



纳米颗粒的粒径测量方法

邢化朝¹, 刘俊杰², 许 潇², 魏伟胜¹, 范 燕¹, 马一博¹

(1. 中国石油大学(北京) 化学工程学院, 北京 102249; 2. 中国计量科学研究院 纳米新材料计量研究所, 北京 100029)

摘要: 为了实现扫描电子显微镜(SEM)对纳米颗粒粒径的准确测量, 研究了一种 SEM 放大倍数校准和光栅间距测量的方法; 在 SEM 的不同放大倍数下对光栅纳米结构样板成像, 运用 MATLAB 软件对显微镜图像进行灰度处理并读取灰度图像的亮度值数据, 通过确定顶线、基线、底线位置, 有效消除成像质量及数据处理等的误差, 准确确定质心横坐标, 采用质心算法求取平均光栅间距, 通过与光栅间距标准值比较计算校准系数和校准误差; 为验证放大倍率校准结果的可靠性, 对纳米颗粒标准物质进行测量。实际测量的平均粒径与标准值一致, 表明该校准方法准确可靠, 可有效避免图像质量和人为因素对测量结果的影响, 达到对纳米和亚微米颗粒粒径准确测量的目的。

关键词: 扫描电子显微镜; 放大倍率校准; 质心法; 颗粒粒径

中图分类号: TB99 **文献标志码:** A

文章编号: 1008-5548(2016)05-0054-04

Measurement method of nano-particle size

XING Huachao¹, LIU Junjie², XU Xiao²,

WEI Weisheng¹, FAN Yan¹, MA Yibo¹

(1. College of Chemical Engineering, China University of Petroleum-Beijing, Beijing 102249, China; 2. Division of Nano-Metrology and Materials Measurement, National Institute of Metrology, Beijing 100029, China)

Abstract: For the purpose of accurately measuring nanoparticle size by scanning electron microscope (SEM) method, SEM magnification calibration method and micrometers spacing measurement method were developed. SEM digital images of micrometers were firstly captured and obtained, and MATLAB software was used to convert digital images into grayscale images automatically, and then the brightness data of grayscale images could be obtained. Based on this work, after the determination of the top line, baseline, the bottom line position of peak structure in the grayscale images, centroid position could be accurately

obtained and the potential error of imaging and data processing could be effectively eliminated. The average micrometers spacing were calculated by using the centroid algorithm, and finally, the calibration coefficient and calibration error of SEM magnification could be calculated by comparing with the certified value of micrometer spacing. The reliability of the SEM calibration results were verified by measuring a particle size certified reference materials (CRMs) using calibrated SEM, and a consistent results finally be obtained with the certified value of CRMs. So from the result, a conclusion can be drawn that our developed SEM magnification calibration method and micrometers spacing measurement method are effective and reliable, which can effectively avoid the influence of poor image quality and artificial factors on the measurement results to obtain accurate particle size results.

Keywords: scanning electron microscope; magnification; calibration; centroid method; particle size

扫描电子显微镜(SEM)是对纳米亚微米尺度进行表征和准确测量的重要分析仪器, 因其制备样品过程简单、可拍摄高分辨率的图像、可调节放大倍数范围宽、景深大等优点, 而被普遍应用于化工、医药、生物、冶金、材料、半导体制造等研究领域和工业部门^[1]。扫描电子显微镜利用扫描成像系统^[2-3]在固定的放大倍率下拍摄成像, 得到各种固态物质表面超细微结构的形貌图, 通过对被测物边缘的确定和测量, 实现对亚微米和纳米尺度的测量。为保证测量结果的准确性, 通常采用具有周期结构的一维或二维光栅样板对 SEM 的放大倍数进行校准, 随后在相同放大倍数下对颗粒进行成像, 采用图像处理软件, 如 Image J 和 Image-Pro Plus 软件^[4-5]通过确定颗粒所占面积得到颗粒粒径。在此测量过程中, 对于光栅间距的测量没有一个统一的标准方法, 一般采用在图片的光栅上拉取直线测量多倍栅距求取平均值的方法, 这种方法人为操作因素对其测量结果影响较大。研究表明, SEM 成像质量及图像处理过程中的边缘确定已经成为 SEM 法测量颗粒粒径的主要误差来源之一^[6]。为实现 SEM 法准确测量纳米颗粒粒径^[7], 研究了一种准确测量光栅间距的方法和 SEM 放大倍数校准方法, 通过确定光栅中每个间隔的质心并以质心间距离为光栅

收稿日期: 2015-12-20, 修回日期: 2016-04-20。

基金项目: 国家科技支撑计划项目, 编号: 2011BAK15B05。

第一作者简介: 邢化朝(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为纳米颗粒表征。E-mail: xinghuachao@163.com。

通信作者简介: 刘俊杰(1975—), 男, 副研究员, 主要从事粒度、浊度计量研究。E-mail: liujj@nim.ac.cn。

间距。该方法可有效避免图像质量和人为因素对测量结果的影响。

1 实验用仪器及材料

1.1 扫描电子显微镜

采用 Zeiss Ultra 55 型场发射扫描电子显微镜 (FESEM, 德国蔡司公司), 其加速电压范围在 0.02~30 kV, 放大倍数范围在 100~1 000 000 倍之间, 最佳工作距离分辨率: 30 kV (STEM 模式) 0.8 nm; 15 kV, 1.0 nm; 1 kV, 1.7 nm。

1.2 SEM 校准样板

采用光栅纳米结构模板(线条+间距)对 SEM 放大倍数进行校准。样板的衬底材料为单晶硅。衬底尺寸 12.5 mm×12.5 mm×0.7 mm, 周期结构精度优于 0.5%。样板 1 的周期性栅距 139 nm, 样板 2 的周期性栅距 416.6 nm, 图 1a 和图 1b 分别是样板 1 和样板 2 的栅距结构的 SEM 图像。

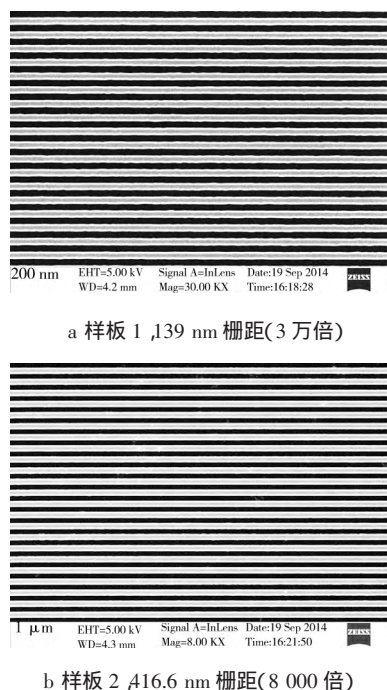


图 1 校准样板的栅距结构的 SEM 图像

Fig. 1 Calibration plate sample of lattice spale structure image of SEM

1.3 颗粒样品

颗粒样品采用 Thermo 纳米级尺度标准颗粒, 其粒径标称值为 100 nm^[8], 材质为聚苯乙烯颗粒, 透射电子显微镜对其定值溯源至 NIST 的平均粒径为 (102±3 nm), 标准偏差为 5.2 nm, 且具有高度的单分散性。

2 SEM 的校准及颗粒测量方法

采用 Zeiss Ultra 55 型场发射扫描电子显微镜(德国蔡司公司), 依据扫描电子显微镜放大倍率校准标

准 (ASTM-E766-2014)^[9], 在不同倍率下拍摄纳米光栅样板图像。416.6 nm 纳米光栅样板采用的放大倍率分别为 5 000、8 000、1 万、1.2 万、1.5 万倍; 139 nm 纳米光栅样板采用的放大倍率分别为 2 万、3 万、5 万、6 万、8 万、10 万、12 万。之后采用质心法准确测量光栅间距^[10], 从而对 SEM 的不同放大倍数进行了校准。

对扫描电子显微镜放大倍率校准之后, 采用扫描电子显微镜结合图像分析法对单分散性颗粒进行测量。首先, 在扫描电子显微镜下寻找颗粒多, 单分散性好的区域捕获图像, 图像的尺寸大小为 1 024×768 像素; 其次, 利用图像分析处理系统对图像进行处理, 最终, 确定颗粒的平均粒径及粒径分布。

3 质心法测量光栅间距

采用质心法逐行计算各行间的光栅栅距, 然后计算其平均值确定整个光栅区域的平均栅距。以图 1a 在 3 万倍放大倍率下的 139 nm 纳米光栅样板为例, 计算方法可分为以下几个步骤。

3.1 图像处理

利用 MATLAB 软件^[11] 将图像处理成 1 024×690 像素的灰度图像, 如图 2 所示。编程读取图像的亮度数据, 求取图 2 上每一行上亮度值的平均值, 总共 690 行。并由所得的数据得到图 3。图 3 中的峰结构代表的是图 2 中的亮条纹, 相邻峰结构之间代表的是图 2 中的暗条纹。由于光栅表面的轮廓不平整, 使得在拍摄过程中会造成亮条纹的亮度不均一, 因此导致了峰结构会出现下凹波动。在计算质心时, 会造成不必要的误差, 需要对其进行消除。

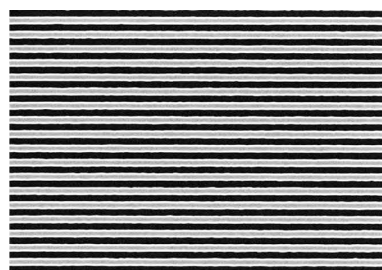


图 2 139 nm 灰度图(3 万倍)

Fig. 2 Grayscale image of 139 nm (micrometer at 30 000 times)

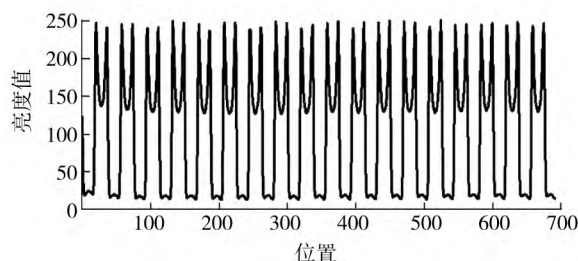


图 3 峰结构图

Fig. 3 Image of peak structures

3.2 确定顶线、基线、底线的位置

1) 顶线(top line)的确定: 计算每一个峰结构中的亮度最大值, 取亮度最大值中的最小值作为顶线的值 H_{top} 。

2) 底线(bottom line)的确定: 将图像亮度进行归一化, 然后在亮度直方图中按亮度由小到大, 确定第一个峰之后的像素密集程度等于 5% 时的亮度值, 以此亮度值作为底线的值 H_{bottom} 。

3) 基线(threshold line)的确定: 在确定顶线和底线后, 选取顶线和底线的平均值作为基线值, 可根据公式 $H_{th}=(H_{top}+H_{bottom})/2$ 确定基线的位置。

消除峰结构波动后如图 4 所示。

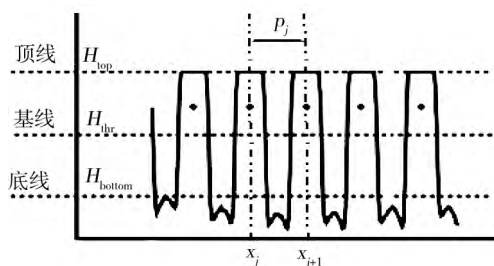


图 4 顶线、底线及基线示意图

Fig. 4 Diagram of top, bottom and threshold line

3.3 计算方法

确定顶线、底线和基线之后, 采用面积积分的方法^[12](式(2))来确定顶线和基线间峰结构的质心横坐标。将纳米结构模板的相邻结构质心间的像素点个数乘以该放大倍率下的像素点长度就可以得到栅距, 从而计算出该模板的平均栅距。将栅距的测量值与标准值进行对比就可以得到 SEM 该放大倍率下的校准系数及放大倍率误差。

$$x_j = \frac{\sum A_i x_i}{A}, \quad (2)$$

$$P_j = (x_{j+1} - x_j) \times L_p, \quad (3)$$

$$\bar{P} = \sum_{j=1}^n P_j / (n-1), \quad (4)$$

$$\eta = P_0 / \bar{P}, \quad (5)$$

$$D = (1 - \eta) 100\%, \quad (6)$$

式中: P_j 为相邻亮条纹间距即栅距; x_j 为第 j 个质心的横坐标; x_{j+1} 为第 $j+1$ 个质心的横坐标; L_p 为该放大倍率下像素点的长度; $\bar{P}$ 为平均栅距测量值; n 为质心个数; P_0 为光栅栅距标称值; η 为校准系数; D 为误差。

4 测量结果分析

根据以上所介绍的测量方法, 使用纳米光栅模板

的栅距作为长度基准^[13]对使用的扫描电子显微镜不同放大倍数进行校准, 结果见表 1。

表 1 不同放大倍率下的校准系数及误差

Tab. 1 Calibration coefficient and error at different magnifications

放大倍数	校准系数	误差/%	放大倍数	校准系数	误差/%
5 000	1.006 2	-0.62	30 000	1.001 7	-0.17
8 000	1.004 4	-0.44	50 000	1.019 6	1.96
10 000	1.004 9	-0.49	60 000	0.988 1	1.19
12 000	0.997 4	0.26	80 000	1.017 6	-1.76
15 000	0.997 7	0.23	100 000	1.000 2	-0.02
20 000	1.012 2	-1.22	120 000	1.009	-0.90

由结果分析可知, 在各放大倍数下, 样品的各光栅区域的栅距实际测量平均值与标称值非常吻合, 最大误差仅为 1.96%。在采用质心法测量光栅间距的过程中, 由于质心法采用的是编程自动处理的方法, 可以直接根据图像亮度的变化确定结构边缘, 避免了成像质量差及人为操作因素对测量造成的误差, 使得测量结果具有很高的精度。表 2 为使用质心法重复测量光栅间距的数据, 为 139 nm 的纳米光栅样板在 3 万倍的放大倍数下的同一张图片, 重复测量 5 次, 测量 17 个栅格栅距平均值的结果。由表 2 可以看出, 其重复性即相对标准偏差为 0, 消除了手工画线方法造成的人为测量误差。

表 2 重复性测量

Tab. 2 Measurement of repeatability

测量次数	1	2	3	4	5
测量栅距/nm	138.77	138.77	138.77	138.77	138.77

5 结果验证及颗粒测量

为验证 SEM 放大倍数校准结果的可靠性, 使用 Thermo 制造的聚苯乙烯球颗粒粒度标准物质(粒径标称值为 100 nm), 对其粒径进行验证分析。该样品溯源至 NIST 的平均粒径为 (102 ± 3) nm, 标准偏差为 5.2 nm。

在颗粒测量的过程中阈值的选取是准确测量颗粒粒径的一个重要因素^[14]。采取阈值半高度法^[15]确定颗粒的边缘阈值可以将颗粒与背景分开。通过 SEM 拍摄颗粒的显微镜图像, 然后利用图像处理软件将颗粒图像转化为灰度图像, 设定阈值将颗粒从灰度图像中提取出来。设定阈值之后, 可以观察到显微图像中颗粒的边缘明显, 将图像进行二值化就可以得到目标颗粒图像。通过图像处理软件, 得到单个颗粒的面积, 经过数据处理计算出颗粒的平均等效圆面积直径和粒径分布图。

在放大倍数3万倍条件下对样品进行捕获图像(见图5),选取颗粒分散性好的区域以保证所选的颗粒能够代表整个样品的颗粒属性,共捕获41张显微镜图像。其处理方法过程如图6所示。

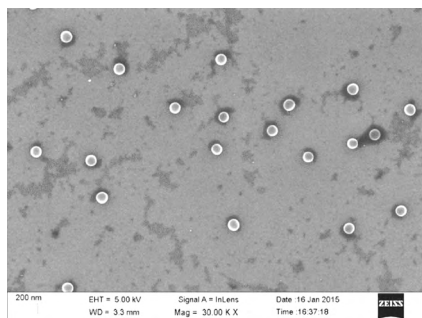


图5 Thermo 3100a 粒度标准物质的 SEM 图像

Fig. 5 SEM image of Thermo 3100a CRM

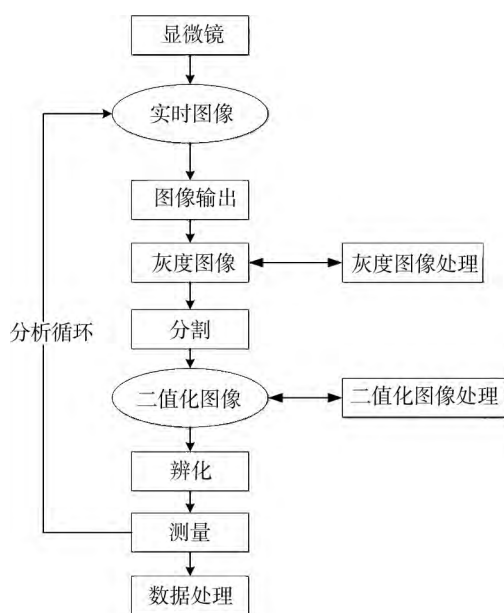


图6 图像分析处理过程

Fig. 6 Image analysis and processing

使用 Image J 图像分析处理软件进行处理,共得到 567 个颗粒,处理之后得到的颗粒的平均粒径为 102.93 nm,标准偏差为 5.17 nm,粒径分布图如图7所示。

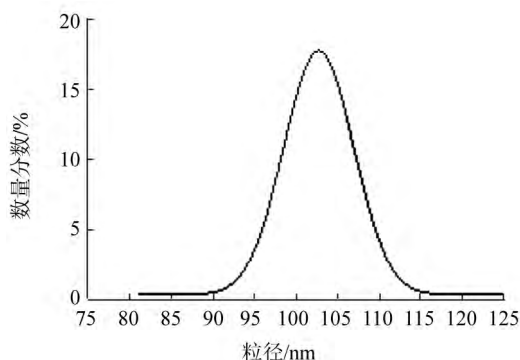


图7 粒径分布图

Fig. 7 Particle size distribution

结合表1可知,在放大倍数3万倍下 SEM 的校准系数为 1.001 7,平均粒径乘以校准系数 1.001 7 得到最终平均粒径为 103.10 nm,该量值与标准物质的给定值吻合一致,说明该校准数据是准确可靠的。

6 结论

1)研究了一种准确测量光栅间距和 SEM 放大倍数校准的方法。通过运用 MATLAB 软件对显微镜图像进行灰度处理并读取灰度图像的亮度值数据,确定顶线、基线、底线位置,准确确定质心横坐标,采用质心算法求取平均光栅间距,与光栅间距标称值比较计算,得到 SEM 放大倍数的校准系数和校准误差。

2)此方法可有效消除系统误差及手工测量造成的人为误差,是校准扫描电子显微镜的准确、可靠的方法,从而可以实现对纳米和亚微米颗粒粒径的准确测量。

参考文献:

- [1] 唐晓山. 扫描电子显微镜在纳米材料研究中的应用[J]. 哈尔滨职业技术学院学报, 2009, 19(4): 121-123.
- [2] 武开业. 扫描电子显微镜原理及特点[J]. 科技信息, 2010, 11(29): 106-107.
- [3] 周广荣. 影响扫描电镜图像质量的因素分析[J]. 现代仪器, 2010, 23(6): 57-59.
- [4] 刘智, 王玲玲, 周卫东. 用 Image J 分析水稻胚乳淀粉粒表面几何特征的方法[J]. 电子显微学报, 2011, 30(4): 466-471.
- [5] 徐徐润, 周亮, 荆彦平, 等. Image-Pro Plus 软件在小麦淀粉粒显微图像分析中的应用[J]. 电子显微学报, 2013, 32(4): 344-350.
- [6] 赵凤霞, 蒋庄德, 景蔚萱. 纳米尺度栅线结构的线边缘粗糙度分析和表征[J]. 计量学报, 2010, 31(6): 481-485.
- [7] 陈宁, 果晶晶, 宫惠峰. 纳米颗粒粒度测量方法进展[J]. 现代科学仪器, 2012(2): 287-291.
- [8] 美国 Duke Scientific 公司. 粒度标准物质 [EB/OL]. (2006-05-20) [2015-06-15]. www.thermo.com/particletechnology/.
- [9] ASTM International. Standard Practice for Calibrating the Magnification of a Scanning Electron Microscope. E766-2014_9508[S]. United States, Washington: ASTM, 2014.
- [10] DAI G L, KOENDER L, POHLENZ F. Accurate and traceable calibration of one-dimensional gratings[J]. Meas Sci Technol, 2005, 16(6): 1242-1249.
- [11] 刘浩, 韩晶. MATLAB R2012a 完全自学一本通[M]. 北京: 电子工业出版社, 2012.
- [12] 何淼, 唐玉国, 陈少杰, 等. 中阶梯光栅光谱仪信号光斑位置的质心提取算法[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(3): 849-853.
- [13] 钱进, 石春英, 谭慧萍, 等. 利用一维光栅标样校准扫描电子显微镜方法的研究[J]. 计量学报, 2010, 31(4): 299-302.
- [14] 周广荣. 扫描电镜图像最优条件的选择研究[J]. 电子显微学报, 2011, 30(2): 171-173.
- [15] 国家技术监督局. 粒度分析-图像分析法. 第1部分: 静态图像分析法. GB/T21649.1 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.