

显微图像特征识别分析方法

▶岳纪玲 关波

(分析测试中心电镜组 Tel: 010-62588935 Email:yuejiling@iccas.ac.cn)

1. 背景介绍

物质的微观结构决定其宏观物理、化学、力学及其它特定的宏观性能。随着电子显微镜(Electron Microscope)、原子力显微镜(Atomic Force Microscope)、计算机断层扫描(Computed Tomography)等技术的发展,已实现对物质的微观结构从微米到原子多尺度进行成像。其中,针对图像中的特定目标进行识别分析,从而提取有价值的特征和信息非常重要。显微图像识别的方法有传统的代数法、二值化法、二维图像 Fourier 变换法、灰度法等^[1]。近年来,随着计算机技术的发展,显微图像分析与人工智能结合,可以实现海量微观结构图像的智能分析、高通量实时处理等^[2-3],具有快速、准确、实时等特点。本文从图像处理、目标特征识别提取、分析等方面,阐述了显微图像识别分析技术在微观结构及性能研究中的应用。

2. 技术流程及原理

显微图像识别分析方法通常包括图像处理、图像分析、结果输出,技术流程如图 1 所示。



图 1、显微图像识别分析方法流程

图像处理包括图像去噪、清晰度增强及尺寸调整等。常用的图像去噪方法有反滤波(Inverse filtering)、维纳滤波(Wiener Filtering)、卡尔曼滤波(Kalman Filter)等。Kushwaha H S 等^[4]将平均滤波、中值滤波和维纳滤波三种不同类型的滤波用于去除纳米颗粒透射电子显微镜图像的噪声,其结果表明应用维纳滤波

的图像对于计算纳米颗粒材料中的平均粒度更加准确。图像增强的目的是增强对比度，突出图像中要提取的特征信息。为了提高图像中“目标物”的可见性，Mirzaei 等^[5] 开发了一种非线性滤波算法对透射电镜图像进行预处理，该技术通过中值滤波结合高通傅立叶滤波，克服了峰值强度衰减和边缘锐化，有效的增加了图像的表现清晰度。

图像分析主要包含目标识别和特征提取。目标识别是感兴趣的特征进行识别标记。Mirzaei 等^[5]使用改进的圆形 Hough 变换自动计算测定透射电子显微镜图像中纳米颗粒直径，其对变换空间、边缘方向信息和内画操作的累积矩阵进行修改，从而提高了检测圆形和半圆形颗粒的识别精度，其结果表明，该方法的优点在于能够准确分析数量极多的纳米颗粒，使其适合处理大量的透射电子显微镜图像，如图 2 所示。特征提取和选择是得到一个反映微观结构图像数据集本质结构、识别率更高的特征子空间。微观结构图像特征主要有图像的纹理特征、形状特征和空间关系特征等，通常用的最多的为形状特征。形状特征的描述方法有边界特征法（其经典方法为 Hough 变换）、傅立叶形状描述符法（Fourier shape deors）、几何参数法、形状不变矩法、有限元法（Finite element method）等。

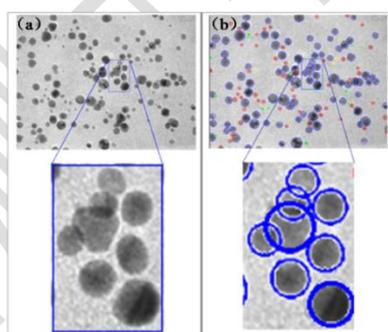


图 2、(a) 纳米颗粒原始图像。(b) Hough 变换后检测到的圆的叠加图像。

3. 应用实例

3.1 传统显微图像识别分析方法

传统的显微图像识别分析方法主要依赖于人工经验性的分析及信息提取，一般使用软件例如 Imag J、Nano Measurer 等，可以提取显微图像中长度、直径和孔径等大小及分布分析。例如，我们使用 Imag J 软件，分析了亚微米直径的聚苯乙烯微球的扫描电镜图像，分析过程如图 3 所示，首先对扫描电镜图像进行标

尺校正、过滤去噪音处理，然后用二值化方法分割图像，通过灰度差异特定识别聚苯乙烯微球，需要根据识别情况，手动调整灰度范围以及对粘连颗粒进行手动分割，之后对识别的微球进行分析，可以得到每一个微球的直径、(投影)面积、体积等参数，进行统计分析得到比如粒径的统计分布情况。

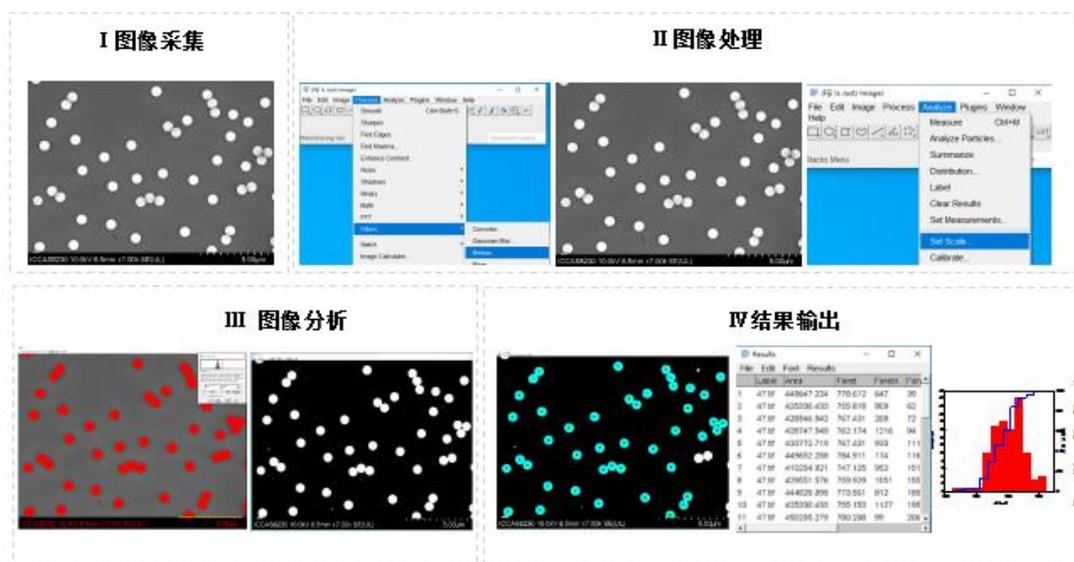


图 3、应用 Image J 软件识别分析聚苯乙烯微球的颗粒粒径及分布。

3.2 机器学习方法在显微图像识别分析中的应用

传统的显微图像识别方法依赖于人工经验性分析，耗时耗力，尤其是三维、高通量成像需求及技术的发展，需要处理大量的图像，而且人工分析存在遗漏信息的问题。近年来，随着计算机计算能力及人工智能理论和技术的发展，以深度学习（Deep Learning, DL）为典型代表的机器学习方法取得了许多重要的突破，在图像处理领域，卷积神经网络（Convolution Neural Network, CNN）、循环神经网络（Recurrent Neural Network, RNN）、生成对抗网络（Generative Adversarial Nets, GANs）等深度学习模型在图像分类、目标检测、图像分割、目标跟踪和超分辨率重构等多方面都获得了应用结果^[6]。深度学习方法通过学习程序从数据中学习得到识别特征^[7]，能够处理大量参数，并且在复杂情况下具有高速度、高准确性、稳定性好等特点，已用于材料、生物等多领域的三维微观结构、性质等的研究^[8,9]。

Chang^[10]等提出了一种人工与自动化结合的智能化工作流程，提升了数据采

集及处理效率，并且弥补了缺失信息，实现了对小鼠神经突触结构的亚纳米级的三维重构。如图 4(a)所示，整个流程分为四步：（1）定位序列切片的感兴趣区域，首先，在透射电镜下采集序列样品的图像时，在人工定位前两张切片感兴趣区域（ROIs, Regions of Interest）的基础上，通过程序对所有切片的 ROI 进行自动粗略定位，再进行人工精确定位，相比传统方法，提升了数据采集效率。（2）对得到的系列切片图像进行自动粗对中和细对中，有效提升了精度。（3）自动估计并产生制样和数据采集过程中缺失的信息。（4）自动进行结构重构后，在自动方法粗分割的基础上，手动进行细分割，得到了突触的微观三维结构，如图 4(b)所示，体积为 $1.3 \times 1.425 \times 0.978 \mu\text{m}^3$ 的神经突触的重构结果，以及通过分割展示的突触前膜、囊泡等结构。

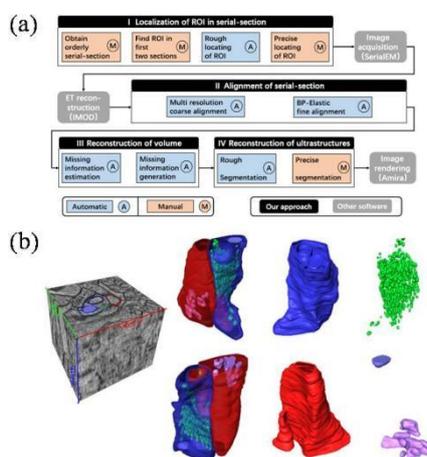


图 4、(a) 完整突触亚纳米级三维重建智能工作流程。(b) 突触三维重构结果

Maksov 等^[11]开发了用于动态扫描透射电子显微镜（Scanning Transmission Electron Microscopy, STEM）图像分析的深度学习框架，该框架经过训练可在几秒内从原始的 STEM 数据中识别提取数千个晶格缺陷，并将其进行分类，应用于二硫化钨样品的缺陷和像转变分析，实现了在电子束照射下，实时对钼掺杂和硫空位进行原子级分析，为深入理解点缺陷的动力学和反应机制提供最直接的数据。

Liang 等^[12]使用机器学习方法，基于扫描电镜图像的形貌识别，实现了预测不同高分子的相容性，如图 5 所示，研究人员以高分子相容性为具体研究目标，基于混合高分子材料的扫描电镜形貌像，构建了机器学习模型训练与测试数据集，

通过使用迁移学习方法及图片的平移、旋转、翻折、裁剪等操作，最终模型在测试集的应用达到了 94% 的准确率，且与该领域专家进行人工识别对照组的准确率接近。

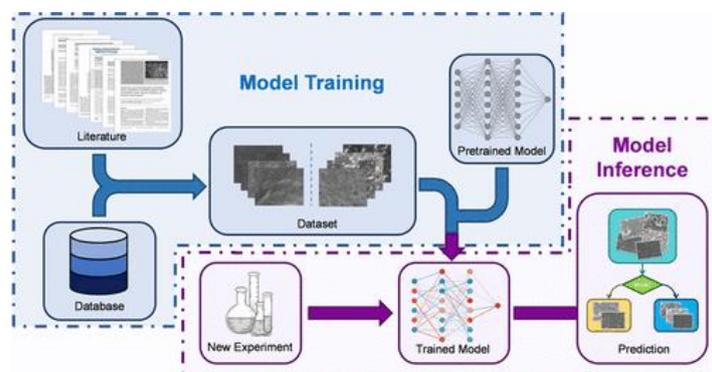


图 5、一种连接材料宏观特性与显微图像的机器学习框架

4. 结论与展望

本文主要讨论了显微图像分析的技术原理、实验方法及相关应用实例。识别提取显微图像中的特定特征，并对特征进行归类，探寻结构特征和性能之间的关系，对于理解物质结构与性能之间的构效关系、构建高性能物质体系具有重要意义。随着显微成像技术及人工智能的快速发展，智能化的显微图像识别分析技术将为材料、物理、化学、生物医学等多领域的研究提供重要推动力。

参考文献：

1. 朱从峰，王泊雄等，图像微观特征识别方法，*清华大学学报*，**2003**，43(8)，1038。
2. 谢启伟，陈曦等，基于深度学习的脑微观结构重建，*系统工程理论与实践*，**2018**，38(2)，482。
3. Leiyu Chen, et al., Review of Image Classification Algorithms Based on Convolutional Neural Networks, *Remote Sens.*, **2021**, 13, 4712.
4. Himmat S. Kushwaha, Sanju Tanwar, et al., De-noising filters for TEM (Transmission Electron Microscopy) image of nanomaterials, *IEEE computer society*, **2012**, 276.
5. Mohsen Mirzaei, Hossein Khodabakhshi Rafsanjani, An automatic algorithm for determination of the nanoparticles from TEM images using circular hough transform,

Micron, **2017**, *96*, 86.

6. Fuyong Xing, et al., Deep learning in microscopy image analysis: a survey, *IEEE Trans. Neural Netw. Learn. Syst.*, **2018**, *19(10)*, 4550.
7. Yann LeCun, et al., Deep Learning, *Nature*, **2015**, *521*, 436.
8. C. Vinegoni, et al., Fluorescence microscopy tensor imaging representations for large-scale dataset analysis, *Sci. Rep.* **2020**, *10 (1)*, 5632.
9. Brian L DeCost, et al., A Holm High Throughput Quantitative Metallography for Complex Microstructures Using Deep Learning: A Case Study in Ultrahigh Carbon Steel, *Microscopy and Microanalysis*, **2019**, *25(1)*, 21.
10. Sheng Chang, et al., An intelligent workflow for sub-nanoscale 3D reconstruction of intact synapses from serial section electron tomography, *BMC Biology*, **2023**, *21*, 198.
11. Maksov, A., et al., Deep learning analysis of defect and phase evolution during electron beam-induced transformations in WS₂. *npj Comput. Mater.*, **2019**, *5*, 1.
12. Zhilong Liang, et al., Automatically Predicting Material Properties with Microscopic Images: Polymer Miscibility as an Example, *J. Chem. Inf. Model.* **2023**, *63 (19)*, 5971.

致谢:

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!