利用黄金比例扫描和 RECAST3D，在束流敏感样品电子断层成像过程中进行实时倾转欠采样优化 †

Timothy M. Craig,[a] Ajinkya A Kadu,[a,b] Kees Joost Batenburg,[b,c] 和 Sara Bals*[a]

[a] 安特卫普大学材料科学电子显微学与 NANOlab卓越中心，Groenenborgerlaan 171，安特卫普 2020，比利时。[b] Centrum Wiskunde & Informatica，Science Park 123，阿姆斯特丹 1098 XG，荷兰[c] 莱顿大学莱顿高级计算机科学研究所，Niels Bohrweg 1，2333CA 莱顿，荷兰。

arXiv:2304.01221v1 [eess.IV] 1 Apr 2023

摘要

电子断层成像是一种广泛用于纳米材料三维结构分析的技术，但高电子剂量和较长的曝光时间可能会对样品造成损伤。为尽量减少此类损伤，研究人员通常通过倾转欠采样减少投影采集数量，从而降低束流照射。然而，这种方法也可能因采样不足而引入重建伪影。因此，为了准确重建束敏感样品，确定能够同时最大限度减少束流照射和欠采样伪影的最佳投影数量至关重要。目前，确定最佳投影数量的方法需要采集并后处理投影数量各不相同的多个重建结果，这既耗时，又因样品损伤而需要多个样品。为改进这一流程，我们提出了一种结合黄金比例扫描与准三维重建的方案，可在单次采集过程中实时估算最佳投影数量。该方案通过模拟纳米颗粒和真实纳米颗粒进行了验证，并成功用于重建两种束流敏感的金属有机框架配合物。

1 引言

纳米材料是指至少有一个维度处于纳米尺度（通常为 1 至 100 纳米）的材料。[34] 与块体材料相比，它们具有独特的物理、化学和光谱特性，可用于各种商业、工业和医疗用途。[3,27]这些特性在很大程度上受纳米材料的三维（3D）结构和形貌影响。因此，准确表征纳米材料的结构对于理解其行为并预测其潜在应用至关重要。[8,11,34]

高分辨率成像技术，如透射电子显微镜 (TEM) 和环形暗场扫描透射电子显微镜 (ADF-STEM)，能够帮助深入了解纳米材料的结构。[13,38,42] 然而，这些技术只能生成二维 (2D) 投影，可能无法准确呈现材料真实的三维结构。为克服这一局限，人们开发了电子断层成像 (ET) 等技术，以实现对纳米材料的三维表征。[25,30,37] 在典型的 ET 流程中，会以递增的角度 $(1-3^{\circ})$ 获取一系列二维图像，覆盖约为$\pm 70-80^{\circ}$ 的范围。[4,20,33] 随后，使用滤波反投影 (FBP)、[15] 同时迭代重建技术 (SIRT)、[18] 或期望最大化 (EM)[26] 等重建算法对这些图像进行配准和处理，从而生成纳米材料的三维体数据。总体而言，ET 的应用已经

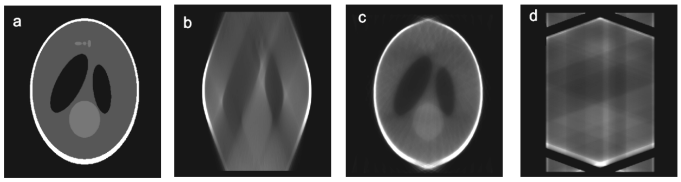

图 1：Shepp-Logan幻影（a）通过缩小环形范围进行欠采样，采用 21 个投影（$\pm 20^{\circ}$，2° 步长，21 个投影）（b），以及通过降低采样密度进行欠采样（$\pm 70^{\circ}$，7° 步长，21 个投影）（c）。进一步降低采样密度（$\pm 70^{\circ}$,70° 步长，三个投影）后，欠采样伪影变得明显（d）。

显著增进了科学界对纳米材料及其潜在应用的认识。

在纳米材料的断层成像采集中，电子束照射会因辐解、原子位移、加热、电荷积累和敲出效应等多种因素造成显著变形。[2,12,23,36,41]人们已在多种纳米材料中观察到这种电子束诱导损伤，包括硅酸盐、沸石和金属有机框架（MOFs）。[23,28,39,40,50] 以往研究探讨了多种减少束流损伤的方法，其中最可靠的方法是限制电子束照射。[16]低剂量方法采用具有高信噪比的采集方案，[29] 例如叠层衍射成像[9] 或积分微分相位衬度[28] 显微术，能够以显著更低的照射剂量采集相同的信号。然而，这些技术需要专用探测器和设备，而这些可能并不易于获得。采集过程中的跟踪和聚焦优化也被用于减少电子束照射。例如，2018年，通过同步扫描、跟踪和聚焦，将高角环形暗场扫描透射电子显微镜（HAADF-STEM）的采集时间缩短至几分钟，使电子束照射量减少了一半。[47,49]

另一种常用的减轻束流损伤的技术是欠采样。欠采样通过减少（*i*）图像中编码的信息量（图像欠采样）[10] 或（*ii*）采集的图像数量（倾转欠采样）来减少束流照射。[14]然而，欠采样也有其自身的挑战，通常会引入新的伪影。Vanrompay等人已对各种欠采样方案进行了深入研究。[46] 例如，研究表明，倾转欠采样会因缩小角度范围（例如，从 70° 缩小至 15°）而加剧缺失楔形伪影。[4,17,46] 尽管可以使用离散代数重建断层成像（DART）等算法补偿这些伪影，但这些算法假设

样品的性质已知，而这一假设并非总是适用。[5,20,33]

当只采集有限角度范围内的投影时，电子断层成像（ET）中就会出现缺失楔问题。欠采样时，可以将少量图像均匀分布在整个可用环形范围内，以此降低采样密度，而非缩小采样范围，从而缓解这一问题。[46] 例如，分别以 ±20° 为倾转增量、以 2° 为倾转增量，以及以 ±70° 为倾转增量、以 7° 为倾转增量进行采集，得到的投影数量均为 21。不过，后一种情况下图像分布更均匀，因此缺失楔较小。尽管如此，即使在这种情况下，大幅降低采样密度仍可能导致重建图像中出现伪影（图 1）。因此，为确保重建质量，必须在尽量减少束流损伤与避免欠采样伪影之间取得平衡。

评估重建质量时，研究人员通常会将其与采用标准 $2-3°$ 倾转增量采集的参考结构进行比较。[46] 然而，这种方法并不适用于优化束敏感样品的倾转欠采样。首先，无法保证在标准成像条件下采集的参考基准不含束流损伤伪影。其次，在增量扫描（IS）过程中，采样密度保持不变，而采样范围随着每个新投影的加入而扩大（图 2a）。因此，过早结束采集会导致倾转序列中出现较大的缺失楔。为了确定最佳投影数量，应比较以不同投影数量采集的多个倾转序列的三维重建结果。这个过程耗时较长，因为显微镜操作人员需要在显微镜操作与工作站上的后处理步骤之间来回切换。[48] 此外，在同一颗粒上进行多次采集时，先前采集造成的损伤通常会在新的倾转序列中显现。因此，每次采集都必须使用新的颗粒，这使得难以直接比较所得的三维重建结果。在这种情况下，显微镜操作人员必须依靠定性判断来确定最佳投影数量。

采用采样范围近似恒定、采样密度随新投影的加入而增加的采集方案，可以减少断层成像采集中对多个倾转序列的需求。Kaestner 等人提出的黄金比例扫描（GRS）满足了四维中子显微断层成像的这一需求。[24] 在 GRS 中，以弧度为单位的倾斜角 θ 由下式给出

$$\theta = i\alpha \left(\frac{1+\sqrt{5}}{2} \right) \mod(\alpha) - \frac{\alpha}{2}, \qquad (1)$$

其中，i 为图像索引，mod 为取模函数，α为以弧度为单位的环形范围。在 GRS 中，前 $3-4$ 个投影便覆盖了环形范围的大部分区域，后续投影则提高采样密度（图 2b）。因此，可以提前终止采集，而不会产生显著的缺失楔形伪影。[24] 然而，在实际操作中，如果在采集过程中不了解三维结构，就无法知道需要多少个投影才能最大限度地减少欠采样和束流损伤伪影。

准三维重建通过降低重建的计算需求，实现三维数据的实时查看。这是通过软件 RECAST3D（断层成像中任意切片的重建）实现的，该软件通过每次仅重建少量

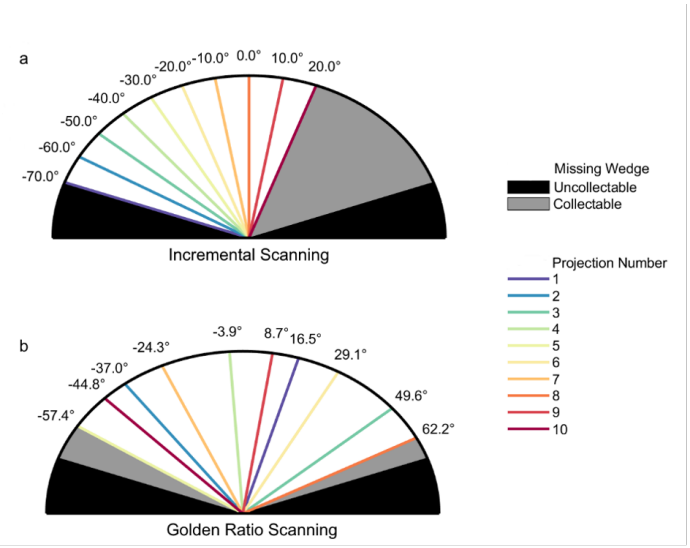

图 2：采用 IS（±70°，增量为 10°）（a）和 GRS（±70°）（b）采集的前 10 个投影。图中分别展示了两种采集方案中因提前终止采集而形成、原本可采集的缺失楔（灰色），以及受样品杆几何结构限制而无法采集的缺失楔（黑色）。

任意切片，利用计算效率较高的滤波反投影算法来减轻计算负担。[6]

在此，我们介绍一种名为倾转欠采样优化断层采集（TUOTA）的方案。该方案将 GRS 与 RECAST3D 提供的准三维重建实时分析相结合，以确定束敏感样品的最佳投影数量。我们使用模拟和实验数据集对 TUOTA 进行了测试，并将其应用于两种束敏感 MOF 纳米颗粒（NP）复合材料：包封金双锥纳米颗粒的 NU-1000（Au@NU-1000），以及包封 Au/Pd 纳米棒的 ZIF-8（Au/Pd@ZIF-8）。

2 方法

2.1 倾转欠采样优化断层采集

TUOTA 用于优化投影数量的方案由以下阶段组成：

1. 在显微镜上使用 GRS，以±70° （$\alpha = 7\pi/9$）的环形范围实时获取投影，并由显微镜操作人员决定何时结束采集。2. 使用 RECAST3D 处理投影，通过 FBP 重建三个切片；随着新投影的获取，切片随之更新。3. 根据所用投影数量对切片质量进行定量评估。4. 使用期望最大化算法进行最终重建，投影数量采用步骤 3 确定的最佳值。

2.1.1 定量分析。

为了确定最佳投影数量，步骤 3 会对步骤 2 中计算出的切片的重建质量进行定量评估。评估重建质量的一种可靠方法是将其与可靠的参考基准进行比较

标准，通常计算形状误差（E_s）或大津阈值[31] 二值化重建（V_{rec}）与参考基准（V_{ref}）之间的归一化均方根差，定义如下：

$$E_s = 100\,\frac{\|V_{\text{ref}} - V_{\text{rec}}\|}{\|V_{\text{ref}}\|}, \tag{2}$$

其中 $\|\cdot\|$ 表示欧几里得范数，即，$\|x\| = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} x_i^2}$。参考基准通常是通过标准断层成像采集获得的样品，并假定其能可靠地表征真实的三维结构。然而，由于束流损伤，这一假设并非总是可靠。此外，同一颗粒的后续采集结果可能仅因参考基准采集期间造成的束流损伤而与参考基准不同，因此无法获得可靠的参考结构。

在这种情况下，RECAST3D 能提供的唯一信息是三个任意切片。为方便起见，本文所有计算均基于经过原点的xy、yz和xz 正交切片得出。如果这些正交切片的位置在整个采集期间保持固定，就可以观察这些切片随投影数量的变化。在电子断层成像中，随着提供的投影越来越多，重建会逐渐趋近于三维结构，而每个投影在完整的N 个投影集合中所占的比例也越来越小。因此，随着投影数量增加，每个投影对重建的贡献越来越小，具有N 个投影和$N-1$ 个投影的三维重建之间的差异趋近于零。

应用于 RECAST3D 正交切片时，可以通过计算正交切片集合（O_N）与使用 $N-1$个投影（O_{N-1}）获得的正交切片之间的归一化均方根差，得到收敛性随N 变化的度量。该度量为

$$\text{SROD}(N) = \frac{\|O_N - O_{N-1}\|}{\|O_N\|}. \tag{3}$$

该指标称为自参照正交切片差（SROD），仅凭 RECAST3D 正交切片即可获得，无需已知的准确参考结构。SROD 越低，O_{N-1} 与O_N 越相似。当 SROD 低于用户定义的阈值时，即可认为重建达到了足够的收敛性。对于本研究，采用了任意设定的 0.1 作为阈值。根据所需的频率分辨率，也可以使用更高或更低的阈值。

SROD 指标仅监测收敛和欠采样。对于束敏感样品，电子束诱发伪影可能会在结构得到充分采样之前降低重建质量。为监测这一情况，信噪比（SNR）通过投影数量来衡量每组正交切片的信噪比，即，

$$\text{SNR}(N) = 20\log_{10}\left(\frac{\mu(O_N)}{\sigma(O_N)}\right), \tag{4}$$

其中，μ 是正交切片集合O_N中每个像素信号的平均值，σ 是标准差。

需要指出的是，随着倾转序列中加入更多投影，信噪比通常会提高；而在电子显微图像中，信噪比会因束流损伤而趋于降低。[21] 投影的最佳数量由 SROD 收敛性与束流损伤导致的信噪比下降曲线的交点确定。

通过分析 SROD 和信噪比随投影数量变化的曲线，可以确定给定样品的最佳投影数量。这样，无需可靠的参考结构，即可确定给定样品的最佳投影数量。有关其代码实现，请参阅补充信息。

2.1.2 后处理。

使用 MATLAB 中的 ASTRA 实现的期望最大化算法，根据倾转序列的最佳投影数量重建完整的三维体数据。[32,43,44] 相比之下，RECAST3D 仅提供基于滤波反投影算法的正交切片；当倾转序列欠采样或存在缺失楔时，该算法的表现已被证明较差。[43] 因此，我们倾向于使用期望最大化算法进行完整体积重建。

2.2 方法评估

为评估 TUOTA 的有效性，我们将其推荐的最佳重建结果与一种标准化的重建精度评估方法 E_s进行了比较。然而，对于束敏感样品，E_s 并不可靠，因为参考样品不可靠。因此，我们进行了模拟束损伤实验，并使用模体作为施加束流损伤前初始结构的精确参考。对于束不敏感样品，可以假定标准 IS 断层成像能够提供足够准确的重建结果，可用作参考。为评估所提出的采集流程和 TUOTA 的可靠性，我们比较了 TUOTA 和 E_s为模拟结构和实验结构确定的最佳投影数量。

2.2.1 模拟与实验采集。

样品数据来自显微成像模拟和实验。模拟通过使用 MATLAB 实现的高斯滤波器和二项概率掩模，对原始三维结构进行迭代变形来完成。每次迭代后，都会保存整个体积。倾转序列通过对

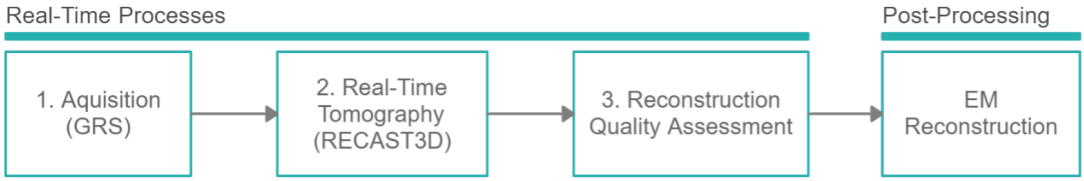

图3：使用 TUOTA 优化三维重建过程中投影数量的流程。步骤 1-3 在显微镜上执行，最后一步可在计算工作站（例如高性能计算机或服务器）上执行。

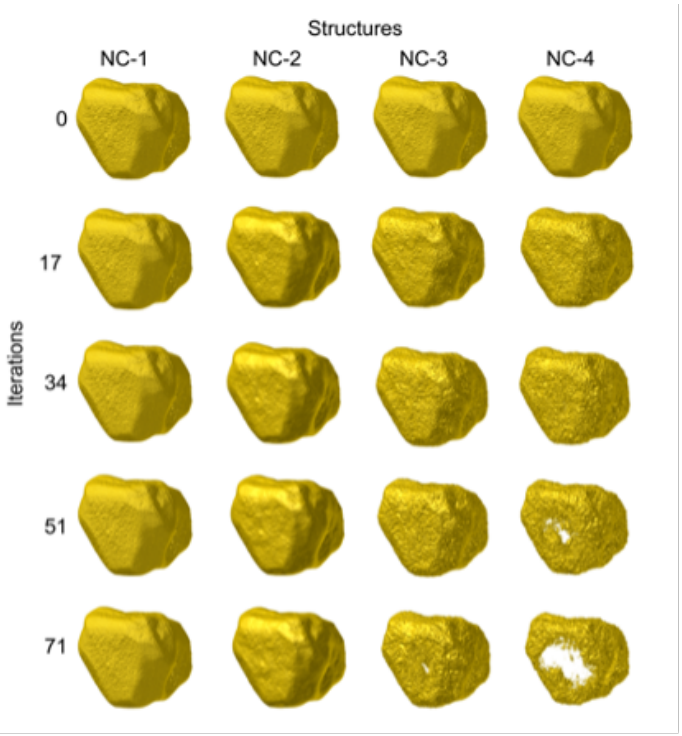

图4：采用不同模拟设置，对四个纳米笼样品进行模拟束流损伤。每个样品在每次模拟形变迭代后进行正向投影，以获取倾转序列。图中展示了每个纳米笼经过0、17、34、51和71次形变迭代后的状态。

每次束流损伤迭代后的结构进行正向投影来模拟。因此，倾转序列中第一个角度对应的图像，是对经过一次束流损伤迭代后的结构进行前向投影得到的；第二个角度对应的图像，则是对经过两次束流损伤迭代后的结构进行正向投影得到的。重复这一过程，直至获得所有角度对应的图像。束流损伤程度可通过调整两个形变参数（β_1，β_2）来控制。有关束流损伤模拟的更多详情，请参阅补充信息。

我们对一种具有中空笼状结构的纳米颗粒进行了模拟，此前我们曾对其进行实验研究。[19] 我们采用四种不同的形变设置来模拟束流损伤（图4，影片S1），范围从无形变（NC-1）到严重形变（NC-4）。中空纳米笼中的束流损伤表现为结构中的空腔逐渐张开，笼壁逐渐变薄。

此外，还对三个实验样品进行了表征（图B1）：一种 Au/Pd 纳米星（NS）和两种 NP@MOF复合材料。第一种复合材料是含有 Au/Pd纳米棒（Au/Pd@ZIF-8）的 Zn(2–甲基咪唑)$_2$金属有机框架 ZIF-8；第二种复合材料是由 $Zr_6O_4(OH)_4$簇和 1,3,6,8–四(4–羧基苯基)芘配体组成的 NU-1000 金属有机框架，其中包封了一个双锥形 Au纳米颗粒（Au@Nu-1000）。这些样品悬浮于乙醇中，并滴铸到碳包覆铜透射电子显微镜（TEM）载网上。使用赛默飞世尔科技 Tecnai Osiris透射电子显微镜进行成像，加速电压为 200 kV，屏幕电流为 50 pA，成像/扫描驻留时间为 3.06/7.96 μs。Au/Pd 纳米星样品使用高角环形暗场扫描透射电子显微镜进行采集，金属有机框架复合材料则使用环形暗场扫描透射电子显微镜进行采集。

样品跟踪和聚焦均由人工完成。在RECAST3D成像过程中，通过将样品居中、使用大津阈值遮罩背景，然后按时间顺序依据强度相关性对投影进行对齐。后处理重建和对齐使用MATLAB中的ASTRA工具箱完成。后处理之前，先按环形顺序（从低到高，例如，−70° 至 70°）对倾转序列进行排序，并依据强度相关性对投影进行对齐。

为进行比较，分别使用 IS 和 GRS 采集倾转序列。本研究中的模拟及采集倾转序列汇总于表2。无论建议的终止点为何，GRS采集均采集了约70个投影，以便与采用 2°增量的 IS 标准方案（71个投影）进行比较。IS采集采用的倾转增量为 2°, 5°, 7°, 10°, 14°, 35° 或 70°。这些是唯一能使所有投影在 ±70° 之间等间距分布的整数倾转增量。

3 结果

3.1 优化方案的模拟评估

3.1.1 增量扫描。

优化投影数量的传统方法是在 IS扫描过程中改变倾转增量。因此，为确定 NC-1 至 NC-4 使用 IS 时的最佳投影数量，我们模拟了倾转增量分别为 2°, 5°, 7°,10°, 14°, 35° 和 70° 的倾转序列（分别对应 71、29、21、15、11、5 和 3 个投影）。我们通过将每个倾转序列与真实结构进行比较，测量其 E_s ；当三维重建最准确地反映真实结构时，E_s 达到最小值。随着模拟的束流损伤从 NC-1 增加到 NC-4，E_s 的最小值对应的投影数量减少，但最佳投影数量下的 E_s 值增加（E_s/ 投影：5.1/11 、 6.6/11 、 8.7/5 、 9.1/5 ）（图5a-b，图B3）。虽然可以通过为每个样品模拟七种不同的倾转序列来估算最佳投影数量，但这一过程不适用于实验性束流损伤分析。

另一种方法是采用固定倾转增量采集单个倾转序列，并持续采集投影，直至达到最优值。因此，我们对 NC-1 至 NC-4 进行了IS采集，采用 2° 增量，同时监测 E_s 随投影数量的变化（图 5c）。随着模拟的束流损伤从 NC-1 增加到 NC-4，E_s 最优值更早出现，且数值升高（图 5b），表明重建结果质量较低（E_s/投影：6.6/71、13.6/71、30.2/68、44.3/52）。可变倾转增量也呈现相同趋势，但与图 5b 所示结果相比，达到最优值时的投影数量要多得多。图 5d 中最优投影数量出现较晚，是因为直到最后一次投影之前，每次投影都在填补倾转序列中的缺失楔。相比之下，通过采用可变倾转增量采集多个倾转序列，投影分布在整个环形范围内。因此，在 IS采集过程中减少投影数量时，束流损伤伪影的减少会被缺失楔形伪影的增加所抵消。对于 NC-4，这一点在视觉上十分明显。在 E_s最优值对应的 52 个投影处，新增投影可补偿缺失楔伪影，但继续增加投影会加剧束流损伤伪影

投影数量增加会加剧束流损伤伪影（图 B2）。通过目视检查可以发现，确定多个倾转序列的最优值（图 5e-i）后，样品 NC-2 至 NC-4 中仍存在欠采样伪影。然而，根据单次典型采集（IS，2°）（图 5j-m）确定最优值后，NC-3 和 NC-4 中可见严重的束流损伤伪影（影片 S2）。

总而言之，现有技术在优化投影数量时，要么需要进行多次采集，要么在校正缺失楔形伪影的同时引入大量束流损伤伪影，从而限制了其在束敏感样品中的可行性。一种可能的解决方案是使用黄金比例扫描（GRS）法，该方法能够通过单次采集确定最佳投影数量。在下一小节中，我们将介绍黄金比例扫描（GRS）法，并将其与用于优化束敏感样品投影数量的传统IS法进行比较。

3.1.2 黄金比例扫描。

为了通过单个倾转序列确定最佳投影数量，我们根据黄金比例扫描（GRS）法（图2b）对NC-1至NC-4样本进行了模拟，并使用E_s评估重建质量。对于每个样品，我们都获得了一个局部最小值E_s（图6a）。该最小值代表欠采样与束流损伤之间的最佳平衡。随着从NC-1到NC-4模拟的损伤增加，最佳值对应的投影数量减少，但E_s值升高（E_s/投影数量：7.4/55、10.4/21、13.7/13、14.9/13）。因此，随着束流损伤模拟程度增加，投影数量较少的重建结果更受青睐，因为束流损伤伪影超过了欠采样的影响。然而，尽管对投影数量进行了优化，随着诱发的束流损伤增加，整体重建质量仍然变差。

令人意外的是，NC-1 在 55 个投影时达到了局部最小值，尽管模拟中并未出现束流损伤。不过，71 个投影时的 Es（7.8%）与 55 个投影时仅相差 0.4%。因此，所得最小值很可能只是统计方差所致。所得最佳投影数量与对样品的目视检查结果一致。对于 NC-1 和 NC-2，在最佳投影数量下，重建中几乎没有明显变形（图 6b-d ）。在 NC-3 和 NC-4 中观察到轻微的表面缺陷（图 6e-f ）。不过，与 71 个投影时 NC-3 和 NC-4 中明显可见的束流损伤所致空腔相比，这些缺陷轻微得多（图 6g-j）。

比较 NC-1 至 NC-4 得到的最小 E_s 对于 IS 和 GRS（IS(%)/GRS(%): 6.6/7.4, 13.6/10.4, 30.2/13.7, 44.3/14.9），NC-2 至 NC-4 中 IS 的 E_s 值明显大于 GRS 的相应值，这表明，与采用标准 2°增量对束敏感样品进行 IS 相比，优化 GRS 采集可显著改善重建效果。

3.1.3 TUOTA。

此前，我们通过与已知的真实结构进行比较，使用指标E_s评估重建质量。要确定真实实验中的最佳投影数量，必须在不了解真实结构的情况下进行评估。TUOTA已被用于此目的，作为一种颇有前景的方法：采用NC-1至NC-4样本，在GRS期间监测SROD和信噪比随投影数量的变化。所有NC样本均在约24个投影时达到SROD阈值（图7a）。需要注意的是，针对E_s 和SROD优化得到的投影数量反映的是不同属性。SROD确定的是超过该数量后，增加投影不太可能显著改善重建的投影数量；而E_s 判据确定的是能够产生最准确重建形状的投影数量。NC1-GRS的情况尤其明显：E_s 和SROD（采用第2.1.1节所述的0.1阈值）分别确定了55个和22个投影。在没有损伤的情况下，采集可以无限期地继续，但超过某个点后便不会出现可见变化（图B4）。随着损伤从NC-1增加到NC-4，最大信噪比值降低（图7b），且出现在更靠后的投影处（信噪比（dBm）/投影数：-13.6/70、-14.0/24、-14.4/16、-14.6/16）。因此，模拟损伤越严重，使用较少投影进行重建的效果越好。为验证TUOTA的结果，我们计算了TUOTA确定的最佳重建的E_s ，并将其与完整倾转序列以及根据3.1.2节确定的最小E_s所对应的最佳重建进行比较。尽管由E_s、SROD和信噪比确定的最佳投影数量确实有所不同，但由E_s 评定的重建质量基本保持不变（图7c、表2、影片S3）。目视检查TUOTA确定的NC-1最佳重建，未发现伪影。相比之下，NC-2至NC-4在TUOTA确定的最佳投影数量下均出现了由伪影导致的波纹状纹理（图7d-g）。这与通过E_s 获得的最佳重建结果一致（图6c-f）。这些结果表明，对于模拟

表1：收集的倾转序列

Type	样品	name	$\beta1:\beta2$	采集类型	环形范围 [°]	倾转步长 [°]
模拟	纳米笼	NC-1	0:0	GRS	±70	2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0:0	IS	±70	
		NC-2	0.3:0.03	GRS	±70	2 5 7 10, 14, 35, 70
			0.3:0.03	IS	±70	
		NC-3	0.55:0.055	GRS	±70	, , , 2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0.55:0.055	IS	±70	
		NC-4	0.6:0.06	GRS	±70	2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0.6:0.06	IS	±70	
real	纳米星	Au/Pd 纳米星		GRS	±70	2, 5
				IS	±70	
	Au@NU-1000	Au@NU-1000		GRS	±70	
	Au/Pd@ZIF-8	Au/Pd@ZIF-8		GRS	±70	

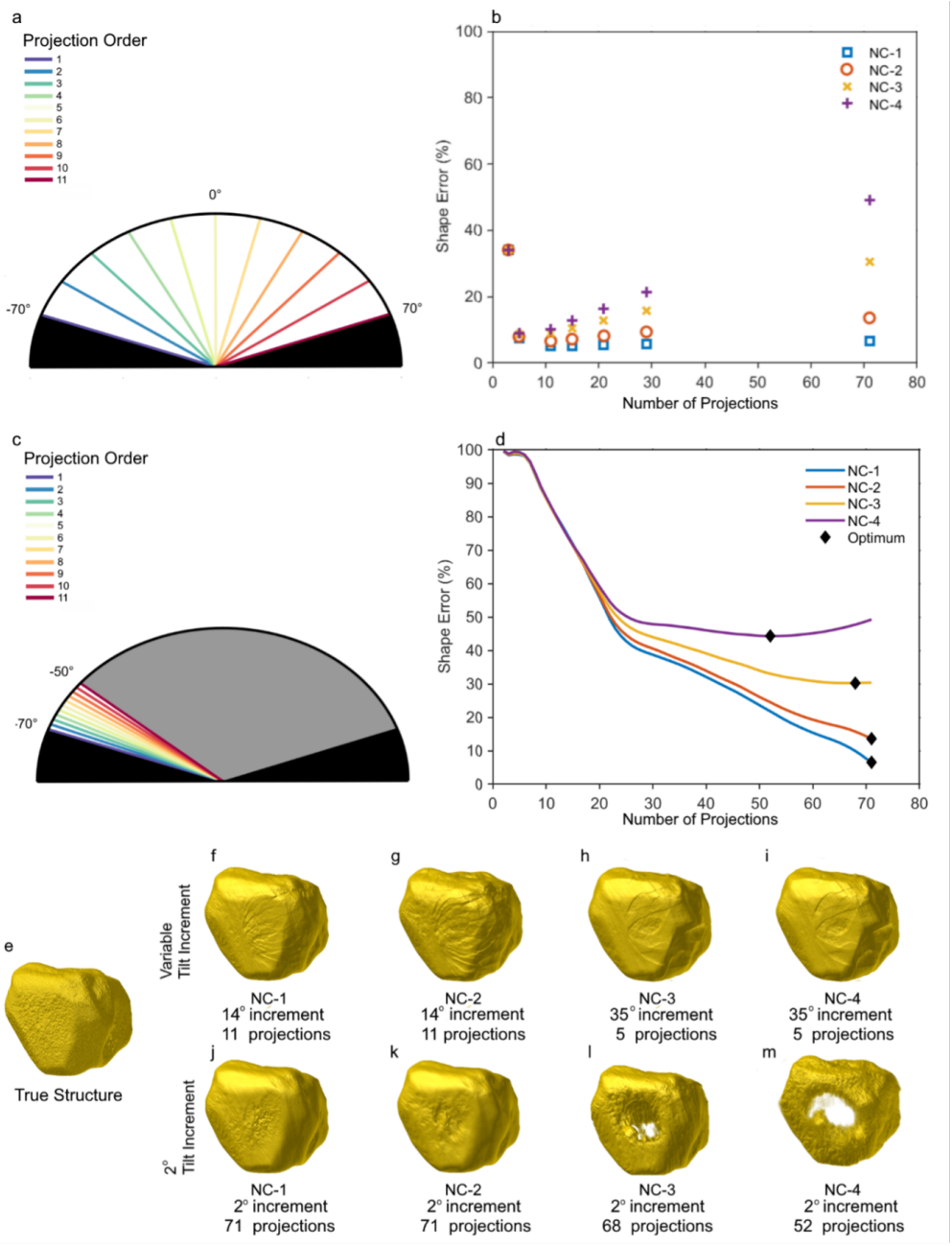

图 5：为在保持环形范围恒定的同时改变投影数，采用可变倾斜增量 2°, 5°, 7°, 10°, 14°, 35°, 70° 采集 NC-1 至 NC-4 样本（分别为 71、29、21、15、11、5、3 个投影）。图中以采集 11 个投影（14° 倾斜增量）为例（a）。随后确定每次采集的E_s（b）。另一种方法是，对 NC-1 至 NC-4 样本采用标准 2° 固定倾斜增量，并在单次采集期间增大环形范围以采集更多投影。图中以采集 11 个投影为例（c）。将E_s 绘制为投影数量的函数（d）。图中还显示了三维参考结构（e），以及采用可变倾斜增量确定的 NC-1 至 NC-4 的最佳重建结果（f-i），和 2° 增量下的最佳重建结果（j-m）。

纳米笼，TUOTA能够准确确定最佳投影数量，其结果可与参考真实结构相媲美。

3.2 实验验证

3.2.1 Au/Pd 纳米星

如前所述，为束敏感样品优化倾转欠采样的一项挑战是无法获知材料的真实体积。模拟实验可以解决这一问题通过允许将重建结果与模拟的“真实”参考体积进行比较来应对这一挑战。然而，模拟数据中不存在聚焦和投影对齐方面的难题。对于抗束流损伤样品，可以假定通过标准电子断层成像获得的重建结果能够合理地表示样品的真实体积。因此，可使用 E_s 确定重建质量，其中参考基准是通过标准

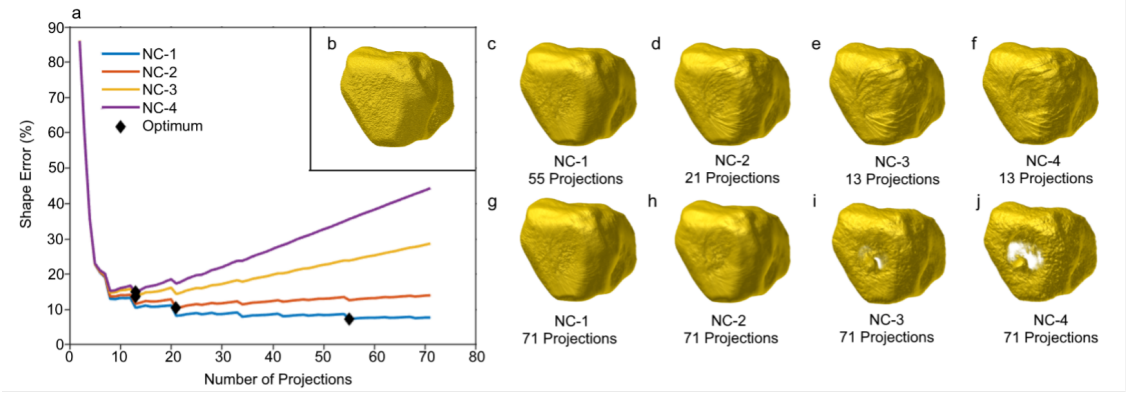

图6： (a) NC1-4 纳米笼的形状误差随投影数量的变化，以及通过黄金比例扫描采集方案确定的最佳投影数量。(b) 插图：束流损伤模拟前的纳米笼。使用最佳投影数量（c-f）和71个投影（g-j）对 NC-1 至 NC-4 进行三维重建。

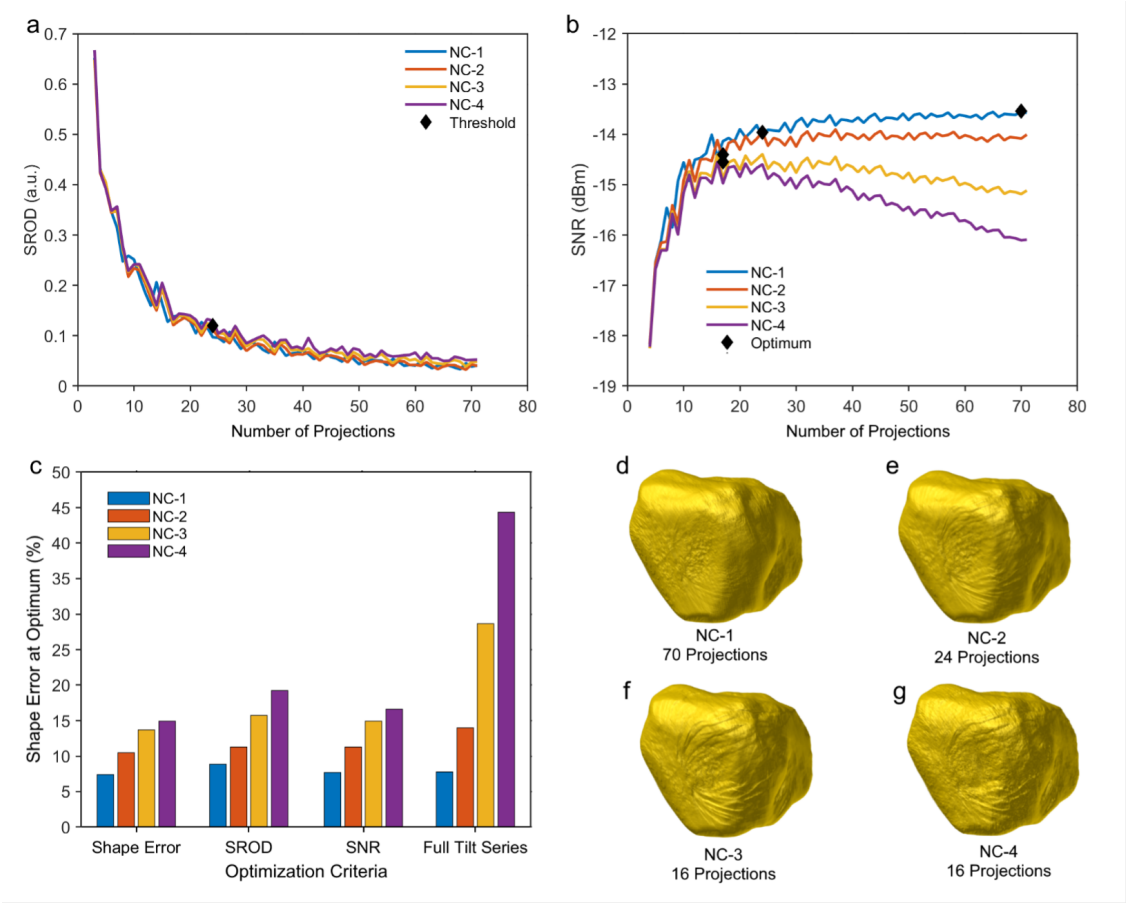

图7： (a) 显示0.1阈值的 SROD，以及 (b) 通过 TUOTA 确定的 NC-1 至 NC-4 正交切片的信噪比。(c) 比较通过形状误差、信噪比、SROD以及包含71个投影的完整倾转序列确定的最佳重建的 E_s 。(d-g) 使用通过信噪比确定的最佳投影数量对 NC-1 至 NC-4 进行重建。

ET.

为使用实验数据验证 TUOTA，采用 Au/Pd 纳米星作为抗束流损伤样品。在同一样品上依次进行了三次采集：一次 GRS采集（71 个投影），以及两次 IS采集，增量分别为 2°（71 个投影）和 5°（29 个投影）。在所有采集完成前后各采集了一次 A 0° 投影。

对这些图像进行目视检查后，未发现明显的束流损伤迹象（图8a-b）。

对于 GRS重建，通过与使用 IS 以 2° 增量采集的参考样品进行比较，测量了E_s 随投影数量的变化情况。与 NC-1 的模拟结果类似，对于未发生形变的样品，随着投影数量增加，E_s 趋于下降，但始终未达到局部最小值，

并且E_s 在约 58 个投影处趋于平稳（$E_s = 8.52\%$）（图 8c）。继续增加投影数量时，E_s 仅略微下降至 8.47%（71 个投影），表明对重建的改善有限。在 58 个和 71 个投影时，三维结构在视觉上无法区分（图 B5）。应用 TUOTA 后，信噪比会增加，但随着投影数量增加而趋于平稳（图 8d）。采集完整倾转序列时，信噪比达到最大值（-16.6 dBm），这表明没有束流损伤降低信号质量。对于 SROD，在 53 个投影时达到阈值，表明此处为终止点，继续增加投影已无必要（图 8e）。在 53 个投影时，E_s 与最小E_s 相比仅相差 2.43%（表 3），表明使用 71 个和 53 个投影进行重建的差异有限。

通过对样品进行目视检查，将完整的 GRS 重建与步长为 2。的 IS 重建进行比较，未发现明显伪影（图 8f-g）。然而，当投影数量减少至 29 个时，GRS 和 IS 重建中均出现明显伪影（图 8h-i，影片 S4）。如前所述，使用 TUOTA 在投影数量为 53 时确定重建已收敛。因此，对包含 53 个投影的 GRS 倾转序列进行了重建（图 8j）。未观察到该重建与参考结构之间存在明显差异（表 3）。

总体而言，与预期一致，对于 Au/Pd 纳米颗粒，无论是通过目视检查样品还是通过分析，均未发现束流损伤。通过 IS 采集，得到的最佳投影数量范围为 29 至 71 个。使用 TUOTA，在单次采集中将最佳投影数量确定为 53 个。这表明，即使应用于耐束流样品，TUOTA 也能有效确定最佳投影数量，而无需真实参考结构。

3.2.2 纳米颗粒@金属有机框架复合材料

TUOTA技术应用于两种金属有机框架复合材料：Au@NU-1000和Au/Pd@ZIF-8。已知这些材料在受到电子束照射时会发生显著的形状和结晶度变化。[1,28,35] 采用GRS技术，通过比较采集的第一个和最后一个投影（图B6），观察样品的降解和污染情况。晶面变得不再清晰，样品周围出现了一个大而模糊的环，表明存在碳污染。

同时还分析了信噪比（图9a）。与 Au@NU-1000 样品（信噪比为 -13.1 dBm，使用 43 个投影）相比，Au/Pd@ZIF-8 样品的最大信噪比更高（信噪比为 -9.84 dBm，使用 66 个投影）。此外，Au/Pd@ZIF-8 的最大信噪比出现在倾转序列结束时，而 Au@NU-1000 的最大信噪比则出现在一个局部最大值处。这表明

表2：采用各种优化准则和完整倾转序列，通过GRS获取的重建结果的形状误差E_s 和投影数量（NPs）

样品	E_s		SROD		SNR		full	
	NPs	E_s	NPs	E_s	NPs	E_s	NPs	E_s
NC-1	55	7.4	22	8.8	70	7.7	71	7.7
NC-2	24	10.4	22	11.3	24	11.3	71	14.0
NC-3	13	13.7	24	15.7	16	14.9	71	28.7
NC-4	13	14.9	24	19.2	16	16.6	71	44.3

表3：采用各种优化准则，通过GRS终止采集的Au/Pd 纳米星的E_s 和投影数量。

优化准则	投影数量	E_s(%)
最小 E_s	71	8.47
SROD	53	10.9
SNR	71	8.47
Full	71	8.47

Au@NU-1000 样品对束流诱导变形更敏感，这与 SROD 结果一致。Au/Pd@ZIF-8 的 SROD 阈值出现在 31 个投影处，表明尽管增加投影数量能够改善信噪比，但超过 31 个投影后，重建几乎没有变化。相比之下，Au@NU-1000 的 SROD 阈值出现得更晚，为 43 个投影；其阈值通常高于 Au/Pd@ZIF-8，且一致性较差，说明额外噪声使重建难以收敛至一致结果（图9b）。

对样品的目视检查支持 TUOTA 分析的结果。对于 Au@NU-1000，与使用20个投影进行欠采样的样品颗粒相比，在信噪比最优点处，NU-1000壳层呈现出显著更多的表面细节。使用完整倾转序列时，金属有机框架壳层明显收缩，表明变形仍在持续（图9c-f，视频S5）。对于 Au/Pd@ZIF-8，完整倾转序列、信噪比最优点和 SROD 最优点之间几乎没有观察到差异。使用20个投影进行欠采样会导致重建结果中 Au/Pd纳米颗粒无法被正确分割（图9g-j，视频S6）。

总体而言，本研究结果表明，TUOTA 可用于确定金属有机框架样品的最佳采集点，以防止束流损伤。对于 NU-1000 样品，应在43个投影处终止采集。对于 Au/Pd@ZIF-8，尽管可以观察到束流损伤，但其对重建质量的影响有限，因此在31个投影后终止采集即可获得良好结果。

4 讨论

4.1 倾转方案

在我们的研究中，无论是在实验还是模拟情形下，使用 RECAST3D 和 GRS扫描得到的重建结果，均可与采用标准 2° 倾转增量的 IS 相媲美，甚至更优。然而，当将 IS 扫描的投影数量优化至与 GRS 扫描的投影数量相近时，以 Es 衡量的重建质量略有下降。一种可能的解释是，GRS 倾向于对几乎整个倾转范围（即“环形范围”）进行采样，但无法将其完全覆盖。例如，在 $\pm 70°$（总计 $140°$）的倾转范围内，GRS 扫描的前十个投影覆盖约 $119.6°$，增至 $127.4°$（20 个投影）和 $132.2°$（30 个投影）。相比之下，无论采用何种倾转增量，IS 始终会对整个环形范围进行采样。值得注意的是，虽然优化后的 IS 可能比 GRS 略微改善重建质量，但对于束敏感样品而言，优化 IS 扫描的投影数量并不可行。此外，即使能够进行优化，也需要采集多个倾转序列，过程会十分耗时。作为替代方案，可以考虑采用两步法：先确定最佳

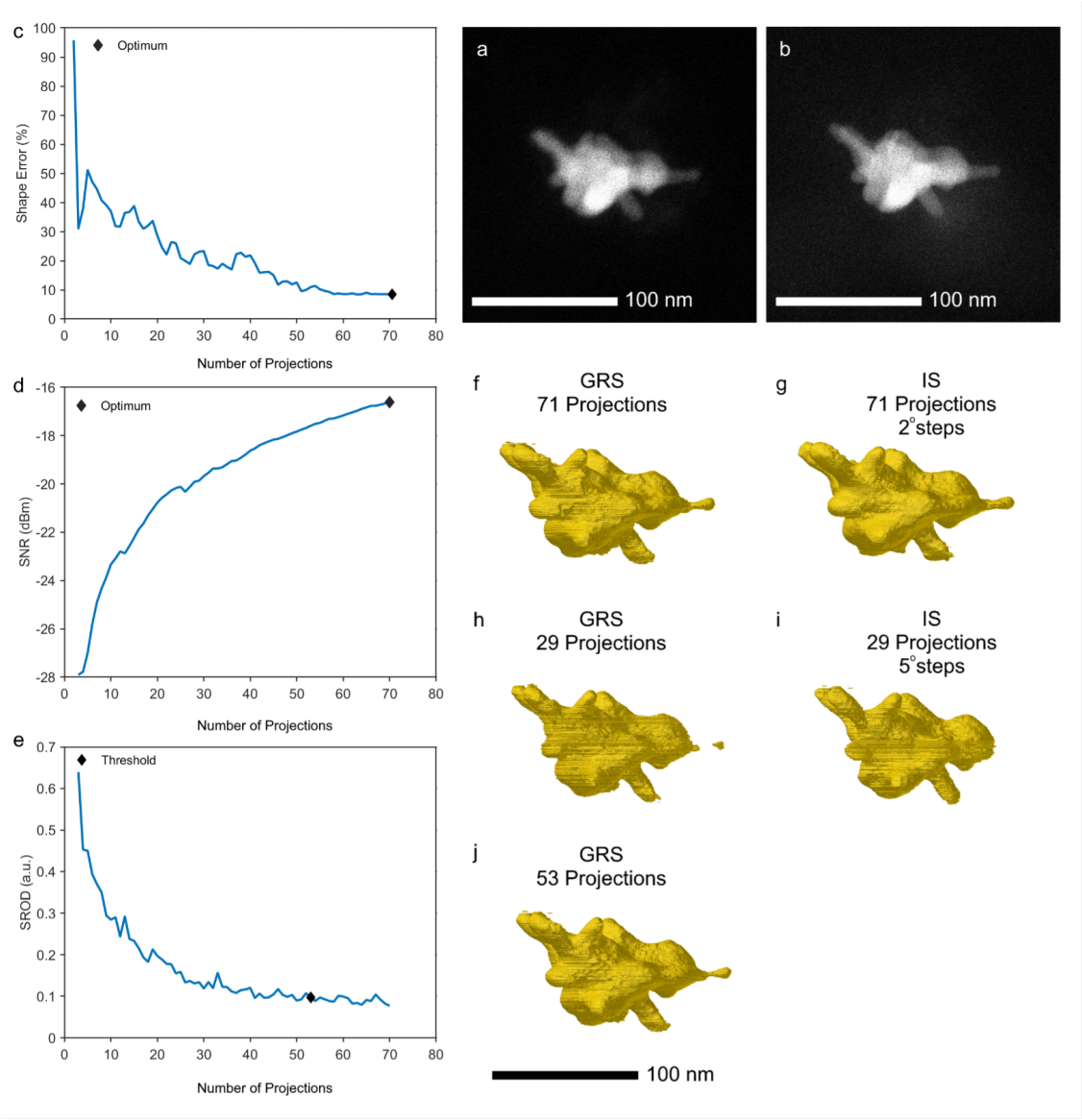

图 8： 0° Au/Pd 纳米星在采集三个倾转序列之前（a）和之后（b）的投影（IS 2°、 5° 增量和 GRS 71 个投影）。通过与 2° 增量的 IS 重建结果进行比较，确定了 GRS重建的形状误差随投影数量（c）的变化。使用 TUOTA 实时确定信噪比（d）和 SROD（e）。Au/Pd 纳米星分别使用 GRS 和 IS 的 71 个投影（f-g）和 29 个投影（h-i）进行重建。还使用根据 SROD阈值确定的最佳投影数量对 GRS 倾转序列进行了重建（j）。

投影数量，然后使用 IS 以接近 GRS 所确定最佳投影数量的倾转增量采集第二个倾转序列。这种方法有望略微改善重建效果，同时减少 GRS成像中跟踪和重新聚焦步骤所需的电子束照射时间。值得注意的是，在我们的研究中，GRS 跟踪和聚焦均由人工完成，而自动跟踪可显著减少 GRS成像中的电子束照射时间。

4.2 软件架构

如前期研究所述，TUOTA 的大部分功能均使用 RECAST3D 实现。[6,7] 不过，定量分析还存在一些额外约束，需要对 RECAST3D 进行修改。具体而言，在 $N-1$ 个投影下得到的正交切片必须具有相同的取向和倾转轴与具有N 个投影的正交切片相同。虽然 RECAST3D 允许实时调整这些参数，但这样做会使 TUOTA 的定量分析结果失效，并妨碍用户目视检查样品的其他区域或校正倾转轴对准。此外，RECAST3D 默认选取的正交切片（穿过原点的 xy、xz和yz切片）可能无法代表整个体积。例如，对于八枝晶纳米星，这些切片可能穿过中心而未经过任何枝晶，导致样品的很大一部分位于检查区域之外（图 B7）。为解决此问题，可以目视检查样品，并通过旋转xy 和xz 平面 45°来调整正交切片的选取，从而获得更具代表性的体积切片。

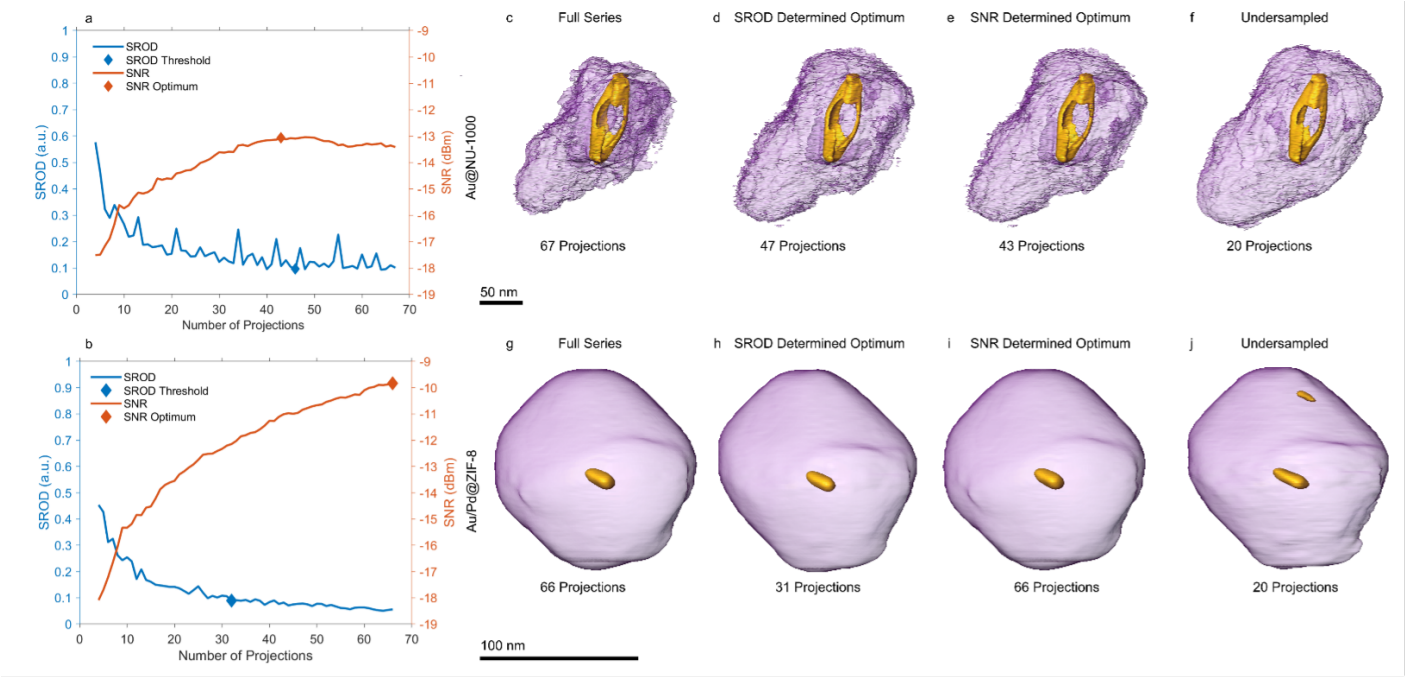

图9：Au@NU-1000 和 Au/Pd@ZIF-8 的信噪比（a）和 SROD（b）随投影数量的变化。Au@NU-1000（c-f）和 Au/Pd@ZIF-8（g-j）的三维重建分别使用完整倾转序列、信噪比最优值、SROD阈值和20个投影（从左到右）获得。

4.3 对齐

投影对齐是 TUOTA 面临的一项重大挑战。在以往的研究中，投影和倾转轴对齐已通过 RECAST3D 实时完成。[48] 然而，将 TUOTA 应用于束敏感样品时，还需考虑一些额外挑战。首先，由于图像中包含其他特征，例如碳网格的束流损伤区域、其他颗粒或载网，强度互相关可能导致投影对齐不佳。为解决此问题，我们使用分水岭分割识别图像中最大的颗粒，并将其他所有内容遮罩掉。

第二个挑战是，GRS中投影之间通常存在较大的角距离，这可能导致互相关出现误差。例如，第二个投影（−37.0°）与第三个投影（49.6°）之间相差 86.5°。为解决这一问题，我们按角度和时间顺序为图像编索引，并将每个投影与角度上最近的投影对齐，而不是与此前采集的投影对齐。总体而言，我们成功运用该方法应对这些挑战，确保了束敏感样品在TUOTA过程中实现准确的投影对齐。

5 结论

总之，我们开发了一种新方案，利用 GRS 和 RECAST3D 优化单次采集过程中的倾转欠采样。模拟结果表明，与采用标准增量采集获得的重建结果相比，使用该方法优化的束敏感样品重建结果与预损伤样品具有更高的保真度。我们通过模拟以及对 Au/Pd 纳米星进行实验性三维成像验证了这一方法，并将其应用于高敏感度 NP@MOF 复合物的表征。我们的方法基于黄金比例采集和准实时重建，为针对每个样品平衡欠采样、束流损伤与重建质量提供了有效方案。虽然通过对 IS 法进行欠采样优化也能获得类似结果，但我们的方法效率高得多，耗时也更少。

未来的工作可能包括：在更广泛的束敏感样品上进一步优化和测试 TUOTA 方案，并将其性能与其他采集方案进行比较。此外，将更先进的重建算法与 TUOTA 结合使用，或许能够获得质量更高的重建结果。

资助声明

本项目获得了欧盟 Horizon 2020 研究与创新计划（资助协议编号：860942）以及欧洲研究委员会 ERC 巩固者基金（编号：815128，REALNANO）的资助。

利益冲突

作者声明不存在任何可能被视为潜在利益冲突的经济利益或个人关系。

致谢

作者谨此感谢通过资助协议编号 860942 - HEATNMOF 获得的欧盟“地平线2020研究与创新计划”资助。S.B. 和 A.A.K. 亦感谢欧洲研究委员会提供的支持（ERC巩固者基金，编号 815128 REALNANO）。作者感谢安特卫普大学 EMAT 的 Armand Béché、Lars Riekehr 和 Daniel Arenas Esteban 提供的协助，包括透射电子显微镜的培训与使用，以及纳米材料三维可视化和渲染方面的帮助。作者还感谢

Pablo del Pino 及其圣地亚哥-德孔波斯特拉大学研究团队提供样品，用于本研究所呈现的表征工作。

参考文献

[1] DarpandeepAulakh、Lingmei Liu、Juby R Varghese、Haomiao Xie、Timur Islamoglu、Kyle Duell、Chung-Wei Kung、Chia- En Hsiung、Yuxin Zhang、Riki J Drout 等。直接成像金属有机框架中的孤立单分子磁体。美国化学会志，141(7):2997–3005，2019年。

[2] F Banhart。在电子显微镜中使用聚焦电子束照射碳纳米管。材料科学杂志，41(14):4505–4511，2006年。

[3]José A Barreto、William O'Malley、Manja Kubeil、Bim Graham、Holger Stephan 和 Leone Spiccia。纳米材料：在癌症成像和治疗中的应用。先进材料，23(12):H18–H40，2011年。

[4]Alberto Bartesaghi、P Sprechmann、J Liu、G Randall、G Sapiro 和 Sriram Subramaniam。生物电子断层成像中结合缺失楔校正的分类与三维平均。结构生物学杂志，162(3):436–450，2008年。

[5] Kees Joost Batenburg 和 Jan Sijbers。DART：一种实用的离散断层成像重建算法。*IEEETransactions on ImageProcessing*，20(9):2542–2553，2011年。

[6] Jan-WillemBuurlage、Holger Kohr、Willem Jan Palenstijn 和 K Joost Batenburg。实时准三维断层重建。测量科学与技术，29(6):064005，2018年。

[7]Jan-Willem Buurlage、Federica Marone、Daniël M Pelt、Willem Jan Palenstijn、Marco Stampanoni、K Joost Batenburg 和 Christian M Schlepütz。在 TOMCAT 开展时间分辨断层成像实验期间，通过实时重建与可视化实现动态反馈控制。*Scientific Reports*，9(1):1–11，2019年。

[8] Matteo Calvaresi. 纳米颗粒形状计量之路。*Nature*纳米技术，15(7):512–513，2020年。

[9]Ting-Ting Chen、Jin-Tao Yi、Yan-Yan Zhao 和 Xia Chu。生物矿化金属有机框架纳米颗粒可实现天然活性蛋白质的细胞内递送及内体-溶酶体释放。美国化学会志，140(31):9912–9920，2018年。

[10] Seungryong Cho、TaewonLee、JonghwanMin 和 Hyekyun Chung。多视角欠采样技术应用于低剂量计算机断层成像的可行性研究。*OpticalEngineering*，51(8):080501，2012年。

[11] PriscillaChoo、Tingting Liu 和 Teri W Odom。纳米颗粒形状决定了靶向纳米构筑体在细胞膜上的动态行为。美国化学会志，143(12):4550–4555，2021年。

[12]Vincent H Crespi, Nasreen G Chopra, Marvin L Cohen, A Zettl, 和 Steven G Louie。各向异性电子束损伤与碳纳米管的坍塌。《物理评论*B*》,54(8):5927, 1996年。

[13] AVCrewe, J Wall, 和 LM Welter。高分辨率扫描透射电子显微镜。《应用物理学杂志》, 39(13):5861–5868, 1968年。[14] Mark E Davison。有限角度断层成像问题的不适定性质。《*SIAM* 应用数学杂志》, 43(2):428–448, 1983年。[15] Dan E Dudgeon 和 Russell M Mersereau。多维数字信号处理。Prentice-Hall，1984年。

[16] RF Egerton. 透射电子显微镜加速电压为 10 至 300 kV 时，束敏感样品的辐射损伤机制。《显微镜研究与技术》，75(11):1550–1556，2012。

[17] Jürgen Frikel 和 Eric Todd Quinto。有限角度断层成像中伪影的表征与减少。《反问题》，29(12):125007，2013。

[18]Richard Gordon、Robert Bender 和 Gabor T Herman。用于三维电子显微术和X射线摄影的代数重建技术（ART）。理论生物学杂志，29(3):471–481，1970。

[19] Bart Goris、Lakshminarayana Polavarapu、Sara Bals、Gustaaf Van Tendeloo 和 Luis M Liz-Marzán。通过三维形貌与化学成分映射监测电置换反应。《纳米快报》，14(6):3220–3226，2014。

[20] Bart Goris、Wouter Van den Broek、Kees Joost Batenburg、H Heidari Mezerji 和 Sara Bals。基于全变差最小化重建技术的电子断层成像。*Ultramicroscopy*，113:120–130，2012年。

[21] J Bernard Heymann。作为评估冷冻电子显微图像序列质量和辐射损伤工具的渐进式频谱信噪比。《生物医学中的计算机方法与程序》，220:106799，2022年。

[22] John D Hunter。Matplotlib：一个二维图形环境。《科学与工程计算》，9(03):90–95，2007年。

[23] Nan Jiang。氧化物中的电子束损伤：综述。《物理学进展报告》，79(1):016501，2015年。

[24]Anders P Kaestner、Beat Munch 和 Pavel Trtik。动态过程的时空计算机断层成像。*Optical Engineering*，50(12):123201，2011年。

[25] Christian Kübel、Andreas Voigt、Remco Schoenmakers、Max Otten、David Su、Tan-Chen Lee、Anna Carlsson 和 John Bradley。电子断层成像的最新进展：用于材料科学和半导体应用的透射电子显微镜与高角环形暗场扫描透射电子显微镜断层成像。*Microscopyand Microanalysis*，11(5):378–400，2005年。

[26] Kenneth Lange、Richard Carson 等。用于发射和透射断层成像的期望最大化重建算法。*JComput Assist Tomogr*，8(2):306–16，1984年。

[27]Peter Laux、Jutta Tentschert、Christian Riebeling、Albert Braeuning、Otto Creutzenberg、Astrid Epp、Valérie Fessard、Karl-Heinz Haas、Andrea Haase、Kerstin Hund-Rinke 等。《纳米材料：应用、风险评估与风险沟通的若干方面》。*Archives of Toxicology*，92(1):121–141，2018年。

[28] Lingmei Liu、Daliang Zhang、Yihan Zhu 和 Yu Han。高分辨率电子显微镜揭示金属有机框架的整体与局部结构。*CommunicationsChemistry*，3(1):1–14，2020年。[29]G McMullan、AR Faruqi、D Clare 和 R Henderson。比较三种直接电子探测器在 300 kev 下用于低剂量电子显微镜的最佳性能。*Ultramicroscopy*，147:156–163，2014年。[30] Paul A Midgley 和 Rafal E Dunin-Borkowski。材料科学中的电子断层成像与全息术。*Nature Materials*，8(4):271–280，2009年。[31] 大津展之。基于灰度直方图的阈值选择方法。*IEEE*系统、人类与控制论汇刊，9(1):62–66，1979年。[32]Willem Jan Palenstijn、K Joost Batenburg 和 Jan Sijbers。利用图形处理器（gpus）提升迭代电子断层重建的性能。结构生物学杂志，176(2):250–253，2011年。[33] Alan Pryor、Yongsoo Yang、Arjun Rana、Marcus Gallagher- Jones、Jihan Zhou、Yuan Hung Lo、Georgian Melinte、Wah Chiu、Jose A Rodriguez 和 Jianwei Miao。Genfire：用于高分辨率三维成像的广义傅里叶迭代重建算法。*Scientific Reports*，7(1):1–12，2017年。[34] Emil Roduner。尺寸很重要：纳米材料为何与众不同。*ChemicalSociety Reviews*，35(7):583–592，2006年。[35] Christoph Rösler、Daniel Esken、Christian Wiktor、Hirokazu Kobayashi、Tomokazu Yamamoto、Syo Matsumura、Hiroshi Kitagawa 和 Roland A Fischer。将双金属纳米颗粒包封于金属有机框架中：pd/au@ zif-8 的制备与微观结构表征。*European Journal ofInorganic Chemistry*，2014(32):5514– 5521，2014年。[36]Christopher J Russo 和 Richard Henderson。冷冻电子显微镜中的电荷积累。*Ultramicroscopy*，187:43–49，2018年。[37] MC Scott、Chien-Chun Chen、Matthew Mecklenburg、Chun Zhu、Rui Xu、Peter Ercius、Ulrich Dahmen、BC Regan 和 Jianwei Miao。达到 2.4 埃分辨率的电子断层成像。*Nature*，483(7390):444–447，2012年。[38] DH Shin、EJ Kirkland 和 J Silcox。在 100 kv 下分辨率优于 2 埃的环形暗场电子显微镜图像。*Applied Physics Letters*，55(23):2456–2458，1989年。[39] MMJ Treacy 和 JM Newsam。L型沸石的电子束敏感性。*Ultramicroscopy*，23(3-4):411–419，1987年。

[40] Stuart Turner、Oleg I Lebedev、Felicitas Schroder、Daniel Esken、Roland A Fischer和Gustaaf Van Tendeloo。负载型金属-有机框架材料（metal@mof-5）的直接成像。《材料化学》，20(17):5622–5627，2008年。

[41] OUgurlu、J Haus、AA Gunawan、MGThomas、S Maheshwari、M Tsapatsis和KA Mkhoyan。电子束辐照下沸石中从辐解到碰撞位移损伤的转变。《物理评论*B*》，83(11):113408，2011年。

[42] Knut W Urban。利用像差校正透射电子显微镜研究原子结构。《科学》，321(5888):506–510，2008年。

[43]Wim Van Aarle、Willem Jan Palenstijn、Jeroen Cant、Eline Janssens、Folkert Bleichrodt、Andrei Dabravolski、Jan De Beenhouwer、K Joost Batenburg和Jan Sijbers。使用ASTRA工具箱进行快速、灵活的X射线断层成像。《光学快报》，24(22):25129–25147，2016年。

[44] Wim Van Aarle、Willem Jan Palenstijn、Jan De Beenhouwer、Thomas Altantzis、Sara Bals、K Joost Batenburg 和 Jan Sijbers。ASTRA 工具箱：用于电子断层成像高级算法开发的平台。*Ultramicroscopy*，157：35–47，2015年。[45] Guido Van Rossum 和 Fred L. Drake。《Python 3参考手册》。CreateSpace，Scotts Valley，加利福尼亚州，2009年。[46] Hans Vanrompay、Armand Béché、Johan Verbeeck 和 Sara Bals。纳米颗粒电子断层成像欠采样方案的实验评估。《颗粒与颗粒系统表征》，36(7)：1900096，2019年。[47]Hans Vanrompay、Eva Bladt、Wiebke Albrecht、Armand Béché、Marina Zakhozheva、Ana Sánchez-Iglesias、Luis M Liz-Marzán 和 Sara Bals。通过快速原位电子断层成像对金纳米星热致形貌变化进行三维表征。《纳米尺度》，10(48)：22792–22801，2018年。[48]Hans Vanrompay、Jan-Willem Buurlage、Daniël M Pelt、Vished Kumar、Xiaolu Zhuo、Luis M Liz-Marzán、Sara Bals 和 K Joost Batenburg。用于纳米颗粒定量原位三维表征的任意切片实时重建。《颗粒与颗粒系统表征》，37(7)：2000073，2020年。[49] Hans Vanrompay、Alexander Skorikov、Eva Bladt、Armand Béché、Bert Freitag、Johan Verbeeck 和 Sara Bals。纳米颗粒的快速与常规高角环形暗场扫描透射电子显微镜断层成像：优势与挑战。*Ultramicroscopy*，221：113191，2021年。[50] Andrzej ˙Zak。改善敏感样品低剂量成像的电子剂量控制指南。《*Micron*》，145：103058，2021年。

A 方法

A.1 RECAST3D

RECAST3D 是一种用于实时准三维重建和可视化的工具。在显微镜上使用时，它可以根据采集的图像实时显示三个重建后的正交切片。完整代码以及操作和安装说明可在 https://github.com/cicwi/RECAST3D 查阅。本节将介绍 RECAST3D 的实现方式，以及为本研究所做的修改。

RECAST3D 由三个库组成：用于可视化正交切片数据的主库、用于根据投影数据执行重建的 SliceRecon，以及通过数据包在各层之间传输数据的 Tomopackets（图 A.1a）。Buurlage等人开发了一个框架，可通过添加自定义 Python 脚本来提高该架构的灵活性。[6] 其中一种脚本是数据适配器，允许用户导入已保存的投影数据、创建投影几何，并在 SliceRecon 进行正交切片重建前执行配准。另一种可能的附加脚本是重建后插件；我们在其中开发了 beam_analysis.py，用于计算定量指标（SROD 和信噪比），具体如正文所述。

为了使用 RECAST3D 进行束流损伤分析（图 A.1b），我们针对 RECAST3D 工作流程中的两个关键问题进行了若干改动。第一个问题是在实时分析过程中难以进行配准。为此，我们添加了 Python Pyplots 软件包，用于制作倾转序列图像动画并检查配准质量。[22]。我们还实现了 Python 多进程，以便查看倾转序列图像，从而避免

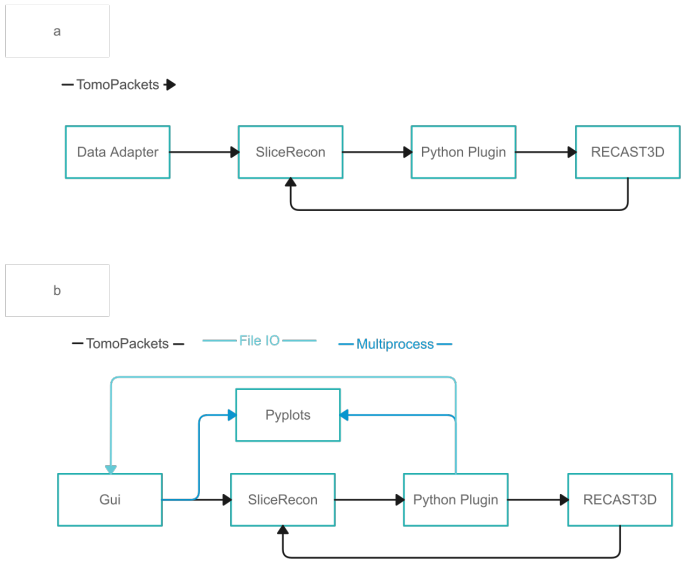

图 A.1：RECAST3D 工作流程修改前（a）和修改后（b）的示意图。主要修改包括用图形用户界面替换数据适配器；通过多进程实现绘图库，以便可视化来自图形用户界面和插件的分析与对齐数据；以及引入基于文件输入输出（IO）的通信方式，通过读写设置实现图形用户界面与插件之间的通信。这些修改旨在增强 RECAST3D 工作流程的功能和易用性。

在查看过程中减缓重建速度过程。[45] 倾转序列图像同时传输至 SliceRecon 和 Pyplots，并使用 Pyplots 界面绘制插件生成的 SROD 和信噪比数据。

RECAST3D 在束流损伤分析中的第二个问题是插件无法获取切片方向。这是因为插件通过比较当前正交切片与上一组正交切片来计算信噪比和 SROD。然而，用户可以随时更改切片方向，这会导致比较位置或方向不同的两组切片。为解决这一问题，我们修改了 Tomopackets，使其能够将方向传递给插件。方向发生变化时，系统会向数据适配器发送请求，以重新启动重建以及 SROD/信噪比分析。最后，为了方便使用，我们用图形用户界面替换了数据适配器脚本。

A.2 模拟

如图 A.2 所示，模拟通过迭代程序进行。输入参数包括初始三维体数据（V_0）、两个形变参数（β_1, β_2）、一组采集时间（t）以及倾斜角（θ）。采集时间表示倾转序列中每个投影采集之间经过的时间。例如，一组 $[1, 2.5]$表示倾转序列包含两个投影，第一个投影在时间单位为 1 时采集，第二个投影则在第一个投影采集后 2.5 个单位时采集。采集时间按最小采集时间归一化，并四舍五入到最接近的整数，以确定迭代次数（N_I），具体如下：

$$N_I = \left\lfloor \frac{t}{\min(t)} \right\rceil. \tag{A.1}$$

如下文小节所述，形变函数（f_{def}）被迭代应用于体积，从 $j = 0$ 到 N_I 的总和，如下所示：

$$V_j = f_{\text{def}}\left(V_{j-1}, \beta_1, \beta_2\right) \tag{A.2}$$

设定的N_I 定义了在各次投影之间执行的形变迭代次数。例如，对于设定$N_I = [1, 3]$，初始体积会经历四次变形：第一次投影在完成1次形变迭代后采集，而第二次投影则在第一次投影后再经过3次迭代后采集。值得注意的是，

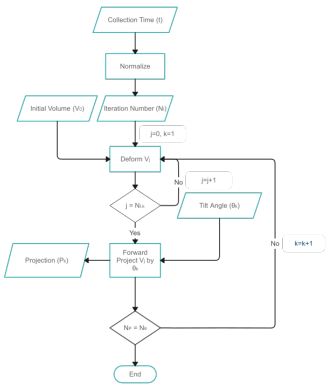

图 A.2：通过对初始体积进行指定次数的迭代形变来执行模拟。通过对变形体积按采集角度进行迭代正向投影，可从模拟中生成一组人工倾转序列。该过程持续进行，直到倾转序列中的每个角度都获得一个投影。

表 A.1：收集的倾转序列

Type	样品	name	$\beta 1:\ \beta 2$	采集类型	环形范围 [°]	倾转步长 [°]
模拟	纳米笼	NC-1	0:0	GRS	±70	2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0:0	IS	±70	
		NC-2	0.3:0.03	GRS	±70	2 5 7 10, 14, 35, 70 ， ， ，
			0.3:0.03	IS	±70	
		NC-3	0.55:0.055	GRS	±70	2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0.55:0.055	IS	±70	
		NC-4	0.6:0.06	GRS	±70	2, 5, 7, 10, 14, 35, 70
			0.6:0.06	IS	±70	
real	纳米星	Au/Pd 纳米星		GRS	±70	2, 5
				IS	±70	
	Au@NU-1000	Au@NU-1000		GRS	±70	
	Au/Pd@ZIF-8	Au/Pd@ZIF-8		GRS	±70	

投影是通过在定义的倾斜角 θ_j下对变形体积V_j 进行正向投影获得的，如下所述:

$$P_j = \mathrm{FP}\left(V_j, \theta_j\right), \tag{A.3}$$

其中，FP 表示前向投影操作。

为方便起见，我们对采集时间作了两项假设。首先，倾转序列中每幅投影的采集时间相同，例如，例如$t = [1,2,3,\ldots]$。其次，GRS 和 IS 采集期间每幅投影的采集时间相同。具体而言，在所有模拟实验中，无论采集角度或采集方式如何，每幅投影均只考虑一次变形迭代。

A.2.1 束流损伤变形。

为了模拟束流损伤，我们采用由 β_1 和 β_2 参数化的两步变形过程。第一步是使用数值范围为 -1 到 1 的随机体素掩膜（M）对样品进行弹性变形。随后应用高斯滤波器，根据相邻体素的强度平滑掩膜的数值，所用标准差为 10，这意味着随机数组经过平滑处理时，每个体素都会参考距离最近的 30 个体素。随后，体素掩膜乘以 β_1 进行缩放，并使用逐元素矩阵乘法根据掩膜 M 对样品（V）中的体素进行变换，即，

$$V_i = M \odot V_{i-1}, \tag{A.4}$$

其中，$\odot$表示逐元素矩阵乘法。在第二步中，我们模拟敲出损伤。首先，确定样品中每个非零体素的非零相邻体素数量（NN）。然后，根据 NN 和变形参数 β_2计算每个体素的概率 P，计算公式为

$$P = \begin{cases} \beta_2^{NN/3} & \text{if } NN < 27 \\ 0 & NN = 27 \end{cases}. \tag{A.5}$$

如果生成的 0 到 1 之间的随机数大于给定体素的概率 P，则将该体素的强度设为 0。

A.3 模拟样品和实验样品

参数设置列于表 A.1 中。

B 实验数据

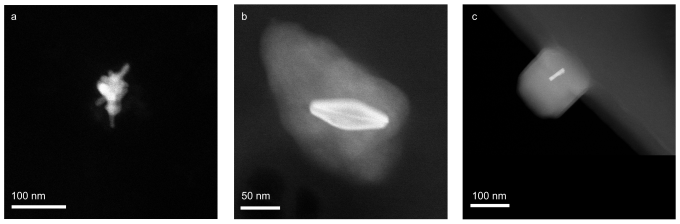

图 B.1：使用高角环形暗场采集的 Au/Pd 纳米星（a）的投影，以及使用环形暗场采集的 Au@NU-1000（b）和 Au/Pd@ZIF-8（c）NP@MOF 复合物的投影。

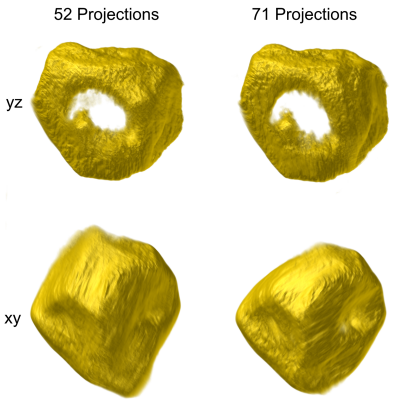

图 B.2：使用 IS（增量为 2°）采集的 NS-4 三维重建，分别以 52 个或 71 个投影终止，展示于 yz 平面和 xz 平面。随着采集的投影数量从 52 个增加到 71 个，xy 平面中的缺失楔形伪影得到校正，但代价是 yz 平面中可见的束流损伤伪影增加。

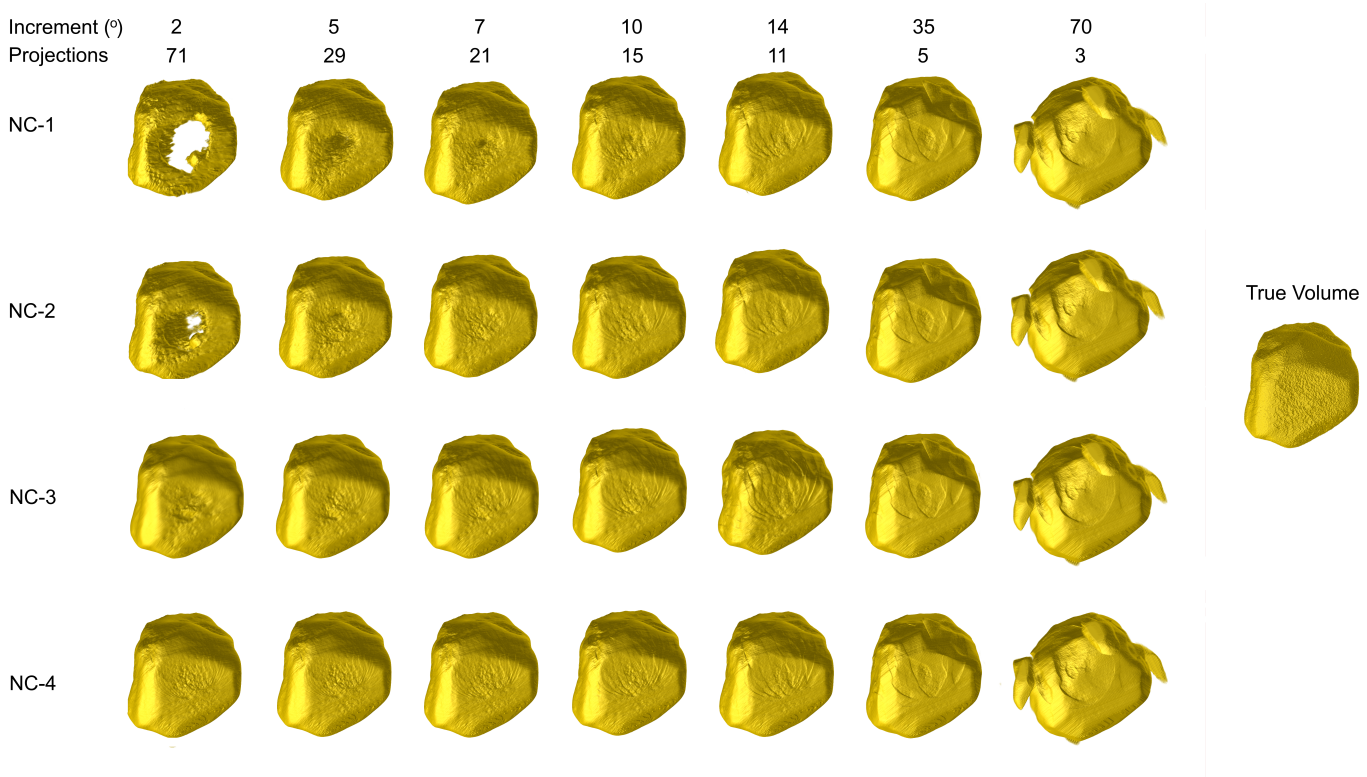

图 B.3 ： 使用可变倾斜增量进行 IS采集所得的 NC-1 至 NC-4 三维重建 .

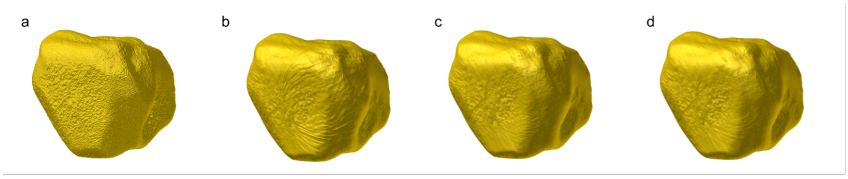

图 B.4: 三维参考结构 (a)，以及分别由 22 个 (b)、55 个 (c) 和 71 个 (d) 投影采集得到的 NC-1。

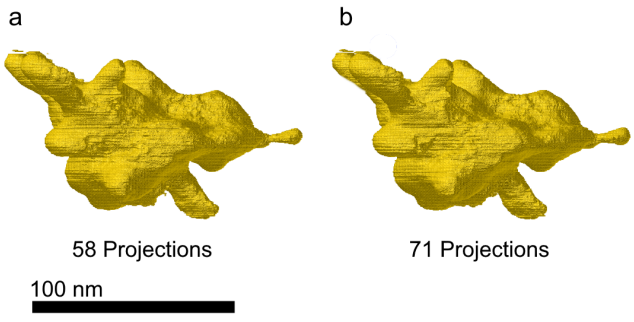

图 B.5 ： 使用 GRS 对 Au/Pd 纳米星进行采集后，以 59 个 (a) 和 71 个投影 (b) 得到的三维重建 .

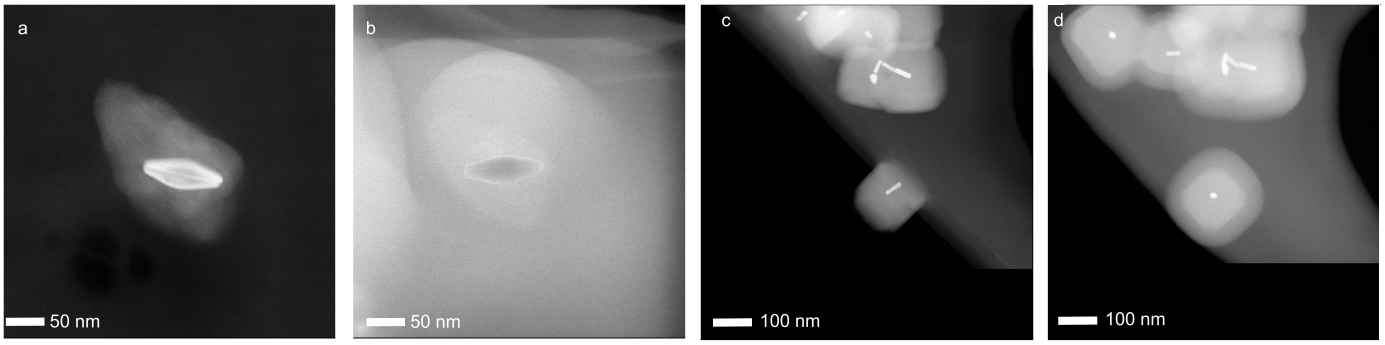

图 B.6：Au@NU-100 在 GRS采集前 (a) 和之后 (b) 的电子显微镜图像，以及 Au/Pd@ZIF-8 的 GRS采集前 (c) 和之后 (d) 的图像。

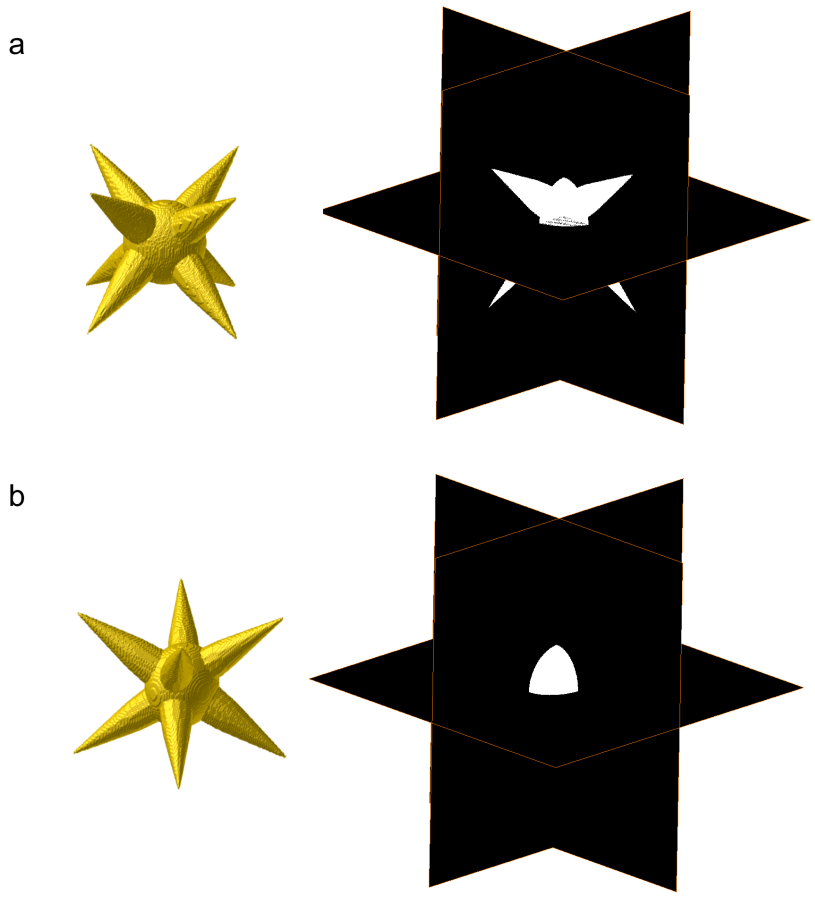

图 B.7：纳米星体积及其 xy、yz 和 xz 正交切片，展示绕 y 轴旋转 45° 前 (a) 和旋转后 (b) 的情况。旋转前结构中清晰可见的枝晶在旋转后不再可见。