

LANDYNE +

蓝带软件 +

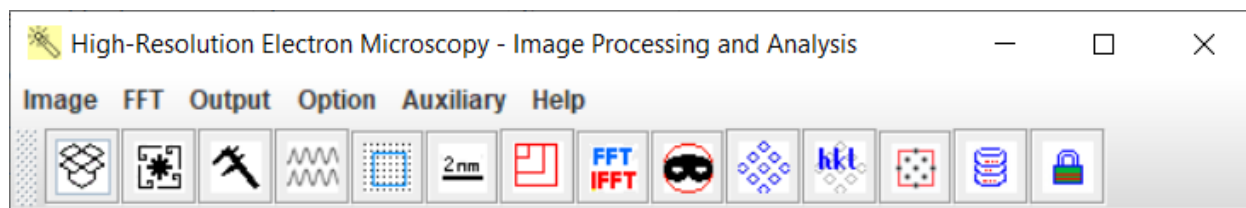
用户手册

高分辨率透射电子显微镜图像处理与分析

第二部分：晶体学图像处理

Copyright 2011-2024 LANDYNE ©

All Right Reserved



目录

要点概述	3
1. 引言.....	3
1.1 蓝带软件包.....	3
1.2 图像处理与分析.....	3
2. 背景	4
3. 设计和特点.....	4
3.1 图形用户设计.....	4
3.2 功能特点.....	5
4. 使用介绍.....	6
4.1 加载一个 HRTEM 图像并校准比例尺.....	7
4.2 选择 FFT 和量化的区域.....	8
4.3 CTF 调整	10
4.4 将 SAED 数据合并到反射数据中.....	10
4.5 晶体学图像处理 (CIP)	10
5. 安装.....	13
5.1 计算机要求.....	13
5.2 软件安装.....	13
5.3 许可证和反馈.....	13
6. 参考文献.....	13

要点概述

- EMCIP 是 EMIPA 的扩展。
- 从 FFT 模式中检索一组反射数据（相位和幅度）。
- 将反射数据与一组实验性 SAED 数据（幅度）合并。
- 使用透射电子显微镜的 CTF 来校正反射数据（相位）。
- 使用 17 个平面空间群之一创建 CIP 图像。
- 以灰色和伪彩色显示 CIP 图像。
- 在轮廓图中推导出原子位置。

1. 引言

1.1 蓝带软件包

蓝带软件包是由李兴中博士于 2010 年开发的软件包，用于电子衍射模拟和晶体学分析。这个软件包可以作为研究工具和教学辅助工具使用。当前版本包括十五个独立的软件组件 [1-13]。每个组件都设计用于模拟、分析或数据处理中的一个应用主题。软件包提供了一个启动器，用于方便地访问所有软件组件。可执行代码、用户手册和一组晶体结构数据可在作者的网页 <https://landyne.com> 和 <https://www.unl.edu/ncmn-enif/xzli/computer-programs> 上获得。表格 1 显示了蓝带和蓝带+软件包中的组件。

表格 1：蓝带 Landyne 和蓝带 Landyne+软件包中的组件

Software	Description of components in the Landyne suite	Reference
PTELS	Periodic table of the elements for the Landyne suite	[2]
SVAT	Structural viewer and analytical tool including atom cluster and layer.	[3]
SPICA	Stereographic projection for interactive crystallographic analysis.	[4]
SAED	Simulation and analysis of electron diffraction (spot) patterns.	[5]
PCED	Simulation of PCED (ring) patterns and phase identification.	[6]
QSAED	Processing, quantification, and analysis of SAED (spot) patterns.	[7]
QPCED	Processing, quantification, and analysis of SAED (ring) patterns.	[8]
HOLZ	Simulation of HOLZ pattern including dynamical correction.	[9]
SMART	Simulation and measurement of rocking curve for crystal thickness.	[10]
SAKI	Simulation and analysis of Kikuchi lines and double diffraction effect.	[11]
TEMUC	Lattice determination of unknown structure in TEM/ED experiments.	[12]
ESPOT ⁺	Electrostatic potential maps derived from electron diffraction patterns.	[10]
CTFscope ⁺	CTF simulation and visualization for conventional and AC-TEM.	[13]
EMIPA ⁺	HRTEM image processing and analysis	[10]
EMCIP ⁺	HRTEM image crystallographic image processing	[10]

1.2 图像处理与分析

电子显微镜图像处理与分析分为两部分，一部分用于常规图像处理，另一部分侧重于晶体学图像处理。图像处理的核心是快速傅里叶变换（FFT）技术。

FFT是一种算法，用于计算序列的离散傅里叶变换（DFT）及其逆变换（IDFT）。詹姆斯·库利（James Cooley）和约翰·图基（John Tukey）独立重新发现了早期的这些算法。他们在1965年发表了一个更通用的FFT，适用于N是复合数而不一定是2的幂次方。布卢斯坦（Bluestein）在1968年给出的FFT算法，通常称为 chirp z 算法，是通过将DFT重新表达为线性卷积来计算任意大小（包括素数大小）的离散傅里叶变换（DFT）。布卢斯坦的FFT算法在电子显微镜图像处理与分析中被用于离散傅里叶变换（DFT）。

在EMIPA中，实验图像可以调整大小和旋转。可以选择图像的一部分并以新的比例尺保存。可以得到系列线段的强度轮廓线，并可扫描图像中强度峰值的位置数据。多种用于FFT和IFFT处理的滤波器。可以使用辅助工具为FFT图添加标定指数。在EMCIP中，可以使用晶体学图像处理来增强实验图像。包括一个对比度传递函数，用于校正FFT数据中的晶体学相位。实验电子衍射强度可以用来替换FFT数据中的衍射强度。图像可以使用预构建的17个平面对称群进行处理，并以赝彩色图像和等值线图显示。

本手册是关于EMCIP部分的。

2. 背景

EMCIP 采用晶体学图像处理（CIP）技术来增强 HREM 图像以进行结构确定。其原理基于晶体学结构因子相位信息存在于 HREM 图像中，并可用于结构分析。

以下是诺贝尔奖获得者和 CIP 先驱阿隆·克卢格爵士[11]简洁描述的必要步骤：“这种类型的图像处理的本质是，在获得第一幅图像之后，它是一个两步骤的过程。首先产生原始图像的傅立叶变换。接下来，操纵傅立叶系数，或者进行其他修正，然后再次转换回来以重现重建的图像。”主要的数字技术涉及快速傅立叶变换（FFT）、对比度传递函数（CTF）和用于相位修改的二维空间群。

该方法首先应用于使用高分辨透射电子显微镜成像的周期性有机复合物，随后被用于无机晶体的 TEM 图像，如 CRISP [12]、EDM [13]、VEC [14]，以及二维周期阵列的扫描探针显微镜（SPM）图像，如 T4SC [15]。

3. 设计和特点

3.1 图形用户设计

EMCIP 的图形用户界面（GUI）是使用 Java Swing 编写的。图 1 显示了带有下拉菜单和图形工具栏菜单的主面板。菜单包括：i）图像（加载 HRTEM 图像、移动和反转操作、比例尺标尺、显示选项和退出）；ii）FFT（区域选择、FFT/IFFT、数组掩模、CTF 和量化）；iii）CIP（与实验 SAED 数据合并、使用二维空间群的 CIP、使用轮廓图进行分析、参数选项）；iv）辅助（隐藏工具栏、外观和感觉）；v）帮助（当前驱动器、SN 和版本）。工具栏菜单包括下拉菜单中最常用的操作。

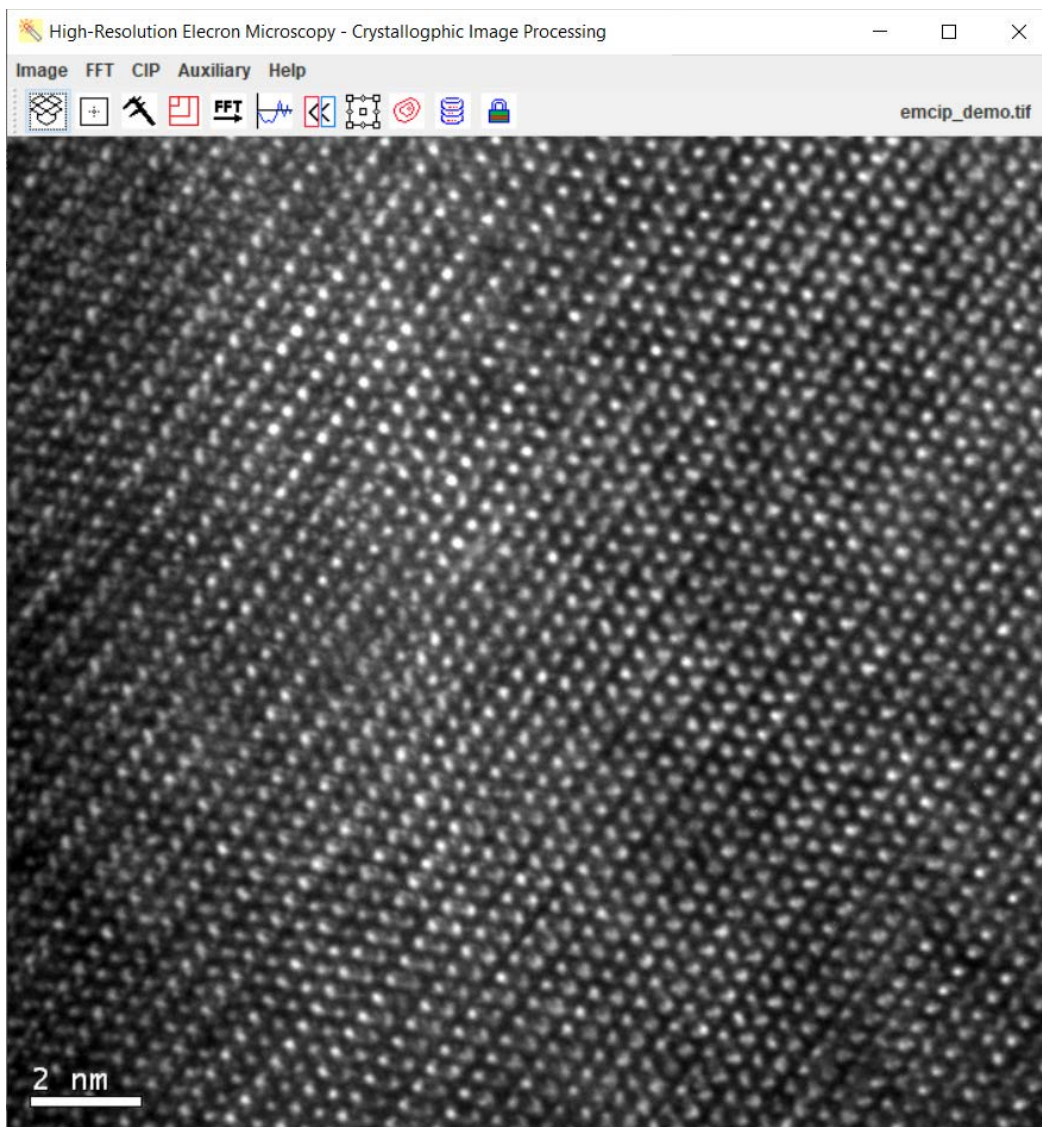


图 1. EMCIP 的 GUI，带有一个下拉菜单和一个工具栏菜单。
面板显示了一个电子显微镜图像作为示例。

3.2 功能特点

EMCIP 是用于实验 HREM 图像的晶体学图像处理工具，其功能包括：

- i) 图像可以进行平移，图像中的比例尺可以测量。
- ii) 可以在 FFT 图案上创建一个阵列掩模，并使用最小二乘法进行细化。
- iii) 使用两个基本向量进行反射的量化。
- iv) 反射数据（相位）可以使用对比度传递函数（CTF）进行校正。
- v) 反射数据（幅度）可以使用 SAED 模式中的数据进行更新。
- vi) 图像可以在二维平面群中假设对称性重建。
- vii) 重建的图像可以以伪彩色显示，并使用轮廓图进行分析。

在定义了阵列滤波器的两个基本向量之后，反射数据（幅度和相位）可以被保存。振幅可以被相应的 SAED 数据所替换。晶胞可以进一步通过 17 个平面群之一进行修改。结构可以使用轮廓图进一步分析。

EMCIP 中 CIP 的一个子程序是根据 17 个平面对称群之一进行对称操作。为了在程序设计和分析中简化和保持一致，这 17 个平面群已扩展为 21 个，以区分两个基本向量上的相同对称性，如图 2 所示。中心化的晶胞也转化为原始晶胞。衍射数据中的晶体学相位取决于晶胞的原始坐标，可以在轮廓图上进行调整。为了评估对称数据是否更好地表示衍射数据，还可以使用三个 R 值、残留相位和消光比等评价指标。EMCIP 的设计和特性已在流程图中总结，如图 3 所示。

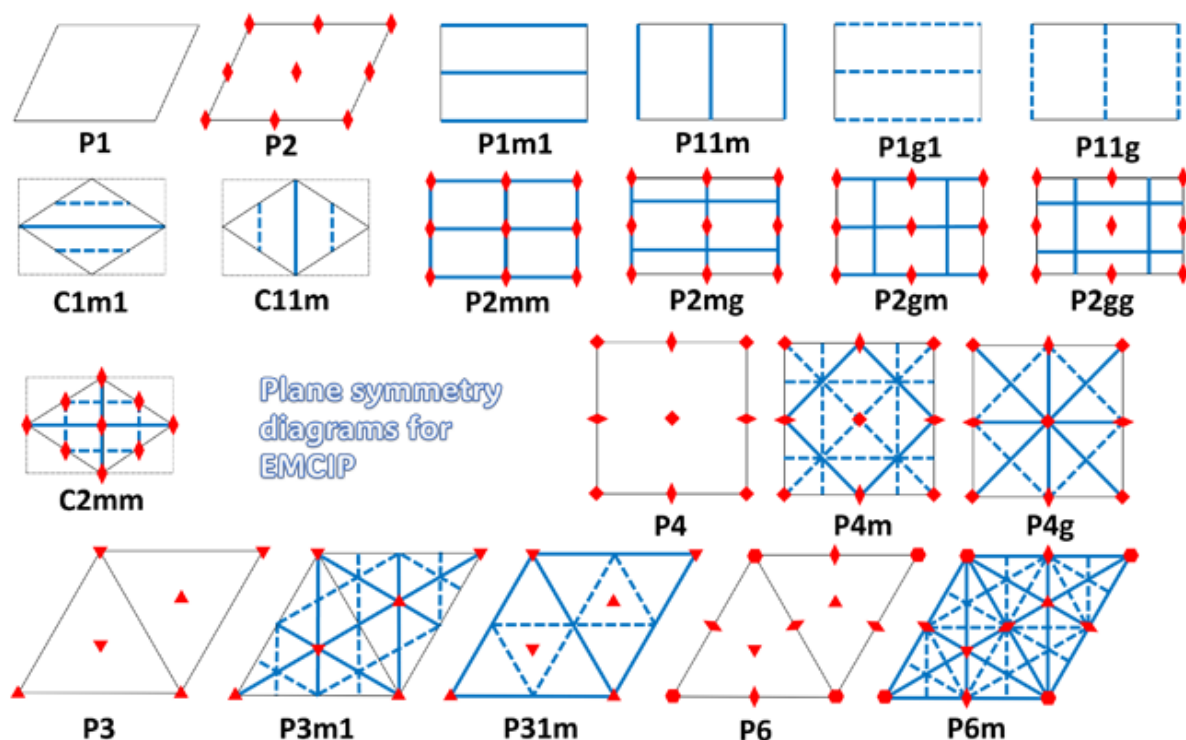


图 2. EMCIP 中 17 个平面群的扩展。

4. 使用介绍

对于未授权的用户，许可文件对话框将显示如图 4 所示。用户可以继续点击“Explore”以使用演示文件进行评估，或“Volveré”（西班牙语中意为“我会回来”）。

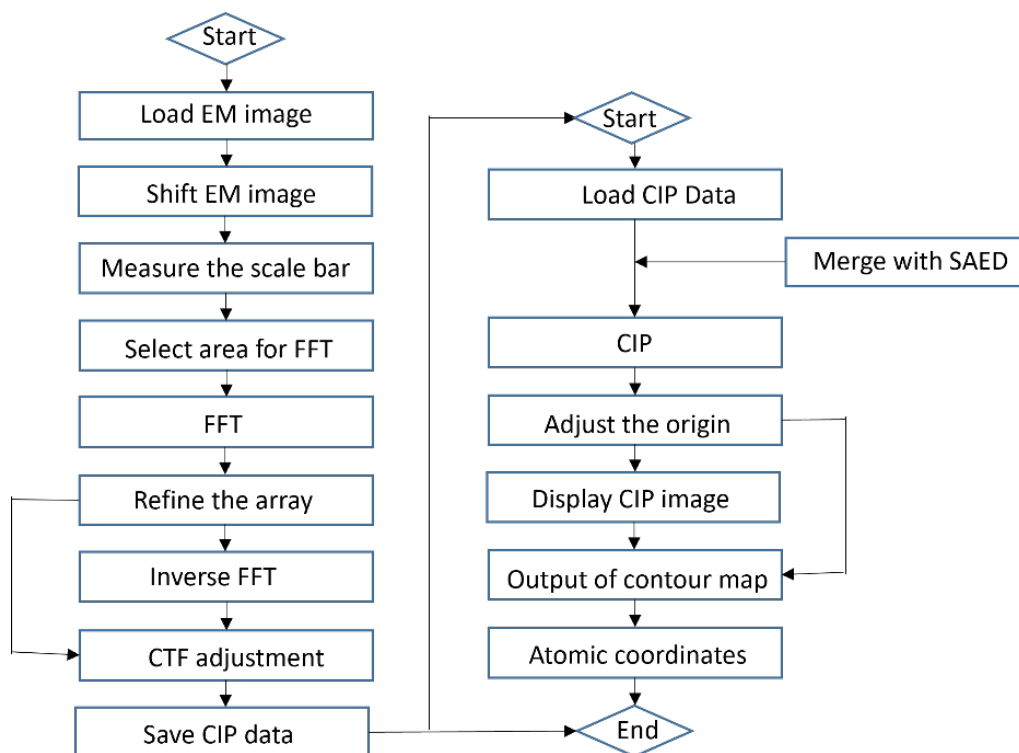


图 3. EMCIP 设计和功能的流程图。

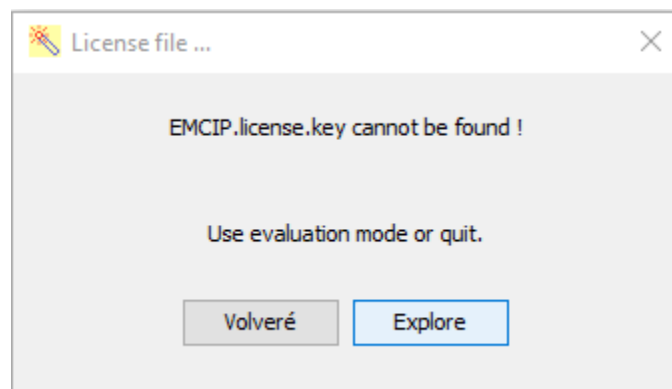


图 4: 当许可证文件丢失时, 许可证对话框会出现。在这种情况下, 用户可以使用软件包中的 `emcip_demo.tif` 文件进行评估。

4.1 加载一个 HRTEM 图像并校准比例尺

提供两种加载图像文件的方式。如果图像不在实验文件夹中, 可以使用拖放功能加载图像 (将图像拖放到菜单栏上的放置框中)。如果图像位于实验文件夹中, 用户可以使用类似窗口的文件系统来加载图像 (单击菜单栏上的放置框或下拉菜单, 然后按照提示操作)。

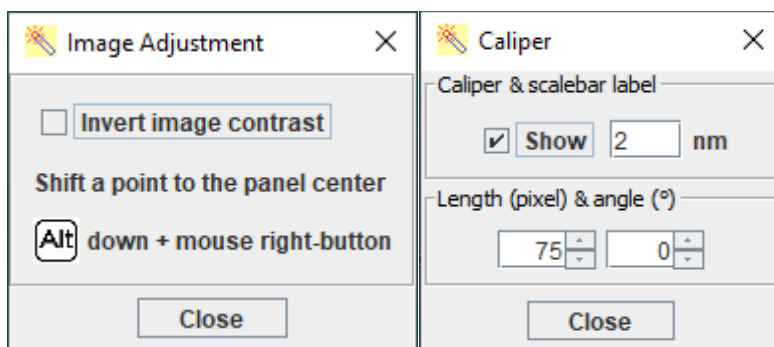


图 5. 图像调整和游标对话框。

图 5 显示了图像调整对话框，用于反转对比度和平移图像。平移操作可通过按住 **Alt** 键并点击鼠标右键来完成。游标用于测量图像上的比例尺。游标的功能是确保正确测量晶格参数。

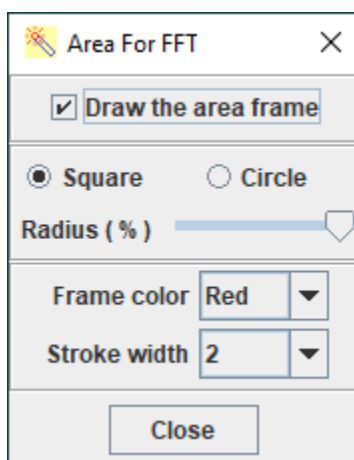


图 6. FFT 操作的区域选择对话框。

4.2 选择 FFT 和量化的区域

图 6 显示了用于 FFT 操作的区域选择对话框。正方形区域的边长可以是任意值（不限于 2 的幂）用于 FFT 变换。正方形的中心由鼠标指针定义，长度由按住鼠标左键并拖动鼠标指针来定义。通过单击鼠标左键可以移动区域的位置。正方形区域内的圆形区域是 FFT 变换的一种选择。与正方形区域相比，圆形区域会减少 FFT 模式的条纹线[16]。圆形区域对于纳米颗粒的电子显微镜图像也是合适的。

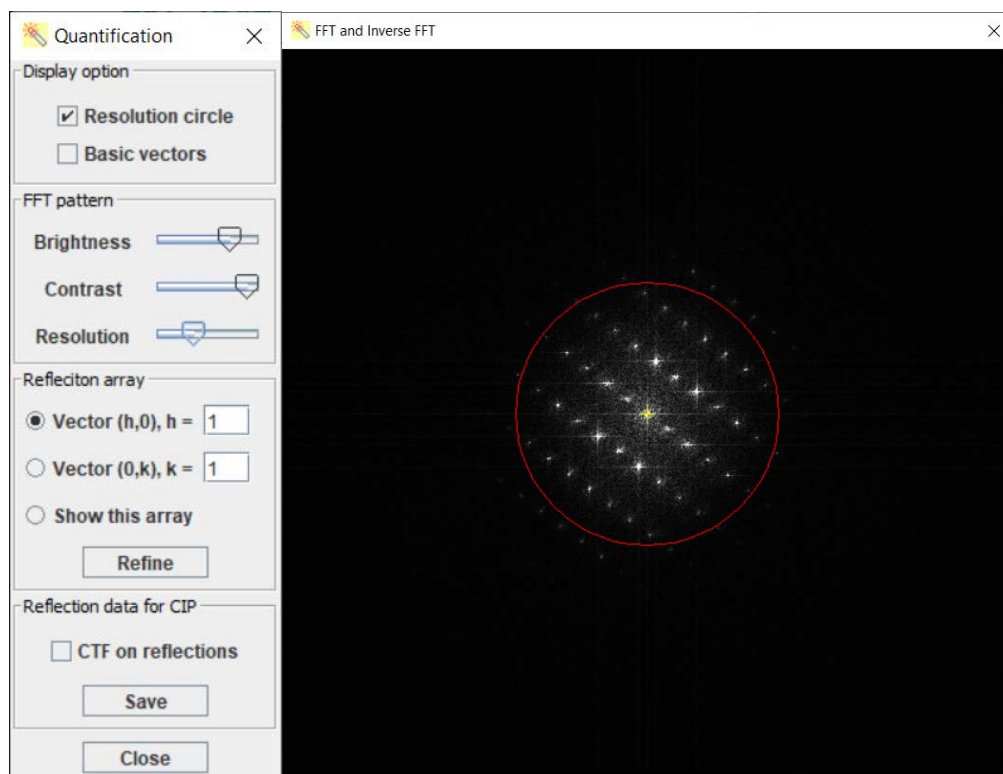


图 7. 使用 FFT 和 IFFT 操作对图像数据进行量化的对话框。

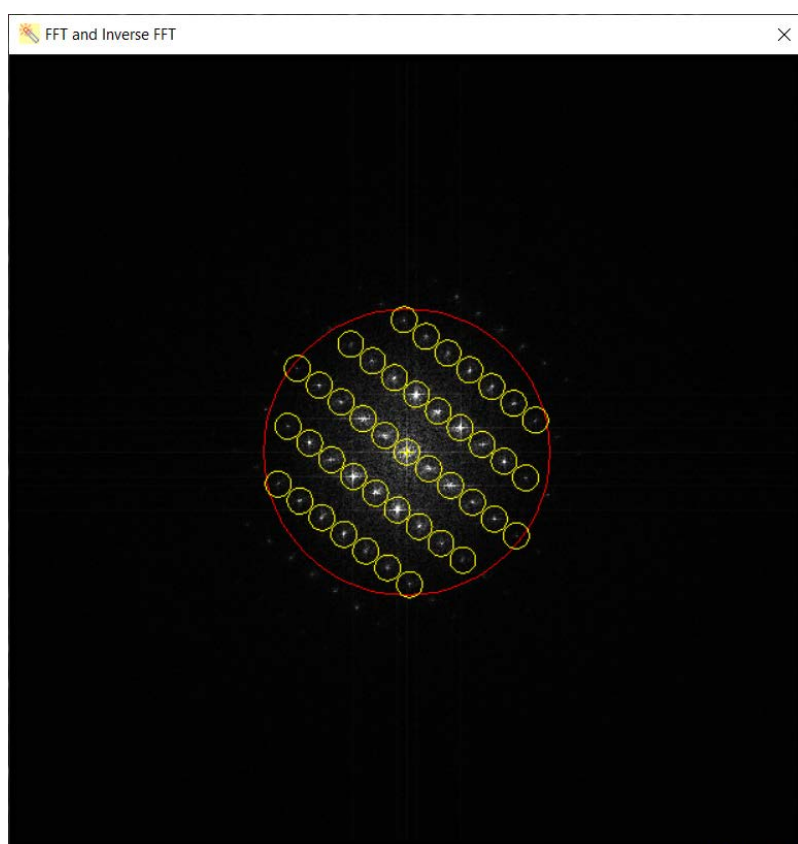


图 8. FFT 阵列滤波器。

Figure 7 展示了使用 FFT 对图像数据进行量化的对话框。通过获取 FFT 模式，并通过亮度和伽马值调整外观，原始数据不会改变。

向量 1 和向量 2 通过选择指数和斑点逐个定义晶格。然后显示反射阵列，并通过分辨率进行调整。应当使用所有清晰的反射斑点进行精化，并且可以调整分辨率以包括所有可见的反射斑点。图 8 显示了反射阵列和精化的向量。

4.3 CTF 调整

图 9 显示了对比度传递函数的图表，它可以单独显示在 FFT 面板上。当可以估算出 HREM 图像的虚焦值时，CTF 曲线可用于调整反射数据（相位）。CTF 图形可以保存为图形文件。

用户可以在保存反射数据以供后续 CIP 分析时包含 CTF 调整或排除 CTF 调整。

4.4 将 SAED 数据合并到反射数据中

反射数据（幅度）可以进一步使用实验 SAED 图案中的数据进行更新。SAED 数据可以从 Landyne 套件中的 QSAED 中检索。

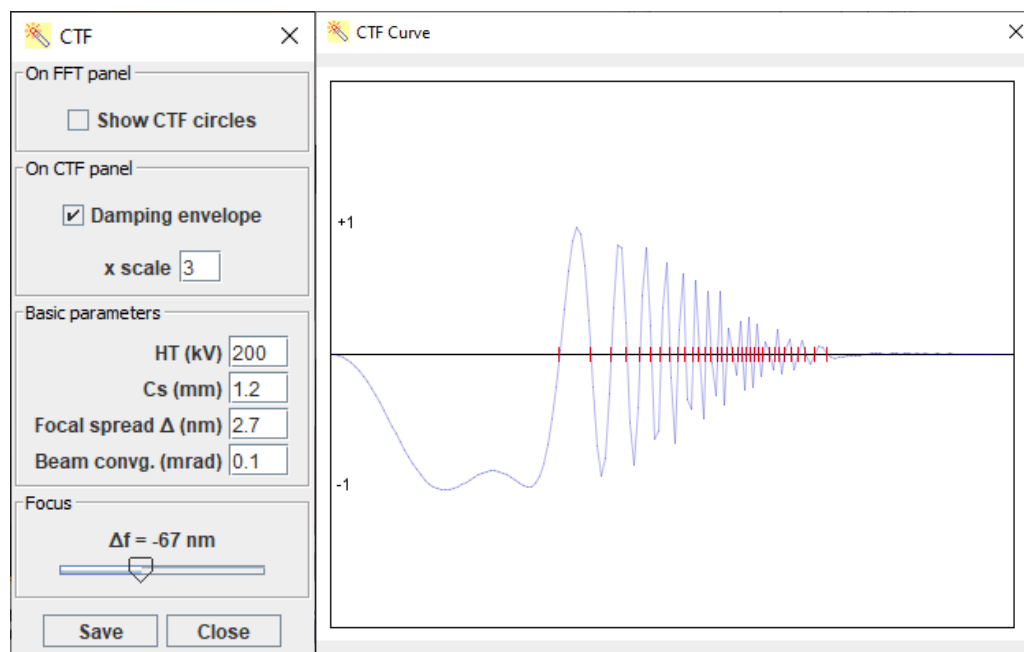


图 9. 用于反射量化的 CTF 函数

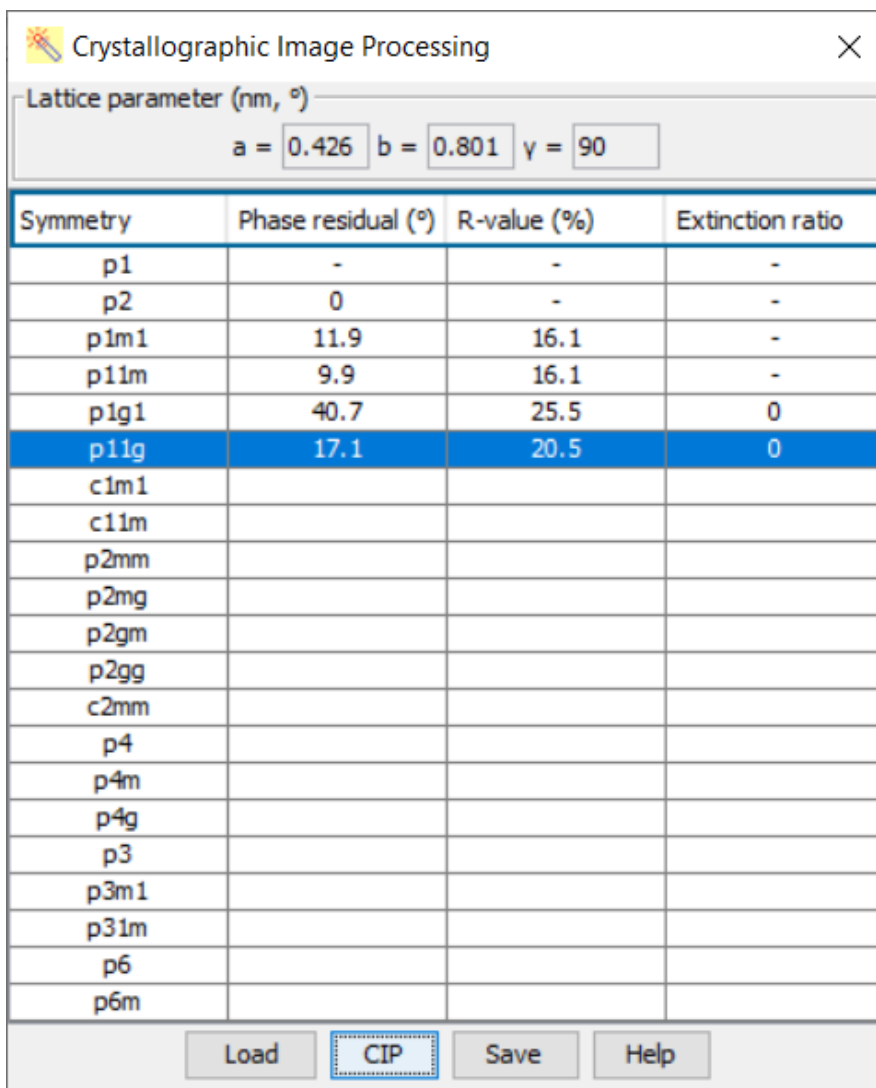
4.5 晶体学图像处理 (CIP)

图 10 显示了晶体学图像处理的对话框。要进行 CIP，首先应加载上面获得的反射数据文件。晶格参数将显示在面板顶部。单击 CIP 以构建 CIP 图像。p1 是没有附加对称性的重建

图像，其他选项是具有假定对称性的重建图像。单击“保存”将保存重建图像。单击“帮助”将显示 17 个平面群的图形，如图 2 所示。

所选平面空间群中的对称性将应用于单位晶胞的晶体学数据。可以使用三个优越性参数来评估原始数据与处理后数据之间的关系。图 11 显示了灰度和伪彩色 CIP 图像的示例。

可以使用等高线图显示工具查看和分析增强的数据。



The dialog box titled "Crystallographic Image Processing" contains a section for "Lattice parameter (nm, °)" with input fields for a = 0.426, b = 0.801, and γ = 90. Below this is a table with four columns: Symmetry, Phase residual (°), R-value (%), and Extinction ratio. The table lists 20 symmetry options, with "p11g" highlighted in blue. At the bottom are buttons for Load, CIP, Save, and Help.

Symmetry	Phase residual (°)	R-value (%)	Extinction ratio
p1	-	-	-
p2	0	-	-
p1m1	11.9	16.1	-
p11m	9.9	16.1	-
p1g1	40.7	25.5	0
p11g	17.1	20.5	0
c1m1			
c11m			
p2mm			
p2mg			
p2gm			
p2gg			
c2mm			
p4			
p4m			
p4g			
p3			
p3m1			
p31m			
p6			
p6m			

图 10. 晶体学图像处理的对话框

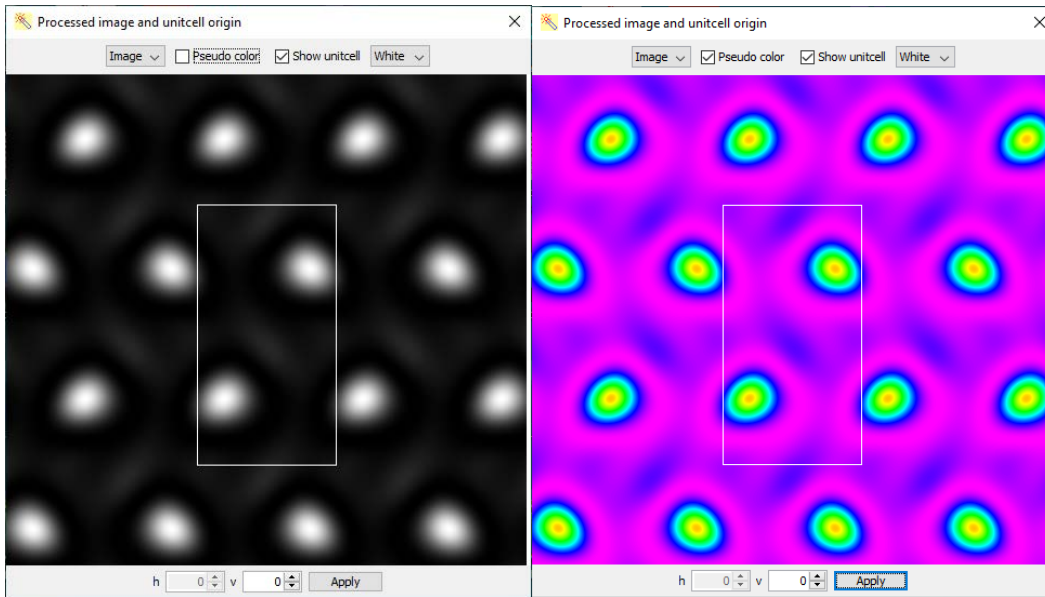


图 11. CIP 图像的灰度和伪彩色示例。

Figure 12 展示了轮廓显示的对话框。用户可以使用默认或自定义参数来构建轮廓图。一旦点击“显示”按钮，轮廓图就会显示出来。可以选择显示单位晶胞的框架、单位晶胞中任意点的坐标、用户定义的网格以及最大和最小密度。轮廓图的显示可能会随着贝塞尔曲线参数、层数、百分比噪声过滤器、缩放和移动参数而变化。它可以显示 1x1、2x2 或 3x3 个单位晶胞。使用鼠标指针可以精确测量单位晶胞中任意点的坐标。

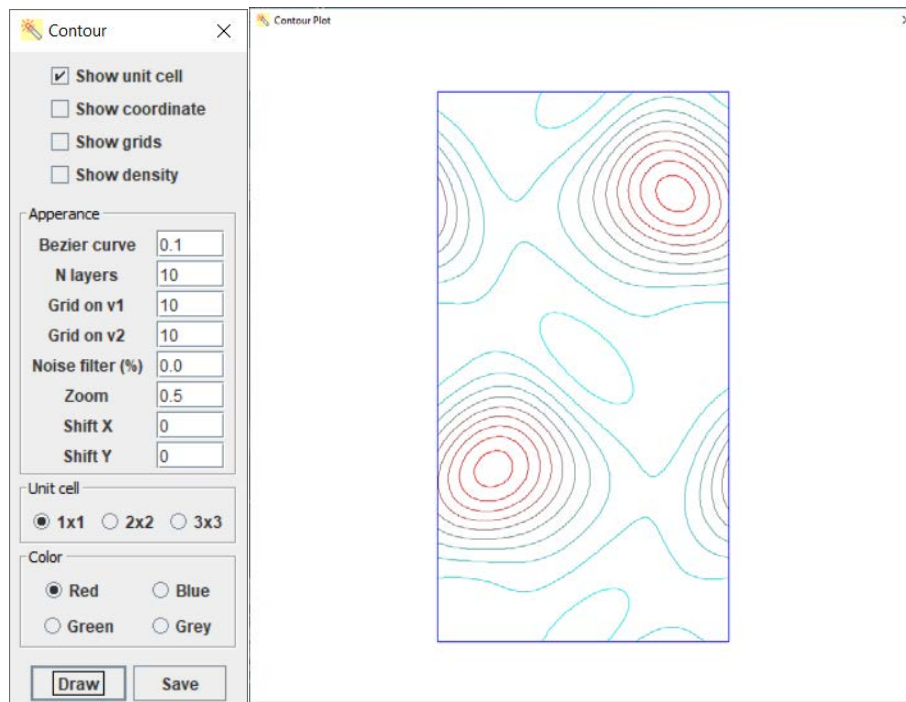


图 12. 轮廓地图显示的对话框。

5. 安装

5.1 计算机要求

运行 Landyne 套件（包括 EMCIP）必须安装 Java 虚拟机，即 J2RE。对于 TIFF 文件，需要 Java Advance Image，请将 jai_codec.jar 和 jai_core.jar 复制到例如 java\jre\lib\ext\文件夹中。

5.2 软件安装

可执行的字节码以及用于测试的数据文件和本规范文件以压缩形式提供（landyne5x.z7）。在用户定义的目录中（例如 c:\landyne5x\）解压缩 landyne5x.z7，并执行 landyne5x.exe。

5.3 许可证和反馈

该软件有两种模式，演示模式和许可模式。在演示模式下，软件完全可操作，但仅限于演示输入文件 EMCIP_demo.tif。

LANDYNE (jlandyne@gmail.com) 提供短期和永久许可证。欢迎提供建议和评论。

6. 参考文献

- [1] X.Z. Li, <http://landyne.scienceontheweb.net>
- [2] X.Z. Li, J. Appl. Cryst. 53 (2020) 848-853.
- [3] X.Z. Li, Microsc. & Anal. May issue (2019) 16-19.
- [4] X.Z. Li, Ultramicroscopy 110 (2010) 297-304.
- [5] X.Z. Li, J. Mater. Edu. 42 (2020) 97-104.
- [6] X.Z. Li, J. Appl. Cryst. 49 (2016) 1818-1826.
- [7] X.Z. Li, J. Appl. Cryst. 38 (2005) 576.
- [8] X.Z. Li, Microsc. Microanal. 20 (2014) 1486-1487.
- [9] X.Z. Li, J. Appl. Cryst. 45 (2012) 862-868.
- [10] X.Z. Li, Micron 117 (2019) 1 - 7.
- [11] Aaron Klug. From Virus Structure to Chromatin: X-ray Diffraction to Three Dimensional Electron Microscopy. Annual Review of Biochemistry, 79:1 - 35, 2010.
- [12] Sven Hovmöller. CRISP: crystallographic image processing on a personal computer. Ultramicroscopy, 41:121 - 135, 1992. <http://www.calidris-em.com/crisp.php>
- [13] R. Kilaas, Christopher Own, B. Deng, K. Tsuda, W. Sinkler, and L. Marks. EDM (Electron Direct Methods). <http://www.numis.northwestern.edu/edm/documentation/edm.htm>.

- [14] X.M. Li, H.F. Li, and H.F. Fan. A revised version of the program VEC (visual computing in electron crystallography). Chinese Physics B, 18(6):2459 - 2463, 2009. <http://cryst.iphy.ac.cn/VEC/>.
- [15] Peter Moeck. Crystallographic image processing for scanning probe microscopy. In A. Mendez-Vilas and J. Diaz, editors, Microscopy: Science Technology, Applications and Education, pages 1951 - 1962.
- [16] Jin-Gyu Kim, Seung Jo Yoo, Chang-Yeon Kim, Hyeong-Tae Joul, Circular Fast Fourier Transform Application: A Useful Script for Fast Fourier Transform Data Analysis of High-resolution Transmission Electron Microscopy Image, Applied Microscopy, 2014;44(4):138-143.
- [17] Bart Verberck, Symmetry-Adapted Fourier Series for the Wallpaper Groups, Symmetry 2012, 4, 379-426.