

Российская Академия наук
Сибирское отделение
ИНСТИТУТ КАТАЛИЗА им. Г.К. БОРЕСКОВА

На правах рукописи

Абросимов Олег Геннадиевич

РАЗРАБОТКА И АДАПТАЦИЯ МЕТОДИК И ПРОГРАММ
ЭЛЕКТРОННОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБЪЕКТОВ
МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ

02.00.04 – физическая химия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук
Э.М. Мороз

Новосибирск – 2006

Принятые сокращения

ЭТ – электронная томография;

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия;

TEM –Transmission Electron Microscopy (ПЭМ);

STEM – Scanning TEM (Сканирующая ПЭМ);

HAADF STEM – High Angle Annular Dark Field STEM (Сканирующая ПЭМ с детектором электронов, рассеянных на большие углы);

EFTEM – Energy Filtered TEM (ПЭМ с возможностью выбора электронов определенных энергий)

ADF TEM – Annular Dark Field TEM (ПЭМ в режиме кольцевого темного поля)

HACDF – High Angle Centered Dark Field (режим высокоуглового аксиального темного поля)

XANES – X-ray Absorption Near Edge Structure

SIMS – Secondary Ion Mass Spectroscopy;

IMOD – пакет программ для электронной томографии;

FBPJ или WBPJ – Filtered (Weighted) Back-Projection;

IFBPJ или IWBPJ – Iterative Filtered (Weighted) Back-Projection;

КВУ – каталитический волокнистый углерод

FEG – Field Emission Gun (эмиссионный катод, или катод полевой эмиссии)

POCS – Projection Onto Convex Sets

Оглавление

Принятые сокращения	2
Оглавление	3
Введение	5
Глава 1. Обзор методов съемки, выравнивания и томографической реконструкции угловых серий ЭМ изображений объектов материаловедения.	10
1.1 Режимы съемки ЭТ	15
1.1.1 Томография в режиме светлого поля	15
1.1.2 Спектроскопическая томография	17
1.2 Методы выравнивания угловых серий.....	23
1.2.1 Кросс-корреляция	23
1.2.2 Метод маркеров.....	24
1.2.3 Выравнивание без маркеров	24
1.2.4 Определение направления и положения оси вращения.....	25
Глава 2. Теоретические основы электронной томографии	26
2.1 Преобразование Радона	26
2.2 Теорема «центрального среза» и восстановление в Фурье-пространстве	28
2.3 Теоретические ограничения разрешения	31
2.4 Методы реконструкции изображений.....	34
2.4.1 Метод взвешенной обратной проекции (FBPJ).....	34
2.4.2 Метод взвешенной обратной проекции с итеративным уточнением (IFBPJ).....	37
2.4.3 Строгое изложение теории метода обратной проекции.....	37
2.5 Методы выравнивания угловых серий.....	42
2.5.1 Кросс-корреляция	42

2.5.2 Метод маркеров	44
2.5.3 Определение угла наклона и положения оси вращения	45
2.6 Приближение «проекции»	46
Глава 3. Развитие метода ЭТ	49
3.1 Экспериментальное оборудование электронной томографии	49
3.1.1 Держатель	50
3.1.2 Сетки.....	52
3.2 Режим съемки НАСДФ для ЭТ	55
3.3 Методы выравнивания угловых серий.....	56
3.3.1 Расчет ошибки реконструкции	57
3.3.2 Метод пространственной оптимизации	57
3.3.3 Определение направления и положения оси вращения.....	58
3.4 Программы и алгоритмы ЭТ	59
3.4.1 Расчет ошибки реконструкции	59
3.4.2 Программа реконструкции методом IFBPJ	61
3.4.3 Алгоритм определения положения и уточнения угла наклона оси вращения	64
3.4.4 Алгоритм выравнивания угловых серий для объектов материаловедения	68
Глава 4. Апробация разработанных методик	72
4.1 Тестирование на эталонном образце мезопористого силиката SBA-15	73
4.2 Исследование нанесенного платинового катализатора на основе сибунита.....	84
4.3 Реконструкция габитуса частицы медно-никелевого катализатора синтеза волокнистого углерода	94
Выводы.....	105
Благодарности	107
Литература	108

Введение

Актуальность работы. Метод просвечивающей электронной микроскопии незаменим при исследовании наноразмерных объектов. В то же время изображения, получаемые этим методом, могут дать лишь поверхностное представление о текстуре объекта. Электронная томография является тем средством, с помощью которого текстура наноразмерного объекта может быть восстановлена в трех измерениях из серий изображений, полученных под различными углами наклона образца к электронному пучку.

Необходимость исследования наноразмерных объектов в трех измерениях вызвана прогрессом нанотехнологий в физических науках и в материаловедении в частности. Поскольку элементы структуры, разработанные для новых устройств, становятся все меньше, продольный размер этих элементов приближается к их размеру в третьем измерении.

Трехмерный анализ приобретает актуальность не только при изучении функциональных материалов, но также и при изучении структурных материалов. Приготовление тепло- и механически прочных суперсплавов часто требует оптимизации микротекстуры в трех измерениях, возможно, с трехмерным распределением твердого материала внутри более пластичной матрицы. Разработаны гетерогенные катализаторы, в которых частицы активного компонента распределены в трех измерениях не только на поверхности, но и внутри глобул носителя.

Препятствием для широкого применения метода ЭТ в материаловедении является высокая стоимость приборов, способных реализовывать методы регистрации, пригодные для томографической реконструкции объектов материаловедения, таких как HAADF STEM, EFTEM и другие спектроскопические методы, ADF TEM.

Настоящая работа посвящена созданию методики НАСДФ-томографии, основанной на новом методе регистрации электронно-микроскопических изображений, пригодных для томографической реконструкции объектов, размером в сотни нм с разрешением в единицы нм. Режим наблюдения НАСДФ обладает всеми достоинствами методов, перечисленных выше, но имеет преимущество по сравнению с ними: доступность и относительно низкую стоимость необходимого оборудования. Метод регистрации НАСДФ легко может быть реализован в серийном ПЭМ приборе, что определяет возможность его использования широким кругом исследователей. В данной работе метод НАСДФ был адаптирован для регистрации угловых серий объектов материаловедения, кроме того, был решен ряд сопутствующих задач, касающихся разработки дополнительного оборудования и алгоритмов вычислительной обработки данных.

Работа выполнена в лаборатории структурных методов исследования Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН за период с 2003 по 2006 гг в соответствии с общими планами научно-исследовательских работ института по теме 14.1. «Физико-химические исследования химической связи, структурных и термодинамических свойств веществ и материалов, в том числе в ходе их превращений».

Цель работы. Целью данной работы явилось создание метода изучения в трех измерениях с разрешением в единицы нанометров текстуры объектов материаловедения. В качестве такого метода предложен метод ЭТ в режиме НАСДФ.

Научная новизна работы.

Впервые показана принципиальная возможность использования режима наблюдения НАСДФ для съемки угловых серий объектов материаловедения и томографической реконструкции их текстуры. Разработаны и реализованы алгоритмы автоматического выравнивания

угловых серий и оптимизации параметров оси вращения методом пространственной оптимизации

Впервые определены подходы к расчету относительной ошибки томографической реконструкции, выполненной по электронно-микроскопическим данным.

Впервые методом НАСДФ-томографии проведено исследование трехмерной текстуры гетерогенных катализаторов: нанесенного на углеродную подложку (сибунит) платинового катализатора и медно-никелевого катализатора синтеза волокнистого углерода.

Для платинового катализатора показано, что частицы активного компонента (платины) располагаются как на внешней, так и на внутренней поверхности глобул носителя и являются доступными для реагента. Оценен размер мезопор в сетках глобул.

В случае медно-никелевого катализатора реконструирован габитус частицы сплава, и пространственная форма синтезированного в результате каталитической реакции разложения метана углеродного волокна.

Практическая значимость работы. В рамках работы создана методика для изучения реальной текстуры объектов материаловедения в трех измерениях путем реконструкции функции плотности пропускания объекта в каждой точке трехмерного пространства по сериям изображений, полученным в режиме НАСДФ при различных значениях угла наклона образца по отношению к электронному пучку.

Данная методика применима к широкому кругу объектов различного химического состава и структуры: металлам, оксидам, композитным материалам. В диссертационной работе, в частности, она использована для исследования трехмерной текстуры носителя и активного компонента в

нанесенных катализаторах (металл на носителе) и определения габитуса нанокристаллитов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- экспериментальная методика использования режима наблюдения НАСДФ для съемки угловых серий объектов материаловедения и томографической реконструкции их текстуры;
- программная реализация алгоритмов автоматического выравнивания угловых серий и оптимизации параметров оси вращения (наклона и положения) методом пространственной оптимизации;
- реализация программы томографической реконструкции методом фильтрованных обратных проекций с итеративным уточнением;
- реализация программы расчета относительной ошибки томографической реконструкции;
- результаты томографического исследования нанесенного платинового и медно-никелевого катализаторов;

Личный вклад автора. Все результаты, приведенные в диссертации, получены автором. Автор принимал участие в изготовлении экспериментального оборудования, самостоятельно проводил все эксперименты и обрабатывал результаты. Автор разработал вспомогательные алгоритмы и программы для томографической реконструкции и выравнивания угловых серий и оптимизации параметров оси вращения. Автором были подготовлены к публикации статьи и тезисы конференций.

Апробация работы. Материалы работы докладывались на международной конференции по электронной микроскопии (Microscopy Conference 2005 Davos, Switzerland), на 8-м Международном симпозиуме «Порядок, беспорядок и свойства оксидов» (ODPO-2005, Сочи), на второй

международной школе-конференции молодых ученых по катализу (Новосибирск 2005).

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 2-х статьях и 3-х тезисах докладов на отечественных и зарубежных конференциях. На созданные в рамках диссертационной работы томографический держатель и сетки поданы заявки на изобретение и на патент. Также, автор является соавтором в 4-х статьях и 12 тезисах конференций.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Объем диссертации составляет 113 страниц, включает 44 рисунка и 2 таблицы. Библиография содержит 60 наименований.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором рассматриваются примеры применения метода ЭТ в биологии и материаловедении. В этой же главе описываются используемые специализированные для ЭТ режимы съемки и методы выравнивания и реконструкции угловых серий.

Во второй главе рассматриваются теоретические аспекты томографии вообще и электронной томографии в частности, включая томографическую реконструкцию, выравнивание угловых серий, а также режимы регистрации изображений, пригодные для томографических исследований.

В третьей главе описаны методические разработки, выполненные в рамках данной диссертационной работы.

В четвертой главе приведены экспериментальные результаты применения метода ЭТ в светлом поле и в режиме НАСДФ для исследования эталона (мезопористого алюмосиликата) и нанесенных гетерогенных катализаторов.

Глава 1. Обзор методов съемки, выравнивания и томографической реконструкции угловых серий ЭМ изображений объектов материаловедения.

Необходимость получения информации об объекте более высокой размерности, чем исходные экспериментальные данные, важна во многих областях науки и в медицине. Впервые это было осуществлено в астрономии, когда Bracewell [1] предложил метод восстановления двумерной карты микроволнового излучения солнца с использованием одномерных профилей, заснятых радиотелескопом. В указанной работе сформулирована математическая постановка задачи о реконструкции из проекций и приведен ряд важных соотношений. Как это не удивительно, несмотря на огромный потенциал этой работы, она не произвела должного эффекта за пределами своего непосредственного приложения. Тем не менее, в 1963 году интерес к томографической реконструкции вновь возник в связи с возможностью применения в медицине [2]. Сразу после этого был разработан рентгеновский томографический сканер [3]. Феноменальный успех этой методики был отмечен Нобелевской премией (Cormack and Hounsfield, 1979) и на сегодняшний день она является самым известным приложением томографической реконструкции. Такой успех повлек за собой разработку и других методов анализа в медицине, таких как томография эмиссии позитронов, ультразвуковая томография и томография ЯМР. Также томография стала применяться и во многих других дисциплинах, например, для анализа напряжений в материалах, в геофизических исследованиях и методах неразрушающего тестирования.

Интерес к томографической реконструкции по электронным микрографиям берет свое начало с трех пионерских работ, опубликованных в

1968 году [4-6]. Первыми были de Rosier и Klug [4], определившие трехмерную структуру биологической макромолекулы, чья спиральная симметрия позволила провести полную реконструкцию, опираясь только на одну проекцию. Методы восстановления, использовавшиеся в этой работе, были естественным развитием методов, разработанных для анализа атомной структуры в рентгеновской кристаллографии [7]. Несмотря на то, что симметрия объекта исследования являлась необходимым условием возможности восстановления его трехмерной структуры, в работе Норре [5] было показано, что при достаточном количестве проекций реконструкция может быть осуществлена даже для полностью асимметричных систем. В работе Hart [6] продемонстрирован метод улучшения контраста светлопольных (BF) изображений с использованием «усредненного» изображения, известный как *политропный монтаж*, рассчитываемый из серий изображений, полученных под различными углами. Хотя основным применением этого метода было улучшение слабого контраста биологических образцов, автор указывал на получаемую при этом трехмерную информацию, однако попытки расширения метода до полной трехмерной реконструкции предпринято не было. За этими ранними работами последовали работы теоретического характера, в которых обсуждались теоретические ограничения метода Фурье [8] и методы восстановления в прямом пространстве [9-10].

В то время как теория развивалась очень быстро, экспериментальных результатов было немного, что объясняется наличием важных ограничивающих факторов, таких как деградация образца под электронным пучком, низкая точность определения угла наклона образца по отношению к пучку и недостаток вычислительных мощностей, необходимых для обработки изображений и реконструкции. В настоящее время последние два фактора уже не являются препятствием для исследователей, однако деградация образца под пучком электронов по-прежнему ограничивает

применимость электронной томографии в биологии. Частично эту проблему удается решить, охлаждая образец до температуры жидкого гелия и используя высокое ускоряющее напряжение. В последнем случае снижается время взаимодействия пучка с образцом, а значит, и степень радиационного повреждения образца. Несмотря на все сложности, в настоящее время в ЭТ биологических объектов удается получить реконструкцию отдельных объектов в объеме $150 \times 150 \times 150$ нм³ с разрешением в 2 нм [11].

Способность современных высокоразрешающих электронных микроскопов получать изображения с разрешением, близким к атомному, привело к значительному прогрессу во многих областях биологических и физико-химических исследований. Однако большинство получаемых изображений представляет собой двумерную сумму трехмерной структуры по толщине. Конечно же, в ПЭМ образец должен быть достаточно тонким, а значит, эта сумма будет получена через относительно тонкий слой трехмерной структуры. Последнее обстоятельство во многих случаях позволяет считать третье измерение постоянным и интерпретировать изображения соответствующим образом. В тех случаях, когда это третье измерение существенно, например, на изображениях дислокаций, для того, чтобы дать некое представление о пространственной структуре, используются стереопары, однако, в реальности этот метод дает лишь очень немного трехмерной информации.

В биологии уже несколько десятилетий назад была осознана необходимость получения действительно трехмерных изображений. Биологические объекты, такие как вирусы или макромолекулярные ансамбли, необходимо определять во всех трех измерениях, поскольку топология таких комплексов во многом определяет их физические и химические свойства. Электронная томография является тем средством, с помощью которого трехмерная форма может быть восстановлена из серий

изображений, полученных под различными углами наклона образца к электронному пучку.

Задачей структурной биологии является выяснение трехмерной структуры индивидуальных белков и связи этой структуры с их функцией в живой клетке. Лишь недавно было осознано, что подавляющее большинство белков в клетке организованы в клеточные машины, представляющие собой комплексы из нескольких десятков молекул. Взаимная организация белков в таких машинах оптимизирует их взаимодействие таким образом, чтобы выполнять их физиологическую функцию наиболее эффективно. Задачей структурной биологии сегодня становится выяснение строения таких макроансамблей белковых молекул.

В отличие от самих белков, строение которых достаточно жестко задано, строение их функциональных комплексов не является строго постоянным. Как правило, сохраняется общая архитектура комплекса, при этом некоторые конкретные белки могут отсутствовать. Это означает, в частности, что если мы хотим изучать белковые комплексы в естественной для них среде – в клетке, мы не должны опираться на методы, основанные на усреднении. Тем не менее, все спектроскопические, дифракционные методы, а также методы анализа отдельных частиц в методе низкотемпературной ПЭМ основаны на усреднении по большому количеству одинаковых частиц [12]. Однако, многие, если не все, наиболее значимые и интересные клеточные машины являются либо очень редкими, либо слишком хрупкими, чтобы быть выделенными и очищенными биохимическими методами. Кроме того, функционируют они только в условиях, специфичных для живой клетки. Электронная томография является в настоящее время единственным методом получения трехмерной информации о строении таких деликатных и в то же время биологически важных белковых комплексов.

Так, например, в работе [13] методом ЭТ исследовалась топология мембранны митохондрии коричневой жировой ткани. Эти митохондрии содержат разобщающий белок, что приводит к преобразованию энергии электронного транспорта в тепло. Трехмерные реконструкции этих митохондрий позволили изучить их внутренние мембранны, в результате чего были обнаружены новые важные особенности, ранее в литературе не описанные.

Традиционно для исследования новых материалов при реконструкции относительно больших трехмерных объектов используется рентгеновская томография [14]. Однако, вследствие относительно большой длины волны рентгеновских лучей а также низкого качества линз в этом методе не удается получить разрешение лучше двух микрометров. С другого конца шкалы разрешений в течение последнего десятилетия был разработан метод «atom probe field ion microscope» (APFIM), позволяющий достичь по настоящему атомного разрешения в трех измерениях [15]. Тем не менее, этим методом невозможно исследовать образец размером несколько сотен нанометров, поскольку типичное число атомов в таких объемах вещества составляет $\sim 10^7$ штук, что приводит к несоразмерно большим затратам времени на проведение эксперимента.

Таким образом, существует необходимость в другом методе исследования трехмерной текстуры веществ, который позволил бы заполнить обозначенную выше брешь в шкале разрешений. Эта необходимость вызвана прогрессом нанотехнологий в физических науках и в материаловедении в частности. Поскольку элементы структуры, разработанные для новых устройств, становятся все меньше, и поперечный размер этих элементов приближается к их продольным размерам, насущной необходимостью становится изучение таких материалов в трех измерениях с тем, чтобы получить полное представление об устройстве. Обозначенная проблема

начинает приобретать все большее значение в микроэлектронике, где трехмерная форма профиля присадки является критичной для качества полупроводника [56].

Трехмерный анализ приобретает актуальность не только при изучении функциональных материалов, но также и при изучении структурных и инженерных материалов. Приготовление тепло- и механически прочных суперсплавов часто требует оптимизации микротекстуры во всех трех измерениях, возможно, с трехмерным распределением твердого материала внутри более пластичной матрицы. Также были разработаны гетерогенные катализаторы [16], в которых активные частицы распределены в трех измерения на поверхности, либо внутри текстуры носителя [17].

1.1 Режимы съемки ЭТ

Существует несколько режимов съемки, с теми или иными ограничениями пригодных для проведения томографической реконструкции. Это режим светлого поля в ПЭМ и различные вариации спектроскопических методов и методов Z-контраста.

1.1.1 Томография в режиме светлого поля

Режим светлого поля находит лишь очень ограниченное применение в ЭТ исследованиях объектов материаловедения, вследствие сильных дифракционных эффектов, возникающих как результат отсечения диафрагмой дифрагировавших на кристаллической решетке пучков (см. рис. 1).

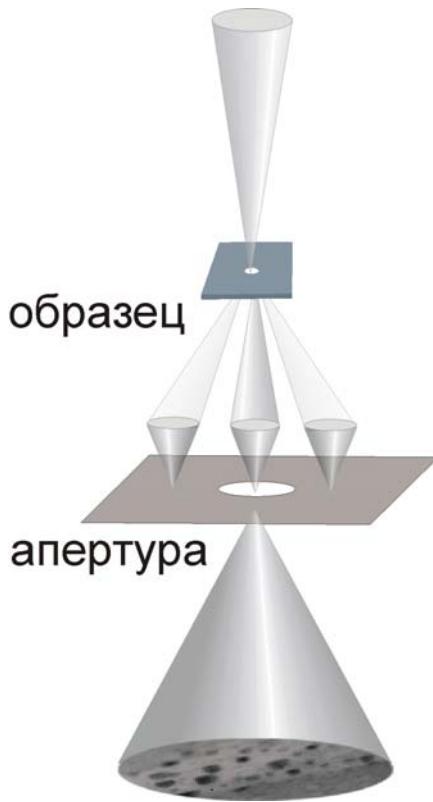


Рисунок 1. Схема режима наблюдения «светлое поле». Дифракционные пучки отсекаются диафрагмой.

Тем не менее, этот режим является наиболее простым и легко доступным, поэтому первые работы, в которых метод ЭТ применялся для исследования объектов материаловедения, использовали режим светлого поля. Это обстоятельство обусловило и выбор авторами ранних работ объектов исследования. Главным образом, это различные цеолиты с нанесенными металлическими частицами высокой дисперсности.

Так, например, в работе [18] метод ЭТ в режиме светлого поля *впервые* применялся для исследования объекта материаловедения. Таким объектом являлся нанесенный катализатор Ag/цеолит NaY. В работе исследовалось распределение частиц серебра размером 10-40 нм по поверхности кристалла цеолита NaY. Также по данным томографических срезов было установлено, что после кислотной обработки в цеолите образуется система мезопор диаметром от 3 до 20 нм.

В работе [19] метод ЭТ в режиме светлого поля применялся для исследования пространственного распределения частиц золота и циркония на поверхности и в порах цеолита SBA-15. Размер частиц золота и циркония составлял 5 нм и 2-3 нм соответственно. Было установлено, что распределение металлических частиц по порам цеолита является существенно неоднородным, что хорошо согласуется с данными адсорбции азота.

1.1.2 Спектроскопическая томография

В работе [20] продемонстрировано, что методы элементного анализа в ПЭМ – EFTEM и EDX могут быть использованы для томографической реконструкции пространственных распределений химических элементов в наномасштабах. Неупругое рассеяние электронов обуславливает не только чувствительность к номеру химического элемента, но также и улучшает монотонность зависимости интенсивности изображения от распределения массы и плотности в образце, которая часто не соблюдается в светлопольной ПЭМ кристаллических материалов вследствие наличия дифракционного контраста. Также в цитируемой работе были оценены инструментальные погрешности и источники ошибок в механизмах формирования контраста и при вычислении реконструкции.

Спектроскопическая ЭТ, в том виде, в котором она предлагается в работе [20], использует лишь взаимодействия, приводящие к неупрочному рассеянию электронов, что позволяет получать сигнал, пропорциональный локальной концентрации только одного химического элемента. Для этой цели могут быть использованы три метода аналитической ПЭМ, дающие возможность двумерного картирования:

- (a) электронно-спектроскопические изображения, как часть EFTEM [21];
- (b) STEM-EDX-картирование;

(c) STEM-EELS спектральное картирование.

Кроме преимуществ химической селективности, в спектроскопической томографии также почти полностью исключаются изменение средней освещенности в зависимости от угла наклона образца по отношению к пучку, искривление профиля, дислокационный контраст, контраст межзеренных границ в поликристаллах и другие артефакты. Последняя особенность делает этот метод очень перспективным для изучения сложных небиологических объектов.

Характеризация наноматериалов с помощью аналитической ПЭМ с использованием одной двумерного снимка, как правило, недостаточна, поскольку химический состав зачастую испытывает изменения в направлении, ортогональном по отношению к плоскости проекции. Исключениями являются случаи наличия особой симметрии, как в многослойных тонких пленках. Полезные свойства как структурных, так и функциональных наноматериалов зачастую определяются их пространственной организацией. Спектроскопическая электронная томография является многообещающим методом для изучения этой текстуры, поскольку достигает уровня разрешения недостижимого никакими другими методами пространственной спектроскопии, такими, как рентгеновская томография, SIMS или микротомирование.

1.1.2.1 Пространственное картирование с помощью STEM-EDX

Для материалов неизвестного состава EDX картирование сканированием пучка по двумерной области предоставляет быстрое и достаточно надежное представление об имеющихся в образце элементах и их пространственном распределении. Конечно же, артефакты, известные в двумерном EDX картировании, проявляются и в пространственном картировании, подчас, даже в большей степени. Если следовать

общепринятым рекомендациям об оптимальной геометрии образца и его наклона по отношению к EDX детектору, EDX томография не может быть осуществлена. Тем не менее, требования к проведению высокоточного двумерного и трехмерного химического EDX-картирования отличаются настолько, что в последнем случае можно использовать большое число допущений, невыполняющихся в первом случае. В EDX томографии, в отличие от случая EFTEM, величина угла наклона еще более ограничена. К условию незаслонения электронного пучка добавляется также требование доступности EDX детектора под углом $\sim 70^\circ$ к пучку [20].

1.1.2.2 STEM HAADF томография

Электроны, рассеянные под малыми углами, имеют преимущественно когерентную природу, вследствие чего обычные светло- и темно-польные изображения склонны к изменениям контраста при изменениях толщины, ориентации образца или дефокусировке. Подобного недостатка лишен метод High-Angle Annular Dark Field (HAADF) STEM, поскольку электроны, рассеянные на большие углы, преимущественно некогерентны [22]. Изображение в этом режиме формируется электронами, рассеянными на углы ~ 70 мрад (см. рис. 2).



Рис. 2. Схема режима наблюдения STEM HAADF.

Большие углы рассеяния электронов соответствуют рассеянию на ядре атома, что, согласно формуле Резерфорда, приводит к зависимости интенсивности рассеяния, пропорциональной квадрату атомного номера $\sim Z^2$. Поэтому изображения STEM, полученные с детектором HAADF, очень чувствительны к изменению состава образца, при этом интенсивность на этих изображениях изменяется монотонно в зависимости от толщины образца, что позволяет рассматривать эти изображения как проекции структуры. Среднее разрешение метода составляет около 1 нм, однако, в принципе, возможно получение трехмерных изображений с атомным разрешением.

В работе [17] методика HAADF была применена для изучения распределения наночастиц на пористом носителе. Образец представлял собой гетерогенный катализатор, состоящий из кластеров Pd_6Ru_6 диаметром около 1 нм, нанесенных на мезопористую кремниевую подложку (MCM-41), поры которой представляют собой правильные шестиугольники с диаметром 3 нм.

Очень важно знать пространственное распределение металлических частиц и их расположение на стенках пор. Эти знания дают ключ к пониманию факторов, определяющих активность и селективность таких катализаторов, их эволюцию в течение реакции как возможный результат агломерации [23].

1.1.2.3 Томография в режиме кольцевого темного поля ADF-TEM

В работе [24] был предложен альтернативный метод регистрации изображений, неподверженных влиянию дифракционного контраста, в обычном ПЭМ – Annular Dark Field TEM (ADF TEM). Суть метода состоит в использовании диафрагмы специальной формы: центральный пучок перекрывается непрозрачным диском, а изображение формируется электронами, рассеянными на углы от 20 до 40 мрад, прошедшими через кольцевое отверстие в диафрагме. Недостаток метода ADF TEM – низкое разрешение, вызванное сферическими aberrациями магнитных линз. Для повышения разрешения авторы работы предложили использовать корректор сферических aberrаций (C_s -корректор). Однако использование C_s -корректора сразу переводит метод ADF TEM в разряд очень дорогих методов, таких как STEM HAADF и EFTEM, поскольку в дополнение к не очень дешевому C_s -корректору необходимо использовать также и эмиссионный катод (FEG).

1.1.2.4 Метод аксиального темного поля HACDF

В работе [25] был предложен метод наблюдения наноразмерных включений с атомными номерами, большими, чем окружающая кристаллическая матрица, в обычном приборе ПЭМ. Метод получил название High Angle Centered Dark Field (HACDF). Принципиальная схема реализации этого режима в обычном просвечивающем приборе ПЭМ приведена на рис. 3. Этот метод также дает изображения, свободные от

дифракционного контраста. Отличие этого метода от ADF TEM в том, что для выделения рассеянных на большие углы (около 70 мрад) электронов используется обычная диафрагма, установленная строго по оптической оси, а большой угол рассеяния достигается наклоном самого пучка. Сферических aberrаций при этом нет, поэтому потери разрешения не происходит. Достигнутое авторами разрешение метода HACDF составляет 1 нм. Как и прочие перечисленные методы получения изображений, удовлетворяющих приближению проекции, метод HACDF обладает чувствительностью к атомному номеру. Существенное отличие этого метода от всех остальных заключается в том, что для его реализации достаточно обычного прибора TEM, что делает метод HACDF доступным широкому кругу исследователей, не имеющих доступа к дорогостоящим приборам STEM HAADF, EFTEM, или ADF TEM с C_S -корректором и эмиссионным катодом.

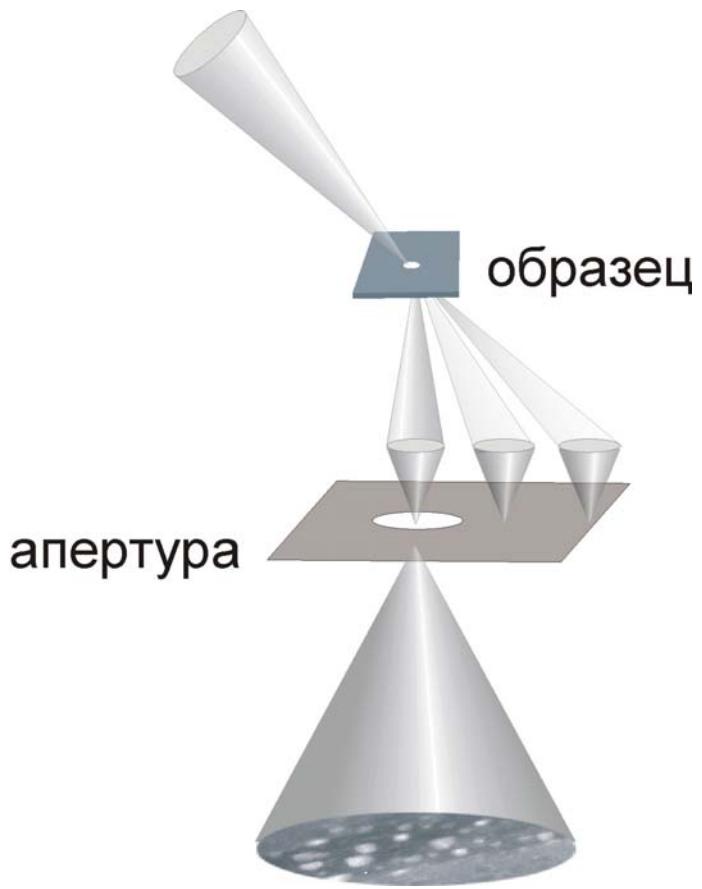


Рисунок 3. Схема реализации метода аксиального темного поля (HACDF) в обычном приборе ПЭМ.

1.2 Методы выравнивания угловых серий

Перед проведением томографической реконструкции снимки в угловой серии должны быть выровнены. Качество реконструкции очень сильно зависит от качества выравнивания снимков. По этой причине основной работой при обработке угловых серий с целью их томографической реконструкции является подбор и выполнение адекватных методов выравнивания.

1.2.1 Кросс-корреляция

Метод кросс-корреляции [26] применяется для грубого выравнивания снимков. Все методы точного выравнивания полагаются на этот метод для

своей работы, поскольку предполагают уже достаточно хорошо выровненную серию.

1.2.2 Метод маркеров

Для точного выравнивания угловых серий биологических объектов стандартом «де-факто» считается метод маркеров [27]. Метод состоит в построении пространственной модели движения маркеров, представляющих собой нанесенные на поддерживающую образец пленку золотые частицы с узким распределением по размерам. При этом перемещение частиц отслеживается от снимка к снимку, либо автоматически, либо вручную. Часто первичная обработка проводится автоматически, а затем ошибки этой обработки исправляются оператором вручную. Пример применения этого метода можно найти в любой работе, где метод электронной томографии применяется для исследования биологических объектов, например в обсуждавшейся уже нами работе [28].

1.2.3 Выравнивание без маркеров

В работе [29] предложен метод выравнивания угловых серий без использования маркеров. Как и в методе маркеров, здесь строится полная пространственная модель движения образца, а в качестве точек, по движению которых эта модель строится, используются хорошо различимые особенности образца, такие, как углы, мелкие частицы, и т.д. Выделение и отслеживание этих точек происходит автоматически. На модельных объектах этот метод работает столь же хорошо, сколь и метод маркеров. На реальных образцах метод маркеров дает, как правило, более точные результаты. К сожалению, не существует опубликованного описания этого метода, достаточного для построения соответствующего алгоритма.

1.2.4 Определение направления и положения оси вращения

Параметры оси вращения в методе маркеров определяются автоматически по построенной пространственной модели движения. Если же метод маркеров недоступен, что является правилом в случае исследования объектов материаловедения, необходимо применение специальных методик.

В работе [17] приведена оригинальная методика определения направления оси вращения, ставшая стандартом «де-факто». В этом методе для определения направления оси вращения применяется суммирование всех выровненных проекций. На получившемся таким образом изображении получаются полосы, направление которых ортогонально направлению оси, поскольку детали объекта на выровненных снимках перемещаются ортогонально оси. Для более точного определения положения оси вращения иногда применяется Фурье преобразование суммированного изображения. В этом случае на Фурье-образе видна линия, направление которой совпадает с направлением оси вращения.

Определение положения оси вращения в случае, когда метод маркеров недоступен, выполняется методом проб и ошибок по дуговым артефактам на небольших участках томограмм, реконструируемых специально с этой целью. По настоящее время задача построения алгоритма автоматического определения положения оси вращения остается нерешенной.

Глава 2. Теоретические основы электронной томографии

В этом разделе рассматриваются теоретические аспекты томографии вообще и электронной томографии в частности, включая томографическую реконструкцию, выравнивание угловых серий, а также режимы регистрации изображений, пригодные для томографических исследований.

2.1 Преобразование Радона

Хотя практическую формулировку томографии впервые дал Bracewell в 1956 году [1], математическая основа, стоящая за этим методом была впервые сформулирована Радоном (Radon) в 1917 году [30]. В этой работе было определено так называемое преобразование Радона – R , сопоставляющее каждой функции $f(x, y)$, описывающей объект в реальном пространстве, проекцию, или интеграл от функции f вдоль всех возможных линий L :

$$Rf = \int_L f(x, y) ds, \text{ где } ds \text{ – элемент длины.} \quad (1)$$

Геометрическая интерпретация этого преобразования приведена на рис. 4. Взятие интеграла вдоль конкретной линии в преобразовании Радона геометрически эквивалентно измерению характеристик экспериментального объекта путем пропускания через него какого-либо сигнала, то есть эквивалентно проекции объекта. Следствием этого является тот факт, что реконструкция исходной структуры объекта, – функции $f(x, y)$, из проекций Rf может быть осуществлена с помощью обратного преобразования Радона. Все традиционные алгоритмы реконструкции являются различной степени точности аппроксимациями этого обратного преобразования.

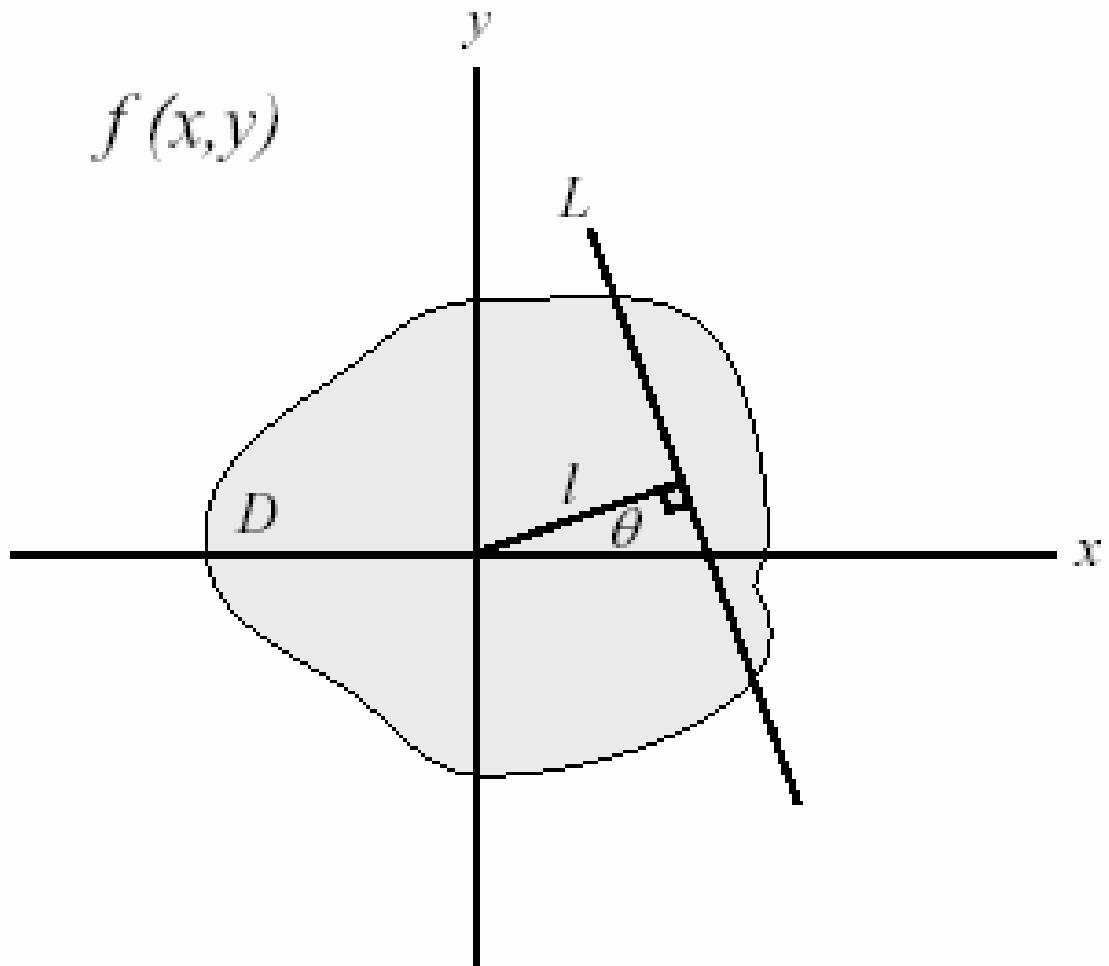


Рисунок 4. Преобразование Радона R может быть представлено как интеграл в реальном пространстве через тело D , описываемое функцией $f(x, y)$, вдоль всех возможных линий L .

Преобразование Радона преобразует данные, определенные в реальном пространстве (x, y) , в пространство Радона (l, θ) , где l есть длина линии, ортогональной направлению проекции, а θ есть угол проекции (см. рис. 5). Точка в реальном пространстве $(x = r \cos \phi, y = r \sin \phi)$ является линией в пространстве Радона (l, θ) так, что имеет место соотношение:

$$l = r \cos(\theta - \phi) \tag{2}$$

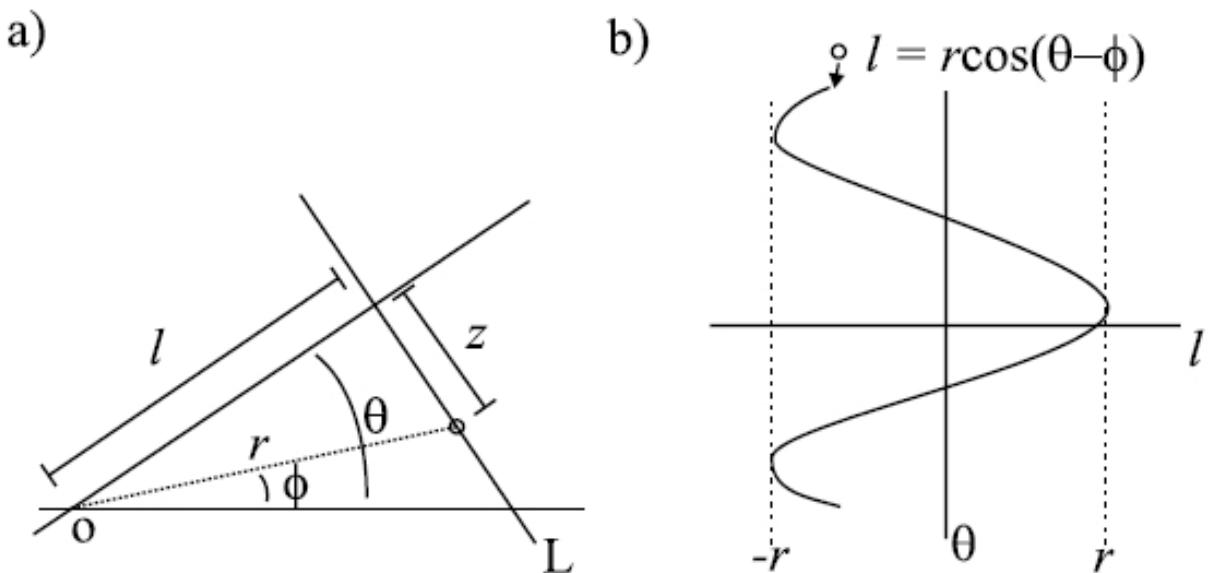


Рис. 5. Соотношение между реальным пространством (а) и пространством Радона (б).

Конкретная проекция объекта, интеграл Радона вдоль одной линии, является линией постоянного θ в пространстве Радона. Серии проекций, полученных под разными углами, дают выборку данных в пространстве Радона. При достаточном количестве проекций обратное преобразование Радона должно дать исходный объект. Очевидно, что любой набор экспериментальных данных (l, θ) будет дискретным, а стало быть, реконструкция будет несовершенной. Проблема реконструкции заключается, таким образом, в построении наилучшей реконструкции объекта по ограниченному набору экспериментальных данных.

2.2 Теорема «центрального среза» и восстановление в Фурье-пространстве

На практике реконструкцию из проекций можно осуществить, используя связь между проекцией в реальном пространстве и пространством Фурье. Теорема центрального (или проекционного) среза утверждает, что Фурье-преобразование проекции на данный угол является центральным

сечением через Фурье-образ объекта, выполненный под тем же углом (см. рис. 6).

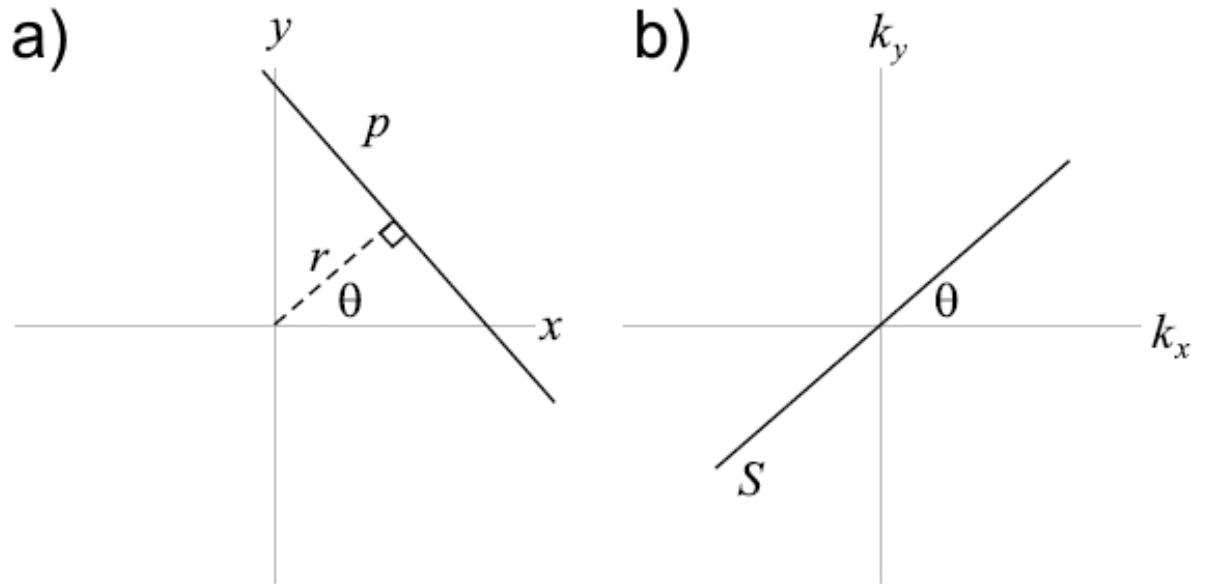


Рис. 6. Проекция в реальном пространстве – p , выполненная под углом θ , соответствует (через одномерное преобразование Фурье) срезу S через центр объекта в пространстве Фурье под тем же углом θ .

На рисунке 7 приведена схема соотношений между преобразованиями Радона и Фурье. Полное описание этих соотношений приведено в работе [31].

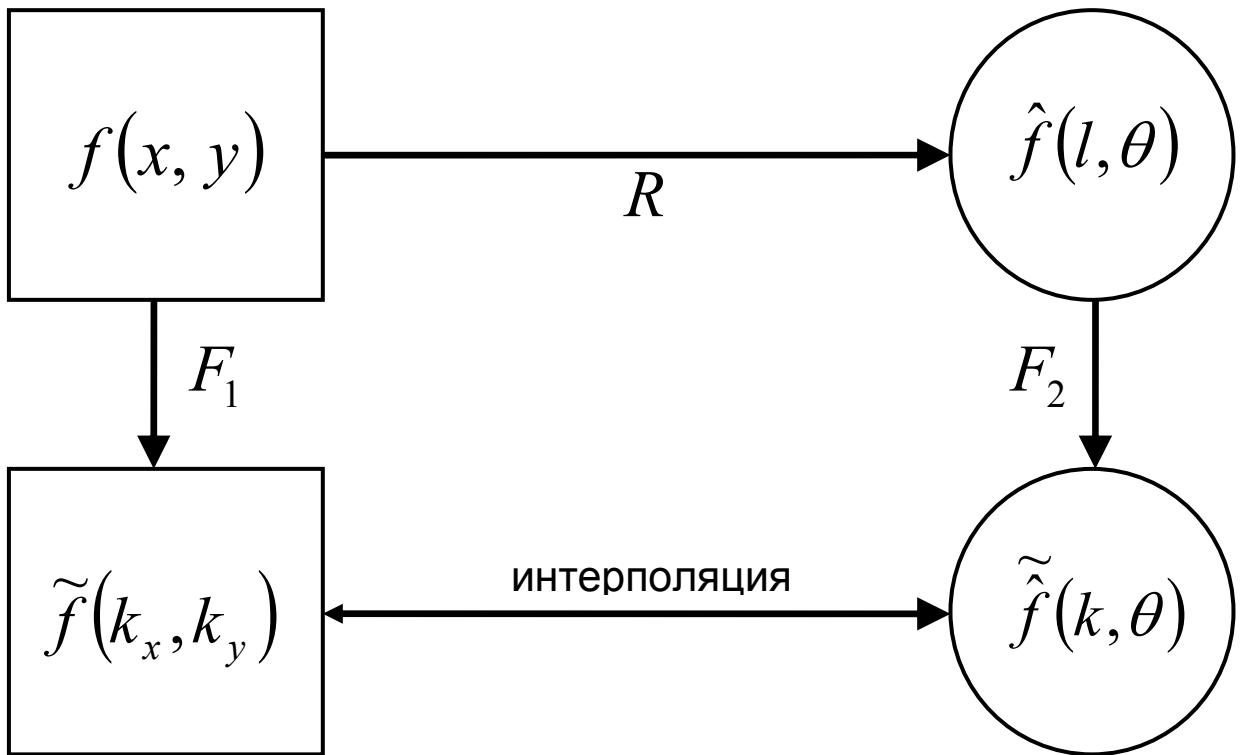


Рис. 7. Соотношение между преобразованием Радона (R) и преобразованием Фурье (теорема центрального среза). F_1 и F_2 означает одномерное и двумерное преобразование Фурье соответственно.

Таким образом, если получена серия проекций при различных углах наклона, каждая проекция будет представлять собой часть Фурье-образа объекта, а все вместе – выборку по всему диапазону частот в центральном сечении. Форма большинства объектов может быть лишь частично описана частотами в одном сечении, однако, используя множество проекций при различных углах, можно получить множество сечений в Фурье пространстве, что, в свою очередь, позволит более полно описать структуру объекта в реальном пространстве. В принципе, достаточно большое число проекций, полученных во всем диапазоне углов, позволяет полностью описать объект.

Из вышесказанного следует, что томографическая реконструкция может быть осуществлена путем обратного преобразования Фурье от суперпозиции множества проекций, подверженных прямому Фурье преобразованию. Такой подход, известный как метод прямой Фурье

реконструкции [32], использовался для первой томографической реконструкции по электронным микрографиям [31]. Эта теория дает простое и логичное описание влияния недостатков в исходной выборке данных. Если недостает проекций в каком-то диапазоне углов, например, вследствие ограничения максимального угла наклона, то в Фурье пространстве будет недоставать данных в соответствующих направлениях, и, как следствие, обратное преобразование будет ухудшено в направлении недостатка информации.

К сожалению, практическая реализация метода прямой Фурье реконструкции не есть простое обратное преобразование. Экспериментальные данные всегда представляют собой выборку с конечным шагом по углам ($1\text{--}2^\circ$), оставляя регулярные пробелы в Фурье пространстве. Поскольку для обратного преобразования необходима непрерывная функция, для заполнения этих промежутков приходится применять радиальную интерполяцию [7]. Часто, на качество реконструкции сильно влияет тип применяемой интерполяции [33]. Несмотря на свою элегантность, метод прямой Фурье реконструкции требует больших вычислительных затрат, сложен в реализации, а также очень чувствителен к шумам в исходных изображениях, поэтому в настоящее время для томографической реконструкции применяются различные модификации метода обратной проекции в реальном пространстве, который лишен указанных недостатков.

2.3 Теоретические ограничения разрешения

Вопрос об ограничениях разрешения в методе электронной томографии не является простым. В литературе существует теоретическая оценка разрешения, однако многие исследователи, занимающиеся экспериментальными электронно-томографическими исследованиями, отмечают, что реально достигаемое ими разрешение существенно выше

теоретического. Предполагается, что это связано с высокой степенью «вырожденности», характерной для реальных объектов исследования. Имеется ввиду то обстоятельство, что, в отличие от теоретических объектов, для реконструкции которых необходимы знания обо всех точках объекта, реальные объекты состоят из достаточно крупных однородных областей, для описания которых достаточно существенно меньшего объема информации. Вообще, было бы полезно и интересно развить теорию разрешения томографических методов на основе теории информации, однако до сих пор этого сделано не было. В этом разделе приведены формулы для оценки теоретического разрешения метода электронной томографии. Следует помнить, что реально достигаемое разрешение в эксперименте в 1.5-2 раза выше рассчитанного по приведенным здесь формулам.

На рис. 8 приведено схематическое изображение ЭТ эксперимента. Расположенная в центре рисунка глобула с нанесенной частицей катализатора на внешней поверхности освещается сверху электронным пучком (в направлении, противоположном направлению оси Y). Вращение держателя образца осуществляется вдоль оси Z. α – максимальный угол наклона образца.

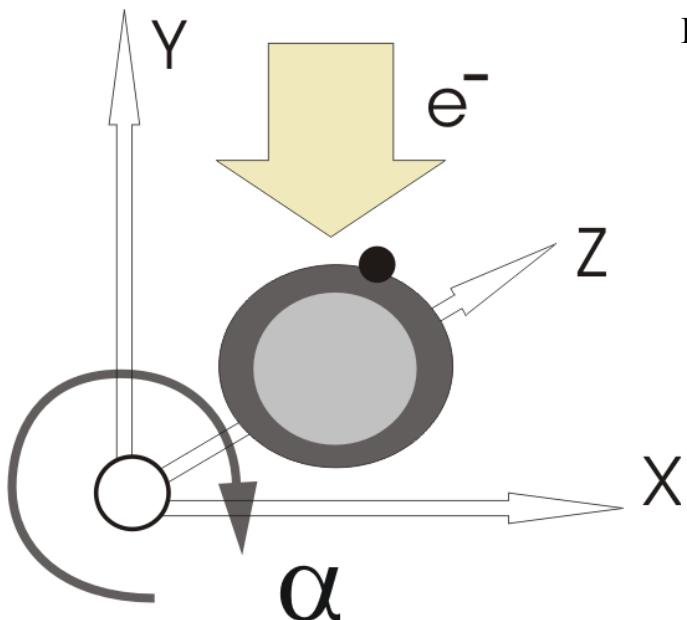


Рис. 8. Схема ЭТ эксперимента.

Разрешение метода ЭТ не изотропно. Разрешение по оси **Z** (см. рис. 8) d_z эквивалентно разрешению на исходных электронно-микроскопических снимках. Максимально достижимое теоретическое разрешение по оси **X** [7]:

$$d_x = \frac{2\pi D}{N}, \text{ где } D - \text{размер исследуемой области, а } N - \text{число ЭМ снимков в угловой серии.} \quad (3)$$

Эта формула рассчитана для случая равномерного покрытия данными всего углового диапазона в $\pm 90^\circ$, однако, как правило, удается получать снимки в диапазонах $\pm 60 - \pm 80^\circ$, поэтому реальное разрешение должно быть меньше. В настоящей работе размер исследуемой области (D) составлял около 100 нм, а ЭМ снимки регистрировались в угловом диапазоне $\pm 72^\circ$ с шагом в 1° . Таким образом, максимально достижимое разрешение по оси **X**, оцененное по формуле (3), должно быть около 2 нм. Многие исследователи, например [17], отмечают, что разрешение, оцененное по формуле (3), занижено, реально получаемое разрешение существенно выше. Настоящая работа не стала исключением, разрешение d_x на построенных нами томограммах составляет около 1 нм.

Теоретическое разрешение вдоль оси **Y** дается формулой:

$$d_y = d_x e_{xy}, \text{ где } e_{xy} - \text{фактор растяжения.} \quad (4)$$

Фактор растяжения рассчитывается из соотношения [34-36]:

$$e_{xy} = \sqrt{\frac{\alpha + \sin \alpha \cdot \cos \alpha}{\alpha - \sin \alpha \cdot \cos \alpha}}, \text{ где } \alpha - \text{максимальный угол наклона образца.} \quad (5)$$

При углах $\alpha \approx 40^\circ$ и $\alpha \approx 72^\circ$ факторы растяжения, рассчитанные по формуле (5), $e_{xy} \approx 2.4$ и $e_{xy} \approx 1.27$ соответственно. Другими словами, если в первом случае разрешение по оси **Y** вдвое хуже разрешения по оси **X**, то во втором – потеря разрешения составляет лишь 27%. По этой причине, при съемке угловых серий очень важно добиться как можно более широкого углового диапазона.

2.4 Методы реконструкции изображений

В этом разделе описаны наиболее часто используемые методы электронно-томографической реконструкции, такие как метод фильтрованной обратной проекции, в том числе и с итеративным уточнением.

2.4.1 Метод взвешенной обратной проекции (FBPJ)

Теория обратной проекции опирается на простой факт: любая точка в пространстве может быть полностью описана любыми тремя «лучами», пропущенными через нее. Если сложность объекта наблюдения увеличивается, то необходимо больше «лучей», чтобы полностью его описать. В сущности, проекция объекта есть инверсия такого «луча» и описывает часть сложности исходного объекта. Это означает, что инвертирование проекции в пространство объекта под углом проекции воспроизводит «луч», уникально описывающий объект в направлении проекции – обратная проекция. При достаточном количестве проекций, полученных под различными углами, суперпозиция всех обратно спроецированных или отброшенных «лучей» вернет форму исходного объекта. Такая техника восстановления называется методом обратной проекции [6,8,37].

Обратную проекцию можно построить тем же методом, что и сами проекции: вращением пространства реконструкции на проекционные углы и суммированием проекций вдоль постоянной оси реконструкции. Однако этот метод имеет значительную погрешность. Значительно лучших результатов можно достичь, воспользовавшись математическим соотношением между пространством Радона и реальным пространством, о котором говорилось ранее. Проекции являются линиями в пространстве Радона (l, θ) , а значит, реконструкция должна восстановить объект в реальном пространстве (x, y) . Детальное описание алгоритмов восстановления при помощи этого метода приведено в книгах Deans [31] и Herman [37].

Несмотря на то, что оператор обратной проекции достаточно эффективен, получаемые с его помощью реконструкции смазаны, вследствие преобладания низких частот, при этом тонкие детали структуры восстанавливаются плохо. Эта проблема является следствием неравномерной выборки пространственных частот в наборе исходных проекций, как показано на рисунке 9. В двух измерениях каждая проекция представляется линией, проходящей через центр координат пространства Фурье. Полагая, что выборка в пространстве Фурье осуществляется равномерно в каждой проекции, видно, что плотность выборки при этом уменьшается от центра Фурье пространства к его периферии. Как результат, мы имеем недостаток высоких пространственных частот в выборке, или, что эквивалентно, избыток низких пространственных частот, что ведет к смазанной реконструкции.

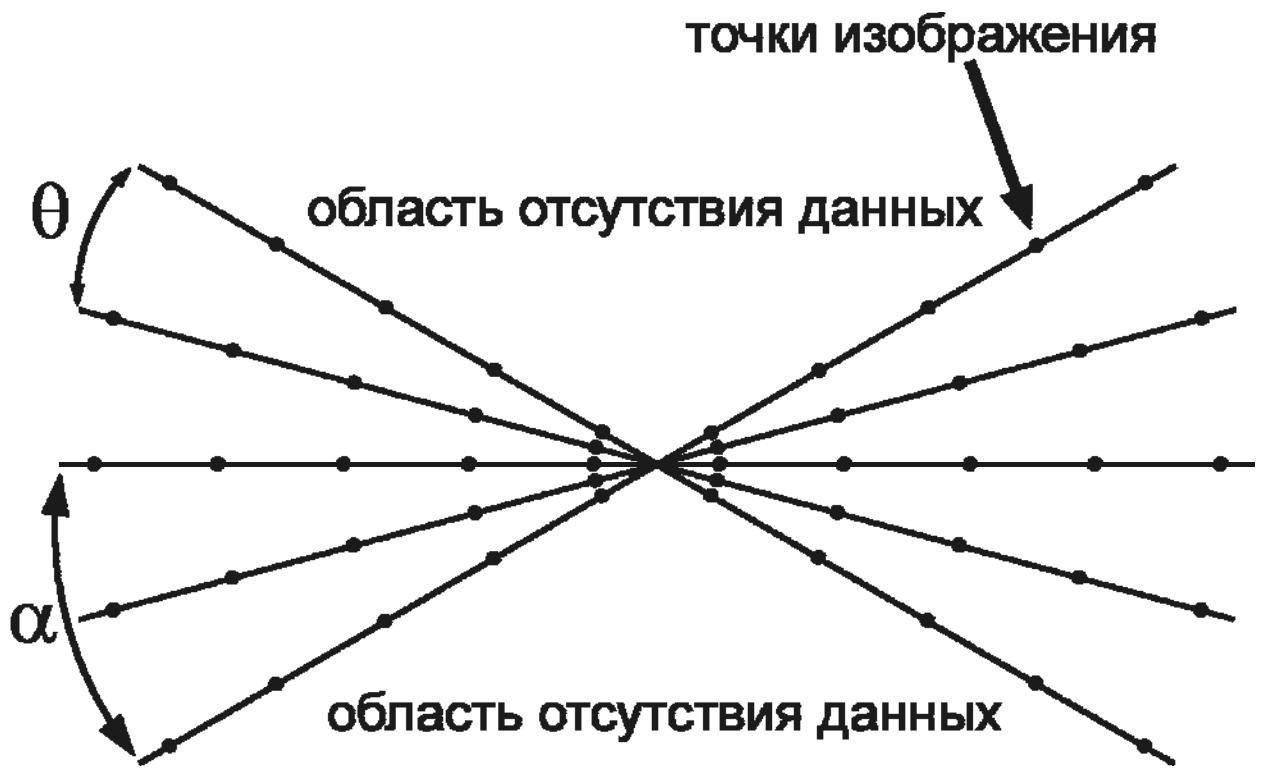


Рис. 9. Иллюстрация неравномерного заполнения пространства Фурье экспериментальными точками. Относительное превосходство точек при низких частотах приводит к смазанной реконструкции. Угловое приращение между проекциями θ , максимальный угол наклона α .

Поскольку неравномерность в плотности заполнения пространства Фурье экспериментальными точками напрямую зависит от положения в Фурье пространстве и от числа полученных проекций, относительно легко скорректировать это путем умножения на простой взвешивающий фильтр (линейная по радиусу функция в Фурье пространстве, равная нулю в центре и достигающая максимума на периферии). Результатом этого является более равномерное распределение экспериментальных точек в пространстве Фурье и, как следствие, более детальная реконструкция. Изложенный здесь метод восстановления называется методом взвешенной обратной проекции [8,38]. Поскольку его легко реализовать для больших объемов экспериментальных данных и использовать в необычных экспериментальных конфигурациях [39], в настоящее время этот метод наиболее широко используется в электронной томографии [11].

2.4.2 Метод взвешенной обратной проекции с итеративным уточнением (IFBPJ)

Реконструкция методом обратной проекции всегда несовершенна вследствие ограниченных экспериментальных данных. В дополнение к этому, качество реконструкции может еще более ухудшиться из-за малого числа проекций либо малого соотношения сигнал-шум. Тем не менее, каждая проекция является эталоном, т.е. может быть использована для улучшения качества реконструкции. Если полученную реконструкцию вновь спроектировать на те же углы, при которых были получены исходные проекции, эти вновь полученные проекции будут отличаться от исходных проекций. Разность между ними будет характеризовать несовершенство реконструкции из ограниченного набора данных. Проецируя эти разности обратно в пространство реконструкции, можно восстановить пространственную «разность», которую в дальнейшем можно использовать для улучшения качества исходной реконструкции. В дополнение, этот подход обеспечивает согласованность реконструкции с исходными проекциями. На практике применяется несколько итераций до достижения наилучшего решения [7,40,38,41]. Этот метод был разработан в 1970-х годах, с тех пор было осознано, что он является решением путем проекции на выпуклые множества (POCS) [42]. Улучшенные формы POCS в настоящее время широко используются для трехмерной реконструкции биологических макромолекул в крио-микроскопии [43]. Описанный здесь метод называется методом взвешенной обратной проекции с итеративным уточнением.

2.4.3 Строгое изложение теории метода обратной проекции

В этом разделе изложен более строгий подход к описанию методов реконструкции в прямом пространстве [45]. Изложение ведется для случая двумерного пространства изображений. Для перехода к трехмерному

пространству достаточно представить трехмерный объект серией тонких срезов ортогональных оси вращения. Далее, каждый такой срез может быть реконструирован независимо с использованием излагаемой в настоящем разделе теории для двумерного случая.

Для более строгого изложения методов реконструкции в прямом пространстве введем следующие обозначения:

$\hat{f}(\vec{r})$ – исходный объект в пространстве изображений, где \vec{r} – двумерный вектор (x, y);

$\underline{g}(R, \theta) \equiv \underline{g}_\theta(R)$ – «тень» объекта в пространстве «теней», смысл величин R и θ ясен из рисунка 10. На рисунках 4 и 5 величина R обозначалась как l , здесь вводится новое обозначение для сохранения соответствия с источником [45]. Под тенью здесь и далее подразумевается набор проекций объекта под всеми углами θ .

Введенные таким образом функции связаны «теневым» преобразованием S:

$$\underline{g}_\theta(R) = S\hat{f}(\vec{r}) \equiv \int_{L(R, \theta)} \hat{f}(\vec{r}) dl, \text{ где } dl \text{ – дифференциал дуги вдоль прямой } L(R, \theta), \quad (6)$$

Луч, вдоль которого осуществляется интегрирование, определяется соотношением:

$$L(R, \theta) = \{(x, y) : x \cdot \cos \theta + y \cdot \sin \theta = R\} \quad (7)$$

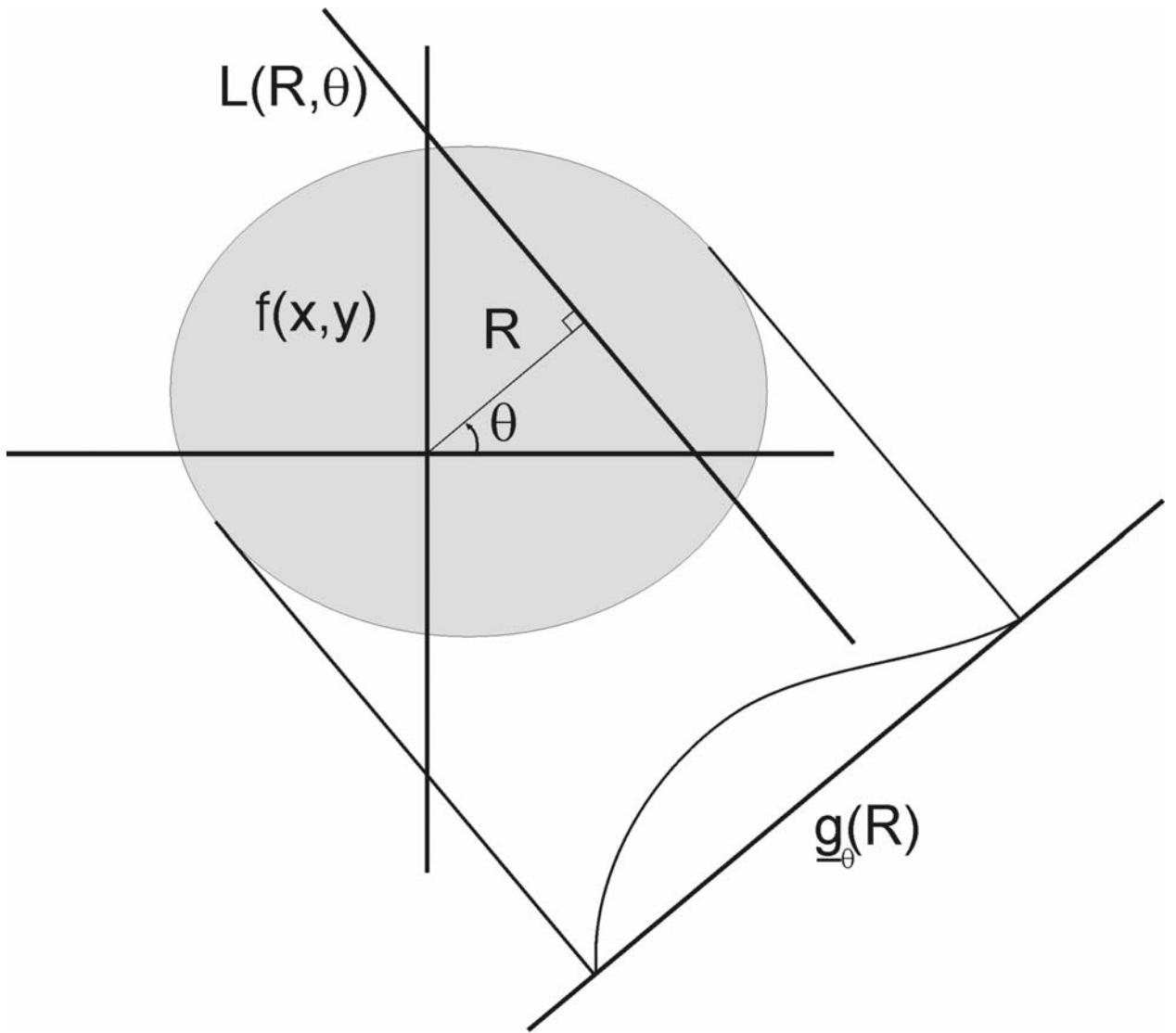


Рисунок 10. Теневое преобразование из пространства изображений в пространство теней.

Для того чтобы сформулировать алгоритмы обратного проецирования, необходимо определить два важных оператора: это оператор ро-фильтрации ρ и оператор обратного проецирования \mathbf{B} .

Оператор ρ определяется следующим соотношением:

$$\rho g_\theta(R) \equiv F^{-1} \{(2\pi)^{-1} |\rho| F g_\theta(R)\} \quad (8)$$

, где F – есть оператор Фурье преобразования по переменной R , а ρ – частота в Фурье пространстве.

По сути, оператор ρ является одномерным линейным частотным фильтром низких частот.

Оператор \mathbf{B} определяется следующим соотношением:

$$\hat{f}(\vec{r}) = B\underline{g}_\theta(R) \equiv \int_0^\pi \underline{g}_\theta(x \cdot \cos \theta + y \cdot \sin \theta) d\theta \quad (9)$$

Введенные обозначения позволяют выразить метод взвешенной обратной проекции одним простым соотношением:

$$\hat{f}(\vec{r}) = B\rho\underline{g}_\theta(R) \quad (10)$$

Другими словами, метод взвешенной обратной проекции состоит в последовательном применении операторов ро-фильтрации (ρ) и обратного проецирования (\mathbf{B}) к функции «тени» $\underline{g}_\theta(R)$.

Метод взвешенной обратной проекции с итеративным уточнением эквивалентен алгоритму последовательных приближений.

Инициализация:

$$\hat{f}_0 \in \Omega, \quad 0 < \beta < 2\|S\|^{-2}$$

Итерации: при $i = 0, 1, 2, \dots$

$$\hat{d}_i = S^* \left[f - S\hat{f}_i \right], \quad (11)$$

$$\hat{f}_{i+1} = \hat{f}_i + \beta \hat{d}_i \quad (12)$$

В приведенных выражениях использованы следующие обозначения:

\hat{f}_0 – исходное значение изображения до входа в цикл итеративного уточнения, обычно выбирается равным нулю;

Ω – пространство изображений;

β – шаг итерации, выбирается достаточно малым, чтобы обеспечить сходимость алгоритма, поскольку норма проекционного оператора $\|S\|$ обычно неизвестна;

\hat{d}_i – градиент направлений в пространстве изображений, определяющий направление следующего шага итерации;

S^* – оператор, сопряженный проекционному оператору S , эквивалентен оператору $B\rho$.

Для дальнейшего изложения введем понятие ро-скалярного произведения, определяемого через оператор ро-фильтрации следующим соотношением:

$$(\underline{f}, \underline{g})_\rho \equiv (\rho \underline{f}, \underline{g}) \equiv (\underline{f}, \rho \underline{g}), \text{ где } \underline{f} \text{ и } \underline{g} \text{ – произвольные тени, а } \rho \text{ – оператор ро-фильтрации.} \quad (13)$$

Существует следующее очень важное соотношение между скалярным произведением в пространстве изображений и ро-скалярным произведением в пространстве теней:

$$(\hat{f}, \hat{g}) = (\underline{f}, \underline{g})_\rho, \text{ где } \hat{f} \text{ и } \hat{g} \text{ – два произвольных изображения, а } \underline{f} \text{ и } \underline{g} \text{ их тени.} \quad (14)$$

При помощи ро-скалярного произведения легко определить ошибку томографической реконструкции как ро-норму разности исходной (экспериментальной) тени и тени реконструированного объекта:

$$E \equiv \left\| \underline{f} - \underline{g} \right\|_{\rho}, \text{ где } \underline{f} \text{ — есть исходная тень, а } \underline{g} \text{ — тень реконструированного объекта.} \quad (15a)$$

Относительная ошибка томографической реконструкции определяется как отношение ро-нормы разности экспериментальной и повторной теней к ро-норме экспериментальной тени, умноженной на 100%:

$$\varepsilon \equiv \frac{\left\| \underline{f} - \underline{g} \right\|_{\rho}}{\left\| \underline{f} \right\|_{\rho}} \cdot 100\% \quad (15b)$$

На основе выражения для ошибки реконструкции, в следующей главе будут построены алгоритмы выравнивания угловых серий и оптимизации параметров оси вращения.

2.5 Методы выравнивания угловых серий

Для проведения томографической реконструкции, угловая серия должна быть хорошо выровнена, поскольку малейшие смещения проекций из своих истинных позиций приводят к значительным потерям разрешения вследствие делокализации сигнала. На практике применяются два основных метода выравнивания угловых серий, это метод кросс-корреляции и метод маркеров.

2.5.1 Кросс-корреляция

Для грубого выравнивания угловых серий применяется метод кросс-корреляции. Метод основывается на том факте, что любые две

последовательные проекции в угловой серии отличаются незначительно, соответственно, в общем случае функция кросс-корреляции будет иметь максимум, соответствующий оптимальному смещению проекций друг относительно друга. Для ускорения расчетов функция кросс-корреляции, как правило, рассчитывается с применением быстрого преобразования Фурье, в соответствии с классическим соотношением:

$$f * g \equiv \int f(x)g(x-y)dy \equiv F^{-1}\{F\{f\} \cdot F\{g\}\} \quad (16)$$

Более эффективной является модификация этого метода, в которой проекции предварительно подвергаются растяжению в направлении, ортогональном направлению оси вращения, путем умножения на коэффициент:

$$1/\cos \theta, \text{ где } \theta - \text{угол наклона соответствующей проекции.} \quad (17)$$

Этот подход учитывает линейное «сжатие» объекта при наклоне. Кроме того, при выравнивании этим методом, ось вращения автоматически выставляется в центр угловой серии.

Таким образом, последовательность действий при выравнивании методом кросс-корреляции состоит в следующем:

1. применяется простая форма этого метода без использования коэффициента растяжения;
2. для грубо выровненной на первом шаге серии оценивается направление оси вращения;
3. применяется улучшенная форма метода с использованием коэффициента растяжения.

Идея такого комбинированного подхода проста – нельзя применить улучшенный метод кросс-корреляции, не оценив угол наклона оси вращения, а для этого надо иметь уже хотя бы грубо выровненную серию.

В случае образцов с периодической структурой, произведение Фурье-спектров образца имеет целый ряд сильных максимумов, вследствие чего эффективность метода кросс-корреляции существенно снижается. В таких случаях применяются комбинированные методики, состоящие из предварительной частотной фильтрации снимков, отсекающей высокие частоты.

2.5.2 Метод маркеров

Для точного выравнивания угловых серий в биологии часто применяется метод маркеров. В материаловедении этот метод либо не применяется вовсе, либо применяется очень ограниченно. Причина состоит в экспериментальных особенностях этого метода.

Выравнивание в этом методе производится по металлическим (обычно золотым) частицам с узким распределением по размерам, которые наносятся непосредственно на исследуемый образец, либо на поддерживающую его пленку. Выравнивание состоит в построении модели движения снимков друг относительно друга, рассчитываемой по смещениям маркеров. В случае слаборассеивающих биологических образцов этот метод работает очень хорошо, поскольку положения частиц на каждой проекции легко и с высокой точностью определяются.

К сожалению, ситуация существенно усложняется при переходе к объектам материаловедения вообще и гетерогенного катализа в частности. Во-первых, эти объекты часто сильно рассеивают электроны, что приводит к затруднениям в идентификации положений маркеров. Во-вторых, метод маркеров совершенно не подходит при работе с нанесенными гетерогенными катализаторами, поскольку в этом случае основной интерес представляет пространственное распределение частиц катализатора по поверхности носителя, которое будет искажено нанесенными маркерными частицами.

Кроме того, в этом случае также трудно отследить перемещения маркеров при наклоне образца, вследствие их затенения катализатором.

Однако в настоящей работе метод маркеров удалось применить для выравнивания угловой серии объекта нанесенного платинового катализатора на поверхности сибунита. В этом случае сами частицы катализатора служили маркерами. Качество результатов этого выравнивания далеко от достигаемого при применении метода маркеров для биологических образцов со специально нанесенными маркерами, однако оказалось достаточным для идентификации частиц катализатора на внутренней поверхности глобулы сибунита.

2.5.3 Определение угла наклона и положения оси вращения

После выравнивания угловой серии, необходимо точно определить направление и положение оси вращения. В методе маркеров, эти параметры рассчитываются вместе с положениями каждого снимка из общей модели движения маркеров. В случае, когда метод маркеров недоступен, для определения направления оси вращения применяется суммирование выровненных проекций [17]. На получившемся таким образом изображении (см. рис. 11) имеются полосы, направление которых ортогонально направлению оси (b). Для более точного определения положения оси вращения иногда применяется Фурье преобразование суммированного изображения (c).

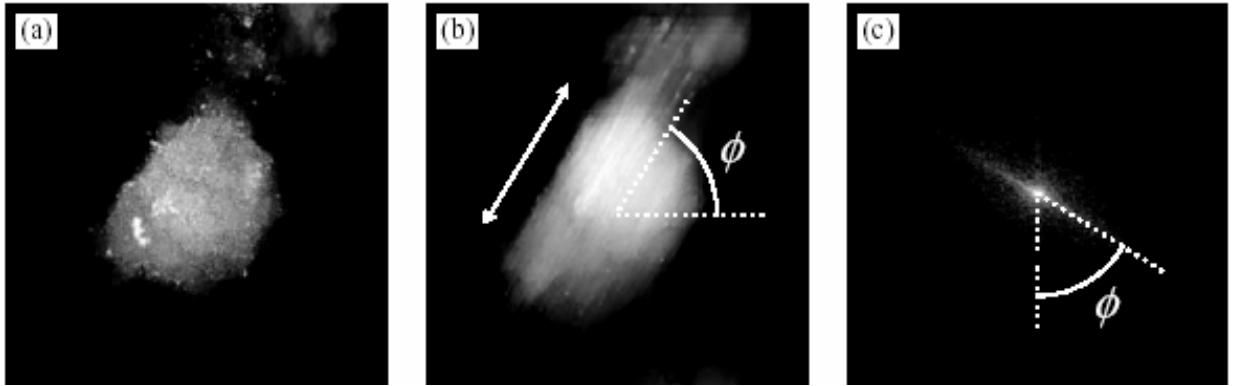


Рис. 11. Определение направления оси вращения. Один из исходных снимков (а); сумма всех снимков в серии (б); Фурье преобразование изображения суммы проекций (с).

Для определения положения оси вращения без применения метода маркеров не существует регулярного метода. На практике этот параметр определяется методом проб и ошибок, путем реконструкции небольшой части объема и определения величины так называемых «дуговых» артефактов, являющихся следствием смещения оси вращения. Положение оси варьируется до тех пор, пока не будет достигнут минимум дуговых артефактов.

В следующей главе будет рассмотрен разработанный в рамках настоящей работы алгоритм автоматического определения положения оси вращения в угловой серии.

2.6 Приближение «проекции»

Для томографической реконструкции необходимо, чтобы входные данные удовлетворяли некоторым предположениям, наиболее критичным из которых является условие, что эти данные представляют собой «проекцию» некоей структуры. Как показано в [44] такая «проекция» не обязательно должна быть суммой или интегралом по структуре некоторой физической характеристики, в действительности, монотонно изменяющейся функции вполне достаточно. Это требование известно как «приближение проекции».

Практически все опубликованные по электронной томографии результаты используют серии изображений, полученных в режиме светлого поля, контраст которых является комбинацией малоуглового упругого и неупругого рассеяния. Томография в режиме светлого поля основана на том допущении, что контраст определяется главным образом упругим атомным рассеянием, так называемый контраст по толщине. В деталях «приближение проекции» описано в работе [44]. Коротко, его можно считать выполненным, если образец достаточно тонкий, слабо рассеивающий, имеет большой размер кристаллической ячейки или состоит из аморфных объектов, контраст которых определяется толщиной и атомным номером элементов, его составляющих. Биологические объекты этим требованиям удовлетворяют.

В то же время, для большинства кристаллических объектов в материаловедении контраст в светлом поле имеет существенно дифракционный характер, а значит, сильно и немонотонно зависит от угла наклона образца. Таким образом, изображения, полученные в светлом поле, не удовлетворяют «приближению проекции», а значит, не могут быть использованы в томографии [44]. Даже если образец аморфный или незначительно окристаллизованный, его трехмерная структура смазывается короткой глубиной фокуса в ПЭМ, вследствие чего контраст Френеля становится существенным (особенно если используется прибор, основанный на FEG), что опять-таки нарушает «приближение проекции».

Из сказанного можно сделать вывод, что в материаловедении применимость томографии в режиме светлого поля существенно ограничена, поскольку подавляющее большинство образцов в этой сфере имеет в той или иной мере кристаллическую природу.

Приближение проекции напрямую вытекает из свойств преобразования Радона (см. формулу 1) или «теневого» преобразования (см. формулу 6). Свойства проекционного оператора, а значит, и пригодность

проекций для проведения томографической реконструкции всецело определяется режимом регистрации снимков. Регистрация в режиме светлого поля, как было сказано ранее, пригодна лишь для изучения аморфных объектов, либо объектов с большой постоянной решетки. В противном случае, в определенных ориентациях, объект рассеивает лучи на углы, достаточные для отсечения диафрагмой, в результате чего приближение проекции сильно нарушается.

В настоящей работе, для регистрации угловых серий сильно рассеивающих хорошо окристаллизованных объектов, таких, как частицы медно-никелевого катализатора нанометровых размеров, применялся метод аксиального темного поля (HACDF). Этот метод позволяет получать изображения любых объектов, с соблюдением приближения проекции.

Последнее достигается сильным наклоном пучка, вследствие чего изображение формируется электронами, рассеянными на большие углы ≥ 70 мрад (см. рис. 3), главным образом, это электроны, испытавшие сильное (резерфордовское) рассеяние вблизи ядра. Эти электроны теряют когерентность, поэтому не формируют дифракционных пучков, зато обеспечивают химическую чувствительность. Интенсивность изображения в методе HACDF примерно пропорциональна квадрату атомного номера вещества.

Глава 3. Развитие метода ЭТ

В этой главе речь пойдет о методических разработках, выполненных в рамках настоящей работы. Можно выделить четыре основных направления разработок. Во-первых, изобретено и создано специальное оборудование, существенно расширяющее диапазон доступных углов наблюдения, что, в свою очередь, повышает пространственное разрешение метода. Во-вторых, экспериментально найден и освоен оптимальный для имеющегося оборудования режим съемки угловых серий в режиме аксиального темного поля. В-третьих, разработаны методы выравнивания угловых серий, специфичные для объектов материаловедения. Наконец, в-четвертых, алгоритмы итеративной фильтрованной обратной проекции, пространственной оптимизации, и расчета ошибки реконструкции реализованы в виде программного обеспечения.

3.1 Экспериментальное оборудование электронной томографии

Для томографических исследований в настоящей работе использовался серийный ПЭМ прибор JEOL JEM2010 с высокоразрешающим полюсным наконечником. Держатель со стандартным наконечником для этого прибора допускает вращение образца в диапазоне углов $\pm 40^\circ$. Рассчитанный для этого значения максимального угла наклона образца по формуле (5) фактор растяжения равен 2.4, что означает потерю разрешения в направлении, ортогональном плоскости снимков, в два с половиной раза. Для исследования таких сложных систем, какими зачастую являются нанесенные гетерогенные катализаторы, эти потери разрешения неприемлемы. Для того чтобы снизить потери разрешения, в рамках настоящей работы было разработано и создано специальное оборудование. Речь идет о томографическом наконечнике для держателя, достаточно компактном, чтобы при вращении не задевать полюсник, и о специальных

томографических сетках, для нанесения образца. В результате применения этого оборудования, доступный для наблюдения угловой диапазон удалось расширить до $\pm 72^\circ$. Рассчитанный для этого значения максимального угла наклона образца по формуле (5) фактор растяжения равен 1.27, что эквивалентно потере разрешения в направлении, ортогональном плоскости снимков, на 27%. Эти потери вполне приемлемы для наших исследований, а дальнейшее снижение этого значения сопряжено со значительными затратами и экспериментальными трудностями.

3.1.1 Держатель

Единственным требованием, которому должен удовлетворять томографический наконечник для держателя, является компактность, поскольку он должен допускать вращение удерживаемой им сетки в ограниченном пространстве полюсного наконечника. Это особенно актуально для высокоразрешающих приборов, как в нашем случае, поскольку для них эти требования особенно жестки.

Использующиеся в серийных приборах наконечники держателей реализуют принцип полного охвата и фиксации электронно-микроскопических сеток (см. рис. 12). Причин этому, главным образом, две. Во-первых, это исключает возможность уронить сетку в колонну прибора, что чревато как минимум, его вскрытием, и, соответственно, длительным простоям прибора. Во-вторых, это улучшает механическую стабильность сетки, т.е. уменьшает эффекты, связанные с вибрацией и механическими нестабильностями. Однако, выполнение этого требования приводит к довольно массивным наконечникам, неспособным свободно вращаться в узком пространстве полюсника. Кроме того, такие наконечники заслоняют сетки при больших углах наклона, и соответственно, не годятся для томографических исследований.

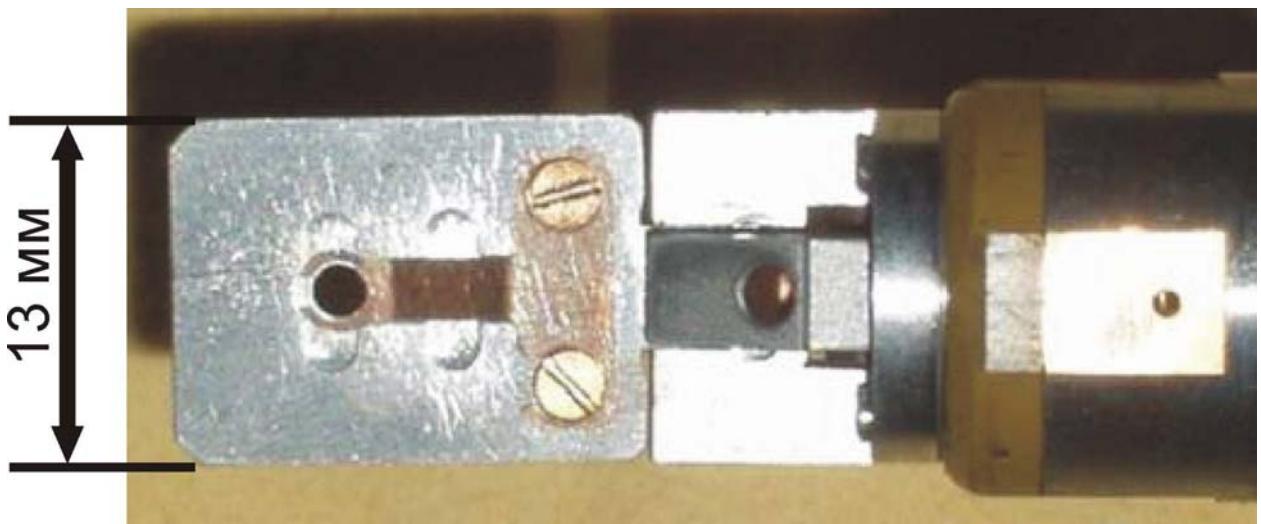


Рисунок 12. Стандартный держатель ПЭМ прибора JEM2010 с отверстием и зажимом для круглых электронно-микроскопических сеток.

Для того чтобы эту проблему преодолеть, мы пришли к принципу удержания электронно-микроскопической сетки сбоку, без полного охвата. Это техническое решение может быть реализовано таким образом, чтобы исключить выпадение сетки в колонну прибора, например, путем использования блокировки. Таким образом, это решение в сравнении с принципом полного обхвата имеет лишь один минус – некоторое увеличение механических нестабильностей. Однако это не слишком высокая цена за несомненное преимущество таких держателей для томографических исследований – возможность свободного вращения в ограниченном пространстве полюсника.

На рис. 13 представлена схема томографического наконечника для держателя, использующего принцип бокового удержания сеток (вид сверху и вид сбоку). Такой наконечник использовался в настоящей работе для проведения томографических экспериментов. Цифрами на рисунке обозначены: основание с отверстием для блокиратора, которым наконечник крепится к стандартному держателю (1); зажим, непосредственно вводимый в пространство полюсного наконечника (2); отверстие для зажимающего

винта (3); удерживаемая зажимом специально изготовленная нами томографическая сетка (4).

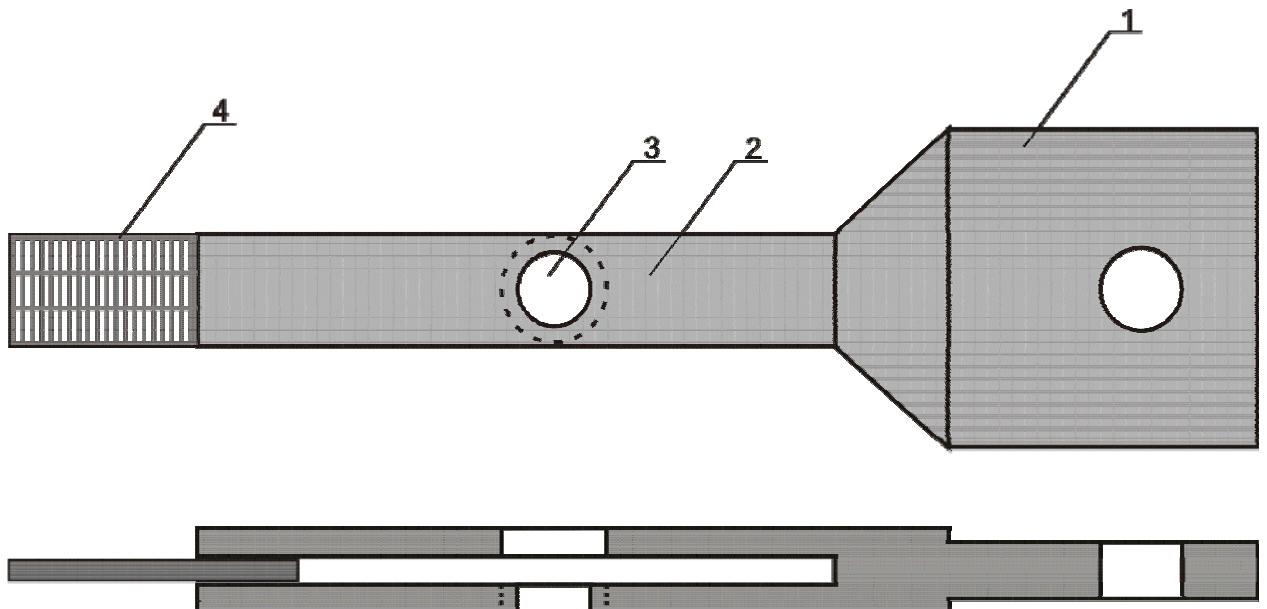


Рисунок 13. Конструкция томографического наконечника для держателя и томографических сеток.

Ширина томографической сетки и зажима держателя, использованных нами, составляла около 2 мм. Такой наконечник держателя допускает вращение на произвольные углы, ограничиваемые лишь геометрией и конструкцией гoniометра прибора. В нашем случае особенности устройства гoniометра ограничивали максимальный угол наклона в 72°.

3.1.2 Сетки

Дальнейшее ограничение диапазона углов связано с геометрией электронно-микроскопических сеток, на которые наносится образец. Прежде всего, сетка должна быть достаточно компактной, чтобы при вращении не задевать полюсный наконечник. Как показано на рис. 13, размеры сетки в поперечном направлении совпадают с размерами зажима, что является оптимальным вариантом.

Другим источником ограничений диапазона доступных для наблюдения углов наклона является заслонение образца самой сеткой, а

значит, определяется геометрическими параметрами сетки. На рис. 14 приведена схема, по которой можно связать такие параметры сетки, как толщину и величину отверстий с максимально доступным углом наблюдения.

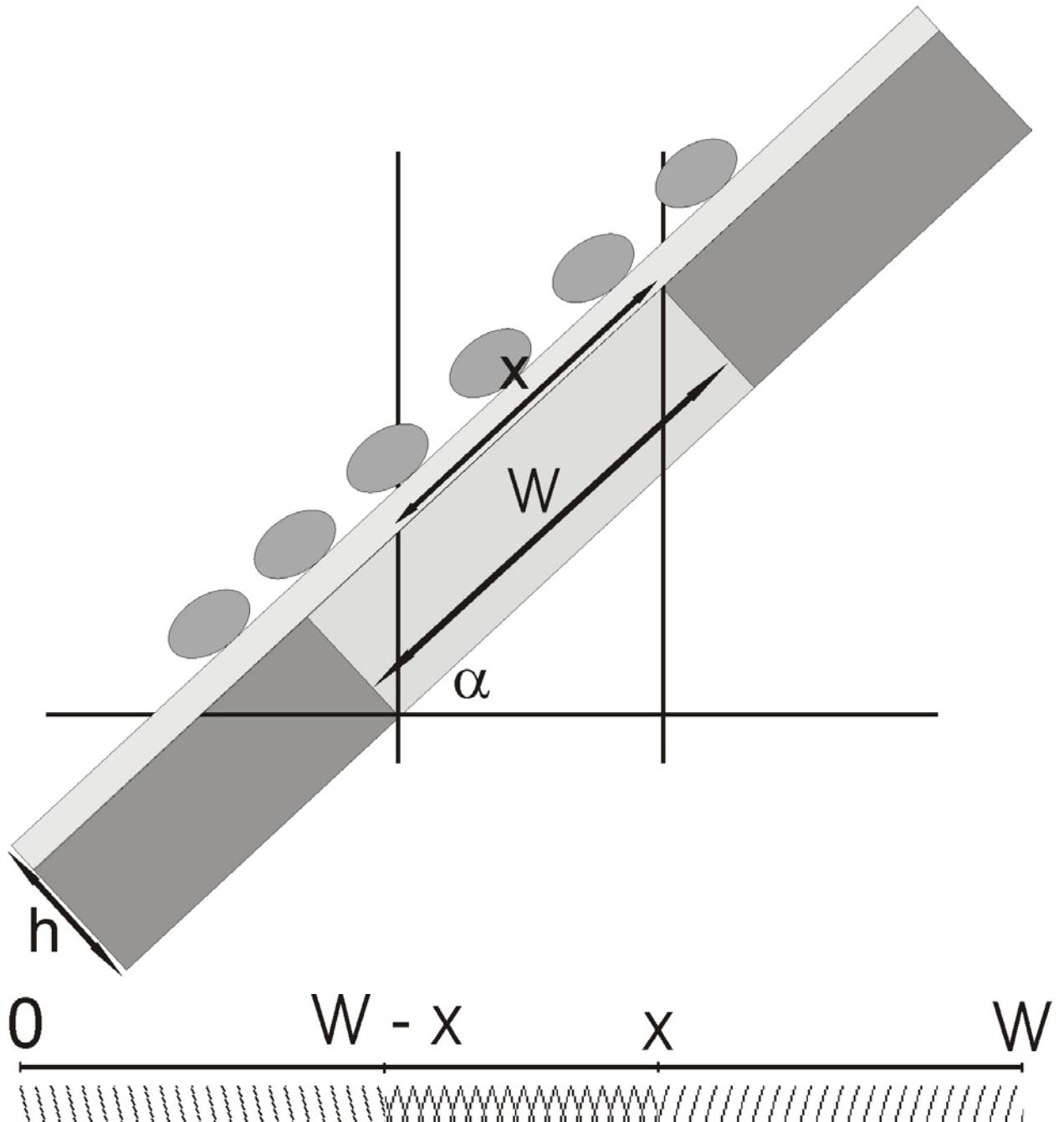


Рисунок 14. Схема для расчета максимального угла наклона, при котором сетка еще не заслоняет образец.

На рис. 14 введены следующие обозначения: h – толщина сетки, W – величина отверстия в направлении, ортогональном направлению оси

вращения, α – угол наклона, x – доступная для наблюдения поверхность пленки при текущем наклоне. В нижней части рисунка схематично представлено отверстие и области доступной для наблюдения поверхности при угле наклона α и $-\alpha$, x (наклон штриховки влево) и $W-x$ (наклон штриховки вправо) соответственно. Нас интересует пересечение этих двух областей, поскольку лишь это пересечение будет доступно для наблюдения при вращении образца в диапазоне углов $\pm\alpha$. Размер этой области посчитать несложно, он равен:

$$L = x - (W - x) = 2 \cdot x - W, \text{ где } x = W - h \cdot \operatorname{tg} \alpha. \quad (18)$$

Соответственно, для величины доступной для наблюдения области имеем следующее выражение:

$$L = W - 2h \cdot \operatorname{tg} \alpha \quad (19)$$

Очевидно, что максимальный угол наклона определяется из условия равенства нулю величины L . В результате несложного преобразования получаем конечный результат: тангенс максимально допустимого угла наклона, при котором сетка еще не заслоняет образец, прямо пропорционален величине отверстия в сетке W и обратно пропорционален толщине сетки h :

$$\operatorname{tg} \alpha_{\max} = \frac{W}{2 \cdot h} \quad (20)$$

Полученный результат объясняет прямоугольную форму отверстий в томографической сетке, изображенной на рис. 13. Для того чтобы добиться достаточно большого доступного угла наклона, эти отверстия должны быть достаточно длинными. Их размер в поперечном направлении нас интересует лишь постольку, поскольку при таких больших размерах отверстий в одном направлении, в другом направлении размер должен быть существенно

меньшим, чтобы избежать механических нестабильностей коллоидной пленки, на которую наносится образец.

Рассчитанный по формуле (20) максимальный угол наклона для изготовленных нами сеток близок к 80° . Эти сетки дают возможность регистрации угловых серий в полном диапазоне углов $\pm 72^\circ$, ограниченном лишь особенностями используемого нами гoniометра.

На разработанные и созданные в рамках настоящей работы томографический держатель и томографические сетки поданы заявки на патент и на изобретение. Название патента: «Патент на наконечник для держателя и электронно-микроскопические сетки для электронной томографии».

3.2 Режим съемки HACDF для ЭТ

При отработке съемки в режиме аксиального темного поля (HACDF) выявлено два важных аспекта, критичных для успеха томографического эксперимента:

- Во-первых, прежде чем приступить к съемке в этом режиме, необходимо определить приблизительное направление оси вращения образца путем вращения его в режиме светлого поля, с тем, чтобы затем отклонять пучок в вертикальной плоскости, проходящей через ось вращения. Это необходимо для того, чтобы при всех углах наклона образца снимки формировались электронами, рассеянными под одинаковым углом.
- Во-вторых, поскольку направление оси вращения связано с настройкой магнитных линз и модулируется при фокусировке, при съемке угловой серии фокус нельзя настраивать стандартными средствами, вместо этого следует использовать регулировку высоты Z.

Кроме того, интенсивность излучения, рассеянного на углы наклона, необходимые для получения Z-контрASTA, очень мала, поэтому, если образец

достаточно стабилен, имеет смысл увеличить интенсивность исходного пучка. Делать это можно двумя способами: либо увеличив ток накала катода, либо удалив из колонны микроскопа конденсорную апертуру. И тот и другой способ имеет недостатки. Например, увеличение тока накала катода может привести к перегреву и разрушению как образца, так и коллоидной пленки, на которую он нанесен, а удаление конденсорной апертуры приводит к некоторой потере разрешения. В качестве альтернативы увеличению освещения образца можно использовать большие времена выдержки при съемке. Недостатком этого способа является потеря разрешения, связанная с механической нестабильностью и колебаниями держателя образца, что приводит к потере разрешения на величину, пропорциональную амплитуде этих колебаний. В настоящей работе использовался комбинированный подход, состоящий в умеренном увеличении тока накала катода и достаточно больших временах выдержки (для образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ выдержка составляла 7 сек).

3.3 Методы выравнивания угловых серий

Во второй главе говорилось о двух основных методах выравнивания угловых серий, применяемых исследователями на практике, – это метод кросс-корреляции и метод маркеров. Из них лишь метод кросс-корреляции пригоден для выравнивания угловых серий объектов материаловедения. В то же время точность выравнивания этим методом значительно хуже, чем точность, достигаемая методом маркеров для биологических систем. В результате проблема точного выравнивания угловых серий объектов материаловедения остается нерешенной. Еще более сложная ситуация с определением положения оси вращения. Если угол наклона оси вращения достаточно хорошо выровненной серии оценить несложно, то положение оси до сих пор ищется наугад, методом проб и ошибок. В этом разделе речь пойдет о разработанных нами подходах к решению этих проблем.

3.3.1 Расчет ошибки реконструкции

Во второй главе приведены формулы для расчета ошибки томографической реконструкции (15). Источник, из которого мы эти формулы извлекли [45], восходит к началу 80-х годов и относится к двумерной рентгеновской томографии. Ни в одной из современных работ по электронной томографии этих формул нет, как нет в них и численных значений ошибок реконструкции. Остается только гадать, с чем связана столь удивительная забывчивость.

Возможность расчета ошибки реконструкции очень важна для верификации результатов томографической реконструкции. В настоящее время верификация либо не делается вовсе, либо на модельных объектах верифицируются алгоритмы реконструкции, а не реконструкции конкретных объектов.

В то же время возможность расчета ошибки реконструкции важна не только для верификации реконструкции. Такой расчет открывает также и широкие горизонты в разработке новых методов выравнивания угловых серий и оптимизации положения и направления оси вращения. Последнее особенно важно для электронной томографии объектов материаловедения, поскольку, как уже было сказано, другие методы здесь либо не работают вовсе, либо дают неудовлетворительные результаты.

В настоящей работе мы использовали возможность расчета ошибки томографической реконструкции для построения упомянутых выше алгоритмов выравнивания угловых серий и оптимизации положения и направления оси вращения.

3.3.2 Метод пространственной оптимизации

Сущность метода пространственной оптимизации заключается в следующем. На каждом шаге алгоритма по экспериментальным проекциям

рассчитывается пространственный объект. Затем рассчитываются повторные проекции этого объекта, под теми же углами, под которыми были получены экспериментальные проекции (ре-проекции), и текущая ошибка, как ро-норма разности исходных проекций и ре-проекций. Наконец, взаимное расположение экспериментальных проекций изменяется и вновь рассчитывается ошибка. Проекции считаются выровненными, когда достигается минимум ошибки. Поскольку в этой задаче оптимизируется сразу $2N$ параметров, где N – число проекций, производительность алгоритма невысока.

В настоящей работе этот метод апробировался только для выравнивания угловой серии образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ, полученной в режиме НАСДФ. Существенного выигрыша здесь метод пространственной оптимизации не дал. Причин этому две: во-первых, высокий уровень шума в исходных данных приводит к довольно высокой ошибке реконструкции, в которой тонут различия, вносимые небольшими смещениями отдельных проекций. Во-вторых, эта система достаточно проста и очень хорошо выравнивается методом кросс-корреляции с предварительной частотной и sobel фильтрацией, что делает применение «тяжелой артиллерии» метода пространственной оптимизации излишним.

Тем не менее, мы рассматриваем метод пространственной оптимизации как очень перспективный для выравнивания угловых серий таких сложных для выравнивания систем, как гетерогенные нанесенные катализаторы и другие дисперсные и/или многокомпонентные системы.

3.3.3 Определение направления и положения оси вращения

Для уточнения направления и определения положения оси вращения нами был разработан и использован алгоритм, по сути близкий алгоритму пространственной оптимизации. Существенное отличие заключается лишь в значительно меньшем числе оптимизируемых параметров – здесь их всего

два. Алгоритм состоит в попаременном уточнении каждого параметра, как в обычной двумерной оптимизации, начиная с положения оси, поскольку ее направление обычно уже довольно неплохо оценено. Для одномерной оптимизации по каждой из координат нами использовался метод золотого сечения.

Описанный метод хорошо зарекомендовал себя при определении параметров оси вращения для образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ. В результате его применения относительную ошибку реконструкции удалось снизить на 2%, с 14% до 12%.

3.4 Программы и алгоритмы ЭТ

В этом разделе мы вкратце опишем алгоритмы расчета ошибки реконструкции, томографической реконструкции методом IFBPJ, выравнивания угловых серий и оптимизации параметров оси вращения, реализованные и использованные в рамках настоящей работы.

3.4.1 Расчет ошибки реконструкции

Входными данными для этого алгоритма являются: серия исходных снимков \underline{f} и серия ре-проекций, полученных проецированием реконструированного объекта под теми же углами, под которыми были получены исходные снимки \underline{g} . Эти серии снимков образуют тени объекта, если пользоваться терминологией введенной в главе 2. Алгоритм расчета ошибки основывается на формуле (15б) из второй главы. На первом шаге алгоритма набор исходных проекций \underline{f} подвергается процедуре ро-фильтрации в направлении, ортогональном направлению оси вращения. Результат ро-фильтрации $\rho \underline{f}$ запоминается и используется в дальнейших расчетах. На следующем шаге находится квадрат нормы исходных проекций как скалярное произведение $(\underline{f}, \rho \underline{f})$. Затем в память, использовавшуюся для

хранения $\rho \underline{f}$, загружается набор ре-проекций \underline{g} . Разность исходных проекций и ре-проекций рассчитывается, и записывается поверх ре-проекций:

$$\underline{g} = \underline{f} - \underline{g} \quad (21)$$

Дальше рассчитывается квадрат ро-нормы этой разности по той же схеме, что и квадрат ро-нормы исходных проекций с использованием для хранения ро-фильтрованной разности ненужной уже памяти, отведенной под исходные проекции \underline{f} . После всего этого относительная ошибка реконструкции находится в соответствии с формулой (15б). Описанный алгоритм и схема использования памяти представлены в табл. 1, где приведена схема использования ресурсов, последовательность действий, а также результат каждого действия. Обозначения, принятые в таблице, соответствуют обозначениям, принятым в тексте.

Таблица 1. Пошаговое представление алгоритма расчета ошибки реконструкции.

шаг	Операция \ область памяти	Область 1	Область 2	Результат
1	загрузка	\underline{f}	пусто	
2	ρ -фильтрация	\underline{f}	$\rho \underline{f}$	
3	Скалярное произведение	\underline{f}	$\rho \underline{f}$	$\ \underline{f}\ _{\rho}^2$
4	загрузка	\underline{f}	\underline{g}	
5	разность	\underline{f}	$\underline{f} - \underline{g}$	
6	ρ -фильтрация	$\rho(\underline{f} - \underline{g})$	$\underline{f} - \underline{g}$	
7	Скалярное произведение	$\rho(\underline{f} - \underline{g})$	$\underline{f} - \underline{g}$	$\ \underline{f} - \underline{g}\ _{\rho}^2$
8	Расчет ошибки	пусто	пусто	$\sqrt{\frac{\ \underline{f} - \underline{g}\ _{\rho}^2}{\ \underline{f}\ _{\rho}^2}} \cdot 100\%$

3.4.2 Программа реконструкции методом IFBPJ

Теоретические аспекты метода томографической реконструкции обратным проецированием с ро-фильтрацией и итеративным уточнением обсуждались в главе 2. Поскольку в общедоступных пакетах программ для электронной томографии, таких, например, как IMOD [54], этот алгоритм не реализован, в настоящей работе была выполнена собственная реализация этого алгоритма. Здесь мы опишем реализованный в рамках настоящей работы алгоритм IFBPJ в виде последовательности шагов с указанием используемых на каждом шаге ресурсов и результатов, достигаемых каждым шагом. В таблице 2 приведено такое пошаговое описание. В дополнение к

указанным в таблице ресурсам в алгоритме выделяется память для хранения реконструируемого объекта \hat{O} , объекта векторов направлений \hat{d} , а также набора экспериментальных проекций \underline{f} .

Таблица 2. Пошаговое представление алгоритма томографической реконструкции методом IFBPJ.

шаг	Операция \ область памяти	тень 1	тень 2	Результат
1	ρ -фильтрация	$\rho \underline{f}$		$\rho \underline{f}$
2	Скалярное произведение	$\rho \underline{f}$		$\ \underline{f}\ _{\rho}^2$
3	Обратное проецирование	$\rho \underline{f}$		$\hat{d} = B\rho \underline{f}$
4	проецирование	$S\hat{d}$		$S\hat{d}$
5	ρ -фильтрация	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$
6	Скалярное произведение	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\ S\hat{d}\ _{\rho}^2$
7	Скалярное произведение	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\ \hat{d}\ ^2$
8	Расчет величины шага	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\beta = \ \hat{d}\ ^2 / \ S\hat{d}\ _{\rho}^2$
9	Расчет объекта	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\hat{O} = \hat{O} + \beta \cdot \hat{d}$
10	Ре-проецирование	$S\hat{O}$	$\rho S\hat{d}$	$S\hat{O}$
11	Расчет ошибки [*]	$\underline{f} - S\hat{O}$	$\rho(\underline{f} - S\hat{O})$	$\sqrt{\frac{\ \underline{f} - S\hat{O}\ _{\rho}^2}{\ \underline{f}\ _{\rho}^2}} \cdot 100\%$
12	Обратное проецирование	$\underline{f} - S\hat{O}$	$\rho(\underline{f} - S\hat{O})$	$\hat{d} = B\rho(\underline{f} - S\hat{O})$
13	Расчет величины шага ^{**}	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	$\beta = \ \hat{d}\ ^2 / \ S\hat{d}\ _{\rho}^2$

14	Следующая итерация	$S\hat{d}$	$\rho S\hat{d}$	переход к шагу 9
----	--------------------	------------	-----------------	------------------

*Расчет ошибки здесь осуществляется так же, как и в алгоритме расчета ошибки реконструкции, соответствующие шаги алгоритма опущены (см. таблицу 1).

**Расчет величины шага осуществляется здесь, как и ранее в этой же таблице, соответствующие шаги алгоритма опущены (см. шаги с 4 по 8).

Описанный в таблице 2 алгоритм использует память для двух объектов и трех наборов проекций. Как дополнительный результат, алгоритм выдает значение ошибки реконструкции, а также ре-проекции финальной реконструкции. В настоящей работе этот алгоритм использовался для реконструкции угловой серии, полученной для образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ.

3.4.3 Алгоритм определения положения и уточнения угла наклона оси вращения

Как отмечалось ранее, алгоритм определения положения и уточнения угла наклона оси вращения состоит в попаременном уточнении указанных параметров путем линейной минимизации ошибки реконструкции. В настоящей работе для реализации линейной минимизации использовался метод золотого сечения, гарантирующий геометрическую скорость схождения к минимуму [46]. На рис. 15 представлена схема такого алгоритма. Исходными параметрами для алгоритма являются текущие значения положения оси Y_0 и ее наклона α_0 , а также интервалы, в которых будет производиться уточнение.

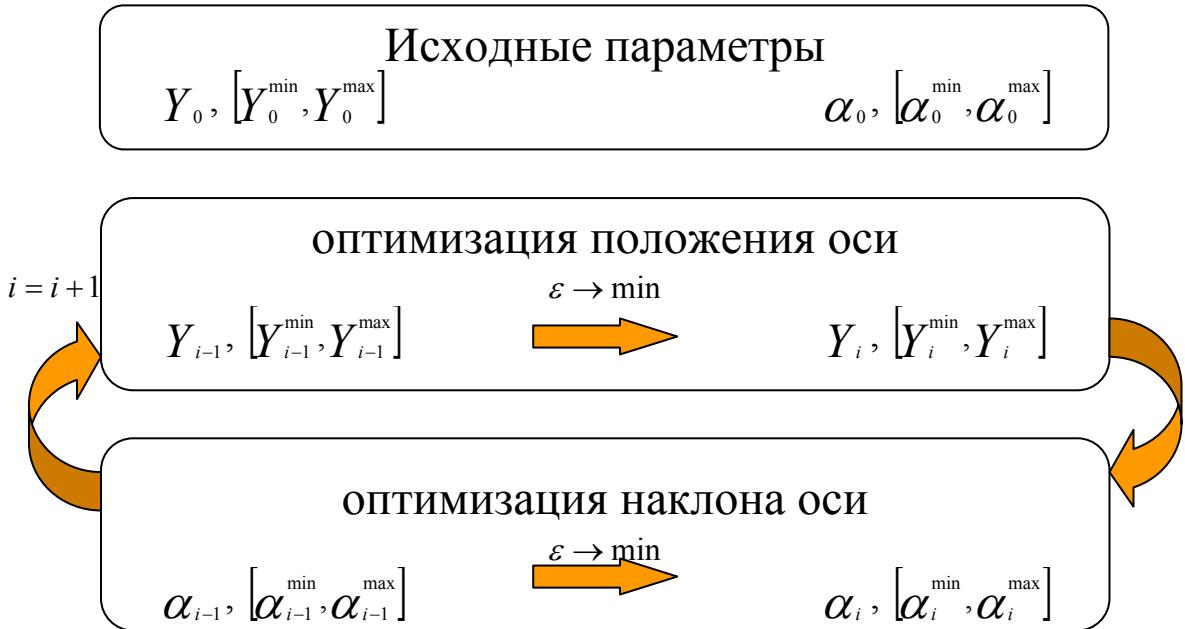


Рисунок 15. Схема алгоритма определения положения и уточнения угла наклона оси вращения.

Для нахождения минимума на каждом шаге алгоритма и для каждого параметра (положения и угла наклона оси) методу золотого сечения требуется в среднем пять итераций, что эквивалентно расчету ошибки реконструкции в восьми точках. На каждом шаге алгоритма ошибка реконструкции рассчитывается, таким образом, в среднем в шестнадцати точках. Алгоритм, в свою очередь, сходится довольно быстро, в среднем, необходимо 3-4 итерации для достижения оптимальных параметров оси. Итого для оптимизации параметров оси вращения в рамках этого алгоритма необходимо сделать от 48 до 64 расчетов ошибки реконструкции.

Каждый такой расчет является ресурсоемкой задачей, поэтому для сокращения времени, необходимого для каждого расчета, применяются специальные приемы. Таких приемов, в основном, два: это сокращение числа итераций при расчете каждой ошибки, и ограничение объема, в котором выполняется реконструкция.

Для расчета каждой ошибки методом итеративной фильтрованной обратной проекции требуется около пяти итераций, каждая из которых включает в себя такие ресурсоемкие операции, как обратное проецирование и ре-проецирование. Если прервать процесс расчета ошибки раньше, чем он достигнет естественного для себя оптимума, полученное значение ошибки будет тем выше, чем раньше мы его прервали. Однако, отношение величин ошибок при различных степенях отклонений параметров при этом в значительной степени сохраняется, и тем лучше, чем больше итераций было сделано.

Таким образом, можно построить комбинированную схему алгоритма оптимизации параметров оси вращения, в которой число итераций для расчета ошибки реконструкции будет совпадать с номером текущей итерации уточнения параметров оси. При таком подходе точность расчета ошибки реконструкции на каждом шаге будет соответствовать требуемой на этом шаге точности для уточнения параметров оси. Такой комбинированный алгоритм представлен на рис. 16. Его отличие от алгоритма, представленного на рис. 15, заключается в параметризации расчета ошибки реконструкции параметром k , совпадающим с номером текущей итерации – i .

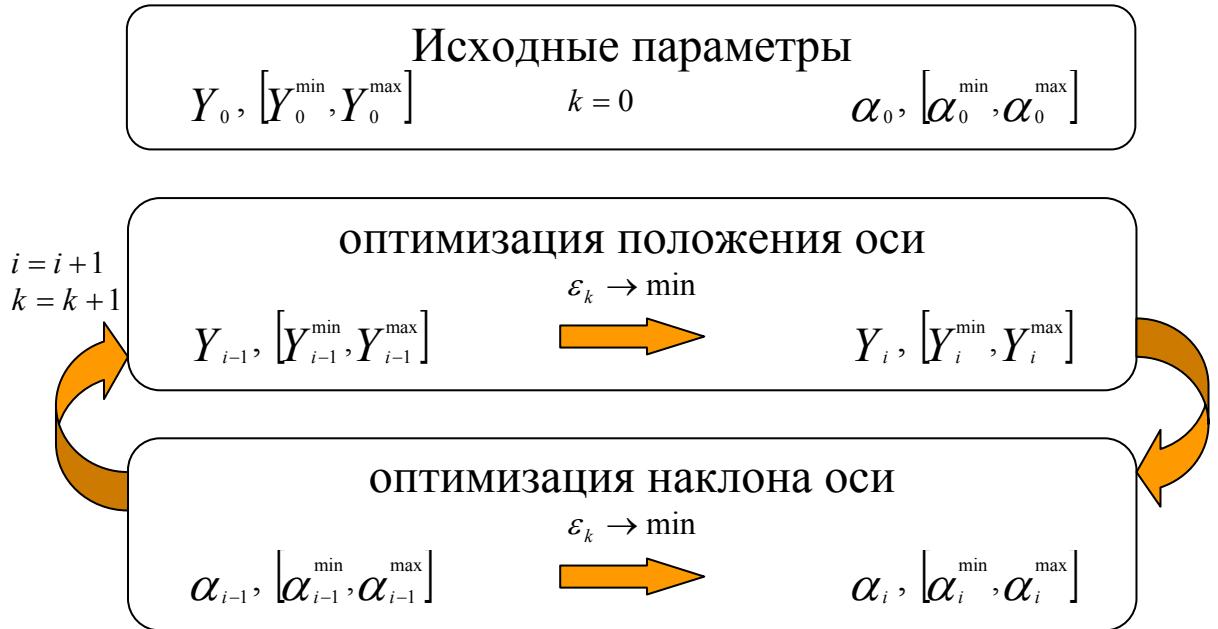


Рисунок 16. Схема комбинированного алгоритма определения положения и уточнения угла наклона оси вращения с изменением числа итераций при расчете ошибки реконструкции.

Вторым способом снижения вычислительных затрат алгоритма оптимизации параметров оси вращения является ограничение реконструируемой, и соответственно, используемой для расчета ошибки реконструкции области объекта. В самом деле, если допустить, что угол наклона оси вращения определен достаточно точно, то любая часть проекций, вырезанная из исходного набора, в направлении, ортогональном оси вращения, образует самостоятельный набор проекций объекта, являющуюся частью исходного. Соответственно, можно рассчитывать ошибку реконструкции не для всего объекта, а для одного или нескольких подобъектов, полученных путем ограничения исходного объекта плоскостями, ортогональными оси вращения. Неточность определения угла наклона оси вращения приводит к ограничению минимального размера подобъекта, который можно использовать для расчета ошибки реконструкции. Это связано с тем, что неточность определения оси

перемешивает информацию в соседних подобъектах и степень этого перемешивания напрямую зависит от величины неточности угла наклона.

Таким образом, алгоритм оптимизации параметров оси вращения может быть эффективно реализован на существующем оборудовании, что и было нами выполнено и продемонстрировано на примере оптимизации параметров оси вращения для угловой серии образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ.

3.4.4 Алгоритм выравнивания угловых серий для объектов материаловедения

На рис. 17 приведена общая схема алгоритма выравнивания угловых серий методом пространственной оптимизации. Схема демонстрирует суть метода: путем варьирования положения каждого снимка в угловой серии добиться минимума ошибки реконструкции всей серии. Стрелка от набора проекций к объекту означает осуществление томографической реконструкции, а стрелка от объекта к набору проекций означает повторное проецирование объекта под теми же углами, под которыми были получены исходные проекции. Замкнутая линия со стрелками означает цикл. Цикл продолжается до достижения минимума ошибки, что эквивалентно оптимальному выравниванию угловой серии.

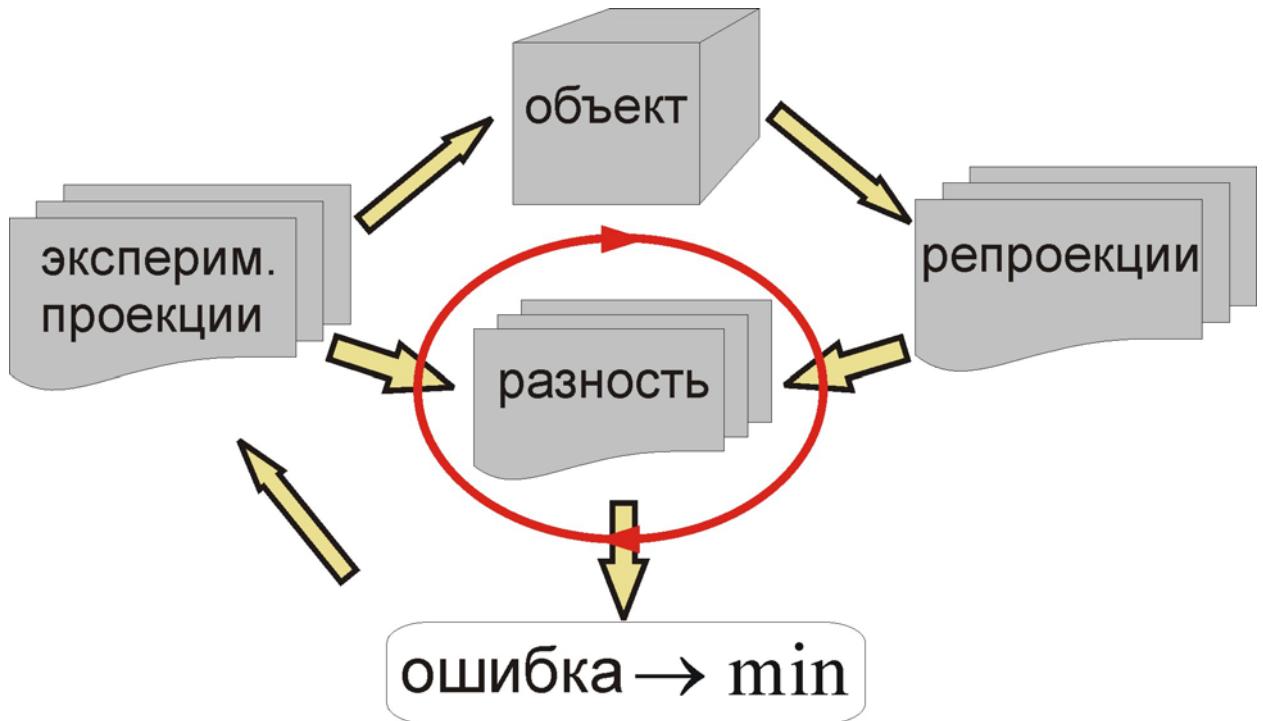


Рисунок 17. Общая схема алгоритма выравнивания угловых серий методом пространственной оптимизации.

Каким образом варьируется положение каждого снимка? Простой подсчет показывает, что даже если варьировать положение каждого снимка только на один пиксель во всех направлениях, то в результате мы получим 9 возможных отклонений для каждой проекции, а поскольку отклонения каждой проекции не зависят друг от друга, то для угловой серии, состоящей из N снимков, число возможных конфигураций расположения снимков равняется 9^N . Угловая серия, полученная в угловом диапазоне $\pm 72^\circ$ с шагом в 2° , состоит из 73 снимков, что соответствует $\sim 4,5e+69$ возможным конфигурациям при варьировании положений снимков на один пиксель, а для серии, снятой в том же диапазоне, но с интервалом в 1° , эта цифра составляет $\sim 2,3e+138$ конфигураций. Даже, если бы расчет каждой конфигурации занимал только одну секунду машинного времени, для работы такого алгоритма потребовалось бы время, эквивалентное $\sim 10^{52}$ возрастам нашей вселенной. Другими словами, в такой постановке эта задача просто не решается.

Причиной экспоненциальной сложности алгоритма является взаимная независимость отклонений для каждой проекции. По-другому, это можно сформулировать следующим образом: ошибка реконструкции для каждого смещения каждой проекции зависит от текущих значений смещений всех остальных проекций. Если бы все остальные смещения были бы фиксированы, то сложность алгоритма была бы линейной.

К счастью, этого можно добиться при использовании следующей схемы. За основу берется проекция, полученная без наклона, затем, на каждом шаге алгоритма, в полученный на предыдущем шаге набор проекций добавляется новая проекция и оптимизируется сдвиг только этой проекции, поскольку все остальные проекции в наборе уже выровнены. При этом проекции в набор добавляются попеременно. Если на предыдущем шаге алгоритма была добавлена проекция при положительном угле наклона, то добавляется проекция с отрицательным углом наклона.

Такой подход позволяет реализовать метод пространственной оптимизации для выравнивания угловых серий при вычислительных затратах, линейно зависящих от числа проекций в угловой серии. На рисунке 18 приведена схема такого модифицированного алгоритма. Оптимизация положения добавленной проекции в этом алгоритме осуществляется по такой же схеме, что и в алгоритме оптимизации параметров оси вращения, соответственно, и оптимизации здесь можно применить такие же.

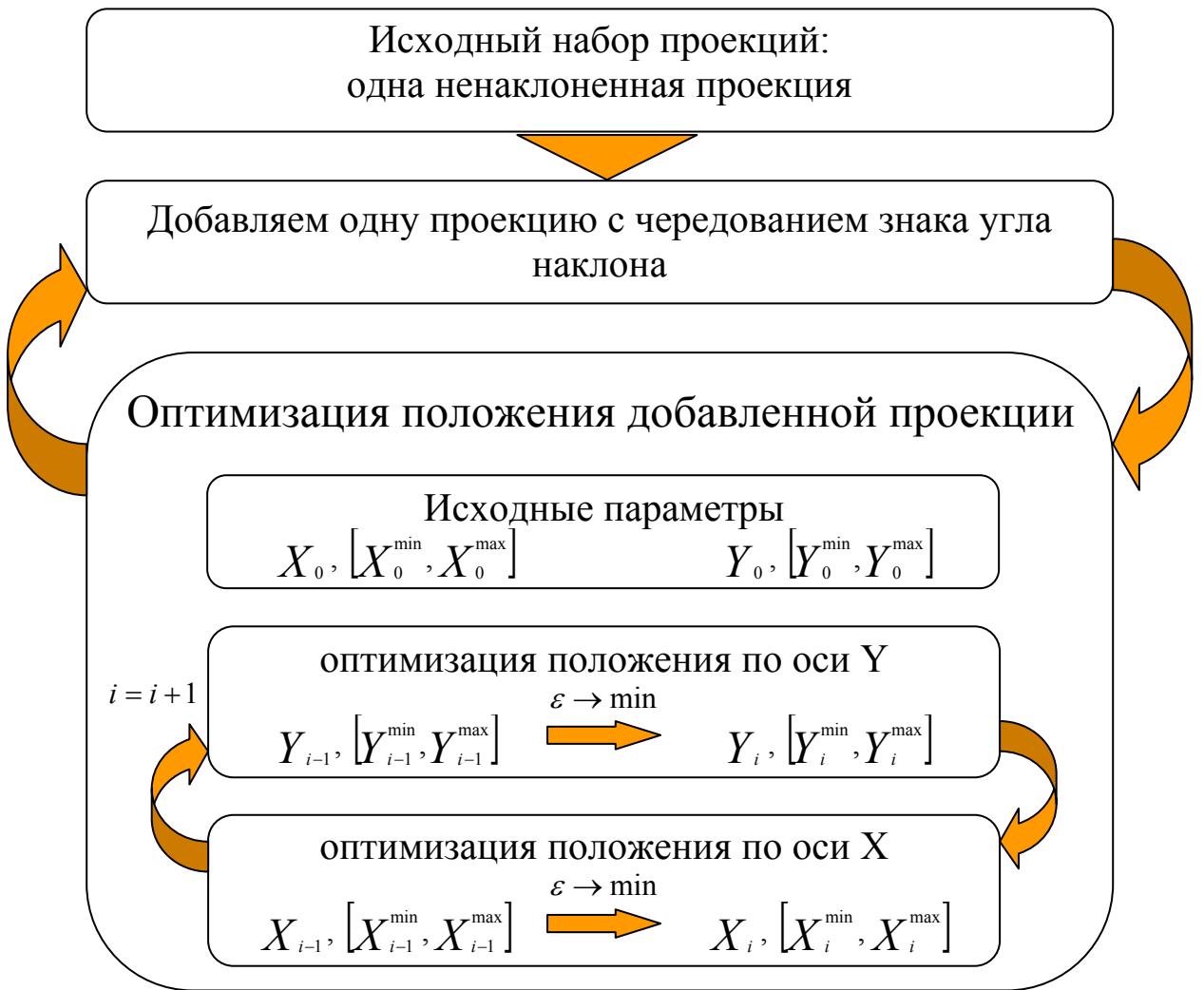


Рисунок 18. Схема алгоритма пространственной оптимизации с линейной сложностью в зависимости от числа проекций.

Описанный здесь алгоритм был реализован и опробован на примере выравнивания угловой серии, полученной для образца медно-никелевого катализатора синтеза КВУ. Как отмечалось ранее, существенного выигрыша это не дало, поскольку для этой системы достаточно эффективно работает модифицированный метод кросс-корреляции. Тем не менее, в перспективе этот метод может стать основным методом, применяемым для выравнивания угловых серий объектов материаловедения, таких как нанесенные гетерогенные катализаторы.

Глава 4. Апробация разработанных методик

Экспериментальная работа состояла из трех естественных этапов. На первом этапе проводилось тестирование созданного оборудования и апробация корректности выбранных методов реконструкции. Для этого в режиме светлого поля была получена угловая серия электронно-микроскопических снимков хорошо изученной, в том числе и методом электронной томографии [47], системы – частицы мезопористого силиката SBA-15. Затем метод электронной томографии в светлом поле был применен для исследования реального катализатора – изучения особенностей пространственного распределения частиц металлической платины по поверхности сибунита. На последнем этапе методика регистрации угловых серий в режиме аксиального темного поля (HACDF) отрабатывалась на медно-никелевой частице, ведущей синтез КВУ. Целью этого исследования была реконструкция габитуса металлической частицы.

4.1 Тестирование на эталонном образце мезопористого силиката SBA-15

Мезопористый силикат SBA-15 – система хорошо изученная, в том числе и методом электронной томографии [47], поэтому в настоящей работе этот объект использовался как тестовый для демонстрации корректности предлагаемой методики. На рисунке 19 приведено электронно-микроскопическое изображение частицы мезопористого силиката SBA-15. На рисунке обозначены три наиболее крупных блока, из которых состоит частица силиката. Каждый блок обладает индивидуальной системой пор.

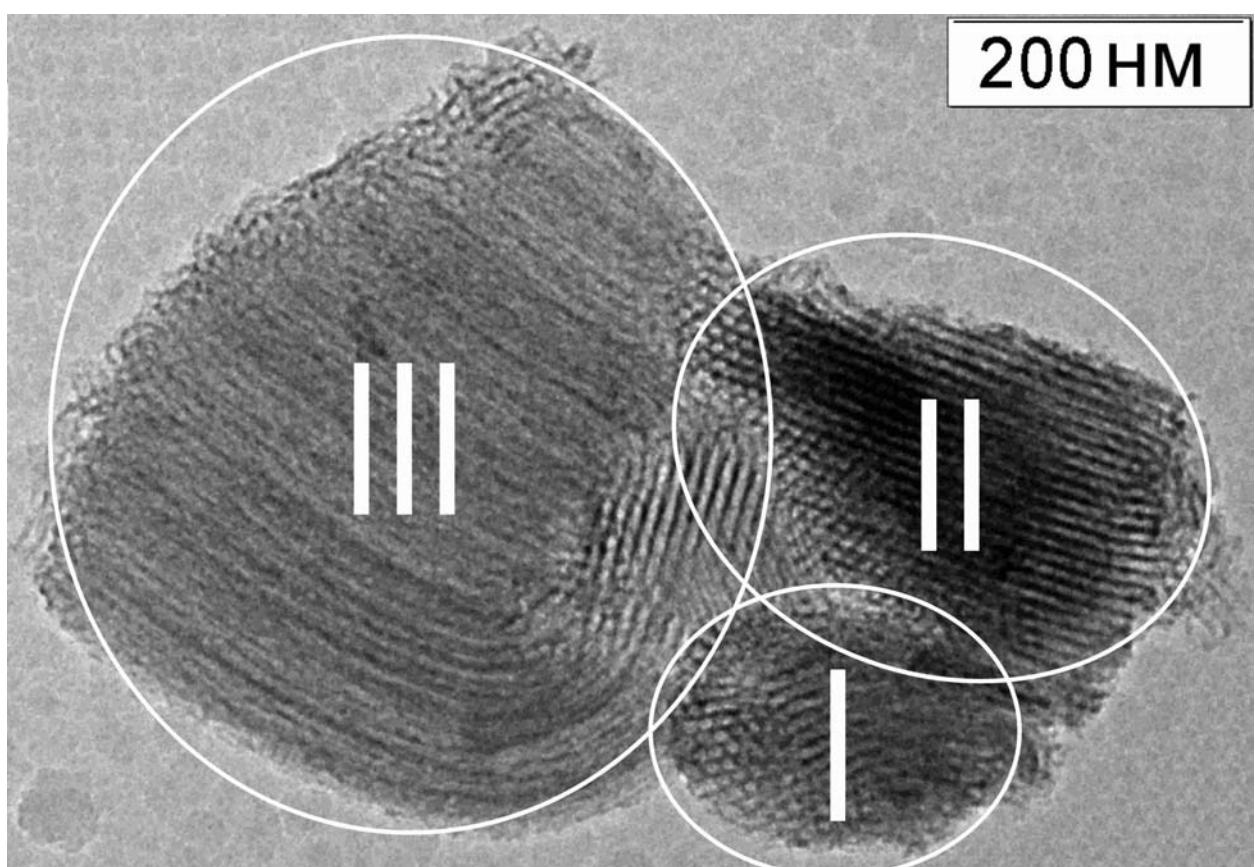


Рисунок 19. Общий вид частицы мезопористого силиката SBA-15 без наклона образца. Частица состоит из трех блоков, обозначенных римскими цифрами.

Угловая серия электронно-микроскопических снимков частицы силиката была получена в режиме светлого поля при увеличении 25000x в интервале углов от -72° до $+72^\circ$ с шагом в 1° и состоит из 145 электронно-

микроскопических снимков (см. рис. 20). Даже сама серия является ценным результатом, способным дать представление о пространственном строении объекта.

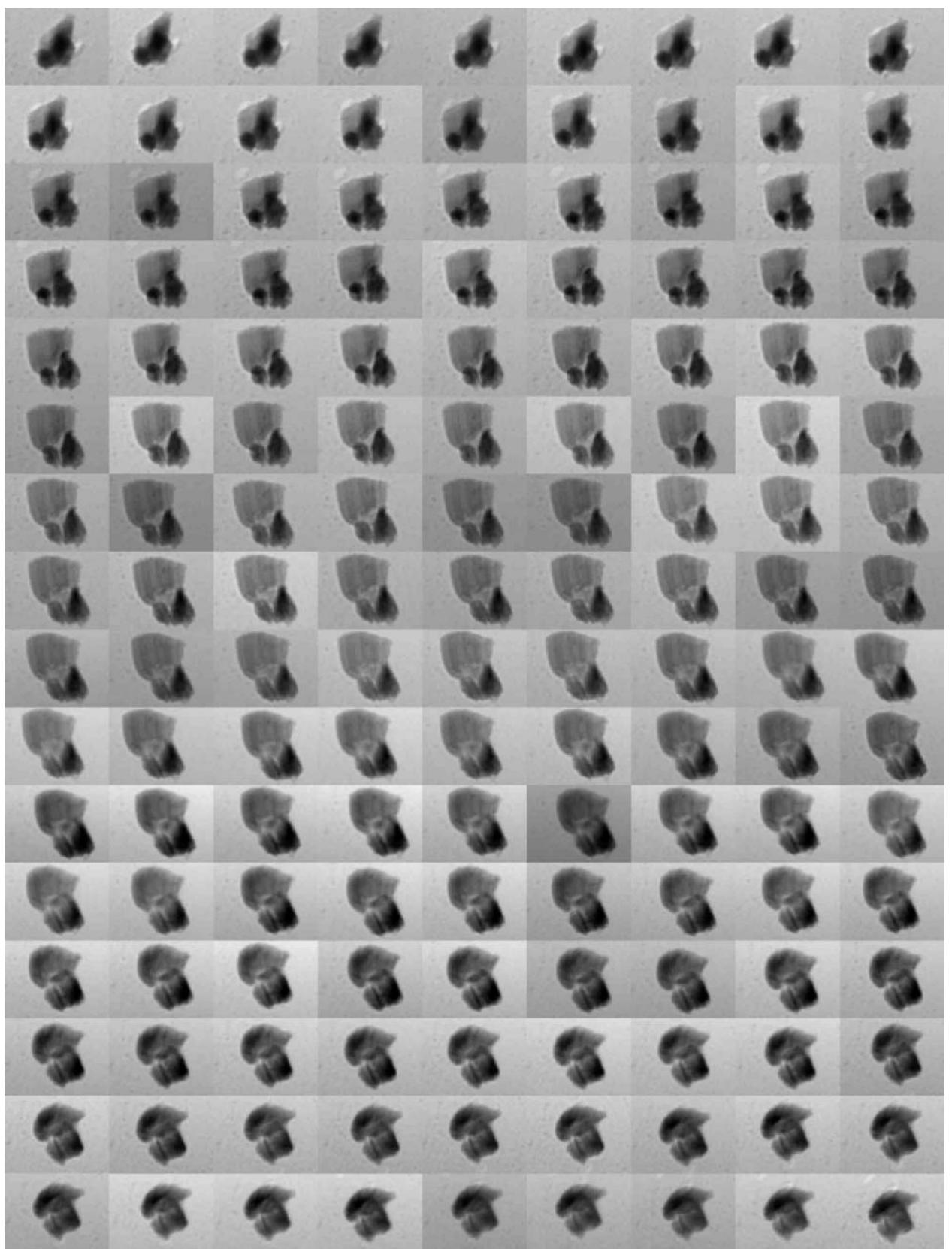


Рисунок 20. Угловая серия частицы мезопористого силиката SBA-15. Угол изменяется слева направо и сверху вниз от -72° до $+71^\circ$ с шагом в 1° .

Выравнивание угловых серий таких упорядоченных объектов является непростой задачей. Метод кросс-корреляции в этом случае не работает напрямую, поскольку упорядоченность в расположении пор приводит к появлению множества сильных максимумов на функции корреляции. Этую трудность удалось преодолеть, применяя частотные фильтры, срезающие высокие частоты настолько, что на фильтрованных изображениях изображение пор полностью подавляется (см. рис. 21а). Следующим шагом, позволяющим существенно повысить качество выравнивания методом кросс-корреляции, является sobel-фильтрация. Это преобразование выделяет границы объектов и подавляет те участки, где сигнал монотонен (см. рис. 21б).

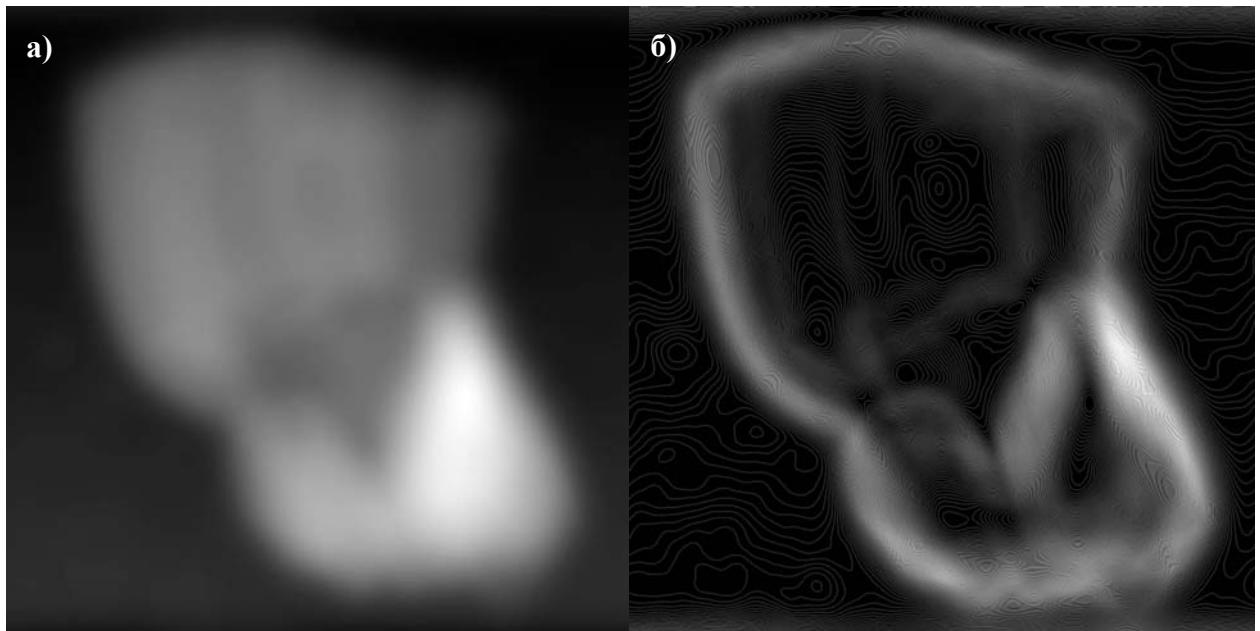


Рисунок 21. Фильтрованное изображение частицы силиката, пригодное для выравнивания методом кросс-корреляции (а); то же изображение, после применения sobel-фильтрации.

На рис. 22 приведены функции кросс-корреляции для нефильтрованных, фильтрованных и фильтрованных с дополнительной sobel-фильтрацией изображений, мезопористого силиката SBA-15. В случае нефильтрованных изображений (а) функция кросс-корреляции имеет

множество максимумов, в результате чего определить необходимое смещение для выравнивания снимков, – очень затруднительно. После применения высокочастотного фильтра (б) максимум остается только один, но он сильно размыт, соответственно и ошибка в его определении велика. Наконец, после применения дополнительной sobel-фильтрации (в), максимум резко сужается, в результате чего точность его определения существенно возрастает.

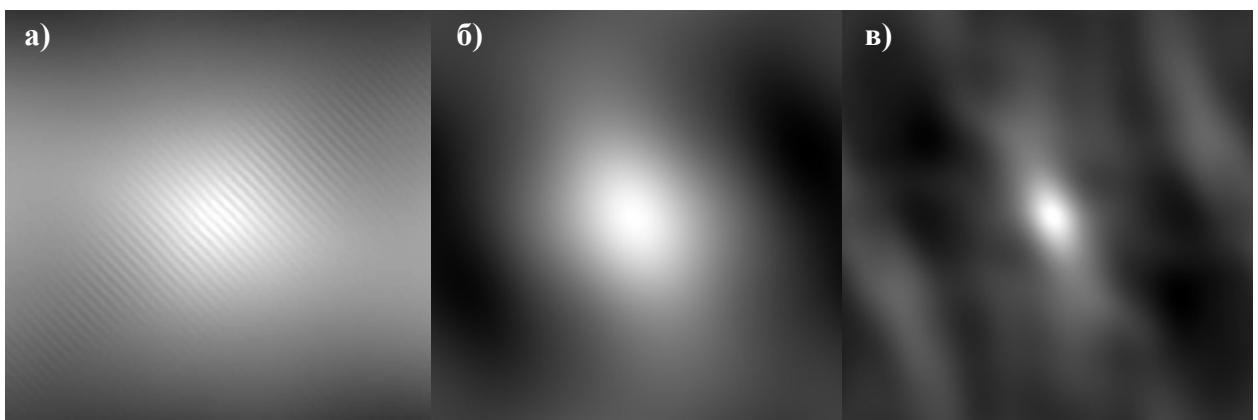


Рисунок 22. Типичная функция кросс-корреляции для не фильтрованных изображений (а); то же, для фильтрованных изображений, как на рис. 21а (б); для изображений, после применения sobel-фильтрации, как на рис. 21б (в).

Реконструкция угловой серии мезопористого силиката SBA-15 проводилась в программе IMOD методом взвешенных обратных проекций (FBPJ) без итеративного уточнения.

На рис. 23 приведены изображения повторных проекций, или ре-проекций, полученных проецированием реконструированного объема под теми же углами, под которыми были получены исходные проекции, а на рис. 24 – исходный снимок и ре-проекция при нулевом угле наклона. Сходство ре-проекции и исходного изображения столь велико, что их трудно не перепутать, что говорит о корректности выполненной реконструкции.

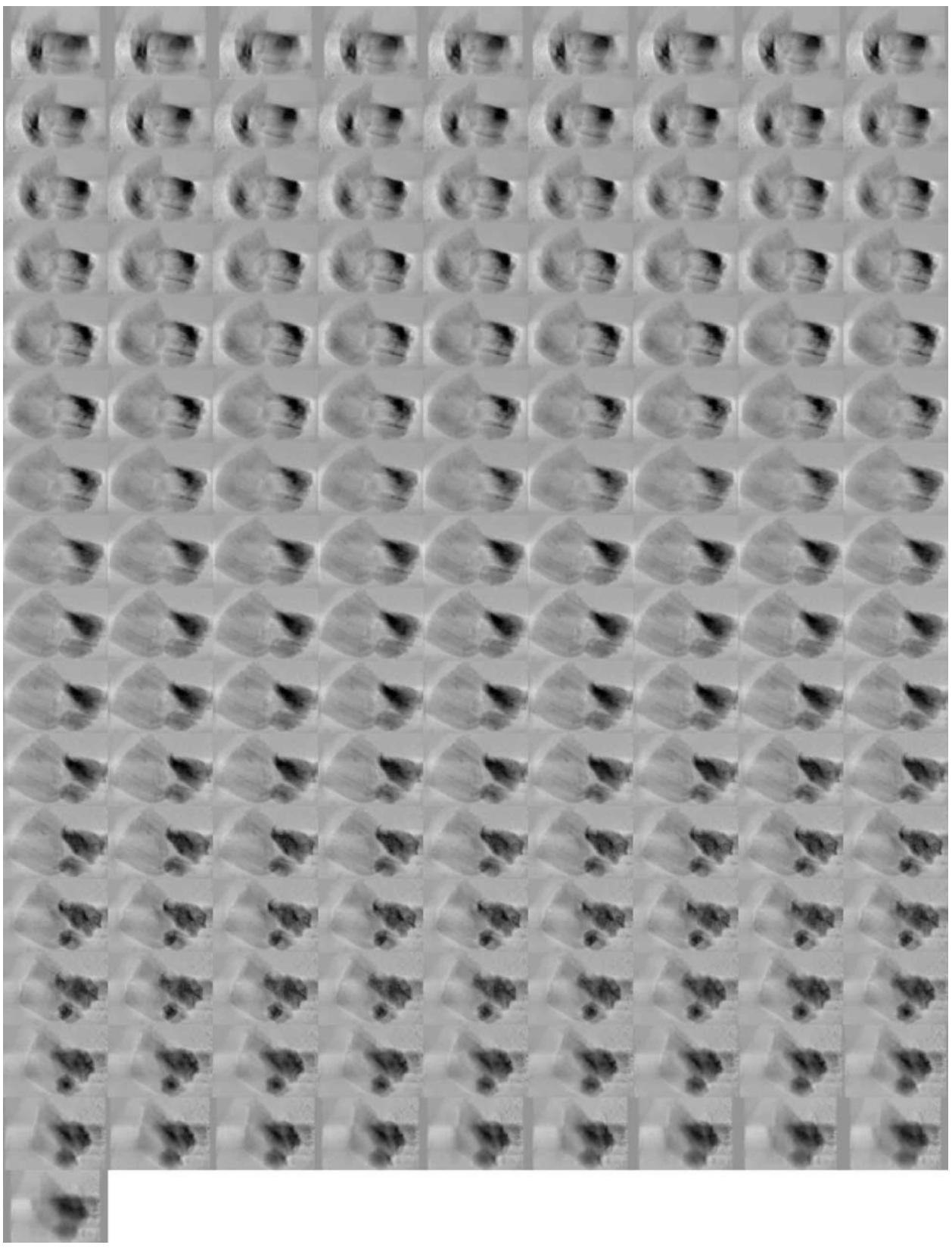


Рисунок 23. Ре-проекции реконструированной частицы мезопористого силиката SBA-15. Углы проецирования соответствуют углам снимков на рисунке 20.

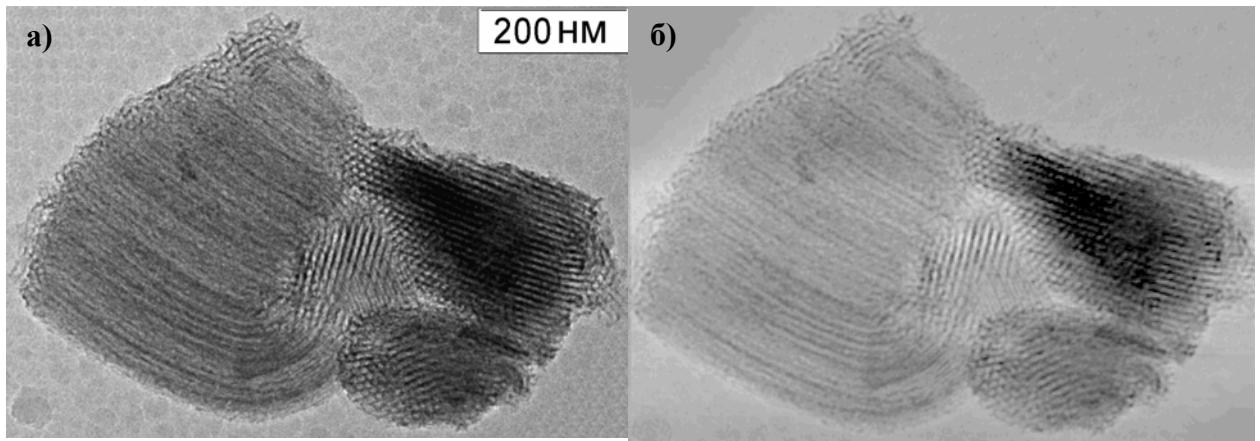


Рисунок 24. Сравнение исходного снимка (а) и ре-проекции (б) не наклоненной частицы силиката.

Ре-проекции могут служить не только качественным показателем корректности реконструкции, но и количественным тоже. Для этого можно рассчитать ошибку реконструкции по методике, описанной во второй главе. Пакет программ IMOD не содержит встроенных функций расчета ошибки реконструкции. Для того чтобы посчитать ошибку реконструкции для реконструкций, выполненных при помощи этого программного пакета, была разработана специальная программа, по наборам исходных проекций и ре-проекций рассчитывающая ошибку по формуле (15б). Рассчитанная для этого образца ошибка реконструкции составила 63%. Столь высокая ошибка обусловлена низким качеством алгоритмов реконструкции, используемых в программном пакете IMOD, что выражается высоким уровнем фона на создаваемых этим пакетом реконструкциях.

На рис. 25 приведена серия томографических срезов реконструированной частицы силиката вдоль оси, ортогональной плоскости снимков. На этих срезах хорошо видна система пор исследованной частицы. Срезы являются важным инструментом анализа томографических реконструкций, поскольку позволяют заглянуть внутрь объекта, исследовать его внутреннее строение. На приведенных срезах видно, что блок I (справа внизу) в поперечнике имеет почти идеально гексагональную форму, а

мезопоры блока II замыкаются друг на друга с внешней стороны, причем это замыкание ярче выражено, чем для блока III. Кроме того, мезопоры блока III образуют U-образную конфигурацию, сходную с той, что наблюдали авторы работы [47]. В месте крепления блоков мезопоры образуют сложную структуру, разрешить и описать которую нам не удалось вследствие недостаточного качества выравнивания, а, следовательно, и реконструкции.

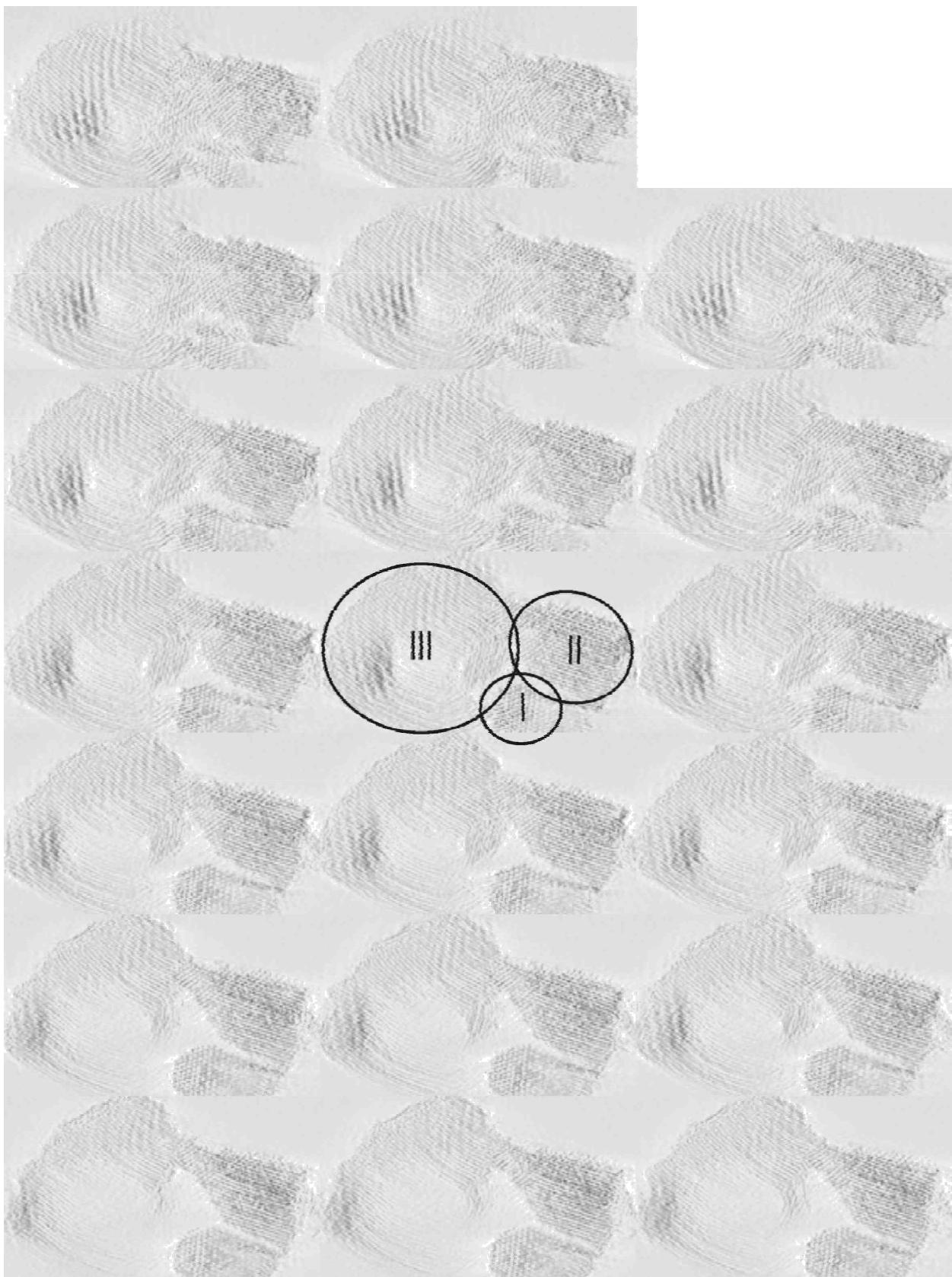


Рисунок 25. Несколько томографических срезов реконструированной частицы вдоль оси, перпендикулярной плоскости исходных снимков.

На рисунке 26 приведены изображения небольшого участка реконструированного объема блока I, – в режиме эмиссии-абсорбции света (а) и в режиме изоповерхности (б). Рисунки получены с помощью очень мощной программы визуализации трехмерных данных Amira [55]. Эти рисунки демонстрируют важное достоинство метода электронной томографии – интересующий нас элемент объема может быть выделен и изучен отдельно от всей остальной частицы. В данном случае был выделен и визуализирован элемент первого блока (см. рис. 19) в направлении, ортогональном его порам. Здесь хорошо видно, что этот блок имеет гексагональную форму и образован плотно упакованными порами. Режим эмиссии-абсорбции света для визуализации здесь оказался предпочтительнее, поскольку структура сильно разрежена, а для качественного представления в режиме изоповерхности недостаточно качества реконструкции.

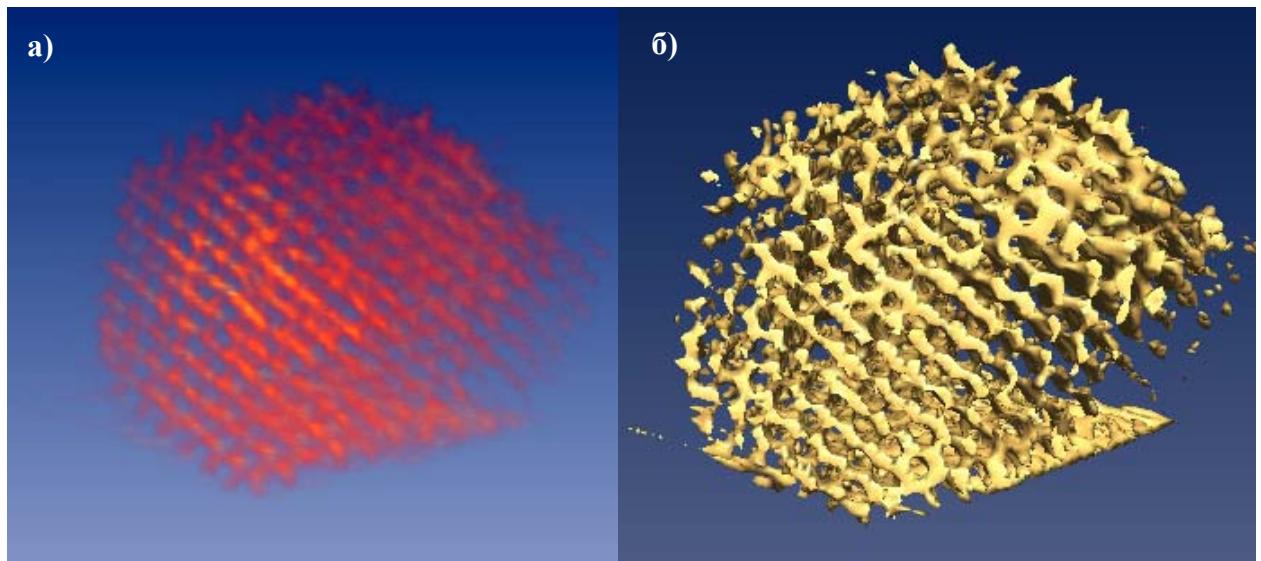


Рисунок 26. Небольшой участок реконструированного объема (блок номер I), – в режиме эмиссии-абсорбции света (а); в режиме изоповерхности (б).

На рис. 27 проведено сопоставление одного из исходных изображений и тонкого, толщиной около 1 нм, среза томографической реконструкции этой частицы. Даже грубое выравнивание серии методом корреляции дало неплохой результат – период чередования пор на электронно-

микроскопических снимках и на томографических срезах (10.8 нм) – совпадают, что и говорит о корректности метода.

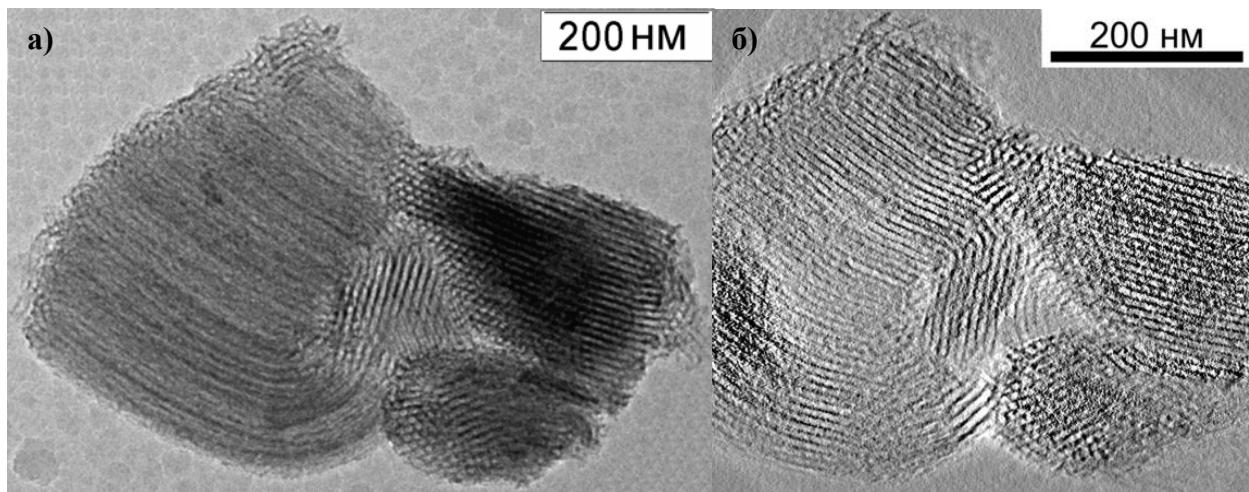


Рисунок 27. Электронно-микроскопический снимок частицы мезопористого силиката SBA-15 в не наклоненной ориентации (а); томографический срез реконструированной частицы в той же ориентации (б).

4.2 Исследование нанесенного платинового катализатора на основе сибунита

Следующим шагом было применение метода электронной томографии в светлом поле для исследования реального катализатора. Образец представлял собой глобулы сибунита с нанесенной на их поверхность платиной [57, 58] (см. рис. 28). Количество нанесения платины 9%. Размер частиц платины составлял 2-4 нм. Целью исследования этого образца было изучение особенностей пространственного распределения частиц металлической платины по поверхности сибунита, а также апробация метода ЭТ в светлом поле на реальном объекте материаловедения. Результаты этого исследования опубликованы в работах [49,50].

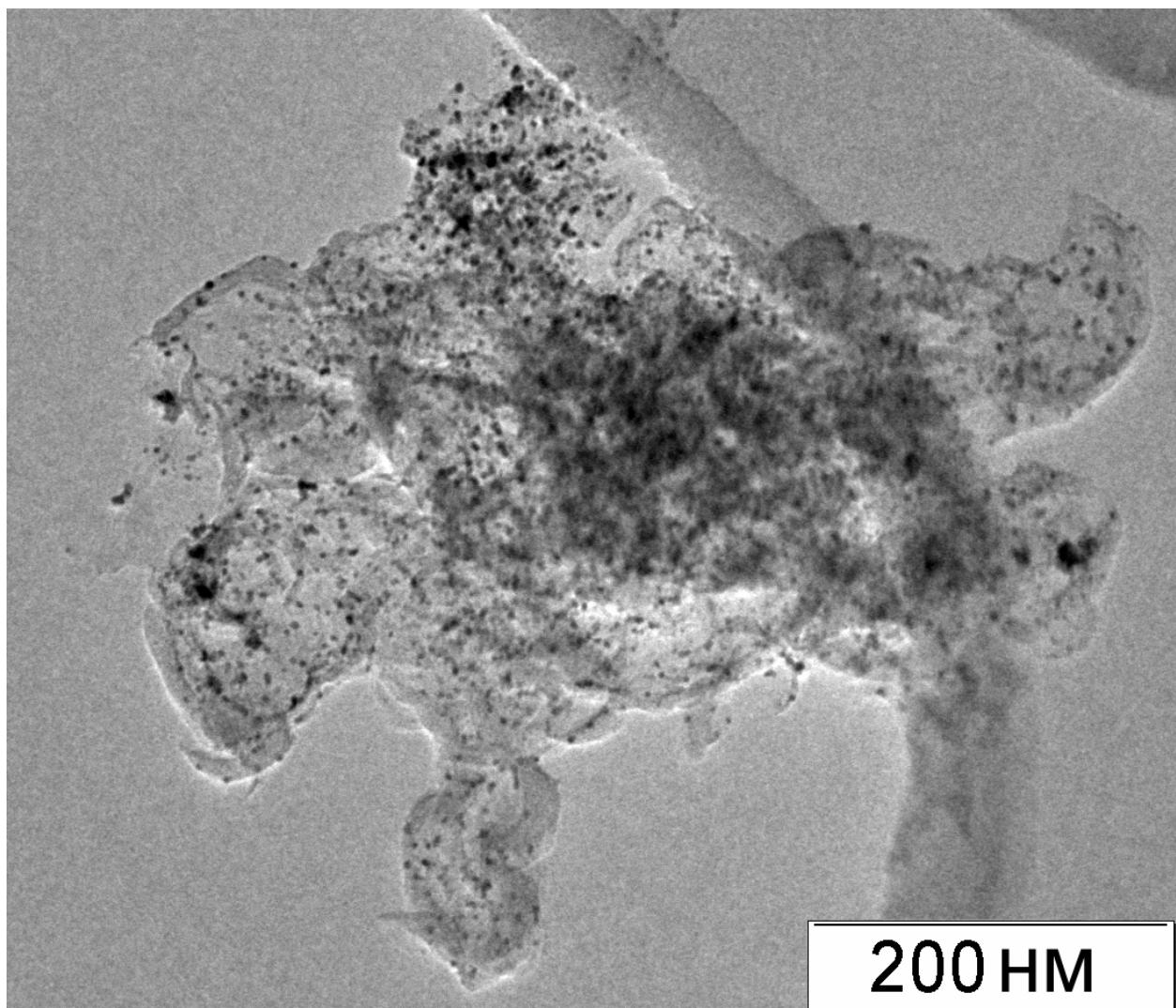


Рисунок 28. Общий вид частицы сибунита с нанесенной платиной.

Угловая серия электронно-микроскопических снимков частицы сибунита была получена в режиме светлого поля при увеличении 30000 \times в интервале углов от -71° до +72° с шагом в 1° и состоит из 144 электронно-микроскопических снимков (см. рис. 29). Снимок при угле наклона -72° оказался частично заслонен другой частицей, поэтому реконструкцию пришлось делать без него.

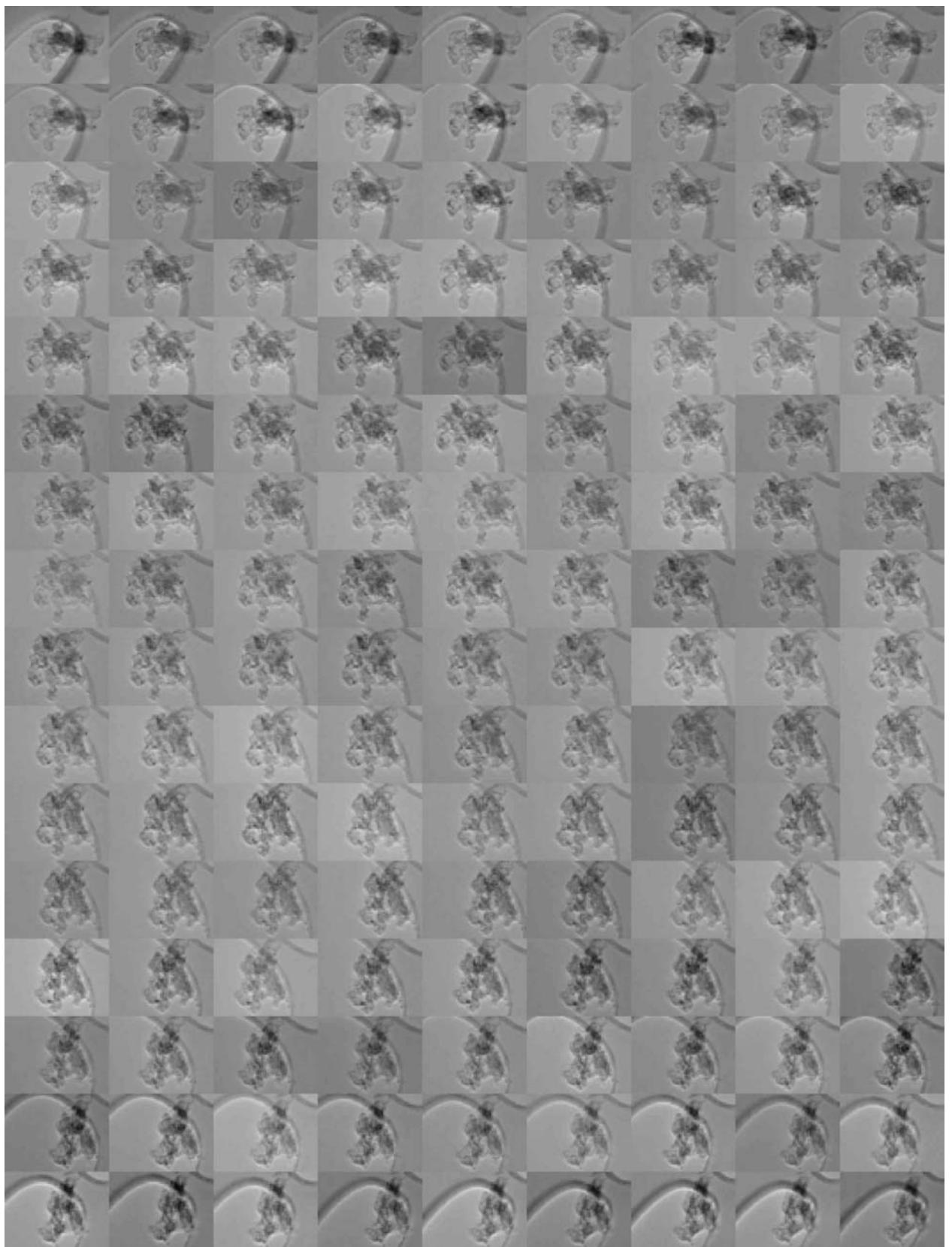


Рисунок 29. Угловая серия частицы нанесенного платинового катализатора на основе сибунита. Угол изменяется слева направо и сверху вниз от -71° до $+72^\circ$ с шагом в 1° .

Выравнивание угловой серии проводилось методом кросс-корреляции (грубое выравнивание) и методом маркеров [48], в качестве которых использовались сами частицы платины (точное выравнивание). Метод маркеров, хоть и не предназначенный для такого рода систем, как нанесенный катализатор с частицами различных размеров, нанесенных, к тому же не на подложку, а на сам образец, дал неплохой результат. На рис. 30 приведены изображения повторных проекций, или ре-проекций, полученных проецированием реконструированного объема под теми же углами, под которыми были получены исходные проекции, а на рис. 31 – исходный снимок и ре-проекция при нулевом угле наклона. Сходство ре-проекции и исходного изображения подтверждает корректность выполненной реконструкции. Численная ошибка, рассчитанная для этого объекта по формуле (15б) составила 63%. Эта цифра не отличается от полученной для мезопористого силиката SBA-15. По-видимому, это связано с высоким значением фона в реконструкциях, создаваемых пакетом программ IMOD.

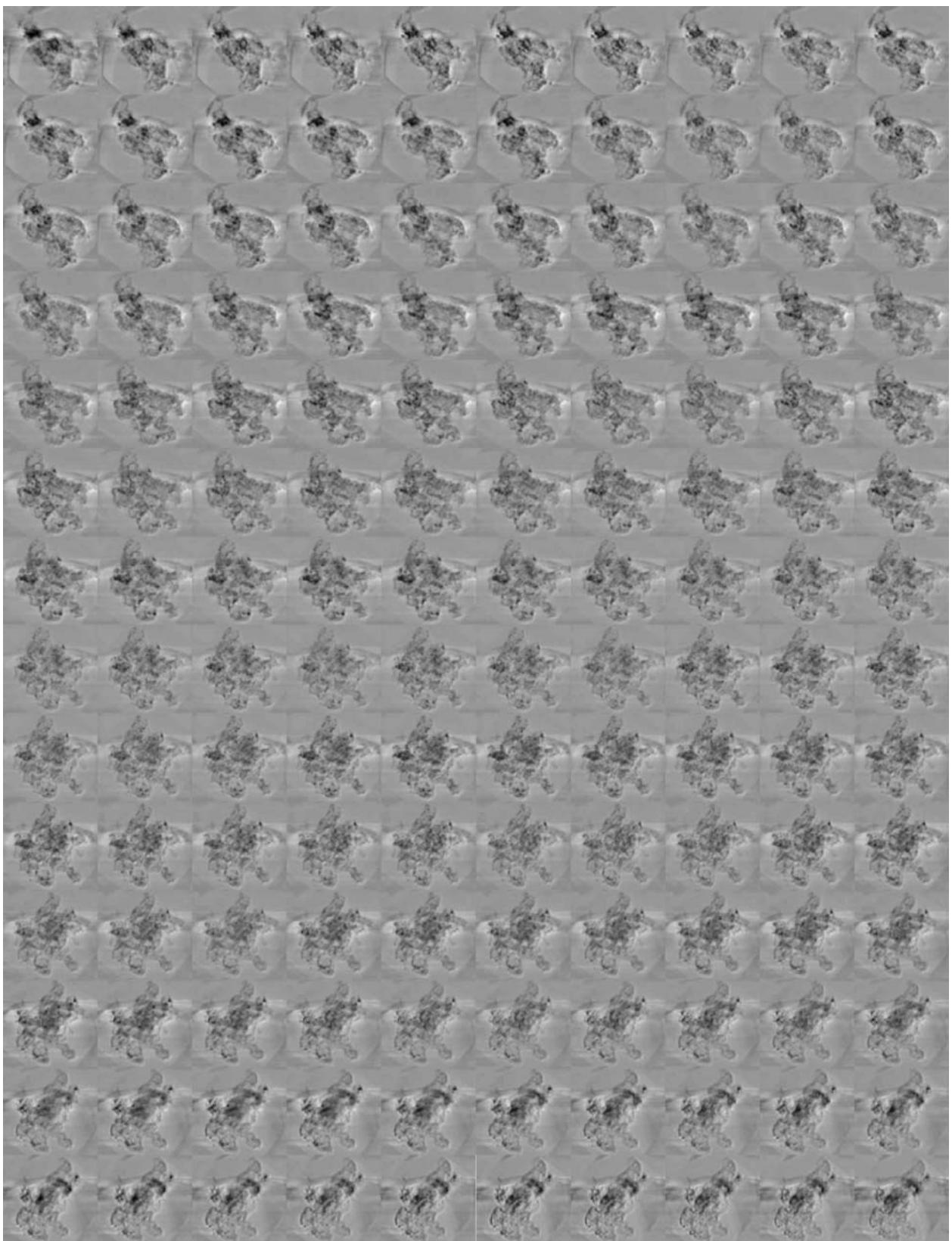


Рисунок 30. Ре-проекции реконструированной частицы нанесенного платинового катализатора на основе сибунита в диапазоне от -71° до 68° . При больших углах изображение смазано.

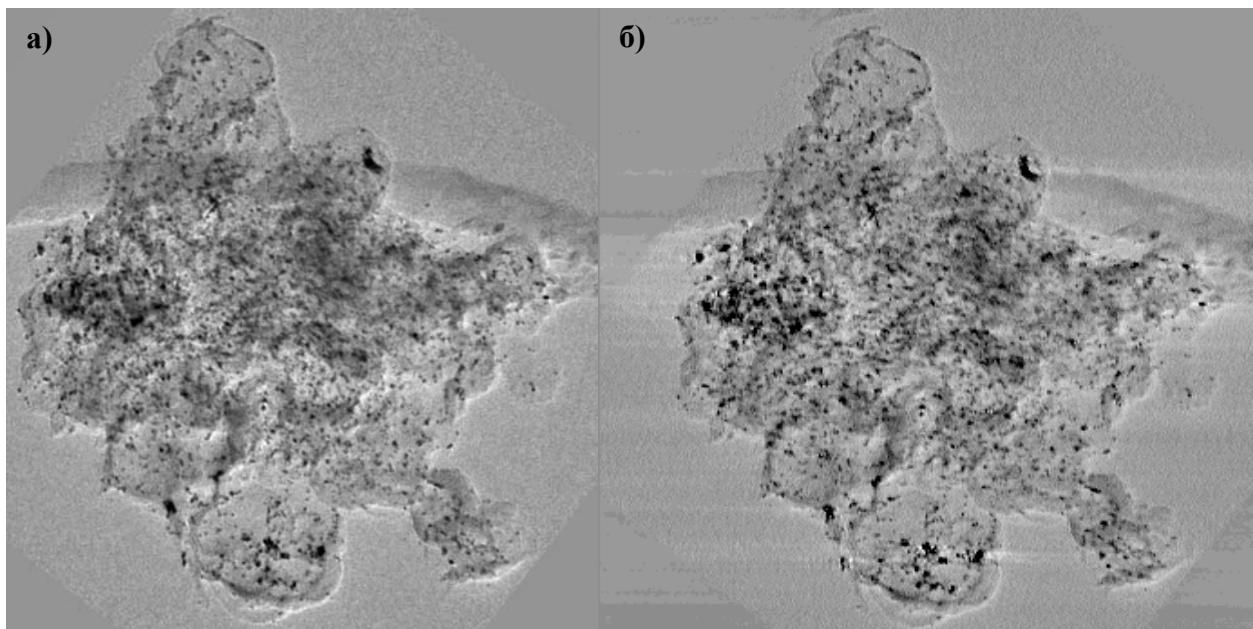


Рисунок 31. Сравнение исходного снимка (а) и ре-проекции (б) не наклоненной частицы сибуниста.

Как и для образца мезопористого силиката, реконструкция угловой серии образца Pt/сибунист проводилась в программе IMOD методом взвешенных обратных проекций (FBPJ) без итеративного уточнения.

На рисунке 32 приведена небольшая серия томографических срезов реконструированной частицы Pt/сибунист вдоль оси, ортогональной плоскости снимков. Из этих срезов можно делать выводы о толщине стенок глобул, их форме, замкнутости или не замкнутости, а также о расположении частиц платины на поверхности глобул. Такие выводы будут сделаны на основе рисунка 34, где эти срезы рассматриваются более детально.

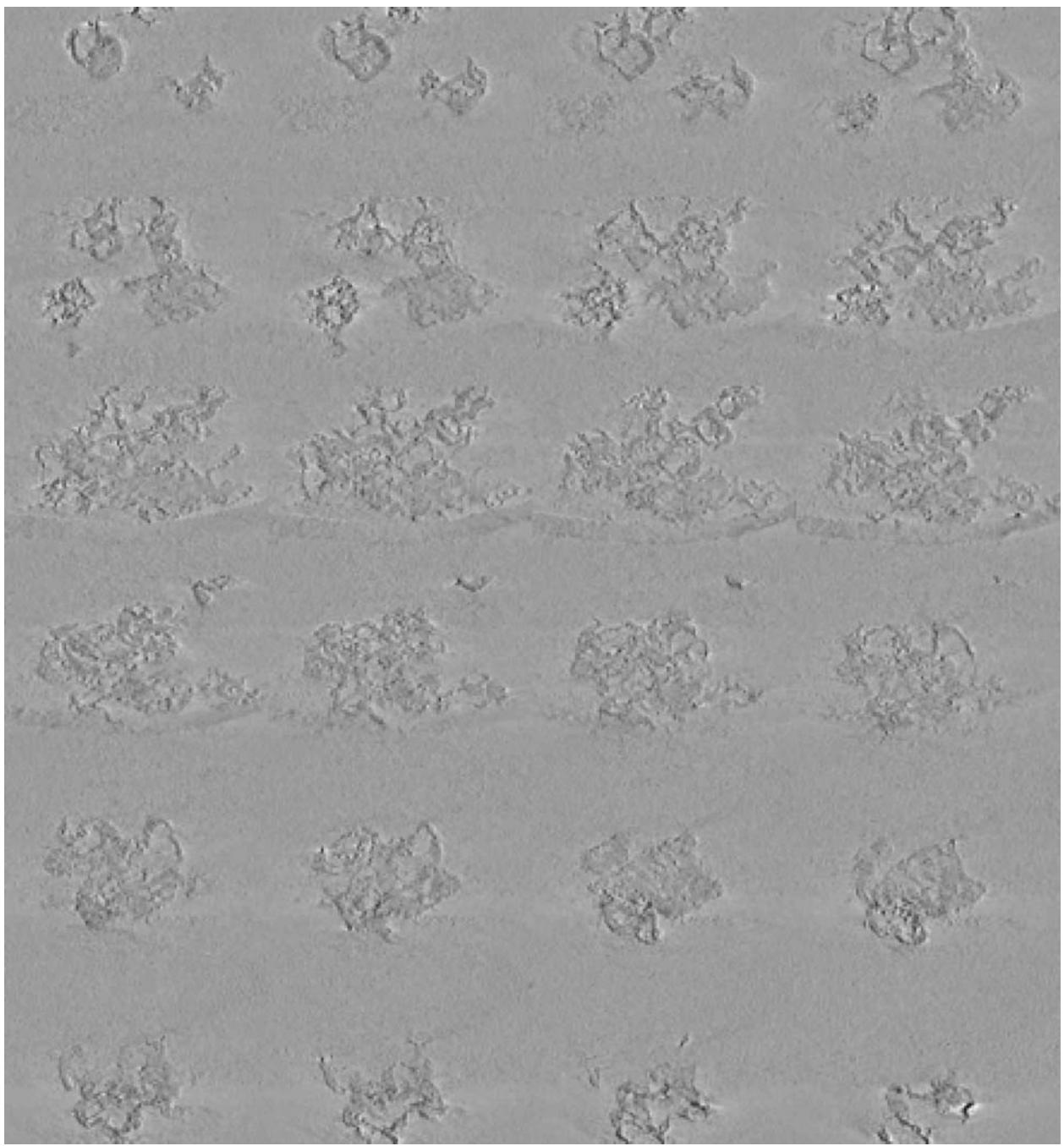


Рисунок 32. Несколько томографических срезов реконструированной частицы вдоль оси, перпендикулярной плоскости исходных снимков.

На рисунке 33 приведены изображения реконструированной частицы Pt/сибунит в режиме эмиссии-абсорбции света при разных значениях порога, выделяющих либо только частицы платины, либо только глобулы сибунита. И в том, и в другом случае имеется также и множество артефактов, происхождение которых кроется в непрозрачности частиц платины при

выбранном режиме съемки, в результате чего на каждом снимке отсутствует информация о плотности вещества на линии, перекрываемой каждой частицей. На реконструкции это проявляется в виде темных лучей, исходящих из каждой частицы металла (линейные структуры на рисунках 33а и 33б). Описанные артефакты также делают невозможным использование для визуализации режима изоповерхностей, поскольку этот режим очень чувствителен к качеству реконструкции.

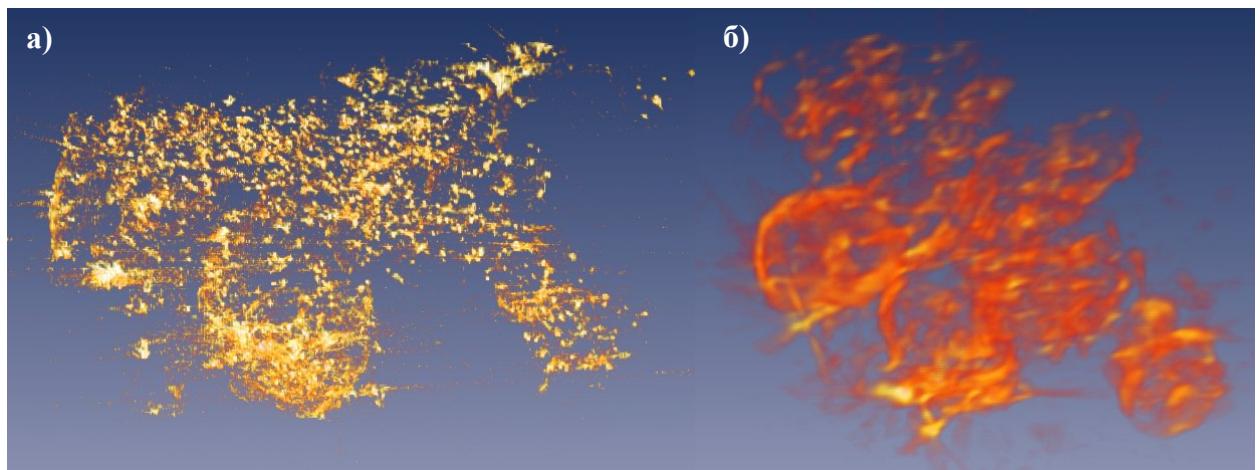


Рисунок 33. Реконструированный объем в режиме эмиссии-абсорбции света. Порог отображаемой плотности выбран для отображения только частиц платины (видны также некоторые яркие артефакты) (а); порог выбран для отображения стенок глобул (тоже с артефактами) (б).

На рисунке 34 приведены два тонких, толщиной менее нанометра, среза реконструированной трехмерной частицы сибунита в плоскости ортогональной и в плоскости, параллельной оси вращения (34б и 34в соответственно). Оба среза проходят через частицу платины размером 2 нм, расположенную на внутренней поверхности глобулы. Получение информации такого рода уникально для метода ЭТ. Эта информация не может быть получена методом ПЭМ. На рисунке 34в также видно, что стенка глобулы не сплошная, в ней имеется разрыв размером 15 нм. Через этот разрыв частицы металла могут попадать внутрь глобулы. Из артефактов, видны «тени» металлических частиц, о которых говорилось ранее. На срезе

(в) те же тени выглядят как частицы. Именно по этой причине для однозначной идентификации частицы металла необходимо использовать как минимум два ортогональных среза.

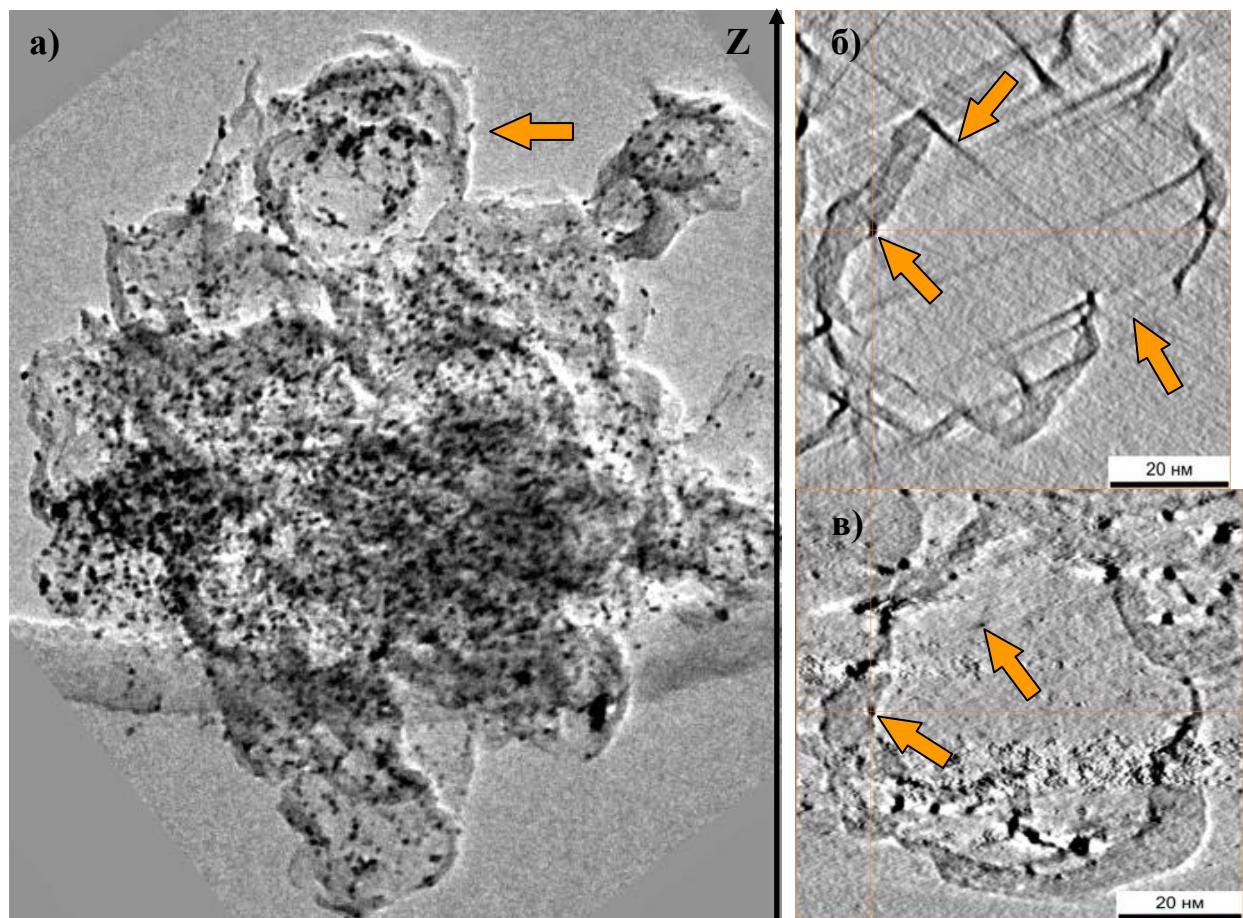


Рис. 34. а) Агломерат глобул сибунита с нанесенными частицами Pt размером около 2 нм. Тонкие, толщиной менее нанометра, срезы реконструированной трехмерной частицы сибунита (отмечено стрелкой) в плоскости, ортогональной (б) и параллельной оси вращения Z (в).

Полученный результат свидетельствует о наличии частиц катализатора, доступных для реагента, на внутренней поверхности глобул сибунита. Эта информация очень важна для понимания природы таких катализаторов, поскольку возможность проведения катализа частицами, расположенными на внутренней поверхности глобул сильно влияет на устойчивость этих катализаторов, внутренние частицы существенно меньше

«смываются» реагентом. Метод ЭТ дает уникальную информацию о таких системах.

Также напрямую зарегистрированные нами при помощи метода ЭТ мезопоры, связывающие внутреннюю полость глобул сибунита с внешним миром, дают непосредственное экспериментальное подтверждение принятому механизму формирования этих объектов в процессе выгорания внутренности сажевых частиц.

4.3 Реконструкция габитуса частицы медно-никелевого катализатора синтеза волокнистого углерода

На последнем этапе работы методика регистрации угловых серий в режиме аксиального темного поля (HACDF) отрабатывалась на медно-никелевой частице, ведущей синтез КВУ. Результаты реконструкции габитуса металлической частицы были описаны нами в [51-53].

Образец представлял собой каталитический волокнистый углерод, образовавшийся на медно-никелевом катализаторе. Образец был получен разложением метана CH_4 при температуре 625°C на катализаторе, состоявшем из 75% Ni и 15% Cu на носителе Al_2O_3 [59, 60]. Металлические частицы в этом образце имеют средний размер около 70 нм и хорошо огранены. На рис. 35 приведено ЭМ изображение частицы катализатора с образовавшимся на ней волокном. Частица хорошо огранена, ее размер составляет около 70 нм. Неоднородная освещенность металлической частицы связана с наличием дифракционного контраста, препятствующего проведению реконструкции таких объектов по изображениям, полученным в режиме светлого поля.

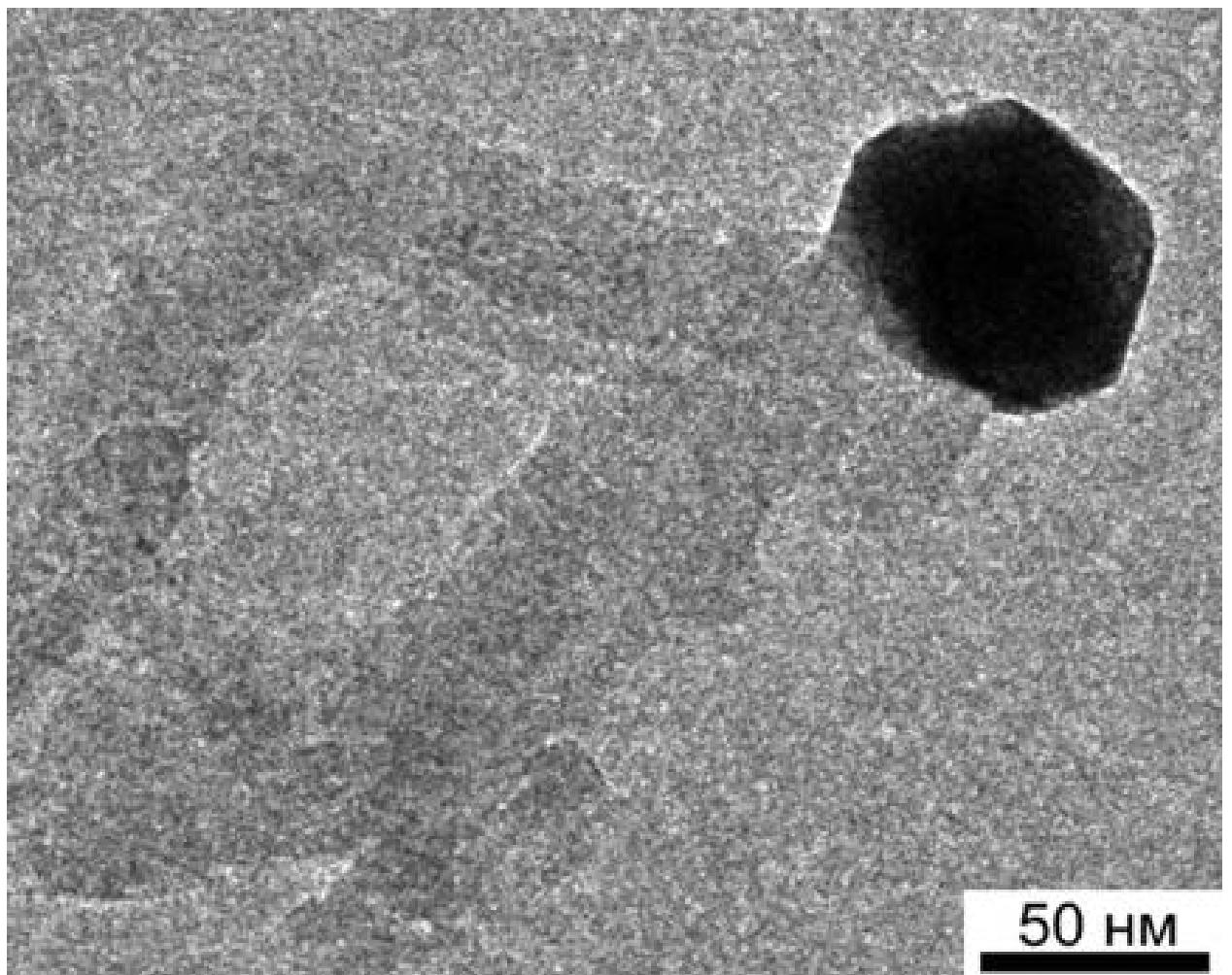


Рисунок 35. Изображение медно-никелевой частицы с образовавшимся на ней углеродным волокном в режиме светлого поля.

В режиме НАСДФ в диапазоне углов $\pm 72^\circ$ с шагом в 2° была получена угловая серия ЭМ изображений медно-никелевой частицы с образовавшимся на ней углеродным волокном (см. рис. 36). Съемка проводилась при увеличении 50000x. Соотношение сигнал/шум на изображениях составляло 10/1 для металлической частицы и 3/1 для углеродного волокна.

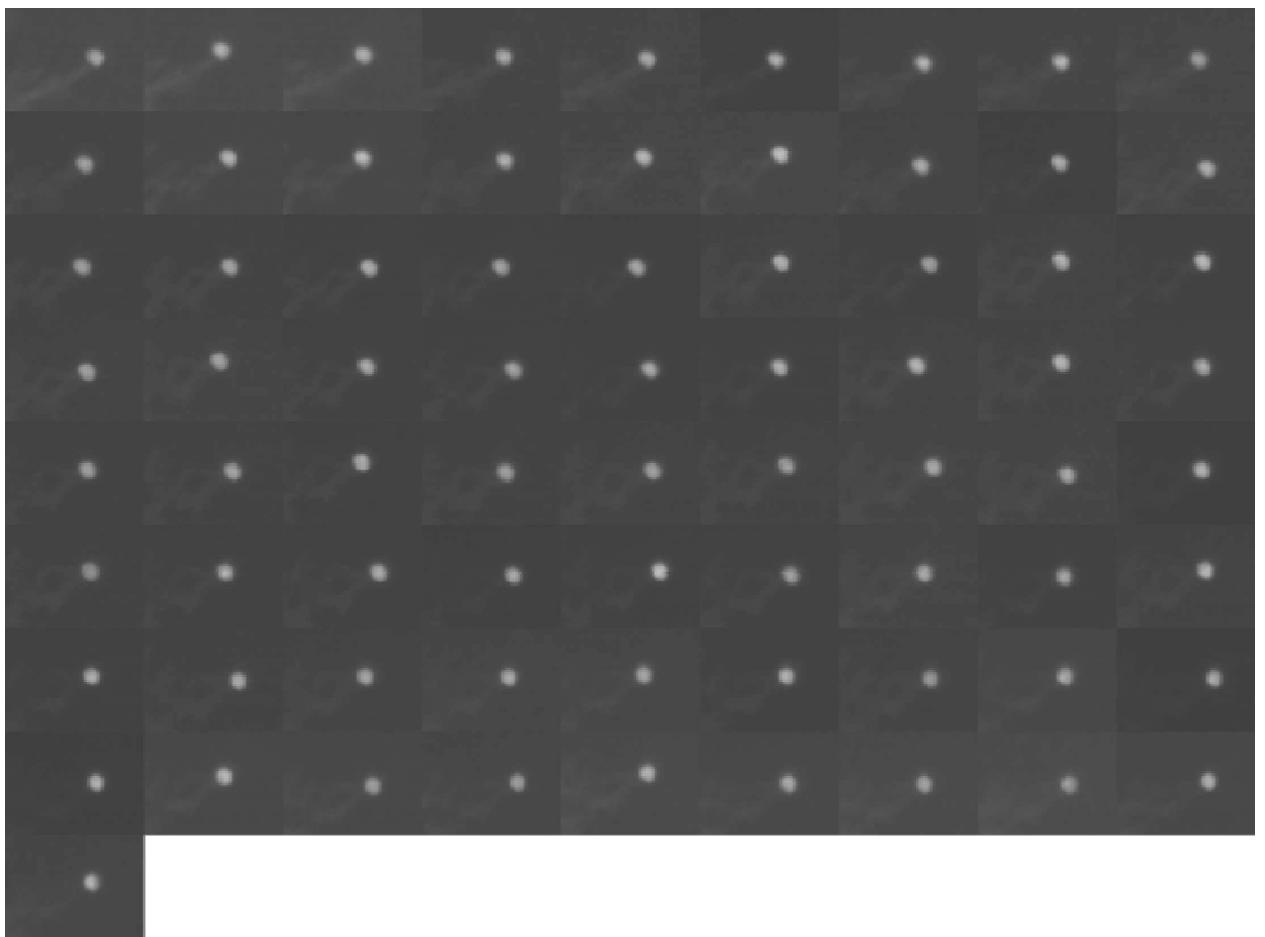


Рисунок 36. Угловая серия электронно-микроскопических изображений медно-никелевой частицы с образовавшимся на ней углеродным волокном в диапазоне углов $\pm 72^\circ$ с шагом в 2° .

Метод Z-контраста характеризуется низким соотношением сигнал-шум. В найденном нами режиме съемки при выдержке в 7 сек. соотношение сигнал-шум для металлической частицы было около 10, что вполне приемлемо. Углерод – легкий элемент, поэтому соотношение сигнал-шум углеродного волокна на снимках, полученных в режиме HACDF, существенно ниже и составляет 3.

Для обработки данных использовался пакет программ для электронной томографии IMOD, а также разработанные нами алгоритмы и программы. Речь идет об удалении артефактов, связанных с шумами CCD камеры (см. рис. 37). Выравнивание угловой серии производилось методами

корреляции с применением частотной и sobel фильтрации. Для оптимизации наклона и положения оси использовался разработанный и реализованный нами метод пространственной оптимизации. Томографическая реконструкция осуществлялась с помощью разработанной нами программы методом взвешенных обратных проекций с итеративным уточнением (IWBPJ).

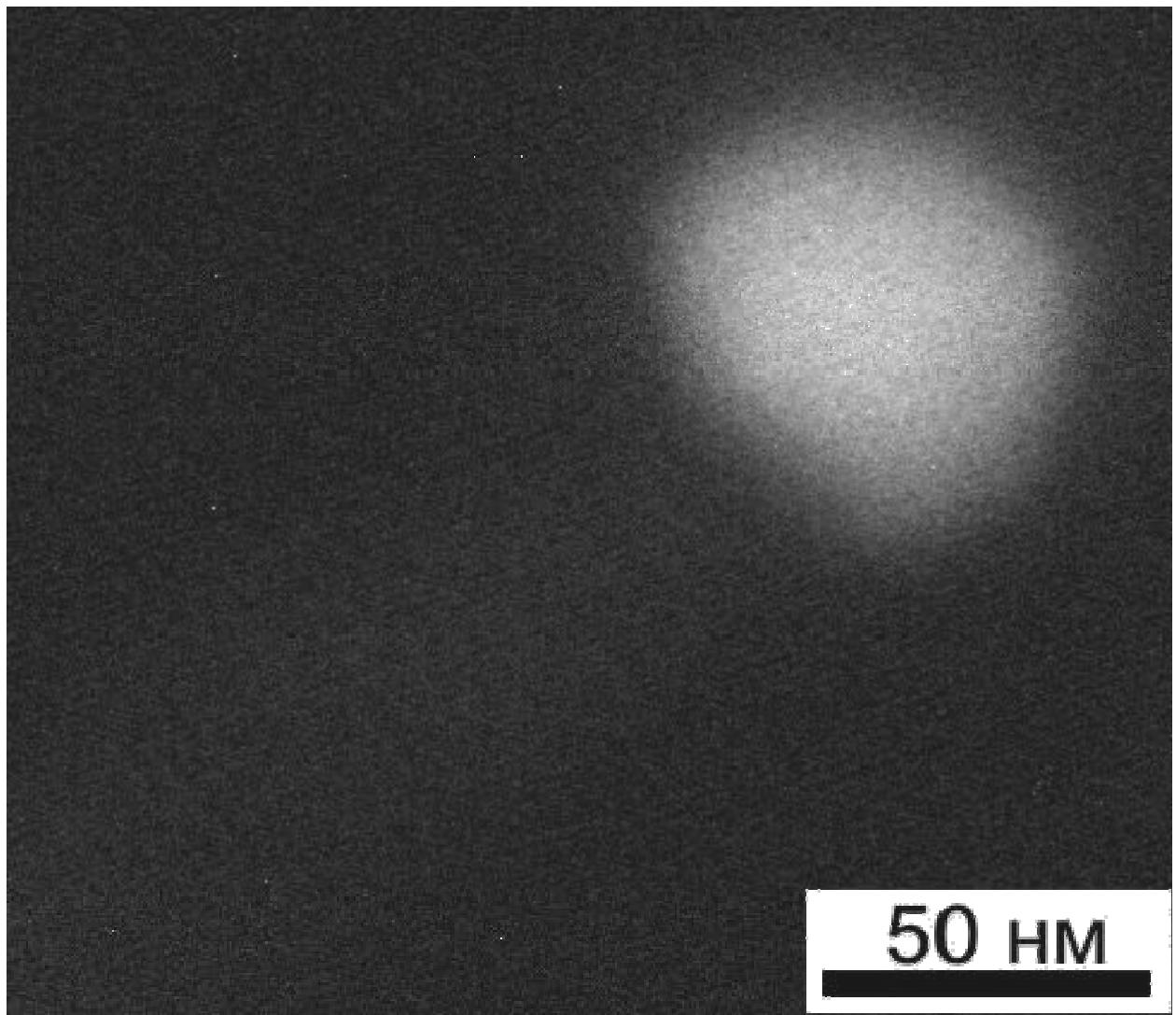


Рисунок 37. Изображение медно-никелевой частицы в режиме HACDF без применения алгоритмов очистки от шумов CCD камеры.

На изображении металлической частицы, полученном в режиме HACDF (см. рис. 37) видно, что огранка частицы сохраняется, но отсутствует дифракционный контраст, присутствующий на рис. 35. Контраст

металлической частицы на рисунках 36 и 37 значительно выше контраста углеродных волокон, что объясняется разницей атомных номеров никеля и углерода и квадратичной зависимостью интенсивности от атомного номера в режиме HACDF.

На рисунке 38 приведены изображения повторных проекций, или ре-проекций, полученных проецированием реконструированного объема под теми же углами, под которыми были получены исходные проекции, а на рисунке 39 – исходный снимок и ре-проекция при нулевом угле наклона. Сходство ре-проекции и исходного изображения подтверждает корректность выполненной реконструкции. Численная ошибка, рассчитанная для этого объекта по формуле (15б) составила 12%.

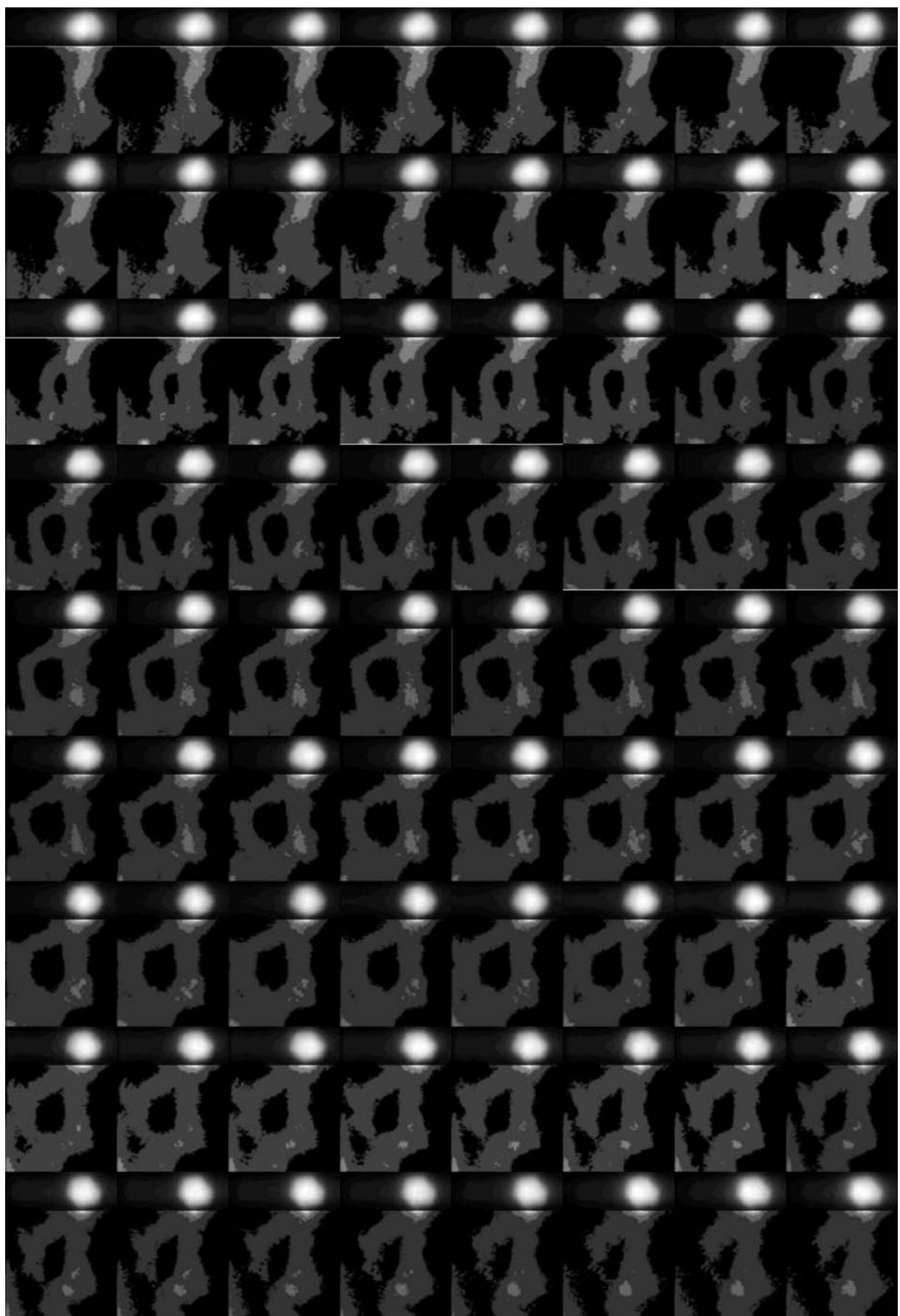


Рисунок 38. Ре-проекции реконструированной частицы медно-никелевого катализатора.

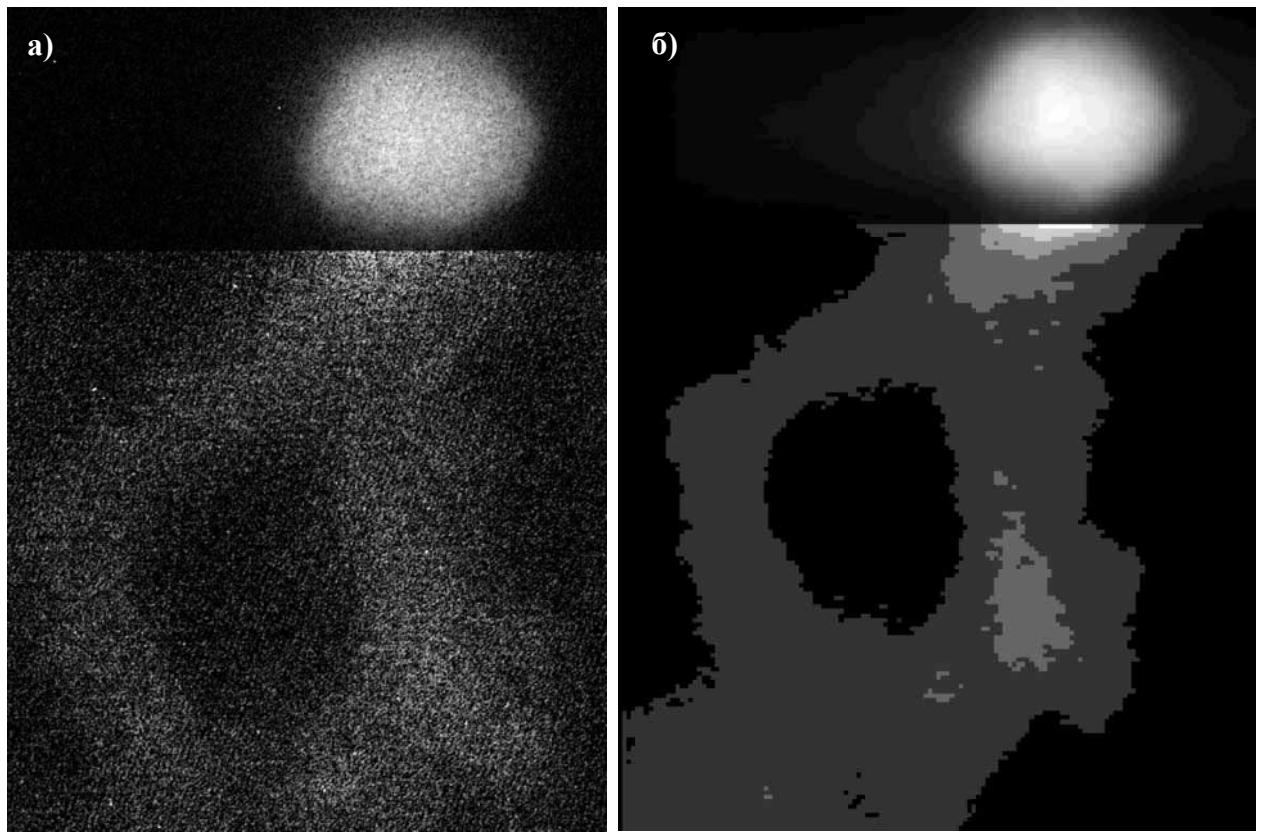


Рисунок 39. Сравнение исходного снимка (а) и ре-проекции (б) не наклоненной частицы медно-никелевого катализатора.

Срезы для этой системы не представляют большого интереса, поэтому на рисунке 40 мы приводим лишь два взаимно ортогональных среза, демонстрирующих огранку частицы.

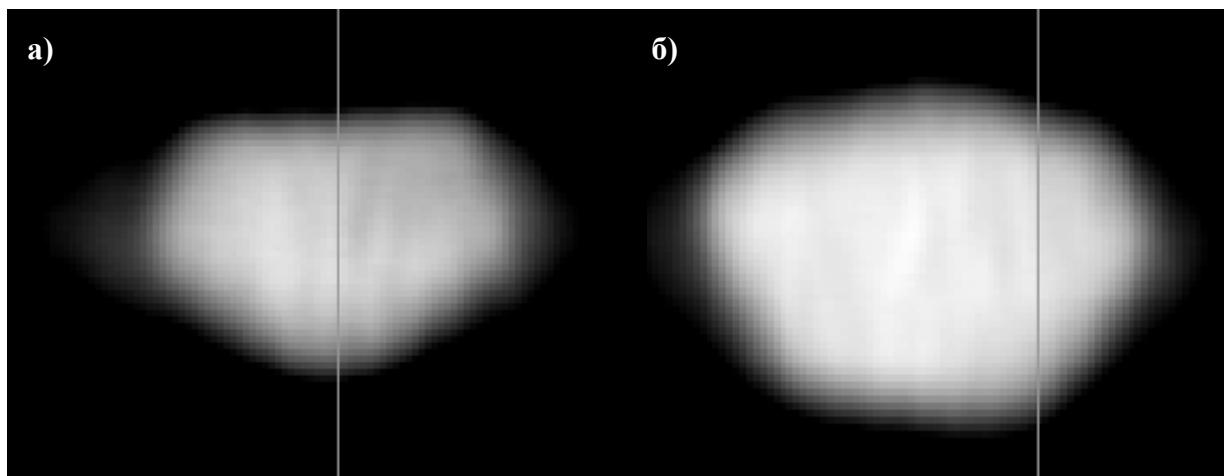


Рисунок 40. Срезы томографически реконструированной частицы медно-никелевого катализатора. Вертикальная линия на срезах означает сечение плоскостью, ортогональной плоскости рисунка: срез (б) получен в плоскости, соответствующей линии на срезе (а); срез (а) лежит в плоскости, соответствующей линии на срезе (б).

Для человека естественно воспринимать трехмерный объект посредством восприятия его поверхности. В то же время режим визуализации посредством отображения изоповерхностей лучше всего подходит для этого образца, поскольку качество реконструкции достаточно высокое, и объект состоит из довольно больших блоков однородной плотности. Именно это представление и является конечным продуктом томографической реконструкции при восстановлении габитуса кристаллических наночастиц.

На рисунке 41 приведены изображения металлической частицы в одной и той же ориентации в режиме светлого поля (а), в режиме НАСДФ (б), и в режиме визуализации изоповерхности (с). На модели поверхности томографически реконструированной частицы металла, хорошо видны грани кристаллита. Справа внизу в месте прикрепления углеродного волокна в частице видна выемка (отмечено стрелкой), которая образовалась в процессе роста углеродного волокна в результате переноса металла в растущее волокно.

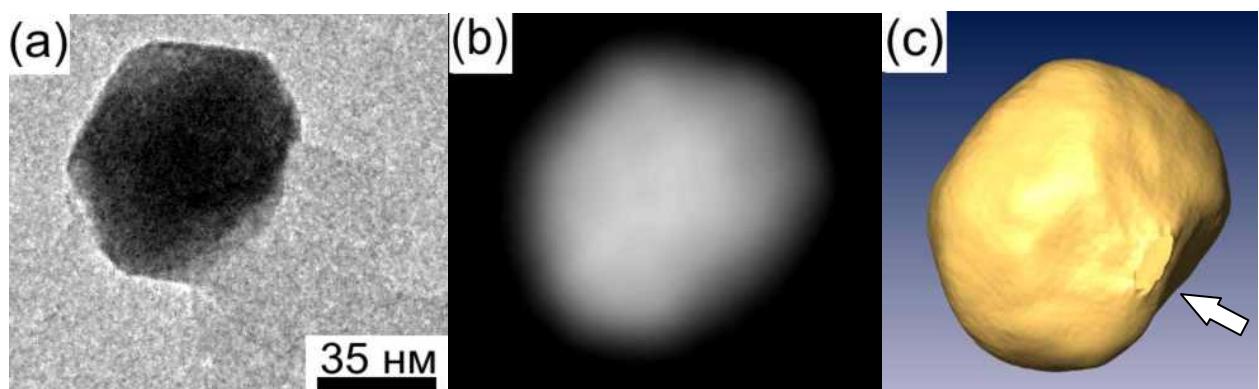


Рисунок 41. Изображение медно-никелевой частицы с образовавшимся на ней углеродным волокном в режиме светлого поля (а); то же в режиме HACDF (б); модель поверхности томографически реконструированной частицы (с).

На рисунке 42 приведена модель реконструированной катализитической частицы в режиме визуализации, в котором грани видны значительно лучше, чем на рисунке 41с. Ступеньки на поверхности являются артефактами этого режима визуализации, однако именно они позволяют глазу лучше почувствовать пространственную форму объекта.

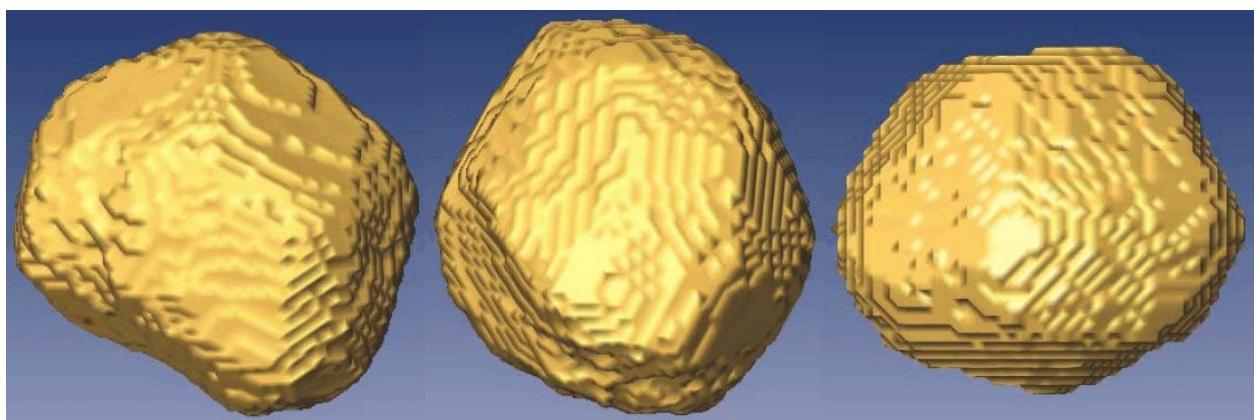


Рисунок 42. Модель поверхности медно-никелевой частицы в различных ориентациях в специальном режиме визуализации, в котором хорошо видна огранка частицы в различных ориентациях.

Метод ЭТ в режиме HACDF позволяет реконструировать форму не только металлической частицы, но и углеродного волокна, образовавшегося на ней. На рисунке 43 приведены снимки этой системы в светлом поле (а) и в режиме HACDF (б). Соотношение сигнал шум для углеродного волокна в последнем случае составляло 3:1, однако это не помешало успешно реконструировать его форму (в). На рисунке 43г приведена репроекция (т.е. повторная проекция томографически реконструированного объема), сделанная под тем же углом, под которым был получен снимок (б). Контраст углеродного волокна на репроекции существенно выше, соотношение сигнал

шум здесь составляет 5:1. Это улучшение контраста репроекций характерно для метода томографии, поскольку в репроекции усредняется сигнал со всех изображений серии, что приводит к снижению шумов.

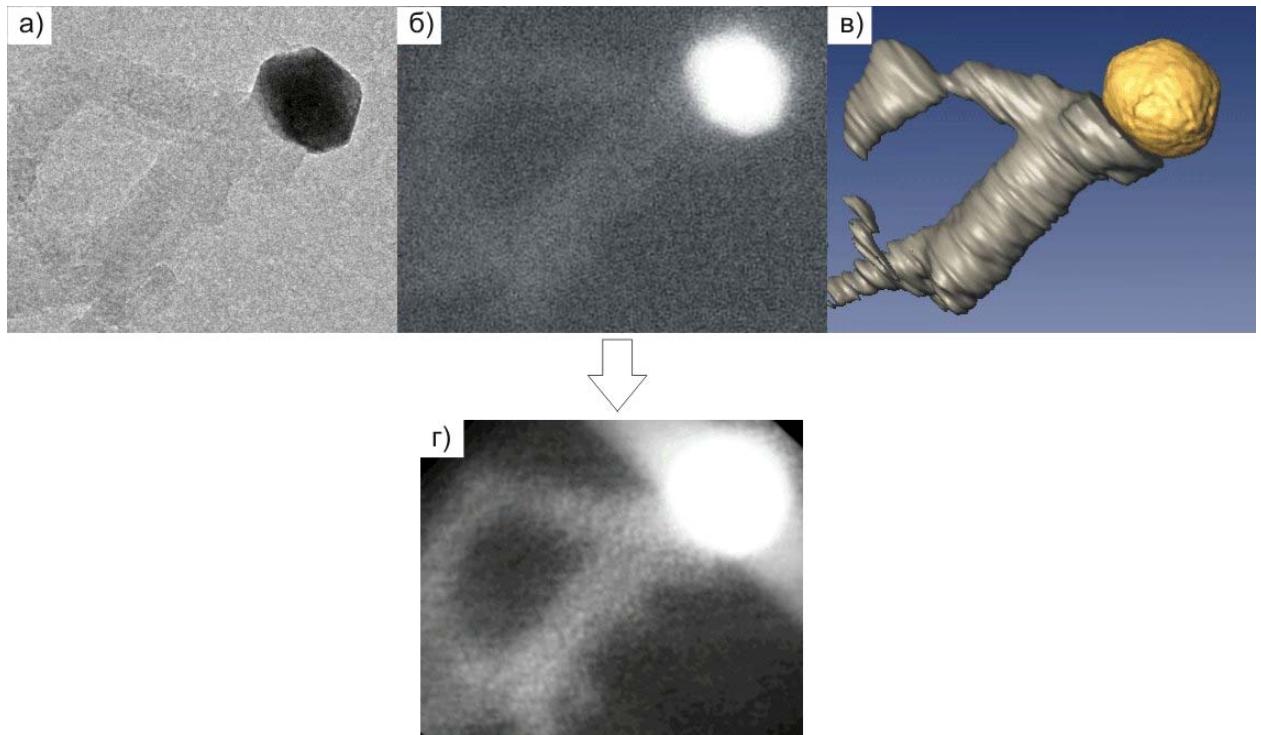


Рисунок 43. (а) Изображение медно-никелевой частицы с образовавшимся на ней углеродным волокном в режиме светлого поля; (б) то же в режиме HACDF; (в) модель поверхности томографически реконструированной частицы и углеродного волокна в ориентации, соответствующей снимкам (а) и (б); (г) репроекция томограммы под тем же углом, под которым был получен снимок (б) контраст углеродного волокна на репроекции выше.

На рисунке 44 вновь приведена модель поверхности реконструированной частицы катализатора с образовавшимся на ней углеродным волокном, но в различных ориентациях для большей наглядности.

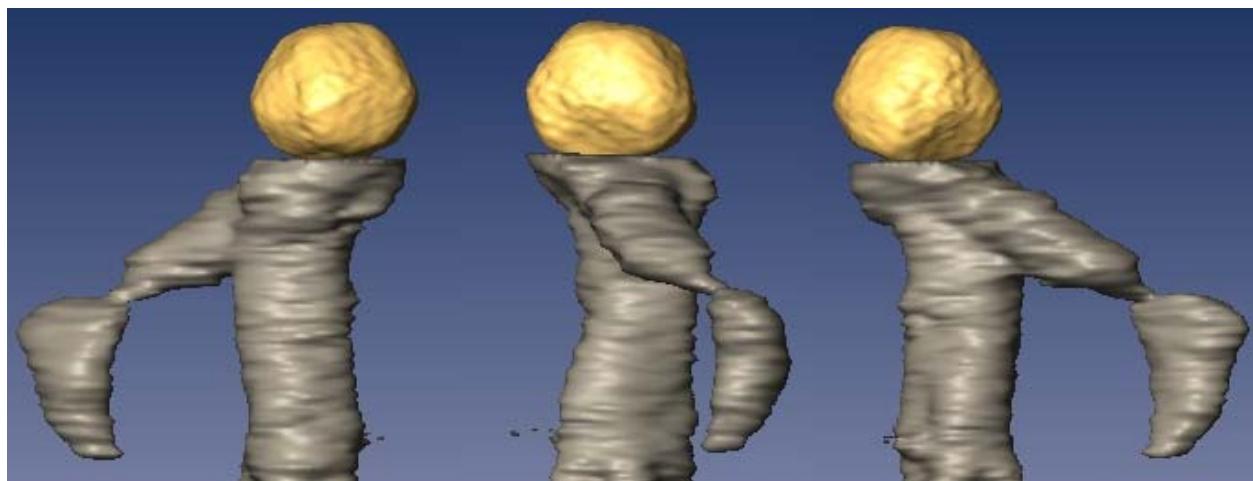


Рисунок 44. Модель поверхности реконструированной частицы катализатора с образовавшимся на ней углеродным волокном в различных ориентациях.

Выводы

- I. Для обычного просвечивающего электронного микроскопа разработан метод электронной томографии в режиме темного поля (Z-томография в ПЭМ). Показано, что метод Z-томография в ПЭМ может быть успешно использован для исследования особенностей пространственного строения объектов материаловедения
- II. Для получения двумерных проекций в широком диапазоне углов сформулированы требования к конструкции и созданы томографический держатель и сетки
- III. Для реконструкции трехмерных изображений из двумерных проекций разработан оригинальный пакет программ:
 - 1) автоматического выравнивания угловых серий и оптимизации параметров оси вращения;
 - 2) томографической реконструкции методом взвешенных обратных проекций с итеративным уточнением;
 - 3) расчета относительной ошибки томографической реконструкции
- IV. Проведена экспериментальная апробация метода электронной томографии в светлом поле и в режиме Z-контраста:
 - 1) на эталонном образце мезопористого силиката SBA-15 показана корректность выбранных методов съемки угловых серий, их выравнивания и томографической реконструкции.
 - 2) впервые методом электронной томографии в режиме Z-контраста исследован нанесенный на углеродный носитель платиновый катализатор (9%Pt/сибунит). Показано, что частицы активного компонента (платины) располагаются как на внешней, так и на внутренней поверхности глобул сибунита. Оценен размер разрывов в стенках глобул носителя. Установлено, что частицы платины,

расположенные на внутренней поверхности носителя, являются доступными для реагента.

- 3) впервые методом Z-томографии реконструирована форма углеродного волокна, образовавшегося в результате каталитической реакции разложения метана на медно-никелевом катализаторе, нанесенном на оксид алюминия. Реконструирован габитус частицы медно-никелевого сплава (активного компонента этого катализатора) и тем самым показана принципиальная возможность применения метода Z-томографии для индексации граней нанокристаллов.

Благодарности

Автор благодарен **Чувилину А.Л.** за постановку и обсуждение этой работы. Автор выражает благодарность за предоставленные для исследований и апробации методики образцы:

- **Мельгунову М.С.** (мезопористый силикагель SBA-15);
- **Симонову П.А.** (9%Pt/сибунит);
- **Решетенко Т.В.** (15%Cu15%Ni катализатор синтеза КВУ).

Также, автор благодарен **Ищенко В.Н.** за предоставленный материал для изготовления томографических сеток и **Мелехиной В.А.** за неоценимую помощь в их изготовлении. За финансовую поддержку автор благодарен фонду имени акад. К.И. Замараева.

Литература

1. Bracewell R.N. Strip integration in radio astronomy // Aust. J. Phys. – 1956. – Vol. 9. – P. 198–217.
2. Cormack A.M. Representation of a function by its line integrals, with some radiological applications // J. Appl. Phys. – 1963. – Vol. 34. P. 2722.
3. Patent Specification 1283915. The Patent Office. London. A method of and apparatus for examination of a body by radiation such as x-ray or gamma radiation / G.N. Hounsfield (Great Britain) 1972.
4. DeRosier D.J., Klug A. Reconstruction of Three Dimensional Structures from Electron Micrographs // Nature. – 1968. – Vol. 217. – P. 130–134.
5. Hoppe W., Langer R., Knesch G., Poppe C. Protein-Kristallstrukturanalyse mit Elektronenstrahlen // Naturwissenschaften. – 1968. – Vol. 55, N 7. – P. 333–336.
6. Hart R.G. Electron microscopy of unstained biological material: the polytropic montage // Science. – 1968. – Vol. 159. – P. 1464–1467.
7. Hoppe W., Hegerl R. Three-dimensional structure determination by electron microscopy (nonperiodic specimens) / Hawkes P.W. (Ed.) Computer Processing of Electron Microscope Images. – Berlin, Heidelberg, New York: Springer. 1980. – P. 127–185.
8. Crowther R.A., De Rosier D.J., Klug A. The reconstruction of a three-dimensional structure from projections and its application to electron microscopy // Proc. R. Soc. Lond. Ser. A. – 1970. – Vol. 317. – P. 319–340.
9. Vainshtein B.K. Finding the structure of objects from projections // Sov. Phys. Crystallogr. – 1970. – Vol. 15, N 5. – P. 781.
10. Ramachandran G.N., Lakshminarayanan A.V. Three-dimensional Reconstruction from Radiographs and Electron Micrographs: Application of Convolutions instead of Fourier Transforms // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1971. – Vol. 68, N 9. – P. 2236–2240.

- 11.Koster A.J., Grimm R., Typke D., et al. Perspectives of molecular and cellular electron tomography // J. Struct. Biol. – 1997. – Vol. 120. – P. 276–308.
- 12.Van Heel M., Gowen B., Matadeen R., et al. Single-particle electron cryo-microscopy: towards atomic resolution // Q. Rev. Biophys. – 2000. –Vol. 33. – P. 307–369.
- 13.Perkins G.A., Song J.Y., Tarsa L., et al. Electron Tomography of Mitochondria from Brown Adipocytes Reveals Crista Junctions // J. Bioenergetics and Biomembranes. – 1998. – Vol. 30. – P. 431–442.
- 14.Flannery B.P., Deckman H.W., Roberge W.G., D'Amico K.L. Threedimensional x-ray microtomography // Science. – 1987. Vol. 237. – P. 1439–1444.
- 15.Miller M.K. Atom-probe Tomography: Analysis at the Atomic Level. – New York: Kluwer Academic/Plenum Press, 2000. – 250 p.
- 16.Thomas J.M. Inorganic Chemistry: Towards the 21st century // Chisholm M.H. (Ed.), ACS symposium series Vol. 211. – Washington: ACS, 1983. – P. 445.
- 17.Midgley P.A., Weyland M. 3D electron microscopy in the physical sciences: the development of Z-contrast and EFTEM tomography // Ultramicroscopy. – 2003. – Vol. 96. P. 413–431.
- 18.Koster A.J., Ziese U., Verkleij A.J., et al. Three-dimensional transmission electron microscopy: A novel imaging and characterization technique with nanometer scale resolution for materials science // J. Phys. Chem. B. – 2000. – Vol. 104. – P. 9368–9370.
- 19.Janssen A.H., Yang C.-M., Wang Y., et al. Localization of Small Metal (Oxide) Particles in SBA-15 Using Bright-Field Electron Tomography // J. Phys. Chem. B. – 2003. Vol. 107, N 38. P. 10552–10556.
- 20.Möbus G., Doole R.C., Inkson B.J. Spectroscopic electron tomography // Ultramicroscopy. – 2003. Vol. 96, N 3–4. P. 433–451.

21. Möbus G., Inkson B.J. 3D reconstruction of buried nanoparticles by element sensitive tomography based on inelastically scattered electrons // Applied Physics Letters. – 2001. Vol. 79. – P. 1369.
22. Howie, A. Image contrast and localized signal selection techniques // J. Microsc. – 1979. Vol. 17. P. 11–23.
23. Sinfelt J.H. Bimetallic Catalysts: Discoveries, Concepts, and Applications. – New York: Wiley, 1983. – 176 p.
24. Bals S., Kabius B., Haider M., et al. Annular dark field imaging in a TEM // Solid State Communications. – 2004. Vol. 130. – P. 675–680.
25. Kaiser U., Chuvalin A. Z-contrast imaging in a conventional TEM // Microsc. Microanal. – 2003. – Vol. 9. – P. 36–41.
26. Frank J., McEwen B.F. Alignment by cross-correlation / Frank J. (Ed.) Electron Tomography: Three-dimensional Imaging with the Transmission Electron Microscope. – New York, London: Plenum Press, 1992. – 416 p.
27. Brandt S., Heikkonen J., Engelhardt P. Multiphase method for automatic alignment of transmission electron microscope images using markers // J. Struct. Biol. – 2001. – Vol. 133, N 1. – P. 10–22.
28. Perkins, G. A., Song, J. Y., Tarsa, et al. Electron Tomography of Mitochondria from Brown Adipocytes Reveals Crista Junctions // J. Bioenergetics and Biomembranes. – 1998. – Vol. 30. – P. 431–442.
29. Brandt S., Heikkonen J., Engelhardt P. Automatic Alignment of Transmission Electron Microscope Tilt-Series without Fiducial Markers // Journal of Structural Biology – 2001. – Vol. 136. – P. 201–213.
30. Radon J. Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten // Math.-Nat. kl. – 1917. Vol. 69. – P. 262–277.
31. Deans S.R. The Radon transform and some of its applications. – New York; Chichester: Wiley, 1983. – 289 p.
32. Thomas J.M. Inorganic Chemistry: Towards the 21st century // Chisholm M.H. (Ed.), ACS symposium series Vol. 211. – Washington: ACS, 1983. – P. 445.

33. Smith P.R., Peters T.M., Bates R.H.T. Image Reconstruction from Finite Numbers of Projections // *J. Phys. A.* – 1973. Vol. 6. – P. 361.
34. Radermacher M., Hoppe W. Properties of 3-D reconstruction from projections by conical tilting compared to single-axis tilting // Brederoo P. and Boon G. (Ed.) *Properties of 3-D Reconstruction from Projections by Conical Tilting Compared to Single-Axis Tilting / The Seventh European Congress on Electron Microscopy*, Leiden. 1980. – Foundation Press. – P. 132–133.
35. Mastronarde D.N. Dual-axis tomography: an approach with alignment methods that preserve resolution // *J. Struct. Biol.* – 1997. – Vol. 120. – P. 343–352.
36. Double-tilt electron tomography / Penczek P., Marko M., Buttle K., J. Frank. // *Ultramicroscopy*. – 1995, – Vol. 60. – P. 393–410.
37. Herman G.T. *Image Reconstruction from Projections. The Fundamentals of Computerised Tomography*. – New York: Academic Press, 1980. – 300 p.
38. Gilbert P.F.C. The reconstruction of a three-dimensional structure from projections and its application to electron microscopy: II direct methods // *Proc. R. Soc. London, B.* – 1972. – Vol. 182. – P. 89–102.
39. Radermacher M., Wagenknecht T., Verschoor A., Frank J. Three-dimensional reconstructions from a single-exposure, random conical tilt series applied to the 50s ribosomal subunit of escherichia coli // *J. Microsc.* – 1987. – Vol. 146, N 2. – P. 113–136.
40. Gordon R., Bender R., Herman G. Algebraic reconstruction techniques (ART) for three-dimensional electron microscopy and X-ray photography // *Journal of Theoretical Biology*. – 1970. – Vol. 29. – P. 471–481.
41. Crowther R.A., Klug A. ART and science or conditions for three-dimensional reconstruction from electron microscope images // *J. Theor. Biol.* – 1971. – Vol. 32, N 1. – P. 199–203.
42. Sezan M.I. An overview of convex projections theory and its application to image recovery problems // *Ultramicroscopy*. – 1992. Vol. – 40. – P. 55–67.

- 43.Frank J. Three-dimensional Electron Microscopy of Macromolecular Assemblies. – San Diego: Academic Press, 1996. – 342 p.
- 44.Hawkes P.W. The electron microscope as a structure projector / Frank J. (Ed.), Electron Tomography: Threedimensional Imaging with the Transmission Electron Microscope. – New York, London: Plenum Press, 1992. – 416 p.
- 45.Старк Г. (ред.) Реконструкция изображений. – М.: Мир, 1992. – 636 с.
- 46.Калиткин Н.Н. Численные методы. – М.: Наука, 1978. – 512 с.
- 47.Janssen A.H., Van Der Voort P., Koster A.J., de Jong K.P. A 3D-TEM study of the shape of mesopores in SBA-15 and modified SBA-15 materials // Chemical Communications. – 2002. – Vol. 15. – P. 1632–1633.
- 48.Jing Z., Sachs F. Alignment of Tomographic Projections Using an Incomplete Set of Fiducial Markers // Ultramicroscopy. – 1991. – Vol. 35. – P. 37–43.
- 49.Абросимов О.Г., Мороз Э.М., Чувилин А.Л. Электронная микротомография – новый метод исследования пространственного строения катализаторов // Кинетика и катализ. – 2006. – Т. 47, № 3. – С. 1–4.
- 50.Абросимов О.Г., Мороз Э.М., Чувилин А.Л. Электронная микротомография – новый метод исследования пространственного строения катализаторов // Тез. докл. Второй международной школы-конференции молодых ученых по катализу «Каталитический дизайн – от исследований на молекулярном уровне к практической реализации». – Новосибирск. – Россия. 25-29 Июля. – 2005. – С. 183. (тезисы докладов)
- 51.Абросимов О.Г., Чувилин А.Л., Мороз Э.М. Томографическая реконструкция габитуса металлических нанокристаллов по данным ПЭМ // Известия РАН Сер. Физ. – 2006. – Т. 70, № 4. – С. 554-557.
- 52.Abrosimov O.G., Chuvalin A.L., Kaiser U. HACDF Electron Tomography: A First Example // Book of Abstracts. – Microscopy Conference 2005. – Davos. – Switzerland. – 28 August - 02 September. – 2005. P. 242. (тезисы докладов)

53. Абросимов О.Г., Чувилин А.Л., Мороз Э.М. Томографическая реконструкция габитуса металлических нанокристаллов по данным ПЭМ // Тез. докл. – 8-го Международного симпозиума «Порядок, беспорядок и свойства оксидов» – Ч. II. – Сочи. – Россия. – 19-22 Сентября. – 2005. – С. 3-5. (тезисы докладов)
54. Kremer J.R., Mastronarde D.N., McIntosh J.R. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD // J. Struct. Biol. – 1996. – Vol. 116. – P. 71–76.
55. Mercury Computer Systems, Amira – Advanced 3D Visualization and Volume Modeling. – <http://www.amiravis.com>
56. Twitchett A.C., Yates T.J.V., Dunin-Borkowski R.E., et al. Three-dimensional electrostatic potential of a Si p-n junction revealed using tomographic electron holography // Journal of Physics: Conference Series. – 2006. – Vol. 26. – P. 29–32.
57. Rao V., Simonov P.A., Savinova E.R., Stimming U. The influence of carbon support porosity on the activity of PtRu/Sibunit anode catalysts for methanol oxidation // J. Power Sources. – 2005. – Vol. 145, N 2. – P. 178–187.
58. Maillard F., Savinova E.R., Simonov P.A., Zaikovskii V.I., Stimming U., Infrared Spectroscopic Study of CO Adsorption and Electro-oxidation on Carbon-Supported Pt Nanoparticles: Interparticle versus Intraparticle Heterogeneity // J. Phys. Chem. B. – 2004. – Vol. 108, N 46. – P. 17893–17904.
59. Reshetenko T.V., Avdeeva L.B., Pushkarev V.V., et al. Catalytic Filamentous Carbon. Structural and Textural Properties // Carbon. – 2003. – Vol. 41. – P. 1605–1615.
60. Reshetenko T.V., Avdeeva L.B., Chuvilin A.L., Ushakov V.A. Carbon capacious Ni-Cu-Al₂O₃ catalysts for high-temperature methane decomposition // Appl. Catal. A. – 2003. Vol. 247. – P. 51–63.