

Ingo Müller

Einsatz eines
multivariaten Analyseverfahrens
zur Segmentierung von
Elementverteilungsbildern

2001

Experimentelle Physik

Einsatz eines
multivariaten Analyseverfahrens
zur Segmentierung von
Elementverteilungsbildern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften im Fachbereich Physik
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Ingo Müller
aus Lüdinghausen
–2001–

Dekan:	Prof. Dr. W. Lange
Erster Gutachter:	Prof. Dr. H. Kohl
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. M. Donath
Tag der mündlichen Prüfung(en):	
Tag der Promotion:	

Von der Wahrscheinlichkeitsrechnung her
wird das eine oder andere Tor fallen.
(Christoph Daum, Fußballtrainer)

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Grundlagen analytischer Transmissionselektronenmikroskopie	3
1.1 Wechselwirkungen zwischen Strahlelektronen und dem Objekt	3
1.2 Energiefilterung unelastisch gestreuter Elektronen	5
1.2.1 Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie	5
1.2.2 Elektronenspektroskopische Abbildung	10
1.3 Energiefilterndes Transmissionselektronenmikroskop (EFTEM)	10
2 Elementverteilungsbilder und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis	12
2.1 Untergrundkorrektur	12
2.2 Signal und Rauschen	16
2.3 Das SRV als Nachweiskriterium	18
2.4 Optimierung des SRV	21
2.5 Artefakte im Elementverteilungsbild (EVB)	28
3 Clusteranalyse	34
3.1 Multivariate Analyseverfahren	34
3.2 Histogramme	36
3.2.1 1D-Histogramme	36
3.2.2 2D-Histogramme	39

3.3	Klassifikation	46
3.3.1	Quadermethode	47
3.3.2	Methode des geringsten Abstandes	49
3.3.3	Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit	53
4	Detektion von Partikeln	63
4.1	Signal-Rausch-Raum	63
4.2	Auswertung simulierter Energieverlustserien	68
4.3	Experimentelle Ergebnisse	80
4.3.1	Stickstoffverteilung	80
4.3.2	Eisenverteilung	89
4.4	Diskussion	98
	Zusammenfassung	100
	Literaturverzeichnis	103

Einleitung

Das Ziel transmissionselektronenmikroskopischer Untersuchungsmethoden ist es, die Struktur und die chemische Zusammensetzung der betrachteten Materie zu charakterisieren. In den Bereichen Biologie, Medizin und den Materialwissenschaften sind die konventionelle und die analytische Transmissionselektronenmikroskopie hierfür zu Standardanalysemethoden geworden.

Strukturanalysen sind aus hochaufgelösten transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen erhältlich. Der Kontrast in diesen sogenannten HRTEM-Aufnahmen (HRTEM: „high resolution transmission electron microscopy“) wird im wesentlichen durch elastische Streuprozesse der Strahlelektronen in dem Präparat hervorgerufen. Aussagen über die chemische Zusammensetzung der untersuchten Materie können mit der analytischen Transmissionselektronenmikroskopie getroffen werden.

Im ersten Kapitel werden in kurzer Zusammenfassung die Grundlagen der Elektronen-Energieverlustspektroskopie und der energiegefilterten Abbildung in der Transmissionselektronenmikroskopie beschrieben. Bei der Abbildung mit unelastisch gestreuten Strahlelektronen, deren Energieverlust einer spezifischen Innerschalen-Bindungsenergie eines Elementes entsprechen, können so 2-dimensionale Elementverteilungen des Präparates erstellt werden.

Im zweiten Kapitel werden die hierzu notwendigen Verarbeitungsschritte, wie zum Beispiel die Untergrundkorrektur, energiegefilterter Bilderserien dargestellt. Zur Beurteilung bzw. Auswertung berechneter Elementverteilungsbilder wird das entsprechende Rauschen pro Bildelement (Pixel) als Maß für die Unsicherheit bestimmt. Mit dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis sollen die „echten“ Elementsignale in den Verteilungsbildern detektiert werden. Als übliches Nachweiskriterium wird das von Rose [35] vorgeschlagene Verfahren vorgestellt, welches mit einem festen Schwellwert von

$SRV \geq 3 \dots 5$ eine Segmentierung des Elementverteilungsbildes durchführt. Eine Schwäche des Rose-Kriteriums ist jedoch die Betrachtung nur jeweils eines Pixels unabhängig von seinen Nachbarpixeln. Eine direkte Anwendung dieses Kriteriums führt so unter Umständen nicht zu Segmentierungen, die eine gegebene, deutlich sichtbare Elementverteilung gut wiedergeben (vgl. Abb. 4.1). Neben dem berechneten Signal-zu-Rausch-Verhältnis pro Pixel ist für den Detektionsprozeß selbst somit auch die räumliche Verteilung eines Elementes im erstellten Verteilungsbild von Interesse (vgl. Abb. 2.2).

In Kapitel 3 und 4 wird als Ausweg die Auswertung von 2D-Histogrammen angeboten. Ähnlich den 1-dimensionalen Grauwertistogrammen von Bildern ist es möglich, die Signale der Elementverteilungsbilder gegen das Rauschen pro Pixel in 2-dimensionalen Streudiagrammen aufzutragen. Die hierdurch erhaltenen Bilder, welche die Häufigkeitsverteilungen bezüglich der Signale und des Rauschens wiedergeben, werden in dieser Arbeit als Signal-Rausch-Räume bezeichnet. In diesen Darstellungen ist das Auftreten von Clustern erkennbar. Ursache hierfür ist die „Ähnlichkeit“ von Pixeln, d.h. in diesen Clustern gruppieren sich Pixel, welche ähnliche Signal-Rausch Kombinationen aufweisen. Anhand geeigneter Klassifizierungsverfahren, wie der Clusteranalyse, werden auftretende Cluster voneinander getrennt und können anschließend zur Segmentierung der Elementverteilungsbilder mit Hilfe eines Rückverfolgungs-Verfahren (engl.: „Traceback“-Verfahren) herangezogen werden.

Kapitel 1

Grundlagen analytischer Transmissionselektronenmikroskopie

In diesem Kapitel werden kurz einige Grundlagen der analytischen Transmissionselektronenmikroskopie dargestellt. Ausgehend von den Wechselwirkungen der Strahlelektronen mit dem Objekt wird hier die Analyse der chemischen Zusammensetzung von mikroskopischen Bereichen anhand von Elektronen-Energieverlust-Spektren (EELS: „electron-energy loss spectroscopy“) und der energiegefilterten Abbildung mit Hilfe unelastisch gestreuter Primärelektronen dargestellt. Anschließend wird auf den prinzipiellen Aufbau eines energiefilternden Transmissionselektronenmikroskop (EFTEM) und dessen Einsatz in der Elementanalyse eingegangen. Ausführliche Darstellungen sind in der Standardliteratur zu finden [11, 30, 47].

1.1 Wechselwirkungen zwischen Strahlelektronen und dem Objekt

Bei der Transmission hochenergetischer Elektronen durch einen Festkörper treten elastische wie unelastische Streuprozesse an diesem auf. Bei der elastischen Streuung werden die Strahlelektronen durch die Coulombkraft des Atomkerns aus ihren Flugbahnen abgelenkt. Mit größer werdendem Stoßparameter bewirken die atomaren Hüllenelektronen lediglich eine zunehmende Abschirmung des Kernpotentials,

so daß der Bereich der Wechselwirkung hier stark lokalisiert ist. Energie- und Impulsüberträge können aufgrund der großen Massendifferenz zwischen Atomkern und Strahlelektronen meist vernachlässigt werden. Die elastische Streuung zeichnet sich im wesentlichen durch eine Änderung der Flugbahn der Strahlelektronen aus. Der charakteristische Streuwinkel θ_0 ist ein Maß für die Viertelwertsbreite der Streuverteilung und liegt in der Größenordnung einiger 10mrad . In der Elektronenmikroskopie werden die elastisch gestreuten Elektronen zur Bildentstehung in HRTEM-Aufnahmen (HRTEM: „high resolution transmission electron microscopy“) mit hoher Ortsauflösung verwendet.

Die unelastische Streuung beruht auf der Wechselwirkung der Strahlelektronen mit den Hüllenelektronen der Atome. Bei dieser Wechselwirkung kann im Gegensatz zur elastischen Streuung ein beträchtlicher Energieübertrag festgestellt werden. Bei einer kinetischen Energie der Strahlelektronen von E_{kin} können Energien der Größenordnung $\Delta E \leq E_{kin}$ auf Hüllenelektronen der Atome des Präparates übertragen werden. Wird durch einen unelastischen Stoß eines Strahlelektrons mit einem Hüllenelektron eine innere Schale ionisiert, so wird das atomare Elektron in ein freies Energieniveau oberhalb des Fermi-niveaus angeregt. Die Anregung kann in unbesetzte gebundene Zustände wie auch in das Kontinuum erfolgen. In einem Elektronen-Energieverlust-Spektrum werden so keine „Peaks“ sondern Ionisationskanten mit einer nach größer werdenden Energieverlusten hin mehr oder weniger strukturierten, abfallenden Verteilung registriert. Die Anregungsenergie einer bestimmten inneren Schale eines Elementes ist eine charakteristische Größe und kann zur Elementanalyse verwendet werden. In Kap. 1.2 wird genauer auf die Analyse der chemischen Zusammensetzung mit Hilfe der Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie eingegangen. Der Bereich der Wechselwirkung ist hier weniger stark lokalisiert. Die Auflösung in einem Energieverlustbild ist im Gegensatz zu einem elastisch gefilterten Bild demzufolge kleiner. Der charakteristische Streuwinkel θ_E gibt die Halbwertsbreite der Winkelverteilung der betrachteten unelastischen Streuprozesse an und liegt typischerweise in der Größenordnung einiger mrad .

Als Maß für die Wahrscheinlichkeit einer Innerschalenanregung wird der partielle Wirkungsquerschnitt $\sigma(\Delta, \theta_A)$ angegeben. Der Energieübertrag des Strahlelektrons auf das Hüllenelektron liegt im Energiefenster Δ , und der vom Detektor erfaßte

Winkelbereich der Streuverteilung wird durch den Halbwinkel θ_A angegeben. Der partielle Wirkungsquerschnitt läßt sich durch Integration über den doppelt differentiellen Wirkungsquerschnitt

$$\sigma(\Delta, \theta_A) = \int_E^{E+\Delta E} \int_{\theta_A} \left(\frac{d^2\sigma}{d\Omega dE} \right) d\Omega dE \quad (1.1)$$

berechnen. Der doppelt differentielle Wirkungsquerschnitt gibt die Wahrscheinlichkeit einer Streuung in das Raumwinkelement $d\Omega$ mit einem Energieverlust zwischen E und $E + \Delta E$ an. Die unelastischen Wirkungsquerschnitte liegen zum Beispiel für K-Schalen-Ionisationen der Elemente bis Fluor bei einer Beschleunigungsspannung von $E_0 = 80 \text{ keV}$, einem Akzeptanzwinkel $\theta_A \leq 100 \text{ mrad}$ und einer Energiebreite $\Delta E \leq 150 \text{ eV}$ für das Intervall $\Delta = [E_K, E_K + \Delta E]$ in der Größenordnung $\sigma_{in} = 10^{-22} - 10^{-19} \text{ cm}^2$. Die Größe E_K ist hier die jeweilige Ionisationsenergie. Die totalen elastischen Wirkungsquerschnitte liegen für die Elemente zwischen Lithium und Uran in der Größenordnung $\sigma_{el} = 10^{-18} - 10^{-16} \text{ cm}^2$. Aufgrund der geringeren unelastischen Wirkungsquerschnitte ist ein vergleichsweises schlechtes Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erwarten.

1.2 Energiefilterung unelastisch gestreuter Elektronen

1.2.1 Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie

In einem Elektronen-Energieverlust-Spektrum werden die Strahlelektronen nach Transmission durch das Präparat als Funktion des Energieverlustes detektiert. Ein typisches EEL-Spektrum ist in Abb. 1.1 zu sehen. Eine Unterteilung der Spektren erfolgt in:

- den „Zero-Loss“-Peak, der auf die ungestreuten bzw. elastisch gestreuten Elektronen zurückzuführen ist,
- den „Low-Loss“-Bereich bis etwa 50 eV , welcher von der Anregung kollektiver Schwingungen des quasifreien Elektronengases (Plasmonenanregung) und der Anregung von Valenzelektronen in Leitungsbändern geprägt wird und

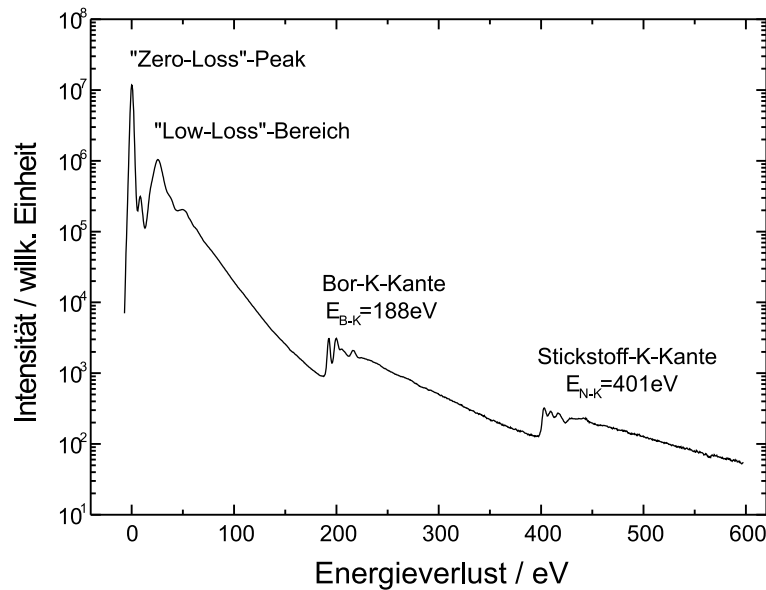


Abbildung 1.1: Typisches EEL-Spektrum eines h-BN-Partikels.

- den Bereich höherer Energieverluste, welcher durch charakteristische Streuprozesse bei Innerschalenanregungen geprägt ist und hier zur chemischen Analyse genauer betrachtet wird.

Bei den charakteristischen Streuprozessen im Präparat werden die Strahlelektronen unelastisch an der Elektronenhülle gestreut und regen Hüllenelektronen aus einer inneren Schale in einen freien Zustand oder in das Kontinuum oberhalb des Fermi-niveaus an. In einem EEL-Spektrum bilden sich so elementspezifische Ionisationskanten aus [9], die zu größeren Energieverlusten hin mehr oder weniger strukturierte, abfallende Verteilungen aufweisen. Durch die Schwellenenergien und die Formen auftretender Ionisationskanten können die im untersuchten Präparat vorkommenden Elemente identifiziert werden (qualitative chemische Analyse). Die charakteristischen Kantentypen werden mit der Ionisation eines Hüllenelektrons aus einer inneren Schale in K-, L-, M-, N- und O-Kanten eingeteilt. Anregungen aus Unterschalen werden entsprechend durch Indizes kenntlich gemacht (z.B.: L_{23} -Kante). Die Ausprägungen jedes Kantentyps („Feinstruktur“), d.h. die Intensitätsverteilungen als Funktion des Energieverlustes, ermöglichen es weiterhin, die auftretenden Bindungszustände und

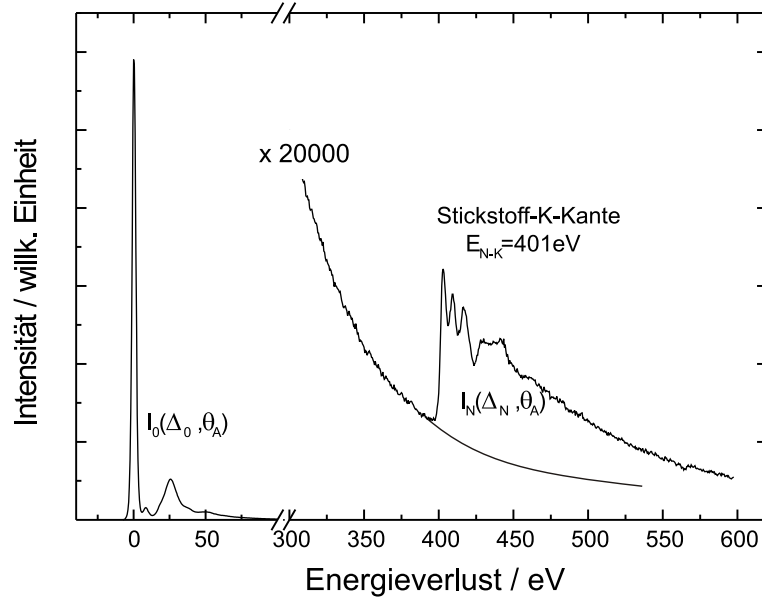


Abbildung 1.2: Aus den Intensitäten der Ionisationskante $I_N(\Delta_N, \theta_A)$ und des Low-Loss-Bereiches $I_0(\Delta_0, \theta_A)$ können absolute Elementkonzentrationen nach Gl. (1.2) bzw. (1.6) bestimmt werden.

die Struktur der lokalen Umgebung der beteiligten Elemente zu untersuchen. Diese Feinstrukturen werden dabei in kantennahe (ELNES: „energy loss near edge structure“) bis etwa 50eV oberhalb der Ionisationsenergie und in kantenferne (EXELFS: „extended energy loss fine structure“) Strukturen unterteilt.

Die quantitative Analyse der charakteristischen Kante liefert die Angabe von relativen oder absoluten Konzentrationen eines Elementes. Der charakteristische Streuprozess an Atomen des Elementes a kann im EEL-Spektrum quantitativ durch

$$I_a(\Delta_a, \theta_A) = I_0 n_a \sigma_a(\Delta_a, \theta_A) \quad (1.2)$$

erfaßt werden. Die Anzahl der detektierten Strahlelektronen $I_a(\Delta_a, \theta_A)$ ist demnach von der Anzahl der einfallenden Strahlelektronen I_0 , der Flächenteildichte der Atome im durchstrahlten Volumen n_a und dem Wirkungsquerschnitt $\sigma_a(\Delta_a, \theta_A)$ der betrachteten Innerschalenanregung abhängig (Abb. 1.2). Die Parameter Δ_a und θ_A geben das für die Detektion ausgewählte Energieintervall und den maximal berücksichtigten Streuwinkel im EFTEM (Akzeptanzwinkel) an. Die Anzahl der einfallenden

den Elektronen I_0 wird an dieser Stelle durch die Intensität des elastischen Peak im EEL-Spektrum abgeschätzt (vgl. Gl. (1.6)). Gl. (1.2) gibt den Sachverhalt für eine Einfachstreuung wieder, wobei die bestrahlten Bereiche so dünn sind, daß keine Mehrfachstreuungen auftreten.

Mit wachsender Schichtdicke wächst die Wahrscheinlichkeit für Mehrfachstreuungen. Die Strahlelektronen können durch Mehrfachstreuungen elastisch-unelastisch oder unelastisch-unelastisch gestreut werden. Unelastisch-unelastische Mehrfachstreuungen führen zu einer Intensitätsverschiebung im Bereich der Ionisationskante zu höheren Energien. Das charakteristische Signal im Energiefenster des elementsensitiven Bildes wird geringer, wobei gleichzeitig der Untergrund ansteigt.

Die Anzahl der auftretenden unelastisch-unelastischen Mehrfachstreuungen kann durch das Verhältnis t/λ der Dicke zur mittleren freien Weglänge aller unelastischen Wechselwirkungen abgeschätzt werden [11]. Da die unelastischen Streueignisse unabhängig voneinander sind, ist die Wahrscheinlichkeit P_n , daß ein Elektron n -mal im Präparat gestreut wird, durch die Poissonverteilung

$$P_n = \frac{1}{n!} \left(\frac{t}{\lambda} \right)^n e^{-t/\lambda} \quad (1.3)$$

gegeben. Mit $n = 0$ kann aus Gl. (1.3) nun die Wahrscheinlichkeit P_0 angegeben werden, mit welcher unelastische Streuprozesse nicht auftreten. Als Maß für die Streuwahrscheinlichkeit dient hier die Streuintensität. Anhand des EEL-Spektrums kann P_0 so durch das Verhältnis des Integrals des gesamten EEL-Spektrums zum Integral des Zero-Loss-Peaks abgeschätzt werden

$$P_0 = \frac{I_{ges}}{I_0} . \quad (1.4)$$

Die relative Schichtdicke ergibt sich mit Gl. (1.3) und (1.4) demnach zu

$$\frac{t}{\lambda} = \ln \left(\frac{I_{ges}}{I_0} \right) , \quad (1.5)$$

wobei λ hier die mittlere freie Weglänge aller auftretenden unelastischen Wechselwirkungen beschreibt. Ist der Wert für die mittlere freie Weglänge bekannt, so kann die absolute Dicke des untersuchten Probenbereiches angegeben werden. Anhand des Wertes für t/λ läßt sich dann abschätzen, ob Mehrfachstreuungen auftreten können,

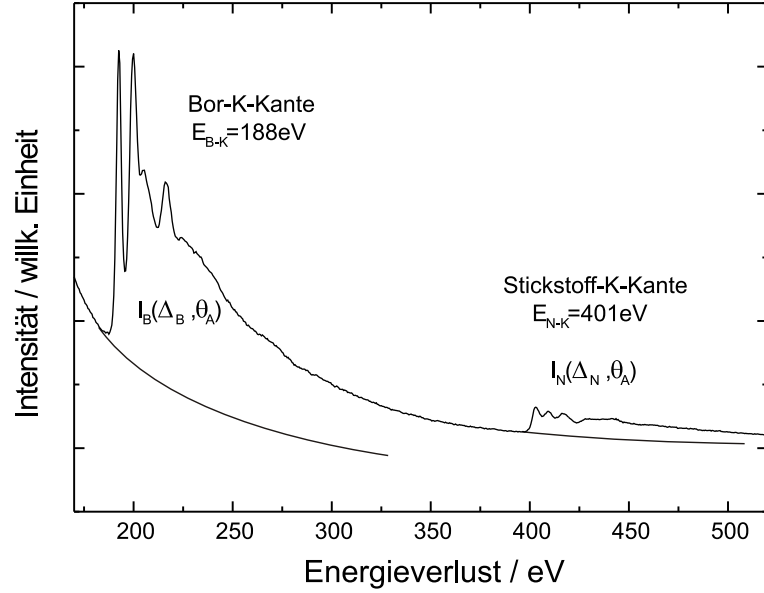


Abbildung 1.3: Für die Berechnung von relativen Konzentrationen (Gl. (1.7)) werden nur die Intensitäten der jeweiligen Ionisationskanten benötigt.

welche eine quantitative Auswertung mit Gl. (1.2) verfälschen (Kap. 2.5). Zur quantitativen Auswertung müssten in einem solchen Spektrum auftretende unelastisch-unelastische Mehrfachstreuungen vor einer Analyse durch eine Entfaltung korrigiert werden [11].

Weiterhin können elastisch-unelastische Mehrfachstreuungen auftreten, wobei die Streuwinkel θ der Elektronen größer als der Aperturwinkel θ_A sein können. In diesem Fall zeigt sich eine verminderte charakteristische Intensität im Bereich der Ionisationskante. In der quantitativen Analyse von EEL-Spektren können diese Reduzierungen der Kantenintensität durch eine Division mit der Low-Loss-Intensität $I_0(\Delta_0, \theta_A)$ des Spektrums berücksichtigt werden [29]

$$n_a = \frac{1}{\sigma_a(\Delta_a, \theta_A)} \frac{I_a(\Delta_a, \theta_A)}{I_0(\Delta_0, \theta_A)}. \quad (1.6)$$

Die Breiten der Energiefenster Δ_0 und Δ_a müssen in diesem Fall gleich groß sein. Für die Bestimmung von relativen Konzentrationen ergibt sich daraus die Beziehung

$$\frac{n_a}{n_b} = \frac{\sigma_b(\Delta_b, \theta_A)}{\sigma_a(\Delta_a, \theta_A)} \frac{I_a(\Delta_a, \theta_A)}{I_b(\Delta_b, \theta_A)}. \quad (1.7)$$

Das Verhältnis der Flächenteilchendichten der Elemente a und b wird aus den entsprechenden Intensitäten der Kanten und den dazugehörigen Wirkungsquerschnitten berechnet (Abb. 1.3). Auf die Frage, wie die Intensitäten aus einem EEL-Spektrum bestimmt werden, wird in Kap. 2.1 eingegangen.

1.2.2 Elektronenspektroskopische Abbildung

Neben den EEL-Spektren können auch energiegefilterte Bilderserien eines Präparates aufgenommen werden. Ist das verwendete TEM mit einem abbildenden Energiefilter ausgestattet, so liefert die Analyse mit unelastisch gestreuten Elektronen zweidimensional orts aufgelöste chemische Informationen. Im Gegensatz zum Spektrum, welches eine gemittelte Information des bestrahlten Bereiches darstellt, lassen sich in der energiefilternden Abbildung lokale Elementkonzentrationen verschiedener Bereiche in einem Bild sichtbar machen. Für eine genauere Betrachtung der Berechnung von Elementverteilungen wird auf das Kap. 2.1 verwiesen. An dieser Stelle sei nur erwähnt, daß aus einer aufgenommenen Bilderserie die lokale Elementkonzentration aus einer Änderung der Bildpunktintensität ersichtlich wird.

1.3 Energiefilterndes Transmissionselektronenmikroskop (EFTEM)

Der prinzipielle Aufbau des verwendeten EFTEM 902 der Firma LEO ist in Abb. 1.4 dargestellt. Als Elektronenquelle dient hier eine Wolfram-Haarnadel-Kathode. Die austretenden Elektronen werden auf eine kinetische Energie von 80keV beschleunigt und durch ein Kondensorlinsensystem auf das zu untersuchende Präparat abgebildet. Sie passieren das Objekt entweder ungestreut oder treten mit den Atomen in Wechselwirkung. Danach werden sie durch nachfolgende magnetische Linsensysteme in die Endbildebene abgebildet. Elektronen mit zu großen Streuwinkeln werden durch in den Strahlengang eingebrachte Blenden ausgeblendet und nicht detektiert. Die Energiefilterung der gestreuten Elektronen erfolgt in einem Energiefilter, welches im Spektrummodus (EELS) oder im Abbildungsmodus (ESI: „electron-spectroscopic-imaging“; ESD: „electron-spectroscopic-diffraction“) betrieben werden kann. In das

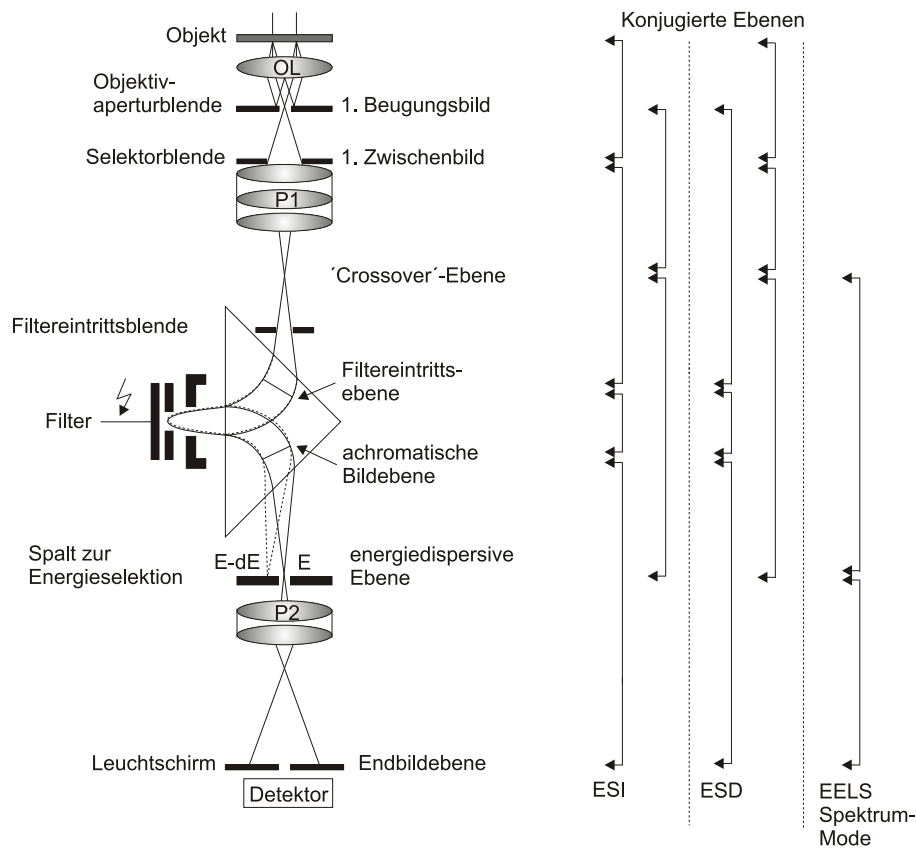


Abbildung 1.4: Schematischer Strahlengang und konjugierte Ebenen des EFTEM 902. Als Detektor kann eine Slow-Scan-CCD-Kamera (ESI,ESD) oder ein Photomultiplier (EELS) verwendet werden. OL: Objektivlinse; P1 und P2: erstes und zweites Projektivlinsensystem; ESI: „electron-spectroscopic-imaging“; ESD: „electron-spectroscopic-diffraction“.

Energiefilter eintretende Elektronen mit jeweils unterschiedlichen kinetischen Energien werden in der energiedispersiven Ebene räumlich getrennt abgebildet. Durch das Einfahren einer Schlitzblende in dieser Ebene kann ein Energiefenster gesetzt werden, welches nur Strahlelektronen mit einem Energieverlust $E_{Fenster} \pm \Delta E/2$ passieren läßt. $E_{Fenster}$ ist der Energieverlust in der Mitte des Fensters und ΔE die Breite des Fensters. Einzelheiten über den Aufbau des EFTEM 902 von LEO und der Wirkungsweise des Energiefilters sind bei Reimer [30] nachzulesen.

Kapitel 2

Elementverteilungsbilder und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis

In diesem Kapitel wird die Auswertung von elektronenspektroskopischen Bilderserien vorgestellt. Grundlegend für die Berechnung von Elementverteilungsbildern ist die Untergrundkorrektur. In einer weiteren Analyse der berechneten Elementverteilungen wird das Signal-zu-Rausch-Verhältnis betrachtet und als ein Nachweiskriterium auf sichere Informationen verwendet. Durch die Optimierung von Abbildungsparametern wie auch der Untergrundkorrektur kann das SRV und somit die Elementanalyse verbessert werden. Auf mögliche Fehlerquellen bei der Auswertung wird im letzten Abschnitt eingegangen.

2.1 Untergrundkorrektur

Im Abbildungsmodus des EFTEM können mit Elektronen, welche einen spezifischen Energieverlust bei einem Streuprozeß in der Probe erfahren haben, energiegefilterte Bilder des Präparates erstellt werden. Das Prinzip der Aufnahme von energiegefilterten Bildern ist in Abb. 2.1 verdeutlicht. Zur Intensität in jedem Bildpunkt (Pixel) eines Bildes tragen nur solche Elektronen bei, deren Energieverluste in dem jeweils eingestellten Energiefenster $E_{\text{Fenster}} \pm \Delta E/2$ liegen. Wird ein energiegefiltertes Bild bei einem Energieverlust aufgenommen, welcher im Bereich einer elementspezifischen

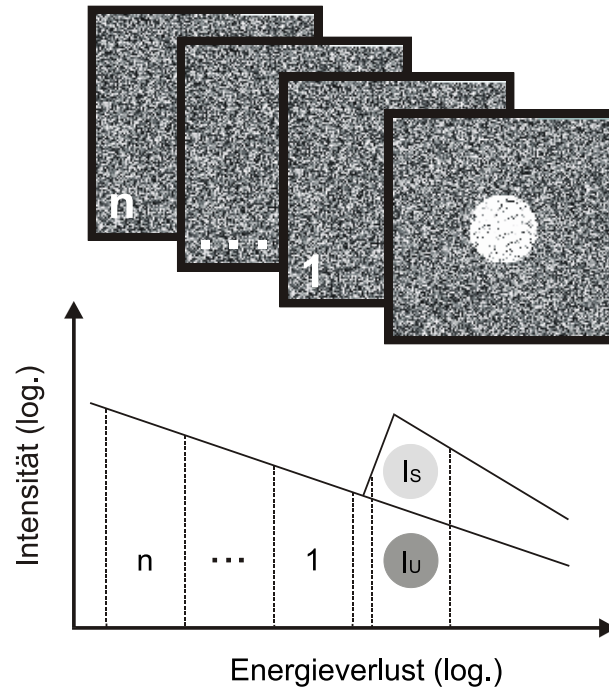


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der energiefilternden Abbildung zur Erstellung von Elementverteilungsbildern

Kante liegt, so können Informationen über die lokale Verteilung des entsprechenden Elementes erhalten werden. Dieses Bild wird im folgenden als elementsensitives Bild bezeichnet. Zusätzlich zu dieser charakteristischen Intensität I_S wird in jedem Pixel ein Untergrund I_U aufgenommen (Abb. 2.1), welcher zur Erstellung von Elementverteilungsbildern von der insgesamt detektierten Intensität I_{Bild} abgezogen werden muß

$$I_S = I_{Bild} - I_U . \quad (2.1)$$

Zur Untergrundkorrektur werden zu einem elementsensitiven Bild weitere Bilder bei Energieverlusten, die kleiner sind als die der charakteristische Ionisationsenergie, aufgenommen. Aus diesen Vorkantenbildern wird der spektrale Verlauf des Untergrundes berechnet und in den Kantenbereich extrapoliert. Das gebräuchlichste Modell für den Untergrund ist das Potenzgesetz [11] der Form

$$I_U(E) = AE^{-r} , \quad (2.2)$$

wobei die Parameter A und r für jeden Pixel der Bilderserie separat bestimmt werden. Unterhalb von $100\text{eV} - 200\text{eV}$ können jedoch systematische Abweichungen zwischen den experimentellen Spektren und dem empirischen Untergrundmodell (Gl. (2.2)) auftreten. Eine modifizierte Variante („Drei-Parameter“-Methode) wird für diesen Energiebereich von Tenailleau u.a. [45] vorgeschlagen.

Eine allgemeinere Methode, den Untergrund im niederenergetischen Verlustbereich zu berechnen, wird von Haking [17] vorgeschlagen. Der Untergrundkorrektur liegt hier eine multivariate nicht-lineare Regressionsanalyse zugrunde, wobei der Verlauf des Untergrundes durch ein Polynom beschrieben wird. Die Berechnung des Untergrundes zur Erstellung des Phosphorverteilungsbildes eines biologischen Schnittes erfolgt durch die Auswertung eines sogenannten Kontrastplots (2D-Streudiagramm, vgl. Kap. 3.2.2). Die Intensitäten der bei 80eV und 115eV energiegefilterten Bilder sind hier gegen die des phosphorsensitiven Bildes ($E_{P-L_{23}} = 129\text{eV}$) aufgetragen ($I_{129\text{eV}}(I_{80\text{eV}}, I_{115\text{eV}})$), so daß in einer Regressionsanalyse die Parameter des „Untergrundpolynoms“ bestimmt werden können.

Die Berechnung der Parameter (Gl. (2.2)) kann mit Hilfe der „Drei-Fenster“-Methode erfolgen [11]. In diesem Verfahren wird der Untergrund in einem elementsensitiven Bild anhand zweier vor der Kante aufgenommener Bilder bestimmt. Ist eine qualitative Elementverteilung von Interesse oder soll der untersuchte Präparatbereich nicht übermäßig bestrahlt werden, so kann die „Jump-Ratio“-Methode [21] oder auch die „Zwei-Fenster“-Methode verwendet werden [1]. Bei diesen Verfahren werden jeweils insgesamt nur zwei Bilder benötigt. Sie stellen jedoch besondere Anforderungen an das Präparat. Bei der „Jump-Ratio“-Methode können sich kleine Elementkonzentrationen (geringe Intensitäten in den Ionisationskanten und damit kleine Sprungverhältnisse an den Kanten) negativ auf die Qualität der so erstellten Verteilungsbilder auswirken. Die Untergrundkorrektur anhand der „Zwei-Fenster“-Methode setzt einen linearen Untergrundverlauf voraus, so daß mit auftretenden Dicken- und/oder Beugungskontrasten die Auswertungen berechneter Verteilungsbilder problematisch werden. Eine weitere Methode die Parameter A und r zu bestimmen ist die Methode der kleinsten Fehlerquadrate.

Die Methode der kleinsten Fehlerquadrate

Die Parameter werden hier durch eine lineare Regression bestimmt [5]. Das „Weighted-Least-Squares-Fit“-Verfahren zur Untergrundabschätzung ist bei Pun u.a. [33] und Unser u.a. [46] vorgestellt. Das Untergrundmodell nach Gl. (2.2) wird hierzu ln-ln transformiert

$$f_{Fit_i} = \ln(A) - r \ln(E_i) = a - r x_i \quad (2.3)$$

und an den energieabhängigen Intensitätsverlauf in jedem Pixel der Bilderserie angefitet. Im folgenden wird der Parameter A aufgrund der ln-ln Transformation und der übersichtlicheren Schreibweise durch den Parameter $a = \ln(A)$ repräsentiert sein. Der Einfachheit halber wird auf die Angabe von Pixelpositionen in den Formeln verzichtet. Als Stützstellen zur Berechnung des Untergrundes dienen hier drei oder mehr Bilder vor der Kante bei den Energien E_i . Die zu minimierende gewichtete Fehlersumme sieht wie folgt aus

$$\varepsilon^2 = \sum_{i=1}^n w_i [y_i - f_{Fit_i}]^2 \quad (2.4)$$

mit $y_i = \ln(I_{U_i})$. Die Wichtungen berücksichtigen die jeweiligen Unsicherheiten der registrierten Ereignisse I_{U_i} . In einem ersten Schritt wird für die Wichtungen aufgrund der Poissonverteilung

$$w_i = \frac{1}{\text{var}(y_i)} \cong I_{U_i} \quad (2.5)$$

gesetzt. Aus dem Gleichungssystem

$$\frac{\partial \varepsilon^2}{\partial a} = 0, \quad \frac{\partial \varepsilon^2}{\partial r} = 0 \quad (2.6)$$

erhält man nach kurzer Rechnung

$$r = \frac{\sum_i w_i y_i \sum_i w_i x_i - \sum_i w_i \sum_i w_i y_i x_i}{\sum_i w_i (x_i)^2 \sum_i w_i - (\sum_i w_i x_i)^2} \quad (2.7a)$$

$$a = \frac{\sum_i w_i y_i \sum_i w_i (x_i)^2 - \sum_i w_i x_i \sum_i w_i y_i x_i}{\sum_i w_i (x_i)^2 \sum_i w_i - (\sum_i w_i x_i)^2}. \quad (2.7b)$$

Die Erwartungswerte für die Parameter werden durch die Minimierung der gewichteten quadratischen Abweichungen zwischen dem Untergrundmodell und den experimentellen Daten I_{U_i} in einem iterativen Prozess ermittelt. In jedem neuen Iterationsschritt werden die zuvor berechneten Parameter dazu verwendet, die Wichtungen

nach Gl. (2.2) zu aktualisieren. Die Startwerte für die Wichtungen (Gl. (2.5)) werden so ab dem zweiten Iterationsschritt durch berechnete Intensitätswerte ersetzt. Erfahrungsgemäß zeigt sich nach drei bis fünf Iterationsschritten eine gute Konvergenz.

Nach einer erfolgten Untergrundkorrektur können die absoluten wie relativen Elementkonzentrationen des bestrahlten Bereiches mittels Gl. (1.2) bzw. Gl. (1.7) berechnet werden. Einschränkend ist hier zu sagen, daß eine Entfaltung der Bilderreihe zur Korrektur von unelastisch-unelastischen Mehrfachstreuungen wie im Falle der EEL-Spektren nicht möglich ist. Bei einer quantitativen Auswertung der Elementverteilungsbilder muß demzufolge die lokale Dicke des Präparates kontrolliert werden. Unelastisch-unelastische Mehrfachstreuungen führen zu einer Intensitätsverschiebung im Bereich der Ionisationskante zu höheren Energien. Das charakteristische Signal im Energiefenster des elementsensitiven Bildes wird geringer, wobei gleichzeitig der Untergrund ansteigt. Systematische Fehler aufgrund von Mehrfachstreuungen können bei der Quantifizierung von Elementverteilungsbildern bis zu einer Schichtdicke von $t/\lambda_{in} \approx 0.5$ vernachlässigt werden (Kap. 2.5).

2.2 Signal und Rauschen

Rauschen

Bei der Auswertung der erstellten Elementverteilungsbilder ist neben dem Elementsignal auch das Rauschen in den Bildern von Interesse. In zu stark verrauschten Bildern lassen sich unter Umständen keine sicheren Elementsignale nachweisen, so daß keine Informationen über vorhandene Verteilungen erhalten werden. Das Rauschen setzt sich aus zwei Anteilen zusammen

- Rauschen aufgrund der statistischen Eigenschaften der unelastischen Streuprozesse
- Detektorrauschen

Der erste Rauschanteil wird durch die Varianz aufgrund einer angenommenen Poissonverteilung der Streuprozesse bestimmt. Die Unsicherheit der insgesamt registrier-

ten Intensität $I_{Bild} = I_S + I_U$ in einem Energiekanal oberhalb der Ionisationsenergie einer charakteristischen Innerschalenanregung ist demnach $\sigma_{I_{Bild}} = \sqrt{I_{Bild}}$. Ein weiterer Beitrag, welcher zu dem ersten Rauschanteil hinzugezählt werden kann, ist der Extrapolationsfehler bei der Untergrundkorrektur. Die berechneten Parameter (Gl. (2.7)) zeigen Unsicherheiten, welche sich durch die Betrachtung der Fehlerfortpflanzungen der Varianzen bzw. Unsicherheiten der experimentell detektierten Intensitäten aus den Bilder vor der Kante bestimmen lassen. Die Formeln für die Varianzen sind bei Unser u.a. [46] angegeben.

Für den Extrapolationsfehler des Untergrundes im Kantenbereich nach Gl. (2.2) erhält man

$$\sigma_{Ext}^2 = \left(\frac{\partial I_U}{\partial a} \right)^2 var(a) + \left(\frac{\partial I_U}{\partial r} \right)^2 var(r) + 2 \left(\frac{\partial I_U}{\partial a} \right) \left(\frac{\partial I_U}{\partial r} \right) covar(a, r) . \quad (2.8)$$

Der zweite Rauschanteil wird durch den Detektionsprozess der Elektronen mit der Slow-Scan-CCD-Kamera hervorgerufen. In einem ersten Schritt werden die auf den Szintillator auftreffenden Elektronen in Photonen umgewandelt. Durch eine Faserplatte werden die so erzeugten Photonen auf den CCD-Chip abgebildet, wobei die entstandenen Elektronen-Loch Paare als Maß für die Bestrahlungsintensität dienen. Das in dieser Übertragungskette auftretende Rauschen kann grob aufgeteilt werden in Konvertierungsrauschen (Szintillator und CCD-Chip) und Rauschtermen aufgrund der Ansteuerung und des Auslesens des CCD-Chips. Ausführliche Darstellungen der Herleitung und Bestimmung des Detektionsrauschens sind bei Hülk [19], de Ruijter [31] und Kujawa u.a. [24] zu finden. Als quantitatives Maß für das Detektorrauschen wird die „detection quantum efficiency“ (DQE) angegeben. Sie ist für ein lineares System definiert [35] als

$$DQE = \frac{SRV_{nachDetektor}^2}{SRV_{vorDetektor}^2} \leq 1 . \quad (2.9)$$

Signal-zu-Rausch-Verhältnisse (SRV)

Zur Berechnung der Signal-zu-Rausch-Verhältnisse in einem Elementverteilungsbild wird für jeden Pixel (Bildpunkt) das Verhältnis des Signals zur Unsicherheit des Signals bestimmt. Die Unsicherheit oder das Rauschen für den oben erwähnten ersten

Anteil aufgrund der statistischen Eigenschaften der Streuprozesse kann anhand Gl. (2.1) und mit der Fehlerfortpflanzung durch

$$R = \sigma_{ges} = \sqrt{\sigma_{I_{Bild}}^2 + \sigma_{Ext}^2} \quad (2.10)$$

berechnet werden. In der Herleitung von Gl. (2.10) werden eine statistische Unabhängigkeit der experimentell detektierten Intensitäten und des berechneten Untergrundes vorausgesetzt. Desweiteren nehmen wir an, daß die detektierten Intensitäten Poissonverteilungen genügen. Das SRV ergibt sich so für jedem Pixel zu

$$SRV = \frac{I_S}{R} = \frac{I_S}{\sqrt{I_S + I_U + \sigma_{Ext}^2}}. \quad (2.11)$$

In einer anderen Darstellung von Gl. (2.11) [11] wird der Extrapolationsfehler durch einen Parameter h berücksichtigt

$$h = 1 + \frac{\sigma_{Ext}^2}{I_U}, \quad SRV = \frac{I_S}{\sqrt{I_S + hI_U}}, \quad (2.12)$$

der auch als ein Maß für die Qualität der Untergrundkorrektur herangezogen wird [48]. In einer idealen Untergrundkorrektur wäre $h = 1$. Mit zunehmenden Extrapolationsfehlern nimmt h Werte größer als eins an, wobei eine starke Abhängigkeit von der Position und der Breite sowohl der Fitregion vor der Kante als auch der des Energiefensters des elementsensitiven Bildes zu finden ist (Kap. 2.4). Wird in einem zweiten Schritt das Detektorrauschen berücksichtigt, so muß Gl. (2.11) bzw. Gl. (2.12) erweitert werden zu

$$SRV = \sqrt{DQE} \frac{I_S}{\sqrt{I_S + hI_U}}. \quad (2.13)$$

2.3 Das SRV als Nachweiskriterium

Anhand der Höhe des jeweiligen SRV können Aussagen über die Zuverlässigkeit des registrierten bzw. berechneten Signals getroffen werden. Mit zunehmenden SRV wird die Genauigkeit einer quantitativen Auswertung höher und die Sicherheit, „echte“ Elementsignale nachgewiesen zu haben, wächst. Dem gegenüber wirken sich wachsende relative Unsicherheiten der Intensitäten in einem sinkenden SRV aus. Um

mit dem SRV ein Nachweiskriterium zu erhalten, müssen sich detektierte Signale in „echte“ und „falsche“ Signale einteilen lassen. Für den lichtoptischen Fall zeigt Rose [36], daß Signale mit einem

$$SRV \geq 3 \dots 5 \quad (2.14)$$

sicher einem Ereignis zugeordnet werden können. Gl. (2.14) wird auch als „Rose-Kriterium“ bezeichnet. Die Schwelle $SRV \geq 3$ bezieht sich nach Rose [36] auf die Sichtbarkeit eines Signals in einem verrauschten Bild. Es werden hier Vorkenntnisse über das Präparat dahingehend vorausgesetzt, daß das Auftreten des nachzuweisenden Elementes, von dem ein Verteilungsbild erstellt werden soll, sicher ist. Kann das Vorkommen nicht als gesichert angenommen werden, so wird ein $SRV \geq 5$ als Detektionsgrenze verwendet. Auf die Elektronenmikroskopie übertragen läßt sich ein Auswahlkriterium erhalten, bis zu welchem SRV eine sinnvolle quantitative Auswertung möglich ist.

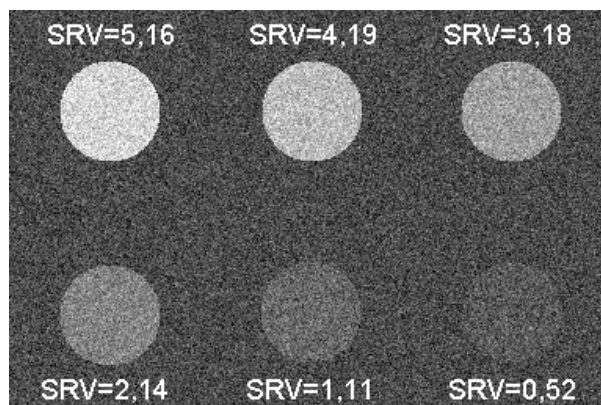
Wie groß ist nun das Risiko, ein „falsches“ Signal als ein „echtes“ zu detektieren? Die Risiken für mögliche Fehlentscheidungen und die damit verbundenen Detektionswahrscheinlichkeiten können anhand von Signifikanztests gewonnen werden. Ausgehend von der Formulierung einer Null- (H_0) und einer Alternativhypothese (H_1) werden so die Fehler erster und zweiter Art (α - und β -Fehler) bestimmt. Der Fehler erster Art gibt das Fehlerrisiko an, welches eingegangen wird, wenn die Nullhypothese abgelehnt wird und die Alternativhypothese angenommen wird. Mit den Hypothesen H_0 : „Elementkonzentration $c = 0$ “ und H_1 : „Elementkonzentration $c \neq 0$ “ ist unter der Annahme, daß die Signale gaußverteilt sind mit einem $SRV = 3$ und $I_S = 3\sigma_{ges}$ die Wahrscheinlichkeit, einen Fehler bei der Detektion zu machen, gleich $\alpha = 0,3\%$. Kann die Nullhypothese allerdings nicht abgelehnt werden, so muß zusätzlich das Risiko betrachtet werden, welches mit einer Annahme von H_0 verbunden ist, d.h. das Risiko wenn H_0 angenommen wird obwohl H_1 richtig ist. Ausführliche Darstellungen der Berechnung von Fehlerwahrscheinlichkeiten für den Nachweis kleiner Elementkonzentrationen anhand von EEL-Spektren sind bei Trebbia [41] und [42] angegeben.

Auf der Grundlage dieses Signifikanztests wird von Natusch u.a. [28] die Detektionswahrscheinlichkeit für das Rose-Kriterium mit dem Wert $SRV = 3$ zu etwa 82%

bestimmt. Für ein $SRV = 5$ sind es entsprechend 98%. Es sei darauf hingewiesen, daß für die Berechnungen der Wahrscheinlichkeiten keine Vorkenntnisse über das Präparat vorausgesetzt wurden. Ein Beispiel wie sich Vorkenntnisse auf den Nachweis von geringen Eisenkonzentrationen in Leberzellen anhand des Rose-Kriteriums auswirken ist bei Beckers u.a. [2] zu sehen. Die Wahl der Schwelle $SRV = 3,7$ zur Segmentierung eines Eisenverteilungsbildes beruht hier auf dem Wissen, mit Ferritin kontrastierte Leberzellen untersucht zu haben.

Wird das Rose-Kriterium als Nachweis auf geringe Elementkonzentrationen verwendet, so muß berücksichtigt werden, daß das Kriterium (Gl. (2.14)) sich immer auf einen Pixel bezieht, da in der Herleitung Rose [36] von unabhängigen Pixeln ausgegangen wird.

In einem Elementverteilungsbild kann bei entsprechender Vergrößerung das charakteristische Signal von Bereichen, die das gesuchte Element enthalten, jedoch auf mehrere Pixel verteilt sein. In diesem Fall sind die in benachbarten Pixeln registrierten Signale nicht mehr voneinander unabhängig. Ein direktes Übertragen des Rose-Kriteriums auf Elementverteilungsbilder ist zwar prinzipiell möglich, führt aber unter Umständen zu nicht befriedigenden Segmentierungen. Zur Verdeutlichung, wie diese redundanten Informationen in den Verteilungsbildern auf die Sichtbarkeit bzw. die Detektion wirken, sind in der Abb. 2.2 mehrere Partikel mit unterschiedlichen mittleren Signal-zu-Rausch Verhältnissen abgebildet. Wird für jeden „Signalpixel“ ein $SRV < 5$ berechnet, so wird das entsprechende Partikel als nicht nachgewiesen klassifiziert. In den Bildern sind unterschiedlich hohe „Elementkonzentrationen“ simuliert. Die Signal-zu-Rausch-Verhältnisse werden anhand künstlich generierter Bilderserien berechnet (vgl. Abb. 2.1), wobei für den energieabhängigen Verlauf der Untergrundintensitäten in den Bildern der Potenzansatz Gl. (2.2) verwendet wird. Für den Untergrund und das Elementsignal werden Poissonverteilungen vorausgesetzt. Die Auswertung dieser Bilderserien erfolgt nach den in Kap. 2.1 und Kap. 2.2 beschriebenen Verfahren. Die Angaben der SRV-Werte beziehen sich auf die jeweiligen Mittelwerte ($SRV = \sum_i SRV_i/n$) der kreisförmigen Bereiche. Die Intensitäten aller sechs Teilbilder sind auf denselben Dynamikumfang von 256 Graustufen normiert. Es soll in diesem Beispiel keine absolute Grenze der Sichtbarkeit ermittelt werden, sondern verdeutlicht werden, in wieweit eine Segmentierung mit Hilfe einer



Abbildungung 2.2: Simulierte „Elementverteilungsbilder“. Verdeutlichung der Wirkungsweise von redundanten Informationen auf die Sichtbarkeit bzw. den Nachweis von Partikeln (vgl. Pun u.a. [34])

festen Schwelle (z.B.: $SRV \geq 3$) auf den Nachweis von Partikeln in „Elementverteilungsbildern“ wirkt. Die drei unteren Partikel mit Signal-zu-Rausch-Verhältnissen kleiner drei sind nach dem Rose-Kriterium nicht nachgewiesen, obwohl selbst bis zu einem $SRV = 0,52$ das entsprechende Partikel in dieser Darstellung für das Auge noch erkennbar ist. Es wird deutlich, daß der Nachweis neben den Signal-zu-Rausch-Verhältnissen auch von dem Bildkontrast wie auch der Verteilung der Signale in den Bildern abhängt. Bei der Betrachtung der Abb. 2.2 neigt der Mensch dazu, die Pixel, welche in den kreisförmigen Bereichen liegen, gedanklich zusammenzufassen. Das Vorwissen (kreisförmige Partikel), ausgehend von dem ersten Bereich ($SRV = 5,16$), spielt an dieser Stelle eine nicht unerhebliche Rolle.

Wie in Verteilungsbildern entsprechende Pixel zusammengefasst werden können, um die redundanten Informationen zu nutzen, wird in Kap. 3.2.2 und Kap. 4.1 vorgestellt.

2.4 Optimierung des SRV

Um die Genauigkeit bzw. Sicherheit bei der Bestimmung einer Elementverteilung zu erhöhen muß, das SRV optimiert werden. Grundsätzlich ist das SRV in einem

berechneten Elementverteilungsbild neben probenbedingten Eigenschaften von der Wahl der Abbildungsparameter des EFTEM und dem Untergrundkorrekturverfahren abhängig.

Übertragungsfunktionen

Auf der Grundlage der linearen Abbildungstheorie wird die Bildentstehung im EFTEM mit unelastisch gestreuten Elektronen bei Berger [3] ausführlich beschrieben. Bei Knippmeyer [23] sind Berechnungen der unelastischen Übertragungsfunktion für den relativistischen Fall (EFTEM mit $U_0 \geq 100kV$) durchgeführt worden. Das EFTEM wie auch die CCD-Kamera zur Detektion der Elektronen werden in diesem Formalismus als unabhängige, lineare Übertragungssysteme angesehen. Aus dem „Eingangssignal“ (Stromdichte j_0 in der Objektebene), den entsprechenden Übertragungsfunktionen des EFTEM für unelastische Streuprozesse $H(\vec{\Omega})$ und der CCD-Kamera $MTF(\vec{\Omega})$ wird das „Ausgangssignal“, d.h. die Bildintensität im Elementverteilungsbild $J_S(\vec{\Omega})$ berechnet. Die „Signalübertragung“ ist hier im Frequenzraum angegeben. Bei gegebener Atomverteilung eines Elementes $N_S(\vec{\Omega})$ ergibt sich für die Intensitätsverteilungen im Elementverteilungsbild

$$J_S(\vec{\Omega}) = j_0 \sigma_S(\Delta, \theta_A) N_S(\vec{\Omega}) H(\vec{\Omega}) MTF(\vec{\Omega}).$$

In die Übertragungsfunktion $H(\vec{\Omega})$ gehen die Energiefensterbreite ΔE , die Defokussierung Δf , die Abbildungsfehler C_S (sphärische Aberration) und C_C (chromatische Aberration) der Objektivlinse und die Beleuchtungs- und Objektivapertur θ_B und θ_A ein. Durch Optimierung des SRV [3, 10] können die idealen Abbildungsparameter für den Elementnachweis bestimmt werden. Speziell für das hier verwendete EFTEM 902 von LEO sind Rechnungen zur Auflösungs- und Nachweisgrenze von Golla [13] durchgeführt worden. Die Bestimmung der MTF für die verwendete Slow-Scan-CCD-Kamera von Gatan ist bei Hülk [19] dargestellt.

Für die Bestimmung der Auflösungs- und Nachweisgrenze wird weiterhin die Vergrößerung optimiert. Eine Optimierung bedeutet an dieser Stelle, daß die Vergrößerung im wesentlichen an die Ausdehnungen nachzuweisender Partikel angepaßt wird. Wird dieses Signal in nur einem Pixel detektiert, so erhält man ein maximales SRV

[10]. Wenn nun nicht nur der Nachweis, sondern auch die laterale Verteilung der Atome von Interesse ist, so muß von einer geeigneten Vergrößerung, die das SRV optimiert, abgesehen werden. Für den Nachweis bzw. die Segmentierung dieser Strukturen aus den Elementverteilungsbildern liefert das durch Gl. (2.14) angegebene Rose-Kriterium unter Umständen keine befriedigenden Ergebnisse. Wie sich in diesem Fall nachträglich Pixel eines Partikels vorurteilsfrei gruppieren lassen, um einen Nachweis zu führen, wird in Kap. 4.1 beschrieben.

Untergrundkorrektur

Nach Gl. (2.10) geht in das Rauschen auch der Extrapolationsfehler σ_{Ext} des Untergrundkorrekturverfahrens ein. Für ein maximales SRV (Gl. (2.11)) muß somit auch die Untergrundkorrektur optimiert werden. Die hier zu optimierenden Parameter sind die Position, die Breite und die Anzahl der Energiefenster vor der charakteristischen Ionisationskante. Für die „Drei-Fenster-Methode“ ist bei Berger [4] die Abhängigkeit des Extrapolationsfehlers h aus Gl. (2.12) von der Position und der Breite der beiden Vorkantenbilder untersucht worden. Eines der beiden Energiefenster sollte möglichst dicht an die jeweilige Ionisationskante gelegt werden, während der Abstand des zweiten Bildes zum ersten möglichst groß gewählt werden soll solange das Untergrundmodell der Form Gl. (2.2) gültig ist.

Die ideale Position und Breite des Energiefensters im Bereich der Ionisationskante zur Aufnahme eines elementsensitiven Bildes wird für unterschiedliche Kantenformen (K,L,M) bei Hofer u.a. [18] angegeben. Bei Ionisationskanten mit einem Sägezahnprofil und Kanten mit „weißen Linien“ sollte das Energiefenster dicht an die Ionisationsenergie gelegt werden. Die Breite liegt hier typischerweise in der Größenordnung $20\text{eV} - 30\text{eV}$. Verzögerte Kanten werden idealerweise mit größeren Energiefenstern detektiert, welche im Bereich der Maxima der Kanten oberhalb der Ionisationsenergien liegen.

Das in dieser Arbeit verwendete Untergrundkorrekturverfahren ist die „Weighted-Least-Squares-Fit“-Methode (Kap. 2.1). Im folgenden wird die Optimierung dieser Methode, welche sich hier auf die Energiefenster vor der Kante bezieht, vorgestellt. Zur Optimierung soll berücksichtigt werden, daß die Energiefenster eine

Breite von $15\text{eV} - 30\text{eV}$ haben. Eine Beschränkung auf diese Energiefenstergrößen ist gerätebedingt. Wegen des chromatischen Fehlers der Objektivlinse ist es sinnvoll, kleinere Energiefenster zu verwenden, da mit zunehmender Fensterbreite ΔE das Auflösungsvermögen in den energiegefilterten Bildern verringert wird. Der Radius des Farbfehlerscheibchens ergibt sich beispielsweise für das EFTEM 902 von Leo mit einem Farbfehlerkoeffizienten $C_C = 1,7\text{mm}$, einer eingestellten Objektivapertur $\theta_A = 10\text{mrad}$, einer Energiefensterbreite $\Delta E = 20\text{eV}$ und einer Beschleunigungsspannung $E_0 = 80\text{keV}$ zu $\delta_C = C_C \theta_A \Delta E / E_0 \approx 4\text{nm}$.

Die Fenster müssen unabhängig voneinander sein, d.h. sie dürfen sich nicht überschneiden. Aus praktischen Gründen (z.B.: ungenaue Justierung des Energiespaltes beim EFTEM 902) sollte zwischen jeweils zwei Fenstern so ein Energiebereich $\geq 5\text{eV}$ liegen. Insbesondere sollte das Energieintervall des ersten Fensters vor der Kante ebenso in einem Abstand von $\geq 5\text{eV}$ vor der Ionisationskante enden (Abb. 2.1). Für eine theoretisch angenommene Kante bei einem Energieverlust von 500eV und einer vorgegebenen Fensterbreite von 20eV ergibt sich bei sechs Fenstern vor der Kante das Energieintervall $[350\text{eV}, 495\text{eV}]$ zur Berechnung der Parameter A und r des Untergrundmodells. Größere Energieintervalle zur Untergrundkorrektur werden in der Energiefilterung üblicherweise nicht verwendet. Einerseits liegt die Beschränkung in der Tatsache, daß das Potenzgesetz Gl. (2.2) mit festen Parametern A und r nicht für größere Intervalle gültig ist. Andererseits können unterhalb der interessanten Ionisationskante weitere Kanten auftreten, welche nicht in den Bereich der Untergrundbestimmung hineinragen dürfen.

Zur Berechnung eines maximalen SRV wird hier bei fester Fensterbreite die Anzahl der Bilder vor der Kante, welche als Stützstellen dienen, optimiert. Die Berechnung der in Abb. 2.3 angegebenen SRV erfolgt durch die Auswertung simulierter energiegefilterter Bilder (vgl. Abb. 2.2). Die Parameter der Untergrundfunktion Gl. (2.2) sind $A = 10^{14}$ und $r = 4$. Die „charakteristische“ Ionisationsenergie soll hier 500eV betragen. Das „elementsensitive“ Bild wird bei einem Energieverlust von 515eV (Mitte des Energiefensters) aufgenommen, wobei für die charakteristische Kante eine Signalthöhe von $S = 600$ (willk. Einheit) angenommen wird. Die Vorkantenbilder liegen bei den willkürlich gewählten Energieverlusten $310\text{eV}, 335\text{eV}, \dots, 485\text{eV}$. Für alle Fensterbreiten wurden 20eV angenommen, und die Fenster sollen jeweils 5eV

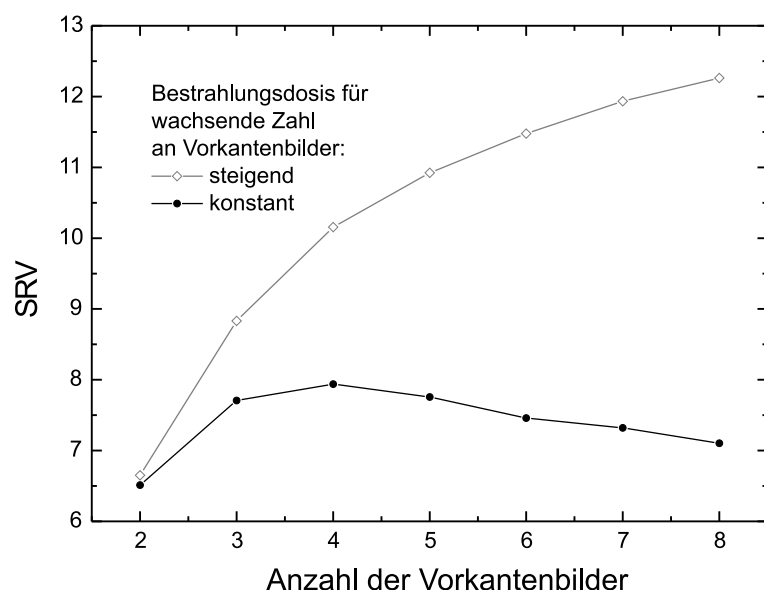


Abbildung 2.3: Vergleich verschiedener Untergrundkorrekturverfahren bei simulierten „energiegefilterten“ Bilderserien (Parameter siehe Text). „WLSE“-Methode mit insgesamt variierender (\diamond) und konstanter (\bullet) Bestrahlungsdosis. Variierende Dosen sind in entsprechenden „Belichtungszeiten“ der Bilder berücksichtigt. Die Belichtungszeiten bei unterschiedlichen Bilderanzahlen (Kurve (\bullet)) sind immer auf die Belichtungszeit für drei Bilder (zwei Vorkantenbilder und ein Bild auf der Kante) normiert.

auseinander liegen. Zur Untergrundkorrektur mittels zwei Vorkantenbildern werden die Bilder bei 460eV und 485eV verwendet. Bei drei Vorkantenbildern wird zusätzlich das Bild bei 435eV mitberücksichtigt. Entsprechendes gilt für die Berücksichtigung weiterer Vorkantenbilder. Wird für die Untergrundkorrektur die Anzahl der Vorkantenbilder bei denselben Abbildungsbedingungen erhöht, so wächst die Bestrahlungsdosis auf das Präparat. Gleichzeitig wächst das SRV des „Elementsignals“ im Elementverteilungsbild aufgrund des sinkenden Extrapolationsfehlers (Gl. (2.11)). Im Vergleich zu der Untergrundkorrektur mittels zweier Vorkantenbilder ist die Bestrahlungsdosis bei zum Beispiel vier Vorkantenbildern rund 70% höher. Das SRV vergrößert sich hier um rund 50%. Kann das Präparat mit beliebigen Dosen bestrahlt werden, und läßt der Energiebereich vor der Kante die Aufnahme vieler Bilder zu, so wird das SRV mit zunehmender Anzahl von Vorkantenbildern maxi-

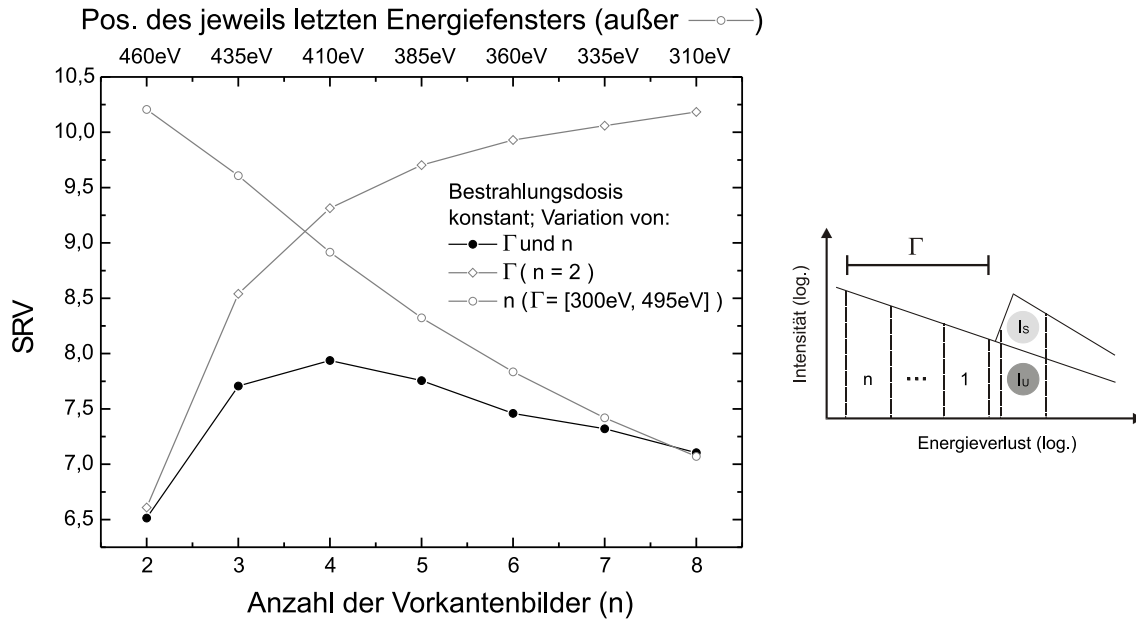


Abbildung 2.4: Vergleich des Untergrundkorrekturverfahrens bei konstanter Bestrahlungsdosis (Abb. 2.3) mit den Ergebnissen von Pun [33] (graue Kurven). Der Bereich zur Untergrundabschätzung Γ variiert bei einer angenommenen Energiefensterbreite $\Delta E = 20\text{eV}$ für die beiden Kurven (•) und (◊) innerhalb des Intervalls $[300\text{eV}, 495\text{eV}]$. Für die Kurve (◊) ist die Region Γ auf $[300\text{eV}, 495\text{eV}]$ festgelegt (Erklärung siehe Text).

miert. Ist das Präparat jedoch strahlsensitiv, so kann die Bestrahlungsdosis nicht beliebig erhöht werden. Bei einer insgesamt konstant gehaltenen Bestrahlungsdosis zeigt sich, daß ein optimales SRV für vier Vorkantenbilder erreicht wird (Abb. 2.3). Im Vergleich zu dem SRV bei zwei Vorkantenbildern ist das SRV bei vier Bildern bei gleicher Bestrahlungsdosis um rund 20% größer. Für den Elementnachweis muß somit immer ein Kompromiß zwischen Bestrahlungsdosis und maximalem SRV geschlossen werden.

In der Abb. 2.4 wird der Verlauf des SRV in Abhängigkeit von der Anzahl an Vorkantenbildern bei insgesamt konstanter Bestrahlungsdosis (Abb. 2.3) mit den Ergebnissen von Pun [33] (graue Kurven) verglichen. Die Abhängigkeit des SRV bei fester Anzahl n an Vorkantenbildern von der Breite der Region Γ zur Berechnung der Parameter A und r zeigt die Kurve (◊), wobei hier die Fensteranzahl für einen

Vergleich mit dem Verlauf des SRV der Kurve (\bullet) auf $n = 2$ festgelegt wurde. Das erste Vorkantenbild direkt vor der Ionisationskante hat den Energieverlust 485eV . Die Energiefensterbreiten aller Bilder werden wiederum auf $\Delta E = 20\text{eV}$ festgelegt. Mit dem zweiten Vorkantenbild bei 460eV wird ein mittleres $SRV = 6,61$ berechnet. Der Energiebereich zur Abschätzung des Untergrundes ist demnach $\Gamma = [450\text{eV}, 495\text{eV}]$. Wird der mittlere Energieverlust dieses zweiten Bildes verringert, so steigt das mittlere SRV für eine mittlere Verlustenergie des Fensters bei 310eV bis auf den Wert 10,18. Die Breite der Region Γ wächst somit von 45eV bis auf 195eV an. Es wird deutlich, daß die Vergrößerung der Region zur Abschätzung des Untergrundes bei fester Anzahl an Vorkantenbildern ein steigendes SRV zur Folge hat. Ursache hierfür ist der sinkende Extrapolationsfehler.

Die Kurve (\circ) in der Abb. 2.4 verdeutlicht den Verlauf des SRV für eine steigende Anzahl an Vorkantenbildern innerhalb einer fest gewählten Region Γ . Die mittleren Verlustenergien der Vorkantenbilder sind jeweils über den gesamten Energiebereich gleichmäßig verteilt. Die Energiefensterbreiten der Vorkantenbilder sind festgelegt auf $\Delta E = 20\text{eV}$. Für einen Vergleich wurde hier der Energiebereich zur Abschätzung des Untergrundverlaufs auf $\Gamma = [300\text{eV}, 495\text{eV}]$ festgelegt. Dieses Intervall entspricht so dem der Untergrundkorrektur mittels 8 Vorkantenbildern (vgl. Kurve (\bullet)). Für zwei Vorkantenbilder bedeutet dies mittlere Verlustenergien von 310eV und 485eV . Werden drei Vorkantenbilder zur Untergrundkorrektur verwendet, so betragen die mittleren Verlustenergien 310eV , $397,5\text{eV}$ und 485eV . Die Positionen der Vorkantenbilder für $n \geq 4$ berechnen sich entsprechend. Dem Verlauf der Kurve (\circ) ist zu entnehmen, daß mit einer wachsenden Anzahl an Vorkantenbildern das SRV sinkt. Die Ursache hierfür liegt in der wachsenden statistischen Unsicherheit, da in den Simulationen eine insgesamt konstante Bestrahlungsdosis vorausgesetzt wurde und so die Belichtungszeiten entsprechend einer steigenden Anzahl an Bildern angeglichen bzw. verringert wurden.

Zur Optimierung des SRV ist es nun aus statistischer Sicht ratsam die Anzahl an Vorkantenbildern auf $n = 2$ zu beschränken, wobei gleichzeitig die Region zur Abschätzung des Untergrundes (Γ) möglichst groß zu wählen ist (vgl. Kurve (\diamond)). Eine korrekte Untergrundkorrektur kann jedoch nur erfolgen, wenn das angenommene Untergrundmodell (Gl. (2.2)) im gesamten Energiebereich Γ gültig ist. Zur Über-

prüfung, ob der Verlauf der experimentellen Daten tatsächlich mit dem gewählten Untergrundmodell beschrieben werden kann, ist es trotz sinkendem SRV somit notwendig mehr als zwei Vorkantenbilder zu verwenden. Desweiteren kann so kontrolliert werden ob Artefakte im Untergrundverlauf auftreten, welche zu systematischen Fehlern bei der Untergrundkorrektur führen. Für die Berechnung von Elementverteilungsbildern ist es aus diesen Gründen interessant die Optimierung der Untergrundkorrektur bei variabler Anzahl an Vorkantenbildern, und wachsender Breite der Region Γ durchzuführen. Die konkurrierenden Einflüsse auf das SRV bei

- variabler Fensterzahl n und fester Breite der Region Γ und
- fester Fensterzahl n und variabler Breite der Region Γ

liefern zusammen betrachtet (Kurve (•) der Abb. 2.4) bei insgesamt konstanter Bestrahlungsdosis ein maximales SRV für vier Vorkantenbilder. Die Bestimmung der idealen Anzahl an Vorkantenbildern zur Berechnung von Elementverteilungsbildern bezüglich einer vertrauenswürdigen Untergrundkorrektur und einem optimalen SRV erfolgt hier allein unter den oben angegebenen „experimentellen“ Bedingungen.

2.5 Artefakte im Elementverteilungsbild (EVB)

Ein wichtiger Punkt bei der Auswertung und Interpretation eines Elementverteilungsbildes ist die Gewißheit, daß die aus dem experimentellen Bild berechneten Intensitäten unabhängig vom jeweiligen SRV wirklich den charakteristischen Signalen entsprechen. An dieser Stelle werden Fehlinterpretationen eines berechneten Elementverteilungsbildes diskutiert, welche aufgrund einer zu großen Dicke des untersuchten Präparatbereiches zustande kommen.

Wie in Kap. 1.2 schon erwähnt, führen elastisch-unelastische und/oder unelastisch-unelastische Mehrfachstreuungen zu verminderten Intensitäten im Bereich der charakteristischen Ionisationskante. Durch elastisch-unelastische Mehrfachstreuungen können Strahlelektronen in Winkel θ größer der Objektivapertur θ_A gestreut werden und werden so nicht mehr detektiert. Unelastisch-unelastische Mehrfachstreuungen führen zu zusätzlichen Intensitätsverschiebungen im Bereich der Ionisationskante

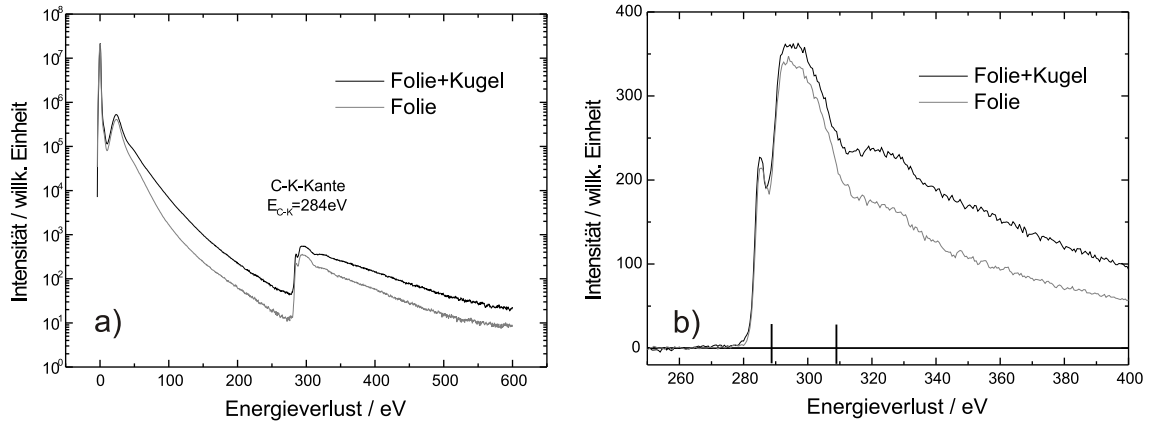


Abbildung 2.5: Verdeutlichung von Mehrfachstreuungen. Das Präparat besteht aus einer tragenden Kohlefolie auf der sich Polystyren-Latex-Kugeln befinden. In Abb. a) sind die Intensitäten der EEL-Spektren auf gleiche Höhe des Zero-Loss-Peaks normiert. In Abb. b) sind die untergrundkorrigierten Kohlenstoffkanten zu sehen.

in höhere Energiekanäle. Systematische Fehler aufgrund von Mehrfachstreuungen können bei der Quantifizierung von Elementverteilungsbildern bis zu einer Schichtdicke von $t/\lambda_{in} \approx 0.5$ vernachlässigt werden [11]. Bei größeren Schichtdicken können die an einer inneren Schale unelastisch gestreuten Elektronen durch weitere Streuprozesse, wie zum Beispiel Plasmonenanregungen, zusätzliche Energieverluste erleiden. Betragen die Energieverluste durch die Wechselwirkung mit einer Schale E_a und einer Plasmonenanregung E_{Pl} , so gilt für den insgesamt erfahrenen Energieverlust des Strahlelektrons $E_{ges} = E_a + E_{Pl}$. Für das elementsensitive Bild, aufgenommen in dem Energiefenster Δ_a (siehe Gl. (1.2)), kann dies bedeuten, daß der Energieverlust E_{ges} nicht in dieses Fenster fällt und somit charakteristische Signale nicht detektiert werden. Unter der Voraussetzung, daß eine homogene Verteilung eines Elementes bei einer Schichtdicke von $t > 0,5\lambda_{in}$ zu erwarten ist, führt eine Interpretation allein des Elementverteilungsbildes zu falschen Konzentrationsverhältnissen.

In Abb. 2.5 sind EEL-Spektren von einer tragenden Kohlefolie, auf der sich Polystyren-Latex-Kugeln befinden, dargestellt. Die Latex-Kugeln bestehen aus Kohlenwasserstoffen mit der Summenformel $[-CH(C_6H_5)-CH_2-]_n$ mit $150.000 < n < 300.000$. In einem EEL-Spektrum ist für den Bereich mit Latex-Kugeln somit

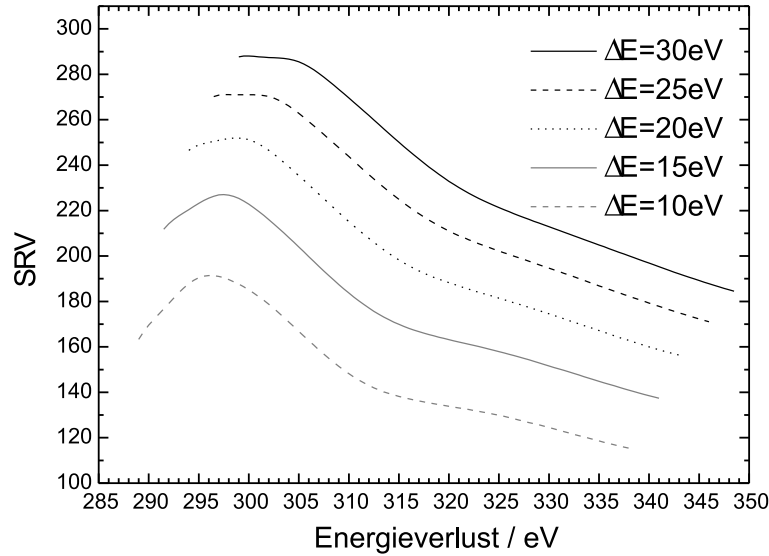


Abbildung 2.6: Bestimmung der optimalen Position zur Aufnahme des Bildes auf der Kohlenstoff-K-Kante nach Hofer u.a. [18]. Für eine Energiefensterbreite von beispielsweise $\Delta E = 20\text{eV}$ beträgt der ideale Energieverlust (Mitte des Energiefensters) so 299eV und liegt hier oberhalb des Maximums (295eV) der Kante.

nur eine intensitätsreichere Kohlenstoffkante bei $E_{C-K} = 284\text{eV}$ zu erwarten. Der Wasserstoff mit einer K-Schalen-Ionisationskante bei $E_{H-K} = 13\text{eV}$ kann in EEL-Spektren nicht nachgewiesen werden.

In Abb. 2.5a sind die Intensitäten in den EEL-Spektren von Bereichen mit und ohne Latex-Kugeln auf die gleiche Höhe des Zero-Loss-Peaks normiert. Beide Spektren sind bei denselben Geräteeinstellungen aufgenommen. In dem Spektrum des Bereiches mit Latex-Kugeln läßt sich oberhalb des ersten Plasmonenverlustes ein zweiter Plasmonenverlust erkennen. Die bei größeren Energieverlusten detektierten Intensitäten zeigen aufgrund der vermehrt auftretenden unelastischen Streuprozesse gegenüber dem Spektrum ohne Latex-Kugeln höhere Werte. In Abb. 2.5b sind die untergrundkorrigierten Kohlenstoff-K-Kanten zu sehen. Oberhalb des Maximums der Kohlenstoffkante läßt sich in beiden EEL-Spektren eine „Schulter“ erkennen, welche aufgrund zusätzlicher Plasmonenverluste auftritt. In dem EEL-Spektrum mit Latex-Kugeln ist dieser Plasmonenverlust stärker ausgeprägt.

Aus den EEL-Spektren wird nach der Methode von Hofer u.a. [18] die ideale Position des Energiefensters für das elementsensitive Bild bestimmt, um ein maximales SRV in dem Elementverteilungsbild zu erhalten. In diesem Verfahren werden die Parameter A und r des Untergrundmodells (Gl. (2.2)) aus dem Verlauf des EEL-Spektrums in einem festgelegten Energiebereich unterhalb der Kohlenstoff-K-Kante ermittelt. Die Kante wird entsprechend untergrundkorrigiert, und zur Bestimmung des charakteristischen Signals I_S werden oberhalb der Ionisationsenergie in einem definierten Energiefenster Δ_C die Intensitäten aufsummiert. Das Rauschen bzw. die Unsicherheit für I_S kann nach Gl. (2.10) berechnet werden. In Abhängigkeit der Position dieses Energiefensters kann so die Energiefilterung für ein elementsensitives Bild optimiert werden. Als Qualitätsmaß dient hier das entsprechende SRV, welches in der Abb. 2.6 gegen die jeweilige Mitte der Energiefenster aufgetragen ist.

Für die Untergrundkorrektur mittels dreier Vorkantenbilder bei 208eV , 233eV und 258eV wird für eine Fensterbreite von 20eV die optimale Position des Bildes auf der Kante zu 299eV bestimmt (Abb. 2.6), so daß in diesem Bild Intensitäten des Energieintervalls $[289\text{eV}, 309\text{eV}]$ registriert werden. Die zusätzlichen Plasmonenverluste werden in diesem Energiefenster nicht detektiert. Gleichzeitig können bei einer höheren Schichtdicke auch vermehrt elastisch-unelastische Mehrfachstreuungen auftreten, so daß Strahlelektronen mit Streuwinkeln $\theta > \theta_A$ nicht mehr zum Bild beitragen.

In Abb. 2.7a ist das aus den experimentellen Daten berechnete Kohlenstoffverteilungsbild einer Latex-Kugel zu sehen. Der helle Kreis in dem Bild stellt den Saum der Latex-Kugel dar. Zur Mitte der Latex-Kugel hin nimmt die Intensität im EVB ab und sinkt sogar unter die Werte der Bereiche, in denen nur die tragende Kohlefolie zu sehen ist. In dem EEL-Spektrum von dem Bereich mit Latex-Kugel (Abb. 2.4b) ist jedoch im Vergleich zu einem EEL-Spektrum allein von der Kohlefolie eine intensitätsreichere Ionisationskante zu finden. Dies ist zu dem berechneten Kohlenstoffverteilungsbild kein Widerspruch. Der ausgeleuchtete Bereich bei der Registrierung des EEL-Spektrums ist hier etwas größer als die Latex-Kugel selbst. Zusätzlich zu dem Kohlenstoffsignal der Folie werden hier charakteristische Signale insbesondere des Randbereiches der Latex-Kugel registriert.

Eine t/λ -Map desselben Bereiches ist in Abb. 2.7b zu sehen. Es ist zu erkennen,

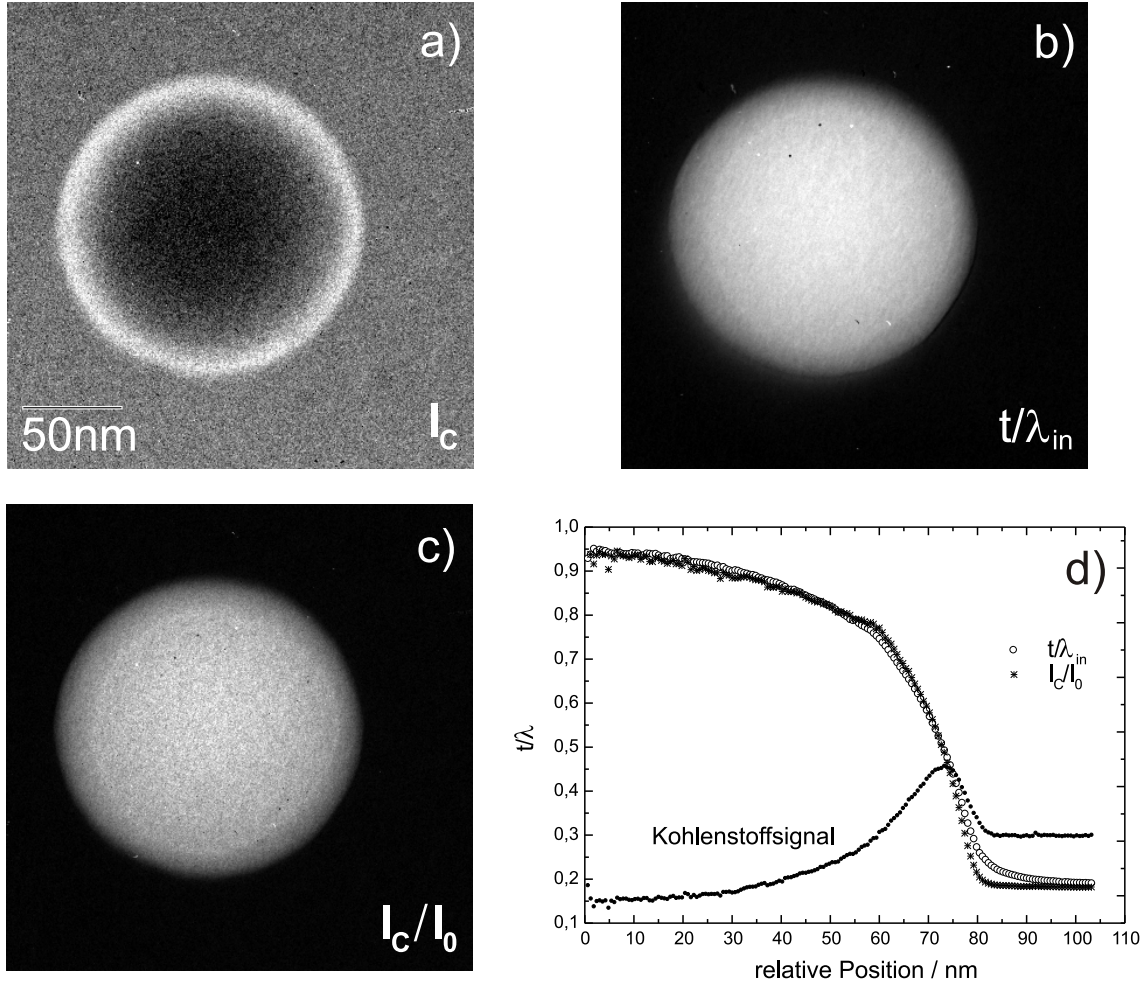


Abbildung 2.7: Verdeutlichung der Effekte von Mehrfachstreuungen anhand eines Kohlenstoffverteilungsbildes a) einer Polystyren-Latex-Kugel auf einer Kohlefolie. Der helle Kreis stellt den Saum der Kugel dar. In Abb. b) ist eine t/λ_{in} -Map desselben Bereiches dargestellt. Abb. c) zeigt das Verhältnis von I_C zu I_0 . Die Intensitätsverhältnisse der Abb. a) bis c) sind in Abb. d) dargestellt, wobei das Kohlenstoffsignal (I_C) und I_C/I_0 (I_0 : Intensitäten des elastisch gefilterten Bildes) auf den Wertebereich von t/λ_{in} skaliert sind.

daß die relative Schichtdicke entsprechend einer Kugelform zur Mitte hin zunimmt (höhere Grauwerte). Die Kohlenstoffverteilung innerhalb der Latex-Kugel kann so, entgegen der Interpretation einer Kohlenstoffanreicherung im Randbereich, als mehr oder weniger homogen angenommen werden. Die verringerten charakteristischen Signale in der Mitte der Kugel erklären sich durch Mehrfachstreuungsprozesse. Aufgrund der höheren Schichtdicke wächst die Wahrscheinlichkeit für Mehrfachstreuungen, so daß die an der K-Schale des Kohlenstoffs unelastisch gestreuten Strahlelektronen, die zusätzlich weiteren elastischen und/oder unelastischen Streuprozessen unterliegen, hier nicht nachgewiesen werden können.

In Abb. 2.6d sind die radialen Intensitätsverläufe der Latex-Kugel zu sehen. Zusätzlich zu dem Kohlenstoffsignal des EVB (Abb. 2.6a) ist der Verlauf der relativen Schichtdicke t/λ_{in} dargestellt. Die Kurve I_C/I_0 ist der Intensitätsverlauf des EVB dividiert durch die Intensitäten eines elastisch gefilterten Bildes (Zero-Loss-Filterung) (vgl. Gl. (1.6)), wobei die Energiefensterbreite dieses Bildes ebenfalls 20eV beträgt. In einem elastisch gefilterten Bild wie auch in einem unelastisch gefiltertem Bild werden die Intensitäten aufgrund von Mehrfachstreuungen in gleichem Maße verringert [29]. Mit der Normierung der Intensitäten des unelastisch gefilterten Bildes auf die eines elastisch gefilterten Bildes wird der Einfluß von Mehrfachstreuungen so korrigiert.

Es zeigt sich, daß elastisch-unelastische Mehrfachstreuungen, welche ab einer relativen Schichtdicke von $t/\lambda_{in} \approx 0,5$ zu systematischen Fehlern im EVB führen, bei der Betrachtung von I_C/I_0 bis zu einer relativen Schichtdicke von $t/\lambda_{in} \approx 1$ korrigiert werden können.

Um mögliche Fehlinterpretationen zu verhindern, müssen somit die lokalen Schichtdicken des untersuchten Präparates vor der Auswertung eines EVB kontrolliert werden.

Kapitel 3

Clusteranalyse

In diesem Kapitel wird auf die multivariate statistische Analyse eingegangen, wobei die grundlegenden Verfahren kurz aufgeführt werden. Ausführliche Darstellungen zu multivariaten Methoden sind in der einschlägigen Literatur zu finden [8, 27, 39]. Im weiteren werden 2D-Histogramme beschrieben und die zu ihrer Auswertung verwendeten Verfahren eingehend erläutert. Hervorzuheben ist hier die Clusteranalyse, anhand derer die 2D-Histogramme in mehrere Punktwolken (Cluster) unterteilt werden.

3.1 Multivariate Analyseverfahren

Univariate statistische Verfahren finden ihren Einsatz in der Analyse von Untersuchungen, die nur eine Merkmalsausprägung zeigen. Für die Meßreihe einer physikalischen Größe J bedeutet dies die Untersuchung der Abhängigkeit von einer zuvor eingestellten Variablen x . Es werden somit Ursache-Wirkung-Beziehungen betrachtet. Grundlegend für die Analyse ist die Feststellung einer unabhängigen Variablen. Die Wirkung dieser Variablen x auf eine abhängige Variable J wird in der einfachen Varianzanalyse untersucht, d.h. es wird überprüft, ob die unabhängige Variable einen signifikanten Einfluß auf die abhängige Variable hat. Wird dieser Wirkung, ausgedrückt durch $J(x)$, zusätzlich ein eindeutiger Trend unterstellt, so erfolgt der Einsatz der einfachen Regressionsanalyse. Für den Verlauf des Untergrundes in einem EEL-Spektrum bzw. in einer energiegefilterten Bilderserie wird zum Beispiel

nach einer ln-ln-Transformation ein linearer Zusammenhang zwischen dem Energieverlust der unelastisch gestreuten Strahlelektronen (unabhängige Variable) und den jeweils detektierten Intensitäten (abhängige Variable) angenommen (Gl. (2.3)). Die in diesem Modell vorkommenden Parameter A und r werden durch eine lineare Regression anhand des „Weighted-Least-Squares-Fit“-Verfahrens (Kap. 2.1) bestimmt. Sollen bei einer Untersuchung die Ausprägungen mehrerer Merkmale bzw. Eigenschaften untersucht werden, so werden multivariate Verfahren bevorzugt. Im Kapitel 4.1 werden aus experimentellen Daten berechnete Elementverteilungsbilder bezüglich der beiden pixelbezogenen Merkmale „Signal“ und „Rauschen“ untersucht. Anhand der 2-dimensionalen Auftragung (2D-Histogramm; Kap. 3.2.2) des Signals gegen das Rauschen pro Pixel, wird mit Hilfe eines bivariaten Analyseverfahrens (Clusteranalyse) versucht, Pixel mit ähnlichen Merkmalskombinationen (Signal-Rausch Kombinationen) zu jeweils einem Cluster (Objektklasse) zu gruppieren. Im Gegensatz zur Beurteilung des Elementverteilungsbildes allein mit dem SRV pro Pixel (Kap. 2.3) ist es so möglich, die wesentlichen Wechselwirkungen zwischen den Merkmalen Signal und Rauschen darzustellen, und die Pixel, welche sich ähnlich verhalten, zu einer Objektklasse im segmentierten Elementverteilungsbild zusammenzufassen.

Die Clusteranalyse gruppiert Individuen der Stichprobe hinsichtlich der Merkmalsausprägungen. Es wird versucht, Gruppen von Individuen zu bilden, welche eine hohe „Ähnlichkeit“ aufweisen. Untereinander sollen verschiedene Gruppen sich sehr unähnlich sein. Als Ähnlichkeitsmaß kann für metrische Skalen zum Beispiel der „Abstand“ zweier Individuen in einem 2D-Histogramm herangezogen werden. Verglichen mit der Segmentierung eines Elementverteilungsbildes anhand des Rose-Kriteriums (Gl. (2.14)) ist das wesentliche Charakteristikum der Clusteranalyse das gleichzeitige Heranziehen aller vorliegenden Eigenschaften, so daß der Signal-Rausch-Raum (Kap. 4.1) so nicht durch eine linearen Trennfunktion (z.B.: $SRV = 5$) in zwei Bereiche (Diskriminanzanalyse), sondern in mehrere Individuengruppen unterteilt wird. Die hierdurch erfolgte Einteilung in verschiedene Objektklassen wird auch als Mustererkennung bezeichnet, wobei das zu jeder Objektklasse gehörige Merkmalsmuster durch die Clusteranalyse ermittelt wird. Auf die Clusteranalyse wird in Kap. 3.3 genauer eingegangen.

An dieser Stelle sei noch kurz die Faktorenanalyse zur Segmentierung bzw. zur Untergrundkorrektur energiegefilterter Bilder erwähnt. Es werden hier die wesentlichen unabhängigen Merkmale bestimmt, welche die Wirkungszusammenhänge zwischen mehreren Variablen oder Variablengruppen vollkommen erklären können. Die ermittelten Faktoren beschreiben somit die in den Ausgangsdaten vorausgesetzten Korrelationen mehrerer Variablen. Es wird deutlich, daß auf die Interpretation dieser extrahierten Faktoren bzw. Hauptkomponenten besonders geachtet werden muß, um die richtigen Schlüsse aus einer Analyse ziehen zu können.

Bei Bonnet [7] wird der Einsatz der Faktoranalyse beispielsweise zur Untergrundkorrektur einer energiegefilterten Bilderserie beschrieben. In einem Vergleich mit der parametrischen Vorgehensweise (Gl. (2.2)) zeigt sich eine gute qualitative Übereinstimmung der beiden Untergrundkorrekturen. Die in den energiegefilterten Bildern enthaltenen Informationen wie Signal, Untergrund, Rauschen und Artefakte werden als Faktoren ermittelt. Mit den so errechneten Faktorbildern kann jedes einzelne Bild der Serie nun hinsichtlich der in ihm enthaltenen Informationsquellen beurteilt werden [44], d.h. es ist so möglich, die Bilder einer Serie zu ermitteln, welche z.B. ein hohes spezifisches Elementsignal beinhalten. Quantitative Auswertungen sind mit diesem Verfahren allerdings nicht oder nur in eingeschränktem Umfang möglich [40, 43].

3.2 Histogramme

3.2.1 1D-Histogramme

Ein Histogramm gibt die Häufigkeitsverteilung der in einem Bild auftretenden Grauwerte wieder. Es werden die Anzahl der Pixel, deren jeweiliger Grauwert in ein definiertes Intervall fällt, gegen die Mittelwerte dieser Grauwertintervalle aufgetragen. Aus diesen Histogrammen kann zum Beispiel für homogene Prozesse, d.h. für Messungen, die unabhängig von der Pixelposition im Bild sind, die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Grauwerte abgeschätzt werden. Detaillierte Vorgehensweisen, wie diese Wahrscheinlichkeitsverteilungen abgeschätzt werden können sind bei Bishop [8] zu finden. Das Histogramm liefert somit einen quantitativen Überblick der Grau-

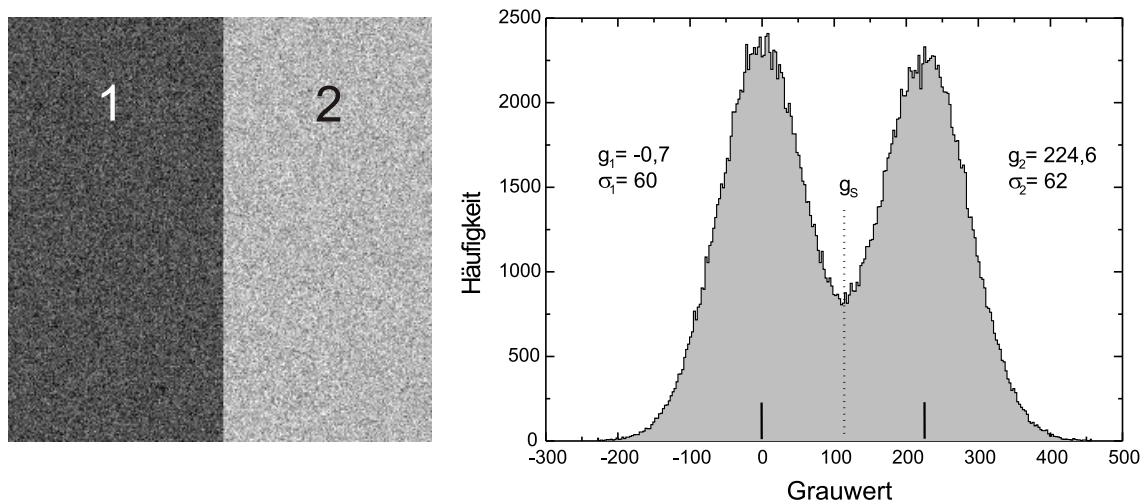


Abbildung 3.1: Bimodales Histogramm eines künstlich generierten Bildes. Der Grauwertumfang des Bildes beträgt $g = -228,1 \dots 456,7$. Das Histogramm, welches die Häufigkeitsverteilung der Grauwerte zeigt, ist auf der rechten Seite dargestellt. Die Quantisierungsstufe des Histogramms ist $\Delta g = 2,68$. Der Grauwert $g_s = 113,5$ gibt das Minimum zwischen den beiden Maxima an und kann als Schwellwert für eine Segmentierung verwendet werden, wobei der Klassifizierungsfehler hier bei 3,24% liegt.

wertverteilung, wodurch die Interpretation eines Bildes wesentlich erleichtert wird. Der Quantisierungsprozeß, d.h. die Bestimmung der Breite der Grauwertintervalle, muß eine Diskretisierung liefern, welche zu einer geeigneten Darstellung dieser Häufigkeitsverteilungen führt. Werden die Grauwertintervalle zu klein gewählt, so führt dies unter Umständen zu einem „verrauschten“ Histogramm, welches zur Beurteilung bzw. Auswertung des Bildes ungeeignet ist. Sind die Grauwertintervalle demgegenüber zu groß gewählt, führt dies zu einer Glättung des Histogramms. Die wesentlichen Informationen können so nicht mehr aus einem Histogramm gewonnen werden. Zur Interpretation des Histogramms muß der grundsätzliche Fehler bei der Quantisierung berücksichtigt werden, wobei hier die Betrachtung des maximalen Fehlers ausreichen soll. Der maximale Fehler des Quantisierungsprozesses ergibt sich aus der Hälfte der Differenz zweier Quantisierungsstufen. Weitere Überlegungen, insbesondere zur Berechnung der Standardabweichung einer Quantisierung, sind bei Jähne [20] zu finden.

In Abb. 3.1 ist das Histogramm für ein künstlich generiertes Bild dargestellt (vgl. Kap. 4.2). Das Histogramm ist aufgrund der Unterteilung des Bildes in zwei Bereiche in diesem Fall bimodal. Für die Grauwertverteilungen können in Näherung zwei Gaußverteilungen angenommen werden. Der Mittelwert und die Standardabweichung im ersten Bereich ist $g_1 = -0,7$ und $\sigma_1 = 60$ und für den zweiten Bereich $g_2 = 224,6$ und $\sigma_2 = 62$. Der Grauwertumfang des simulierten Bildes beträgt $g = -281,5 \dots 481,9$. In der Abb. 3.1 ist jedoch nur der Grauwertbereich $g = -228,1 \dots 456,7$ auf die darstellbaren Graustufen $g = 0, 1, \dots, 255$ umgerechnet. Einige „Ausreißer“ mit Grauwerten $g < -228,1$ und $g > 456,7$ werden zur besseren Darstellung so nicht berücksichtigt. Der maximale Quantisierungsfehler des Histogramms beträgt hier 1,34 in der Einheit „Grauwert“. Ein solches bimodales Histogramm kann für die Segmentierung eines Bildes anhand eines Schwellwertverfahrens verwendet werden. Soll das Bild in Abb. 3.1 in die beiden Bereiche 1 und 2 unterteilt werden, so wird der Schwellwert durch das Minimum zwischen den beiden Maxima in der Häufigkeitsverteilung bestimmt. Aus dem Histogramm ergibt sich dementsprechend ein Schwellwert von $g_s = 113,5$. Mit der Betrachtung der relativen Häufigkeitsverteilung bedeutet dieser Schwellwert für Pixel mit den entsprechenden Grauwerten im Bild so eine gleiche Auftretswahrscheinlichkeit. In einem binären Bild werden den Pixeln, deren Grauwerte im Ursprungsbild über dem Schwellwert liegen, der Wert Eins zugeordnet. Allen anderen Pixeln wird der Wert Null zugeordnet. Mit der bekannten Unterteilung des Bildes in jeweils zwei gleich große Flächen ist es möglich, den Fehler bei der Segmentierung anhand des Schwellwertverfahrens zu ermitteln. In dem bimodalen Histogramm (Abb. 3.1) kann im Minimum ein Bereich festgestellt werden, in dem sich die beiden angenommenen Gaußverteilungen überlappen. Aufgrund ihrer Grauwerte und dem gesetzten Schwellwert können Pixel so dem jeweils falschen Bereich zugeordnet werden. Für die hier dargestellte Segmentierung ergibt sich ein Zuordnungsfehler von 3,24%. Weitere Verfahren zur Bildverarbeitung, die auf der Auswertung von Histogrammen beruhen, sind bei Haberäcker [16], Jähne [20] oder Russ [37] dargestellt.

3.2.2 2D-Histogramme

Ähnlich wie 1D-Histogramme, welche nur ein Bild berücksichtigen, können 2D-Histogramme jeweils zweier Bilder erstellt werden. In einem 2D-Histogramm sind die Pixelpositionen durch die Grauwerte in den beiden Bildern bestimmt. Ein Pixel im 2D-Histogramm mit der Position (g_1, g_2) charakterisiert somit die Pixel, welche in dem ersten Bild den Grauwert g_1 und in dem zweiten Bild den Grauwert g_2 aufweisen. Die Häufigkeiten der entsprechenden Grauwertkombinationen werden in dem erstellten 2D-Histogramm durch Helligkeiten bzw. Signalthöhen verdeutlicht. Das Ziel einer 2-dimensionalen Auftragung unterschiedlicher Merkmale (Merkmal a und Merkmal b) ist es, anhand auftretender Grauwertkorrelationen (die Ausprägungen eines Merkmals sind durch die Grauwerte im Bild charakterisiert), die Zusammenhänge zwischen den verwendeten Merkmalen in einfacher und übersichtlicher Weise darzustellen und für eine Analyse auszunutzen.

In Abb. 3.2 ist ein 2D-Histogramm zweier Bilder a und b dargestellt, welche durch die Auswertung einer künstlich generierten Bilderserie erhalten werden. Einzelheiten zur Auswertung der angesprochenen Bilderserie und Interpretation der sichtbaren Korrelationen im 2D-Histogramm sind im Kap. 4.2 zu finden.

Im Bild a gruppieren sich in dem ersten Bereich die Grauwerte mit einer Gaußverteilung um den Mittelwert $g_{a1} = -0,7$ und im zweiten Bereich um $g_{a2} = 224,6$. Die Standardabweichungen sind $\sigma_{a1} = 60,1$ und $\sigma_{a2} = 62$. Die mittleren Grauwerte im Bild b sind $g_{b1} = 60$ und $g_{b2} = 62$, und die Standardabweichungen $\sigma_{b1} = 1,4$ bzw. $\sigma_{b2} = 1,3$. Die Grauwertumfänge des Bildes a ($g_a = -281,5 \dots 481,9$) und des Bildes b ($g_b = 53,9 \dots 68,8$) sind jeweils auf die dargestellten Graustufen von $g = 0 \dots 255$ umgerechnet. Zur Erstellung des 2D-Histogramms bleiben jedoch Pixel der Bilder a und b , deren Grauwerte stark von den mittleren Grauwerten abweichen und mit den entsprechenden Grauwerten nur in geringer Anzahl auftreten (sogenannte „Ausreißer“), zur besseren Darstellung unberücksichtigt. Der Grauwertumfang der x-Achse wird so auf $g_a = -233,8 \dots 458,1$ und der y-Achse auf $g_b = 55,5 \dots 66,9$ beschränkt. In dem 2D-Histogramm der Abb. 3.2 sind zwei ellipsenförmige Bereiche zu sehen. Die beiden Cluster beruhen auf den Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Grauwerte der beiden Bilder, wobei die Mittelpunkte der Cluster (d.h. Mittelpunkt 1: (g_{a1}, g_{b1}) und

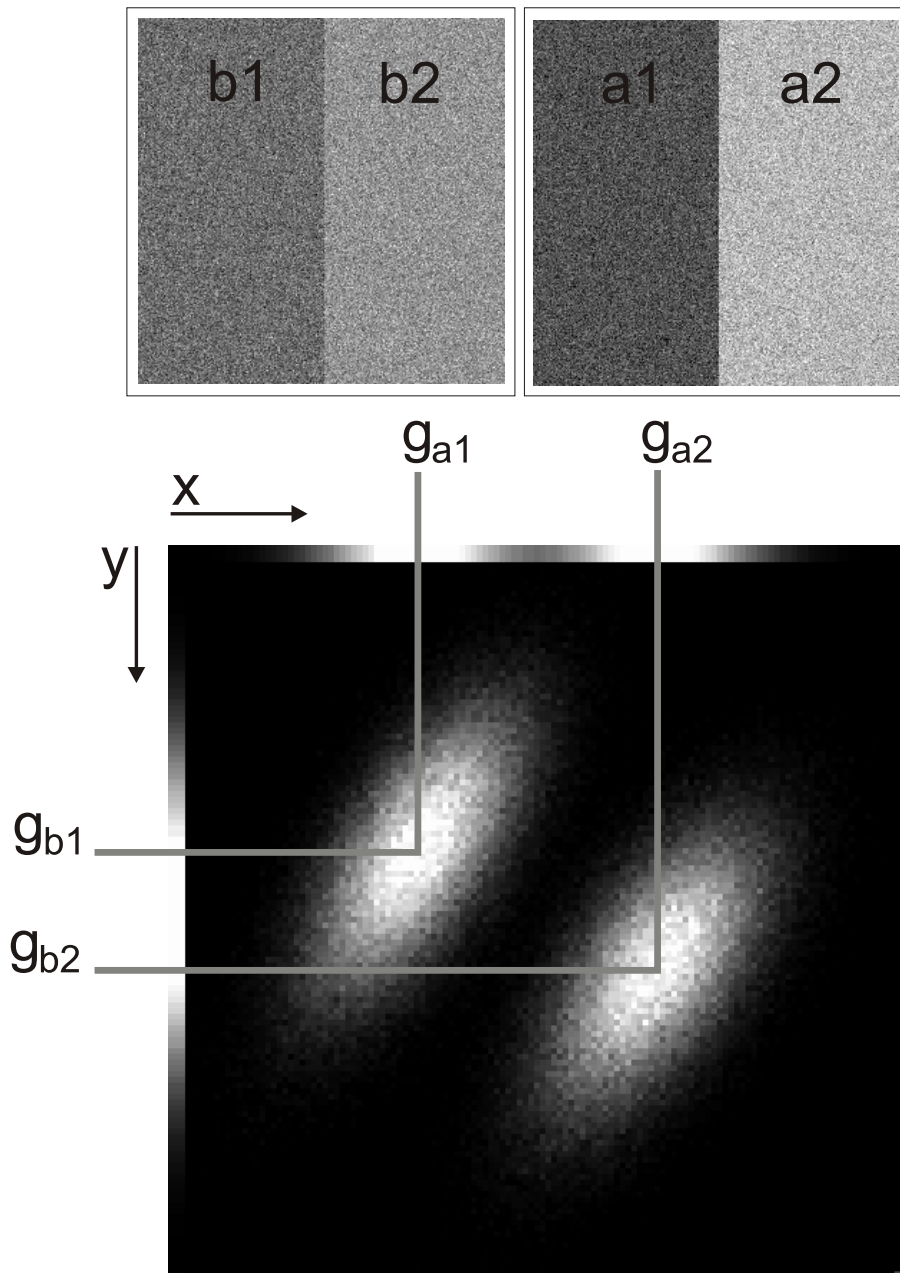


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung eines 2D-Histogramms. Die Pixel, welche ähnliche Intensitätskombinationen in den Bildern a und b aufweisen, finden sich im selben Cluster wieder. Die Grauwerte des Bildes a sind auf der x -Achse und die des Bildes b auf der y -Achse aufgetragen (Zahlenwerte siehe Text). Die Zentren der beiden Cluster sind (g_{a1}, g_{b1}) und (g_{a2}, g_{b2}) und sind durch die Grauwertmittel der Bilder a und b gegeben.

Mittelpunkt 2: (g_{a2}, g_{b2})) durch die Grauwertintervalle gegeben sind, in welche die vier mittleren Grauwerte g_{a1} , g_{a2} , g_{b1} und g_{b2} fallen. Um geeignete 2D-Histogramme für eine Auswertung der beiden Ursprungsbilder zu erhalten, muß eine entsprechende Quantisierung der Grauwerte gewählt werden.

Die Cluster charakterisieren nun die Pixel, welche sich in den beiden Bildern ähnlich verhalten. Die Positionen und die Formen der Cluster geben die Merkmalsausprägungen bezüglich des ersten Merkmals (Bild *a*) und des zweiten Merkmals (Bild *b*) wieder, und es können Aussagen über mögliche Korrelationen getroffen werden. Mit Hilfe einer Clusteranalyse ist es möglich, diese Cluster zu separieren. Verfahren zur Klassifizierung der Cluster sind in Kap. 3.3 dargestellt. Durch ein sogenanntes „Traceback“-Verfahren kann die Zugehörigkeit der einzelnen Pixel der beiden Bilder zu den klassifizierten Clustern des 2D-Histogramms festgestellt werden. Ausgehend von einem klassifizierten 2D-Histogramm (Merkmalsraum) erfolgt so die „Rückverfolgung“ der Merkmalsvektoren in den Ortsraum. Eine anschließende Segmentierung der Bilder kann somit eine Interpretation erleichtern. Ein Vergleich der Summen aller Intensitäten der Pixel innerhalb jeweils eines Clusters geben Aufschluß über die Größenverteilung der segmentierten Flächen in den Ursprungsbildern.

In der Abb. 3.2 sind am oberen und am linken Rand des 2D-Histogramms zusätzlich die Grauwertverteilungen jedes einzelnen Bildes dargestellt. Das Histogramm des Bildes, dessen Häufigkeitsverteilung der Grauwerte auf der x-Achse aufgetragen ist, kann aus dem 2D-Histogramm bestimmt werden, indem die Intensitäten der Pixelreihen entlang der y-Richtung integriert bzw. aufsummiert werden. Entsprechendes gilt für das Histogramm auf der y-Achse. Die beiden Marginalverteilungen sind zur besseren Darstellung auf den Wertebereich der Häufigkeiten im 2D-Histogramm skaliert.

Eine Anwendung der 2D-Histogramme ist die Erstellung von Bildern, welche die unterschiedlichen Phasen in einem Präparat wiedergeben. Zur Erstellung sogenannter „Phasen-Maps“ werden im einfachsten Fall zwei Elementverteilungsbilder benötigt [15, 18]. Anhand dieser Auftragungen können vorhandene Korrelationen zwischen den zwei betrachteten Elementen verdeutlicht und analysiert werden. Die „Phasen-Maps“ haben gegenüber Falschfarben-Bildern, in denen mehrere eingefärbte EVB übereinandergelegt werden, den Vorteil, daß sich die räumliche Verteilung einer Pha-

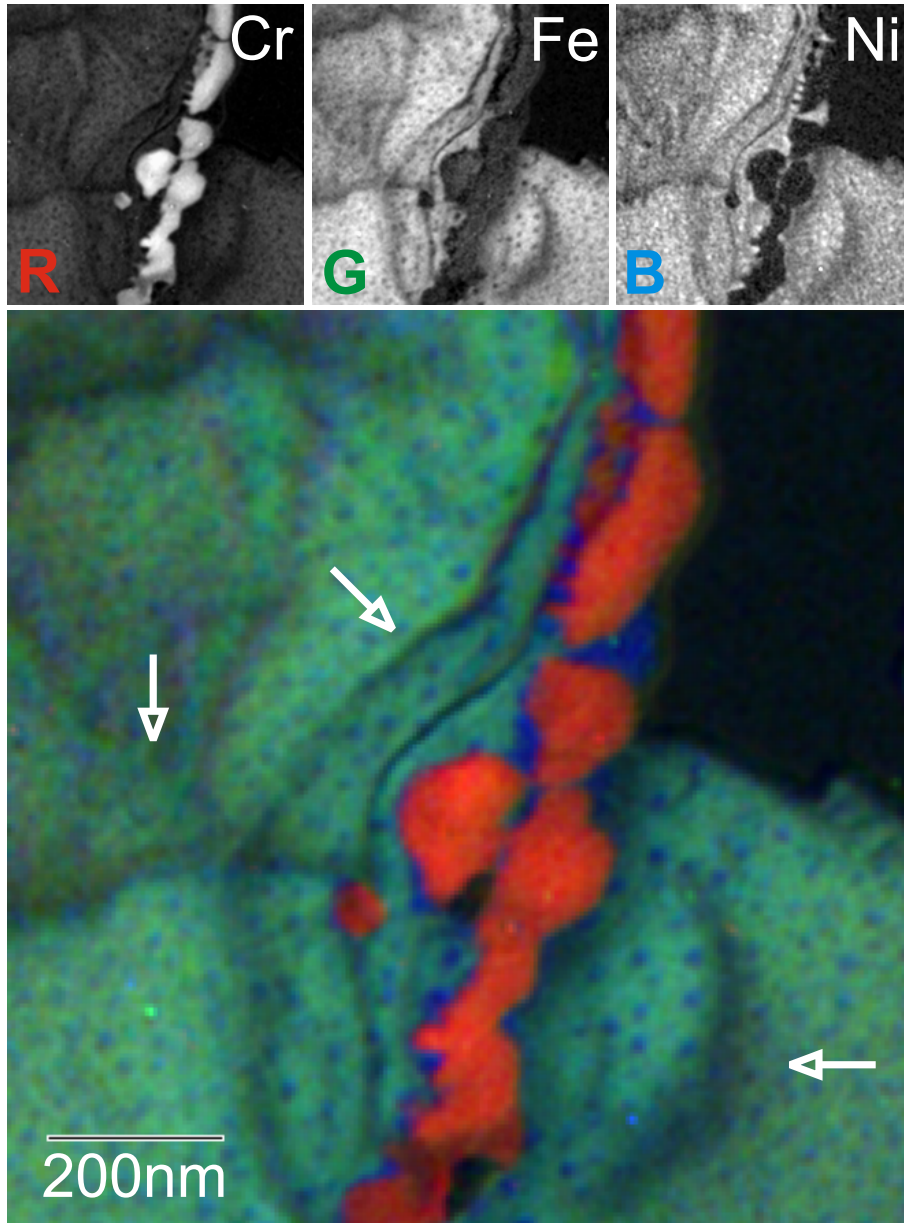


Abbildung 3.3: Darstellung der Eisen-, Nickel- und Chromverteilungen an einer Korn-
grenze einer ausscheidungsgehärteten Legierung in einem Falschfarben-Bild (rot: Cr-Map;
grün: Fe-Map; blau: Ni-Map). Die weißen Pfeile markieren Dickenkonturen.

se in einfacher Form erhalten läßt. Wird in dieser „Phasen-Map“ ein bestimmter Cluster, d.h. eine Phase, selektiert, so kann mit Hilfe eines „Traceback“-Verfahrens die entsprechende Ortsverteilung dargestellt werden. Zur Veranschaulichung sind in der Abb. 3.3 ein Falschfarben-Bild und in der Abb. 3.4 zwei Phasen-Maps zu sehen. Das dargestellte Präparat ist eine ausscheidungsgehärtete Legierung mit den drei Hauptbestandteilen Nickel (41, 3 at%), Eisen (34, 4 at%) und Chrom (17, 5 at%). Es dient in Untersuchungen von Maldonado u.a. [26] als Modellsystem für Ausscheidungshärtungen, wobei von Interesse ist, wie sich Versetzungen in dem Material ausbreiten, und in welcher Weise sich die durch eine thermische Bearbeitung entstandenen Ausscheidungen auf die plastischen Eigenschaften des Materials auswirken.

In der Abb. 3.3 sind die Chrom-, Eisen- und Nickelverteilungsbilder zu sehen, welche die jeweiligen Verteilungen im Bereich einer Korngrenze wiedergeben. Das Falschfarben-Bild soll hier die Verteilungen in einem Bild wiedergeben, wobei die drei Farben rot, grün und blau die Elemente Chrom, Eisen und Nickel charakterisieren. Die Pfeile in dem Falschfarben-Bild kennzeichnen Dickenkonturen, welche bei einer Interpretation berücksichtigt werden müssen. Um unterschiedliche Phasen in dem Material in einfacher Weise darzustellen, werden die drei Verteilungsbilder dazu benutzt, die Chrom-Nickel wie auch die Nickel-Eisen-Korrelationen zu ermitteln. In der Abb. 3.4 sind hierzu die entsprechenden Signale gegeneinander aufgetragen. In der Abb. 3.4a sind die Chrom-Nickel Korrelationen zu sehen. Mit der Unterteilung des 2D-Histogramms in vier Bereiche und der hierzugehörigen Phasen-Map (Abb. 3.4b) werden die durch die thermische Behandlung an der Korngrenze gebildeten chromhaltigen Partikel (rot) gut dargestellt. Diese sind von Maldonado u.a. [26] als Chrom-Carbide identifiziert worden.

Wie aus dem 2D-Histogramm der Abb. 3.4a zu ersehen ist, wird in den Chrom-Carbiden kein Nickel eingebaut, so daß das Element nur in den umliegenden hier blau markierten Bereichen zu finden ist. In der rechten oberen Ecke ist ein Loch in dem Präparat gelb gekennzeichnet. Die auftretenden Nickel-Eisen Korrelationen sind in der Abb. 3.4c zu sehen, wobei der grüne Cluster hier die in der Abb. 3.4d gekennzeichneten Bereiche markiert, in welchen Nickel und Eisen zusammen auftreten. Der blaue Cluster in der Abb. 3.4c wird durch die Bereiche in dem Präparat

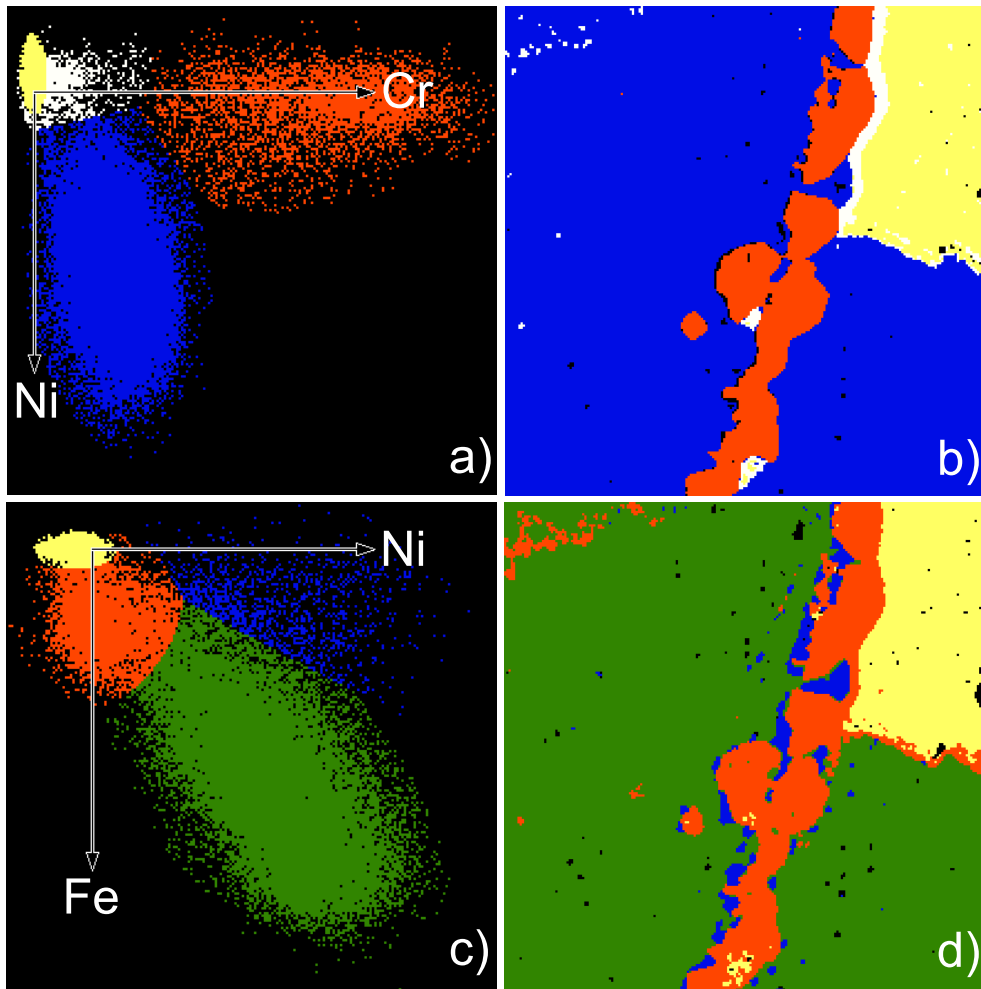


Abbildung 3.4: Veranschaulichung von Phasen-Maps anhand der drei Elementverteilungsbilder aus der Abb. 3.3. In der Abbildung a) sind die Chrom-Nickel Korrelationen zu sehen, wobei die farblich markierten Cluster zu der Segmentierung in Abbildung b) führen. In den Abbildungen c) und d) sind die Nickel-Eisen Korrelationen und die entsprechenden Phasen zu sehen.

gebildet, welche einen hohen Nickelanteil und kaum Eisen beinhalten. Aus der Abb. 3.4d wird deutlich, daß diese Bereiche an den Grenzflächen zu den Chrom-Carbiden auftreten. Mit Hilfe der Phasen-Maps ist es so möglich, Bereiche unterschiedlicher Elementzusammensetzungen in einfacher Weise qualitativ darzustellen.

Weiterhin bieten die Phasen-Maps auch die Möglichkeit, die Bereiche unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung quantitativ auszuwerten. An dieser Stelle wird auf eine quantitative Auswertung jedoch verzichtet. Aus den Positionen der Zentren (g_{ai}, g_{bi}) der einzelnen Cluster kann die relative Konzentration der betrachteten Elemente für diese Phasen nach Gl. (1.7) bestimmt werden. Die mittleren Signalhöhen I_{ai} und I_{bi} sind durch die Grauwerte g_{ai} und g_{bi} gegeben. Das in den beiden Elementverteilungsbildern auftretende Rauschen führt zu der Streuung der Grauwertkombinationen um die Mittelpunkte der Cluster herum. Elementverteilungsbilder mit einem hohen SRV der entsprechenden Elementsignale ergeben Cluster, deren Projektion auf die jeweilige Achse, auf der die Grauwertverteilung aufgetragen ist, eine geringe Ausdehnung zeigen. Starkes Rauschen in den EVB wird demgegenüber durch verbreiterte Cluster deutlich.

Problematisch wird eine Segmentierung der EVB auf der Basis der klassifizierten Cluster im 2D-Histogramm, wenn sich zwei oder mehrere Cluster überlappen. Eine eindeutige Zuordnung bestimmter Grauwertkombinationen kann unter Umständen nicht mehr erfolgen (Kap. 3.3 und Kap. 4.3). Kontinuierliche Übergänge zwischen den Clustern können aufgrund von Gefällen in Elementkonzentrationen zustande kommen. Da die EVB immer Projektionen 3-dimensionaler Elementverteilungen sind, kann ein Konzentrationsgefälle auch durch eine schräg zur Einfallrichtung der Strahlelektronen orientierte Korngrenze hervorgerufen werden. Bei Grogger u.a. [15] wird in solchen Fällen eine manuelle Klassifizierung der automatischen Klassifizierung von Clustern vorgezogen. In Kap. 3.3 wird auf die Klassifizierung der Cluster in den 2D-Histogrammen näher eingegangen, und in Kap. 4.2 wird die Klassifizierung auf der Grundlage von statistischen Ansätzen bei sich überlappenden Clustern untersucht.

3.3 Klassifikation

Die in einem 2D-Histogramm auftretenden Cluster bilden sich aufgrund ähnlicher Grauwertkombinationen der Pixel zweier Bilder. Das 2D-Histogramm wird auch als 2D-Merkmalsraum bezeichnet, in welchem die Pixel durch Merkmalsvektoren (g_x, g_y) charakterisiert sind. Ziel der Klassifikation ist es nun, die auftretenden Cluster voneinander zu trennen, und in entsprechende Objektklassen einzuordnen. Es wird versucht, die charakteristischen Ausprägungen dieser Klassen bezüglich beider Merkmale (Ursprungsbilder a und b) zu bestimmen, so daß anhand der ermittelten Musterklassen überprüft werden kann, welchem Muster der Merkmalsvektor \vec{g} genügt, und zu welcher Objektklasse C_k er entsprechend zugeordnet wird. Unter Zuhilfenahme dieser Mustererkennung werden Klassen gebildet, deren zugehörige Merkmalsvektoren eine hohe Ähnlichkeit aufweisen. Untereinander sollen die verschiedenen Klassen sich sehr unähnlich sein, so daß sie gut voneinander getrennt werden können. Neben den hier verwendeten pixelbezogenen Merkmalen (Grauwerte) können weiterhin auch umgebungsabhängige Merkmale (z.B. Form oder Struktur) zur Erstellung eines 2D-Histogramms verwendet werden. In dieser Arbeit werden jedoch nur pixelbezogene Merkmale zur Mustererkennung verwendet, und die auftretenden Objektklassen beziehen sich hier auf ähnliche Grauwertausprägungen der Pixel in den beiden verwendeten Bildern a und b . Es wird deutlich, daß die Qualität einer Klassifizierung grundsätzlich von der Wahl der Merkmale abhängt. Objektklassen, welche sich in einem Merkmal nur wenig bis gar nicht unterscheiden, können wegen auftretender Überschneidungen nicht eindeutig getrennt werden.

Die unterschiedlichen Vorgehensweisen zur Klassifizierung können in fest dimensionierte und in lernende Klassifikationen eingeteilt werden (vgl. Haberäcker [16]).

Bei der **fest dimensionierten Klassifizierung** erfolgt die Zuordnung der unterschiedlichen Merkmalsvektoren zu jeweils einer Musterklasse nach statistischen oder geometrischen Kriterien, welche während der Klassifikation nicht verändert werden. Die statistischen Zuordnungskriterien gruppieren die Merkmalsvektoren unter der Annahme bestimmter Wahrscheinlichkeitsverteilungen nach der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit zu einer Objektklasse. Die gewählten Wahrscheinlichkeitsverteilungen werden vorher festgelegt (feste Werte für die Parameter der Vertei-

lungen) und nicht verändert. Die geometrische Zuordnung erfolgt mit festgelegten Trennungsfunktionen, wobei der 2D-Merkmalsraum in, zum Beispiel durch den Anwender gewählte, feste Bereiche unterteilt wird (vgl. Kap. 3.3.1).

Die **lernende Klassifikation** versucht, die Zuordnungen der Merkmalsvektoren nach einer erfolgten Klassifizierung weiter zu verbessern. Bei diesen lernenden Verfahren werden die Zuordnungskriterien in iterativer Weise aktualisiert. Jeder neu klassifizierte Merkmalsvektor hat hier einen Einfluß auf die gewählte Wahrscheinlichkeitsverteilung oder die Trennungsfunktion. In Kap. 3.3.2 wird die „Methode des geringsten Abstandes“ beschrieben, in welcher diese Trennungsfunktionen entsprechend im 2-dimensionalen Raum durch Kreise gegeben sind. Das lernende Klassifikationsverfahren nach der „Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit“ ist in Kap. 3.3.3 erläutert. Basierend auf getroffenen Annahmen (Ausgangswahrscheinlichkeiten) und zusätzlich gewonnenem Wissen, hier statisch beschrieben in Form des Bayesschen Lernens, werden die Merkmalsvektoren nach der wahrscheinlichsten Klassenzugehörigkeit gruppiert. Die Strategien sind hier keine typischen statistischen Tests, sondern bestehen im wesentlichen aus Gruppierungsalgorithmen. Die Definition von Klassen erfolgt durch Operationen, welche in iterativer Weise durchlaufen werden, bis ein gegebenes Abbruchkriterium erreicht wird.

3.3.1 Quadermethode

Das einfachste Klassifizierungsverfahren ist die Quadermethode. Bei diesem Verfahren wird in dem 2D-Merkmalsraum eine Objektklasse durch das Festlegen eines Quaders gebildet. Für die beiden Merkmale werden so durch die Kanten des Quaders jeweils zwei Schwellwerte, eine obere und eine untere Grenze, bestimmt. Ein Merkmalsvektor wird dieser Objektklasse zugeordnet, wenn er in den gegebenen Intervallen liegt. Der Vorteil des Verfahrens liegt in der einfachen Durchführung. Sind die Cluster deutlich getrennt im 2D-Merkmalsraum sichtbar und die Intensitätsverteilung innerhalb eines Clusters näherungsweise bivariat gaußverteilt, so liefert die Quadermethode eine gute Klassifizierung. Korrelierte Merkmale einer Objektklasse können jedoch zu einer ungeeigneten Klassifizierung führen, wenn durch die Korrelation elliptische Cluster zum Beispiel entlang einer Diagonalen im Merkmalsraum

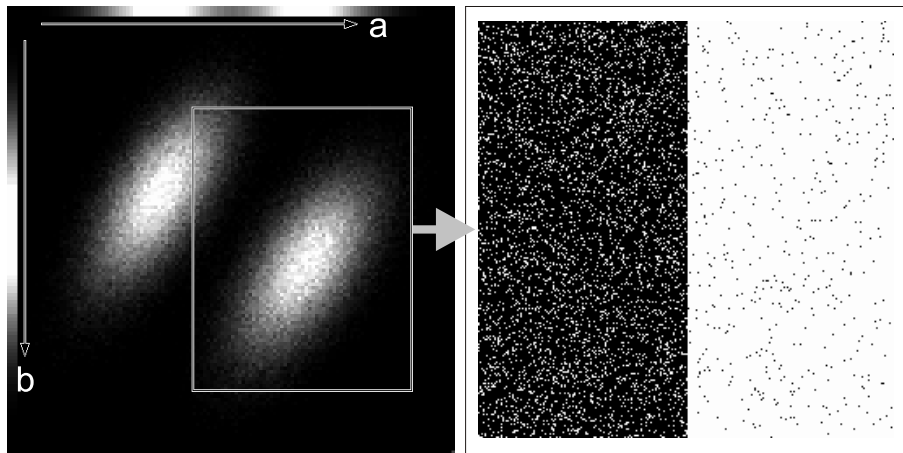


Abbildung 3.5: Klassifizierung des rechten Clusters des 2D-Histogramms aus Abb.3.2. Die Korrelationen innerhalb eines Clusters führen zu Orientierungen, welche keine geeignete Klassifizierung erwarten lassen. In der rechten Hälfte der Abbildung sind die Pixel der Ursprungsbilder, welche in dem eingezeichneten Quader liegen, hell dargestellt. Der Klassifizierungsfehler beträgt 7,3%. Der Grauwertumfang der Selektion für die x-Achse ist $g_a = 58,1 \dots 398,6$ und für die y-Achse $g_b = 58,1 \dots 65,4$.

orientiert sind.

In Abb. 3.5 ist die Quadermethode für das 2D-Histogramm aus Abb. 3.2 dargestellt. Das binäre Bild in der rechten Hälfte der Abbildung zeigt die Segmentierung der Ursprungsbilder. Mit dem „Traceback“-Verfahren wird den Pixeln, deren Merkmalsvektoren in dem eingezeichneten Rechteck liegen, eine Eins zugeordnet. Der fast vollständig von dem Rechteck umschlossene Cluster wird demnach von den rechten Hälften der beiden Bilder a und b (Abb. 3.2) gebildet. Aus der Betrachtung der linken Seite des binären Bildes wird deutlich, daß die Klassifizierung anhand der Quadermethode fehlerhaft ist. Einigen Pixeln wird hier auch der Wert Eins zugeordnet. In dem 2D-Histogramm sind Pixel des linken Clusters fälschlicherweise in die Objektklasse, basierend auf dem rechten Cluster, klassifiziert. Das Verhältnis der Flächen des rechten Bildes der Abb. 3.5 der beiden Bereiche zueinander ist 1 : 1, wobei die Trennungslinie in dieser Darstellung senkrecht in den Bildern verläuft. Durch einen Vergleich mit dem Ergebnis der Segmentierung kann der Klassifizierungsfehler angegeben werden. Zur Bestimmung des Klassifizierungsfehlers wird hier angenommen,

daß der in Abb. 3.5 eingezeichnete Quader eine Objektklasse darstellt. Die übrigen Bereiche des 2D-Histogramms werden einer zweiten Klasse zugeordnet. Unter diesen Voraussetzungen wird für die Quadermethode hier ein Klassifizierungsfehler von 7,3% ermittelt, d.h. 7,3% der Pixel werden der jeweils falschen Klasse zugeordnet. Die Vorteile der Quadermethode liegen in der einfachen und schnell durchzuführenden Klassifizierung. Wie in Abb. 3.5 zu sehen ist, sollten die erstellten Segmentierungen jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, wobei sich unter Umständen auch nur qualitative Ergebnisse ergeben.

Um die Klassifizierung zu verbessern, d.h. die falschen Zuweisungen zu Objektklassen zu verringern, kann die Quadermethode verallgemeinert werden. Bessere Klassifizierungen sind zu erwarten, wenn nicht nur Trennlinien senkrecht zu den Achsen zugelassen werden. Bei Kenda u.a. [22] werden die Cluster in erstellten „Phasen-Maps“ mit Aperturen klassifiziert, welche der Anwender in beliebiger Form setzen kann. Ausgehend von einer klassifizierten Hauptphase werden die weiteren Phasen durch die Beurteilung eines Bildes, welches eine erfolgte Segmentierung wiedergibt, ermittelt. Die gesamte „Phasen-Map“ wird so interaktiv in Objektklassen unterteilt, wobei Vorkenntnisse über das Präparat (z.B.: „Eine bestimmte Phase muß vorliegen.“) hier wesentlich sind. Das statistische Rauschen in den Elementverteilungsbildern wie auch kontinuierliche Übergänge zwischen den Phasen aufgrund von Konzentrationsgefällen im Präparat erschweren auch hier die Auswertung.

3.3.2 Methode des geringsten Abstandes

Ein weiteres Klassifizierungsverfahren ist die Methode des geringsten Abstandes. Das Ähnlichkeitsmaß bei dieser Art der Klassifizierung ist der „Abstand“ der Merkmalsvektoren untereinander. Liegen jeweils zwei Vektoren dicht beieinander, so gehören sie wahrscheinlich zur selben Objektklasse und sind sich somit sehr ähnlich. Jede Objektklasse C_k wird durch ihr Clusterzentrum $\vec{g}_k = (x_k, y_k)$ charakterisiert. Nach der Vorgabe eines willkürlich gewählten Merkmalsvektors als Startwert (\vec{g}_k) des ersten Clusters, wird bei diesem partitionierenden Verfahren jeder Merkmalsvektor des 2D-Merkmalraumes diesem Cluster zugeordnet, der innerhalb eines festgelegten

Abstandes liegt. Mit dem euklidischem Abstand

$$d_{euk,k} = (\vec{g} - \vec{g}_k)^T (\vec{g} - \vec{g}_k) \quad (3.1)$$

erfolgt die Zuordnung des Merkmalsvektor \vec{g} zu dem Clusterzentrum \vec{g}_k , wenn für ein festes d_{max}

$$d_{euk,k} \leq d_{max} \quad (3.2)$$

erfüllt ist. Für das Ähnlichkeitsmaß können jedoch auch andere „Abstände“ als der euklidische Abstand verwendet werden. Es kann für ein gegebenes Klassifizierungsproblem auch Maße geben, welche zu einer besseren Partitionierung führen. Überlegungen hierzu, welches Maß ein Optimum liefert, sind bei Bonnet [6] oder StatSoft [39] zu finden. Ist bei einem Merkmalsvektor die Zuordnungsvorschrift Gl. (3.2) nicht erfüllt, so wird dieser Vektor als ein neues Clusterzentrum festgelegt. Mit diesen beiden Zentren wird die Partitionierung des 2D-Histogramms von neuem begonnen. In diesem Iterationsschritt müssen nun für jeden Merkmalsvektor die Abstände zu den beiden Zentren berechnet werden. Mit einer weiteren Zuordnungsvorschrift

$$d_{euk,k} \leq d_{euk,j} \quad \forall k \neq j \quad (3.3)$$

wird der Merkmalsvektor \vec{g} wegen des kleineren Abstandes der Objektklasse C_k zugeordnet. Ist die Bedingung Gl. (3.2) erfüllt und $d_{euk,k} > d_{euk,j}$, so wird \vec{g} der Klasse C_j zugeordnet. Die Iteration kann abgebrochen werden, wenn alle Vektoren, welche die obigen Zuordnungsvorschriften erfüllen, klassifiziert sind. Aufgrund einer entsprechenden Wahl von d_{max} kann es auch vorkommen, daß einige Merkmalsvektoren nicht einer bestimmten Klasse zugeordnet werden können. Diese müssen dann durch eine gewählte Kodierung im Bild, welches eine Segmentierung wiedergibt, als „nicht klassifiziert“ kenntlich gemacht werden. Die Wahl von d_{max} beeinflußt somit die Partitionierung des 2D-Histogramms in hohem Maße. Geometrisch betrachtet werden bei der Methode des geringsten Abstandes mit $d_{max} = \infty$ im 2D-Merkmalraum lineare Trennungsfunktionen bestimmt, welche senkrecht zu der Verbindungslinie jeweils zweier Zentren liegen.

Ausgehend von dieser fest dimensionierten Klassifizierung kann ein lernendes Verfahren aufgebaut werden. In jedem Iterationsschritt, d.h. nach jeder möglichen Zuordnung aller Merkmalsvektoren zu den aktuellen Objektklassen, ist es sinnvoll, die

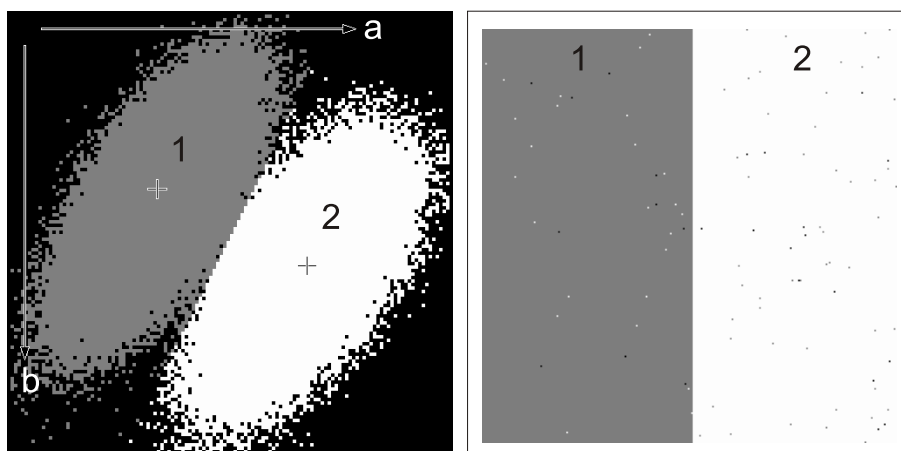


Abbildung 3.6: Partitionierung des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 anhand des „K-Means“-Verfahren. Die Anzahl der Objektklassen ist hier $K = 2$. Der maximale Zurückweisungsradius ist $d_{max} = \infty$, so daß alle Merkmalsvektoren klassifiziert werden. Die ermittelten Schwerpunkte der Cluster sind $g_1 (-1, 60)$ und $g_2 (225, 62)$. Die Segmentierung der Bilder a und b ist in der rechten Hälfte zu sehen. Der Klassifizierungsfehler beträgt 0,16%.

Clusterzentren für den nächsten Iterationsschritt neu zu berechnen. Die neuen Zentren können durch Schwerpunktbestimmungen der aktuellen Objektklassen ermittelt werden. Entsprechend der auftretenden Häufigkeit wird jedem Merkmalsvektor ein Gewicht zugeordnet. Aus allen Vektoren, welche zu einer Objektklasse gehören, ist der neue Schwerpunkt des Clusters durch den gewichteten Mittelwert gegeben. Der weitere Ablauf der Partitionierung ist analog dem der fest dimensionierten Klassifizierung. Auf dieser Vorgehensweise basiert ein Algorithmus, welcher sich wegen seiner Einfachheit als Standard durchgesetzt hat. Dies ist das „K-Means“-Verfahren. Von dem Anwender wird vor dem Start hier die Anzahl K der Objektklassen festgelegt, und diese verändert sich während der Iteration nicht. Die Anzahl kann sich hier zum Beispiel aus dem Vorwissen heraus ergeben.

In Abb. 3.6 ist die Partitionierung des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 nach dem „K-Means“-Verfahren mit $K = 2$ dargestellt. Die beiden Startwerte für die Clusterzentren werden in die Nähe der beiden Maxima der Cluster des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 gelegt, wobei hier eine optische Kontrolle ausreicht. In Untersuchungen zur Robustheit der Lösung zeigt sich, daß die Partitionierung des 2D-Histogramms

weitestgehend unempfindlich gegenüber der Wahl der Startparameter ist und alle Segmentierungen fast vollständig deckungsgleich sind. Für das Abbruchkriterium wird die „Wanderung“ der Schwerpunkte betrachtet. Verändert sich die aktuelle Position beider Zentren bezüglich der x- und der y-Koordinate gegenüber den Werten des vorherigen Iterationsschrittes um weniger als eine halbe Pixelbreite, so wird die Iteration abgebrochen. Zur Beurteilung des Abbruchkriteriums müssen die Quantisierungsstufen Δg_x für die x-Achse und Δg_y für die y-Achse des verwendeten 2D-Histogramms benutzt werden. Das 2D-Histogramm in Abb. 3.2 hat eine Größe von 128×128 Pixel. Auf der x-Achse wird ein Grauwertumfang von $g = -233,8 \dots 458,1$ und auf der y-Achse ein Grauwertumfang von $g = 55,5 \dots 66,9$ berücksichtigt. Einige Ausreißer, welche nicht in diesen Grauwertintervallen liegen, werden außer acht gelassen. Diese „Ausreißer“ können unter Umständen zu Problemen bei der Schwerpunktbestimmung eines Clusters führen, da sie aufgrund ihres großen „Abstandes“ vom Zentrum einen großen Einfluß auf die Rechnungen haben. Für die Quantisierungsstufen ergeben sich die Werte $\Delta g_x = 5,4$ und $\Delta g_y = 0,09$, so daß die Bestimmung der Schwerpunkte grundsätzlich mit einem Fehler von $\Delta x = \pm 2,7$ und $\Delta y = \pm 0,05$ in der Einheit „Grauwert“ behaftet ist.

Die Klassifizierungsmethode des geringsten Abstandes nach Gl. (3.3) ist ein Spezialfall der allgemeineren Klassifizierung über die maximale Zugehörigkeitswahrscheinlichkeit zu einer Objektklasse. Die Methode des geringsten Abstandes ergibt sich unter bestimmten Voraussetzungen aus der Annahme, daß sich die Cluster des 2D-Histogramms durch bivariate Gaußverteilungen beschreiben lassen (Kap. 3.3.3). Es bleiben zum einen Korrelationen zwischen den beiden Merkmalen für jeweils einen Cluster unberücksichtigt, d.h. es treten keine Kovarianzen auf. Zum anderen wird angenommen, daß die Varianzen für jeweils beide Merkmale identisch sind. Ein 2D-Histogramm zeigt bei einer entsprechenden Wahl des Zurückweisungsradius d_{max} somit kreisförmige Partitionierungen.

Das Ergebnis der Partitionierung des 2D-Histogramms (Abb. 3.6) zeigt keine optimale Trennung der beiden Cluster. Die lineare Trennungsfunktion ist in dieser Darstellung relativ zu den beiden Regressionen der einzelnen Cluster leicht geneigt. Diese Tatsache hängt mit den obigen Voraussetzungen für den Einsatz der Methode des geringsten Abstandes zusammen. Beide Annahmen, wie nicht auftretende

Korrelationen und identische Varianzen bezüglich beider Merkmale, sind hier nicht erfüllt. Einige Merkmalsvektoren werden falsch zugeordnet. Analog der Bestimmung des Klassifizierungsfehlers der Quadermethode (Kap. 3.3.1) wird hier ein Fehler von 0,16% berechnet.

3.3.3 Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit

Die „Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit“ versucht die Merkmalsvektoren \vec{g} in Cluster C_k aufgrund einer berechneten maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit zu gruppieren. Unter Merkmalsvektoren \vec{g} sind im folgenden die Pixel eines 2D-Histogramms zu verstehen, wobei hier aufgrund der Quantisierung mehrere Merkmalsvektoren \vec{g}' zusammengefaßt werden. Die Intensität bzw. der Grauwert eines Pixels gibt so die Häufigkeit an, mit welcher ein bestimmter Merkmalsvektor \vec{g} auftritt.

Grundsätzlich wird bei statistischen Ansätzen versucht, die Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifizierung zu minimieren. Es werden hier nur die wesentlichen Züge der Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit erläutert, welche für das Verständnis der Clusteranalyse notwendig sind. Ausführliche Darstellungen sind bei Bishop [8] zu finden.

Generell ist bei jeder Betrachtung von Zuordnungswahrscheinlichkeiten die Apriori-Wahrscheinlichkeit $P(C_k)$ von Interesse. In ihr werden Vorwissen und Erwartungen bezüglich einer Zuordnung berücksichtigt, bevor das Experiment durchgeführt wird. Sie gibt die angenommene Wahrscheinlichkeit an, mit der die Klasse C_k generell auftritt. Bei fehlendem Vorwissen, d.h. wenn es keine bestimmten Erwartungen gibt, können alle Klassen C_k mit der gleichen Wahrscheinlichkeit auftreten, und $P(C_k)$ wird durch eine Gleichverteilung bestimmt. Als Beispiel sei hier das Münzexperiment angeführt. Die Apriori-Wahrscheinlichkeiten der beiden Ereignisse Kopf und Zahl können mit Wahrscheinlichkeiten von jeweils 50% gut abgeschätzt werden, da die Wahrscheinlichkeit, daß die Münze auf ihrem Rand zu liegen kommt, relativ gering ist. Im Falle einer manipulierten Münze liegen die angenommenen Apriori-Wahrscheinlichkeiten, wenn keine Vorkenntnisse vorhanden sind, ebenfalls bei 50%.

Es liegt nun nahe, nach einem Experiment das neu gewonnene Wissen (z.B.: „manipulierte Münze“) für zukünftige Vorhersagen auszunutzen, d.h. es können zum Beispiel die Apriori-Wahrscheinlichkeiten weiter verbessert werden. Um die Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifizierung zu minimieren wird somit bei einer Vorhersage ein auftretendes Ereignis, oder wie im Fall der 2D-Histogramme ein Merkmalsvektor \vec{g} , der Klasse mit der höchsten Apriori-Wahrscheinlichkeit ($P(C_1) > P(C_2)$) zugeordnet. Im folgenden wird dargestellt, wie neues Wissen, basierend auf einer zuvor getroffenen Annahme und eines durchgeführten Experiments, statistisch beschrieben werden kann.

Die Wahrscheinlichkeit $P(C_k, \vec{g})$, mit der ein Merkmalsvektor \vec{g} in der Objektklasse C_k auftritt, ist gegeben durch den Bruchteil aller Vektoren, welche in den Ereignisraum (C_k, \vec{g}) fallen, wobei (s.o.) der Vektor \vec{g} hier einen Pixel bezeichnet. Sie wird als verbundene Wahrscheinlichkeit bezeichnet und berechnet sich nach

$$P(C_k, \vec{g}) = P(\vec{g} | C_k) P(C_k) \quad (3.4)$$

aus dem Produkt der Apriori-Wahrscheinlichkeit $P(C_k)$ der Klasse C_k (Bruchteil aller Ereignisse, welche in C_k liegen) und der klassenbedingten Wahrscheinlichkeit $P(\vec{g} | C_k)$, welche die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des Vektors \vec{g} bei vorgegebener Klasse C_k darstellt (Bruchteil aller Ereignisse aus C_k , welche mit dem Merkmalsvektor \vec{g} auftreten). Analog zu Gl. (3.4) gilt

$$P(C_k, \vec{g}) = P(C_k | \vec{g}) P(\vec{g}) , \quad (3.5)$$

wobei $P(C_k | \vec{g})$ die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der Klasse C_k bei gegebenen Merkmalsvektoren \vec{g} darstellt. Durch Einsetzen von Gl. (3.4) in Gl. (3.5) erhält man nach Umformung das Theorem von Bayes

$$P(C_k | \vec{g}) = \frac{P(\vec{g} | C_k) P(C_k)}{P(\vec{g})} , \quad (3.6)$$

welches als Aposteriori-Wahrscheinlichkeit bezeichnet wird. Sie gibt die Zuordnungswahrscheinlichkeit zur Klasse C_k an, nachdem der Merkmalsvektor \vec{g} aufgetreten ist. Anschaulich betrachtet wird mit Gl. (3.6) aus dem Vorwissen $P(C_k)$ das Wissen $P(C_k | \vec{g})$ nach der Erhebung der Daten ermittelt. $P(\vec{g} | C_k)$ kann dahingehend

interpretiert werden, daß eine „Messung“ der Vektoren \vec{g} bei einer bekannten Partitionierung des Systems erfolgt. Die Größe

$$P(\vec{g}) = \sum_{k=1}^K P(\vec{g} | C_k) P(C_k) \quad (3.7)$$

ist die totale Wahrscheinlichkeit von \vec{g} für alle Klassen K , unabhängig von der Klassenzugehörigkeit. Sie liefert eine Normierung, so daß für die totale Aposteriori-Wahrscheinlichkeit $\sum_{k=1}^K P(C_k | \vec{g}) = 1$ erfüllt ist. Für kontinuierliche Variablen kann mit der Apriori-Wahrscheinlichkeit und der klassenbedingten Wahrscheinlichkeitsdichte $p(\vec{g} | C_k)$ die Aposteriori-Wahrscheinlichkeit durch

$$P(C_k | \vec{g}) = \frac{p(\vec{g} | C_k) P(C_k)}{p(\vec{g})} \quad (3.8)$$

berechnet werden [8]. Die Normierung $\sum_{k=1}^K P(C_k | \vec{g}) = 1$ erfolgt hier durch die Wahrscheinlichkeitsdichte $p(\vec{g}) = \sum_{k=1}^K p(\vec{g} | C_k) P(C_k)$ der Merkmalsvektoren.

Die Zuordnung eines Merkmalvektors \vec{g} zu der Objektklasse C_k erfolgt unter der Bedingung

$$P(C_k | \vec{g}) > P(C_j | \vec{g}) \quad \forall j \neq k. \quad (3.9)$$

Die in Gl. (3.8) auftretende Wahrscheinlichkeitsdichte $p(\vec{g})$ ist unabhängig von den Objektklassen und kann für eine Klassifizierung weggelassen werden. Als Entscheidungskriterium, welcher Klasse ein Merkmalsvektor zugeordnet wird, kann somit das „Ähnlichkeitsmaß“ $d_k(\vec{g}) = p(\vec{g} | C_k) P(C_k)$ verwendet werden, so daß eine Zuordnung eines Vektors \vec{g} zur Klasse C_k mit

$$p(\vec{g} | C_k) P(C_k) > p(\vec{g} | C_j) P(C_j) \quad \forall j \neq k \quad (3.10)$$

erfolgen kann.

Die Zuordnungsvorschrift nach Gl. (3.10) kann verallgemeinert werden, wenn eine sogenannte Verlustmatrix V_{kj} eingeführt wird. In dieser Matrix werden „Verluste“ bzw. Fehlzuordnungen berücksichtigt, wenn ein Merkmalsvektor \vec{g} der Klasse C_j zugeordnet wird, obwohl er zu C_k gehört. Diese „Verluste“ werden auch als „Strafen“ bezeichnet und versuchen zu berücksichtigen, daß falsche Zuordnungen zu jeweils verschiedenen Klassen auch zu unterschiedlichen Risiken führen, welche bei einer

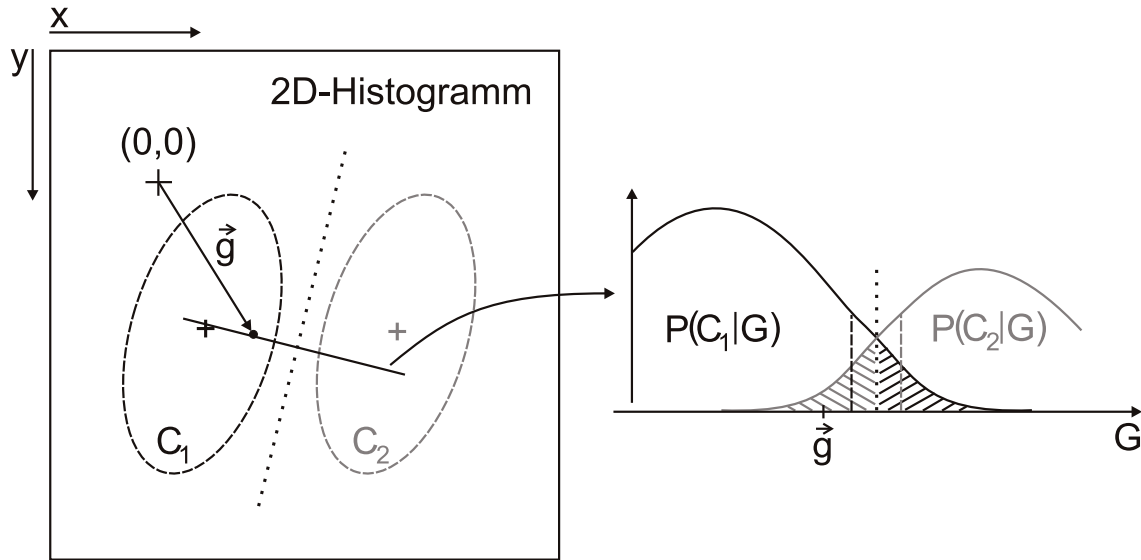


Abbildung 3.7: Die Zuordnung des Merkmalsvektors $\vec{g} \in G$ erfolgt hier aufgrund der höheren Aposteriori-Wahrscheinlichkeit $P(C_1 | \vec{g}) > P(C_2 | \vec{g})$ zu der Objektklasse C_1 . Die beiden Ellipsen kennzeichnen jeweils eine Äquidensite der entsprechenden Objektklasse. Die gepunktete Linie in beiden Teilabbildungen symbolisiert hier die Trennungsfunktion der Cluster ($P(C_1 | G) = P(C_2 | G)$).

Partitionierung eingegangen werden. Nach Bishop [8] wird das insgesamt Risiko bei einer Klassifizierung minimiert, wenn gilt

$$\sum_{k=1}^K V_{kj} p(\vec{g} \in C_j | C_k) P(C_k) < \sum_{k=1}^K V_{ki} p(\vec{g} \in C_i | C_k) P(C_k) \quad \forall i \neq j. \quad (3.11)$$

Die Wertigkeiten der Verluste in V_{kj} können nun dem Sachverhalt angepaßt werden. Für die Clusteranalysen in Kap. 4 wird für eine falsche Zuordnung eines Merkmalsvektors der Verlust gleich eins und für eine richtige Zuordnung der Verlust gleich null gesetzt. Bei dieser Wahl der Verluste geht somit Gl. (3.11) in die Zuordnungsvorschrift Gl. (3.10) über.

In Abb. 3.7 ist die Zuordnung von Merkmalsvektoren anhand der maximalen Aposteriori-Wahrscheinlichkeit nach Gl. (3.10) graphisch veranschaulicht. In der linken Teilabbildung ist ein schematisches 2D-Histogramm zu sehen. Der Nullpunkt $(0, 0)$ ist willkürlich gewählt und liegt üblicherweise, wie auch in realen 2D-Histogrammen,

nicht in der linken oberen Ecke (Kap. 4.1). Aus der rechten Teilabbildung wird deutlich, daß der Merkmalsvektor $\vec{g} \in G$ aufgrund der höheren Aposteriori-Wahrscheinlichkeit ($P(C_1 | \vec{g}) > P(C_2 | \vec{g})$) der Objektklasse C_1 zugeordnet wird. Die gepunktete Linie stellt die Trennungsfunktion ($P(C_1 | G) = P(C_2 | G)$) der beiden Klassen dar. Für Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten gleicher Größe kann eine eindeutige Zuordnung somit nicht erfolgen. Die beiden Klassen in der Abb. 3.7 sind durch Ellipsen (Äquidensiten) verdeutlicht. Für jeweils eine Klasse werden die Merkmalsvektoren gedanklich verbunden, welche die gleiche Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten aufweisen. Die elliptische Form beruht hier auf der Annahme, daß sich die Wahrscheinlichkeitsverteilungen der beiden Objektklassen durch bivariate Gaußverteilungen beschreiben lassen. Alle Merkmalsvektoren außerhalb dieser beiden Klassen C_1 und C_2 werden nicht klassifiziert. Die Ellipsen kennzeichnen so die Abstände von dem jeweiligen Clusterzentrum, ab welchen auftretende Merkmalsvektoren nicht mehr berücksichtigt werden (Zurückweisungsgrenzen). Die Verwendung von Zurückweisungsgrenzen ist aus zwei Gründen sinnvoll. Erstens sollen „Ausreißer“ unberücksichtigt bleiben. Diese Ausreißer können unter Umständen zu Problemen bei der Schwerpunktsbestimmung eines Clusters führen, da sie aufgrund ihres großen Abstandes vom Zentrum einen großen Einfluß auf die Rechnungen haben. Es kann hier zu systematischen Fehlern kommen, aufgrund derer die Schwerpunktsbestimmung falsche Ergebnisse liefert. Zweitens soll die Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifizierung minimiert werden. In der rechten Teilabbildung von Abb. 3.7, in der die Verläufe der Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten zu sehen sind, markieren die gestrichelten Linien die Zurückweisungsgrenzen. Bei der Partitionierung des 2D-Histogramms werden so Übergangsbereiche zwischen den Klassen ermittelt. Merkmalsvektoren in diesem Bereich werden nicht einer bestimmten Klasse zugeordnet, um Fehlklassifizierung weitestgehend auszuschließen. Dies ist insbesondere bei sich überlappenden Objektklassen sinnvoll.

Die totale Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifizierung ergibt sich aus

$$\begin{aligned}
 P(falsch) &= \sum_{j=1}^K \sum_{k=1}^K P(\vec{g} \in C_k, C_j) \quad \forall j \neq k \\
 &= \sum_{j=1}^K \sum_{k=1}^K P(\vec{g} \in C_k | C_j) P(C_j) ,
 \end{aligned}$$

wobei $P(\vec{g} \in C_k, C_j)$ die verbundene Wahrscheinlichkeit ist, wenn der Vektor \vec{g} zu C_j klassifiziert wird, obwohl er zur Klasse C_k gehört. Die mit Gl. (3.12) verbundenen Klassifizierungsfehler sind in der Abb. 3.7 in der rechten Teilabbildung durch die schraffierten Flächen unter den Wahrscheinlichkeitsverteilungen markiert. Die Partitionierung anhand der maximalen Aposteriori-Wahrscheinlichkeit (gepunktete Linie) liefert den geringsten Klassifizierungsfehler.

Für die klassenbedingte Wahrscheinlichkeitsverteilung in Gl. (3.10) wird nun angenommen, daß sie sich durch eine bivariate Gaußverteilung annähern läßt. Nach dem zentralen Grenzwertsatz ist diese Annahme für viele Stichproben zumindest asymptotisch gerechtfertigt, wobei kleinere Abweichungen von einer Gaußverteilung nicht zu einer insgesamt falschen Klassifizierung führen. Für den 2-dimensionalen Fall läßt sich die Gaußverteilung schreiben als

$$p(\vec{g} | C_k) = \frac{1}{\sqrt{2\pi |S_k|}} \exp \left\{ -\frac{1}{2} (\vec{g} - \vec{g}_k)^T S_k^{-1} (\vec{g} - \vec{g}_k) \right\}, \quad (3.12)$$

wobei \vec{g}_k hier den Schwerpunkt eines Clusters beschreibt und S_k die 2×2 Varianz-Kovarianz-Matrix mit der Determinante $|S_k|$ ist. Der Ausdruck $(\vec{g} - \vec{g}_k)^T S_k^{-1} (\vec{g} - \vec{g}_k)$ wird auch als Mahalanobis-Abstand bezeichnet, wobei sich für konstante Abstände im 2-dimensionalen Fall Ellipsen ergeben, welche die Merkmalsvektoren \vec{g} mit der Wahrscheinlichkeitsdichte gleicher Höhe verbinden. Das Zuordnungskriterium nach Gl. (3.10) kann wegen der Monotonie des Logarithmus wie folgt umgeschrieben werden

$$\ln \{p(\vec{g} | C_k) P(C_k)\} > \ln \{p(\vec{g} | C_j) P(C_j)\} \quad \forall j \neq k. \quad (3.13)$$

Mit der Annahme einer bivariaten Gaußverteilung (Gl. (3.12)) ergibt sich für das „Ähnlichkeitsmaß“ eines Merkmalvektors \vec{g} bezüglich der Objektklasse C_k der Ausdruck

$$d_k(\vec{g}) = -\frac{1}{2} (\vec{g} - \vec{g}_k)^T S_k^{-1} (\vec{g} - \vec{g}_k) - \frac{1}{2} \ln \{|S_k|\} + \ln \{P(C_k)\}, \quad (3.14)$$

und die Zuordnung zur Klasse C_k erfolgt für

$$d_k(\vec{g}) > d_j(\vec{g}) \quad \forall j \neq k. \quad (3.15)$$

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß die in der Gl. (3.15) aufgeführten Ähnlichkeitsmaße nicht mit den euklidischen Abständen (Gl. (3.1)) der Methode

des geringsten Abstandes verwechselt werden sollten.

Die Klassifizierung aller Merkmalsvektoren \vec{g} erfolgt in iterativer Weise. Zu Beginn werden die Vorkenntnisse ausgewertet und die Apriori-Wahrscheinlichkeiten $P(C_k)$ entsprechend festgelegt. Bei fehlendem Vorwissen wird eine Gleichverteilung angenommen und $P(C_k) = 1/K$ gewählt. K ist hier die Anzahl der auftretenden Klassen und wird während der Iteration nicht verändert. Als Startparameter werden die K Clusterzentren festgelegt, wobei eine erste Klassenzuordnung der Vektoren zum Beispiel mit dem „K-Means“-Verfahren (Kap. 3.3.2) erfolgen kann. In der Iteration wird nun unter der Voraussetzung unabhängiger Merkmalsvektoren versucht, die Wahrscheinlichkeitsfunktion

$$L = \prod_{i=1}^N p(\vec{g}_i) \quad (3.16)$$

zu maximieren, wobei $p(\vec{g}_i) = \sum_{k=1}^K p(\vec{g}_i \in C_k | C_k) P(C_k)$ die durch alle Objektklassen C_k gegebene Wahrscheinlichkeitsdichte ist. Der Index $i = 1 \dots N$ charakterisiert an dieser Stelle die N Merkmalsvektoren (Pixel) in den erstellten 2D-Histogrammen. Entsprechend der Maximierung von Gl. (3.16) wird die Fehlerfunktion

$$E = -\ln \{L\} = -\sum_{i=1}^N \ln \left\{ \sum_{k=1}^K p(\vec{g}_i \in C_k | C_k) P(C_k) \right\} \quad (3.17)$$

minimiert. Werden für die bedingten Wahrscheinlichkeitsdichten $p(\vec{g}_i \in C_k | C_k)$ bivariate Gaußverteilungen (Gl. (3.12)) angenommen, so ist die Fehlerfunktion E durch die Parameter \vec{g}_k , S_k und $P(C_k)$ gegeben.

Zur Maximierung von Gl. (3.16) bzw. zur Minimierung von Gl. (3.17) kann der optimale Parametersatz durch den EM-Algorithmus (engl. „expectation-maximization“) bestimmt werden. Die Iteration erfolgt im EM-Algorithmus nun solange, bis die Änderung des Fehlers

$$E^{neu} - E^{alt} = -\sum_{i=1}^N \ln \left\{ \frac{p^{neu}(\vec{g}_i)}{p^{alt}(\vec{g}_i)} \right\}, \quad (3.18)$$

eine gewählte Grenze unterschreitet. Die Parameter \vec{g}_k , S_k und $P(C_k)$ werden während der Iteration in dem hier verwendeten Algorithmus wie folgt aktualisiert

$$\vec{g}_k^{neu} = \frac{\sum_i w_i P^{alt}(C_k | \vec{g}_i) \vec{g}_i}{\sum_i w_i P^{alt}(C_k | \vec{g}_i)} \quad (3.19a)$$

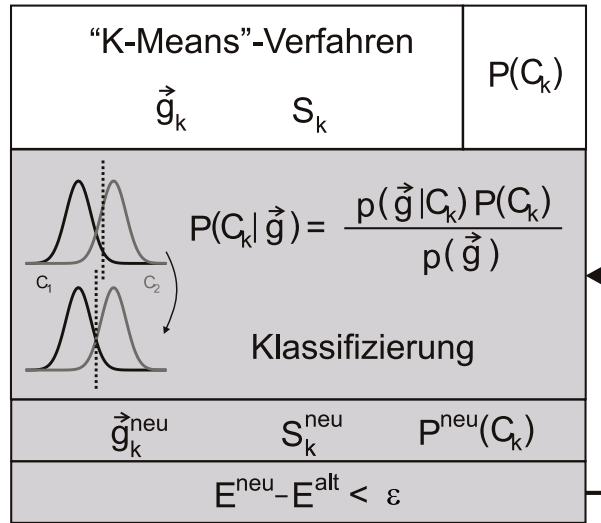


Abbildung 3.8: In dieser Darstellung ist das Verlaufsdiagramm des verwendeten EM-Algorithmus (graue Flächen) verdeutlicht. Die Startwerte der Iteration werden aus dem Vorwissen $P(C_k)$ und einem vorgeschaltetem „K-Means“-Verfahren (\vec{g}_k und S_k) bestimmt. Die in die aktuellen Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten eingehenden Parameter führen zur entsprechenden Klassifizierung. Die Iteration wird abgebrochen, wenn die Änderung des Fehlers Gl. (3.18) eine gewählte Grenze unterschreitet.

$$S_k^{neu} = \frac{\sum_i w_i P^{alt}(C_k | \vec{g}_i) (\vec{g}_i - \vec{g}_k^{neu})^T (\vec{g}_i - \vec{g}_k^{neu})}{\sum_i w_i P^{alt}(C_k | \vec{g}_i)} \quad (3.19b)$$

$$P^{neu}(C_k) = \frac{\sum_i w_i P^{alt}(C_k | \vec{g}_i)}{\sum_i w_i}, \quad (3.19c)$$

wobei $\vec{g}_i \in C_k$ und N die Gesamtzahl aller Merkmalsvektoren ist. Für die genaue Herleitung der Formeln zur Aktualisierung der Parameter sei auf Bishop [8] verwiesen. Zu bemerken wäre, daß in Gl. (3.19) zusätzlich die Häufigkeiten w_i , mit welchen die Merkmalsvektoren auftreten, berücksichtigt werden. In den 2D-Histogrammen sind sie durch unterschiedliche Graustufen verdeutlicht.

In Abb. 3.8 ist das Verlaufsdiagramm des hier verwendeten EM-Algorithmus schematisch dargestellt. Es sei an dieser Stelle nochmals explizit darauf hingewiesen, daß zu einer erfolgten Zuordnung der Merkmalsvektoren und dem damit verbundenen Fehler nach Gl. (3.17) die Parameter \vec{g}_k , S_k und $P(C_k)$ gehören, mit welchen die Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten berechnet sind, und nicht die in der Abbildung

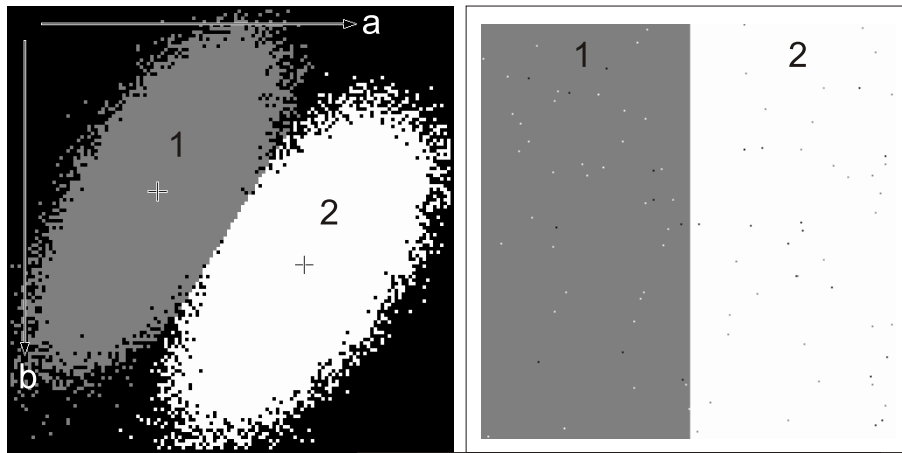


Abbildung 3.9: Partitionierung des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 anhand der Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit. Die Partitionierung erfolgt iterativ mit einem EM-Algorithmus. Eine erste Zuordnung wird mit dem „K-Means“-Verfahren durchgeführt. Die Anzahl der Objektklassen ist hier $K = 2$. Die ermittelten Schwerpunkte der Cluster sind $g_1 (-1, 60)$ und $g_2 (225, 62)$. Die Segmentierung der Bilder a und b ist in der rechten Hälfte zu sehen. Der Klassifizierungsfehler beträgt 0,13%.

aufgeführten neuen Parameter.

In Abb. 3.9 ist die Partitionierung des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 anhand der Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit zu sehen. In einem direkten Vergleich mit dem Ergebnis der Partitionierung anhand des „K-Means“-Verfahrens ist zu sehen, daß mit der Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit hier eine bessere Trennung erfolgt. Die Trennungsfunktion ist in dieser Darstellung nun parallel zu den Hauptachsen der beiden elliptischen Cluster ausgerichtet. Für einen quantitativen Vergleich kann die Fehlklassifizierung der Merkmalsvektoren verwendet werden. In der Segmentierung der beiden Ursprungsbilder a und b (Abb. 3.2) mittels der Klassifizierung nach Abb. 3.9 werden 0,13% der Pixel zu der jeweils falschen Objektklasse zugeordnet. Der Klassifizierungsfehler im „K-Means“-Verfahren beträgt 0,16%. Daraus wird deutlich, daß die Partitionierung des 2D-Histogramms aus Abb. 3.2 („K-Means“-Verfahren) nur unwesentlich schlechter ist als die der Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit und für eine Segmentierung durchaus ausreichend ist.

Die auftretenden Fehlklassifizierungen sind bis auf einen kleinen Bruchteil fast ausschließlich auf die Überlappung der beiden Cluster zurückzuführen. Wie in Kap. 3.2.2 erwähnt, sind einige Merkmalsvektoren, welche als Ausreißer bezeichnet sind, bei der Erstellung des 2D-Histogramms nicht berücksichtigt und können somit auch nicht klassifiziert werden. Der Klassifizierungsfehler verteilt sich mit 0,03% auf den grundsätzlichen Fehler bei der Klassifizierung bezüglich der Ausreißer und mit 0,1% auf die Fehlklassifizierung aufgrund der sich überlappenden Cluster.

In Untersuchungen zur Robustheit der Partitionierung werden die Startwerte für die Clusterzentren \vec{g}_k variiert. Für die Partitionierungsergebnisse des EM-Algorithmus kann jedoch festgestellt werden, daß die Lösungen weitestgehend unabhängig von den Startwerten sind und fast identische Ergebnisse liefern. Lediglich die Anzahl der Iterationsschritte steigt mit ungünstiger werdenden Startbedingungen an.

Kapitel 4

Detektion von Partikeln

In diesem Kapitel wird die Detektion von Partikeln in Elementverteilungsbildern erläutert. Ausgehend von der Segmentierung von Bildern mittels des Rose-Kriteriums wird eine erweiterte Methode der Partikeldetektion vorgestellt. Durch die Auftragung des berechneten Elementsignals eines Verteilungsbildes gegen das entsprechende Rauschen können 2D-Histogramme erzeugt werden. In diesen Signal-Rausch-Räumen zeigen sich Punktwolken, welche sich in ihren Merkmalsausprägungen unterscheiden. Eine Klassifizierung dieser Punktwolken führt zu einer verbesserten Segmentierung der Elementverteilungsbilder.

4.1 Signal-Rausch-Raum

In Kap. 2.3 wurde der Nachweis berechneter Elementsignale unter der Verwendung des Rose-Kriteriums Gl. (2.14) vorgestellt. Bei der direkten Anwendung dieses Kriteriums auf Elementverteilungsbilder ist jedoch zu beachten, daß das Kriterium für den Nachweis „echter“ Signale von unabhängigen Pixeln ausgeht. Die Intensitäten in den Pixeln werden hier separat beurteilt. Mit einer entsprechenden Vergrößerung kann das charakteristische Elementsignal einer nachzuweisenden Struktur in einem berechneten Verteilungsbild jedoch über mehrere Pixel verteilt abgebildet werden. Berechnet sich für jeden „Signalpixel“ das SRV zu Werten kleiner einer gewählten Schwelle, so wird die Struktur bzw. ein Partikel nicht nachgewiesen. Wie in Abb 2.2 jedoch verdeutlicht, wirken sich redundante Informationen positiv auf die Sichtbar-

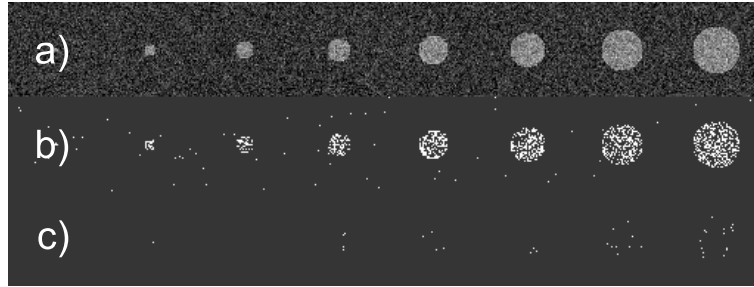


Abbildung 4.1: Veranschaulichung der Segmentierung eines Elementverteilungsbildes (Abb. a) unter Zuhilfenahme des Rose-Kriteriums (Gl. (2.14)). In Abb. b) ist die Segmentierung mit dem Schwellwert $SRV \geq 3$ und in der Abb. c) mit dem Schwellwert $SRV \geq 5$ dargestellt. Die Berechnungen der Elementsignale und der entsprechenden SRV erfolgen aus einer künstlich generierten Bilderserie (vgl. Abb. 2.1).

keit bzw. den Nachweis von charakteristischen Signalen aus.

Zur Veranschaulichung der Segmentierung eines Bildes anhand des Rose-Kriteriums wird eine künstlich generierte Bilderserie (vgl. Abb. 2.1) ausgewertet. Für die simulierten Elementverteilungen wird eine Innerschalenanregung mit einer Ionisationsenergie von 500eV angenommen. Der energieabhängige Untergrundverlauf wird durch den Potenzansatz Gl. (2.2) beschrieben, wobei die Werte für die Parameter $A = 10^{14}$ und $r = 4$ sind. Die Intensitäten werden hier als poissonverteilt angenommen. Zur Untergrundkorrektur des elementsensitiven Bildes auf der Verlustkante nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate (Kap. 2.1) werden drei Vorkantenbilder verwendet. In Abb. 4.1a ist das berechnete Elementverteilungsbild der konstruierten kreisförmigen Partikel zu sehen. Die in den Bildern auftretenden Grauwerte sind an die darstellbaren 255 Graustufen angepaßt. Die Fläche, welche hier von den Partikeln eingenommen wird, macht etwa 7,63% des gesamten Bereiches (512×64 Pixel) aus. Das Elementsignal in diesen Bereichen ist homogen ($I_S = 172,05 \pm 60,62$) und das mittlere Verhältnis von Signal zu Untergrund liegt hier bei $I_S/I_U = 0,145$. Das mittlere SRV (vgl. Gl. (2.11)) in diesen Bereichen beträgt $SRV = 2,81$. In weiteren Teilabbildungen sind die Segmentierungen über die berechneten SRV pro Pixel für die Schwellen $SRV \geq 3$ und $SRV \geq 5$ zu sehen.

In Abb. 4.1b ist zu erkennen, daß nur etwa die Hälfte der Pixel aus den Bereichen,

welche den Partikeln zuzuordnen sind, ein SRV größer der gewählten Schwelle von drei aufweist. Die einzelnen kreisförmigen Strukturen werden so nicht flächendeckend wiedergegeben. Für unbekannte Strukturen können so eindeutige Charakterisierungen bezüglich der Ausdehnungen zu Problemen führen, was insbesondere auch an der Abb. 4.1c veranschaulicht wird. In dieser Teilabbildung finden sich nur wenige Pixel mit SRV größer der Schwelle von fünf, so daß keine Aussagen zu möglichen Strukturformen, wie auch teilweise zum Nachweis selbst, gemacht werden können. Eine Möglichkeit, das Detektionsverfahren an dieser Stelle zu verbessern, wäre die Anpassung der Vergrößerung, so daß die nachzuweisenden Partikel in einem Elementverteilungsbild auf die Größe eines Pixels verkleinert werden. Das gesamte charakteristische Elementsignal wird in diesem Pixel aufsummiert, und das SRV wird entsprechend verbessert. Soll die Vergrößerung nicht für einen Nachweis optimiert werden, ist es möglich, bei bekannter Ausdehnung bzw. Verteilung der Signale auf die Pixel im Elementverteilungsbild, die Intensitäten der Pixel nach der Aufnahme der Bilder zu summieren. Neben der Verbesserung des SRV der nachzuweisenden Struktur wird hier die räumliche Elementverteilung sichtbar gemacht. Es ist jedoch offensichtlich, daß hierzu bestimmte Annahmen über die jeweilige Elementverteilung gemacht werden müssen, welche apriori zum Beispiel auf einer entsprechenden Präparation beruhen. Bei Plitzko [32] wird zum Beispiel für eine $1nm$ breite Titanschicht die Abhängigkeit des SRV von der Integration des charakteristischen Titansignals entlang der Schicht verdeutlicht. Mit größer werdendem Integrationsbereich entlang der Schicht wächst das SRV für unabhängige Pixel nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz mit

$$SRV_n = \sqrt{n}SRV_1, \quad (4.1)$$

wobei n hier die Anzahl der aufsummierten Pixel ist. Es wird hier zusätzlich angenommen, daß das Rauschen $R_i = \sqrt{I_{S_i}}$ in den Pixeln durch die Poissonverteilung der Signale I_{S_i} gegeben ist und die Summation über homogene Bereiche durchgeführt wird ($\sum_i I_{S_i} = nI_S$). Für eine Integration bzw. Summation der Intensitäten aus verschiedenen Pixeln sind jedoch Kenntnisse über die mögliche Zugehörigkeit zu den nachzuweisenden Strukturen wichtig. Bei El Gomati u.a. [14] wird zum Beispiel die Gruppierung von Pixeln in Phasenmaps zur Verbesserung des üblicherweise gerin-

gen SRV in der Oberflächenanalyse mittels der Raster-Auger-Mikroskopie eingesetzt. Eine Möglichkeit, geringe Calciumkonzentrationen in Zellen durch die Gruppierung mehrerer Pixel nachzuweisen, wird von Leapman u.a. [25] vorgestellt, wobei segmentierte Stickstoffverteilungsbilder und auftretende Stickstoff-Calcium Korrelationen ausgenutzt werden.

Zur Darstellung einer Methode, wie die Zugehörigkeiten vorurteilsfrei festgestellt werden können, wird im folgenden der Signal-Rausch-Raum eingeführt und erläutert. Aus Kap. 2.2 ist bekannt, welche Rauschanteile in ein aus experimentellen Daten berechnetes Elementverteilungsbild eingehen. Für ein berechnetes Verteilungsbild ist es somit möglich, ein Bild zu berechnen, welches das Rauschen nach Gl. (2.10) pro Pixel wiedergibt. Durch die Auftragung der berechneten Signale eines Verteilungsbildes gegen das entsprechende Rauschen können 2D-Histogramme (Kap. 3.2.2) erstellt werden, die den Signal-Rausch-Raum zeigen.

Der Signal-Rausch-Raum für die simulierte Elementverteilung aus Abb. 4.1 wird in Abb. 4.2 gezeigt. In dieser Abbildung sind zwei Punktwolken zu sehen, welche sich in ihren Merkmalsausprägungen (Signal und Rauschen) unterscheiden. In dieser Darstellung des Signal-Rausch-Raumes ist es weiterhin möglich, feste Schwellwerte für das entsprechende SRV einzuzeichnen, welche sich hier als Geraden ausprägen. In der Abb. 4.2 sind die drei markanten Schwellwerte $I_S = 0$, $SRV = 3$ und $SRV = 5$ eingezeichnet. Es ist zu erkennen, daß die größere Punktwolke durch die Gerade $I_S = 0$ unterteilt wird. Im berechneten Elementverteilungsbild treten demnach auch Pixel mit Grauwerten kleiner null auf. Der Grund liegt hier in der Untergrundkorrektur (Kap.2.1). In dem „Weighted-Least-Squares-Fit“-Verfahren werden die Erwartungswerte für die Parameter A und r ermittelt. Da der experimentell detektierte Untergrund statistisch um den erwarteten Untergrund $I_U(E) = AE^{-r}$ streut (näherungsweise gaußverteilt) [34], können so in einem berechneten Elementverteilungsbild auch Intensitäten kleiner null auftreten.

Die Entstehung der Punktwolken oder Cluster liegt in den ähnlichen Ausprägungen bezüglich des Signals und des Rauschens begründet, d.h. die Pixel mit entsprechender Zugehörigkeit zu den Partikeln zeigen sehr ähnliche Merkmalsausprägungen, während sie den Pixeln aus den umliegenden Bereichen sehr unähnlich sind.

Die Grenze $SRV = 3$ verläuft an dem größeren bzw. intensitätsreicheren Cluster

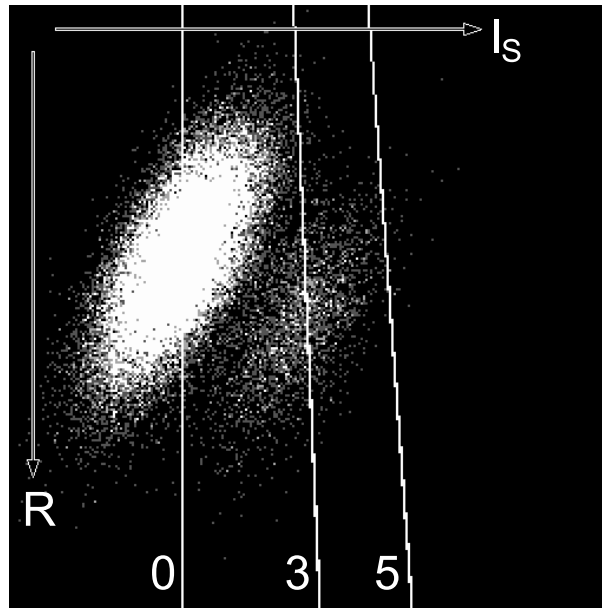


Abbildung 4.2: Das 2D-Histogramm (Signal-Rausch-Raum) zeigt die Auftragung der Signale aus dem Verteilungsbild der Abb. 4.1a gegen das entsprechende Rauschen pro Pixel. Ähnliche Merkmalsvektoren gruppieren sich zu Clustern. In der Darstellung sind zur Orientierung die Schwellwerte $I_S = 0$, $SRV = 3$ und $SRV = 5$ eingezeichnet.

vorbei und durchschneidet den kleineren rechten Cluster. Die hellen Pixel der Abb. 4.1b mit einem $SRV \geq 3$ liegen wegen ihrer Ausprägung bezüglich der Signale und des Rauschens in dem Signal-Rausch-Raum auf der rechten Seite der eingezeichneten Grenze. Für die Zugehörigkeit der beiden Cluster kann festgestellt werden, daß der rechte kleinere Cluster zu den Partikeln gehört und der linke Cluster zu den umliegenden Bereichen. Die Unterschiede in den Größen bzw. den Intensitäten der Cluster sind in dem gewählten Flächenverhältnis von Partikelfläche (aller Partikel) zur Gesamtfläche von 7,63% begründet. Mit der eingezeichneten Grenze $SRV = 5$ wird deutlich, daß nur sehr wenige Pixel, welche zu den Partikeln gehören, diesen Schwellwert überschreiten. Analog den Klassifizierungsfehlern, welche in Kap. 3.3 für die Partitionierungen der 2D-Histogramme angegeben sind, wird hier für den Schwellwert $SRV = 3$ ein Zuordnungsfehler in der Größe von 4,6% bestimmt. Dieser Fehler verteilt sich auf Pixel mit der Zugehörigkeit zu einem Partikel und einem

$SRV < 3$ und auf die Pixel aus den umliegenden Bereichen mit $SRV \geq 3$. Der entsprechende Zuordnungsfehler mit dem gewählten Schwellwert von $SRV = 5$ beträgt 7,5%. Zu beachten ist der Flächenanteil der Partikel von 7,63% an der Gesamtfläche des Bildes. Der Klassifizierungsfehler beruht, wie aus der Abb. 4.1c ersichtlich ist, fast ausschließlich auf den nicht klassifizierten Partikeln.

Als Alternative zum Elementnachweis nach dem Rose-Kriterium wird im folgenden der Einsatz der Clusteranalyse (Kap. 3.3) zur Klassifikation der Merkmalsvektoren im 2D-Histogramm und die Segmentierung der Verteilungsbilder vorgestellt.

4.2 Auswertung simulierter Energieverlustserien

In diesem Kapitel wird die Partikeldetektion mit Hilfe der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes mit simulierten Energieverlustserien bzw. mit den daraus berechneten Elementverteilungsbildern getestet. Mit den berechneten Bildern, welche zum einen die konstruierten Elementverteilungen und zum anderen das Rauschen pro Pixel wiedergeben, werden entsprechende 2D-Histogramme (Signal-Rausch-Räume) erstellt. Wie aus Abb. 4.2 ersichtlich, treten in dem Signal-Rausch-Raum Korrelationen zwischen dem charakteristischen Signal I_S und dem Rauschen R auf. Zur Beschreibung bzw. Erläuterung dieser Korrelationen werden im folgenden mehrere simulierte Bilderserien, in denen die Höhe der Elementsignale und die Anzahl der Bilder zur Untergrundkorrektur variiert wird, ausgewertet. Die Untergrundkorrektur erfolgt nach der in Kap 2.1 beschriebenen Methode der kleinsten Fehlerquadrate. Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Korrelationen von der Anzahl der verwendeten Vorkantenbilder zur Untergrundkorrektur werden Bilderserien verglichen, in denen eine insgesamt gleichbleibende Bestrahlungsdosis vorausgesetzt wird (vgl. Kap. 2.4). Für diese Bilderserien soll die jeweilige Bestrahlungsdosis der Dosis einer Serie entsprechen, welche aus zwei Vorkantenbildern und einem Signalbild (Referenzserie) besteht. Um für eine wachsende Anzahl an Vorkantenbildern die Bestrahlungsdosis insgesamt konstant zu halten, wird jedes simulierte Bild einer entsprechenden Serie mit einem für diese Serie konstanten Faktor ($t < 1$) multipliziert. Mit diesem Faktor wird demnach die „Belichtungszeit“ pro Bild einer Serie verringert („Belichtungskorrektur“), so daß die insgesamt Belichtungszeit (fest gewählt durch die

Referenzserie) nicht überschritten wird. In den Simulationen ist die Belichtungszeit pro Bild der Referenzserie willkürlich auf $t = 1$ festgelegt. Für eine Serie bestehend aus vier Bildern (drei Vorkantenbilder und ein Signalbild) beträgt die Belichtungszeit jedes Bildes dieser Serie so $t = 3/4 = 0,75$. Bei vier Vorkantenbildern und einem Signalbild ist $t = 3/5 = 0,6$. Die Belichtungszeiten der weiteren Serien berechnen sich entsprechend. Die in allen Serien verwendeten Parameter für den Verlauf des Untergrundes nach Gl. (2.2) sind $A = 10^{14}$ und $r = 4$. Für das Bild mit den charakteristischen Elementsignalen wird eine Ionisationsenergie von 500eV angenommen. Die Intensitäten werden als poissonverteilt angenommen, und die Pixel sind voneinander unabhängig.

Die erste Serie umfaßt ein Signalbild bei 500eV und zwei Bilder bei 490eV und 480eV zur Untergrundkorrektur. Die Elementverteilungen sind in kreisförmigen Strukturen unterschiedlicher Größe angeordnet (vgl. Abb. 4.1), wobei in dieser Serie das mittlere Signal bei dem Energieverlust 500eV in allen Partikeln $I_S = 450$ beträgt. Die oben angesprochene Belichtungszeit pro Bild ist hier festgelegt zu $t = 1$. Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Korrelation von der Anzahl der Vorkantenbilder wird in der zweiten Serie zusätzlich ein Bild bei 470eV generiert, und alle Bilder dieser Serie werden mit dem Faktor $t = 0,75$ korrigiert. Alle weiteren Serien werden entsprechend simuliert. Die maximale Anzahl der Vorkantenbilder soll hier auf sieben begrenzt sein, so daß im Vergleich zur ersten Serie die Belichtungszeit pro Bild hier $t = 0,375$ beträgt. Eine Begrenzung der Fensterzahl ist unter anderem dadurch begründet, daß die Berechnung des Untergrundes nur für endliche Intervalle sinnvolle Ergebnisse liefert (vgl. Kap. 2.1). Das mittlere Verhältnis von Signal zu Untergrund ist in allen Partikeln dieser Bilderserien $I_S/I_U = 0,283$.

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Korrelation von der Höhe der Elementsignale werden weitere Serien simuliert, in denen zusätzlich jeweils das mittlere Signal I_S in den kreisförmigen Strukturen variiert wird, um hierdurch jeweils verschiedene Verhältnisse von Signal zu Untergrund zu realisieren.

Zur besseren Übersicht sind die Parameter der simulierten Bilderserien in der Tab. 4.1 aufgeführt, wobei hier eine generelle Unterscheidung der Serien bezüglich des mittleren Signal-zu-Untergrund-Verhältnisses zu finden ist. In der zweiten Spalte ist die Belichtungszeit pro Bild t eingetragen. Der Fehler bei der Untergrundextrapola-

tion in Abhängigkeit der Anzahl der verwendeten Vorkantenbilder ist in der vierten Spalte zu finden und wird durch den Parameter h (vgl. Gl. (2.12)) charakterisiert. Die Werte in der Spalte „SRV“ geben die mittleren SRV der Signalbereiche wieder. Dabei werden hier nur Serien aufgeführt, deren mittlere SRV bei fünf bzw. bei drei liegen. Diese Auswahl ist sinnvoll, da zum einen für Signalbereiche mit einem mittleren SRV größer als fünf der Elementnachweis anhand des Rose-Kriteriums (Gl. (2.14)) unproblematisch wird und zum anderen für mittlere SRV kleiner als zwei bis drei kein sinnvoller Nachweis geführt werden kann. In der Auflistung der SRV kann wiederum festgestellt werden, daß für die mittleren Signal-zu-Untergrund-Verhältnisse $I_S/I_U = 0,283$ und $I_S/I_U = 0,19$ eine optimale Untergrundkorrektur (maximales mittleres SRV in den Signalbereichen) für vier Vorkantenbilder (s. $t = 0,6$) erreicht wird (vgl. Abb. 2.4). Bei einem mittleren Signal-zu-Untergrund-Verhältnis $I_S/I_U = 0,142$ wird demgegenüber ein maximales SRV für drei Vorkantenbilder bestimmt. Die Bestimmung der optimalen Anzahl an Vorkantenbildern scheint demnach unter anderem von dem Signal-zu-Untergrund-Verhältnis abhängig zu sein.

In der Spalte „ $\frac{I_S}{I_S+hI_U}$ “ ist der prozentuale Anteil der Signale an der jeweils gesamten Varianz zu finden. Der Einfluß des Signals auf das Rauschen wird zusätzlich mit den berechneten Korrelationskoeffizienten „ ρ_{C_1} “ und „ ρ_{C_2} “ der beiden Cluster verdeutlicht (s.u.).

Die Spalten „ P “ bzw. „ U “ geben die prozentualen Flächenanteile der Partikel (P) bzw. der umliegenden Bereiche (U) an der gesamten Bildfläche in den simulierten Bildern wieder. Sie sind in der Clusteranalyse der zugehörigen Signal-Rausch-Räume und der entsprechenden Segmentierung der simulierten Verteilungsbilder bestimmt worden. Es werden in diesen Flächenanteilen nur jeweils die klassifizierten Pixel berücksichtigt, die auch tatsächlich zu einem Partikel bzw. den umliegenden Bereichen gehören. Die Pixel beispielsweise, welche der Klasse „Partikel“ zugeordnet sind, aber in den umliegenden Bereichen auftreten, werden so nicht berücksichtigt. Die vor der Simulierung festgelegten theoretischen Anteile sind für die Signalbereiche (Partikel) 7,63% und für die umliegenden Bereiche 92,37%. In der Spalte „ KF “ sind die prozentualen Klassifizierungsfehler der Clusteranalysen aufgeführt, wobei diese grundsätzlich bei sinkendem mittleren SRV in den Signalbereichen ansteigt. Aufgrund des sinkenden mittleren SRV in den Signalbereichen wird der Überlapp

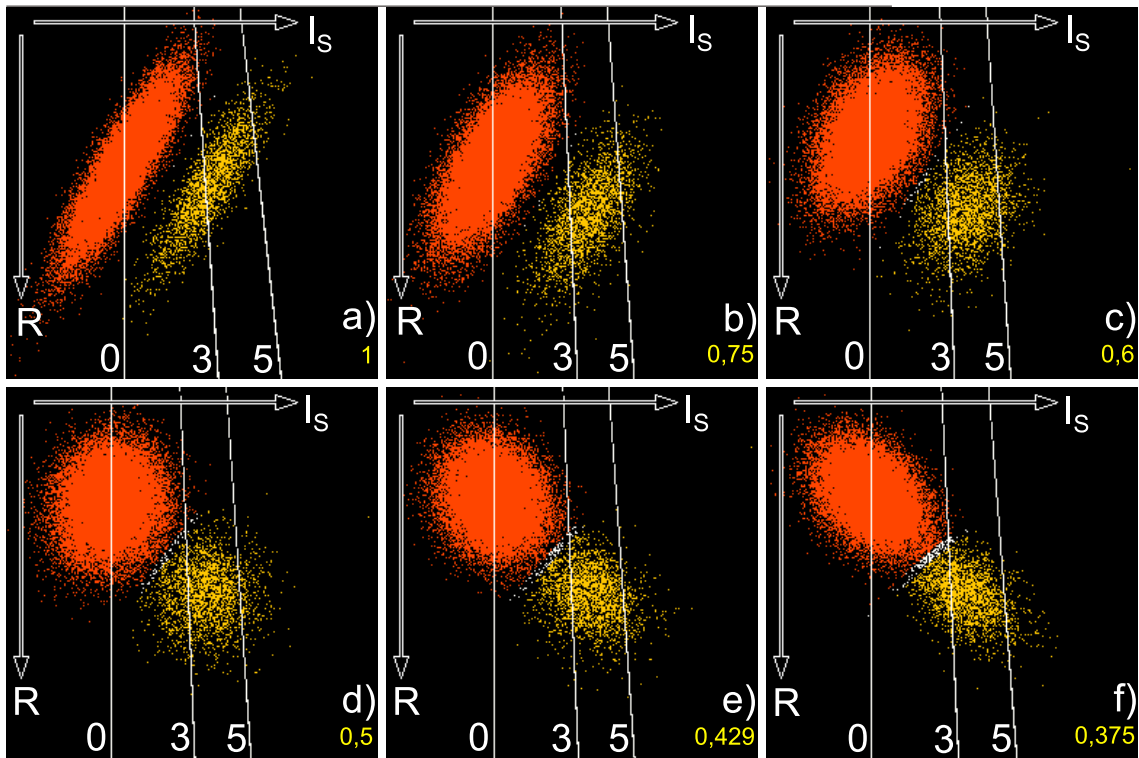


Abbildung 4.3: Ergebnisse der Clusteranalysen der Signal-Rausch-Räume der Bilderserie mit einem Signal-zu-Untergrund-Verhältnis von $I_S/I_U = 0,19$. Zur Clusteranalyse wird die Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit verwendet. Die Zahlenwerte unten rechts geben die jeweilige „Belichtungszeit“ pro Bild einer Serie an.

zwischen den beiden Clustern größer (vgl. Abb. 4.3 und 4.5). Eine eindeutige Zuordnung zu den Objektklassen „Partikel“ bzw. „umliegende Bereiche“ ist für immer weniger Pixel möglich, so daß die jeweiligen Flächenanteile an der gesamten Bildfläche (P und U) geringer werden.

Zur Veranschaulichung der auftretenden Korrelationen sind für die Serien mit einem Signal-zu-Untergrund-Verhältnis von $I_S/I_U = 0,19$ die Signal-Rausch-Räume in Abb. 4.3 dargestellt. Zur Orientierung sind die Schwellwerte $I_S = 0$, $SRV = 3$ und $SRV = 5$ eingezeichnet.

In der Abb. 4.3a sind die Intensitäten des Signalbildes gegen das Rauschen in den jeweiligen Pixeln aufgetragen, wobei hier die Untergrundkorrektur durch zwei Fenster

I_S/I_U	t	I_S	h	SRV	$\frac{I_S}{I_S+hI_U}$	$P/\%$	ρ_{C_1}	$U/\%$	ρ_{C_2}	$KF/\%$
0,283	1	450	5,44	4,72	4,9	7,63	-0,84	92,37	-0,87	0,006
	0,75	338	3,02	5,23	8,3	7,63	-0,62	92,36	-0,66	0,018
	0,6	270	2,26	5,52	11,1	7,63	-0,31	92,36	-0,4	0,006
	0,5	225	1,9	5,33	12,8	7,63	0,03	92,37	-0,09	0,003
	0,429	193	1,69	5,27	14,3	7,61	0,28	92,36	0,16	0,024
	0,375	169	1,55	5,15	15,6	7,61	0,48	92,33	0,38	0,058
0,19	1	300	5,44	3,22	3,3	7,61	-0,85	92,31	-0,87	0,073
	0,75	225	3,02	3,6	5,8	7,6	-0,64	92,32	-0,67	0,076
	0,6	180	2,26	3,75	7,7	7,57	-0,35	92,25	-0,41	0,18
	0,5	150	1,9	3,7	9,0	7,39	-0,06	92,17	-0,11	0,439
	0,429	129	1,69	3,66	10,1	7,24	0,17	92,16	0,16	0,595
	0,375	113	1,55	3,46	10,7	7,02	0,37	92,05	0,37	0,931
0,142	1	225	5,44	2,38	2,5	7,49	-0,87	92,23	-0,87	0,287
	0,75	169	3,02	2,81	4,5	7,24	-0,65	92,07	-0,67	0,684
	0,6	135	2,26	2,76	5,7	6,82	-0,46	92,01	-0,39	1,169
	0,5	113	1,9	2,75	6,8	6,22	-0,21	92,02	-0,1	1,764
	0,429	96	1,69	2,65	7,5	5,83	-0,04	91,89	0,17	2,286
	0,375	84	1,55	2,68	8,4	5,13	0,08	91,88	0,38	2,988

Tabelle 4.1: Charakteristische Parameter dreier ausgewählter Bilderserien mit einem jeweils festen mittleren Signal-zu-Untergrund-Verhältnis. t: „Belichtungszeit“ pro Bild (siehe Text); h: Extrapolationsfehler (vgl. Gl. (2.12)); SRV: mittleres SRV der Partikel; $\frac{I_S}{I_S+hI_U}$: prozentualer Anteil des Signals im Bereich der Partikel an der jeweiligen gesamten Varianz; P , U : Flächenanteile der Partikel bzw. der umliegenden Bereiche an der gesamten Bildfläche in Prozent (Vergleichswerte 7,63% und 92,37%); ρ_{C_1} , ρ_{C_2} : Korrelationskoeffizienten der beiden Cluster (vgl. Abb. 4.3); KF : prozentuale Klassifizierungsfehler der Clusteranalysen.

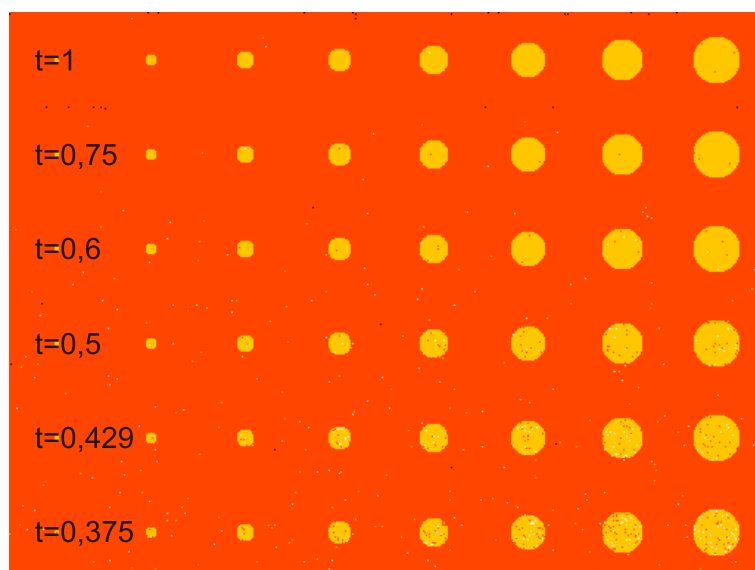


Abbildung 4.4: Segmentierungen der simulierten Elementverteilungen anhand der in Abb. 4.3 dargestellten Clusteranalysen der entsprechenden Signal-Rausch-Räume (t : „Belichtungszeit“ pro Bild).

vor der Kante erfolgt. Die Belichtungszeit ist $t = 1$. Die Untergrundkorrektur der zweiten Serie, deren Ergebnisse in Abb. 4.3b zu sehen sind, wird mit drei Vorkantenbildern durchgeführt (Belichtungszeit $t = 0,75$). Entsprechend erfolgen die Untergrundkorrekturen der weiteren Serien, deren Signal-Rausch-Räume in den Abb. 4.3c-f zu sehen sind, mit jeweils einem zusätzlichen Vorkantenbild.

Generell sind in allen Teilabbildungen zwei Cluster zu sehen, welche aufgrund der beiden Bereiche in den Signal- bzw. Rauschbildern zustande kommen und jeweils ähnliches Verhalten in den Merkmalsausprägungen bezüglich des Signals und des Rauschens zeigen. In dem rechten Cluster gruppieren sich die Pixel, welche zu den kreisförmigen Signalbereichen gehören und als Partikel bezeichnet sind (vgl. Abb. 4.1). Demgegenüber wird der linke Cluster durch die umliegenden Bereiche gebildet.

Die in der Abb. 4.3 dargestellten Signal-Rausch-Räume zeigen bereits die Ergebnisse einer Clusteranalyse. Diese wird mit der Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit (Kap. 3.3.3) durchgeführt, wobei hier die Anzahl der Klassen auf

$K = 2$ gesetzt wird. Die beiden Startpunkte der Cluster werden willkürlich gesetzt, und die Iteration erfolgt nach Gl. (3.19). Dabei wird kein Zurückweisungsradius (vgl. Gl. (3.2)) für den Mahalanobisabstand gewählt (d.h.: $d_{max} = \infty$). Um die Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifizierung gering zu halten, wird zusätzlich zwischen den beiden Clustern jeweils ein Übergangsbereich berücksichtigt. Für Merkmalsvektoren, welche in diese Bereiche fallen, wird so angenommen, daß sie nicht eindeutig einem Cluster zugeordnet werden können. Zur Bestimmung dieser Übergangsbereiche wird die Aposteriori-Wahrscheinlichkeit betrachtet, und eine Zuordnung z.B. zur Klasse C_1 erfolgt, wenn die Bedingung

$$P(C_1 | \vec{g}) \geq f P(C_2 | \vec{g}) \quad (4.2)$$

erfüllt ist, wobei hier $f = 2$ gesetzt ist. Die anhand der Clusteranalysen (Abb. 4.3) zu erhaltenen Segmentierungen sind in Abb. 4.4 zu sehen. Werden die Schwerpunkte der Cluster betrachtet, so wird deutlich, daß wegen Gl. (2.11) die Clusterschwerpunkte, welche durch die Partikel gebildet werden, in dieser Darstellung der Signal-Rausch-Räume immer unterhalb und rechts von dem anderen Clusterschwerpunkt liegen. Auffälliger hingegen sind die in den Clustern auftretenden Korrelationen.

In Abb. 4.3a zeigen sich für die Partikel und die umliegenden Bereiche vom Betrag her hohe negative Korrelationen (vgl. Tab. 4.1) zwischen den Signalen und dem Rauschen. Die beiden Cluster sind gut voneinander getrennt. Erhöht sich die Anzahl der Vorkantenbilder anhand derer die Untergrundkorrektur durchgeführt wird, so ändern sich die Korrelationen. Mit wachsender Anzahl an Vorkantenbildern sinkt der Betrag der negativen Korrelation, bis schließlich für fünf Vorkantenbilder die Signale und das Rauschen kaum noch korreliert sind. Die Untergrundkorrektur mit Fensteranzahlen größer fünf führen zu positiven Korrelationen (Abb. 4.3f). Die Ursache hierfür liegt in dem wachsenden Anteil des Signals an der jeweils gesamten Varianz ($\frac{I_S}{I_S + h I_U}$; Tab. 4.1). Wie aus der Abb. 4.3 weiterhin deutlich wird, vergrößern sich mit steigender Anzahl an Vorkantenbildern die Übergangsbereiche zwischen den beiden Clustern aufgrund der stärkeren Überlappung, und die Fehlklassifizierung bei der Segmentierung steigt. Es wird deutlich, daß sich neben den Signal-zu-Untergrund-Verhältnissen auch die Anzahl der verwendeten Vorkantenbilder (hier: konstante Bestrahlungsdosis) auf die Segmentierung auswirkt. Trotz sinkendem Extrapolati-

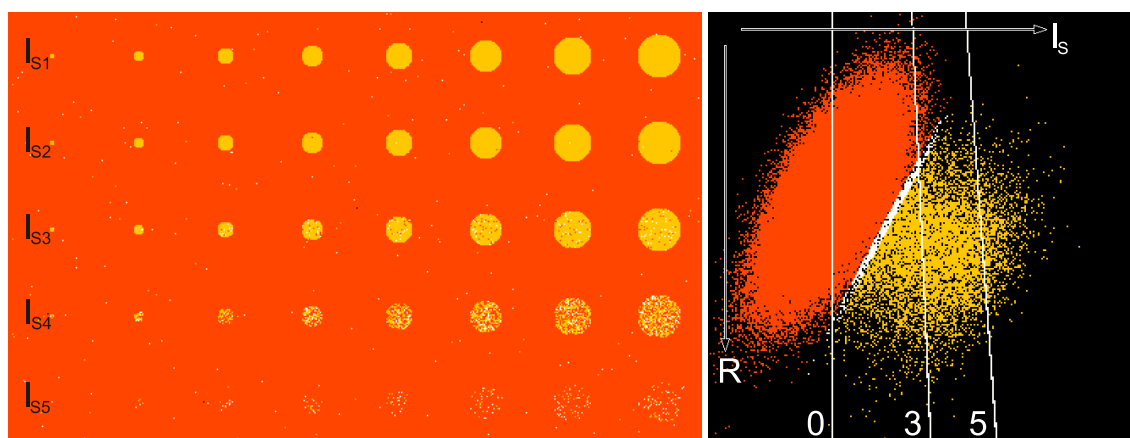


Abbildung 4.5: In dem segmentierten Elementverteilungsbild sind in den einzelnen Zeilen unterschiedliche Signal-zu-Untergrund Verhältnisse in den Partikelbereichen simuliert ($I_{S1}/I_U \dots I_{S5}/I_U$). Durch die Überlappungen der Cluster der Partikel scheint der entsprechende Signal-Rausch-Raum nur aus insgesamt zwei Clustern zu bestehen.

onsfehler, nach Gl. (2.12) durch den Parameter h beschrieben, ist es somit vorteilhaft die Anzahl der Vorkantenbilder zur Untergrundkorrektur gering zu gehalten. Anhand der berechneten Fehlklassifizierung (KF ; Tab. 4.1) kann die Güte der Segmentierung quantitativ betrachtet werden, wobei unter Fehlklassifizierung hier eine jeweils falsche Zuordnung der Merkmalsvektoren zu den Klassen für die Partikel und die umliegenden Bereiche und eine Zuordnung zu den Übergangsbereichen verstanden wird.

Zusammenfassend zeigt sich, daß der Nachweis der Partikel bzw. die vorurteilsfreie Gruppierung von Pixeln mit ähnlichem Signal- und Rauschverhalten mit kleiner werdendem Signal-zu-Untergrund-Verhältnis und mit sinkendem SRV unterhalb eines mittleren Wertes von etwa drei problematisch wird.

Im folgenden werden die Grenzen der vorgestellten Methode bezüglich auftretender Überlappungen der unterschiedlichen Cluster vorgestellt. Wie aus der Abb. 4.3 ersichtlich wird, können Überlappungen eine eindeutige Klassifizierung der Merkmalsvektoren erschweren bzw. unmöglich machen. Dies trifft insbesondere dann zu, wenn die Cluster dicht beieinander liegen, und die für sie modellierten bivariaten Gaußverteilungen eine hohe innere Varianz aufweisen. Um in diesem Fall eine Fehl-

klassifizierung dennoch möglichst gering zu halten, werden die oben beschriebenen Übergangsbereiche eingeführt.

In der Abb. 4.5 ist eine weitere Segmentierung eines simulierten Elementverteilungsbildes und der dazugehörige Signal-Rausch-Raum dargestellt. Die Parameter für den Untergrundverlauf sind $A = 10^4$ und $r = 4$. Die Vorkantenbilder liegen hier bei 470eV , 480eV und 490eV . In dem Signalbild bei 500eV sind in den sechs Zeilen jeweils unterschiedliche Signal-zu-Untergrund-Verhältnisse realisiert. Die mittleren SRV der Signalbereiche sind so gewählt worden, daß sich in dem entsprechenden Signal-Rausch-Raum die zu den einzelnen Signalbereichen gehörigen Cluster überschneiden. Die Signal-zu-Untergrund-Verhältnisse der in Abb. 4.5 dargestellten Partikel sind $I_{S1}/I_U = 0,24$, $I_{S2}/I_U = 0,19$, $I_{S3}/I_U = 0,142$, $I_{S4}/I_U = 0,095$ und $I_{S5}/I_U = 0,05$. Die entsprechenden mittleren SRV sind $SRV_1 = 4,57$, $SRV_2 = 3,6$, $SRV_3 = 2,81$, $SRV_4 = 1,87$ und $SRV_5 = 0,98$. Die zu den Partikeln gehörigen Cluster überschneiden sich so stark, daß sie nicht getrennt voneinander wahrzunehmen sind. Der Signal-Rausch-Raum (Abb. 4.5) scheint nur zwei Cluster, den Cluster, in dem sich die Pixel aller Signalbereiche gruppieren, und den Cluster, gebildet durch die umliegenden Bereiche, zu beinhalten. Durch eine Clusteranalyse ist es somit nicht möglich, die Partikel mit einem jeweils unterschiedlichen Signal-zu-Untergrund-Verhältnis voneinander zu trennen. Die Fehlklassifizierung beträgt 12,95%, wobei hier im wesentlichen die Partikel (I_{S5}) mit einem mittleren $SRV = 0,98$ nicht mehr eindeutig klassifiziert werden.

Sollen die verschiedenen Signalbereiche dennoch getrennt werden, so kann eine Mittelung bzw. eine Glättung des Signalbildes und des Rauschbildes von Vorteil sein. Zu beachten ist allerdings, daß es hierdurch zu einer Verwaschung des Elementverteilungsbildes kommt. In der Abb. 4.6 ist der Signal-Rausch-Raum und die Segmentierung des Elementverteilungsbildes aus der Abb. 4.5 zu sehen, wobei das Signal- und das Rauschbild mit einem Glättungsfilter vorverarbeitet werden. In einer weiteren Darstellung sind die falsch klassifizierten Pixel markiert.

Der einfachste Filter ist der Rechteckfilter, bei dem innerhalb der Filtermaske alle Intensitäten addiert und auf die Anzahl der Pixel der Maske normiert werden. Die

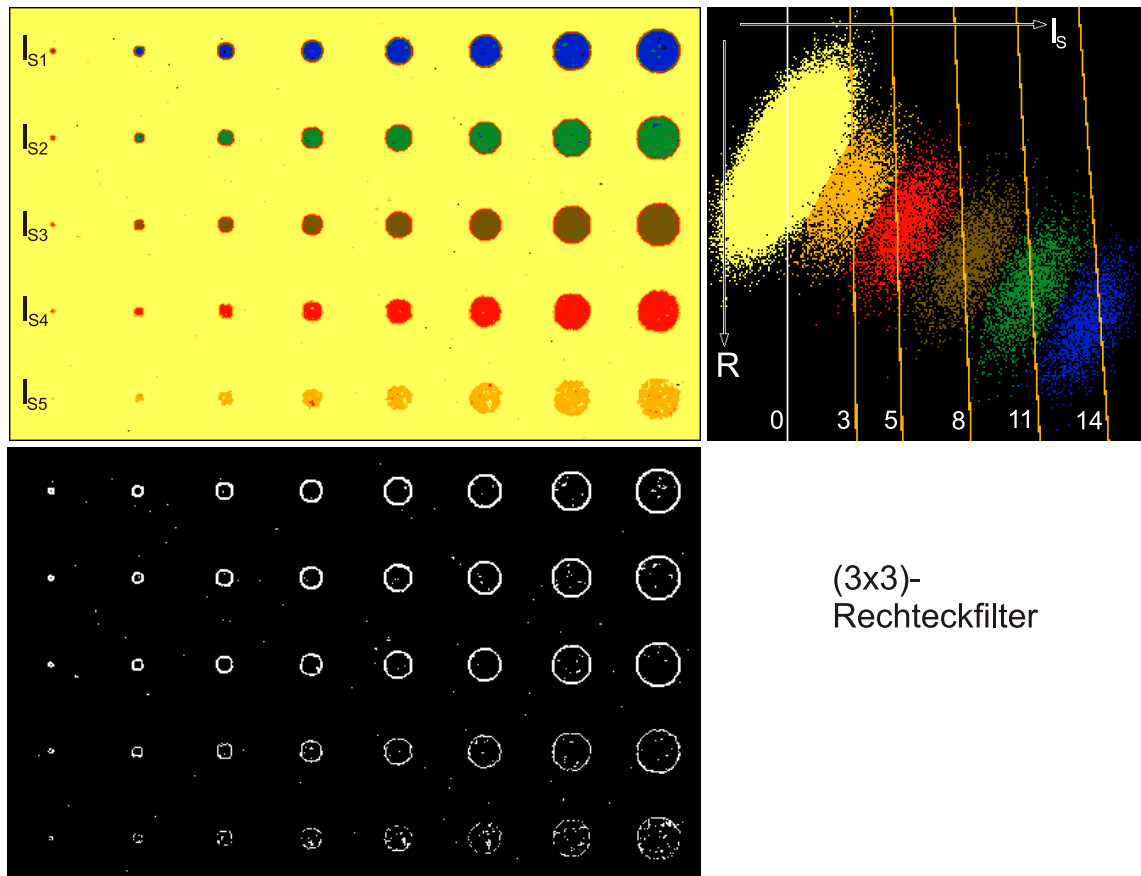


Abbildung 4.6: Darstellung des Signal-Rausch-Raumes und der Segmentierung des Verteilungsbildes aus der Abb. 4.5, nachdem das Signal- und das Rauschbild mit einem (3×3) -Rechteckfilter geglättet wurden. In der unteren Darstellung sind die falsch klassifizierten Pixel zu sehen. Der Klassifizierungsfehler liegt mit 11,37% nur geringfügig unter dem der nicht geglätteten Bilder.

Glättung erfolgt hier mit der Filtermaske

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}, \quad (4.3)$$

durch die jeweils über ein Bereich von (3×3) Pixel gemittelt wird. Die gemittelten Intensitäten im Signalbild und in dem Bild, welches das Rauschen pro Pixel wiedergibt, ergeben sich u.a. durch die Fehlerfortpflanzung nach

$$\begin{aligned} \bar{I}_S &= \frac{1}{m} \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 M_{ij} I_{Sij} \\ \bar{R} &= \frac{1}{m} \sqrt{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 M_{ij}^2 R_{ij}^2}, \end{aligned}$$

wobei der Normierungsfaktor $m = \sum_{ij} M_{ij}$ durch die Summe der Wichtungen der Filtermaske M gegeben ist.

Durch die Glättung mit dem Filter Gl. (4.3) werden die Varianzen der Intensitäten in dem Signal- und dem Rauschbild geringer. Hiermit werden die bivariaten Verteilungen der Merkmalsvektoren schmaler, und die Überlappungen der einzelnen Cluster verringern sich. Die mittleren SRV der Partikel in den gemittelten Bildern betragen $SRV_1 = 13,64$, $SRV_2 = 10,7$, $SRV_3 = 8,43$, $SRV_4 = 5,59$ und $SRV_5 = 2,78$ und liegen um den Faktor $\sum_{ij} M_{ij} / \sqrt{\sum_{ij} M_{ij}^2} = 3$ über den SRV der nicht geglätteten Bilder. Die Cluster sind in der Abb. 4.6 deutlich voneinander getrennt, und die Auswertung einer Clusteranalyse ermöglicht die Segmentierung der Partikel mit den unterschiedlichen Signal-zu-Untergrund-Verhältnissen. Der Klassifizierungsfehler der Segmentierung beträgt 11,37% und liegt geringfügig unter dem der nicht gemittelten Bilder. Im Gegensatz zu Abb. 4.5 werden die Partikel mit dem mittleren $SRV = 0,98$ zum Teil segmentiert. Die Fehlklassifizierung der geglätteten Bilder beruht fast ausschließlich auf den Randbereichen aller Partikel, da in deren lokalen Umgebungen Pixel der Signaltbereiche und der umliegenden Bereiche in die Glättung mit dem Filter eingehen. In der Abb. 4.6 umschließen diese falsch klassifizierte Pixel so die entsprechenden Partikel in kreisförmigen Strukturen.

Die Verwendung größerer Rechteckfilter zur Verbesserung der mittleren SRV ist

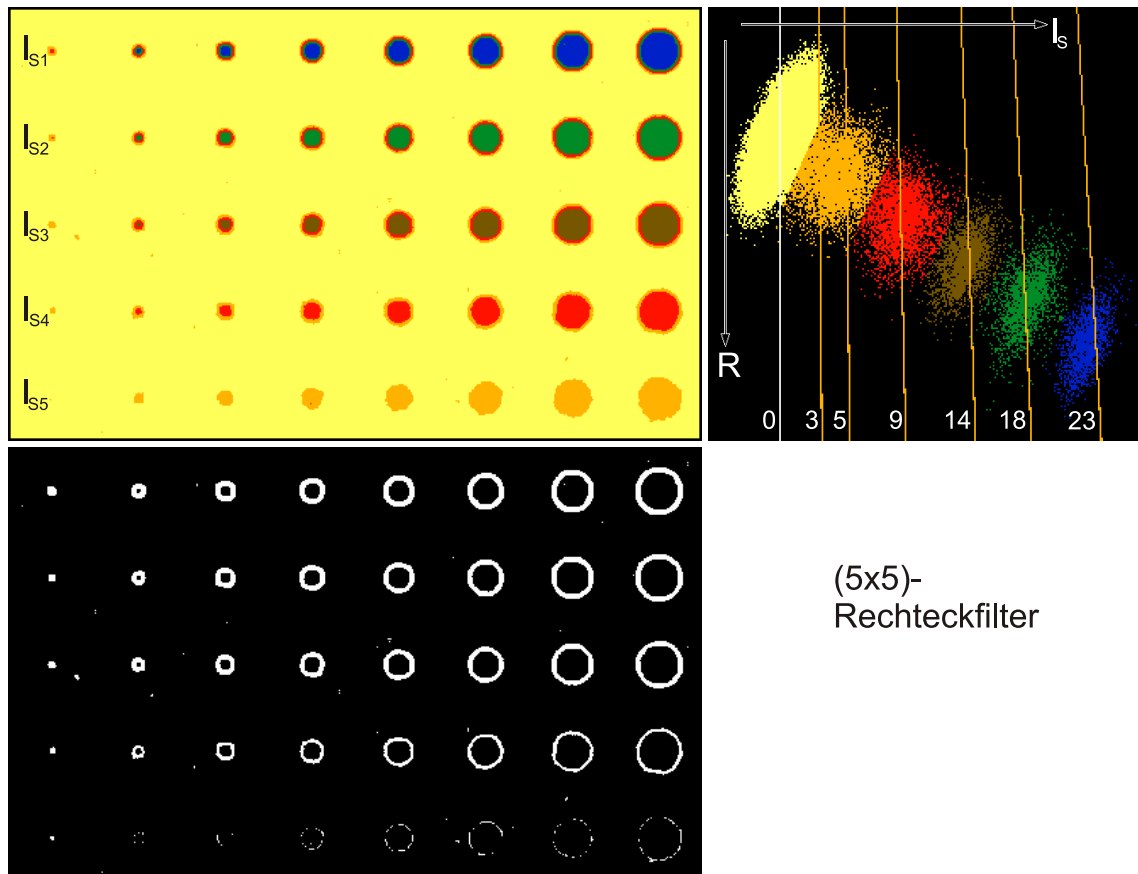


Abbildung 4.7: Segmentierung, Signal-Rausch-Raum und falsch klassifizierte Pixel für die Glättung des Signal- und des Rauschbildes mit einem (5×5) -Rechteckfilter. Der Klassifizierungsfehler beträgt 19,26%.

nicht sinnvoll, da mit zunehmender Größe des Glättungsbereiches sich die starken Verwaschungen negativ auf die Segmentierung auswirken. Die Abb. 4.7 zeigt das Ergebnis der Segmentierung und die falsch klassifizierten Pixel für die Glättung mit einem (5×5) -Rechteckfilter. Die mittleren SRV der Partikel in den gemittelten Bildern liegen hier um den Faktor fünf über denen der nicht geglätteten Bilder. Es ist zu erkennen, daß wegen des größeren Glättungsbereiches verbreiterte Übergangsbereiche zwischen den Signalbereichen und den umliegenden Bereichen auftreten. Der Klassifizierungsfehler beträgt hier 19,26%. Bei der Verwendung von Glättungsfiltern muß somit zwischen verbesserten SRV und zunehmenden Klassifizierungsfehlern abgewägt werden. Die Segmentierung von Elementverteilungsbildern realer Präparate ist im nächsten Kapitel beschrieben.

4.3 Experimentelle Ergebnisse

4.3.1 Stickstoffverteilung

Die in den Kap. 3.3 und 4.2 beschriebenen Verfahren zur Klassifikation des Signal-Rausch-Raumes und zur Segmentierung eines Elementverteilungsbildes werden im folgenden zum Nachweis einer Stickstoffverteilung eingesetzt. In der Abb. 4.8a ist das elastisch gefilterte Bild eines hexagonalen Bornitrit-Partikels, welches auf einer Kohlenstofflochfolie liegt, zu sehen. Das Partikel befindet sich in der Mitte des Bildes, und in der rechten unteren Ecke ist ein Loch der Kohlefolie zu sehen. Die übrigen Bereiche zeigen die Kohlefolie in unterschiedlichen Dicken. Zur Kontrolle, in wieweit auftretende Mehrfachstreuungen bei der Auswertung einer ermittelten Stickstoffverteilung berücksichtigt werden müssen, wird nach Gl. (1.5) eine t/λ_{in} -Map erstellt. Sie ist in der Abb. 4.8b zu sehen, und für das Partikel wird eine mittlere relative Schichtdicke von $t/\lambda_{in} = 0,25$ und für die Kohlefolie $t/\lambda_{in} = 0,12$ bestimmt. Zur Beurteilung der Elementverteilungsbilder kann davon ausgegangen werden, daß Mehrfachstreuungen die Auswertungen nicht verfälschen (vgl. Kap. 2.5).

Zur Berechnung der Stickstoffverteilung werden drei Vorkantenbilder zur Untergrundkorrektur und ein elementsensitives Bild auf der N-K-Kante aufgenommen. Mit der Abb. 4.8c wird der optimale Energieverlust zur Aufnahme des stickstoffsens-

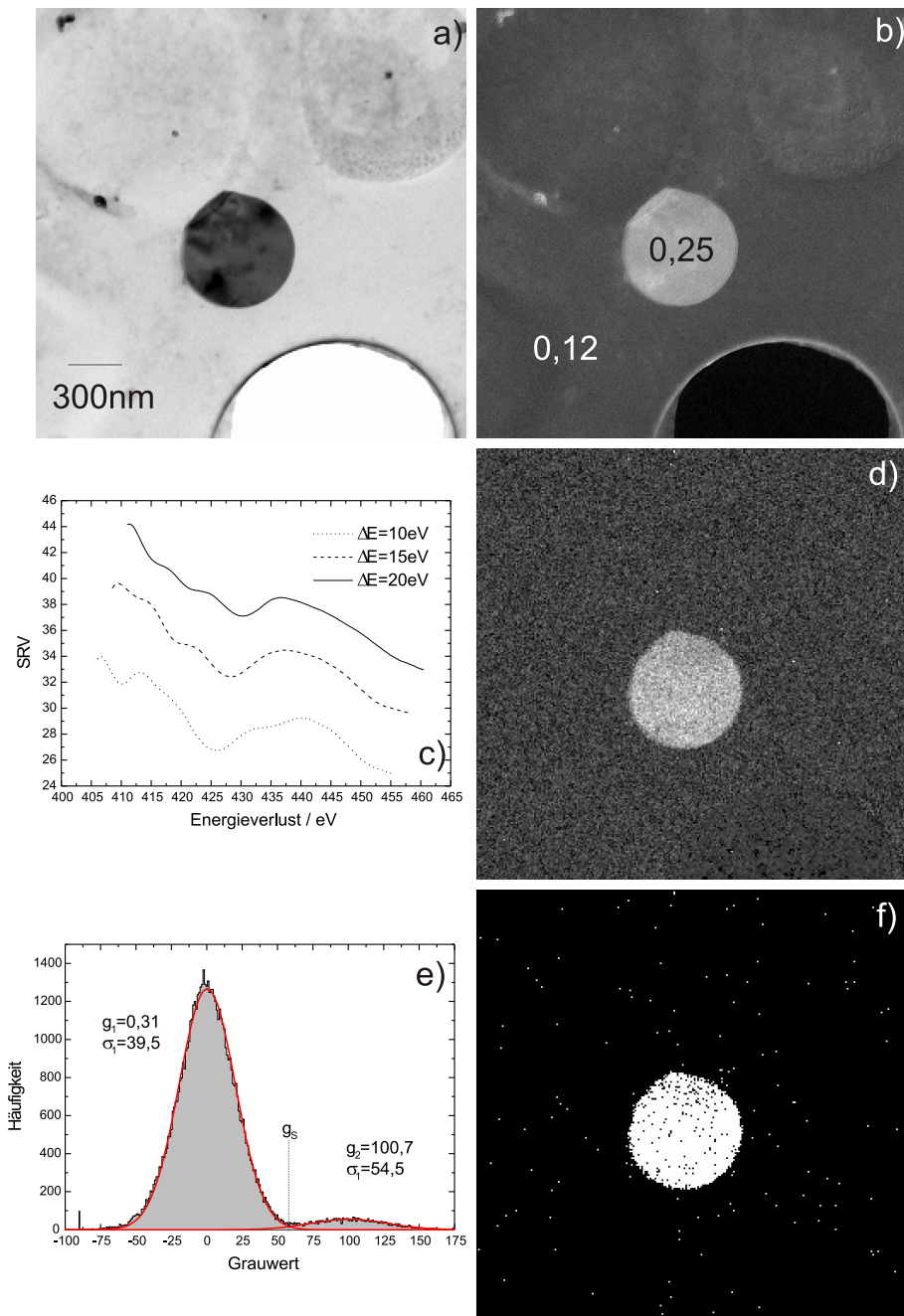


Abbildung 4.8: Elastisch gefiltertes Bild eines h-BN-Partikels auf einer Kohlenstofflochfolie a). In der Abb. b) ist die t/λ_{in} -Map des Präparates zu sehen. Anhand des maximalen SRV der Kurven in Abb. c) wird der Energieverlustbereich des stickstoffsensitiven Bildes ermittelt (vgl. Abb. 2.6). Abb. d) zeigt das Stickstoffverteilungsbild. In Abb. f) ist die Segmentierung anhand des Schwellwertverfahrens e) dargestellt.

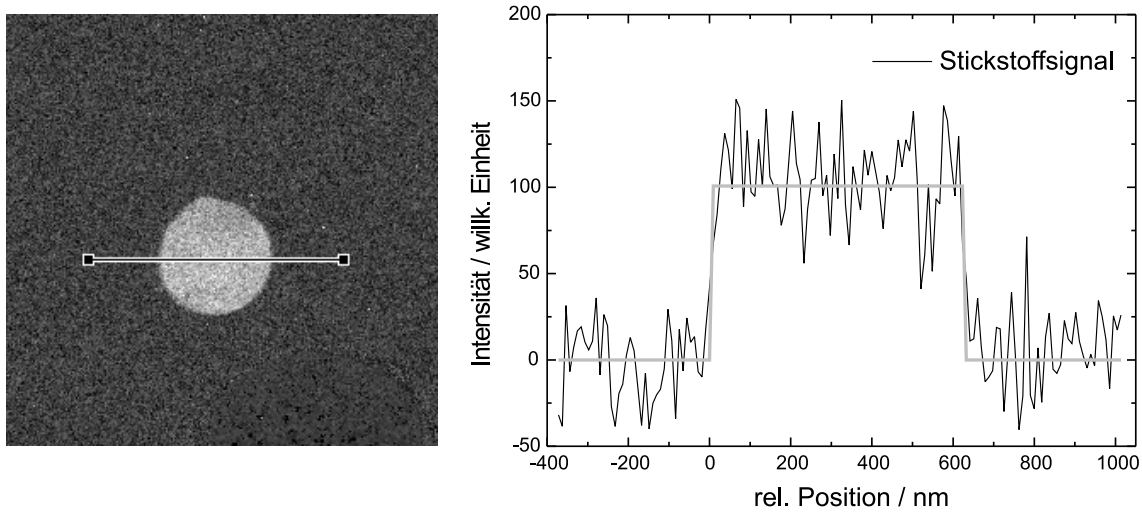


Abbildung 4.9: Die Abbildung zeigt das Stickstoffverteilungsbild mit eingezeichnetem Linescan und dessen Intensitätsverteilung. Zum Vergleich ist die Objektklassenzugehörigkeit (graue Linie) nach Abb. 4.13f aufgetragen.

sitiven Bildes bei einer Energiefensterbreite von $\Delta E = 20\text{eV}$ zu 411eV bestimmt. Die Energieverluste der Vorkantenbilder ergeben sich demnach zu 335eV , 360eV und 385eV (vgl. Kap. 2.4). Das durch die Untergrundkorrektur (vgl. Kap. 2.1) berechnete Stickstoffverteilungsbild ist in der Abb. 4.8d zu sehen. Bei der Betrachtung des Verteilungsbildes liegt es nahe, eine Segmentierung anhand des Schwellwertverfahrens durchzuführen (vgl. Kap. 3.2.2). Die Grauwertverteilung der Abb. 4.8d ist in der Abb. 4.8e dargestellt. Mit dem Minimum bei dem Grauwert $g_S = 58,4$ zwischen den beiden Maxima $g_1 = 0,31$ und $g_2 = 100,7$ wird die Segmentierung (Abb. 4.8f) des Stickstoffverteilungsbildes durchgeführt. Aufgrund der Kenntnis der Präparatzusammensetzung liefert das Schwellwertverfahren eine durchaus sinnvolle Segmentierung, da davon ausgegangen werden kann, daß auftretende Stickstoffsignale bei der verwendeten Vergrößerung von $M = 10300$ sich in Bereichen wie dem der Abb. 4.8d gruppieren.

In der Abb. 4.9 ist die Intensitätsverteilung des im Stickstoffverteilungsbild eingezeichneten Linescans zu sehen. Zum Vergleich ist der Linescan (grau) desselben Bereiches aufgetragen, welcher die Zugehörigkeit der Pixel zum Partikel anhand

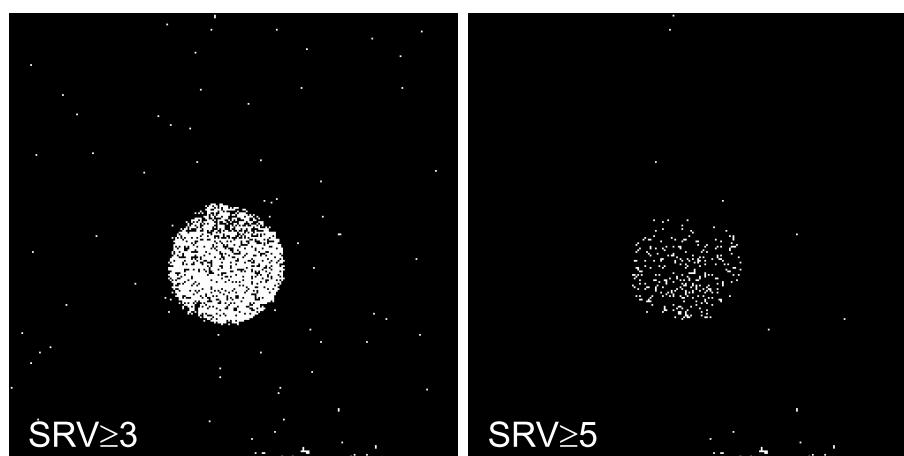


Abbildung 4.10: Segmentierung des Stickstoffverteilungsbildes aus Abb. 4.8d anhand der Grenzwerte $SRV \geq 3$ und $SRV \geq 5$.

des segmentierten Elementverteilungsbildes der Abb. 4.13f wiedergibt (s.u.). Aus der Halbwertsbreite des Stickstoffsignals wird ein Partikeldurchmesser von rund 630nm bestimmt. Durch einen Vergleich mit der aus einer Clusteranalyse erhaltenen Segmentierung (Abb. 4.13) kann zusätzlich eine gute Übereinstimmung in den Ergebnissen festgestellt werden.

In der Abb. 4.10 dient das SRV pro Pixel als Nachweiskriterium (vgl. Kap. 2.3). Es sind hier die Segmentierungen zu sehen, welchen das Rose-Kriterium (Gl. (2.14)) zugrunde liegt. Während mit dem Grenzwert $SRV \geq 3$ das Partikel und insbesondere seine Ausdehnung gut sichtbar ist, wird mit dem Grenzwert $SRV \geq 5$ nur ein Bruchteil der Elementsignale als „echt“ bezeichnet. Mit den Vorkenntnissen über das Präparat (h-BN auf C-Loch) und der Abb. 4.10 kann das Partikel hier nachgewiesen werden. In einem Vergleich mit der Abb. 4.8d ist es wiederum möglich, auch Aussagen über seine Ausdehnung zu treffen. So kann in diesem Fall mit Hilfe eines horizontalen „Linescans“ über die Mitte des hellen Bereiches hinweg aus der Halbwertsbreite dieser Intensitätsverteilung der Partikelradius angegeben werden. Im folgenden wird die Detektion des Partikels anhand der Clusteranalyse des entsprechenden Signal-Rausch-Raumes vorgestellt. In der Abb. 4.11a ist der Signal-Rausch-Raum der berechneten Stickstoffverteilung aus Abb. 4.8d zu sehen. Die ein-

gezeichneten Geraden zeigen die markanten Schwellwerte $I_S = 0$, $SRV = 3$ und $SRV = 5$. In dieser Darstellung sind drei Cluster zu erkennen, welche sich unterschiedlich stark überlappen.

Mit den eingezeichneten Schwellwerten $SRV = 3$ und $SRV = 5$ und einem Vergleich mit der Abb. 4.10 kann der Cluster unten rechts dem h-BN-Partikel zugeordnet werden, wobei zusätzlich deutlich wird, wie ein fester Schwellwert für das SRV in einem Nachweisprozeß „echte“ Signale von „falschen“ trennt. Der Cluster, herrührend von dem Partikel, wird mit dem Rose-Kriterium durchschnitten. Im Gegensatz hierzu scheint es sinnvoller, die auftretenden Cluster, in welchen sich Pixel mit ähnlichen Merkmalsausprägungen gruppieren, nicht zu „durchtrennen“, und durch eine Klassifizierung (vgl. Kap. 3.3) die Cluster in ihrer Gänze für die Segmentierung auszunutzen. Die Klassifizierung nach dem „K-Means“-Verfahren (Kap. 3.3.2) ist in der Abb. 4.11b zu sehen. Die Anzahl der Klassen wird auf $K = 3$ gesetzt. Das entsprechend segmentierte Stickstoffverteilungsbild ist in der Abb. 4.11c zu finden. Es zeigt sich, daß durch die Segmentierung neben der Kohlefolie auch das Loch (Abb. 4.8a) im Vergleich zu Abb. 4.10 sichtbar wird. Die Schwerpunkte der beiden Cluster „C-Folie“ und „Partikel“ werden in der Clusteranalyse zu $g_{C-Folie}(-0, 2; 22, 6)$ und $g_{Partikel}(98, 5; 27, 4)$ bestimmt. In einem Vergleich mit dem Grauwert histogramm in der Abb. 4.8e zeigen sich für die mittleren Signale I_S in den beiden Bereichen gute Übereinstimmungen.

Bei genauer Betrachtung der Abb. 4.11c sind im Bereich des Loches Fehlklassifizierungen zu finden, wobei hier einige Pixel der Kohlefolie zugeordnet werden. Die Ursache hierfür liegt in der Streuung der Merkmalsvektoren im Signal-Rausch-Raum. Die beiden Cluster, welche zum einen durch die Kohlefolie und zum anderen durch das Loch gebildet werden, zeigen große Überschneidungen, so daß eine eindeutige Zuordnung in diesem Überlappungsbereich nicht erfolgen kann. Zur Verdeutlichung der Überschneidungen und der damit verbundenen systematischen Fehlklassifizierungen sei auf Abb. 4.12 verwiesen.

Erkennbar wird aus dieser Darstellung, daß der zum Loch gehörige Cluster den der Folie durchsetzt und sogar unterhalb dieses Clusters klassifizierte Merkmalsvektoren auftreten. Im Falle starker Überlappungen zeigen diese Fehlklassifizierungen so die Grenzen der Clusteranalyse auf. Der Umstand, daß der Cluster „Loch“ offen-

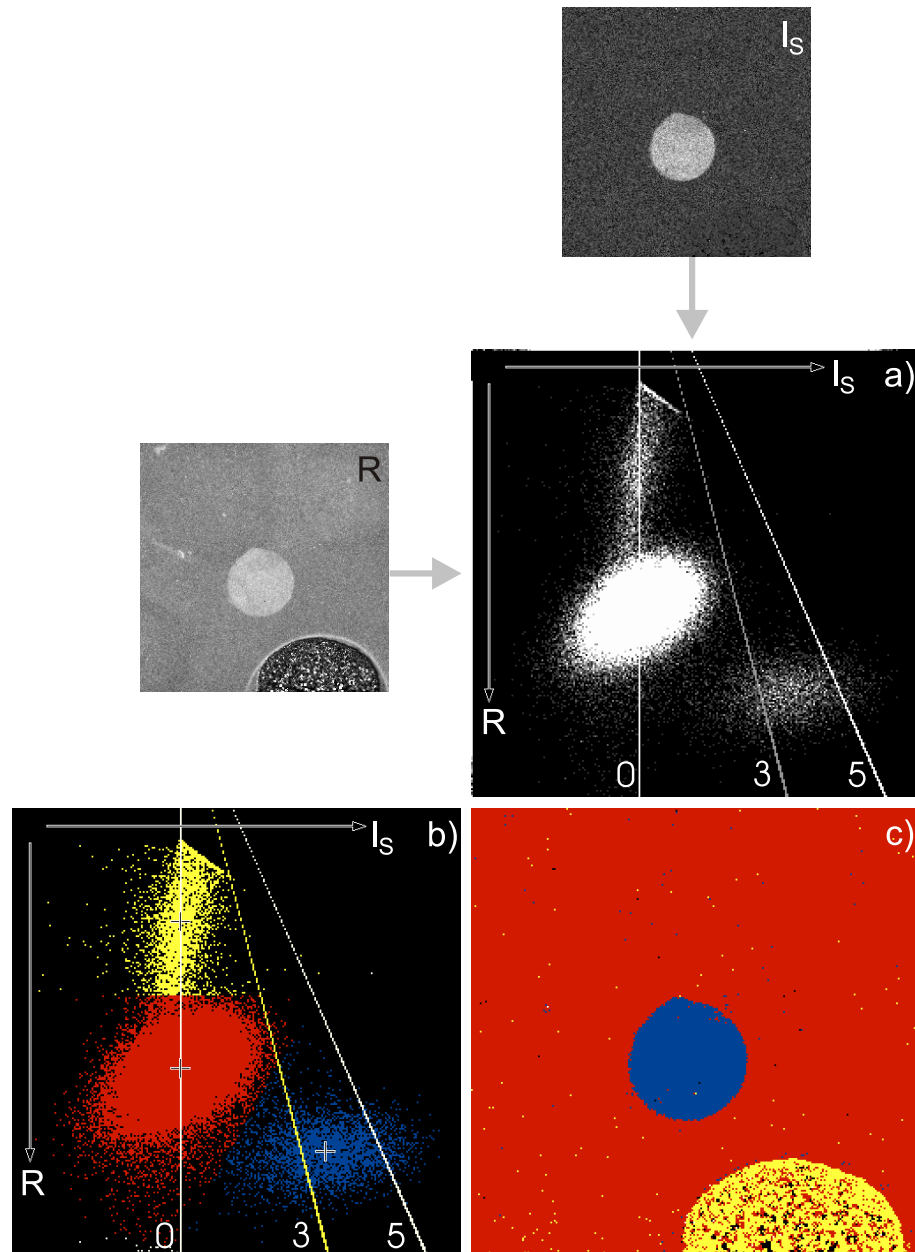


Abbildung 4.11: In der Abb. a) ist der Signal-Rausch-Raum (I_S gegen R) des Stickstoffverteilungsbildes aus Abb. 4.8 dargestellt. Abb. b) zeigt das Klassifizierungsergebnis anhand des „K-Means“-Verfahrens. Abb. c) gibt die dazugehörige Segmentierung wieder.

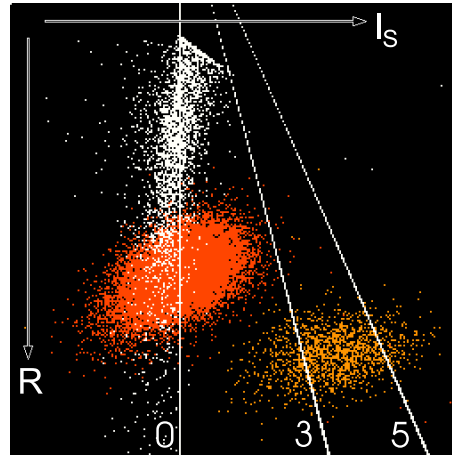


Abbildung 4.12: Verdeutlichung der Überschneidungen der Cluster aus Abb. 4.11a.

sichtlich keiner bivariaten Gaußverteilung genügt, stellt für die Clusteranalyse hier kein Problem dar. Der abrupte Abbruch der Verteilung der Merkmalsvektoren im oberen Bereich des Clusters basiert auf der Vorverarbeitung der beiden Bilder I_S und R (Abb. 4.11), wobei „fehlerhafte“ Pixel der Bilder mit Intensitäten versehen werden, welche den Mittelwerten der umliegenden Pixel entsprechen. Die Ursache für diese falsch berechneten Intensitätswerte, insbesondere im Bereich des Loches, liegt in der Untergrundkorrektur. Da hier keine unelastischen Streuprozesse auftreten, zeigen die Pixel im Bereich des Loches Intensitätswerte um null, und das Untergrundmodell nach Gl. (2.2) kann nicht vorausgesetzt werden. Um dennoch den gesamten Signal-Rausch-Raum inklusive Loch darstellen zu können, werden in diesem Bereich „fehlerhafte“ Pixel wie oben beschrieben bearbeitet.

Die Klassifizierung anhand der Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit ist in der Abb. 4.13 zu sehen. Ausgehend von der Annahme, daß die Anzahl der Cluster $K = 3$ ist, werden durch die Clusteranalyse nach Kap. 3.3.3 mit einem Zurückweisungsradius von $d_{max} = \infty$ die Clusterschwerpunkte zu $g_{C-Folie}(0; 22, 5)$ und $g_{Partikel}(90, 3; 27, 6)$ bestimmt. Das Ergebnis dieser Klassifizierung ist in der Abb. 4.13a zu sehen. Es zeigt sich, daß einige Merkmalsvektoren, welche nach Abb. 4.12 eigentlich dem Loch zuzuschreiben sind, hier dem Cluster „Partikel“ zugeordnet werden. Die hierzu gehörige Segmentierung ist in der Abb. 4.13b dargestellt,

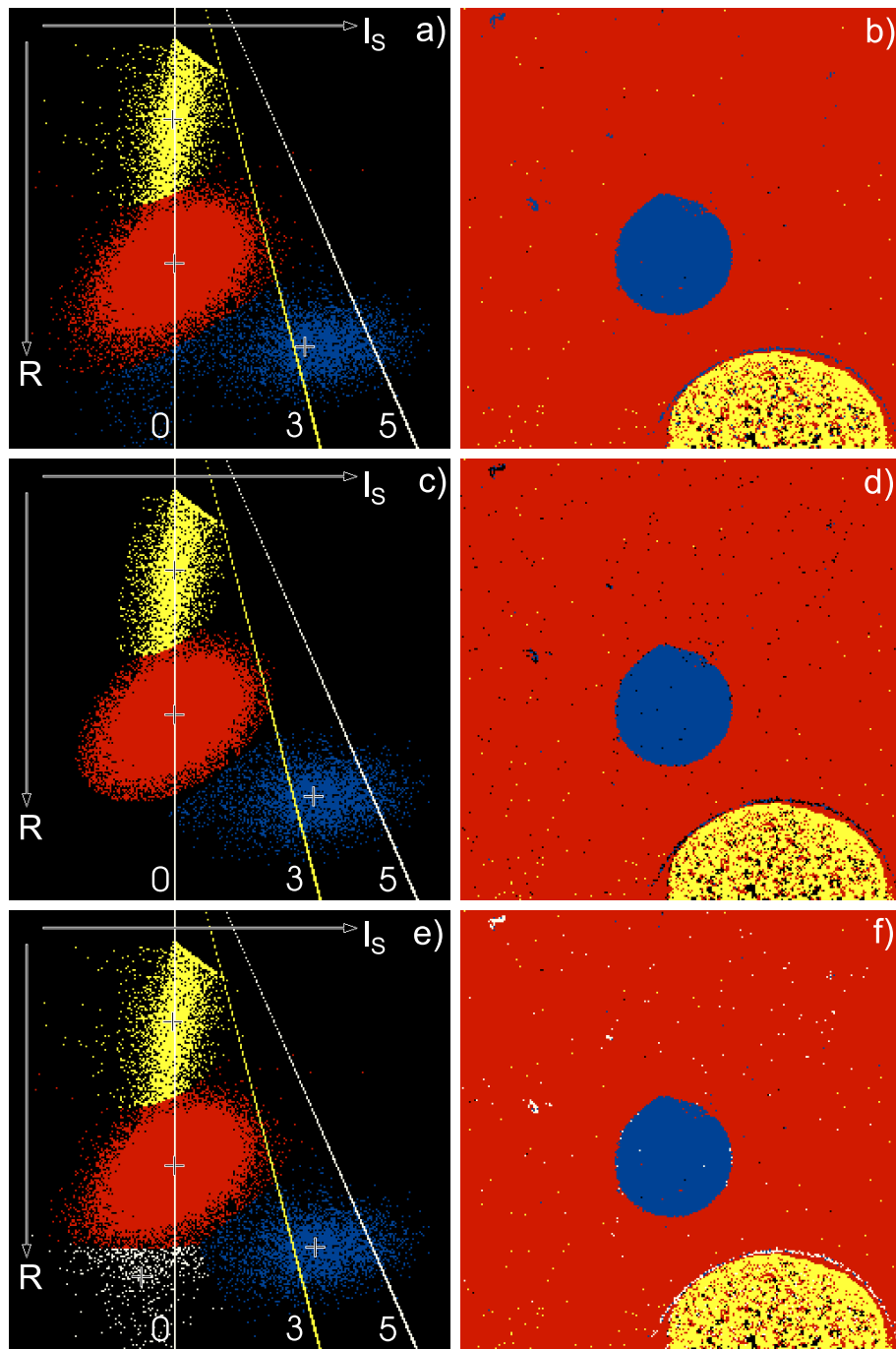


Abbildung 4.13: Ergebnisse der Clusteranalyse nach der Methode der maximalen Wahrscheinlichkeit. Abb. a),b) Zurückweisungsradius $d_{max} = \infty$, Anzahl der Objektklassen $K = 3$; Abb. c),d) Zurückweisungsradius entsprechend einer maximalen Abweichung in Höhe der dreifachen Standardabweichung von den Clusterschwerpunkten ($K = 3$); Abb. e),f) wie a),b) jedoch mit $K = 4$ (Erläuterungen s. Text).

wobei festgestellt wird, daß der Rand des Loches und zwei kleinere Bereiche am linken Rand des Bildes als Cluster „Partikel“ klassifiziert werden. Neben Merkmalsvektoren, welche zum Cluster „Loch“ gehören, treten unterhalb des Clusters „Folie“ offensichtlich auch weitere Merkmalsvektoren auf, die durch eine vierte Objektklasse gebildet werden. Zur Kontrolle werden weitere Clusteranalysen durchgeführt.

In der Abb. 4.13c ist das Ergebnis der Clusteranalyse mit einem Zurückweisungsradius zu finden, welcher für eine eindeutige Zuordnung zu einem Cluster eine maximale Abweichung vom Clusterschwerpunkt in der Größe der dreifachen Standardabweichung zuläßt. In der Segmentierung (Abb. 4.13d) werden so nur noch wenige Pixel der drei angesprochenen Bereiche der Objektklasse „Partikel“ zugeordnet. In einem Vergleich mit der Abb. 4.8b wird ersichtlich, daß es sich hier um Bereiche in der Kohlenstofflochfolie handelt, welche eine hohe relative Schichtdicke in der Größenordnung des Partikels aufweisen. Wie aus der Abbildung R, welche das Rauschen pro Pixel wiedergibt (Abb. 4.11), deutlich wird, ist das Rauschen in diesen Bereichen größer, so daß bei fehlendem Stickstoffsignal entsprechende Merkmalsvektoren im Signal-Rausch-Raum einen vierten Cluster bilden. Die für die Berechnung des Rauschens wichtige Größe hI_U (vgl. Gl. (2.12)) liegt für die dickeren Folienschichten rund 56% über den Werten für die dünneren Bereiche. Die Clusteranalyse mit der Annahme einer vorliegenden Objektklassenanzahl von $K = 4$ ist in der Abb. 4.13e zu sehen. Die entsprechende Segmentierung zeigt Abb. 4.13f, wobei die zusätzlich eingeführte vierte Objektklasse tatsächlich den dickeren Bereichen in der Kohlenstofflochfolie zugeordnet werden kann.

Die Klassifizierung des 2D-Histogramms (Abb. 4.11) nach der Methode des geringsten Abstandes und einer gewählten Klassenzahl von $K = 4$ ist in der Abb. 4.14a zu sehen. Es ist zu erkennen, daß nach dem Abbruch der Iteration der Cluster „Folie“ in zwei Objektklassen unterteilt wird, während die beiden anderen Cluster wie gewohnt dem Loch und dem Partikel zugeordnet werden. Die zusätzlich eingeführte vierte Objektklasse führt in der Klassifizierung anhand der Methode des geringsten Abstandes gegenüber einer Klassifizierung mit einer Klassenzahl von $K = 3$ offensichtlich nicht zu einer verbesserten Segmentierung des Stickstoffverteilungsbildes, wie in der Abb. 4.14b zu sehen ist. Ursächlich hierfür sind die wie bereits in Kap. 3.3.2 besprochenen fehlenden Voraussetzungen für den Einsatz dieses

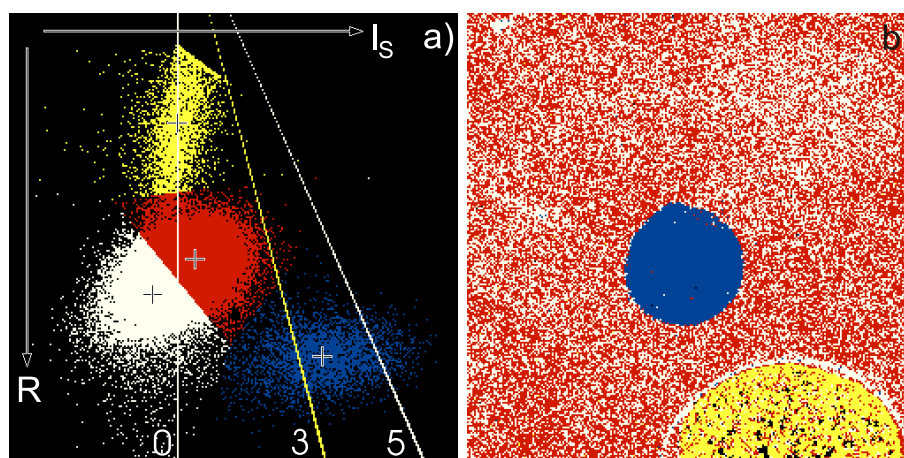


Abbildung 4.14: Klassifizierung des 2D-Histogramms der Abb. 4.11 anhand der Methode des geringsten Abstandes mit $K = 4$ (Abb. a). In der Abb. b) ist die entsprechende Segmentierung des Stickstoffverteilungsbildes zu sehen.

Klassifizierungsverfahrens nach dem die beiden Merkmale innerhalb eines Clusters nicht zu stark bis gar nicht korreliert sein dürfen und die Varianzen für jeweils beide Merkmale nahezu identisch sein sollten.

4.3.2 Eisenverteilung

Im Folgenden wird die Detektion von geringen Eisenkonzentrationen dargestellt. Für die Untersuchungen wurde Ferritin auf eine Kohlefolie präpariert. Ferritin ist ein Makromolekül mit einem Eisenkern. In biologischen Proben dient es als Markermolekül und ermöglicht aufgrund des hohen Streukontrastes die Detektion markierter Bereiche in Hellfeldaufnahmen. In dieser Arbeit erfolgt die Detektion über die L_{23} -Kante des Eisens bei $E_{Fe-L_{23}} = 708\text{eV}$ aus energiegefilterten Bilderserien. Weitere Untersuchungen zur Detektion von Ferritinkonzentrationen in biologischen Proben anhand der M_{23} - und der L_{23} -Kante sind unter anderem bei Haking [17] zu finden. Der Nachweis in den Eisenverteilungsbildern erfolgt in dieser Arbeit mit dem Rose-Kriterium ($SRV \geq 5$).

In der Abb. 4.15a ist das elastisch gefilterte Bild von einer typischen Probenstelle zu sehen. Es zeigt mehrere Ferritinmoleküle, die aufgrund des Streukontrastes als

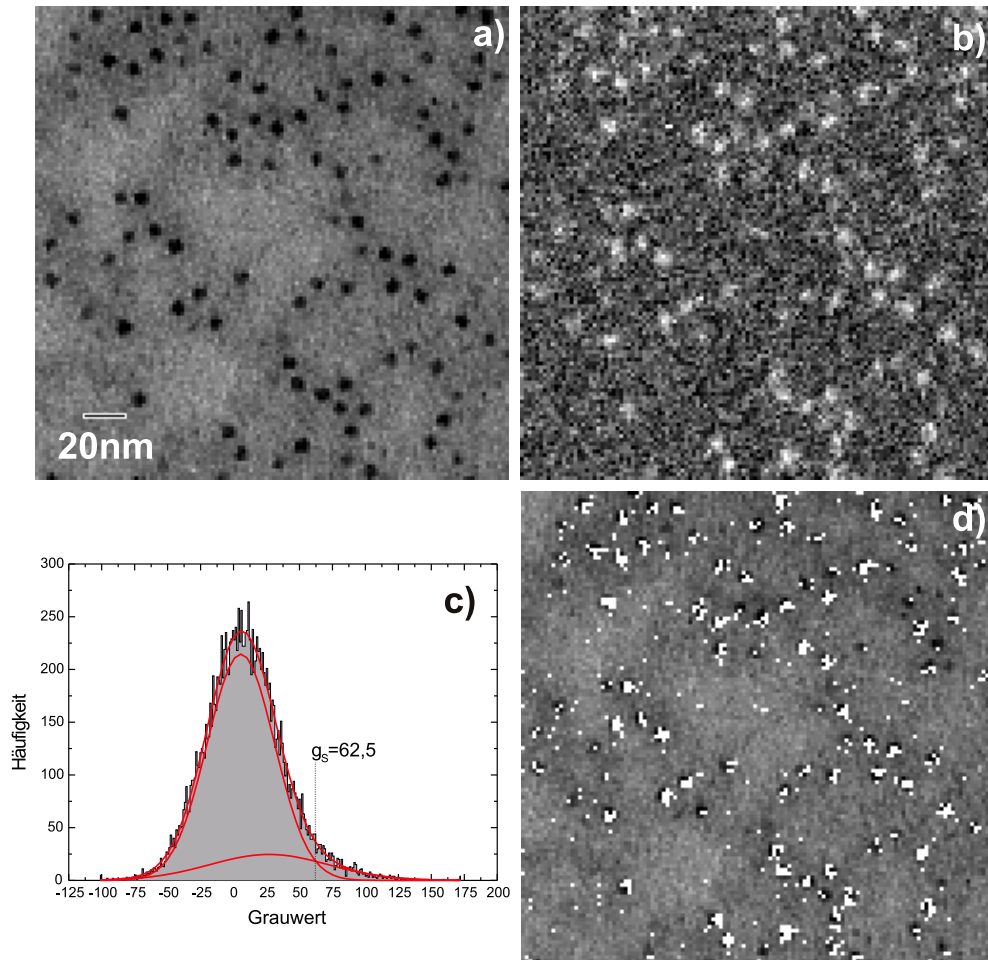


Abbildung 4.15: Elastisch gefiltertes Bild von Ferritinmolekülen auf einer Kohlefolie a). Die Abb. b) zeigt das berechnete Eisenverteilungsbild mit einem mittleren $SRV = 2,59$ in den Signalbereichen. Aus dessen Grauwertverteilung c) wird ein Schwellwert zur Segmentierung ermittelt ($g_s = 62,5$). In der Abb. d) ist die Segmentierung dem „Zero-Loss“ gefilterten Bild überlagert.

dunkle Partikel erkennbar sind. Die elektronenmikroskopische Vergrößerung beträgt $M = 48100$. In der Abb. 4.15b ist das Bild mit den charakteristischen Eisensignalen zu sehen. Zur Berechnung der Eisenverteilung werden drei Vorkantenbilder zur Untergrundkorrektur und ein elementsensitives Bild auf der Fe- L_{23} -Kante aufgenommen. Die Energiefensterbreite wird aus Intensitätsgründen auf $\Delta E = 30\text{eV}$ festgelegt. Der optimale Energieverlust zur Aufnahme des elementsensitiven Bildes ist 727eV . Die Energieverluste der Vorkantenbilder sind 619eV , 654eV und 689eV . Mehrfachstreuungen können hier unberücksichtigt bleiben, da für die Signalbereiche eine maximale relative Schichtdicke von $t/\lambda_{in} = 0,2$ bestimmt wird. Für die Bereiche der Kohlefolie ohne Ferritin beträgt die relative Schichtdicke $t/\lambda_{in} = 0,15$.

Die Abb. 4.15b zeigt das berechnete Eisenverteilungsbild. Das mittlere SRV in den Signalbereichen liegt bei $SRV = 2,58$. Die Größe der Partikel wird mit der Halbwertsbreite der Intensitätsverteilung aus einem Linescans über die Signalbereiche hinweg zu 8nm bestimmt. Für den Fehler bzw. die Unsicherheit wird der Radius des Fehlerscheibchens der chromatischen Aberration $\delta_C = C_C \theta_A \Delta E / E_0$ gewählt, wobei sich mit $C_C = 1,7\text{mm}$, $\theta_A = 3,8\text{mrad}$, $\Delta E = 30\text{eV}$ und $E_0 = 80\text{keV}$ ein $\delta_C \approx 2,4\text{nm}$ ergibt.

In der Abb. 4.15c ist die Grauwertverteilung des Signalbildes (Abb. 4.15b) dargestellt. Aus diesem Histogramm wird ein Schwellwert für die Segmentierung des Eisenverteilungsbildes ermittelt. Im Gegensatz zu dem Histogramm des Stickstoffverteilungsbildes aus Abb. 4.8e liegt hier keine Bimodalität vor. Um einen objektiven Schwellwert zu finden, werden zwei Gaußverteilungen an das Histogramm der Abb. 4.15c angefitet. Aus dem Schnittpunkt der beiden Kurven (Abb. 4.15c) wird der Schwellwert $g_S = 62,5$ bestimmt. Diese Vorgehensweise beruht auf der Annahme, daß zwei Bereiche (Signalbereiche und umliegende Bereiche) auftreten. Mit der durchgeführten Segmentierung in der Abb. 4.15d wird deutlich, daß für nicht bimodale Histogramme das Schwellwertverfahren problematisch wird. Die Pixel, deren Grauwerte oberhalb des Schwellwertes liegen, sind hell markiert und dem „Zero-Loss“-Bild (ZL-Bild) zum besseren Vergleich überlagert. Neben einigen Ferritinen werden fälschlicherweise auch Pixel aus umliegenden Bereichen als „Signalpixel“ markiert.

Die Abb. 4.16 zeigt den klassifizierten Signal-Rausch-Raum und die entsprechende

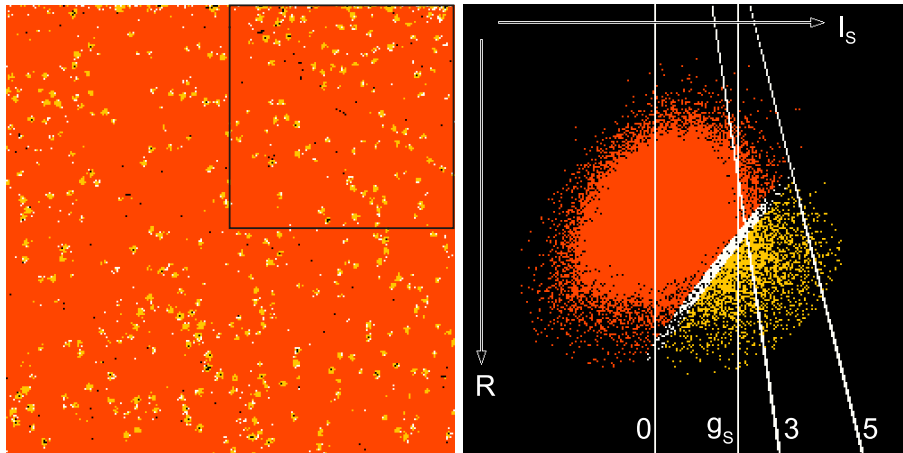


Abbildung 4.16: Ergebnis der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes und die entsprechende Segmentierung des Eisenverteilungsbildes. Der Schwellwert $g_s = 62,5$ führt zur Segmentierung in der Abb. 4.15d.

Segmentierung des Eisenverteilungsbildes (vgl. Abb. 4.15b). Zur Orientierung sind hier die Schwellwerte $I_s = 0$, $SRV = 3$ und $SRV = 5$ eingezeichnet. Zusätzlich ist auch die für das Schwellwertverfahren (Abb. 4.15d) verwendete Grenze $g_s = 62,5$ kenntlich gemacht. In der Darstellung der Segmentierung (links) ist der Ausschnitt umrahmt, welcher in den Abb. 4.15 und 4.17 näher betrachtet wird.

In der Abb. 4.17 ist die Segmentierung anhand der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes den Segmentierungen bezüglich fester Grenzen für das SRV gegenübergestellt. Zum bessern Vergleich sind diese wiederum dem ZL-Bild (Abb. 4.17a) überlagert. In der Segmentierung mit Hilfe der Clusteranalyse werden fast alle Ferritine detektiert. Erkennbar ist jedoch auch, daß vereinzelt einige Pixel falsch klassifiziert werden. Die Segmentierungen anhand der Schwellwerte $SRV = 3$ und $SRV = 5$ sind in der unteren Reihe dargestellt. Mit der Verwendung des Schwellwertes $SRV = 5$ werden maximal ein bis zwei Pixel eines Partikels als Signalpixel klassifiziert. In einem Vergleich mit dem ZL-Bild ist zu erkennen, daß selbst bei dieser Grenze Pixel aus umliegenden Bereichen falsch klassifiziert werden (siehe Bildmitte). Mit dem Grenzwert $SRV = 3$ werden entsprechend vermehrt Pixel aus den Zwischenbereichen falsch klassifiziert. Im Gegensatz zum Schwellwert $SRV = 5$ werden die Partikel

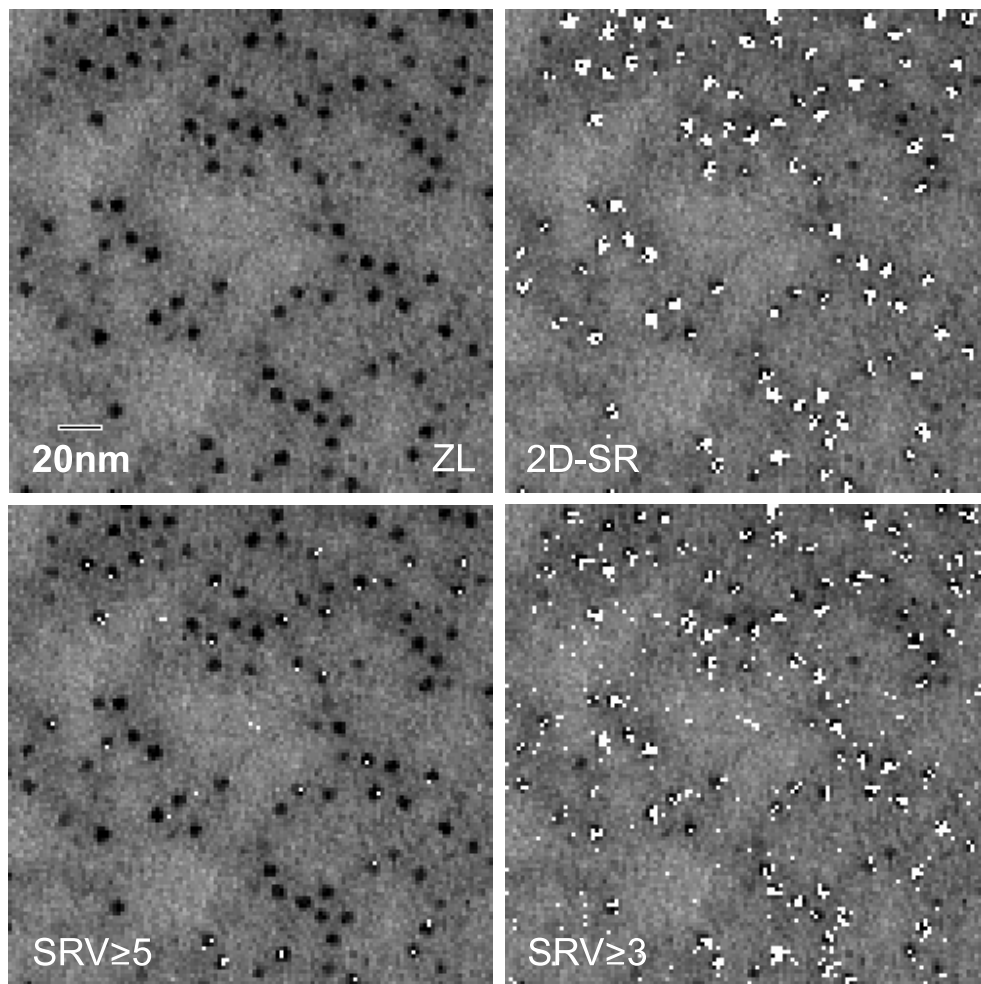


Abbildung 4.17: Gegenüberstellung der Segmentierungen anhand des Rose-Kriteriums ($SRV \geq 3$ und $SRV \geq 5$) und der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes (2D-SR). Die Ergebnisse der Segmentierungen sind hier dem „Zero-Loss“-Bild (ZL) zum besseren Vergleich überlagert.

hier jedoch besser detektiert, d.h. die räumliche Ausdehnung ist gut erkennbar. Die Segmentierung anhand der Clusteranalyse zeigt im Vergleich hierzu offensichtlich die besten Ergebnisse.

In einer weiteren Untersuchung werden zur Verbesserung der SRV das Eisenverteilungs- und das entsprechende Rauschbild mit einem (3×3) -Rechteckfilter (Gl. (4.3)) geglättet. Das geglättete Eisenverteilungsbild ist in der Abb. 4.18b gezeigt. Zum Vergleich ist in Abb. 4.18a das nicht geglättete ZL-Bild zu sehen. Das mittlere SRV einiger ausgewählter Signalbereiche beträgt $SRV = 6,6$ und liegt um einen Faktor 2,56 über dem des nicht geglätteten Verteilungsbildes. Die Abweichung von der theoretischen Verbesserung des SRV um den Faktor $\sum_{ij} M_{ij} / \sqrt{\sum_{ij} M_{ij}^2} = 3$ kann durch die Glättung selbst erklärt werden. Mit dem (3×3) -Rechteckfilter erfolgt die Glättung für die Signalpixel auch teilweise über Bereiche hinweg, welche keine charakteristischen Signale beinhalten, so daß effektiv nur eine Verbesserung des SRV um einen Faktor kleiner drei erreicht wird.

Die Abb. 4.18c zeigt das Histogramm des gemittelten Signalbildes aus der Abb. 4.18b. Im Gegensatz zu dem Histogramm des nicht geglätteten Eisenverteilungsbildes (Abb. 4.15c) ist der Grauwertumfang hier geringer. Weiterhin nimmt durch die Glättung auch die relative Häufigkeit der Pixel mit hohen Grauwerten zu. Ein bimodales Histogramm wird dennoch nicht erreicht, so daß die Bestimmung eines objektiven Schwellwertes wiederum durch den Schnittpunkt zweier angefitzter Gaußkurven erfolgt. Die Segmentierung mit dem Schwellwert $g_s = 22$ ist in der Abb. 4.18d zu sehen. In dieser Abbildung sind Artefakte („falsche“ Partikel) zu erkennen, welche in dem ZL-Bild (Abb. 4.18a) nicht vorhanden sind. Die Ursache hierfür sind „falsche“ Eisensignale im berechneten Verteilungsbild (Abb. 4.15b), welche durch die Glättung mit dem (3×3) -Rechteckfilter betont werden. Für die Nachbarpixel werden fälschlicherweise höhere Intensitäten ermittelt, so daß es zu dieser falschen Segmentierungen kommt.

Das Ergebnis der Clusteranalyse und das segmentierte Eisenverteilungsbild sind in der Abb. 4.19 zu sehen. Die beiden Objektklassen (Partikel und umliegende Bereiche) zeigen eine starke Überlappung. Die Annahme bivariater Gaußverteilungen zur Klassifikation wird jedoch beibehalten. Erfahrungsgemäß liefert die entsprechend durchgeführte Clusteranalyse auch bei Überlappungen der Cluster durchaus sinn-

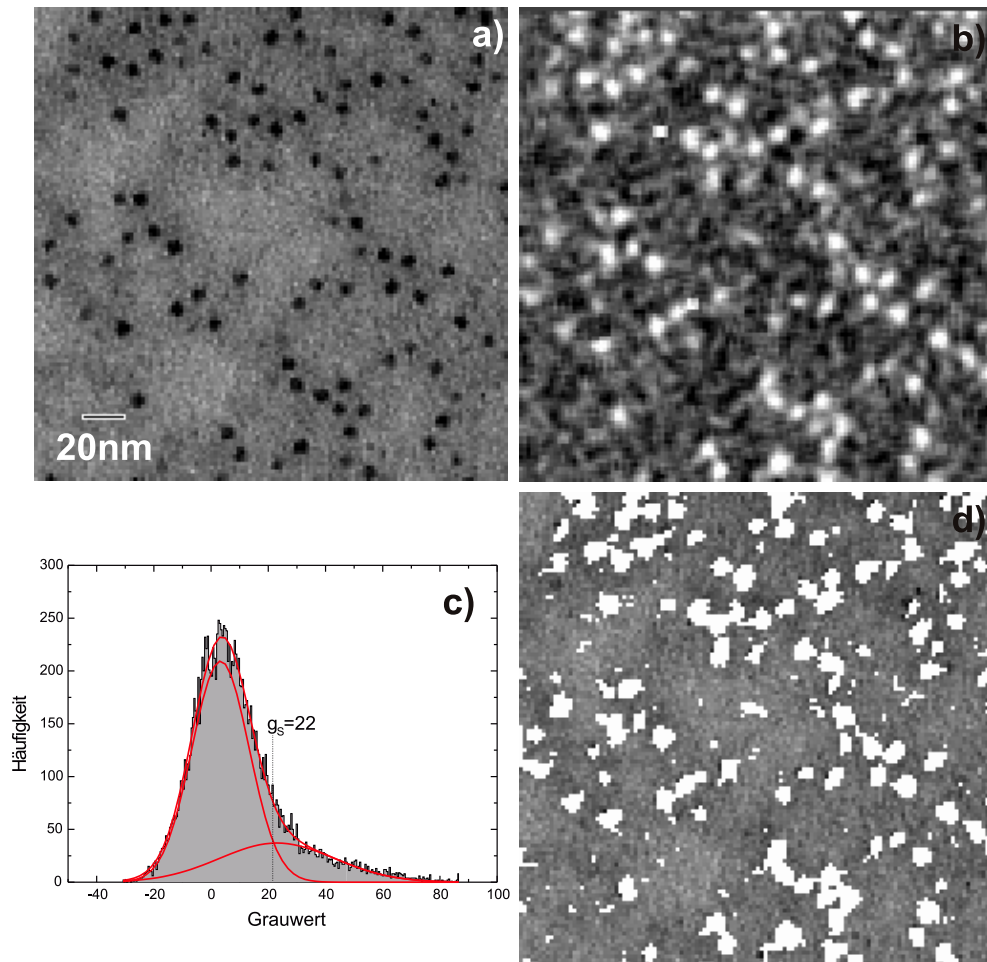


Abbildung 4.18: Verbesserung des SRV durch Glättung des Signal- und des Rauschbildes der Eisenverteilung mit einem (3×3) -Rechteckfilter (Gl. (4.3)). Abb. a) zeigt das ZL-Bild. Das geglättete Eisenverteilungsbild ist in der Abb. b) zu sehen und dessen Grauwertverteilung in Abb. c). Die Abb. d) zeigt die Segmentierung nach dem Schwellwertverfahren ($g_s = 22$). Das mittlere SRV in den Signalbereichen liegt bei $SRV = 6,6$.

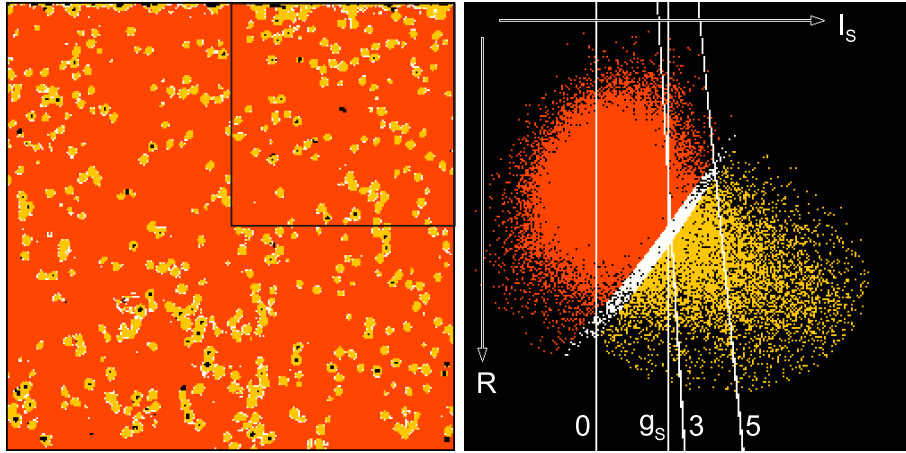


Abbildung 4.19: Ergebnis der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes und entsprechende Segmentierung des geglätteten Eisenverteilungsbildes (Abb. 4.18b). Der Schwellwert $g_s = 22$ führt zur Segmentierung in der Abb. 4.18d.

volle Klassifizierungen.

In den Clusteranalysen (Abb. 4.16 und 4.19) wird jeweils eine Zurückweisungsgrenze bezüglich des Abstandes vom Clusterzentrum zur Klassifikation der Merkmalsvektoren verwendet. Auftretende Ausreißer sollen hierdurch unberücksichtigt bleiben. Für den Partikelcluster wird diese so gewählt, daß Merkmalsvektoren bis zur rund 2,58-fachen Standardabweichung vom Clusterzentrum klassifiziert werden. Dies entspricht unter der Annahme einer bivariaten Gaußverteilung einer Berücksichtigung von 99% aller Merkmalsvektoren. Für Cluster mit einer hohen Streuung (breite und flache Verteilung) zeigt diese Grenze die besten Ergebnisse für die Klassifikation. Treten Cluster mit geringer Streuung (schmale und hohe Verteilung) auf, so kann die Zurückweisungsgrenze bis zur fünffachen Standardabweichung erweitert oder auf $d_{max} = \infty$ (keine Grenze) festgelegt werden. Für die Cluster der umliegenden Bereiche werden 99,99% (entsprechend einer rund 3,89-fache Standardabweichung vom Clusterzentrum) aller Merkmalsvektoren berücksichtigt.

Die Segmentierungen bezüglich des SRV und der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes der geglätteten Bilder sind in der Abb. 4.20 zu sehen. Für die Schwellwerte $SRV = 3$ und $SRV = 5$ ist erkennbar, daß die Ferritine relativ gut markiert wer-

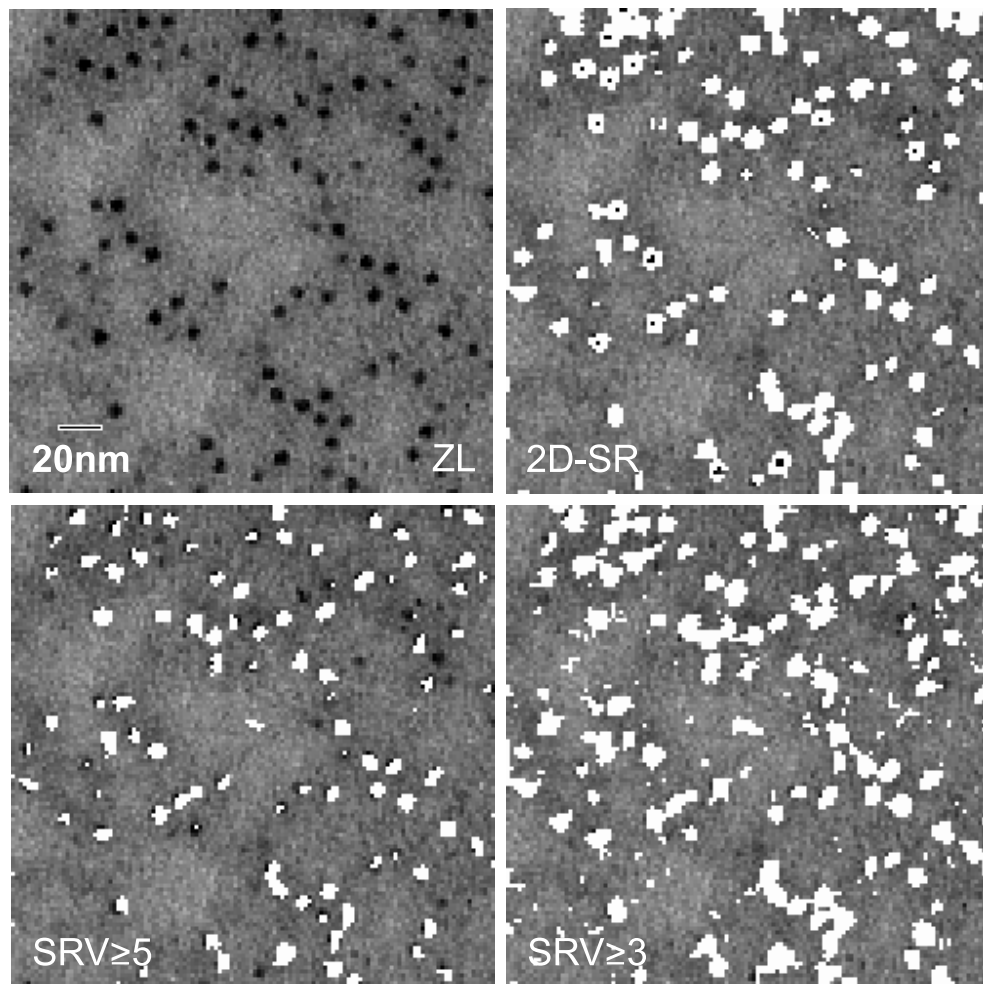


Abbildung 4.20: Gegenüberstellung der Segmentierungen des geglätteten Eisenverteilungsbildes anhand des Rose-Kriteriums ($SRV \geq 3$ und $SRV \geq 5$) und der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes (2D-SR). Die Segmentierungen sind dem nicht geglätteten „Zero-Loss“-Bild (ZL) zum besseren Vergleich überlagert.

den. In beiden Segmentierungen sind jedoch auch Artefakte („falsche“ Partikel; s.o.) zu sehen, wobei sie für den Schwellwert $SRV = 3$ deutlich ausgeprägter sind. Die Segmentierung anhand der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes (2D-SR) zeigt eine gute Segmentierung, wobei Artefakte hier nicht zu erkennen sind (s. Bildmitte). Bei einigen Partikeln werden jedoch Pixel durch die Clusteranalyse nicht klassifiziert (schwarze Punkte). Aufgrund der verwendeten Zurückweisungsgrenze werden einige „Ausreißer“, d.h. auch Pixel mit einem relativ hohen SRV, bei der Klassifikation nicht berücksichtigt. Abschließend ist zu sagen, daß eine Glättung über größere Bereiche hinweg keine sinnvollen Ergebnisse mehr liefert, wobei mit der stärkeren Verwaschung vermehrt Artefakte auftreten.

4.4 Diskussion

In Kap. 4.2 wurde gezeigt, daß die Segmentierung anhand der Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes einer simulierten Elementverteilung prinzipiell möglich ist. Für mittlere $SRV > 5$ zeigen diese Segmentierungen und die Segmentierungen mit Hilfe des Rose-Kriteriums vergleichbare bzw. identische Ergebnisse. Sinkt das mittlere SRV der Signalbereiche, so bietet die Clusteranalyse jedoch Vorteile. Bis zu einem mittleren SRV um drei zeigt die Detektion simulierter Elementverteilungen relativ geringe Fehlklassifizierungen, wobei die räumliche Ausdehnung dieser Signalbereiche gut erkennbar bleibt.

Die theoretischen Ergebnisse werden in Kap. 4.3 anhand Stickstoff- und einer Eisenverteilung experimentell überprüft. Bei geringer Vergrößerung wird das BN-Partikel hier gut segmentiert, und fast alle Pixel innerhalb dessen kreisförmiger Ausdehnung werden als Signalpixel markiert. Die Segmentierung anhand des Rose-Kriteriums zeigt hier einige Schwächen. Der Grund hierfür beruht auf der Betrachtungsweise des Detektionsprozesses. Die Beurteilung, ob ein gegebenes Signal sicher einem charakteristischen Streuprozeß zugeordnet werden kann, erfolgt für die berechneten Elementverteilungsbilder für jeden Pixel einzeln. Im Gegensatz hierzu werden in der Clusteranalyse Pixel mit ähnlichen Merkmalsausprägungen (Signal und Rauschen) zu einer Objektklasse gruppiert. Wie aus der Abb. 4.8 deutlich wird, zeigt die so erhaltene Segmentierung des BN-Partikels geringere Fehlklassifizierungen. Der

Durchmesser des segmentierten Partikels entspricht hier der Halbwertsbreite der Eisensignale, welche aus dem berechneten Elementverteilungsbild ermittelt wurde. Allein durch die Betrachtung des SRV pro Pixel werden offensichtlich einige Pixel innerhalb des Bereiches des Partikels fälschlicherweise nicht klassifiziert.

Ist das Grauwerthistogramm des berechneten Elementverteilungsbildes bimodal, so liefert die Segmentierung mit dem Schwellwertverfahren gute Ergebnisse. Für nicht bimodale Histogramme ist es jedoch problematisch, einen objektiven Schwellwert zu finden (vgl. Kap. 4.3.2). In diesem Fall sollte entweder auf das Rose-Kriterium oder auf die Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes zurückgegriffen werden. Zur Clusteranalyse ist jedoch einschränkend zu sagen, daß Überlappungen der Cluster keine eindeutige Klassifizierung zulassen und mit Fehlklassifizierungen zu rechnen ist. Die Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes ist in Kap. 4.3.1 für eine Eisenverteilung experimentell überprüft worden. Die hier präparierten Ferritinmoleküle haben eine Ausdehnung von $8nm \pm 2,4nm$, und das mittlere SRV in den Signalbereichen des berechneten Eisenverteilungsbildes beträgt $SRV = 2,58$. Das Histogramm des Eisenverteilungsbildes ist nicht bimodal. Der Vergleich mit dem ZL-Bild zeigt, daß die Segmentierung anhand des Schwellwertverfahrens bezüglich der Grauwertverteilung hier nur bedingt einsetzbar ist. Die Segmentierung mit den Schwellwerten $SRV = 3$ und $SRV = 5$ sind mit der Clusteranalyse konsistent. Zu erkennen ist jedoch die mit dem Rose-Kriterium verbundene größere Fehlklassifizierung.

In einer weiteren Analyse wird versucht, das SRV durch die Glättung mit einem (3×3) -Rechteckfilter zu verbessern. Nach der Glättung führen „falsche“ Signale im berechneten Elementverteilungsbild jedoch zu größeren Artefakten, so daß mit dem Rose-Kriterium vermehrt „falsche“ Partikel detektiert werden. Im Gegensatz hierzu markiert die Clusteranalyse diese Artefakte nicht.

Die Clusteranalyse liefert gute Segmentierungen mit geringen Fehlklassifizierungen und kann als Ergänzung oder Alternative zu anderen Segmentierungsmöglichkeiten eingesetzt werden. Es ist durchaus denkbar, die Clusteranalyse und damit die Segmentierung zu automatisieren, indem zum Beispiel die Anzahl auftretender Objektklassen von einem entsprechenden Algorithmus selbständig gefunden wird. Eine weitere Überlegung ist, in Abhängigkeit von der Form der Cluster, andere Funktionsverläufe zur Modellierung der Cluster zu verwenden.

Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit ist die Auswertung von berechneten Elementverteilungsbildern, die aus experimentellen Daten mit Hilfe der energiefilternden Transmissionselektronenmikroskopie gewonnen werden. Durch die Interpretation dieser Bilder können Aussagen über die chemischen Zusammensetzungen der untersuchten Materie getroffen werden. Um Fehler bei der Charakterisierung weitestgehend zu vermeiden bzw. berechnete Elementsignale sicher einem charakteristischen Streuprozess zuzuordnen, werden die erstellten Elementverteilungsbilder üblicherweise nach ihrem Signal-zu-Rausch-Verhältnis beurteilt.

Signale mit einem hohen SRV, welche unelastische Streuprozesse der Primärelektronen in der Materie charakterisieren, sollen so von dem statistisch auftretenden Rauschen getrennt werden. Das von Rose [36] für den lichtoptischen Fall vorgeschlagene Schwellwertverfahren, nach dem ein Signal mit einem $SRV \geq 3 \dots 5$ als gesichert angenommen werden kann, wurde hierzu auf die Elektronenmikroskopie übertragen. Mit diesem Nachweiskriterium können die berechneten Elementverteilungsbilder entsprechend segmentiert werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß bei diesem Verfahren die Pixel in einem Bild als unabhängig voneinander angenommen werden. Wie in Abb. 2.2 weiterhin verdeutlicht wurde, wirken sich redundante Informationen auf die Sichtbarkeit bzw. den Nachweis von Partikeln in einem Elementverteilungsbild aus, so daß die mit dem Rose-Kriterium erhaltenen Segmentierungen unter Umständen fehlerhafte Segmentierungen liefern.

Ziel dieser Arbeit war es, ein Verfahren zu finden, mit welchem eine vorurteilsfreie Gruppierung von „sicheren“ Signalpixeln erreicht werden kann, um die Interpretation der berechneten Elementverteilungsbilder zu verbessern. Es wurde versucht, das SRV als sinnvolles Nachweiskriterium mit den auftretenden redundanten Informati-

onen zu verknüpfen. In 2-dimensionalen Streudiagrammen werden die Intensitäten des Elementverteilungsbildes gegen das Rauschen pro Pixel aufgetragen. Die erhaltenen 2-dimensionalen Häufigkeitsverteilungen werden hier als Signal-Rausch-Räume bezeichnet. In diesen Darstellungen kann das Auftreten von Clustern beobachtet werden, in welchen sich Pixel der beiden Ursprungsbilder (Signal- und Rauschbild) mit ähnlichen Signal-Rausch Kombinationen gruppieren. Mit Hilfe entsprechender Klassifikationsmethoden ist es möglich, diese Cluster voneinander zu trennen, und die so gebildeten Objektklassen zur Segmentierung der Elementverteilungsbilder auszunutzen.

In dieser Arbeit wurden die Quadermethode, die Methode des geringsten Abstandes und die Methode der höchsten Zuordnungswahrscheinlichkeit vorgestellt. Die Quadermethode als ein 2-dimensionales Schwellwertverfahren ist einfach durchzuführen und liefert schnelle Segmentierungen zum Überblick. Ein Nachteil dieser Methode ist jedoch die relativ hohe Fehlklassifizierung. Die Methode des geringsten Abstandes ist gut geeignet für Cluster, in welchen das Signal und das Rauschen nicht zu stark korrelieren und die Varianzen beider Merkmale ähnliche Werte aufweisen. Die etwas aufwendigere Methode der maximalen Zuordnungswahrscheinlichkeit kann darüberhinaus auch zur Klassifizierung eingesetzt werden, wenn die beiden Merkmale stark korreliert sind und sich die Varianzen unterscheiden. In dem hier verwendeten EM-Algorithmus erfolgt die Klassifizierung eines Pixels zu einem Cluster über die maximale Zuordnungswahrscheinlichkeit mit Hilfe des Bayessches Lernens. In dieser Vorgehensweise kann Vorwissen über das Präparat in Form von Apriori-Wahrscheinlichkeiten eingebracht werden. Das Ergebnis der Klassifizierung des Signal-Rausch-Raumes beruht auf der Auswertung der berechneten Aposteriori-Wahrscheinlichkeiten und kann entsprechend als neu gewonnenes Wissen interpretiert werden.

Anhand der Auswertung simulierter Bilderserien wurde das Verfahren zur Segmentierung der Elementverteilungsbilder erfolgreich getestet. Für mittlere SRV in den Signalbereichen um drei zeigt die Detektion simulierter Elementverteilungen relativ geringe Fehlklassifizierungen. Die räumliche Ausdehnung dieser Bereiche bleibt im Gegensatz zur Segmentierung mit Hilfe des Rose-Kriteriums hier gut erkennbar. Praktisch wurde das Verfahren in der Segmentierung eines Stickstoff- und eines Ei-

senverteilungsbildes demonstriert und mit den Ergebnissen des Rose-Kriteriums verglichen. In der entsprechenden Darstellung des Signal-Rausch-Raumes der Stickstoffverteilung sind die theoretisch vorhergesagten Cluster der einzelnen Objektklassen (z.B. die „Partikel-Klasse“) gut zu sehen. Zur besseren Orientierung sind in diesen Abbildungen die Schwellwerte für Segmentierungen bezüglich des SRV ($SRV = 3$ und $SRV = 5$) eingezeichnet. Im Gegensatz zu den so segmentierten Elementverteilungsbildern liefert die Clusteranalyse des Signal-Rausch-Raumes objektiv bessere Segmentierungen mit geringeren Fehlklassifizierungen. Mit den Segmentierungen eines Eisenverteilungsbildes konnte weiterhin gezeigt werden, daß dieses Verfahren auch auftretende Artefakte in den Elementverteilungsbildern kenntlich macht und entgegen den Segmentierungen bezüglich des SRV nicht zu fehlerhaften Detektionen führt.

Für einen breiten Einsatz dieser Methode könnte die Clusteranalyse und damit die Segmentierung automatisiert werden, indem zum Beispiel die Anzahl auftretender Objektklassen von einem entsprechenden Algorithmus selbständig gefunden wird. Eine weitere Verbesserungsmöglichkeit wäre, in Abhängigkeit von der Form der Cluster, andere Funktionsverläufe zur Modellierung der Cluster zu verwenden.

Die Clusteranalyse liefert gute Segmentierungen mit geringen Fehlklassifizierungen und kann als Ergänzung oder Alternative zu anderen Segmentierungsmöglichkeiten eingesetzt werden. Mit ihr wird damit die Detektion gesicherter Elementsignale objektiviert.

Literaturverzeichnis

- [1] Bazett-Jones, D.P. und Ottensmeyer, F.P.: Phosphorus distribution in nucleosome. *Science* **211** (1981) 169-170
- [2] Beckers, A.L.D, de Bruijn, W.C., Cleton-Soeteman, van Eijk, H.G. und Gelsema, E.S.: New developments and applications in quantitative electron spectroscopic imaging of iron in human liver biopsies. *Micron* **28** (1997) 349-359
- [3] Berger, A.: Abbildung von Elementverteilungen mit hoher Ortsauflösung im Transmissions-Elektronenmikroskop. Dissertation (D17), Institut für Angewandte Physik der TH Darmstadt (1993)
- [4] Berger, A. und Kohl, H.: Optimum imaging parameters for elemental mapping in an energy filtering transmission electron microscope. *Optik* **92** (1993) 175-193
- [5] Bevington, P.R.: Data reduction and error analysis for physical sciences. McGraw-Hill, New York (1969)
- [6] Bonnet, N.: Artificial Intelligence and Pattern Recognition Techniques in Microscope Image Processing and Analysis. *Adv. in Imaging and Electron Physics* **114** (2000) 1-77
- [7] Bonnet, N., Simova, E., Lebonvallet S. und Kaplan. H.: New application of multivariate statistical analysis in spectroscopy and microscopy. *Ultramicroscopy* **40** (1992) 1-11
- [8] Bishop, C.M.: Neural Networks for Pattern Recognition. Clarendon Press, Oxford (1995)

- [9] Colliex, C.: Electron energy-loss spectroscopy in the electron microscope. Adv. in optical and electron microscopy **9** (1984) 65-177
- [10] Eckardt, J.: Optimierung von Geräteparametern für den Nachweis kleiner Teilchen in hochauflösenden Elementverteilungsbildern. Diplomarbeit, Physikalisches Institut der WWU Münster (1996)
- [11] Egerton, R.F.: Electron energy-loss spectroscopy in the electron microscope. Plenum Press, New York (1989)
- [12] Fraley, C. und Raftery, A.E.: How Many Clusters? Which Clustering Method? Answers Via Model-Based Cluster Analysis. Technical Report No. 329, Department of Statistics University of Washington
- [13] Golla, U. und Kohl, H.: Theoretical and experimental investigations of resolution and detection limits in energy-filtering electron microscopy. Micron **28** (1997) 397-406
- [14] El Gomati, M.M., Peacock, D.C., Prutton, M. und Walker, C.G.: Scatter diagrams in energy analysed digital imaging: application to scanning Auger microscopy. J. of Microscopy **147** (1987) 149-158
- [15] Grogger, W., Hofer, F. und Kothleitner, G.: Quantitative chemical phase analysis of EFTEM elemental maps using scatter diagrams. Micron **29** (1998) 43-51
- [16] Haberäcker, P.: Digitale Bildverarbeitung. Carl Hanser Verlag, München (1991)
- [17] Haking, A.: Ein neues Untergrundsubtraktionsverfahren zur Bestimmung von Elementverteilungen in biologischen Proben mit einem energiefilternden Transmissionselektronenmikroskop. Dissertation, Physikalisches Institut der WWU Münster (1998)
- [18] Hofer, F., Grogger, W., Kothleitner, G. und Warbichler, P.: Quantitative analysis of EFTEM elemental distribution images. Ultramicroscopy **67** (1997) 83-103

- [19] Hülk, C.: Charakterisierung von CCD-Kamerasystemen in der Transmissions-elektronenmikroskopie und deren Einsatz bei der Erstellung von Elementverteilungsbildern. Dissertation, Physikalisches Institut der WWU Münster (1997)
- [20] Jähne, B.: Digitale Bildverarbeitung. Springer Verlag, Berlin (1997)
- [21] Krivanek O.L., Gubbens A.J., Kundmann M.K. und Karpenter, G.C.: Elemental mapping with an energy selecting imaging filter. Proc. 51th EMSA Meeting (1993) 586-587
- [22] Kenda, A., Eibl, O., und Pongratz, P.: Multiphase analysis with EDX elemental maps: software implementation and application to $(Bi, Pb)_2Sr_2Cu_3O_{10+\delta}$ high- T_C superconducting tapes. Micron **30** (1999) 85-97
- [23] Knippelmeyer, R.: Bestimmung von Übertragungsfunktionen zur quantitativen Auswertung von Elementverteilungsbildern. Dissertation, Physikalisches Institut der WWU Münster (2000)
- [24] Kujawa, S. und Krah, D.: Performance of a low-noise CCD camera adapted to a transmission electron microscope. Ultramicroscopy **46** (1992) 395-403
- [25] Leapman, R.D., Hunt, J.A., Buchanan, R.A und Andrews, S.B.: Measurement of low calcium concentrations in cryosectioned cells by parallel-EELS mapping. Ultramicroscopy **49** (1993) 225-234
- [26] Maldonado, R. und Nembach, E.: The formation of precipitate free zones and the growth of grain boundary carbides in the nickel-base superalloy Nimonic PE16. Acta Metallurgica **45** (1997) 213-224
- [27] Marinell, G.: Multivariate Verfahren. Oldenbourg Verlag, München (1998)
- [28] Natusch, M.K.H., Humphreys, C.J., Menon, N. und Krivanek, O.L.: Experimental and theoretical study of the detection limits in electron energy-loss spectroscopy. Micron **30** (1999) 173-183
- [29] Reimer, L.: Transmission Electron Microscopy. Physics of Image Formation and Microanalysis. Springer Series in Optical Sciences **36**, Springer, Berlin (1997)

- [30] Reimer, L.: Electron Spectroscopic Imaging. Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy. Springer Series in Optical Sciences **71**, Springer, Berlin (1995)
- [31] de Ruijter, W.J.: Image properties and application of slow-scan charge-coupled device cameras suitable for electron microscopy. *Micron* **26** (1995) 247-275
- [32] Plitzko, J.M.: Quantitative Methoden in der energiefilternden Transmissions-elektronenmikroskopie. Dissertation (Nr.76), Max-Planck-Institut für Metallforschung Stuttgart (1998)
- [33] Pun, T., Ellis, J.R., und Eden, M.: Weighted least squares estimation of background in EELS imaging. *J. of Microscopy* **137** (1985) 93-100
- [34] Pun, T., Ellis, J.R. und Eden, M.: Optimized acquisition parameters and statistical detection limit in quantitative EELS. *J. of Microscopy* **135** (1984) 295-316
- [35] Rose, A.: A unified approach to the performance of photographic film, television pick-up tubes and the human eye. *J. Soc. Motion Picture Engrs.* **47** (1946) 273-294
- [36] Rose, A.: Quantum limitations to vision at low light levels. *Image Technology* **12** (1970) 13-15
- [37] Russ, J.C.: The image processing handbook. CRC Press, Boca Raton (1995)
- [38] Schuchard-Ficher, Ch., Backhaus, K., Humme, U., Lohrberg, W., Plinke, W. und Schreiner, W.: Multivariate Analysemethoden: Eine anwendungsorientierte Einführung. Springer, Berlin (1982)
- [39] StatSoft Inc.: Electronic Statistics Textbook. Tulsa (1999); <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>
- [40] Titchmarsh, J.M.: EDX spectrum modelling and multivariate analysis of sub-nanometer segregation. *Micron* **30** (1999) 159-171

- [41] Trebbia, P.: Unbiased method for signal estimation in electron energy loss spectroscopy, concentration measurements and detection limits in quantitative microanalysis: methods and programs. *Ultramicroscopy* **24** (1988) 399-408
- [42] Trebbia, P. und Manoubi, T.: From experiment to interpretation: confidence limits. *Ultramicroscopy* **28** (1989) 266-276
- [43] Trebbia, P.: Maxwell's demon and data analysis. *Phil. Trans. R. Soc. London A* **452** (1996) 2697-2711
- [44] Trebbia, P. und Mory, C.: EELS mapping with unconventional methods II. Applications to biological specimens. *Ultramicroscopy* **34** (1990) 179-203
- [45] Tenailleau, H. und Martin, J.M.: A new background subtraction for low energy EELS core edges. *J. Microscopy* **166** (1992) 297-306
- [46] Unser, M., Ellis, S.R., Pun, T. und Eden, M.: Optimal background estimation in EELS. *J. of Microscopy* **145** (1987) 245-256
- [47] Williams, D.B. und Carter, C.B.: *Transmission Electron Microscopy*. Plenum Press, New York (1996)
- [48] Zepke, U.: Vergleich verschiedener Verfahren zur quantitativen Bestimmung der chemischen Zusammensetzung aus Elektronen-Energieverlust-Spektren. Dissertation, Physikalisches Institut der WWU Münster (1995)

Danksagung

Ich bedanke mich bei allen, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Ich danke insbesondere...

- Prof. Dr. H. Kohl für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Abteilung Elektronenmikroskopie des Physikalischen Instituts zu erstellen und für seine Anregungen und seinem regen Interesse an der Arbeit,
- Hilmar Hoffmeister, Andreas Thesing, Karl-Heinz Krämer, Rainer Knippelmeyer und allen weiteren Mitgliedern der Abteilung Elektronenmikroskopie für fruchtbare fachliche Diskussionen und das freundschaftliche Arbeitsklima,
- Joerg Uhlig für wertvolle Diskussionen zum Thema „Bayessches Lernen“,
- Thorsten Krol aus der Abteilung Materialphysik von Prof. Dr. E. Nembach des Physikalischen Instituts für die Bereitstellung des Nimonic PE16 Präparates zur Erstellung der Phasen-Maps,
- Herrn Dr. H. Tröster vom Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg für die freundliche Überlassung der Ferritinprobe,
- und meinen Eltern für ihre unermüdliche Unterstützung.

Lebenslauf

Name	Ingo Müller
geboren	am 25.10.1971 in Lüdinghausen
Familienstand	ledig
Eltern	Rudolf Müller Hedwig Müller, geb. Deipenbrock
Schulbildung	1978–1982 Ludgeri Grundschule Lüdinghausen 1982–1988 Städt. Realschule Lüdinghausen 1988–1991 St.-Antonius-Gymnasium Lüdinghausen
Hochschulreife	Abitur am 19.06.1991 in Lüdinghausen
Studium	Immatrikulation an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster am 19.08.1991 im Fachbereich Physik
Prüfungen	Physik-Diplom am 12.05.1997 an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster
Beginn der Dissertation	im Juni 1997 am Physikalischen Institut der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster bei Prof. Dr. H. Kohl
Tätigkeiten	Studentische Hilfskraft (01.04.96–31.05.97) Wissenschaftliche Hilfskraft (01.06.97–30.09.98) Wissenschaftlicher Mitarbeiter (01.10.98–31.03.01) Wissenschaftliche Hilfskraft (01.04.01–30.09.2001) am Physikalischen Institut der WWU Münster

