dem Gammaregler beeinflussen Sie das Verhalten der mittleren Helligkeitsstufen im Bild. Bei hohem Gamma (z.B. 1) werden die mittleren Helligkeitswerte dunkler dargestellt und bei kleinem Gamma (z.B. 0,45) erscheinen diese aufgehellt. Nahezu weiße oder schwarze Bereiche im Bild bleiben durch diesen Regler unbeeinflusst. Der Regler für den Schwarzpunkt sollte nur in der Dunkelfeldmikroskopie für die Erzeugung eines komplett schwarzen Untergrundes benutzt werden. Ansonsten empfiehlt es sich diesen Regler ganz links auf der Position "0" zu belassen.



Anhang 3: Lösungen für auftretende Probleme

Problem: Das Bild zeigt horizontal verlaufende Streifen (siehe Abbildung rechts) oder ein ausgeprägtes Helligkeitsflackern.

Ursache: Bei manchen zumeist älteren Mikroskopen schwankt die Helligkeit der Beleuchtung synchron mit der Frequenz der Netzspannung (50Hz). Dies ist visuell nicht wahrnehmbar, da das Auge hierfür zu träge reagiert. Besonders bei kurzen Belichtungszeiten werden diese Schwankungen jedoch im Bild der Kamera sichtbar. Bedingt durch die unterschiedliche Art der Bilderfassung ("Global-Shutter" bei den Modellen *MikroLive* 5MPplus/3MPplus/MONOplus und "Rolling-Shutter" bei den übrigen Modellen) machen



sich bei ersteren die Schwankungen als Helligkeitsdifferenzen zwischen den Einzelbildern bemerkbar, während diese bei den CMOS-Modellen innerhalb eines Bildes in Form von Streifenbildung erkennbar werden (siehe Bild oben rechts).

Lösung: Durch Abstimmung der Belichtungszeit auf die Netzfrequenz werden die beschriebenen Helligkeitsschwankungen bei allen Kameramodellen vermieden. Dies ist in der Regel bei Belichtungszeiten von 1/50 (0,02 Sekunden) und 1/100 Sekunde (0,001 Sekunden) der Fall. Im Bereich "Belichtung" der Einstellung der Kameraparameter finden Sie zwei Buttons ("1/50 sek" und "1/100 sek"), mit denen Sie die Belichtungszeiten per Mausklick direkt einstellen können. Bei den Modellen mit Global-Shutter können Sie das Problem zudem besonders einfach durch Einstellen einer Bildrate umgehen, durch die 100 ganzzahlig dividiert werden kann – also beispielsweise 20 Bilder/Sekunde. Diese Methode bewirkt übrigens auch bei den Kameras mit Rolling-Shutter zumindest eine Milderung des Problems.

Problem: Die Übertragung des Bildes bricht ab, friert ein oder kommt erst gar nicht zustande.

Ursache: Die Übertragung von Bilddaten per USB stellt hohe Ansprüche an die verwendete Hardware.

Lösung: Vermeiden Sie die Verwendung qualitativ unzureichender USB-Kabel. Verbinden Sie keine weiteren Geräte mit dem USB-Controller, an dem sich die Kamera befindet. Achten Sie darauf, dass die Kamera mit einer USB3-Buchse verbunden ist.

Problem: Trotz aktiviertem Antialiasing treten bei bestimmten Auflösungen mit der Version *MikroLive USB3 5MP* blockförmige Artefakte im Bild auf.

Ursache: Bei kleineren Auflösungen (1280x960 und niedriger) arbeitet diese Kameras mit so genanntem "Binning". Hierbei werden mehrere Sensorpixel zu einem größeren Bildpixel zusammengefasst. Bei Farbkameras befindet sich vor dem Sensor ein Mosaik-Filter. Dieser besteht aus einer Anordnung sehr kleiner Filter, welche nur rotes, grünes oder blaues Licht passieren lassen. Diese winzigen Filter befinden sich jeweils vor einem lichtempfindlichen Pixel und ermöglichen erst die "Wahrnehmung" von Farben durch den Sensor. Das Muster dieses Mosaik-Filters ist jedoch für die Auflösung des Sensors ohne Binning konzipiert.

Lösung: Verzicht auf Auflösungen mit Binning.

Anhang 4: Ressourcen zu MikroLive 4

https://www.mikroskopie.de Produktseite zu MikroLive 4 mit Download-Link zur jeweils aktuellen Version der Software.

https://www.youtube.com/user/CLMikroskopie

Videos mit Bedienungshinweisen zu MikroLive.

Mail: <u>linkenheld@mikroskopie.de</u>

E-Mail-Kontakt für Nachfragen / Hilfestellung bei Problemen.

Phone: 07804 9117555

Telefonischer Kontakt für Nachfragen / Hilfestellung bei Problemen.

© 2019 Christian Linkenheld

Kontakt:

Christian Linkenheld Kniebisstraße 27 77728 Oppenau

Telefon: 07804 9117555 Fax : 07804 9117556

EMail: linkenheld@mikroskopie.de

URL: http://www.mikroskopie.de -- http://www.mikrolive.de
MikroLive auf YouTube: https://www.youtube.com/user/CLMikroskopie