

焼結 cBN 材料の顕微鏡画像分析の自動化

ドミトリー ブルガリビッチ 坂口 萌 二田 伸康 出村 雅彦

Automated Microscopy Image Analysis of Sintered cBN Materials

Dmitry S. BULGAREVICH Moe SAKAGUCHI Nobuyasu NITA Masahiko DEMURA

Abstract

Two protocols for multistep grain segmentation and analysis workflow in optical microscopy images of cubic boron nitride materials were developed and compared. One is based on statistical region merging and second one on morphological segmentation of grains without high contrast borders. Judging from corresponding manual image segmentation by expert, the second method gave more accurate grain boundaries and better statistical correspondence. Then, using the morphological segmentation method and incorporating of parameter optimization into it, a grain analysis workflow was established. Deviations from the correct answer (expert segmentation) were quantified based on five geometric statistical indices, and these deviations were added together to define the overall error. Cross-validation confirmed that the morphological segmentation workflow reproduces the expert segmentation with smaller 9.4% margin of error compared to 23.9% with statistical region merging one. The automated grain segmentation of such challenging materials with high throughput image analysis is an important help for industrial development of new milling tools.

キーワード：画像解析，微細組織，顕微鏡画像，cBN 焼結体

1. はじめに

粒子分析は冶金学における基本的な技術の一つであり，統計的な粒子サイズや形態は，材料の機械的特性（機械強度，靱性，破壊耐性，クリープなど）を決定する重要な因子であるため，さまざまな理論的および計算的数学モデルアプローチに利用されている¹⁾。本研究の対象材料である cBN 複合焼結体は，その典型的な例の一つである。cBN 複合焼結体は，鉄系材料の切削工具として広く使用されており^{2,3)}，フランク摩耗，クレーター摩耗，エッジチッピングにおけるエッジ損傷の摩耗メカニズムの理解が重要である。これらの複雑な損傷現象を理解するには，cBN マトリックス層やセラミックスから成るバインダー層の粒子サイズや形態などの微細構造に関する定量的な情報が重要となる。

このような情報の大部分は，光学顕微鏡または電子顕微鏡の画像から得られる。正確な統計分析を行うためには大量の画像データを必要とするため，従来の手作業による画像分析方法では膨大な時間がかかることが問題となっていた。近年，産業用顕微鏡では大面積の画像取得に際し，画像分析作業を自動化するために対応する粒子

分析ソフトウェアと組み合わせて使用されることが多い⁴⁻⁷⁾。しかしながら，低コントラストや不完全な境界を持つ粒子の分析は依然として課題であり，特定の冶金材料の分野では専門家が手作業で分析を行っている。画像ではなく電子後方散乱回折法（SEM-EBSD）を走査型電子顕微鏡で取得する方法もある。粒子セグメンテーションに有用な結晶方位が得られるため，結晶性の粒子には有効な手段と言える。しかし，SEM-EBSD 測定は画像の取得と比較して非常に長い時間を要するため，大量のデータを取得することは現実的ではなく，さらにこの方法は電子顕微鏡に限定されることが問題となる。

過去数十年にわたり，様々な分野に対して複雑さの異なる画像セグメンテーションアルゴリズムが開発されてきた⁸⁾。例えば，以前われわれが報告した異なる冶金材料に関する研究^{9,10)}で使用した基本的なセグメンテーションおよび処理ツールは，もともとコンピュータービジョン¹¹⁾，生物学¹²⁾，コンクリート技術¹³⁾のアプリケーション向けに構築されたものである。本研究では，二つの基本的な画像セグメンテーションおよび処理分析ツールと統計分析を使用して，SEM 画像に明確な境界を持たず，コントラストの低い粒子構造を含む cBN 複合焼結体の自

本報文は，DS. Bulgarevich, M. Sakaguchi, N. Nita and M. Demura, "Automated microscopy image analysis of sintered cBN materials". Science and Technology of Advanced Materials: Methods, 4, (2024). に掲載された論文を，許可を得て和文で転載したものです。

動粒子分析プロトコルを開発する。cBN 複合焼結体は、粒子セグメンテーション作業において最も難しい微細構造の一つである複雑な多相構造である。したがって、開発されたプロトコルは、広範な多相および多結晶材料に適用できると期待される。

2. 実験方法

cBN 複合焼結体は cBN 粉末とセラミックバインダーを焼結することによって作製され、cBN マトリックス、微細な TiN バインダー、および高度に分散した Al_2O_3 粒子で構成される。SEM 観察は、Ultra 55 (Zeiss) を使用した。また、オージェ電子分光装置 PHI-700 (ULVAC・PHI) を用い、焼結材料の元素マップを取得した。

自動画像分析プロトコルは、オープンソースの FIJI ソ

フトウェアパッケージ¹⁴⁻¹⁷⁾ を使用し、特定のプラグインを参照して実行可能なマクロの形で開発した。

3. 結 果

cBN マトリックスの SEM 画像に対して、単純なエッジ検出フィルタを適用した際に生じる典型的な問題を図 1(a)に示している。図 1(b)に示す通り、まずガウシアンフィルタを適用し、その後輝度とコントラストの調整を行い、最終的に図 1(c)に示す Canny 法によるエッジ検出フィルタ¹⁸⁾ を適用した。次に、図 1(d)に示すように連結領域の検出を行い¹⁹⁾、図 1(e)に示す二値画像を得た。最後に、図 1(f)はセグメンテーションされた粒子を示している。この時点で、図 1(f)を得るためには、少なくとも 5 つの独立したパラメータの調整が必要である。しか

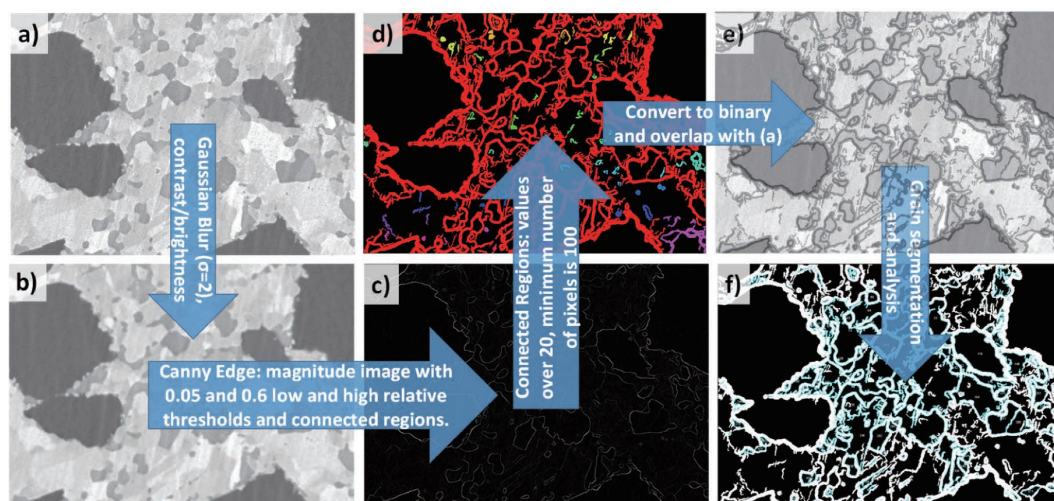


図 1 単純なエッジ検出フィルタによるセグメンテーションフロー（詳細については本文を参照）
The typical results with edge detector filters in borderless-grain segmentation workflow (see text for more details)

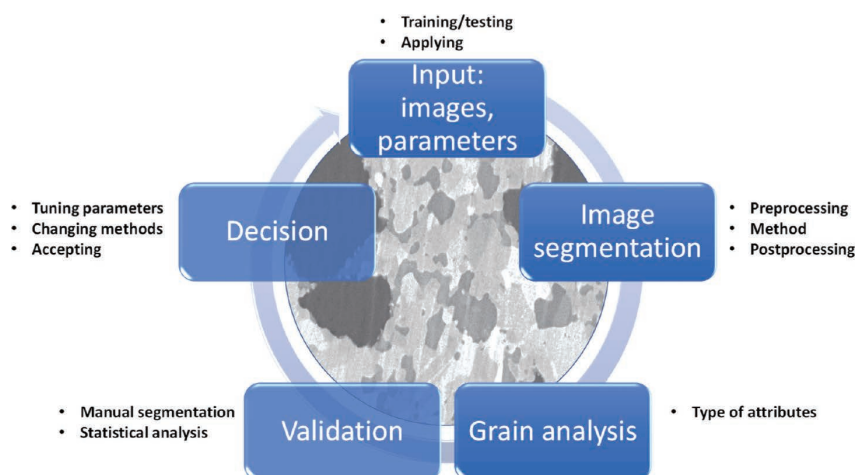


図 2 cBN 焼結体 SEM 画像のための粒子解析フローの概要
The general outline of developed grain analysis protocol for cBN compacts from their SEM images

し、図 1(e)の境界線は太すぎるため、Erode や閾値フィルタリングなどの追加の調整が必要である。さらに、多くの結晶境界が閉じておらず、粒内には多くのノイズが見られる。Canny エッジフィルタを調整して細い境界を得ようとする、この問題はさらに顕著になる。これを解決するには追加の画像処理セットが必要であり、図 1(f)から粒子分析を行うことは、この段階では正しくないといえる。つまり、既存の粒界が明瞭な粒子を対象とした画像解析技術は、本研究のサンプルには適用困難であり、その理由は、過度に複雑な手順と膨大なハイパーパラメータを必要とする一方で、得られる結果は凡庸であるためである。同様の問題は、Canny 以外の単純なエッジフィルタや閾値処理にも当てはまる。

このような背景を踏まえ、図 2 は cBN 複合焼結体に対して開発した粒子解析ワークフローの概要を示している。ここでは、二種類の画像セグメンテーションアルゴリズムを、それぞれ対応するパラメータセットとともに、同一画像上で比較検討した。

3.1 Statistical Region Merging (SRM) セグメンテーションを中核とする粒子解析ワークフロー

SRM セグメンテーションは、画素値の濃度類似性に基づき画像を高速かつ堅牢に分割するアルゴリズムである^{11,20)}。SRM では、初期の領域は画素の均質性に基づいて定義され、その後、局所的な統計検定に従って拡張と統合が行われる。グレースケール画像における統合判定 (P) は、式 (1) で定義される。

$$P(R, R') = \begin{cases} \text{true} & \text{if } |\bar{R}' - \bar{R}| < \sqrt{b^2(R) + b^2(R')} \\ \text{false} & \text{otherwise} \end{cases}, \quad (1)$$

$\sqrt{b^2(R) + b^2(R')}$ は統合閾値であり、 $b(R) = g \sqrt{\frac{1}{(2Q|R|)} \left(\ln \left(\frac{|R|}{\delta} \right) \right)}$ である。 $| \cdot |$ は集合の要素数を示す記号である。 R, R' および \bar{R}, \bar{R}' は観察画像 (I) における一対の領域であり、それぞれ $|I|$ ピクセルの画素数で、対応するグレースケール帯域における観測平均を示す。 \mathcal{R} は \mathcal{R} 個の画素数を持つ領域集合である。 $g = 256$ は画素値の集合 $\{1, 2, \dots, g\}$ であり、 Q は独立な確率変数の集合であり、その定義域は g/Q により制限され、 Q の取り得る全ての結果の総和が $\{1, 2, \dots, g\}$ に属する。すなわち、 Q は画像 I をセグメンテーションした後に得られる理論的な (期待値としての) 画像 I^* の統計的複雑性パラメータである。また、任意の $\forall 0 < \delta \leq 1$ に対して、確率 $\delta = 1 / (6|I|^2)$ は、ビッグオー記法 ($O-h$) に基づき、最適なセグメンテーションに対する誤差の定量的上限に関連するものである。統合順序は、二つの真の領域それぞれの内部において、すべての検定が事前に実行されていることを優先する。したがって、SRM アルゴリズムの実装において調整が必要な唯一のパラメータは Q であり、これはセグメンテーションの粗さを制御する g の範囲内で設定されるものである。繰り返しになるが、この SRM 実装において調整が必要なパラメータは Q のみであり、これはセグメンテーションの粗さを制御する役割を持つ。

さらに、SRM で分割された粒子群の形状およびサイズ認識を改善するために、EWA (Enhanced Watershed Algorithm) を併用した。本手法は、粒子クラスターのくびれを一定程度まで許容したうえで分割を行うことが可能である^{13,21)}。これは、元画像のヒストグラム解析に基づいた自動的な二値化と、ユークリッド距離変換 $D(x, y, z)$ に基づく処理を含む。隣接した粒子 p_{i1} と p_{i2} の分離は、式

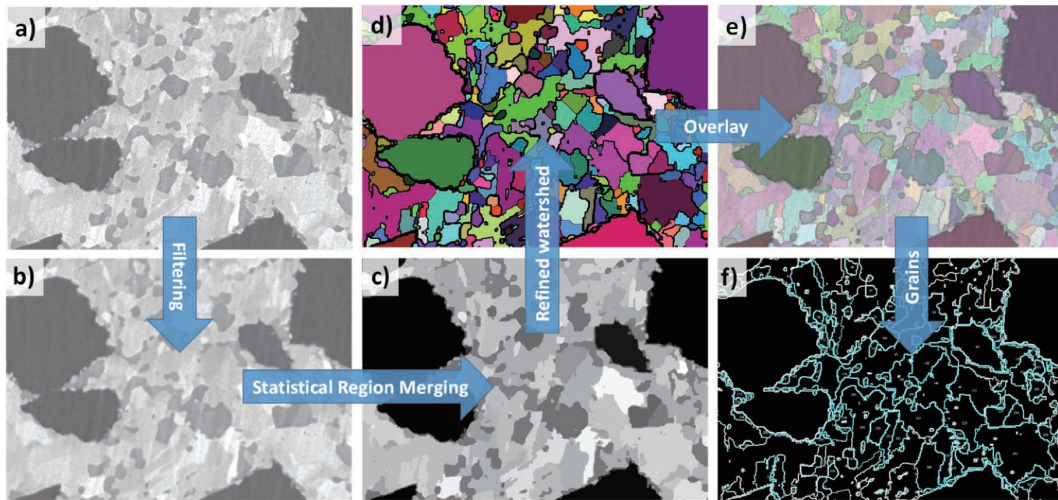


図 3 SRM プロトコルを使用したセグメンテーションワークフロー。調整可能な主なパラメータは σ , Q , および k (詳細については本文を参照)

Grain segmentation workflow with the SRM protocol where the main adjustable parameters are σ , Q , and k (see text for more details)

表1 図3(f)と図5(e)の結晶粒の特性評価のための幾何統計パラメーター

Geometrical statistical parameters for characterization of the grains in Figs. 3 (f) and 5 (e)

No.	Attribute	Definition	Comment
1	Count	Black objects	Absolute value
2	Total Area	Black objects	Absolute value
3	Size	Black objects	Individual and statistical values
4	%Area	Black objects	Absolute value
7	Perimeter	Black objects	Individual and statistical values
8	Major	Axis of fitted ellipse into black object with same area and second order central moments	Individual and statistical values
9	Minor	Axis of fitted ellipse into black object with same area and second order central moments	Individual and statistical values
10	Angle	Angle between the fitted ellipse axis of the black object and a line parallel to the X-axis of the image	Individual and statistical values
11	Circularity	Black objects, $4\pi \times [Size]/[Perimeter]$	Individual and statistical values
12	Solidity	Black objects, $4\pi \times [Size]/[Convex\ area]$	Individual and statistical values
13	Feret	Maximum caliper of black objects	Individual and statistical values
17	MinFeret	Minimum caliper of black objects	Individual and statistical values
19	Aspect ratio	$[Major]/[Minor]$	Individual and statistical values
20	Density	$[Count]/[Total\ Area]$	Absolute value
21	Surface Density	$[Count]/[\mu m^2]$	Absolute value

(2) によって粒子 p_i を連続的に浸食することでくびれ部を境界として分割する (式 (2)) :

$$D_j(x, y, z) = \begin{cases} 1, & \forall D(x, y, z) > d_j \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

ここで d_j は粒子 p_{i1} , p_{i2} の内部から境界までの最大距離に関する浸食距離であり, $c_{i1,j}(k) = (d_j < kr_{p_{i1}})$ と $c_{i2,j}(k) = (d_j < kr_{p_{i2}})$ の制約を満たす。特定のくびれを有する物体が効果的に2つの物体に分割されたかどうかは, ユーザー定義の比例定数 ($0 \leq k \leq 1$) に依存する。 $k=0$ の場合, 粒子は分割されず, $k=1$ の場合, 粒子はすべてのくびれ部で分割される。

図3(a)~(f)はSRMプロトコルの概要を示している。1) 元画像 (図3(a)) に対するガウシアンフィルタ (幅パラメータ σ) による前処理, 2) フィルタ処理後の画像 (図3(b)) へのSRM適用, 3) SRM処理後の画像 (図3(c)) に対するEWAでの粒子分離, 4) EWA処理画像 (図3(d)) と元画像 (図3(a)) の重ね合わせによる比較 (図3(e)), 5) 粒子の幾何学的特徴の統計解析 (図3(f))。このSRMプロトコルでは, 調整すべきパラメータは σ , Q , k の三つであり, 手動セグメンテーションと整合するよう調整される。開発した画像セグメンテーションおよび解析プロトコルで抽出した幾何学的特性のリストを表1に示す。

3.2 MS (Morphological Segmentation) を中核とする粒子解析ワークフロー

従来の Watershed 変換では, 画素の明るさを地形図における標高として扱い, 尾根線に沿ってセグメンテー

ションが行われる²²⁾。これに対し, Morphological Segmentation (MS) では, 式 (3) に示すように h -minima 変換を用いて非有意な極小値を除去することで, 過度な分割を効果的に回避することが^{12, 23, 24)}できる。

$$H_{min_H}(f) = R_{ef}(f + H), \quad (3)$$

ここで, $H = N \cdot Z$ は閾値高さであり, Z は平均面からの最大高さ, N はその高さに対する割合 (通常 5~20%), R_{ef} は閾値 Z で増加したマーカー関数 f によって再構成された測地線である。

図5(a)~(e)はMSプロトコルの概要を示している。1) 元画像 (図5(a)) に対するガウシアンフィルタ (幅パラメータ σ) による前処理, 2) フィルタ処理後の画像 (図5(b)) へのMS適用, 3) MS処理後の画像 (図5(c)) と元画像 (図5(a)) の重ね合わせによる比較 (図5(d)), 4) 粒子の幾何学的特徴の統計解析 (図5(e))。MSプロトコルにおいても, 手動セグメンテーションとの整合を得るためには三つのパラメータ σ , Watershed 変換における膨張・収縮の半径 (GR), 非有意極小値除去の閾値 (Tol) を調整する必要がある。

3.3 手動セグメンテーションとの比較評価

図4は, 専門家による手動セグメンテーションとSRMプロトコルによる結果の外観およびFeret径の分布とD50値の比較を示している。図4(b)を見ると, SRMプロトコルでは, 実際には存在しない小さな島状粒子が粒内に検出される傾向がある。また, 図4(a)(b)を比較すると, 分割すべき粒界が検出されていないケースもある。総じて, SRMによる粒径分布は手動セグメンテーションとはかけ離れており, Feret D50は10%以上過大評価されて

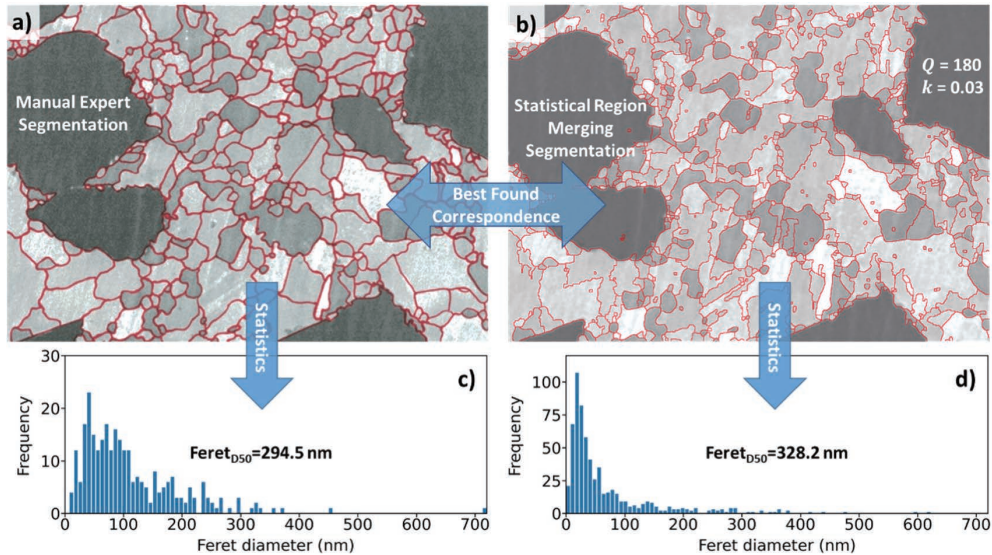


図4 専門家による検証 (a) および (c) と, SRM プロトコルによるセグメンテーション (b) および (d) の例

An example of expert validation (a) and (c) for the grain segmentation by the SRM protocol (b) and (d)

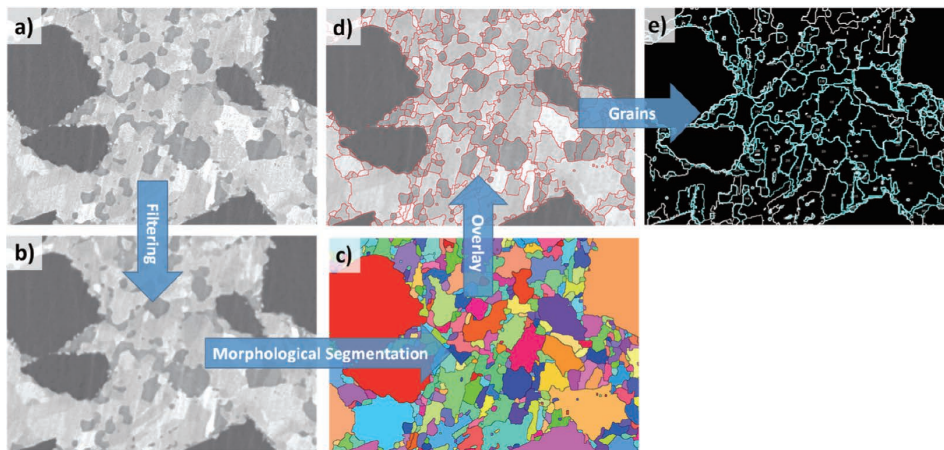


図5 MS プロトコルを使用したセグメンテーションワークフロー。調整可能な主なパラメーターは σ , GR , および Tol (詳細については本文を参照)

Grain segmentation workflow with the morphological segmentation (MS) protocol where the main adjustable parameters are σ , GR , and Tol (see text for more details)

いる (図4(c)(d)参照)。

一方, 図6はMSプロトコルと手動セグメンテーションの比較を示しており, SRMで見られたような島状粒子はなく, 粒子内部も明瞭である。図6(a)(b)を比較すると, 全体的にMSによるセグメンテーションは専門家の結果を良好に再現している。粒径分布およびFeret D_{50} も専門家の結果とよく一致している (図6(c)(d)参照)。

図5および図6の比較から, MSプロトコルによって, SRMプロトコルの場合と比較して, より専門家の手動セグメンテーションに近い粒子の外観および粒径分布が得られることが確認された。また, MSプロトコルはSRMよりも計算コストが低い点も特筆すべきである。次節で

は, 両プロトコルにおけるパラメータ最適化について詳細に検討する。

3.4 専門家によるセグメンテーションに基づいた最適なパラメータセットの学習

上記のように, 組み込まれたMSプロトコルには σ , GR , Tol のパラメータが含まれている。これらのMSのパラメータは, 専門家によるセグメンテーションをできるだけ近似するように訓練された。具体的には, 専門家によるセグメンテーションから得られた統計値と自動セグメンテーションから得られた統計値を比較し, 専門家によるセグメンテーションとの差異が最小となる σ , GR ,

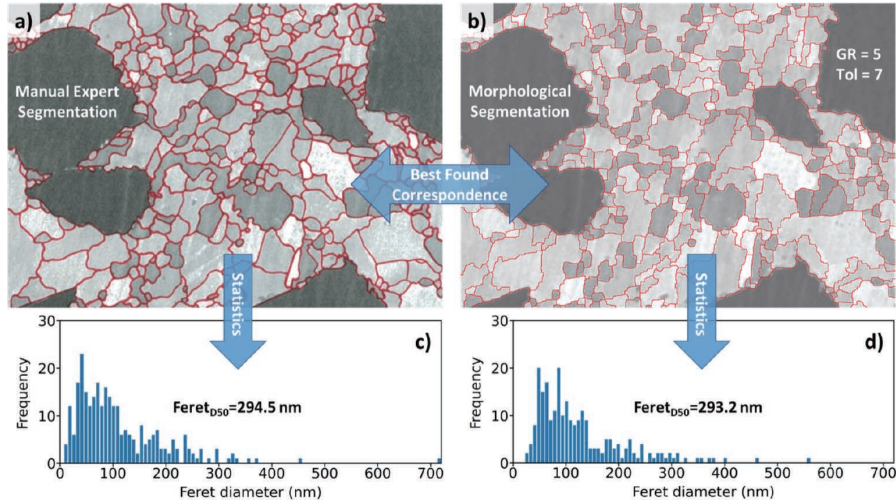


図6 専門家による検証 (a) および (c) と、MS プロトコルによるセグメンテーション (b) および (d) の例

An example of expert validation (a) and (c) for the grain segmentation by the MS protocol (b) and (d)

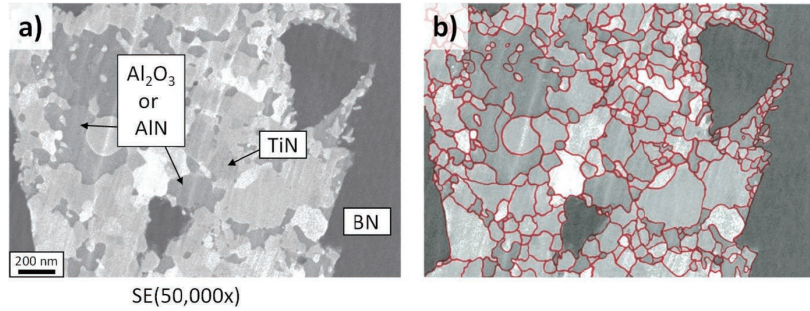


図7 結晶相を示したSEM像 (a) とパラメーターの最適化に使用した専門家によるセグメンテーションの一例 (b) (詳細については本文を参照)

One of the SEM images with indicated phases (a) and segmented by an expert (b) for learning of optimal parameter set in grain segmentation workflow/protocol with morphological segmentation in its core (see text for more details)

Tol の値を学習した。例えば、学習に使用されたトレーニング用のSEM画像の一つを図7(a)に示す。 $\times 50000$ の倍率で、cBNマトリックスとバインダーの結晶粒が認識されるが、粒界は明確ではない。BN領域のピクセルは最も低い輝度を持ち、その後にTiN、 Al_2O_3 領域が続くことに注意されたい。撮影条件によっては、TiNの輝度は Al_2O_3 に近く、電子顕微鏡像だけでは区別が難しい。本研究では図7(a)と同じ倍率のトレーニング用SEM画像を三枚 ($j=1, 2, 3$) 使用した。それらの一つに専門家によるセグメンテーションの結果を重ねたものを図7(b)に示している。

専門家によるセグメンテーションとの近似度を定量的に評価するために、五つの統計値 ($i=1, 2, \dots, 5$) を使用した。具体的には、粒子数、Feret径の平均値、中央値、標準偏差、 $D50$ 値 (表1を参照) である。ここで $D50$ 値は、結晶粒をFeret径の直径を有する球と仮定し積算した体積が全粒子の総体積の50%に達するときの粒子の

Feret径である。特定の画像 j およびパラメータセット $h:\sigma, k:GR, l:Tol$ での自動セグメンテーションの専門家のセグメンテーションに対する誤差 f_{hkl}^j は、式(4)で定義される。

$$f_{hkl}^j = \frac{\sum_i \left| 1 - \frac{C_i}{H_i} \right|}{\sum_i 1} \times 100\%, \quad (4)$$

ここで i は統計値の種類を示す。 C_i および H_i は、自動セグメンテーションおよび専門家によるセグメンテーションから得られた統計値 i の値である。それぞれの C_i は、対応する専門家によるセグメンテーションの H_i で正規化されるため、誤差 f_{hkl}^j は統計値の各種類に対して等しく扱うことができる。そして、トレーニングに使用されたすべてのSEM画像に対する f_{hkl}^j の平均値は、コスト関数 F_{hkl} として式(5)で定義される。

$$F_{hkl} = \frac{\sum_j f_{hkl}^j}{\sum_j j}, \quad (5)$$

最適なパラメータセットの値 $\widehat{h}:\widehat{\sigma}:\widehat{k}:\widehat{GR}:\widehat{l}:\widehat{Tol}$ は、 F_{hkl} を反復的に最小化することによって得られ、式 (6) で表現される。

$$\widehat{h}, \widehat{k}, \widehat{l} = \arg \min F_{hkl}, \quad (6)$$

対応するパラメータセットの探索範囲は以下とした。

$$\begin{aligned} 0 &\leq h \leq 3, \\ 2 &\leq k \leq 5, \\ 2 &\leq l \leq 14. \end{aligned} \quad (7)$$

結果として得られた、パラメータセット範囲内での F_{hkl} の変動を図 8 に示す。図 8(b) に示されるように、 $h:\sigma=1$, $k:GR=4$, および $l:Tol=9$ のパラメータセットで最小の $F_{hkl}=8.1\%$ が得られた。一方で、SRM プロトコルの場合、図 9(a) および (b) に示されるように、 $\widehat{h}:\widehat{h}=2, \widehat{k}:k=0$, $\widehat{l}:Q=228$ のパラメータセットで最小の $F_{hkl}=17.1\%$ が得ら

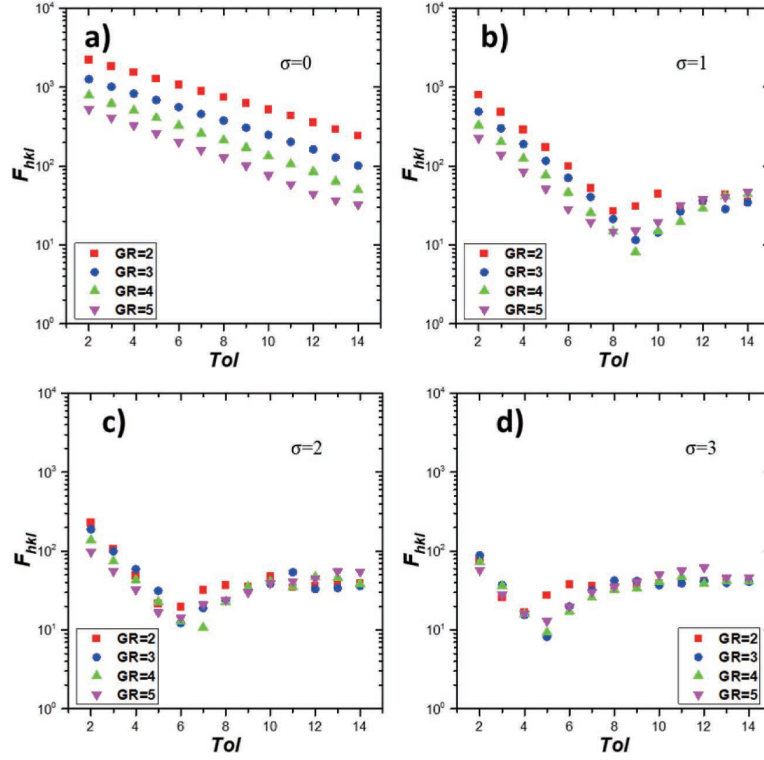


図 8 MS プロトコルにおける可変パラメーターに対するコスト関数のプロット (詳細については本文を参照)

The plots of cost function values with variable parameters in morphological segmentation protocol (see text for more details)

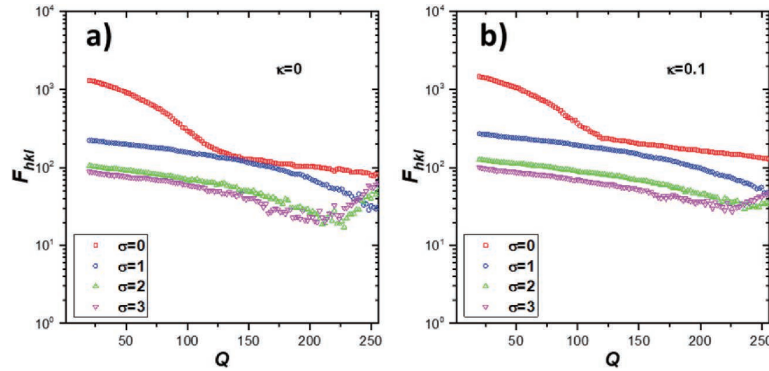


図 9 SRM プロトコルにおける可変パラメーターに対するコスト関数のプロット (詳細は本文を参照)

The plots of cost function values with variable parameters in statistical region merging segmentation protocol (see text for more details)

れた(図9(a)を参照)。これは、MS プロトコルと比較して二倍以上高い値である。

3.5 Leave-One-Out 交差検証

我々は、MS プロトコルのパフォーマンスを Leave-One-Out 交差検証を用いて評価した。この評価法では、 j 枚の画像のうちの一枚を式(4)によるパフォーマンス評価に使用し、この時に使用するパラメータセットを上記で説明したように $j-1$ 枚の画像から学習する。この作業を j 枚の SEM 画像に対して繰り返し、交差検証の値として $F_{hkl} \cong 9.4\%$ が得られた。SRM プロトコルの場合、この交差検証は $F_{hkl} \cong 23.9\%$ を示し、これはやはり MS プロトコルよりも二倍以上高い値である。

4. 結 論

cBN 複合焼結体の非常に複雑な微細構造に対して自動セグメンテーションを確立するために、二つのセグメンテーションプロトコルである SRM と MS を詳細に検討した。専門家によるセグメンテーションとの比較により、MS プロトコルは外観および粒子分布の点で専門家によるセグメンテーションをより良く再現することが示された。これをより詳細に確認するために、Feret 径分布からの五つの値(粒子数、Feret 径の平均値、中央値、標準偏差、 $D50$)に基づいて誤差を最小化することでプロトコルパラメータを最適化する方法を確立した。交差検証の結果、MS ワークフローは専門家によるセグメンテーションを 9.4% という最小限の誤差で再現することが示された。最適なパラメータを見つけ、関連する分析誤差を理解した上で、MS ワークフローは完全自動モードで使用可能である。つまり、ユーザーは cBN 材料の SEM 画像を入力するだけで、表1に示された画像および粒子幾何特性に関する統計的および個別の結果を得ることができる。

謝 辞

サンプル提供にご協力いただいた当社の粉末冶金分野の方々に感謝申し上げます。

文 献

- 1) C. A. Paredes-Orta, J. D. Mendiola-Santibañez, F. Manriquez-Guerrero and I. R. Terol-Villalobos, *Measurement*, **133**, 193–207 (2019).
- 2) S. Oguchi, K. Yumoto and Y. Miyashita, “CBN sintered compact with fine ceramics binder”, INTERTECH 2015 - An International Technical Conference on Diamond, Cubic Boron Nitride and their Applications, (2015).
- 3) A. Eko, O. Fukunaga and N. Ohtake, *Int J Refract Hard Met*, **50**, 178–183 (2015).

- 4) OLYMPUS Stream software: Count and Measure Solution. <https://www.olympus>
- 5) NIS-Elements Imaging Software. https://downloads.microscope.healthcare.nikon.com/phase4/literature/Brochures/NIS-Elements_2CE-MPCJ-4_2022-06-30-224308_tnya.pdf
- 6) Grain Size Analysis and Evaluation. <https://www.keyence.com/ss/products/microscope/vhx-casestudy/automobile/grain-size.jsp>
- 7) LAS/LAS X Grain Expert software. <https://www.leica-microsystems.com/science-lab/how-to-adapt-grain-size-analysis-of-metallic-alloys-to-your-needs/>
- 8) C. Park and Y. Ding, *MRS Communications*, **9**, 545–555 (2019).
- 9) S. Miyazaki, M. Kusano, D. S. Bulgarevich, S. Kishimoto, A. Yumoto and M. Watanabe, *Mater Trans.*, **60**, 561–568 (2019).
- 10) M. Kusuno, S. Miyazaki, M. Watanabe, S. Kishimoto, D. S. Bulgarevich, Y. Ono and A. Yumoto, *Mater Sci Eng A.*, **787**, 139549–1–10 (2020).
- 11) R. Nock and F. Nielsen, *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, **26**, 1452–1458 (2004).
- 12) D. Legland, I. Arganda-Carreras and P. Andrey, *Bioinformatics*, **32**, 3532–3534 (2016).
- 13) B. Münch, P. Gasser and L. Holzer, *J Am Ceram Soc.*, **89**, 2586–2595 (2006).
- 14) C. A. Schneider, W. S. Rasband and K. W. Eliceiri, *Nat Methods*, **9**, 671–675 (2012).
- 15) T. J. Collins, *BioTechniques*, **43**, S25–S30 (2007).
- 16) J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, JY. Tinevez, DJ. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak and A. Cardona, **9**, 676–682 (2012).
- 17) T. Ferreira and W. Rasband, “ImageJ user guide IJ”, 1.46r, 198 (2012). <http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>
- 18) Canny Edge. <https://imagej.net/plugins/xlib/#canny-edge>
- 19) Find Connected Regions. <https://www.longair.net/edinburgh/imagej/find-connected-regions/>
- 20) Statistical Region Merging. https://imagej.net/Statistical_Region_Merging
- 21) Xlib. Disconnect Particles. <https://imagej.net/plugins/xlib#disconnect-particles>
- 22) L. Vincent and P. Soille, *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, **13**, 583–598 (1991).
- 23) N. H. Fauzi ismail, T. R. M. Zaini, M. Jaafar and N. C. Pin, *MATEC Web Conf.*, **74**, 00025–1–6 (2016).

24) Morphological Segmentation. <https://imagej.net/plugins/morphological-segmentation>



ドミトリー ブルガリビッチ
Dmitry S. BULGAREVICH
独立行政法人物質・材料研究機構
主任研究員 博士（理学）



坂口 萌 Moe SAKAGUCHI
開発 TMO 分析評価領域（北本支所）
研究員



二田 伸康 Nobuyasu NITA
開発 PMO-B5
プロジェクトリーダー 博士（工学）



出村 雅彦
Masahiko DEMURA
独立行政法人物質・材料研究機構
技術開発・共用部門 部門長 博士（工学）