
 情報処理の実際 (2)

高分解能電子顕微鏡像のコンピュータ画像処理

津 野 勝 重

日本電子(株) 〒196 昭島市武蔵野3丁目 1-2

(1987年10月21日受理)

Digital Image Processing for High Resolution Electron Microscopy

Katsushige TSUNO

JEOL Ltd. 1-2, Musashino 3-chome, Akishima-shi, Tokyo 196

(Received October 21, 1987)

Two kinds of image processing techniques can be applied to the high resolution electron microscope (HREM) images: one in the real space (averaging of periodic images) and the other in the Fourier space. There are several methods in the latter, such as ring masking, window masking and a CTF (contrast transfer function) compensation using the Wiener filter.

The Wiener filter is extremely useful for the HREM image processing, because the filter can improve the CTF, and thus provide improve images. The image contrast can partially be reversed and that in the high frequency region can be enhanced by the Wiener filter. A practical method for the Wiener filter is explained by using a HREM image of multiply twinned Ag particle. An application is shown with a high temperature superconducting material, and the other techniques are also demonstrated with various images.

1. はじめに

近年の高分解能電子顕微鏡 (HREM) の分解能向上はめざましく、今や 0.20 nm (200 kV)¹⁾, 0.15 nm (400 kV)²⁾, 0.16 nm (1000 kV)³⁾ の分解能が得られている。これらの EM を用いれば、ほとんどあらゆる金属やセラミックス等の結晶構造像を観察することができる。しかしながら、いざ HREM 像から未知の物質の構造を決定しようとした時、現状の分解能ではなお不満があり、より高い分解能が望まれている。ところが、高分解能 EM の基本をなしている鉄芯電磁石を用いた電子レンズの構造から、加速電圧 200~400 kV の普及形 EM の分解能はすでに限界に近づいている。1000 kV 等の超高圧 EM によって 0.1 nm の分解能を目指す案も最近出てきたが、当面、画像処理を用いて埋もれた情報を引き出すことが近道であろうと考えられるようになった。

写真技術や光回折を利用した画像処理による高分解能 EM 像の改善には長い歴史があり、コンピュータを用いたデジタル画像処理もすでに10年以上の経験⁴⁾がある。

日本では、橋本ら(1980)⁵⁾ 金谷ら(1982)⁶⁾ によって電子顕微鏡用の画像処理システムが開発され、多方面にわたって応用されている。ここでは画像処理技術を発展させて来た先人達のたどった軌跡を顧みることは文献に譲り、いくつかの代表的な処理について、数式による説明は最小限に止め、具体的な方法を実例に基づいて示すことにしよう。

高分解能 EM 像は周期構造を持っていることが多いので、これを利用した方法がこれまでは画像処理の主流であった。処理の方法は、像のフーリエ変換を行ない、逆空間上で処理を施して再生像を得る方法と、実空間で直接処理を行う方法との2つに大別される。実空間での直接処理には、周期構造を持った像をその周期だけ並進移動して平均化する方法⁷⁾があり、写真処理技法(重ね焼き)として知られていた。我々はこの方法を、結晶構造の一つの単位(モチーフ)を選びだして、並進処理によって平均化することから、MOTIF 法と呼ぶことにする。

フーリエ変換像(ディフラクトグラム)上での処理に

は、いくつかの方法がある。写真フィルムのノイズ等によって低下している画質を向上させる方法の一つとして、リング状のマスクをディフラクトグラム上にかけることが有効である。これは、EM の分解能からは得られるはずのない周波数領域を取り除いてしまうもので、周期構造を持った画像であることは要求されない。この処理を MASK 処理と呼ぼう。

ディフラクトグラム上で結晶格子からの反射以外をノイズと考え、結晶からの反射点のみを残して他の部分を消し去ってしまう処理がある。この方法はレーザによる光回折法で利用されていた⁸⁾。ここでは、ディフラクトグラムの一部分に窓を明けてその情報だけを取り出すという意味で、WINDOW 処理と呼ぼう。

これらの単純な処理のほかに、ディフラクトグラムの強度分布に加工を施す方法がある。特定の周波数成分を強調するために任意の一次元関数をかけあわせるのである。EM 像のコントラストはレンズのコントラスト伝達関数 (CTF) によって決まる周波数分布を示すが、弱いコントラストを持つ周波数のそれを引きあげたり、あるいはコントラストを部分的に逆転させるなどして、CTF に依存しないようなコントラストの像を作り出すことで、画質の向上のみならず、より正しい (あるいは、より構造模型に近い) 像を得ることが出来る。この処理は、WIENER フィルタ⁹⁾と呼ばれているが WIENER の方法を Saxton が HREM に応用した新しい方法である¹⁰⁾。さらに発展させて、デフォーカス量を種々に変えた数枚の写真を用いる SHISKE フィルタが知られている¹¹⁾。アイデアとしては SHISKE フィルタは WIENER フィルタに勝るものであるが、処理後の像において、WIENER フィルタより良い像を得るために

は、原画像の撮影段階から充分な考慮が必要と思われる、また複数の異なるデフォーカスの像の位置を正確に一致させて切り出すなどの難しいテクニックが必要である。

以下では、まず処理装置の構成について簡単に触れたのち、WIENER フィルタについて述べる。このフィルタが高分解能像処理の基本であると考えられるからである。つづいて、MASK, WINDOW, MOTIF 法について実例を示す。ここでは、すでに得られた写真を処理するオフライン画像処理について述べる。テレビカメラを介して直接 EM から画像を取り込み即座に処理を施すオンライン処理はオフライン処理と同じ処理のほかに光軸の調整、非点の補正、結晶軸調整等、EM の操作を容易にするといった別の目的に使うことが出来る¹²⁾。

2. 画像処理装置の構成

Fig. 1 は、パーソナルコンピュータを基本とした画像処理装置の構成と、いくつかの画像入力方法を示している。画像処理用のコンピュータには、フレームストアを付け加えることと、濃淡を表現出来る CRT (普通のテレビでも良い) を用いることが本質的に必要である。少なくとも原画像より美しい像を出力することが画像処理の最低限の役割であるとすればハードウェアの選択は重要である。この他に、画像のある点を指定したり、線を引いたりするために、マウス (トラッカーボール、ジョイスティック、ライトペンでも良い) があると便利である。

オンライン入力はテレビカメラで写した像をフレームストアで積算してから、コンピュータに取り込む。オフライン入力には、フィルムを介さずにテレビカメラから光ディスク等に蓄えた画像をコンピュータに取り込む方

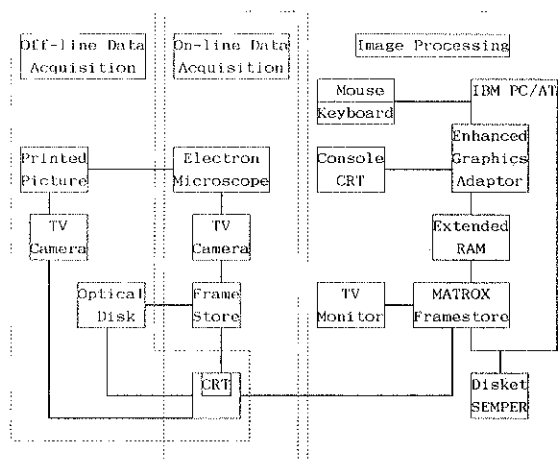


Fig. 1 The micro-computer based image processing system JIM-1000 and data acquisition systems.

法と、ネガフィルムをマイクロデンシトメータで読みとるか、印画紙に焼き付けてからテレビカメラを通して入力する方法がある。デンシトメータを駆動するコンピュータと、画像処理用のコンピュータを通信ネットワークで結べば画像を直接取り込めるが、ディスクを介して取り込むことも出来る。

3. WIENER フィルタ

HREM 像は対物レンズの特性と、使用条件（デフォーカス）によって種々に変化する¹³⁾。この特性を表すのが、コントラスト・トランスファー関数 (CTF) である。像が観察手段と観察条件によって異なるために、HREM 像は、シュミレーション像と比較して初めて解釈が可能となると言われてきた。使用レンズが許す分解能の限界近くまで、周波数に依らず一様な CTF の像が得られるならば、その像はより構造を正しく反映するようになると思われる。

さて、画像の強度分布のフーリエ成分 I_n は、弱位相物体近似の下では、

$$I_n = 2\phi_n \cdot t(K_n) \quad (1)$$

とおくことが出来る。ここで、 ϕ_n は試料中での電子線の位相のずれを表し、試料と電子線の相互作用によって決まる項である。 $2t(K_n)$ は CTF で、電子顕微鏡とその使用条件によって決まる。最適デフォーカス条件である Scherzer デフォーカス (Sch) では、広い周波数にわたって $t(K_n)$ が -1 に近い値をとるので、Sch で観察した高分解能像は直接視覚的に解釈することが許されている。このような条件を他のデフォーカスでも得るためには、(1) 式の ϕ_n を求めればよい。画像処理によって ϕ_n が求められるならば、これを逆フーリエ変換して

像に戻せば Sch よりデフォーカス量の大きい像に対しても視覚的に解釈出来る像が得られる。もちろん (1) 式からわかるように、 ϕ_n は I_n を CTF で割れば得られる。像の観察条件が良く判っていれば CTF は計算出来るので、 ϕ_n を求めることは可能のように考えられるが、CTF が零近くの値をとる周波数では、ノイズを増幅するだけになってしまう恐れがある。このような場合に対処する伝統的な方法は、WIENER フィルタ⁹⁾を用

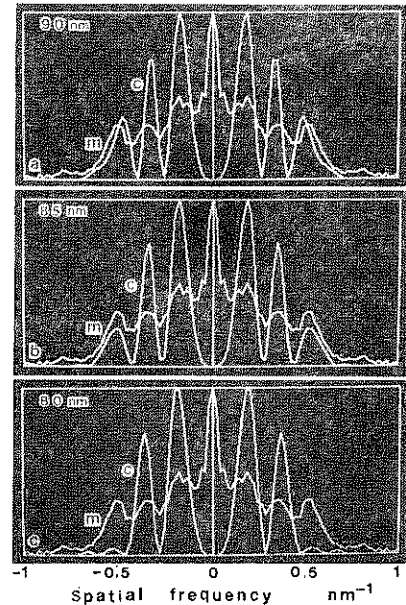


Fig. 3 a: A rotationally averaged radial section extracted from the image of Fig. 2 b (curves m) and CTF (curves c) by changing the defocus value.

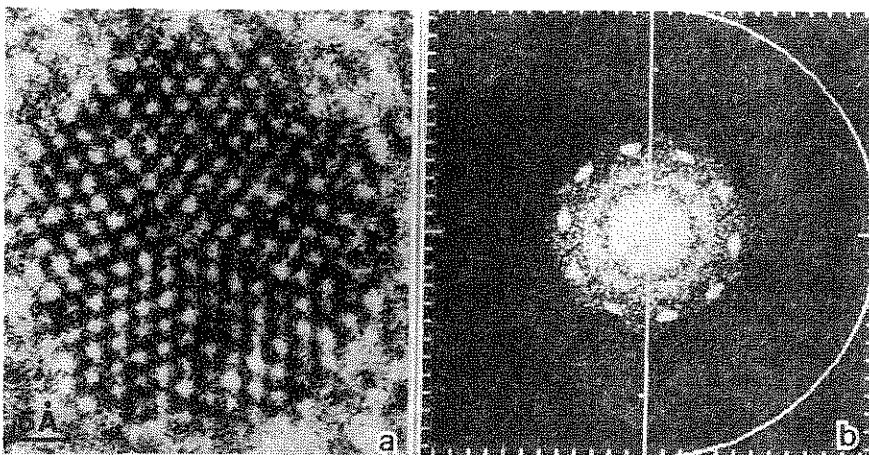


Fig. 2 a: A HREM image of Ag multiply twinned particle taken by the 200 kV microscope (modified 200 CX). b: A diffractogram of the image by the digital Fourier transformation.

いることで、 ϕ_n の最適な近似値 ϕ_n' は、

$$\phi_n' = t(K_n)I_n / (t^2(K_n) + N_n/\phi_n) \quad (2)$$

で与えられる。ここで N_n/ϕ_n は、信号に対するノイズの割合の期待値を表す。この項を利用してノイズの増幅をコントロールすることが出来るが、CTF が零となる付近の情報とはもともと原画像にないので、これを回復することはできない。WIENER フィルタによって周波数によるコントラストの逆転がなくなり、さらに、CTF が零の付近を除いて I_n は ϕ_n と等しくなる。

Fig. 2a は、銀の多重双晶粒子（総原子数約千個）を 200 kV の HREM ($C_s=0.6$ mm)¹⁾ で観察したものであり、Fig. 2b はこの写真をデジタル・フーリエ変換して得たディフракトグラムである。この多重双晶粒子は五回対称の特異な形をしており、回折点は10個現れている。今、結晶からの反射ではなく、アモルファス部分に着目すると、スポットの内側に2本の黒いリングを認めることができ、結晶反射は第3リング上にあることが判る。Fig. 2b のディフракトグラム上に引いた半円部分を円

周方向に平均化して、コントラストの半径方向への依存性 (radial section) を求めると、Fig. 3a~c の曲線 m となる。それぞれの図には計算によって求めた CTF の2乗をデフォーカス量 (Def) を変えて示してある。c で示した図の3つは、上から Def=90, 85, 80 nm である。Def=85 nm がもっとも良くディフракトグラムと一致していることがすぐ判る。このようにして、デフォーカス量をまず求めておく。これは WIENER フィルタのための準備であるが、上述の方法によって使用電子顕微鏡の分解能を測定することが出来るし、デフォーカス量の測定も出来る。これは画像処理による計測の一例と言えよう。

デフォーカス量がわかれば CTF を計算することができ、(2)式から ϕ_n' が求まり、これを逆フーリエ変換によって像に戻すと、Fig. 4a となる。オリジナル像と比較して像質が大幅に向上していることが判る。b に示す処理後のディフракトグラムでは10個の強いスポットのすぐ外側に、さらに10個のスポットが内側のそれ

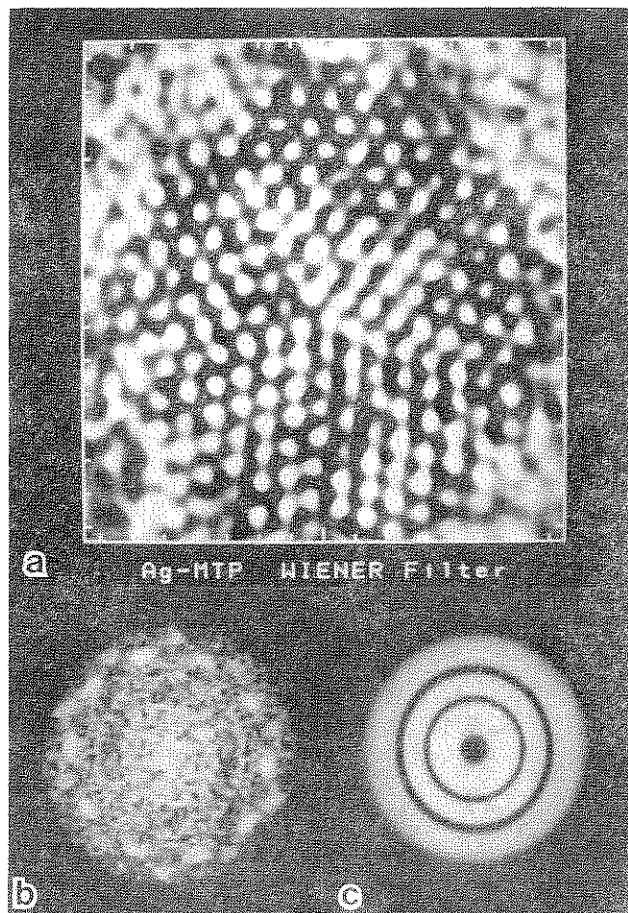


Fig. 4 a: A Wiener filtered image of Ag particle. b: Diffractogram of a. c: CTF of a.

らの中間の方向に認められる。これらは WIENER フィルタによって高い周波数の領域のコントラストが上がったためによく見えてきたものである。また c は、改造後の CTF である。

試料は銀の多重双晶粒子であるが、面心立方の (110) 面の回折図形を 72° ずつ回転して 5 回重ね合わせてみると、Fig. 4b と同じ回折図形となり、内側のスポットが 111, 外側が 200 に対応することが判る。さらに、111 はおのおのが 2 回ずつ重なり合っているのに対し、200 は重なり合いがないため強度が弱いことが判る。像の観察に用いた EM の分解能では、Scherzer デフォーカスで 111 が観察限界ぎりぎりにあるが、デフォーカス量を大きくした場合 (2.2 S ch) には第 3 リング上に 0.25 および 0.18 nm がはいる。しかし、オリジナルでは第 3 リングの強度が弱いため 200 をはっきりと確認できなかった。この部分のコントラストを増加させる事によって、0.18 nm の情報を像に寄与させることができたのである。このように、WIENER フィルタは Scherzer デフォーカスの像にたいしてよりも、デフォーカス量の多い写真で効果が大きい。

4. MASK 処理

ディフラクトグラム上の一部の領域を消し去り、自分の欲する部分のみを逆フーリエ変換によって像に戻す MASK 処理は、写真フィルムの粒状性などによるノイズの低減に特に有効である。写真上には、EM の分解能からは得られるはずのない (従って意味のある情報を持たない) 周波数成分のノイズが重畳されているのが普通であり、使用した EM の分解能限界に対応する周波数

以上を円形のマスクによってカットする処理は特に生物試料の画質向上に大きな効果がある。Fig. 5a は、400 kV 分析電子顕微鏡 (Cs=3.4 mm)¹⁴⁾ で観察した AlMnSi 準結晶の像をコンピュータに読み込んだ後に出力したもの、b はそのディフラクトグラムをリング状に切り出した (MASK) 後、c は b を逆フーリエ変換によって像に戻したものを示している。明らかに像質は向上している。ディフラクトグラム上には、Fig. 2 の場合と同様に同心円上に 10 個のスポットが見られるが、この場合にはもっと遠くまで観察された反射を内側のみを残して外側を切り捨てている。ここでは特にその物理的意味は問題にしない。

5. WINDOW 処理

結晶試料では結晶の対称性を利用して、原点と方向の異なる 2 点を指定するだけで、他の全ての反射を拾いだすようにプログラムすることができる。Fig. 6a はコンピュータに読み込んだだけの YbFe₂O₄ のオリジナル画像¹⁵⁾、b はそのディフラクトグラムである。c が上述のようにして選んだ結晶の反射点である (WINDOW 処理)。d は c を逆フーリエ変換して得た像を、白黒反転し (原子位置が白く出ている)、さらに拡大して示している。また、e は逆変換像をさらに拡大後、像にコントラストの等高線を重ね書きしたもの (原子位置は黒) である。WINDOW 処理は、結晶の対称性のみをとりだして像にしているので、像質の向上は著しい。しかしながらこの処理では対称性のない像に対しても対称性を作りだしてしまう危険性があるので、他の処理では効果の少ない像に対してのみ使うことはもちろん、WINDOW

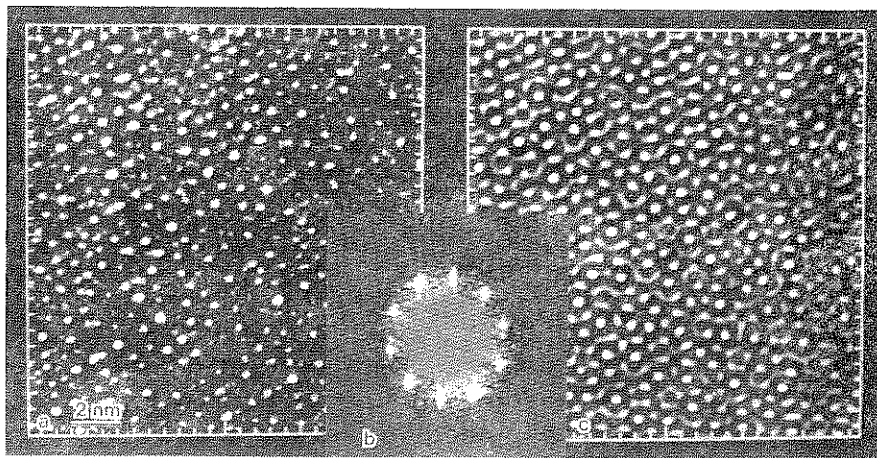


Fig. 5 a: An original image of MnAlSi quasi-crystal taken by the 400 kV analytical electron microscope JEM-4000 FX. b: Diffractogram after masked. c: Inverse Fourier transferred image of b.

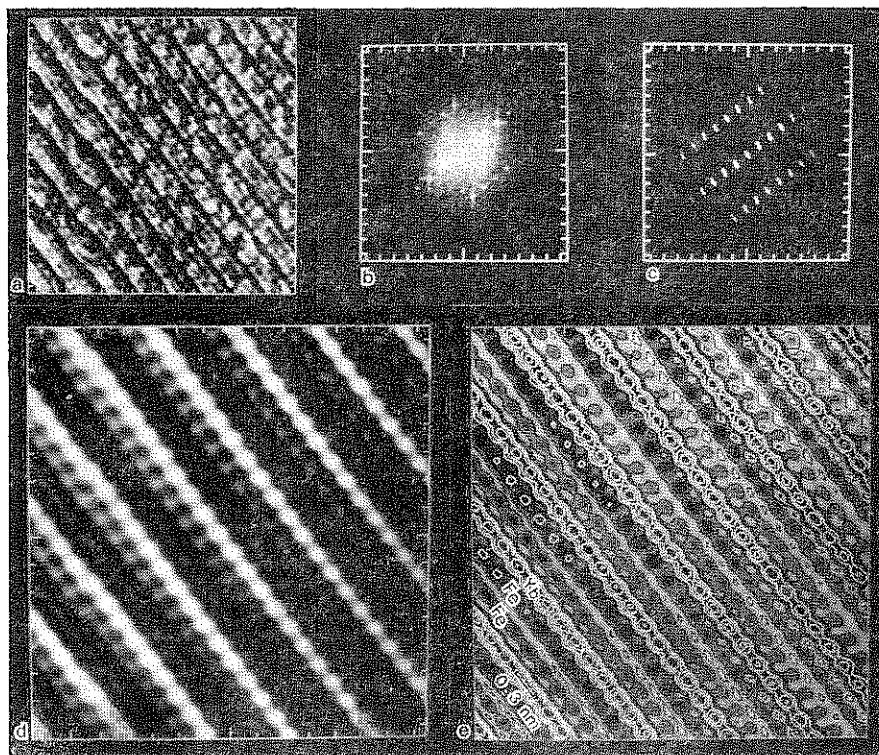


Fig. 6 a: An original image of YbFe_2O_4 taken by a 1000 kV electron microscope. b: Diffraction pattern of a. c: A diffraction pattern after Window treatment. d: Inverse Fourier transformed image after Window. e: Superpose contours on the picture d.

の開けられた全ての点に対して本当に結晶からの反射があるかどうかを確かめた上で用いなければならない。ここでは、EM の分解能限界の周波数に円形 MASK を施した後に WINDOW 処理を行っている。等高線を重ね書きする表示法は、原子の位置を測定するのに便利である。ここに示した例のように、Yb のコントラストが非常に強く、Fe のコントラストが相対的に弱いので、d では Fe が良く見えないのであるが、等高線表示を重ねることによって、広いコントラストの全領域にわたって、はっきりとした像を示すことが出来た。

6. MOTIF (並進による平均化)

高分解能電子顕微鏡法は結晶構造を目のあたりに見るという構造解析の一手法であるとともに、局所的な原子配列の乱れを観察するという、いずれも他の方法では代えがたい方法であるが、このうちの第二の目的を犠牲にして、より美しい構造模型を作りだすのが、並進処理による平均化である。Fig. 7 は 400 kV の HREM (分解能 0.17 nm) で観察した高温超伝導体 YBaCuO のオリジナル像^{16,17)}をコンピュータに読み込んだだけで出力したもの a と、それに WIENER フィルタを施しさら

に並進処理によって平均化した像を拡大したもの b、及びさらに拡大した後、等高線を重ね書きしたもの c である。WIENER フィルタがより正しい像を得るための処理とすれば、MOTIF はより美しい像を作る処理である。HREM 像の構造解析のためには、両者の組み合わせが良い。WIENER フィルタによって、オリジナル像では弱かった 2 つの Ba にはさまれた CuO のラインのコントラストを高めることが出来た。この層は、超伝導の起源である酸素欠陥に関係している。

7. おわりに

上で述べた画像処理に用いたコンピュータ・ソフトウェアは、英国ケンブリッジ大学において開発された画像処理言語「Semper」¹⁸⁾である。Semper には、100 以上の命令が用意されており、それらの組み合わせによって種々の処理を行うことが出来る。Semper の利用に関し指導していただいた、ケンブリッジ大学の Dr. K. C. A. Smith と Dr. W. O. Saxton に感謝する。

Fig. 2 の多重双晶粒子の写真は同じくケンブリッジ大学の Dr. D. A. Jefferson により撮影されたものである。Fig. 5 及び Fig. 7 の写真は、東北大学の平賀賢二

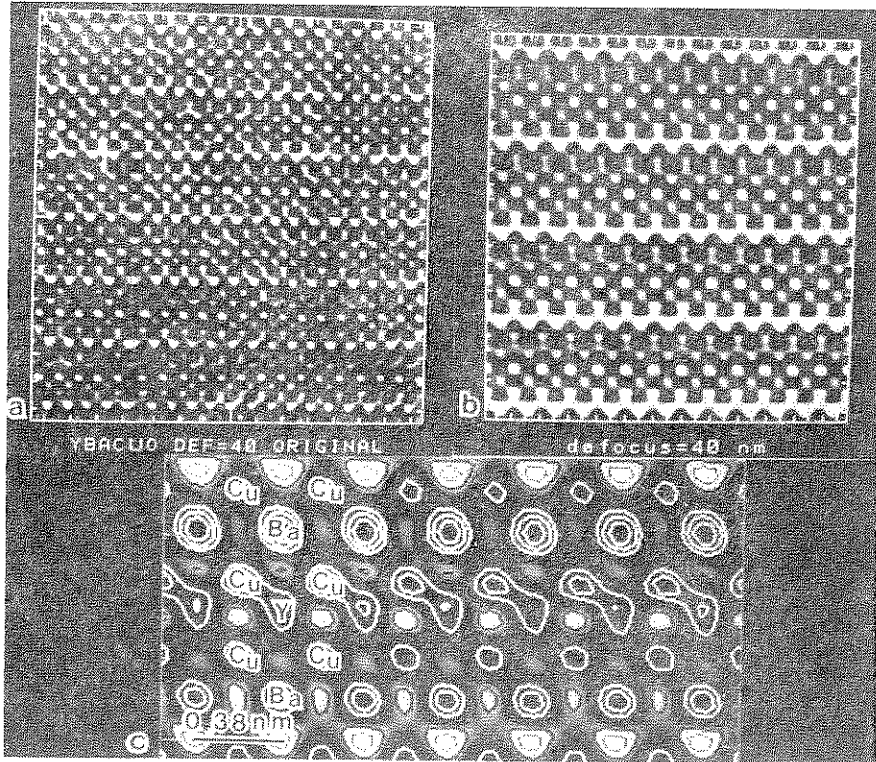


Fig. 7 a: An original image of YBaCuO high temperature super conducting material taken by the 400 kV HREM (JEM-4000 EX). b: An image produced by the average in the real space after applying the Wiener filter. c: Superpose contours on the image b. (See colour page 1).

博士の試料について、それぞれ日本電子の石田征久氏並びに本田敏和氏が撮影したものである。Fig. 6のオリジナル写真は無機材質研究所の松井良夫博士からお借りしたものである。これらの人々の協力に感謝する。

文 献

- 1) D. A. Jefferson, J. M. Thomas, G. R. Millward, K. Tsuno, A. Harriman and R. D. Brydson: *Nature* **323**, 428 (1986).
- 2) T. Honda, K. Ibe, S. Suzuki, Y. Ishida and K. Tsuno: *Inst. Phys. Conf. Ser. No. 78* (Proceedings of EMAG 85) 579 (1985).
- 3) R. Gronsky and G. Thomas: *JEOL News* **22 E**, 2 (1984).
- 4) W. O. Saxton: "Computer Techniques for Image Processing in Electron Microscopy" (Academic Press, New York, 1978).
- 5) Y. Yokota, M. Tomita, H. Hashimoto and H. Endoh: *Ultramicroscopy* **6**, 313 (1981).
- 6) K. Kanaya, N. Baba, M. Shino, K. Takamiya and T. Oikawa: *Micron* **13**, 205 (1982).
- 7) J. M. Squire, P. K. Luther and G. D. Agnew: *J. Microscopy* **142**, 289 (1985).
- 8) T. Tanji, H. Hashimoto, H. Endoh and H. Tomita: *J. Electron Microsc.* **31**, 1 (1982).
- 9) W. K. Pratt: "Digital Image Processing" (A Wiley-Interscience Publication, New York, 1978) p. 410.
- 10) W. O. Saxton: *Proc. XIth Int. Conf. Electron Microscopy, Kyoto, 1986*, Post deadline paper 1.
- 11) P. Shiske: "Image Processing and Computer-Aided Design in Electron Optics" ed. by P. W. Hawkes (Academic Press, London, 1973).
- 12) S. J. Erasmus and K. C. A. Smith: *J. Microscopy* **127**, 185 (1982).
- 13) J. C. H. Spence: "Experimental High-Resolution Electron Microscopy" (University Press, Oxford 1981).
- 14) Y. Bando, Y. Matsui, Y. Kitami, Y. Inomata, K. Ibe, T. Honda and Y. Harada: *Jpn. J. Appl. Phys.* **23**, L412 (1984).
- 15) Y. Matsui, K. Kato, N. Kimizuka and S. Horiuchi: *Acta Cryst.* **B 35**, 561 (1979).
- 16) Y. Matsui, A. Ono, S. Horiuchi and K. Kato: *Jpn. J. Appl. Phys.* **26**, L777 (1987).
- 17) K. Hiraga, D. Shindo, M. Hirabayashi, M. Kikuchi, K. Ohishi and Y. Shono: *Jpn. J. Appl. Phys.* **26**, L1071 (1987).
- 18) W. O. Saxton and T. L. Koch: *J. Microscopy* **127**, 69 (1982).