



# Uso de técnicas de programação em Python para processar imagens de padrões de difração e espectros obtidos por microscópios de transmissão eletrônica (TEM)

Palavras-Chave: TEM, EDS, PROCESSAMENTO DE IMAGENS, APRENDIZADO DE MÁQUINA

Autores:

GEAN ROSSI DOS SANTOS, IFGW – UNICAMP

Prof. Dr. DANIEL MARIO UGARTE (orientador), IFGW - UNICAMP

---

## INTRODUÇÃO:

A pesquisa realizada no âmbito do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) tem como objetivo o uso de técnicas de programação em *python* para processar imagens de padrões de difração e de espectros obtidos por microscópios de transmissão eletrônica (TEM), a fim de melhorar e otimizar a análise dos resultados. Além disso, a pesquisa visa proporcionar um aprendizado geral sobre a técnica de TEM em si.

A relevância da pesquisa se dá pela crescente necessidade de lidar com uma quantidade cada vez maior de informações dado o avanço das tecnologias de aquisição de dados no meio científico. Sendo assim, se torna crucial a otimização do tratamento dos dados e da forma com que eles são adquiridos.

O projeto teve como foco o processamento de imagem de um padrão de difração do cristal wurtzita (InP) e de um mapa de espectros relacionados às nanopartículas de ouro e prata e obtidos pela técnica de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS). No primeiro caso, o objetivo foi de caracterizar a orientação completa do cristal, já no segundo caso, foi de estimar a concentração de ouro e prata em cada nanopartícula.

Ao final, os resultados mostraram que é possível usar técnicas de programação e de *machine learning* para otimizar processos. Mais especificamente, foi possível calcular quantitativamente a desorientação do eixo de zona do cristal wurtzita em relação ao feixe de elétrons e através da redução de dimensionalidade mapear e quantificar os elementos presentes nas nanopartículas.

## METODOLOGIA:

### Cristal Wurtzita (InP):

O estudo referente ao cristal wurtzita (InP) envolveu a análise do padrão de difração mostrado na Figura 1. Se tratando de wurtzita, sabemos que a estrutura cristalina é do tipo hexagonal compacta (hcp).

Primeiramente, com a intenção de encontrar o eixo de zona do cristal, foi necessário fazer a indexação. Para isso, utilizou-se do método das razões entre as distâncias interplanares, as quais podem ser calculadas analiticamente através dos índices de Miller e dos parâmetros de rede  $a$  e  $c$  do material (Equação 1) e experimentalmente através das razões das distâncias entre os diferentes pontos no padrão de difração (distâncias essas que estão intrinsecamente relacionadas com as distâncias interplanares).

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \left[ \frac{4}{3}(h^2 + k^2 + l^2) + l^2 \left( \frac{a}{c} \right)^2 \right] \frac{1}{a^2} \quad (1)$$

Além da razão entre as distâncias, pode-se calcular teoricamente e experimentalmente o ângulo entre dois vetores no espaço recíproco (Equação 2).

$$\cos\alpha = \frac{\frac{4}{3a^2}(h_1h_2+k_1k_2+\frac{1}{2}(h_1k_2+k_1h_2))+\frac{1}{c^2}l_1l_2}{g_1 \cdot g_2} \quad (2)$$

Sendo assim, é possível comparar os valores experimentais com os que são calculados teoricamente e verificar para quais valores de hkl esses dados coincidem. No entanto, de forma mais direta, pode-se usar tabelas da literatura que reproduzem as simetrias e as razões entre as distâncias interplanares das principais direções analisadas nos cristais hcp.

De todo modo, é necessário fazer medições no padrão da Figura 1. Portanto, utilizando-se do software *ImageJ*, mediu-se distâncias que relacionavam o ponto brilhante central com os pontos mais próximos e calculou-se as razões entre essas distâncias, além disso, mediu-se os ângulos entre os vetores que representam cada distância (Figura 2). É importante mencionar que para se obter resultados mais precisos, mediu-se distâncias que representavam múltiplos do tamanho dos vetores, e através de uma divisão chega-se aos valores reais.

Assim, sabendo a direção de pelo menos dois vetores, e através de operações entre eles, é possível realizar a indexação completa.

Apesar do eixo de zona ter sido identificado, o feixe de elétrons não necessariamente está paralelo ao eixo de zona. Como é visto na Figura 1, os pontos não possuem a mesma intensidade. Na verdade, os pontos mais intensos estão formando um círculo, e é justamente isso que indica uma desorientação entre o feixe e o eixo de zona.

Uma forma simples de estimar essa desorientação é feita através da relação  $\sin\phi = r_c/\lambda$ , onde,  $\phi$  é o ângulo requerido,  $\lambda$  é o comprimento de onda do feixe de elétrons e  $r_c$  é o raio do círculo formado pelos pontos mais brilhantes. Sendo assim, como a energia do feixe é conhecida, e calculando-se  $r_c$ , é possível caracterizar totalmente a orientação do cristal e posteriormente alinhá-lo corretamente.

Desse modo, o problema em questão se baseia em descobrir o raio do círculo formado pelos pontos brilhantes, e para fazer isso de forma eficiente e precisa, usou-se da programação em *python*.

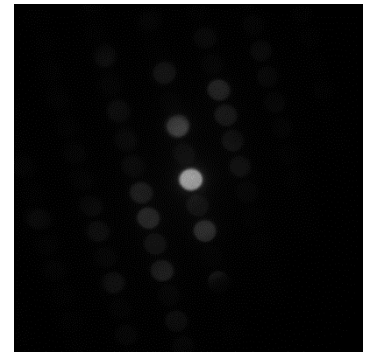


Figura 1 - Padrão de difração do cristal wurtzita (InP) obtido por um TEM à 200 keV.

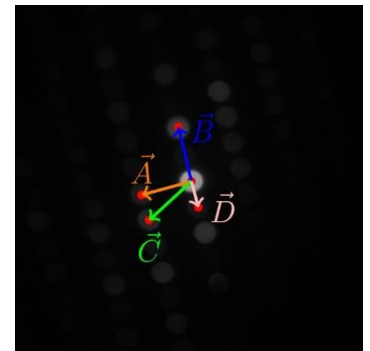


Figura 2 - Padrão de difração do cristal wurtzita com identificação dos vetores.

Os passos seguidos para se atingir o objetivo foram: convolução entre a imagem do padrão de difração e uma máscara; aplicação de um algoritmo para localizar os centros dos pontos brilhantes e suas intensidades; e o ajuste de um círculo levando em consideração as intensidades dos pontos no padrão.

### Nanopartículas de ouro e prata:

O desenvolvimento científico para o caso das nanopartículas, foram baseados totalmente em dados simulados disponibilizados pelo orientador. Apesar de serem artificiais, eles foram construídos de forma a representar fielmente dados reais, incluindo a presença de picos de elementos presentes no ambiente de amostra, contagens de background e ruído de Poisson. Sendo assim, ao final, o dado representa 27 nanopartículas de 6 nm de diâmetro, dispostas sob uma simetria retangular, como mostrado na Figura 3. Nesse caso, cada pixel da Figura 3 contém um espectro que representa energias de até 10 keV.

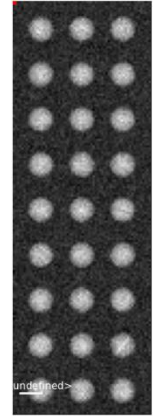


Figura 3 - Espectro EDS simulado representando nanopartículas de ouro e prata de 6 nm de diâmetro.

Antes de serem feitas análises qualitativas e quantitativas dos espectros, foi necessário realizar processos de filtragem de ruído e extração das informações relevantes. Pela grande quantidade de informação contida nessa imagem, muitos dados são redundantes, sendo assim, é possível usar técnicas de *machine learning* para reduzir o ruído e evidenciar as informações importantes.

A principal técnica implementada, foi a de PCA (*Principal Component Analysis*). No fundo, o principal objetivo da técnica é encontrar uma nova base de vetores para melhor representar os dados. Sendo assim, o resultado é um conjunto de autovetores e autovalores, os quais através de uma combinação linear podem representar novamente os dados originais. Nesse caso, os autovetores passam a representar as direções de maior variância, ou seja, que contêm mais informações sobre o sistema. Já os autovalores associados a cada componente indicam a quantidade de informação que cada autovetor carrega.

Através do PCA, é possível decompor todos os espectros presentes nos dados em componentes que mais contêm informações, reduzindo assim o ruído e a redundância dos dados, o que permite uma análise quantitativa mais precisa.

A análise qualitativa dos espectros se baseia em identificar a quais elementos cada pico está relacionado. No caso em que se tem um conhecimento prévio da amostra essa análise é bastante facilitada. Já para análise quantitativa, o objetivo é estimar a concentração relativa de cada elemento em cada pixel da imagem da Figura 3, a principal técnica utilizada para essa análise é a de Cliff-Lorimer.

Segundo Cliff e Lorimer, o peso percentual ( $C_A$  e  $C_B$ ) de cada elemento em um sistema binário pode ser estimado através das intensidades características dos picos ( $I_A$  e  $I_B$ ), conforme a Equação 3.

$$\frac{C_A}{C_B} = k_{AB} \frac{I_A}{I_B} \quad (3)$$

Onde  $k_{AB}$  é um termo de proporcionalidade que depende do sistema TEM/EDS e da energia do feixe de elétrons. Essa constante pode ser calculada de forma mais precisa experimentalmente através

de uma amostra padrão, ou consultada na literatura. A Equação 3 possui 2 variáveis, o que não permite resolver o problema por completo. No entanto, se tratando de um sistema binário temos que  $C_A + C_B = 100\%$ , possibilitando resolver  $C_A$  e  $C_B$  individualmente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

### Cristal Wurtzita (InP):

Como mencionado anteriormente, as etapas para estimar a desorientação do eixo de zona em relação ao feixe de elétrons se baseiam na convolução entre a imagem do padrão de difração e uma máscara; aplicação de um algoritmo para localizar os centros dos pontos brilhantes e suas intensidades; e o ajuste de um círculo levando em consideração as intensidades dos pontos no padrão. Os resultados de cada etapa estão mostrados nas Figuras 4, 5 e 6.

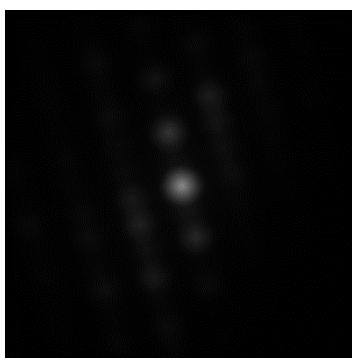


Figura 4 - Convolução entre a imagem do padrão de difração e a máscara.

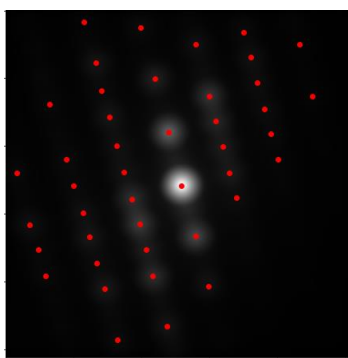


Figura 5 - Localização dos centros e obtenção das intensidades.

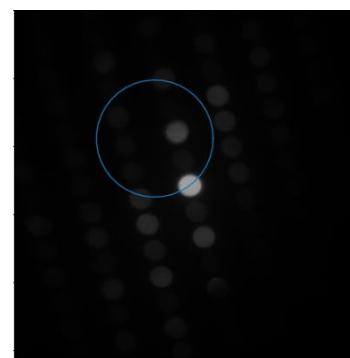


Figura 6 - Ajuste de um círculo baseado na localização dos pontos e em suas intensidades.

A partir do raio do círculo identificado na Figura 6, da energia do feixe de elétrons (200 keV) e da equação  $\sin\phi = r_c\lambda$ , foi possível estimar um ângulo de desalinhamento de  $0,46^\circ$ .

### Nanopartículas de ouro e prata:

Primeiramente, para identificar os autovetores resultantes da técnica PCA que possuem informações relevantes, foi plotado os autovalores relacionados a cada componente (*scree-plot*), como mostrado na Figura 7. A partir desse gráfico concluiu-se que as informações do sistema de nanopartículas estão concentradas nas três primeiras componentes, sendo assim, todos os dados foram decompostos nesses três autovetores.

Feito a redução de dimensionalidade e filtragem do ruído, seguiu-se para a segmentação das nanopartículas. A definição dos pixels que representam as nanopartículas foi realizada por um processo de *threshold*, sendo assim, os pixels que possuem

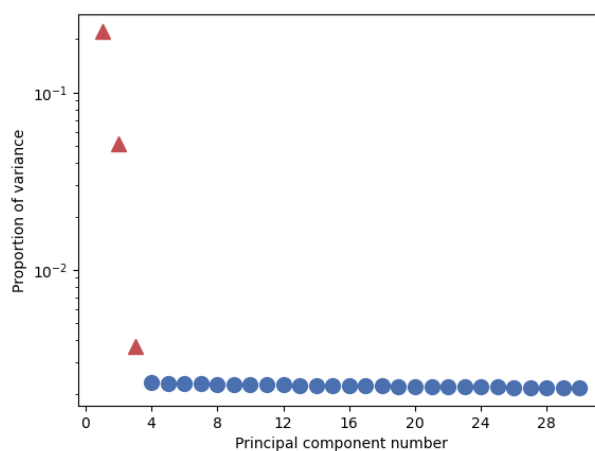


Figura 7 - PCA scree-plot dos dados de EDS.

intensidade menor que o valor de *threshold* são considerados *background*, já os demais são as nanopartículas.

Com as regiões de nanopartículas mapeadas, foi possível calcular a quantidade total de contagens dos picos de cada elemento em cada região de nanopartícula. Através desses valores de intensidade e da relação de Cliff-Lorimer, estimou-se a concentração de prata e ouro em cada nanopartícula (Figura 8), com uma média de  $C_{Au} = 46\%$  e  $C_{Ag} = 54\%$ .

Nota-se uma distribuição contida em torno da média, o que indica uma baixa margem de erro com relação aos erros aleatórios.

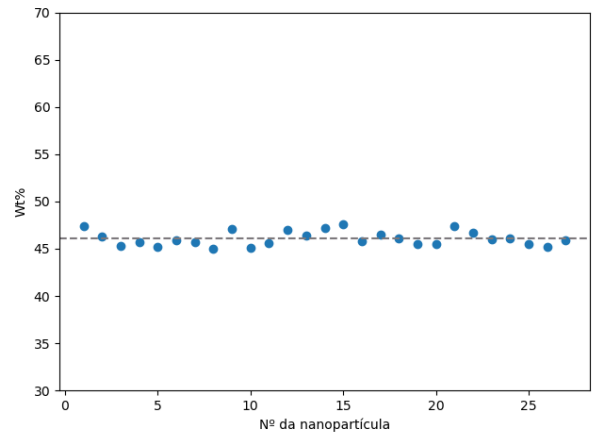


Figura 8 - Distribuição da concentração de ouro (Au) em cada nanopartícula.

## CONCLUSÕES:

Através do que foi desenvolvido, percebemos que é possível utilizar de técnicas de programação para otimizar a obtenção e análise de dados. Mais especificamente, foi possível quantificar a desorientação do eixo de zona do cristal wurtzita em 0,46%, o que permite um ajuste automático e mais eficiente da orientação da amostra. Além disso, através da técnica de *machine learning*, possibilitou a redução de ruído e extração eficiente das informações de um espectro EDS para estimar a concentração de ouro (46%) e prata (54%) em nanopartículas.

Sendo assim, a pesquisa demonstra que a implementação de técnicas de programação no meio científico se torna crucial para que seja possível lidar, de maneira precisa e otimizada, com grandes quantidades de informações advinda do avanço na tecnologia de aquisição de dados experimentais.

## BIBLIOGRAFIA

“mp-966800: Inp (hexagonal, p6 3mc, 186).” <https://materialsproject.org/materials/mp-966800>. (Acessado em 03/11/2023).

J. Edington, Electron Diffraction in the Electron Microscope. Monographs in practical electron microscopy in materials science, Macmillan, 1975.

D. Williams and C. Carter, Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science. No. v. 1 in Cambridge library collection, Springer, 2009.

J. Shlens, “A tutorial on principal component analysis,” CoRR, vol. abs/1404.1100, 2014.

Z. Luo, A Practical Guide to Transmission Electron Microscopy: Fundamentals. Momentum Press, 2015.

Z. Luo, A Practical Guide to Transmission Electron Microscopy, Volume II: Advanced Microscopy. Momentum Press, 2015