

溶液中での NaCl 結晶成長過程の自動解析手法の検討

箕田 弘喜, 清水 俊樹

東京農工大学工学部

概要

本研究では、低電子線量観察や液相試料によるコントラストの低下、更には溶液試料を閉じ込めるための小部屋(セル)の窓材料由来のノイズによる信号・ノイズ比の低下などによって、結晶領域の認識が困難な液相透過型電子顕微鏡(TEM)画像から、結晶領域の検出、結晶成長の評価を自動的に行う機械学習を用いない画像解析手法を開発することを目的とした。そのため、以前に本研究室で開発した wet-cell 法により NaCl 水溶液の液相試料を実際に作製、観察し、様々な画像処理・解析法について、結晶領域の自動認識の程度について評価を行った。結晶領域の自動認識のために、空間領域での直線検出による格子縞検出と、空間周波数領域での周期性を示す輝点検出による格子縞検出を比較し、結晶領域の検出に適切なアルゴリズムを決定した。結晶領域のサイズは、対応する領域のピクセル数をカウントすることで対応可能であり、その変化率から結晶成長を評価することが可能である。比較の結果、ある程度の周期性の強度と長さを持つ結晶格子像であれば、手動による格子縞検出と同等、もしくはそれ以上の精度で格子縞検出、結晶成長の評価を行うことができたため、そのような結晶格子像に対する結晶成長の評価手法として有効な、機械学習を用いない液相 TEM 画像自動解析手法を確立できたと言える。

本研究で開発した、水溶液中の結晶成長の液相 TEM 画像自動解析手法の問題点として、異なる方向の格子縞を複数同時に検出できない、格子縞の周期性を示す輝点の強度が低いときや格子縞が見られないときにノイズを検出してしまい、本来存在しない結晶領域を結晶成長の評価に含めてしまうという問題点が挙げられるが、検出する輝点の強度に閾値を設け、特定強度以上の輝点は複数検出し、特定強度以下の輝点は検出しないことで、ある程度の周期性の強度と長さを持つ結晶格子像に対する結晶成長の評価であれば、さらなる精度向上を期待できる。周期性の強度や長さにより結晶成長の検出結果が不安定な結晶格子像に関しては、本研究で開発した手法による結晶領域の検出結果をアノテーション画像として機械学習に転用し、機械学習によるセグメンテーションと併用することで、より広い時間スケールでの結晶成長の評価が可能になると考えている。

1. 研究目的

結晶成長は、材料科学や生命科学、半導体などのさまざまな分野において活用されているが、結晶成長過程におけるメカニズムについては不明な点も多く、その微視的なメカニズムの解明と制御は、これらの分野の進歩・発展にきわめて重要であると考えられる[1, 2]。

水溶液中での結晶核発生と結晶成長のメカニズムは、古典的核生成理論(Classical Nucleation Theory: 以下

CNT)によって、無秩序な領域で結晶核が突然発生し、その結晶核が成長する一段階メカニズムで考えられていた。しかし、近年の分子動力学シミュレーションによって、結晶核発生前に水溶液中の無秩序な領域で溶質の高濃度領域が形成され、その後結晶核が発生し、成長するという二段階メカニズムに従うことが報告された[3-6]。これらはシミュレーションによる結果であるため、溶質の高濃度領域の

形成や結晶核発生、結晶成長の直接的な観察が求められている。

透過型電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscope: 以下 TEM) による結晶成長過程のその場観察は、原子レベルの分解能により、そのメカニズムの解明に大きく貢献している[7]が、結晶成長法に主に用いられる、成長原子・分子を、一定以上の圧力の気体によって輸送する気相成長法や溶液によって輸送する液相成長法[8]での成長過程のその場観察は、試料環境を高真空下に置くことができないため困難であった。しかし近年、環境制御型 TEM 法の研究が盛んに行われており、気相・液相成長中の試料についてもその場観察が可能となりつつある[9-13]。

我々は、水溶液を炭素薄膜で挟み込む wet-cell[14]を開発し、NaCl の液相 TEM 法による観察を行っているが、固相試料とは異なり、イオン化を防ぐための低電子線量観察や、液相試料によるコントラストの低下が結晶成長の評価を複雑化している。また、解析手法が確立していないため、定量的な解析を行えず、解析者の練度や主観に大きく左右され、解析に長い時間を要するという問題がある。Fig. 1 に NaCl の液相 TEM 観察の例を示した。この図から構造の揺らぎが確認できる。

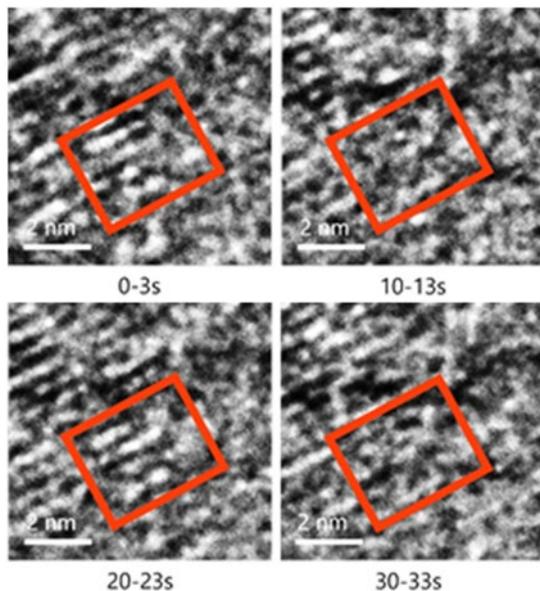


Fig. 1 Image series showing structural fluctuations in NaCl crystals

定量的な解析を行うための画像解析手法を考えた場合、液相 TEM 画像解析の課題として、イオン化を防ぐための低電子線量観察によるノイズの増加やコントラストの低下があり、結晶領域とバックグラウンドの判別が難しく、単純な画像解析や手動による検出では、誤った結晶領域の検出が行われやすいという問題がある。そこで、機械学習による自動的な特徴量の抽出により、水溶液中の結晶領域の法則性を学習させ、自動的に結晶領域を検出する方法が盛んに研究されている[15-17]が、学習データに用いる数百枚の TEM 画像の撮影やそれらに対する手動によるアノテーション、もしくはシミュレーション画像の設計などが必要であり、学習コストが高いという問題が挙げられる。また、最適化や過学習の抑制のため、手動によるハイパーパラメータの設定が必要であり、ハイパーパラメータの組み合わせによって学習効率や性能が大きく変わるため、解析者の練度や試行回数が結晶領域の検出精度に重要なファクターとなる。

本研究では、低電子線量観察や液相試料によるコントラストの低下によって、結晶成長の評価が困難な液相 TEM 画像から、結晶領域の検出、結晶成長の評価を自動的に行う画像解析手法の確立を目指して、本研究室で開発された wet-cell 法により NaCl 水溶液の液相試料を実際に作製、観察し、結晶成長を撮影、画像解析手法の探索を行う。また、大量のシミュレーション画像や TEM 画像、手動による TEM 画像へのアノテーションが必要不可欠で、最適化に伴い、複数回のハイパーパラメータの手動設定が必要な、学習コストの高い機械学習を用いない手法の探索を行う。

2. 研究方法

2.1 液体セル

本研究では溶液中での結晶成長の様子をナノスケールで観察するために、我々のグループで独自に開発した自作の封じ切タイプの液体セルを用いている[13]。液体セルの概略図を Fig. 2 に示す。今回作製する wet-cell では、図のように凹凸のあるプラスチック膜をスペーサーとして利用し、炭素薄膜の下膜に凹凸を形成、その凹凸部分に観察対象の水溶液を入れ、炭素薄膜の上膜で液相試料を密閉する構造となっている。

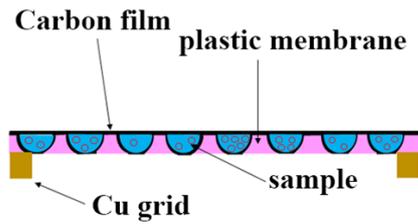


Fig. 2 A schematic drawing of a wet cell

今回使用するセルの特徴として、次の3つが挙げられる。1つ目は、窒化シリコンに比べて安価であることで、2つ目は、スペーサーを用いない wet-cell とは異なり、凹凸のあるプラスチック膜をスペーサーとして用いることで、炭素薄膜に穴が開き、セル内の水溶液が漏れ出した場合でも他の凹み部分で観察が可能であること、3つ目は、炭素薄膜の電子線の透過率が高く、観察時にセルが影響を与えにくいことである。

プラスチック膜をスペーサーとして利用しているため、液相試料の厚さはプラスチック膜の厚さによって決まる。

2.2 画像解析について

2.2.1 空間フィルタリング

空間フィルタリングは画像フィルタリングの一つで、入力画像の注目画素値に対して、注目画素値と周囲の画素値から出力画像の画素値を計算する処理のことである。画像の平滑化やエッジ抽出、鮮鋭化に用いられる。線形フィルタリングと非線形フィルタリングに分けられ、線形フィルタリングは入力画像を $f(i, j)$ 、出力画像を $g(i, j)$ 、空間フィルタを $h(m, n)$ 、カーネルサイズ $(2k + 1) \times (2l + 1)$ として、式(2.1)で表すことができる。

$$g(i, j) = \sum_{n=-l}^l \sum_{m=-k}^k f(i + m, j + n) * h(m, n) \quad (2.1)$$

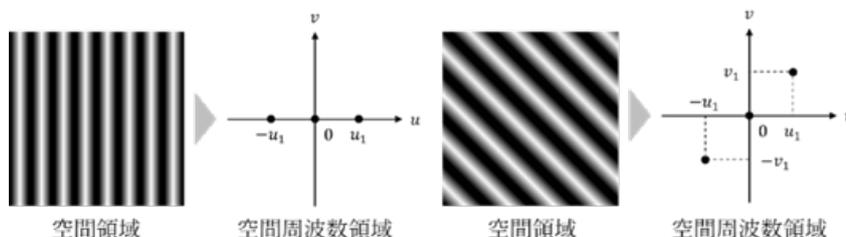


Fig. 4 Example of a two-dimensional Fourier transform

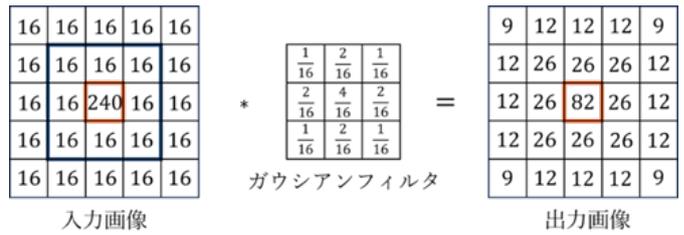


Fig. 3 An example of the Gaussian Filtering

空間フィルタの一つである、ガウシアンフィルタによるフィルタリングの例を Fig. 3 に示す。入力画像の端の画素値から計算する場合、周囲の画素値に存在しない部分があるため、入力画像の周囲を 0 として計算している。カーネルサイズは 3×3 である。

2.2.2 高速フーリエ変換と二次元フーリエ変換

高速フーリエ変換 (Fast Fourier Transform: 以下 FFT) は、離散フーリエ変換を高速に計算するアルゴリズムのことで、離散フーリエ変換は、フーリエ変換を離散的な信号に適用した変換のことである。FFT の逆変換を、逆高速フーリエ変換 (Inverse Fast Fourier Transform: 以下 IFFT) と呼ぶ。

画像などの二次元データに対するフーリエ変換は二次元フーリエ変換と呼ばれ、画像を $f(x, y)$ とするとき、そのフーリエ変換 $F(u, v)$ は、式(2.2)で表すことができる。

$$F(u, v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \exp(2\pi i(ux + vy)) dx dy \quad (2.2)$$

二次元フーリエ変換は、空間領域 (x, y) を空間周波数領域 (u, v) に変換する。変換の例を Fig. 4 に示す。画像における周期性は、振幅スペクトル $|F(u, v)|$ と位相スペクトル $\arg F(u, v)$ に変換できる。二次元フーリエ変換後の次元は、一次元の場合と同様に変換前の次元の逆数となるため、空間周波数の単位は m^{-1} となる。

2. 2. 3 周波数フィルタリング

周波数フィルタリングは画像フィルタリングの一つで、入力画像を二次元フーリエ変換で空間周波数領域に変換し、周波数フィルタで、特定の周波数帯域を除去することで特定の周波数帯域だけを残す処理のことである。フィルタリング後、逆二次元フーリエ変換で空間領域に戻すことで、像を得られる。画像の平滑化やエッジ抽出、鮮鋭化の他に、コントラストの低い部分の強調にも用いられる。周波数フィルタリングはフーリエ変換後の画像を $F(u, v)$ 、出力画像を $G(u, v)$ 、周波数フィルタを $H(u, v)$ として、式(2.3)で表すことができる。

$$G(u, v) = F(u, v) \cdot H(u, v) \quad (2.3)$$

周波数フィルタの一つであるハイパスフィルタによるフィルタリングの例を Fig. 5 に示す。低周波成分をマスクして高周波成分のみを残したことで、低周波な白と黒の太い

縞模様が消え、高周波な画素値の変化が大きい部分のみが残っていることが分かる。

2. 2. 4 空間領域での格子縞検出

空間領域での格子縞検出は、ノイズ処理とエッジ抽出、直線検出の3つの組み合わせで行う。空間領域での格子縞検出手順とその概略図 (Fig. 6) を以下に示す。

1. ノイズフィルタによるノイズ処理
2. エッジフィルタによるエッジ抽出
3. 直線検出アルゴリズムによる格子縞検出
4. 元画像に合成

ノイズ処理とエッジ抽出、直線検出に用いるフィルタとアルゴリズムを Table 1 に示す。これらを検証し、空間領域での格子縞検出に最適な組み合わせの探索を行う。

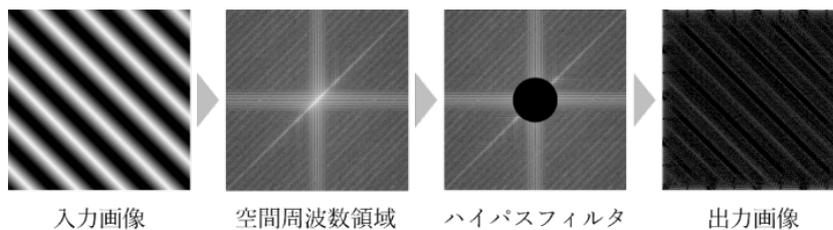


Fig. 5 An example of High-pass filtering

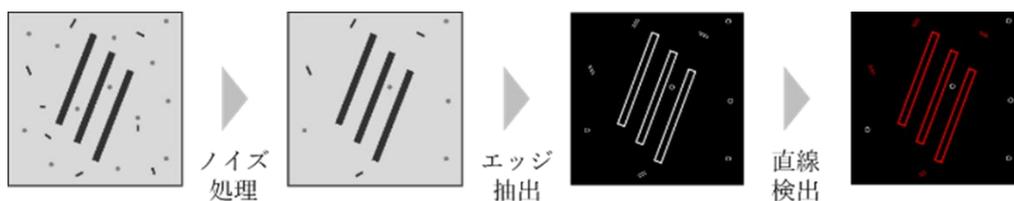


Fig. 6 A procedure of spatial domain lattice detection

Table 1 Filters and algorithms used in the validation

	ノイズ処理	エッジ抽出	直線検出
空間フィルタ	平均化フィルタ 中央値フィルタ ガウシアンフィルタ バイラテラルフィルタ[18]	プレヴィットフィルタ(横・縦方向) ソーベルフィルタ(横・縦方向) ラプラシアンフィルタ	Hough変換[20] Line Segment Detector(以下LSD)[22] (直線検出はフィルタリングではなくすべてアルゴリズム)
周波数フィルタ	ローパスフィルタ	ハイパスフィルタ	
アルゴリズム		Canny法[19]	

空間フィルタのカーネルサイズは、 3×3 、 5×5 の2種類。各フィルタの例やその概念図を以下に示す。

- 平均化フィルタ:注目画素値と周囲の画素値の平均値を計算するフィルタ
- 中央値フィルタ:カーネル内の画素値の中央値を計算するフィルタ
- ガウシアンフィルタ:平均化フィルタに、注目画素からの距離に反比例するような、ガウス分布に基づく重み付けをしたフィルタ
- バイラテラルフィルタ[18]:ガウシアンフィルタに、注目画素との輝度値の差に反比例するような、ガウス分布に基づく重み付けをしたフィルタ
- プレヴィットフィルタ:注目画素値と隣接画素値の差のみを求め一次微分フィルタに、周囲の輝度値の差を考慮し、平滑化を加えたフィルタ。両方向のフィルタリング結果を合成してエッジを抽出する。
- ソーベルフィルタ:プレヴィットフィルタに、注目画素からの距離に反比例するように重み付けをしたフィルタ。両方向のフィルタリング結果を合成してエッジを抽出する。
- ラプラシアンフィルタ:2次微分フィルタとも呼ばれ、4近傍フィルタでは縦方向と横方向にそれぞれ微分を2回行い(画素値の差の変化を求める)、8近傍フィルタではさらに斜め方向も微分を行うことでエッジを抽出する。
- ローパスフィルタとハイパスフィルタ:ローパスフィルタは高周波成分を除去し、低周波成分を残すフィルタで、ハイパスフィルタはその逆である。
- Canny法[19]:Canny法によるエッジ抽出手順を以下に示す。
2つの閾値は手動により探索する。
 1. ガウシアンフィルタによるノイズ処理
 2. ソーベルフィルタによるエッジ抽出
 3. 勾配の大きさと方向の計算
 4. 勾配方向上の非極大値抑制(細線化)
 5. 勾配の強度をヒステリシス閾値処理(2つの閾値によって強度を3分割)し、強度の強いエッジはそのまま出力、強度の弱いエッジは近傍画素に強度の強いエッジがあれば強度の強いエッジとして連結し、出力する
- Hough変換[20, 21]:Hough変換による直線検出手順を以下に示す。
 1. エッジ抽出により二値化した画像からエッジ点を選択

2. 選択したエッジ点を通る直線を考え、それに対して原点から下した垂線との交点の極座標表示 $\rho = x \cos \theta + y \sin \theta$ を考える。
 3. ρ と θ の組をパラメータ空間にプロット
 4. すべてのエッジ点に対して変換を行い、非極大値抑制によって、パラメータ空間上で曲線が多く交わる点(最頻パラメータ)を検出
 5. 最頻パラメータを直線として出力する
- Line Segment Detector[22]:LSDによる直線検出手順を以下に示す。

1. ピクセルごとに、コントラストの変化(勾配)が最も大きい方向を計算
2. 勾配方向に垂直な Level-Line を計算し、Level-Line Field を生成
3. Level-Line Field 内で、同じ角度を持つ近傍の Level-Line 同士を連結し、Line Support Regions を生成
4. Line Support Regions に近い角度を持つ近傍のピクセルを Line Support Regions に追加
5. Line Support Regions を矩形近似し、線分に変換

2. 2. 5 空間周波数領域での格子縞検出

空間周波数領域での格子縞検出は、格子縞の周期性を示す輝点の検出により行う。空間周波数領域での格子縞検出手順と検出例を以下に示す。

1. FFTによる二次元フーリエ変換
2. カーネルサイズ 5×5 の最大値フィルタによる極大値検出
3. 最大値以外をマスクし、周期性を示す輝点のみ抽出
4. IFFTによる逆二次元フーリエ変換
5. 大津法による二値化
6. 元画像に合成

3. 研究結果と考察

3. 1 撮影した水溶液中の NaCl

3. 1. 1 格子検出アルゴリズム検証画像

空間領域、空間周波数領域での格子縞検出アルゴリズムの検証に用いる、2つの水溶液中の NaCl の結晶格子像を Fig. 8(a), (b)に示す。(a)は格子縞のエッジは比較的明確だが短い像で、(b)は格子縞のエッジは不明確だが長い像である。手動により格子縞と判定した範囲をオレンジ色の枠で示している。

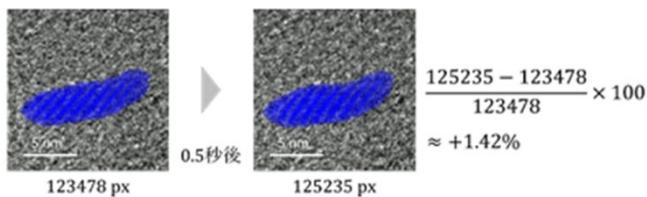


Fig. 7 Example of evaluation of crystal growth

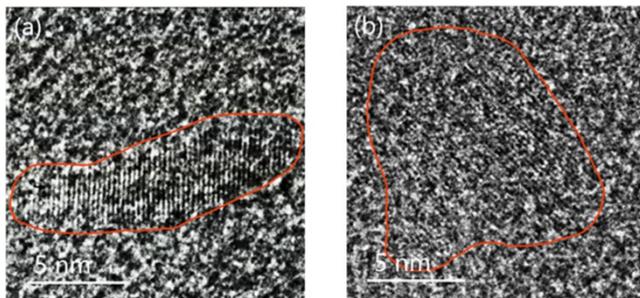


Fig. 8 (a) Lattice image with clear edges, (b) Lattice image with unclear edges

3. 1. 2 構造の揺らぎと消失

結晶成長評価の検証に用いる水溶液中の NaCl の構造の揺らぎの様子を、露光時間0.5秒で撮影した液相 TEM 動画をフレームに分割し、Fig. 9 に示す。左上には構造の揺らぎの様子の 1 枚目を0~0.5秒としたときの相対時刻を示している。また、結晶領域の変化の例としてオレンジ色の枠で示した部分の拡大図を Fig. 10 に示す。時間経過に伴って増加している部分を赤色、減少している部分を青色の枠で示している。この例から分かるように、Fig. 9 では、注目している結晶領域の大きな変化はないが、境界では結晶領域が増減しており、構造の揺らぎが見える。

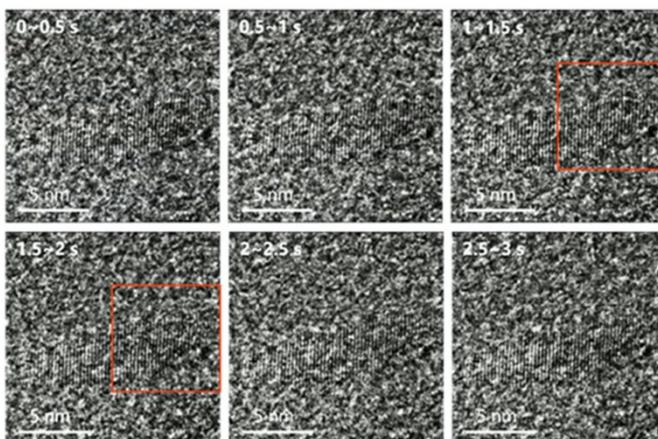


Fig. 9 A series of images showing the fluctuations in structure

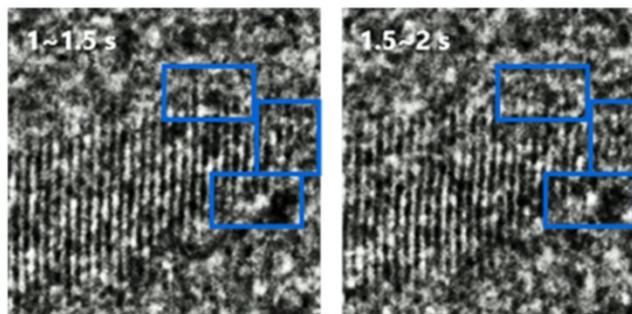


Fig. 10 Change in crystalline regions at 1 to 2 seconds. The change in lattice fringes is clearly visible in the blue square.

3. 2 結晶領域の検出結果

3. 2. 1 空間領域での格子縞検出結果

3. 1. 1 で示した Fig. 8(a) に対するノイズ処理結果を Fig. 11 に、Fig. 8(b) に対する結果を Fig. 12 に示す。(a) は、ノイズ処理していない像でもバックグラウンドに比べて格子縞が比較的に見やすく、(b) は、バックグラウンドのノイズの影響で格子縞が見にくい視野である。

平均化フィルタ、中央値フィルタ、ガウシアンフィルタをかけた像は、細かなノイズは消えているが、特にカーネルサイズ 5×5 では格子縞のエッジも平滑化されていることが分かる。バイラテラルフィルタとローパスフィルタをかけた像は他のフィルタをかけた像に比べ、格子縞のエッジを残しつつ全体的なノイズが除去されていることが分かる。本研究では、バイラテラルフィルタ (5×5) とローパスフィルタを採用する。

次に、エッジ抽出結果と直線検出結果を以下に示す。エッジ抽出の効果を検証するために、ノイズ処理のみを適用し、直線検出を適用した結果を Fig. 13, Fig. 14 に示す。ただし、Fig. 8(a), (b) のどちらか一方でも格子縞に対応する直線が検出できなかったものは示していない。

Hough 変換は各エッジ点に対して直線候補を考え、投票によって直線を決定する。そのため、液相 TEM 画像のようにノイズが多く、斜め方向のエッジ点が多い画像では、Fig. 15 のように斜め方向に直線検出されやすく、格子縞検出には適切ではないことが分かる。そこで本研究では、直線検出アルゴリズムには LSD を採用する。

エッジ抽出にラプラシアンフィルタを適用した直線検出結果を Fig. 16, Fig. 17 に示す。2 次微分フィルタであるラプラシアンフィルタは画素値の変化が大きな部分のみを抽出するため、ノイズ処理のみを適用した結果やプレヴィットフィルタやソーベルフィルタなどの 1 次微分フィルタに

比べ、バイラテラルフィルタやローパスフィルタのようなエッジを残しつつ平滑化するノイズフィルタと組み合わせることで、ノイズの影響を抑えられている。

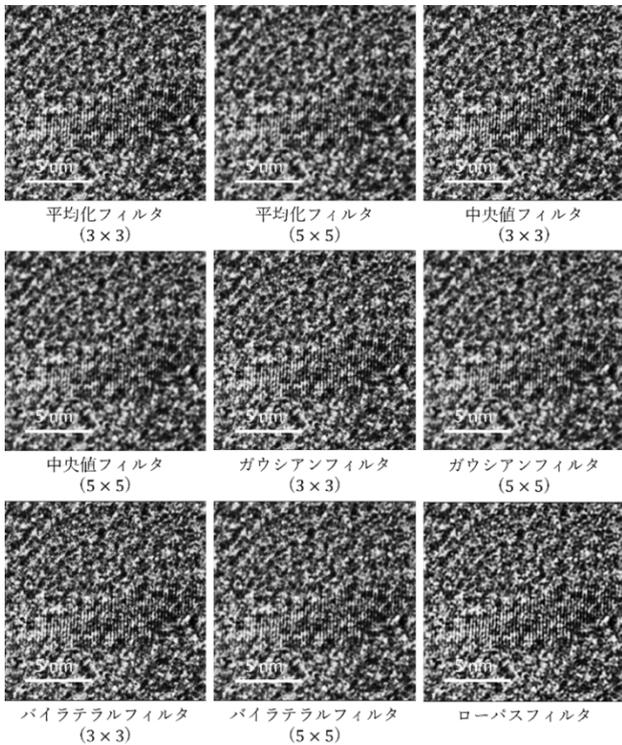


Fig. 11 Change in crystalline region from 5 to 6 seconds.

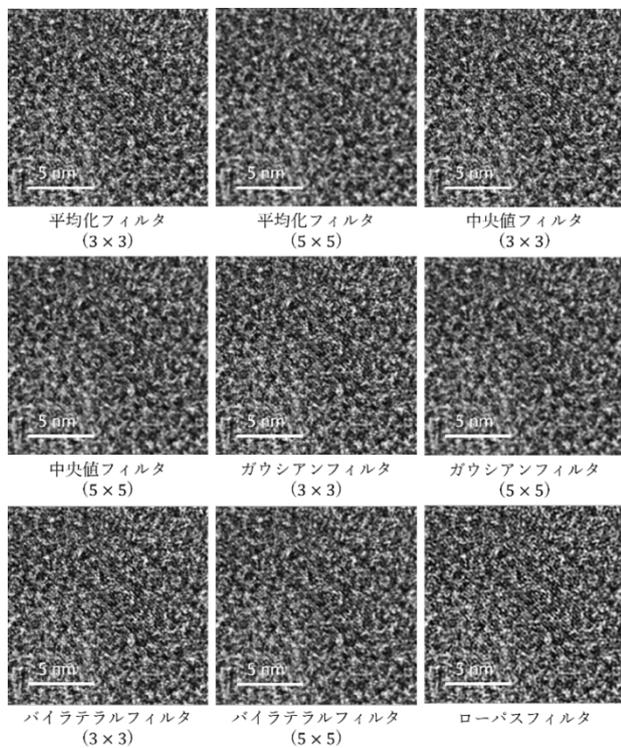


Fig. 12 Noise reduction results for Fig. 8(b) using various filters

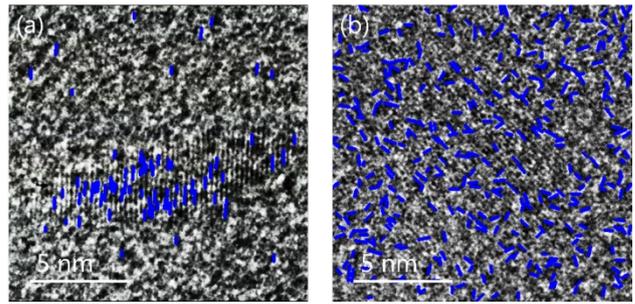


Fig. 13 Example of bilateral filter (5x5) and LSD processing

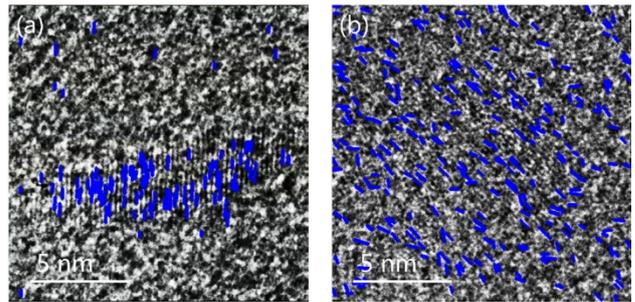


Fig. 14 Example of low pass filter and LSD processing

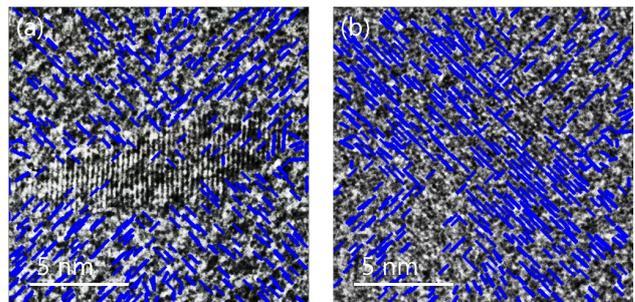


Fig. 15 Examples of low pass filter, Laplacian filter (5x5) and Hough transform processing

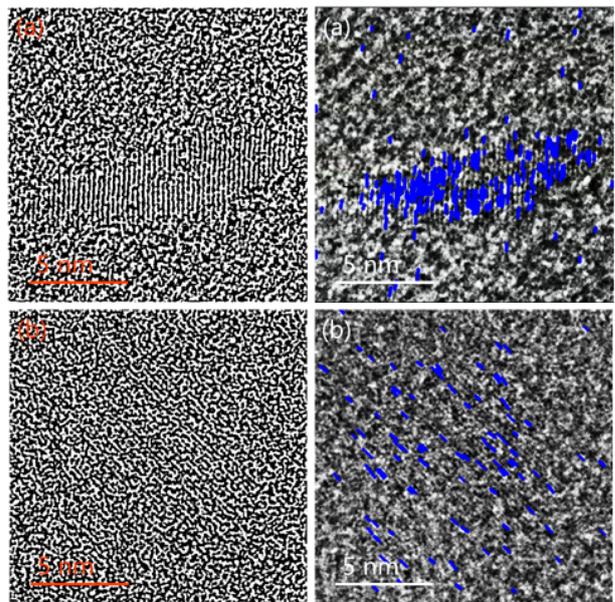


Fig. 16 Examples of bilateral filter (5x5), Laplacian filter (5x5), and LSD processing

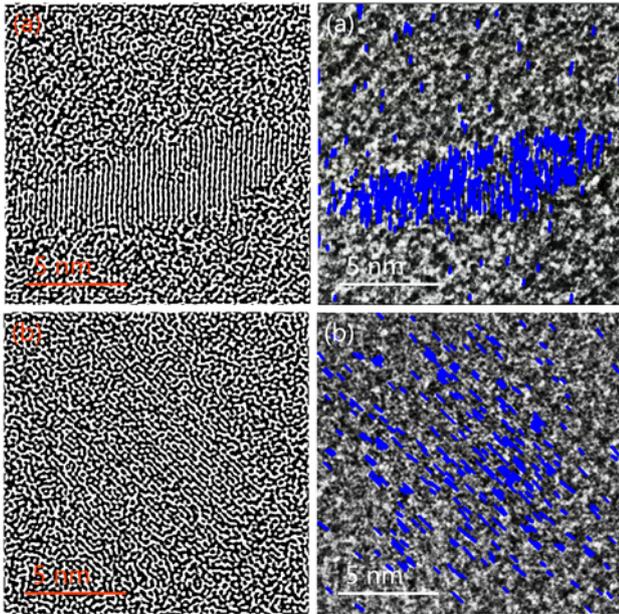


Fig. 17 Examples of low pass filter, Laplacian filter (5x5) and LSD processing

3. 2. 2 空間周波数領域での格子縞検出結果

次に画像を 2 次元フーリエ変換し、その計算像を用いて格子縞検出した結果について示す。こちらでも 3. 1. 1 で示した **Fig. 8(a), (b)** をモデル画像として用いている。**Fig. 8(a), (b)** の FFT による二次元フーリエ変換と、輝点検出の結果を図 **Fig. 18** に示す。

輝点検出の前にバンドパスフィルタを用いて FFT の中心と外側の輝点を除去し、最大値フィルタによって検出した極大値の中で、最も強度の強い輝点のみを抽出しているため、画像内に 2 つの結晶領域がある場合、周期性の強い格子縞のみ検出される。

最も強い輝点を用いた IFFT による逆二次元フーリエ変換と大津法による二値化の結果を図 **Fig. 19** に示す。

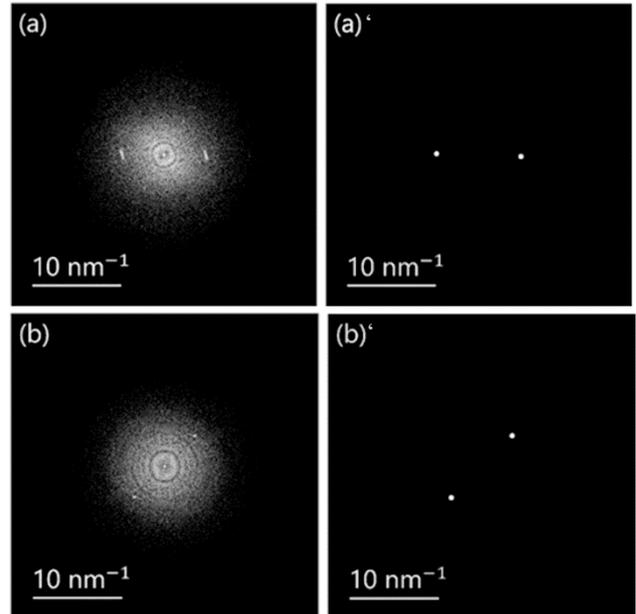


Fig. 18 Results of two-dimensional Fourier transform and bright spot detection

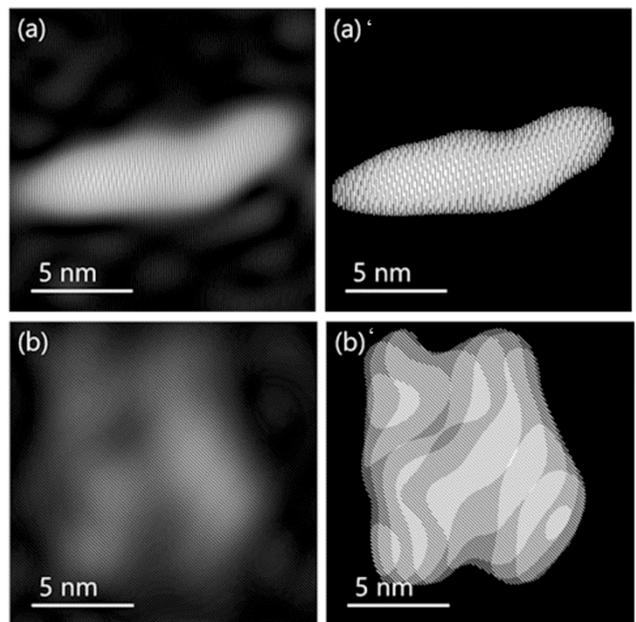


Fig. 19 Results of inverse two-dimensional Fourier transform and binarization using Otsu's method

大津法による二値化は、輝度値をある値で 2 つのクラスに分離し、2 つのクラスの分離度が最大となる値を閾値とするため、全体的なコントラストが閾値の決定に影響する。そのため、格子縞の周期性の強さによって閾値が変わり、エッジが明確な格子像では、**(a)** のようにノイズと結晶領域のコントラストが高い逆フーリエ変換像が得られるが、エッジが不明確な格子像では、**(b)** のようにコントラストが低い

逆フーリエ変換像となり、周期性の強いノイズが検出されやすくなる。

以上述べてきた格子縞の自動検出の結果の妥当性を各印するために、**Fig. 8** で示した手動による格子縞検出結果と **Fig. 17** の空間領域での格子縞検出結果、および **Fig. 19** の空間周波数領域での格子縞検出結果をそれぞれ比較する。

空間領域での**(a)**の格子縞検出は比較的できており、ノイズの影響も抑えることができているが、**(b)**はエッジが不明確なため格子縞が飛び飛びに検出されており、構造の揺らぎを評価するのは難しいと考えられる。**Fig. 20** に示すように、空間領域での格子縞検出結果では格子縞領域の検出がうまくできておらず、**Fig. 21** に示すように空間周波数領域での格子縞検出は、**(a)**、**(b)**ともに手動による検出と同等の結果が得られており、**(b)**のようにエッジが不明確な格子像においてもノイズの影響をほとんど受けていないことが分かる。

今回検証した手法の中で、空間周波数領域での格子縞検出が結晶領域の検出に最も適切なアルゴリズムと結論付けられる。

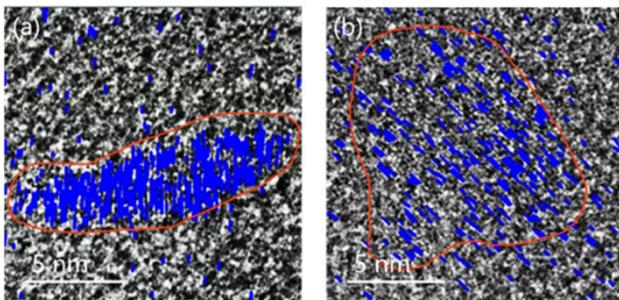


Fig. 20 Comparison of manual lattice detection (red line) and spatial domain lattice detection

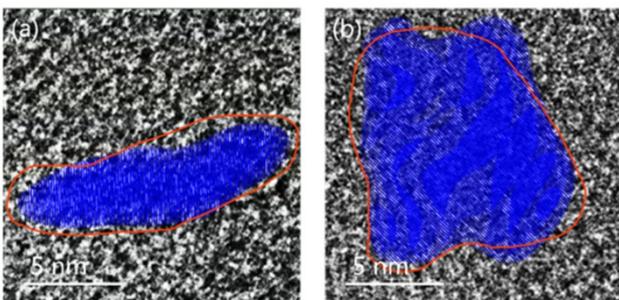


Fig. 21 Comparison of manual grating detection (red line) and grating detection in the spatial frequency domain

4. 結論と今後の課題と展望

本研究では、低電子線量観察や液相試料によるコントラストの低下、更には溶液試料を閉じ込めるための小部屋(セル)の窓材料由来のノイズによる信号・ノイズ比の低下などによって、結晶領域の認識が困難な液相 TEM 画像から、結晶領域の検出、結晶成長の評価を自動的に行う機械学習を用いない画像解析手法を開発することを目的とした。そのため、以前に本研究室で開発した wet-cell 法により NaCl 水溶液の液相試料を実際に作製、観察し、様々な画像処理・解析法について、結晶領域の自動認識の程度について評価を行った。結晶領域の自動認識のために、空間領域での直線検出による格子縞検出と、空間周波数領域での周期性を示す輝点検出による格子縞検出を比較し、結晶領域の検出に適切なアルゴリズムを決定した。結晶領域のサイズは、対応する領域のピクセル数をカウントすることで対応可能であり、その変化率から結晶成長を評価することが可能である。比較の結果、3. 1. 1で示した **Fig. 8(a)**のような、ある程度の周期性の強度と長さを持つ結晶格子像であれば、手動による格子縞検出と同等、もしくはそれ以上の精度で格子縞検出、結晶成長の評価を行うことができたため、そのような結晶格子像に対する結晶成長の評価手法として有効な、機械学習を用いない液相 TEM 画像自動解析手法を確立できたと言える。

本研究で開発した、水溶液中の結晶成長の液相 TEM 画像自動解析手法の問題点として、異なる方向の格子縞を複数同時に検出できない、格子縞の周期性を示す輝点の強度が低いときや格子縞が見られないときにノイズを検出してしまい、本来存在しない結晶領域を結晶成長の評価に含めてしまうという問題点が挙げられるが、検出する輝点の強度に閾値を設け、特定強度以上の輝点は複数検出し、特定強度以下の輝点は検出しないことで、ある程度の周期性の強度と長さを持つ結晶格子像に対する結晶成長の評価であれば、さらなる精度向上を期待できる。周期性の強度や長さにより結晶成長の検出結果が不安定な結晶格子像に関しては、本研究で開発した手法による結晶領域の検出結果をアノテーション画像として機械学習に転用し、機械学習によるセグメンテーションと併用することで、より広い時間スケールでの結晶成長の評価が可能になると考えている。

5. 文献

1. Kozo Fujiwara. Crystal Growth Behaviors of Silicon during Melt Growth Processes. *Int. J. Photoenergy*, **2012**, 2012(1), 169829.
2. Biran, I.; Rosenne, S.; Weissman, H.; Tsarfati, Y.; Houben, L.; Rybtchinski, B. Organic Crystal Growth: Hierarchical Self-Assembly Involving Nonclassical and Classical Steps. *Cryst. Growth Des.*, **2022**, 22(11), 6647-6655.
3. Galkin, O.; Vekilov, P. G. Nucleation of protein crystals: critical nuclei, phase behavior, and control pathways. *J. Cryst. Growth.*, **2001**, 232(1-4), 63-76.
4. Vekilov, P. G. Two-step mechanism for the nucleation of crystals from solution. *J. Cryst. Growth.*, **2005**, 275(1-2), 65-76.
5. Vekilov, P. G. The two-step mechanism of nucleation of crystals in solution. *Nanoscale*, **2010**, 2(11), 2346-2357.
6. Patey, G. N. Evidence that crystal nucleation in aqueous NaCl solution Occurs by the two-step mechanism. *Chem. Phys. Lett.*, **2013**, 587(5), 25-29.
7. Zhu, Y.; Yuan, D.; Zhang, H.; Xu, T.; Sun, L. Atomic-scale insights into the formation of 2D crystals from in situ transmission electron microscopy. *Nano Res.*, **2021**, 14, 1650-1658.
8. Tatau Nishinaga. Understanding of the crystal growth mechanism. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **2018**, 87(8), 583-589.
9. Raymond, R. U.; Eric, A. S. Gas-phase electron microscopy for materials research. *MRS Bull.* **2023**, 48(2), 828-832.
10. Kimberly A. Dick. Gas-phase materials synthesis in environmental transmission electron microscopy. *MRS Bull.* **2023**, 48(8), 833-841.
11. Nguyen T. K. T.; Maclean, N.; Mahiddine, S. Mechanisms of Nucleation and Growth of Nanoparticles in Solution. *Chem. Rev.* **2014**, 114(15), 7610-7630.
12. Xue, P.; Jiang, X.-T.; Qu, M.; Zhao, T.; Jiang, Y.-H.; Ying, Y.; Luo, Y.; Wang, D.; Chu, G.-W.; Chen, J.-F.; Sun, S.-G.; Liao, H.-G. In situ TEM observation of liquid flow induced dense phase formation and anisotropic nanocrystal growth. *Chem. Eng. J.* **2023**, 455(4), 140748.
13. Xu, Z.; Ou, Z. Direct Imaging of the Kinetic Crystallization Pathway: Simulation and Liquid-Phase Transmission Electron Microscopy Observations. *Materials*, **2023**, 16(5), 2026.
14. Inayoshi, Y.; Minoda, H. A carbon sandwich environmental cell for wet specimens. *Microscopy*, **2013**, 62(6), 623-628.
15. Yao, L.; Ou, Z.; Luo, B.; Xu, C.; Chen, Qian. Machine Learning to Reveal Nanoparticle Dynamics from Liquid-Phase TEM Videos. *ACS Cent. Sci.*, **2020**, 6(8), 1421-1430.
16. Sung, J.; Bae, Y.; Park, H.; Kang, S.; Choi, B. K.; Kim, J.; Park, J. Liquid-Phase Transmission Electron Microscopy for Reliable In Situ Imaging of Nanomaterials. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, **2022**, 13, 167-191.
17. Hiroyasu, K.; Kimura, Y.; Yamazaki, T.; Takigawa, I. Early Detection of Nucleation Events From Solution in LC-TEM by Machine Learning. *Front. Chem.*, **2022**, 10.
18. Tomasi, C.; Manduchi, R. Bilateral filtering for gray and color images. *Proc. 6th Int. Conf. Comput. Vis.*, **1998**, 839-846.
19. Canny, J. A Computational Approach to Edge Detection. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, **1986**, 8(6), 679-698.
20. Hough, P. V. C. Method and Means for Recognizing Complex Patterns. U. S. Patent 3069654, December 18, 1962.
21. Duda, R. D.; Hart, P. E. Use of the Hough transformation to detect lines and curves in pictures. *Commun. ACM*, **1972**, 15(1), 11-15.
22. Gioi, R. G.; Jakubowicz, J.; Morel, J.-M.; Randall, G. LSD: a Line Segment Detector. *Image Process. Line*, **2012**, 2, 35-55.

Study on Automatic Analysis Method for NaCl Crystal Growth Process in Aqueous Solution

Hiroki Minoda, Toshiki Shimizu

Department of Applied Physics and Chemical engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology

Summary

In this study, we searched for an image analysis method that does not use machine learning to automatically detect crystalline regions and evaluate crystal growth from liquid-phase TEM images, where it is difficult to evaluate crystal growth due to low electron dose observation and reduced contrast in liquid-phase samples. We actually prepared and observed liquid-phase samples of NaCl aqueous solutions using the wet-cell method developed in our laboratory, photographed the crystal growth, and analyzed the images. We compared lattice fringe detection by detecting lines in the spatial domain with lattice fringe detection by detecting bright spots that show periodicity in the spatial frequency domain, and determined an appropriate algorithm for detecting crystalline regions. The size of the crystalline region can be measured by counting the number of pixels in the corresponding region, and crystal growth can be evaluated from the rate of change. As a result, for crystal lattice images with a certain degree of periodicity intensity and length, lattice fringe detection and crystal growth evaluation could be performed with the same or higher accuracy as manual lattice fringe detection, so it can be said that we have established an automatic liquid-phase TEM image analysis method that does not use machine learning and is effective as a method for evaluating crystal growth for such crystal lattice images.

Problems with the liquid-phase TEM image automatic analysis method for crystal growth in aqueous solutions developed in this study include the inability to simultaneously detect multiple lattice fringes in different directions, and the detection of noise when the intensity of the bright spots indicating the periodicity of the lattice fringes is low or when the lattice fringes are not visible, resulting in the inclusion of crystal regions that do not actually exist in the evaluation of crystal growth. However, by setting a threshold for the intensity of the bright spots to be detected, detecting multiple bright spots above a certain intensity, and not detecting bright spots below a certain intensity, further accuracy can be expected for the evaluation of crystal growth in crystal lattice images with a certain degree of periodicity intensity and length. For crystal lattice images where the detection results for crystal growth are unstable depending on the intensity and length of the periodicity, we believe that it will be possible to evaluate crystal growth on a wider time scale by diverting the detection results of crystal regions using the method developed in this study as annotation images for machine learning and combining them with segmentation by machine learning.