

УДК 68.004.05

ПРИМЕНЕНИЕ ПАКЕТА IMAGEJ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ЭЛЕКТРОННОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ МИКРОСКОПИЕЙ (НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗА БУМАГИ)

М.А. ЗИЛЬБЕРГЛЕЙТ⁺, В.И. ТЕМРУК

ГНУ «Институт общей и неорганической химии» НАН Беларуси, ул. Сурганова, 9/1, 220072, г. Минск, Беларусь.

Изучены особенности применения программы с открытым исходным кодом ImageJ для обработки изображений, полученных при помощи электронной сканирующей микроскопии. Исследовались различные варианты бинаризации изображения на примере бумаги, наполненной мраморным кальцитом. Одновременно оценивалась устойчивость полученных результатов к случайным помехам. Показано, что только часть алгоритмов из 16 используемых дает приемлемые результаты. К таким алгоритмам относят – IsoData, IJ-IsoData, MaxEntropy, Omsu, RenyiEntropy, Shanbhag, Triangle, Yen. Попытка использовать стандартный метод кластеризации также не приводит к успеху.

Ключевые слова: обработка изображений, пакет ImageJ, бинаризация и кластеризация изображений, бумага с наполнителем.

Введение

В настоящее время методы электронной сканирующей микроскопии без напыления токопроводящего слоя широко и успешно используются для изучения структуры природных и синтетических полимеров. К сожалению, дальнейшая обработка данных проводится зачастую путем качественного описания полученных изображений. После визуализации данных их интерпретация ведется при помощи терминов нечеткой логики типа «меньше», «лучше», «более равномерно» и т.п. Такой прием вполне оправдан при сравнении двух объектов. Однако, если изучаемых объектов более двух, то сравнивать их таким образом становится неудобно, так как требуется зачастую требуется количественная характеристика. В тоже время в сети Интернет имеется бесплатно распространяемый пакет ImageJ используемый для анализа и обработки изображений. Данный пакет написан сотрудниками National Institutes of Health (<http://imagej.net/Welcome>) и предназначен для обработки результатов медицинских и биохимических исследований. Этот продукт, несмотря на возможности характерные для графических редакторов, предназначенных для работы с художественными иллюстрациями, является важным инструментом для обработки научных данных.

Зачастую в полученном изображении необходимо выделить определенную область, определить ее площадь и дать иную количественную интерпретацию полученных данных. Если изучаемая область имеет сложный характер и дискретно распределена по изображению, то возникают проблемы в ее обработке. Самым «простым» приемом обработки таких данных является получение бинарного изображения, т.е. изображения в котором каждый пиксель может представлять только один из двух цветов – черного и белого.

В целом все методы бинаризации условно делятся на пороговые а адаптивные. Существует достаточно большое число алгоритмов получения бинарного изображения основные сведения, о которых можно найти, например в [1–3]. В частности пакет ImageJ предлагает 16 таких вариантов. Уже наличие такого большого количества версий приводит к заключению, что даже такой на вид «простой» процесс как бинаризация является достаточно сложной задачей. В этой связи возникает вопрос о доверии к полученным данным, если они сильно отличаются друг от друга.

Следующим достаточно важным вопросом является проблема, связанная с чувствительностью таких алгоритмов к шуму.

Для методов электронной сканирующей микроскопии характерны различного рода искажения

⁺ Автор, с которым следует вести переписку. E-mail: mazi@list.ru.

изображения за счет накопления электрических зарядов на диэлектрических материалах, а также помехи, возникающие по целому ряду других внутренних и внешних причин. Поэтому представляет интерес проследить за изменением результатов при введении в изображение шума. Пакет ImageJ предоставляет такую возможность, так как способен внести контролируемый шум в изучаемое изображение.

Кроме описанных выше инструментов в пакете ImageJ (Fiji) имеется возможность проведения кластеризации изображений. Так как результатом бинаризации фактически является получение двух кластеров, то мы для сравнения также воспользовались кластеризацией изображения для получения таких классов.

Экспериментальный материал для анализа

В качестве исходного материала нами были использованы данные из статьи [4], в которой приведены микрофотографии образцов бумаги с наполнителем – модифицированным и немодифицированным мраморным кальцитом, полученные при помощи сканирующего электронного микроскопа JEOL 5610 LV (рис. 1).

Область мраморного кальцита проявляется в виде белых образований на рисунке. Волокна целлюлозы имеют типичный вид – переплетенные волокна неправильной формы. В некоторых случаях видна клеточная стенка волокна. На рис. 2 приведены соответствующие гистограммы распределений значений серого. Распределение серого в случае образца с немодифицированным кальцитом характеризуется четко выраженной полимодальностью (9 пиков) по сравнению с образцом (б) – 3 пика.

Результаты и их обсуждение

Значимым моментом, на которое следует обратить внимание является тот факт, что в цитируемой статье приводится количество наполнителя, определенное косвенным методом и которое составляет для бумаги с немодифицированным 11,1% и 12,2% с модифицированным кальцитом соответственно. Кроме того общеизвестно, что плотность бумажного листа примерно составляет $0,7-1,2 \text{ г/см}^3$, а насыпная плотность порошка мела $0,80-1,12 \text{ г/см}^3$, поэтому с определенной натяжкой можно считать, что площадь на изображении занятая мелом также должна иметь тот же порядок величин. Также следует учесть, что на наружной стороне бумаги количество наполнителя несколько больше чем в среднем бумажной листе и по разным данным эта величина не превышает 25–35% от среднего. Таким образом, алгоритм бинаризации, применение которого, покажет содержание кальцита в образцах порядка 11–16%, является наиболее подходящим для использования в этом случае.

В качестве методов бинаризации были использованы следующие алгоритмы: Huang, Intermodes, IsoData, IJ-IsoData, Li, MaxEntropy, Mean, MinError, Minimum, Moments, Otsu, Percentile, RenyiEntropy, Shanbhag, Triangle, Yen.

При моделировании возмущений мы использовали наложение шума Гаусса со среднеквадратичным отклонением равным 3, 5, 7, а в качестве оценки шума дисперсию и коэффициент вариации [5]. Результаты исследований сведены в таблицу 1.

Как следует из полученных данных, только часть алгоритмов бинаризации приводит к приемлемым результатам, как по абсолютной величине,

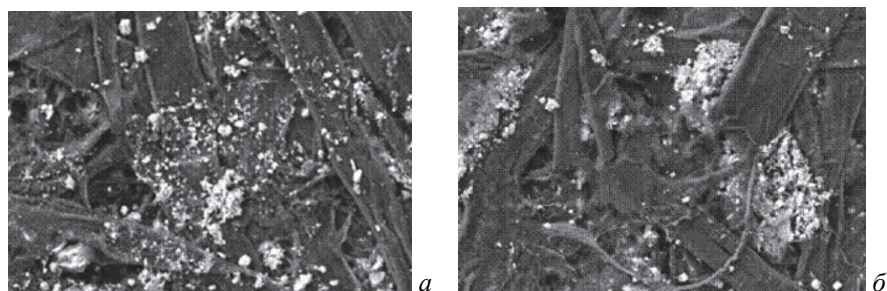


Рисунок 1 – Микрофотографии бумаги с немодифицированным (а) и модифицированным кальцитом (б)

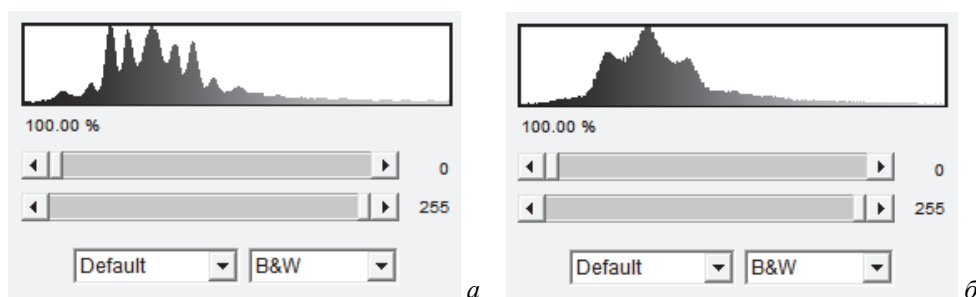


Рисунок 2 – Гистограммы распределений серого с немодифицированным (а) и модифицированным кальцитом (б)

так и по устойчивости к шуму. К ним следует отнести – IsoData, IJ-IsoData, MaxEntropy, Otsu, RenyiEntropy, Shanbhag, Triangle, Yen. Полученный результат по доле белых пикселей 10,56–17,60% вполне согласуется с ожидаемым. Для этих же алгоритмов характерна достаточная устойчивость к наложенному шуму. Остальные алгоритмы как следует из данных, приведенных в таблице 1 не пригодны для использования.

Особенно стоит воздержаться от использования алгоритма Minimum, выполнение которого сопровождается получением самых неправдоподобных данных. Также следует обратить внимание пользователя на то, что иногда выполнение программы сопровождается непредсказуемой инвертацией изображения, что требует внимания при выводе результатов.

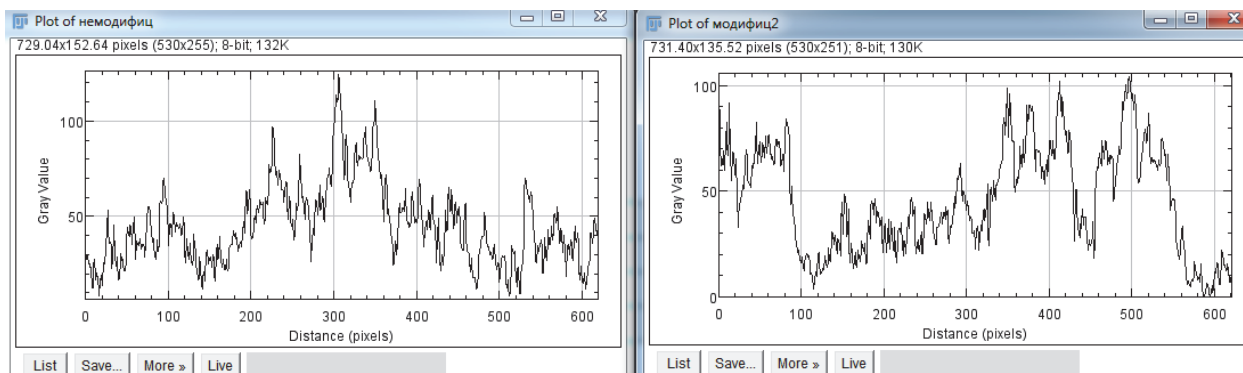
Если попытаться объяснить полученные результаты то получается, что наилучшие решение связано с так называемыми пороговыми методами, позволяющими разделить пиксели изображения на два класса: фоновые и объектные. Порог обычно

определяется на основе гистограммы яркостей. Методы основаны на равенстве яркостей, напротив, приводят к худшим результатам.

Аппарат ImageJ предлагает ряд опций, которые можно использовать при обработке бинарных изображений. Например, воспользоваться опцией Plot Profile, что позволяет провести ориентировочный количественный анализ разброса белых и черных пикселей по площади образца (рис. 3), спроектированных на фронтальную проекцию. Соответственно значения дисперсий для немодифицированного образца равно 436, а для модифицированного 612, т.е. использование данной опции позволяет количественно охарактеризовать степень неоднородности расположения наполнителя. Еще одним показателем неоднородности может являться величина [6] определяемая как количество локальных максимумов в изображении. В этом случае применении опции Find Maxima к бинарному изображению приводит к следующей оценке: 480 отдельных областей для модифицированного и 944 для немодифицированного образца. Такие же результаты получаются при обра-

Таблица 1 – Результаты обработки изображений при использовании различных методов бинаризации

Метод бинаризации	Бумага по варианту (а)			Бумага по варианту (б)		
	% белых пикселей	Дисперсия	Коэффициент вариации, %	% белых пикселей	Дисперсия	Коэффициент вариации, %
Huang	39,80	4,16	5,34	21,81	36,83	23,65
Intermodes	8,67	0,10	3,76	17,60	64,52	65,73
IsoData	17,12	0,06	1,48	17,01	0,22	2,73
IJ-IsoData	17,37	0,07	1,51	17,34	0,35	3,34
Li	22,28	10,17	13,00	22,60	9,20	12,26
MaxEntropy	11,14	0,32	4,90	10,79	1,41	11,94
Mean	39,79	0,02	0,32	38,28	0,27	1,34
MinError	44,80	0,24	1,11	38,28	0,25	1,30
Minimum	Неустойчивая и некорректная работа программы					
Moments	25,22	3,67	8,03	20,64	0,60	3,69
Otsu	17,12	0,02	0,82	17,01	0,05	1,32
Percentile	50,73	0,04	0,40	49,38	0,52	1,54
RenyiEntropy	13,19	0,06	1,96	10,56	0,01	0,47
Shanbhag	10,80	5,81	19,28	13,93	1,44	7,86
Triangle	16,90	0,08	1,61	17,01	1,57	7,76
Yen	11,14	0,07	2,37	7,03	0,11	4,48
Кластеризация	31,38	0,15	1,27	33,39	0,36	1,83



а

б

Рисунок 3 – График разброса белых и черных пикселей по площади образца, спроектированных на фронтальную проекцию с немодифицированным (а) и модифицированным кальцитом (б)

ботке данных из рис. 3. – 73 минимума для модифицированного и 137 для немодифицированного образца. Эти данные хорошо согласуются друг с другом и в целом отвечают полученным визуальным изображениям.

Имеющиеся в пакете опции Analyze Particles и Distribution позволяют получить данные и построить соответствующие гистограммы. Причем опцией Distribution (график) мы рекомендуем не пользоваться, так как вид гистограммы неудачен. В этом случае лучше перенести полученные данные в Excel.

В целом методы бинаризации изображений электронной микроскопии полезны для описания динамики изменения изучаемых объектов. Причем на наш взгляд годятся любые алгоритмы бинаризации, если их используют для описания общей картины изменений.

Применение таких методов для абсолютного количественного определения доли фаз, особенно для объектов характеризующихся диффузионными изображениями требует большой осторожности и предварительной оценки результатов другими косвенными методами.

На наш взгляд полезным бы являлся подход с использованием изображения бумаги без наполнителя с последующим вычитанием ее фона.

Очевидно также и то, что использование кластеризации изображений по двум классам к успеху не привело. Количество классов можно конечно увеличить, однако в этом случае не понятно как правильно сформулировать правило останова.

Выводы

1. На примере использования программного пакета ImageJ для обработки изображения бумаги наполненной минеральным наполнителем показано, что не все алгоритмы бинаризации из базы этого пакета годятся для получения корректных результатов.

2. К наиболее приемлемым алгоритмам следует отнести IsoData, IJ-IsoData, MaxEntropy, Otsu, RenyiEntropy, Shan-bhag, Triangle, Yen.

3. Алгоритмы Huang, Intermodes, Li, Mean, MinError, Minimum, Moments, Percentile, а также кластеризация изображения на два класса непригодны для обработки используемых изображений.

Литература

1. Гонсалес, Р. Цифровая обработка изображений / Р. Гонсалес, Р. Вудс – М.: Техносфера, 2005. – 1072 с.
2. Старовойтов, В.В. Цифровые изображения. От получения до обработки / В.В. Старовойтов, Голуб Ю.И. – Минск: ОИПИ НАН Беларуси, 2014. – 202 с.
3. Абламейко, С. В., Обработка изображений: технология, методы, применение / С.В. Абламейко, Д.М. Лагуновский – Мн.: Амалфея, 2000. – 304с.
4. Пенкин, А. Влияние модифицирования карбонатного наполнителя катионным крахмалом на структурно-механические свойства бумаги / А. Пенкин, В. Темрук, Т. Соловьева [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.rusnauka.com/7_DN_2007/Chimia/18532.doc.htm – Дата доступа: 20.01.2017.
5. Елисеева, И.И. Общая теория статистики / И.И. Елисеева, М.М. Юзбашев – М.: Финансы и статистика, 2005. – 657с.
6. Иоффе, А.И. Метод оценки неоднородности выделенной области / А.И. Иоффе // Исследование земли из космоса. – 2013. № 3. – С. 91–94.

Zilbergleit M.A., Temruk V.I.

Package ImageJ. Application for image processing obtained scanning electronic microscopy (paper analysis).

In this work was studied use of the computer program ImageJ for image processing (electron scanning microscopy). Was investigated various options thresholding (binary image). The sample paper contained calcite marble. At the same time we evaluated the stability of the results to random noise. It was shown that only part of the 16 algorithms used gives good results. This – IsoData, IJ-IsoData, MaxEntropy, Otsu, RenyiEntropy, Shanbhag, Triangle and Yen. Attempt to use the standard method of clustering also does not lead to success.

Keywords: image processing, computer program ImageJ, binarization and clustering of images, filled paper.

Поступила в редакцию 03.02.2017.

© М.А. Зильберглейт, В.И. Темрук, 2017.