

استفاده از فناوری پردازش تصویر در ارزیابی تصویهای میکروسکوپ الکترونی عبوری – سنجش توزیع اندازه نانوذرات

محسن میرزایی

گروه مهندسی مکانیک، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

سید محمد صادق حسینی*⁺

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

چکیده: در این پژوهش، یک روش نوین پردازش تصویر برای جداسازی و اندازه‌گیری نانوذره‌ها در تصویهای میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ارائه شده است. در این روش، با پیش پردازش یک نمونه تصویر TEM، که توسط صافی غیرخطی مدین و یکنواخت سازی هیستوگرام صورت گرفت، روشنی آن بهبود یافته و سپس براساس آستانه گذاری، تصویر TEM به تصویر باینری تبدیل شد. در مرحله بعدی، نانوذره‌ها به صورت گروه‌های جداگانه تفکیک شده و مورد آنالیز قرار گرفتند و قطر آن‌ها بر اساس تحلیل مساحت محاسبه شد. برای اعتبارسنجی روش پیشنهادی، الگوریتم ارائه شده بر روی نمونه ای دیگر از عکس TEM نانوذره‌ها، آزمایش شده و با نتیجه‌های دیده شده مقایسه شد. نتیجه‌ها نشان داد روش ارائه شده، توانایی دقیق و سریعی در بررسی برخط تصویهای TEM به صورت به طور کامل هوشمند را دارد که امکان استفاده را برای کاربردهای پژوهشی با تصویهای زیاد فراهم می‌آورد.

کلمات کلیدی: نانوذره‌ها؛ تصویهای TEM؛ پردازش تصویر؛ کاهش نویز؛ برجسب گذاری اجزا

KEYWORDS: Nanoparticles; TEM images; Image processing; Noise reduction; Labeled connected component.

مقدمه

صورت گرفته روی عکس‌ها به صورت دستی و یا نرم افزارهای تصویری است که به طور عمده وقت گیر بوده و همراه با خطاهای انسانی است که نتیجه‌های دقیقی را به همراه ندارد. به هر حال اگرچه آنالیز TEM، یک روش پیشرفته و پرهزینه برای ریخت‌شناسی نانوذره‌ها است ولی کمی‌سازی مطمئن نتیجه‌های آن هنوز یکی از دغدغه‌های پژوهشگران نانو تکنولوژی است. به ویژه این‌که در برخی زمان‌ها به واسطه اختلال‌های ظاهر شده در عکس در هنگام تصویر برداری و یا انتقال عکس‌ها کیفیت آن‌ها پایین آمده

یکی از مهم‌ترین آنالیزها برای تعیین اندازه نانوذره‌ها، میکروسکوپ‌های الکترونی به ویژه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) است. خروجی این آنالیز، عکس‌هایی از نمونه با بزرگنمایی بسیار زیاد است که قادر به نمایش ذره‌ها و یا خوشه‌هایی با مقیاس بسیار کوچک (شامل یک یا چند اتم) می‌باشد. به طور معمول نتیجه‌های کمی که از عکس‌های TEM گرفته می‌شود مختص یک جامعه آماری کوچک (کمتر از ۱۰۰ ذره) است که با قطعیت نمی‌تواند مبین کل ماده باشد. همچنین اندازه گیری‌های

⁺E-mail: m.hosseini@vru.ac.ir

*عهدہ دار مکاتبات

آماری نانوذرات، با دقت بالایی صورت پذیرفته است. همچنین در ادامه برای اعتبارسنجی، الگوریتم ارایه شده بر روی یک نمونه عکس TEM از نانوذره‌های دیگر آزمایش شد.

مرحله‌های پردازش تصویر

برای انجام پردازش، نخست یک تصویر TEM که از یک کاتالیست نیکل بر پایه سیلیکا بود انتخاب شد. این تصویر توسط دستگاه مدل JEOL EM-2010F به دست آمده بود [۱۰]. شایان ذکر است که در این گونه مواد ریز بودن (کمتر از ۱۰ نانومتر) نانوذره‌های فلز کاتالیست کننده بسیار با اهمیت است و تأیید این مطلب، مستلزم تصویرهای TEM با بزرگنمایی زیاد بوده که این امر ممکن است کیفیت تصویرهای گرفته شده از دستگاه را پایین آورد. در این پژوهش و در مرحله اول، تصویر TEM گرفته شده از فرمت رنگی به فرمت سیاه و سفید تبدیل شد. تصویر خروجی دارای ۲۵۶ سطح خاکستری، از (۰) سیاه تا (۲۵۵) سفید می‌باشد.

کاهش نویز

به طور کلی هدف از این مرحله کاهش نویز و حذف جزئیات ناخواسته مانند رگه‌ها و شکاف‌های احتمالی در تصویر است. در این مرحله برای کاهش نویز، از صافی هموارساز مدین استفاده شده است. همچنین در فرآیند هموارسازی، هیستوگرام مربوط به تصویر کمی دارای یکنواختی بیش‌تری می‌شود. در صافی میانه شش، سطح خاکستری هر پیکسل با میانه سطوح خاکستری در همسایگی آن پیکسل جایگزین شده که این فیلتر از نوع پایین گذراست و سبب تضعیف پیکسل‌های با فرکانس‌های بالا می‌شود [۱۱]. در مرحله دوم کاهش نویز، از فیلترینگ به روش وینر، که یکی از مشهورترین روش‌های ترمیم خطی تصویرها است، استفاده شده است. این صافی با کمینه ساختن خطای تابع سبب بهترین تخمین برای تصویر خراب شده می‌شود. تابع خطا به صورت تفاضل بین تصویر خراب شده و تصویر فاقد آثار تخریب شده تعریف می‌شود. صافی وینر این خطا را کمینه کرده و به این ترتیب تصویر نهایی دارای لبه‌های تیز و بدون آثار تخریب، خواهد بود. در واقع این فرآیند باعث کاهش فرکانس‌های بالا در تصویر اصلی می‌شود. شکل ۱-الف و ب تصویر اصلی پیش و پس از فرآیند یاد شده را نشان می‌دهد.

و سختی کار را دو چندان می‌کند. هنر پردازش تصویر، یک فناوری مؤثر برای دریافت هر چه بیش‌تر اطلاعات از نتیجه‌های آنالیزهای پرهزینه مثل TEM است که می‌تواند به پژوهشگر در مورد چالش‌های ایجاد شده در بحث و بررسی نتیجه‌ها کمک کند. در سال‌های اخیر استفاده از فناوری پردازش تصویر برای تحلیل خصلت‌های فیزیکی و شیمیایی نانومواد، رو به افزایش است [۵-۱]. در زمینه پردازش تصویر روی تصویرهای TEM می‌توان به پژوهش‌های زیر اشاره کرد: هونگچو و همکاران [۶] با کمک دو صافی پایین گذر و واینر، مقدار نویز تصویرهای TEM را کاهش دادند. نتیجه‌های آن‌ها نشان داد که صافی غیرخطی طراحی شده، بدون این که تخریبی در تصویر ایجاد کند، کاهش نویز چشمگیری در تصویرهای TEM ایجاد می‌کند. اما الگوریتم آن‌ها توانایی تحلیل آماری و توزیع اندازه ذره‌ها را نداشت. گریشین و همکاران [۷] از نگاهت هاگ^(۱) برای محاسبه توزیع ذره‌های نانو استفاده کردند. باتوجه به تعریف نگاهت هاگ، ذره‌های نانو در تصویرهای TEM به صورت دایره‌های تقریب زده می‌شوند که در واقعیت این‌گونه نیستند، در نتیجه این روش برای تصویرهای TEM که شامل نانو ذره‌های غیر دایره‌ای هستند، دارای دقت بالایی نمی‌باشد. دیتمرند و همکاران [۸] یک روش پردازش تصویر نیمه خودکار ارایه کردند که براساس تقسیم بندی واترشد و نگاهت اکلیدین، عمل می‌کرد. تمرکز پژوهش آن‌ها برای محاسبه کم‌ترین اندازه ذره‌های نانو در توده‌های انباشته نانو بود. در جدیدترین پژوهش انجام شده در سال ۲۰۱۶ میلادی، داستانپور و همکاران [۹] یک روش به طور کامل خودکار برای به دست آوردن اندازه میانگین قطر ذره‌های نانو ارایه نمودند. روش آن‌ها بر پایه‌ی کرویشن دو بعدی از یک جفت تصویر TEM گرفته شده، از دو فاصله متفاوت بود. اگرچه دقت اندازه گیری این روش بسیار بالا بود، اما توانایی تحلیل آماری از توزیع نانوذره‌ها را نداشت.

در این مطالعه یک فناوری نوین پردازش تصویر، برای آنالیز کمی و توزیع نانوذره‌ها در تصویرهای TEM، ارایه شده است. روش کار بروی تصویر TEM یک نمونه نانو کاتالیست نیکل بر پایه سیلیکا انجام گرفت. در کاتالیست یاد شده نانوذره‌های نیکل درون حفره‌های پایه (سیلیکا) قرار گرفته اند و تداخل سطوح سیلیکا از وضوح نانوذره‌ها تا حدی کاسته است که راه را برای به دست آوردن اندازه، شکل هندسی، بلورینگی و همچنین توزیع اندازه آن‌ها مشکل می‌کند. در حالی که با استفاده از نتیجه‌های به دست آمده از الگوریتم پردازش تصویر ارایه شده، کمی‌سازی

(۱) Hough transform

متعادل سازی توزیع شدت رنگ

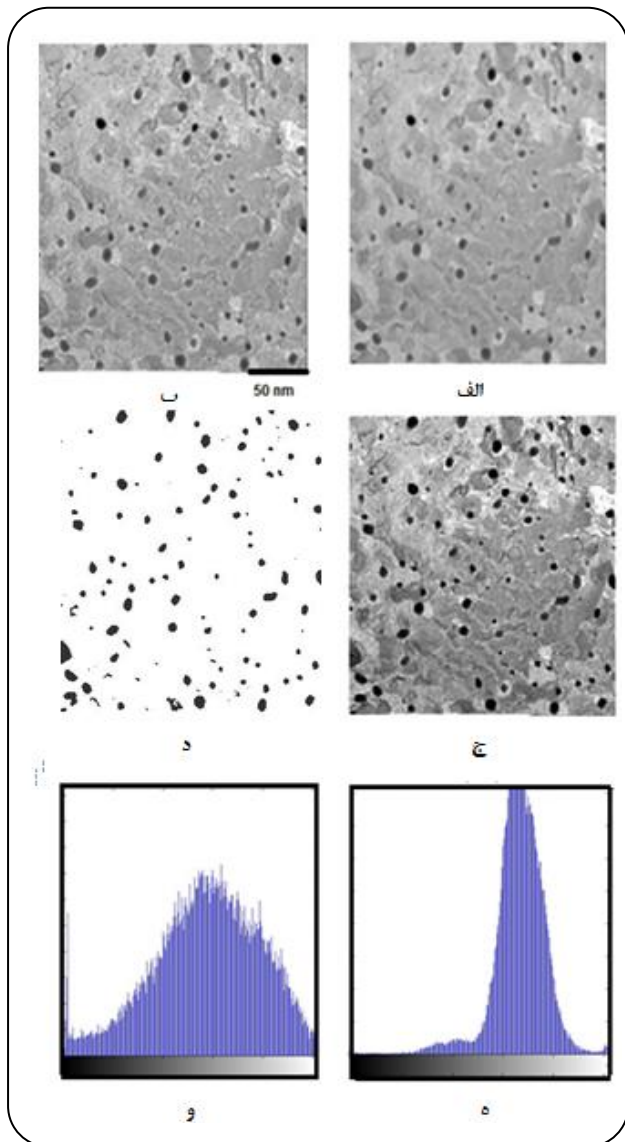
باتوجه به اینکه هیستوگرام یک تصویر تابع توزیع احتمال سطوح خاکستری تصویر است، (یعنی احتمال وقوع یک سطح روشنایی را در تصویر مشخص می کند) در نتیجه اگر هیستوگرام تصویری دور سطح‌های خاکستری محدودی توزیع شده باشد، می‌توان با استفاده از نظریه اطلاعات، این تابع را به گونه‌ای تغییر داد که شکل تابع توزیع (هیستوگرام) یکنواخت شود. در تصویر TEM نانو کاتالیست مورد بحث، صفحه بستر با رنگ روشن تری نسبت به نانوذرها است، که این تغییر رنگ در دو ناحیه می‌واند تاثیر زیادی در کیفیت و تشخیص دقیق تصویر TEM داشته باشد. در نتیجه به منظور افزایش کیفیت و بالا بردن وضوح تصویر، از روش تعدیل شدت رنگ، به کمک متعادل سازی هیستوگرام، استفاده شد. فرایند تعدیل شدت رنگ، که به طور عمده با کمک متعادل سازی هیستوگرام انجام می‌گیرد، هیچگونه تغییری در جزئیات توزیع نانوذرها ایجاد نمی‌کند. نتیجه انجام این فرایند در شکل ۱-ج نشان داده شده است.

تبدیل تصویر به تصویر باینری

در این مرحله براساس مقدار آستانه ای که برای تصویر تعریف شد، تصویر اصلی که دارای ۲۵۵ سطح رنگی گوناگون بود، به تصویری با دو مقدار رنگی ۰ و ۱ (به ترتیب معرف رنگ سیاه و سفید)، تبدیل شد. هدف از این فرایند، ساده سازی و تفکیک نانوذرها از سطح پایه کاتالیست بود، به گونه‌ای که نانوذرها به صورت سیاه در نظر گرفته شده و مابقی تصویر به صورت سفید لحاظ شد. در نتیجه شکل تابع تبدیل براساس تابع هدف تعریف شده که به صورت وارون نسبت به حالت نرمال در نظر گرفته شد (در این حالت تابع مورد نظر به شکل تیره می‌باشد). در بیش تر نمونه‌هایی که برای این فرایند انجام می‌شود به طور معمول آستانه تغییرهای معادل با ۳۰ درصد از بیش ترین مقدار شدت در تصویر اصلی قرار داده می‌شود. شکل ۱-د تصویر باینری شده را نشان می دهد.

شناسایی و شمارش نانوذرها

خروجی مرحله‌های انجام شده، تصویری با پیش زمینه سفید همراه با لکه‌های سیاه رنگ است، که معرف نانوذرها می‌باشد. برای استخراج و شمارش نانوذره‌های موجود در تصویر پردازش شده، از فناوری برچسب گذاری اجزا به هم پیوسته^(۱)، استفاده شد. در مرحله نخست، برای به دست آوردن و تفکیک نانوذرها،



شکل ۱- الف) تصویر اصلی ب) تصویر بعد از پروسه کاهش نویز ج) تصویر بعد از متعادل سازی د) ایجاد تصویر باینری ه) هیستوگرام تصویر اصلی و) هیستوگرام تصویر بعد از متعادل سازی هیستوگرام

از روش گروه بندی و اتصال پیکسل‌های مجاور به هم استفاده شده و در مرحله دوم، هر گروه به صورت مجزا، شماره گذاری شد. در این فرایند برای تفکیک اجزای نانوذرها، الگوریتم پیشنهادی به دنبال پیکسل‌هایی با رنگ سیاه می‌شود. پس از رسیدن به اولین پیکسل سیاه رنگ، پیکسل‌های مجاور که در چهار جهت اصلی پیکسل مورد نظر قرار دارند، را بررسی می‌کند. در صورتی که هر کدام از پیکسل‌های مجاور، دارای مقدار صفر (رنگ سیاه) باشند، آن را به عنوان عضوی از گروه پیکسل اولی می‌شناسد.

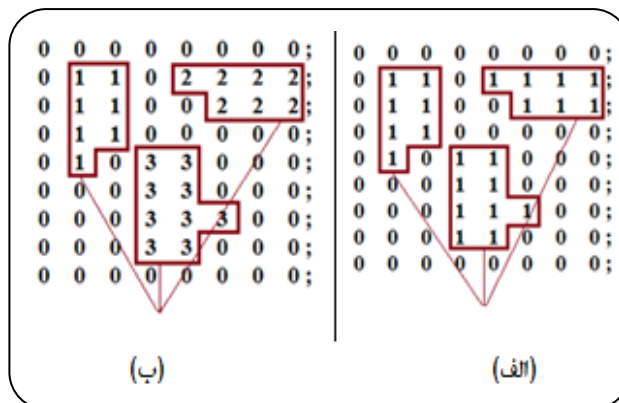
(۱) Connected component labeling

الگوریتم، تنها پیکسل‌های مجاور در چهار جهت اصلی را مورد بررسی قرار می‌دهد و پیکسل‌هایی که در راستای قطری قرار دارند را شامل نمی‌شود. این عملگر، به دلیل تفکیک پذیری قوی‌تر نانوذره‌های مجاور است؛ چنانچه در تصویر پردازش شده، دو نانوذره در نقطه‌ای به هم برخورد کرده باشند، در این صورت الگوریتمی که فقط پیکسل‌های مجاور و در راستای اصلی را بررسی می‌کند، پتانسیل بیش‌تری برای تفکیک دو نانوذره مجاور را دارد. مرحله اول، در شکل ۲-الف نشان داده شده است. در مرحله دوم پروسه، گروه‌های تفکیک شده، شماره گذاری شدند، بگونه‌ای که الگوریتم از ابتدای تصویر به جستجوی گروه‌های موجود آغاز می‌کند و به‌ترتیب، گروه‌ها را شماره‌گذاری می‌نماید. این مرحله در شکل ۲-ب نشان داده شده است.

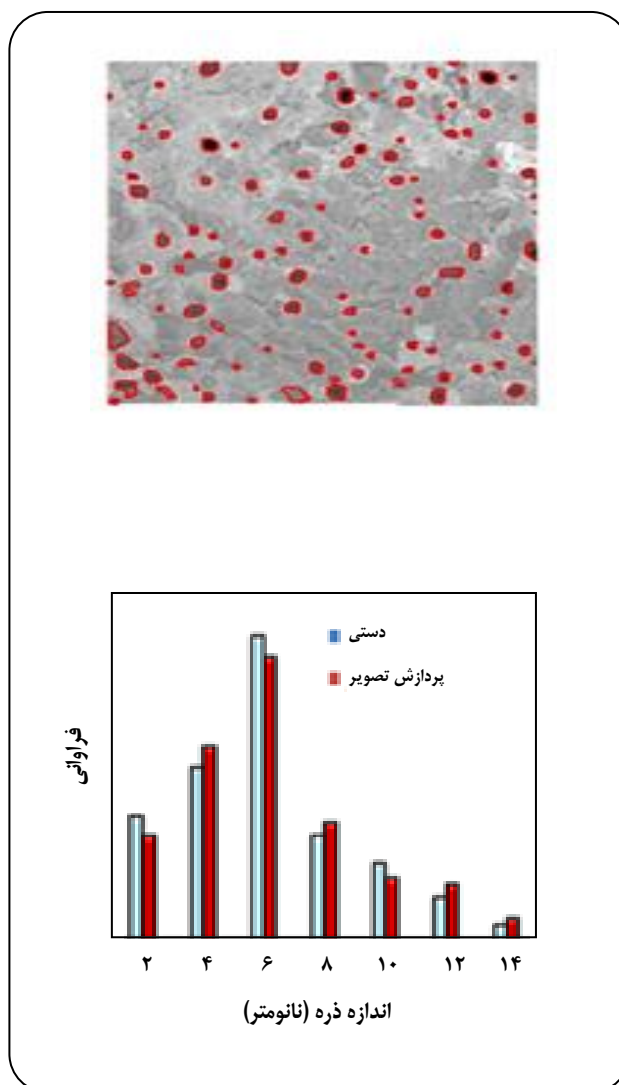
شکل ۳-الف تصویری از تلفیق تصویر اصلی و تصویر مرزبندی شده توسط الگوریتم پیشنهادی را نشان می‌دهد.

همان‌گونه که از تصویر مشخص است، روش پردازش تصویر ارایه شده، توانایی بالایی در تشخیص تمامی نانوذره‌ها در نمونه مورد بررسی را دارد. با این روش، هم مساحت ذره‌ها، به‌طور مجزا، قابل اندازه‌گیری است و هم تعداد ذره‌های مجزا، در نتیجه براساس مساحت ذره‌ها و تقریب دایروی شکل بودن، شعاع هر کدام از نانوذره‌ها محاسبه شد. با استفاده از این تقریب می‌توان توزیع پراکندگی نانوذره‌ها را، بر حسب قطر ذره‌ها، به‌دست آورد. شکل ۳-ب این توزیع پراکندگی نانو ذره‌ها را نشان می‌دهد. طبق این نتیجه، هیستوگرام مربوط به توزیع اندازه نانوذره‌ها توسط روش ارایه شده، با نتیجه‌های اندازه‌گیری دستی (روش وقت گیر) تفاوتی کمتر از ۲٪ را نشان می‌دهد. باید اشاره شود در مقادیرهای به‌دست آمده از روش پیشنهادی و روش دستی تفاوت ناچیزی وجود دارد، این تفاوت به معنی خطا در اندازه‌گیری پردازش تصویر نیست. بلکه به معنای اختلاف اندازه‌گیری‌ها می‌باشد و ممکن است خطای ناشی از اندازه‌گیری توسط روش دستی باشد. همچنین میانگین قطر نانوذره‌های موجود در نمونه بالا، براساس روش ارایه شده پردازش تصویر ۵/۵ نانومتر به‌دست آمد. شکل ۴ مطالعه موردی فناوری پردازش تصویر روی تصویر TEM

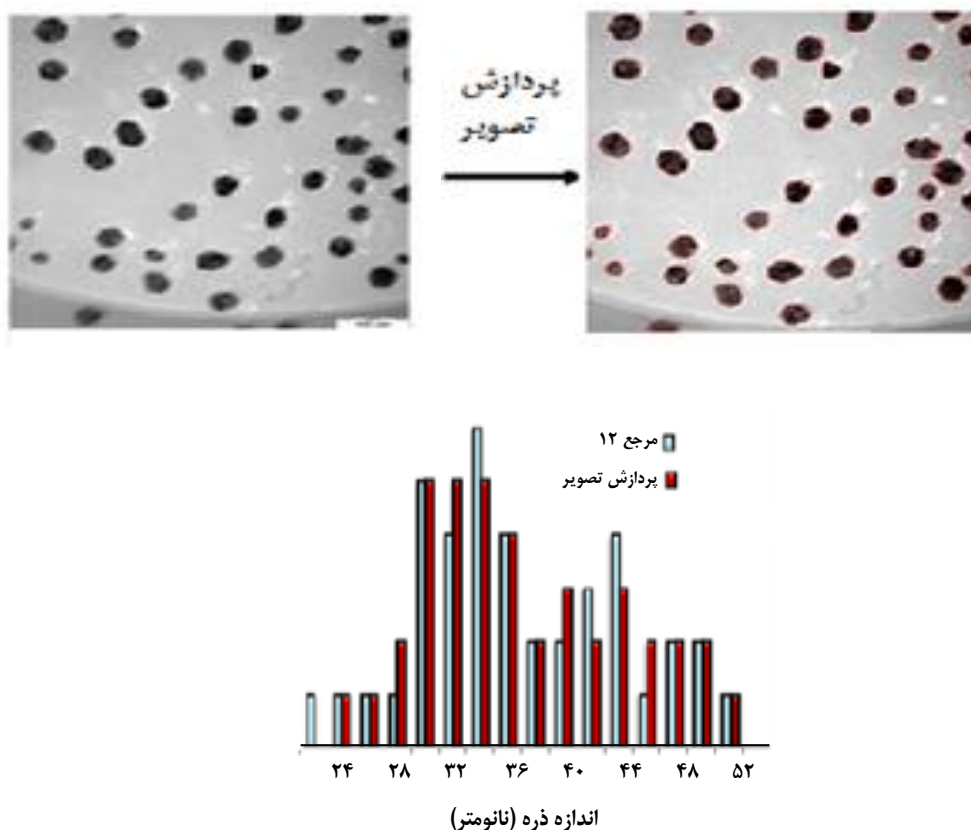
نانوذره‌های نقره سنتز شده با تابش یونیده شده را نشان می‌دهد [۱۲]. همان‌گونه که مشخص است نتیجه‌های به‌دست آمده از روش پردازش تصویر ارایه شده در این پژوهش با نتیجه‌های که نویسنده مرجع ذکر شده از روش دستی محاسبه کرده است همخوانی بسیاری دارد.



شکل ۲-الف) فرایند تفکیک و گروه بندی نانوذره‌ها (ب) فرایند شماره گذاری نانوذره‌ها.



شکل ۳- تلفیق تصویر اصلی و مرزبندی گروه‌های نانوذره‌های شکل (ب) توزیع نانوذره‌ها بر حسب اندازه قطر.



شکل ۴- مطالعه موردی فناوری پردازش تصویر روی تصویر TEM نانوذره‌های نقره سنتز شده با تابش یونیده شده

مورد بررسی قرار می‌گیرند و قطر نانوذره‌ها را بر اساس مساحت نانوذره و فرض دایروی بوده آن‌ها، محاسبه می‌کند. برتری اصلی این روش، توانایی برای اندازه‌گیری دقیق در هرگونه شکل از نانوذره‌ها می‌باشد. همچنین هزینه محاسبه بسیار کم و فرایند بسیار سریع، امکان استفاده از این روش را برای کاربردهای صنعتی با تصویرهای بسیار زیادی فراهم می‌آورد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۲۷

نتیجه‌گیری

در این پژوهش یک روش پردازش تصویر برای آنالیز کمی و توزیع نانوذره‌ها در تصویرهای TEM، ارائه شده است. براساس طبیعت پردازش تصویر، الگوریتم پیشنهاد شده نیاز به هیچگونه اطلاعاتی از نانوذره‌های موجود در تصویر TEM ندارد. در نتیجه این روش به‌عنوان یک روش به‌طور کامل، خودکار قابل اجرا است. الگوریتم پیشنهادی، با پیش پردازش تصویرهای TEM، روشنی تصویرها را بالا می‌برد و سپس به تصویر باینری، تبدیل می‌کند. در مرحله‌های بعدی این روش، نانوذره‌ها به‌صورت تفکیک شده،

مراجع

- [۱] اسدی، حمید؛ هرمزی، فرامرز، توسعه روش عکس برداری پرسرعت و پردازش تصویر در تعیین ویژگی‌های جریان حباب در ستون‌های حبابی، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۴) ۳۲: ۷۱ تا ۸۰ (۱۳۹۲).

- [2] Oshida K., Takeuchi K., Hayashi T., Endo M., [Structural Analysis of Nanostructured Carbon by Transmission Electron Microscopy and Image Processing](#), *Applied Surface Science*, **275**: 409-412 (2013).
- [3] Simonetta Geninatti C., Terreno E., Aime S., [Nano-Sized and other Improved Reporters for Magnetic Resonance Imaging of Angiogenesis](#), *Advanced Drug Delivery Reviews* (2017).
- [4] Zybin A., Shpacovitch V., Skolnik J., Hergenröder R., [Optimal Conditions for SPR-Imaging of Nano-Objects](#), *Sensors and Actuators B: Chemical*, **239**: 338-342 (2017).
- [5] Mirzaei M., Khodabakhshi H., [An Automatic Algorithm for Determination of the Nanoparticles from TEM Images Using Circular Hough Transform](#), *Micron*, **96**: 86-95 (2017).
- [6] Hongchu Du A., [Nonlinear Filtering Algorithm for Denoising HR\(S\)TEM Micrographs](#), *Ultramicroscopy*, **151**: 62-67 (2014).
- [7] Grishin I., Thomson K., Migliorini F., Sloan JJ., [Application of the Hough Transform for the Automatic Determination of Soot Aggregate Morphology](#), *Appl Opt*, **51**: 610-620 (2012).
- [8] Temerman P.J., Verleysen E., Lammertyn J., Mast J., [Semi-Automatic Size Measurement of Primary Particles in Aggregated Nanomaterials by Transmission Electron Microscopy](#), *Powder Technology*, **261**: 191-200 (2014).
- [9] Dastanpour R., Boone J., Rogak S., [Automated Primary Particle Sizing of Nanoparticle Aggregates by TEM Image Analysis](#), *Powder Technology*, **295**: 218-224 (2016).
- [10] Hosseini S.M.S., Hashemipour H., Talebizadeh A., [Syngas Production Through Methane Oxy-Steam Reforming over a Ni/SiO₂ Nanocatalyst Prepared by a Modified Impregnation Method](#), *Micro & Nano Letters*, **11** (12): 890-895 (2016)
- [11] Gonzalez R.C., Woods R. E., ["Digital Image Processing"](#), Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, (2008).
- [12] Saion E., Gharibshahi E., Naghavi K., [Size-Controlled and Optical Properties of Monodispersed Silver Nanoparticles Synthesized by the Radiolytic Reduction Method](#), *Int. J. Mol. Sci*, **14**: 7880-7896 (2013).