

TEXTE

159/2026

Abschlussbericht

Identifizierung von Feinstaubpartikeln in Innenräumen

Eine Methodenentwicklung

von John Schumann, Asmus Meyer-Plath, Torben Peters,
Carmen Thim, Sabine Plitzko, Nico Dziurowitz

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Berlin

Herausgeber:

Umweltbundesamt

TEXTE 159/2026

Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für
Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und
Verbraucherschutz

Forschungskennzahl 3717 62 203 0

Abschlussbericht

Identifizierung von Feinstaubpartikeln in Innenräumen

Eine Methodenentwicklung

von

John Schumann, Asmus Meyer-Plath, Torben Peters,
Carmen Thim, Sabine Plitzko, Nico Dziurowitz

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Berlin

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel.: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
buergerservice@uba.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

Durchführung der Studie:

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
Nöldnerstraße 40–42
10317 Berlin

Abschlussdatum:

September 2022

Redaktion:

Fachgebiet II 1.3 „Innenraumhygiene, gesundheitsbezogene Umweltbelastungen“
Wolfram Birmili

DOI:

<https://doi.org/10.60810/openumwelt-7973>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, Oktober 2026

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung: Identifizierung von Feinstaubpartikeln in Innenräumen

Das Einatmen von Fein- und Ultrafeinstaubpartikeln in der Wohn- und Arbeitsumgebung kann, wie jeder allgemeine Typ Feinstaub, Bedeutung für die Gesundheit des Menschen erlangen. Um diese erkennen, abschätzen und verringern zu können, ist es notwendig, die Zusammensetzung von Stäuben und die Konzentration kritischer Bestandteile verlässlich zu bestimmen. In diesem Forschungsprojekt wurde eine Kombination mehrerer bildgebender und chemisch-analytischer Mikroskopieverfahren entwickelt, die in automatisierter Form Informationen sowohl zur Gestalt als auch zur Zusammensetzung von Partikelproben liefern. Computergestützte Methoden ermöglichen im Anschluss eine Identifizierung einzelner Staubpartikel auf Basis von Form und chemischer Zusammensetzung. Den Ausgangspunkt der Analyse bilden elektronenmikroskopische Bilder von Filteroberflächen, mit denen Partikel aus der Luft an Arbeitsplätzen und in anderen Innenräumen gesammelt wurden. Um sie bekannten Partikelgruppen zuordnen zu können, werden im Bild lokalisierte Partikel in ihrer Form vermessen und mittels spektroskopischer Verfahren hinsichtlich ihrer Elementzusammensetzung und chemischen Beschaffenheit charakterisiert. Für diesen Schritt der Segmentierung kommen Methoden des Maschinellen Lernens zum Einsatz, die an Stäuben bekannter Zusammensetzung trainiert wurden. Die entwickelten Vorgehensweisen wurden in eine Software implementiert. Sowohl die automatische Bilderzeugung als auch die automatische Bildanalyse und Klassifizierung ermöglichen die Auswertung einer hohen Anzahl von Partikelbildern und -spektren, die Voraussetzung für aussagekräftige statistische Untersuchungen sind. Ohne Automatisierung erforderte dies einen hohen Personaleinsatz und wäre für Forschungseinrichtungen und Analyselabors nicht routinemäßig bewältigbar.

Abstract: Identification of indoor particulate matter

Inhalation of fine and ultrafine dust particles in the living and working environment can attain, much like any kind of particulate matter (PM) significance to human health. In order to be able to identify, assess and reduce such risks, it is necessary to reliably determine the composition of dusts and concentrations of critical components. For this purpose, this research project developed a unique combination of several imaging and chemical-analytical microscopy techniques that provide information on both shape and composition. Computer-aided methods allow for the identification of individual dust particles based on shape, and composition. Starting point of the analysis are electron microscopic images of filter surfaces that were used to collect particles from the air in workplaces and other indoor environments. In order to assign them to known particle groups, particles localized in the images are measured in shape and characterized by spectroscopic methods with respect to elemental composition and chemical nature. For this step, machine learning methods are used, which were trained on dusts of known composition. The developed procedures were implemented in a software. Both automatic image generation and automatic image analysis and classification enable the evaluation of a high number of particle images and spectra, which are prerequisites for meaningful statistical investigations. Without automation, this would require a high level of human resources and would not be routinely manageable for research institutions and analytical laboratories.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	9
Zusammenfassung	10
Summary	13
Einleitung	16
1 Analyse von Innenraum- und Umweltpartikeln	18
1.1 Sammeln luftgetragener Partikel für quantitative Analysen	18
1.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM) mit energiedispersiver Röntgenanalyse (EDX)	19
1.3 Konfokale Raman-Mikroskopie	20
2 Korrelation von Analyseinformationen	22
2.1 Korrelationsmikroskopie	22
2.2 Ansteuern und Wiederfinden von Staubpartikeln	22
2.3 Abfolge der Einzelanalysen	23
2.4 Methoden zur Korrelation von Bildinhalten	24
2.4.1 Methode 1: Standard-Bildkorrelationsverfahren	25
2.4.2 Methode 2: Konstellationsvergleich	25
2.4.2.1 Porenerkennung	26
2.4.2.2 Konstellationsvergleich	26
2.5 Zusammenführen der Bildinformationen	27
2.5.1 Zusammenführen von REM-Aufnahmen bei niedriger und hoher Beschleunigungsspannung	28
2.5.2 Zusammenführen von REM-Aufnahmen und EDX-Mappings	29
2.5.3 Zusammenführen von REM- und Lichtmikroskopieaufnahmen	29
2.5.4 Zusammenführen von Lichtmikroskopieaufnahmen und Raman-Mappings	30
2.6 Klassifizierung anhand der durch EDX- und Raman-Mappings generierten Informationen	31
2.6.1 Partikelklassifizierung anhand von Raman-Spektren	32
2.6.2 Partikelklassifizierung anhand von EDX-Spektren	33
2.6.3 Partikelklassifizierung anhand korrelierter Raman- und EDX-Analysen	35
2.6.4 Automatische Partikelklassifizierung	36
2.7 Statistische Auswertung der Staubzusammensetzung	38
2.8 Partikelumlagerungen während oder zwischen Analysen	40
2.9 Speicherung aller bildbezogenen Analyseinformationen	41
3 Erkennung und Lokalisierung von Partikeln	43

3.1	Segmentierung mit klassischen Methoden der digitalen Bildverarbeitung	43
3.2	Bildsegmentierung mit Künstlichen Neuronalen Netzen	43
3.3	Objekterkennung	44
Literatur.....		47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verwendete Partikelsammler	18
Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskop Hitachi REM SU8230	20
Abbildung 3: Automatisiertes konfokales Raman-Mikroskop WITec apyron 300 RA im geöffneten Licht- und Schallschutz-Gehäuse	21
Abbildung 4: Einmessung eines Referenzpunktes mit der Software <i>TiNa</i> und Auswahl zufälliger Analysepositionen	23
Abbildung 5: Softwareunterstützte korrelative mikroskopische Analyse mit REM, EDX und Raman	24
Abbildung 6: Bildzuordnung durch Bildkorrelation mit Fehlervektoren 100x	25
Abbildung 7: Überlagerung eines REM-SE-Bildes (links) mit einem Raman-OM-Bild (rechts) mit eingeblendeten erkannten Poren	27
Abbildung 8: REM-SE-Aufnahmen, links bei 3 kV, rechts bei 12 kV Beschleunigungsspannung	28
Abbildung 9: Überlagerung als Differenzbild (REM-SE 3 kV – REM-SE 12 kV)	29
Abbildung 10: Links: REM-SE-Bild 3 kV, rechts: optisches Mikroskopiebild im Raman-Mikroskop	30
Abbildung 11: Überlagerung als Differenzbild (REM-SE 3 kV – OM-Bild aus dem Raman-Mikroskop)	30
Abbildung 12: Überlagerung von REM- mit Lichtmikroskopieaufnahme und Raman-Mapping	31
Abbildung 13: Überlagerung von OM-Bild und Raman-Mapping mit REM-Bild und EDX-Mapping	32
Abbildung 14: Raman-Spektren ausgewählter Partikel der Probe (grau) und Referenz-Spektren von Rutil (rot), Baryt (blau) und Dolomit (magenta)	32
Abbildung 15: EDX-Spektren ausgewählter Punkte der Probe (schwarz) und Referenz-Linienpositionen von Ti_xO_y (rot), $Ba_xS_yO_z$ (blau) und $Ca_xMg_yO_z$ (magenta)	34
Abbildung 16: Relative Anzahlkonzentration von Partikelarten gemäß EDX-Analyse	39
Abbildung 17: Durchmesser-Verteilung des analysierten Partikelensembles	39
Abbildung 18: Partikelumlagerungen zwischen oder während der Raman- und REM/EDX-Analysen: die Überlagerung der beiden Bilder aus Abbildung 13	40
Abbildung 19: Datenmodell für Bild- und Spektraldaten eines analysierten Filterbereichs	41
Abbildung 20: Handhabung von Bilderstapeln in der Software <i>FibreDetect</i>	42
Abbildung 21: Ausschnitt einer REM-Aufnahme eines Probenahmefilters (links) und die dazugehörige Grundwahrheit eines manuell ausgewerteten Bildes (rechts)	44
Abbildung 22: REM-SE-Bild (links) und segmentiertes Bild (rechts)	45
Abbildung 23: Ausschnitt REM-SE-Bild (links) und Polygon des Objekts (rechts) ...	45

Abbildung 24: REM-SE-Bild 3 kV 1.000x überblendet mit REM-SE 12 kV 2.000x und
erkannte Objekte46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beispiele für erfolgreiche MKQ-Klassifizierungen von
Elementverhältnissen mit $P\chi^2 \geq 5\%$ 36

Tabelle 2: Nicht erfolgreiche MKQ-Klassifizierung von Elementverhältnissen mit $P\chi^2 < 5\%$ 36

Tabelle 3: MLR-Klassifizierung von Elementverhältnissen37

Abkürzungsverzeichnis

EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
GIS	Geografisches Informationssystem
KNN	Künstliches Neuronales Netz
MKQ	Methode der Kleinsten Quadrate
MLR	Multinomiale Logistische Regression
OM	Optisches Mikroskop
REM	Rasterelektronenmikroskop
SE	Sekundärelektronen

Zusammenfassung

Luftgetragene Partikel stellen beim Einatmen je nach Partikelgröße ein Gesundheitsrisiko für den Menschen dar. Gerade in Wohn- und Arbeitsumgebungen, wo Menschen viel Zeit verbringen, kann die Luft mit Fein- und Ultrafeinstaubpartikeln belastet sein. Um die Konzentration kritischer Bestandteile verlässlich zu bestimmen, ist es notwendig, die Stäube nicht nur hinsichtlich ihrer Massenkonzentration, sondern auch hinsichtlich ihrer Morphologie sowie stofflichen und chemischen Zusammensetzung analysieren zu können. Eine solche Analyse erfordert eine Kombination mehrerer bildgebender und chemisch-analytischer Mikroskopieverfahren. In diesem Forschungsprojekt wurden computergestützte Methoden entwickelt, die es ermöglichen, einzelne Staubpartikel sowohl zu identifizieren als auch zu quantifizieren.

Für die Probennahme wird analog zu Sammeltechnik von Fasern zunächst Raumluft der Innenräume filtriert. Dafür wird ein Kernporenfilter in einem mit definierten Luftströmen arbeitenden Partikelsammelsystem verwendet. In diesem Projekt wurde nur die $PM_{2,5}$ -Fraktion analysiert. Dafür wurde mithilfe eines Adapterstücks ein $PM_{2,5}$ - (MiniVS-C, Sven Leckel Ingenieurbüro GmbH, Berlin) mit einem üblicherweise für die Asbestanalyse verwendeten Probenahmekopf (CRB Analyse Service GmbH, Hardeggen) kombiniert. Als Filtermembranen wurden mit 40 nm Schichtdicke vergoldete Kernporenfilter aus Polycarbonat mit 400 nm Porengröße, 10 μm Dicke, 10 % Porosität und einem Durchmesser von 25 mm verwendet (Analytische Produktions-, Steuerungs- und Controllgeräte GmbH, Eschborn).

Die Kernporenfilter mit den gesammelten Partikeln wurden dann bei hoher Vergrößerung abgebildet. Um für eine statistische Auswertung der auf einem Filter gefundenen Partikel hinreichende Filterflächen analysieren zu können, wurde das Mikroskop mittels der im Rahmen des Projekts weiterentwickelten BAuA-Software *TiNa* automatisiert. Es wurde dabei eine bestimmte Anzahl von zufällig gewählten Filterpositionen innerhalb eines vordefinierten Messbereichs automatisch angefahren, der Bildbereich fokussiert, aufgenommen und gespeichert.

Die Anzahl der für eine verlässliche Quantifizierung oder Grenzwertüberprüfung notwendigen Bilder hängt dabei von der pro Filterfläche gesammelten Luftmenge, der verwendeten Punktauflösung des Mikroskops und der Bildpunktzahl eines Bildes ab. Standardmäßig wurden 2.560×1.960 Bildpunkte verwendet, also rund 5 Megapixel pro Bild mit einer Punktauflösung von 25 nm. Damit konnte die Größe von Partikeln bis hinab zu 100 nm noch verlässlich erkannt und von bis zu 250 nm großen Partikeln bestimmt werden. Geringe Beschleunigungs-spannung wurde für detaillierte morphologische Oberflächeninformationen von Partikeln verwendet, während hohe Beschleunigungsspannung für die Erzeugung energiereicher Röntgenquanten durch Bremsstrahlung der Elektronen an Atomkernen benötigt wurde.

Zur Erfassung von elementspezifischen Signalen wird ein spezieller EDX-Detektor verwendet (Energy Dispersive X-ray spectroscopy; energiedispersive Röntgenspektroskopie). Dieser ermöglicht aufgrund seiner großen Flächen bei gleichzeitig geringer Distanz zur Probe eine bis zu 30-fach höhere Zählrate als bei einem gewöhnlichen, seitlich platzierten EDX-Detektor. Dadurch kann ein standardmäßiges EDX-Mapping innerhalb einer vertretbaren Bildeinzugszeit im Bereich von 240 s durchgeführt werden. Um die Identifizierung der Partikel weiter zu verbessern, wurde für die korrelative Mikroskopie die konfokale Raman-Mikroskopie verwendet. Denn die von einem Partikel ausgehende Raman-Streuung enthält Informationen über die im Partikel vorhandenen chemischen Bindungen. Mittels eines hochgradig automatisierten konfokalen Raman-Mikroskops können für viele Materialien zusätzliche

optische und chemische Informationen gewonnen werden, die für eine genaue Partikelidentifizierung notwendig sind.

Für das für eine erfolgreiche korrelative Mikroskopie notwendige kontrollierte Anfahren und das spätere Wiederaufahren von bereits erfassten Filterbereichen reicht eine herkömmliche automatisierte Bilderfassung, wie sie viele Gerätehersteller über einen programmierbar positionierbaren Probenstisch anbieten, nicht aus. Stattdessen ist es notwendig, zu analysierende Filterproben zunächst mit einem auf den Filter bezogenen Koordinatensystem (Bezugssystem) zu versehen. Dadurch können die Positionen lokalisierter Partikel in diesem Bezugssystem angegeben werden. Die Filter werden vor der ersten Analyse mit vier sowohl bei geringer als auch sehr hoher Vergrößerung erkennbaren Referenzpunkten markiert. Da die Referenzpunkte gut erkennbar sind, kann im Koordinatensystem des Probenstisches der jeweiligen Mikroskope die Position der Referenzpunkte genau bestimmt werden, wodurch der Bezug zu dem Proben-Koordinatensystem hergestellt wird. In der Praxis wird der Filter mittels einer Nadel mit vier Löchern markiert und einer dieser Einstiche mit einer Zusatzmarkierung (Permanentmarker) als Referenzpunkt 1 ausgewiesen. Durch die Einstiche entstandene markante Stellen werden bei geeigneter Vergrößerung als Referenzpunkte definiert, durch ein REM-Bild dokumentiert und im Koordinatensystem des Mikroskops eingemessen.

Bei der Erstanalyse eines Filters wird anschließend ein Filterbereich gewählt, innerhalb dessen eine Liste zufälliger Analysepositionen generiert wird. Die Anzahl und der Mindestabstand der Analysepositionen können festgelegt werden. Deren initiale Anfahrgenauigkeit wird von der Genauigkeit der Probenstischpositionierung begrenzt. Die sukzessive automatische Bilderfassung an den zuvor festgelegten Analysepositionen erfolgt nach Festlegung der Bildaufnahmeparameter (Detektoren, Arbeitsabstand, Beschleunigungsspannung, Punktauflösung, Bildgröße, Integrationsdauer etc.)

Die Abfolge der Analyseschritte muss aufeinander abgestimmt werden, damit die Korrelation erfolgreich funktionieren kann. Zunächst wird mit einer REM-Analyse bei geringer Elektronenenergie begonnen, um an jeder analysierten Filterposition alle dort erkennbaren Objekte in der höchsten gewählten Auflösung, Bildschärfe und dem höchsten Kontrastverhältnis bestmöglich abzubilden. Für die hochauflösende Mikroskopie hat sich am verwendeten REM (SU8230) eine Beschleunigungsspannung von 2-3 kV bewährt. Das in diesem ersten Analyseschritt gewonnene Referenzbild enthält relevante morphologische Informationen zu Partikeln und der Filterporenverteilung. Es bildet die Grundlage sowohl für die nachfolgende Partikelerkennung, das spätere Wiederauffinden eines Partikels als auch für die Zusammenführung aller sukzessive gewonnenen partikelbezogenen Informationen.

Zur technischen Unterstützung des dafür notwendigen Ablaufs wurden für die beiden Softwareprodukte der FG 4.5 der BAuA, *TiNa* und *FibreDetect*, Methoden zum Ansteuern und Auslesen von EDX-Detektoren und einem Raman-Mikroskop sowie zugehörige Bildkorrelationsverfahren weiterentwickelt. Für im REM lokalisierte Staubpartikel, für die sowohl mit Raman- als auch EDX-Informationen zur chemischen und elementaren Zusammensetzung gewonnen werden können, kann für viele Partikelmaterialien eine Klassifizierung erreicht werden. Der Mehrwert einer kombinierten EDX- und Raman-Analyse wird anhand eines Beispiels in Kapitel 2.6 gezeigt. Die dafür benötigte Bildzuordnung wird mithilfe von zwei gängigen Methoden der Bildkorrelation (Standard-Bildkorrelationsverfahren und Konstellationsvergleich) bewerkstelligt.

Die Erkennung von Partikeln in REM-Bildern ist zentraler Ausgangspunkt einer Klassifizierung und wird über die Software *FibreDetect* realisiert. *FibreDetect* kann auf demselben Rechner laufen wie *TiNa* und ankommende Bilder sogleich segmentieren. Dies läuft vollautomatisch ohne

manuellen Eingriff ab. Bei der sogenannten binären Segmentierung wird der Vordergrund (Partikel, Faser und andere Objekte) vom Hintergrund (Kernporen des Filters) getrennt. In dem Binärbild entsprechen weiße Pixel dem Vordergrund und schwarze Pixel dem Hintergrund. Sich überlappende Objekte werden derzeit noch nicht getrennt und als ein einzelnes Objekt betrachtet. Eine solche Separation von Objekten ist Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten. Für erkannte Objekte wird ihre Position auf dem Filter berechnet und dokumentiert, um ihr Material, wie in Abschnitt 2 beschrieben, unter Verwendung von zu dieser Position gehörigen EDX- und/oder Raman-Analyseergebnissen zu klassifizieren.

Eine erfolgreiche und zuverlässige Segmentierung mit klassischen Methoden der digitalen Bildverarbeitung hat sich wegen der porendurchsetzten Filteroberfläche als äußerst schwierig erwiesen und führte nicht zum gewünschten Erfolg. So basieren bestehende Algorithmen auf Schwellwertverfahren, die ein helles Objekt vor einem dunklen Hintergrund erwarten. Da im REM abgebildete Partikel aber sehr unterschiedliche Helligkeiten und Oberflächentexturen aufweisen können, sind Schwellwertalgorithmen nicht anwendbar. Dieser Ansatz wurde demnach verworfen und kam hier nicht zum Einsatz.

Da uns zu Beginn dieses Forschungsvorhabens bereits bekannt war, dass unsere auf klassischer digitaler Bildverarbeitung basierenden Segmentierungsansätze nicht zielführend sein würden, hat die BAuA ein zusätzliches Forschungsprojekt zur Segmentierung von REM-Bildern durch die Nutzung von Künstlichen Neuronalen Netzen (KNN) ins Leben gerufen. Die Erkenntnisse aus diesem Forschungsprojekt ermöglichen uns, Bilder mit einer hohen Genauigkeit und Zuverlässigkeit zu segmentieren und so Partikel, Fasern und andere Objekte zu erkennen. Die verwendeten KNN, basierend auf der U-Net-Architektur, wurden mittels überwachten Lernens an die Aufgabe herangeführt. Die Datengrundlage für die Anlernphase der KNN bildete ein Trainingsdatensatz, bestehend aus über 1.000 verschiedenen REM-Bildern, die zuvor von Kolleginnen und Kollegen mühsam ausgewertet wurden. Die von den KNN erzeugten Binärbilder ermöglichen es, die genaue Position der Objekte auf der Probe zu bestimmen. Hierzu werden die Objekte im Binärbild, also Bereiche weißer Pixel, nach der Methode von Moore als geschlossene Polygone vektorisiert. Die Koordinaten der Knotenpunkte der Polygone werden über die Bildorientierung im Probenkoordinatensystem gespeichert. Somit ist für jedes Objekt die genaue Position sowie für alle morphologischen Werte der Bezug im metrischen System gegeben. Für jedes Objekt kann nun die spektrale Information aus dem Bilderstapel abgerufen werden, wodurch letztlich die Identifizierung und Quantifizierung einzelner Staubpartikel ermöglicht wird.

Das Forschungsprojekt „Identifizierung von Feinstaubpartikeln in Innenräumen“ und die damit verbundene Methodenentwicklung wurde erfolgreich abgeschlossen. Die innerhalb des Projektes entwickelten Softwarepakete werden dem UBA übergeben. Eine Testung am UBA war leider nicht möglich, da die erforderliche Hardware vor Ort noch nicht zur Verfügung stand.

Summary

Depending on their size, airborne particles pose a health risk to humans when inhaled. Especially in living and working environments where people spend a lot of time, the air can be polluted with fine and ultra-fine dust particles. To reliably determine the concentration of critical components, it is necessary to be able to analyse particulate matter not only in terms of their mass concentration, but also in terms of their shape as well as material and chemical composition. Such an analysis requires a combination of several imaging and chemical-analytical microscopy methods. In this research project, computer-aided methods were developed that make it possible to both identify and quantify individual dust particles.

For sampling, room air of the indoor spaces is first filtered in analogy to the collection technique of fibres. For this purpose, a core pore filter is used in a particle collection system operating with defined air flows. In this project, only the PM_{2.5} fraction was analysed. Then a PM_{2.5} ("MiniVS-C, Sven Leckel Ingenieurbüro GmbH", Berlin) was combined with a sampling head usually used for asbestos analysis (CRB Analyse Service GmbH, Hardeggen) by means of an adapter piece. Core pore filters made of polycarbonate with a pore size of 400 nm, a thickness of 10 µm, a porosity of 10 % and a diameter of 25 mm ("Analytische Produktions-, Steuerungs- und Controllgeräte GmbH", Eschborn) were used as filter membranes with a layer thickness of 40 nm.

Images of the core pore filters with the collected particles are taken at high magnification. In order to be able to analyse sufficient filter areas for a statistical evaluation of the particles found on a filter, the microscope was automated using the BAuA software *TiNa*, which was further developed as part of the project. A certain number of randomly selected filter positions within a predefined measuring range were automatically approached, the image area focused, recorded and saved.

The number of images required for reliable quantification or limit verification depends on the amount of air collected per filter area, the point resolution of the microscope used and the number of pixels in an image. As standard, 2560x1960 pixels were used, i.e. about 5 megapixels per image with a point resolution of 25 nm. Hence, particles as small as 100 nm could still be reliably detected and particles as large as 250 nm could be determined. Low accelerating voltage is appropriate for detailed morphological surface information of particles, while high accelerating voltage is necessary for the generation of high-energy X-ray quanta by bremsstrahlung of electrons at atomic nuclei.

We use a special EDX (energy dispersive X-ray spectroscopy) detector to detect EDX signals. Due to its large surfaces and the simultaneous small distance to the sample, we obtain a counting rate up to 30 times higher than with a conventional, side-mounted EDX detector. Therefore, a standard EDX mapping is done within a reasonable image acquisition time in the range of 240 seconds. Confocal Raman microscopy can enrich the identification of particles with additional information because the Raman scattering emanating from a particle contains information about chemical bonds present in the particle. Using a highly automated confocal Raman microscope, additional optical and chemical information can be gained for many materials, which are necessary for accurate particle identification.

For the controlled procedure that is necessary to successfully perform correlative microscopy and subsequently re-approach filter areas that have already been covered, conventional automatic image acquisition, as offered by many instrument manufacturers via a programmable sample stage, is not sufficient. Instead, the filter samples to be analysed first have to be provided with a coordinate system (reference system) related to the filter. This enables the determination of the positions of the localised particles in this reference frame. Before the first analysis, the

filters are marked with four reference points that are recognisable at both low and very high magnification. Since the reference points are easily recognisable, the position of the reference points can be precisely determined in the coordinate system of the sample stage of the respective microscopes, thus establishing the reference to the sample coordinate system.

In practice, the filter is marked with four holes using a needle. One of these punctures is designated as reference point 1 with an additional marker (permanent marker). Marked spots created by the punctures are defined as reference points at a suitable magnification, documented by a SEM image and measured in the coordinate system of the microscope.

During the initial analysis of a filter, a filter range is selected that is used to create a list of random analysis positions. The number and minimum spacing of the analysis positions can be set. Their initial approach accuracy is limited by the accuracy of the sample stage positioning. After defining the image acquisition parameters (detectors, working distance, acceleration voltage, point resolution, image size, integration time, etc.) the successive automatic image acquisition at the previously defined analysis positions takes place.

The sequence of analysis steps must be coordinated for the correlation in order to work successfully. First, we perform the SEM analysis at low electron energy to picture all objects detectable there with the highest selected resolution, image sharpness and best contrast ratio at each examined filter position. For high-resolution microscopy, an accelerating voltage of 2-3 kV has proven successful on the SEM used (SU8230). The reference image obtained in this first analysis step contains relevant morphological information on particles and the filter pore distribution. It forms the basis both for the subsequent particle recognition, the later retrieval of a particle, and for the consolidation of all successively obtained particle-related information.

To provide technical support for the necessary process, methods for controlling and reading out EDX detectors and a Raman microscope as well as associated image correlation procedures were further developed for the two software products of FG 4.5 of the BAuA, *TiNa* and *FibreDetect*. For dust particles localised in the SEM, for which both Raman and EDX information on chemical and elemental composition can be obtained, classification can be achieved for many particle materials. The additional value of a combined EDX and Raman analysis is shown with an example in chapter 2.6. The image assignment required for this is accomplished with the help of two common methods of image correlation (standard image correlation method and constellation comparison).

The detection of particles in SEM images is the essential starting point of a classification and is realised via the software *FibreDetect*. *FibreDetect* can run on the same computer as *TiNa* and immediately segment incoming images. This runs fully automatically without manual intervention. The so-called binary segmentation, separates the foreground (particles, fibres and other objects) from the background (core pores of the filter). In this binary image, white pixels correspond to the foreground and black pixels to the background. Overlapping objects are currently not separated and considered as a single object. Such separation of objects is the goal of future research. For detected objects, their position on the filter is calculated and documented in order to identify their material as described in section 2 using EDX and/or Raman analysis results associated with this position.

Successful and reliable segmentation using classical methods of digital image processing has proven to be extremely difficult due to the pore-covered filter surface and has not led to the desired success. Thus, existing algorithms are based on thresholding methods that expect a bright object in front of a dark background. However, since particles imaged in the SEM can have very different brightness values and surface textures, thresholding algorithm are not applicable. For this reason, thresholding algorithms were discarded and was not used here.

Since we already knew at the beginning of this research project that segmentation approaches based on classical digital image processing would not be target-oriented, the BAuA launched an additional research project on segmenting SEM images by using artificial neural networks (ANN). The findings from this research project enable us to segment images with a high degree of accuracy and reliability and thus detect particles, fibres and other objects. The ANNs used, based on the U-Net architecture, were introduced to the task using supervised learning. The data basis for the ANN's learning phase was a training data set consisting of over 1000 different SEM images, which had previously been meticulously evaluated by colleagues. The binary images generated by the ANN make it possible to determine the exact position of the objects on the sample. For this purpose, we vectorise objects in the binary image, i.e. areas of white pixels, as closed polygons according to Moore's method. The coordinates of the nodes of the polygons are stored in the sample coordinate system via the image orientation. Thus, for each object the exact position as well as for all morphological values the reference in the metric system is given. For each object, the spectral information is now extractable from the image stack, ultimately enabling the identification and quantification of individual dust particles.

The research project "Identification of fine dust particles indoors" and thus the method development was successfully completed. The software packages developed within the project will be handed over to the UBA. Testing at UBA was not possible because the necessary hardware was not yet available on site.

Einleitung

Der Mensch verbringt den Großteil seiner Zeit in Innenräumen (ca. 80–90 %) (Brasche et al., 2005), wo er verschiedensten Arten luftgetragener Partikel ausgesetzt ist. Daher spielen Partikel in Innenräumen eine potenziell große Rolle für entsprechende Gesundheitseffekte.

Luftgetragene Partikel (bzw. Aerosolpartikel) treten mit einer großen Bandbreite an Partikeldurchmessern (Korngrößen) auf, die von der Größe von Molekülclustern bei 1 Nanometer bis in den mit dem Auge sichtbaren Bereich von Millimetern reicht (Birmili et al., 2018). Unter Schwebstaub (engl. Suspended Matter) versteht man diejenigen Partikel, die in der Luft einige Zeit im Schwebezustand verbleiben können. Als Feinstaub bezeichnet man in der Aerosolforschung Partikel kleiner als 1 μm , als Grobstaub Partikel größer als 1 μm . Der Feinstaub entsteht überwiegend aus Verbrennungs-, Kondensations- und Wolkenprozessen, während der Grobstaub überwiegend aus Abrieb und Resuspension stammt. Beide Fraktionen unterscheiden sich grundsätzlich bezüglich Morphologie, Löslichkeit und Elementzusammensetzung.

Unter PM_{10} – landläufig „Feinstaub“ genannt, versteht man die Gesamtheit der Partikel, deren aerodynamischer Durchmesser kleiner als 10 μm ist. Als $\text{PM}_{2,5}$ wird hingegen die Teilmenge von PM_{10} bezeichnet, deren aerodynamischer Durchmesser weniger als 2,5 μm beträgt. Beide Konventionen entstammen der Absicht, die Abscheidecharakteristika des menschlichen Atemtrakts zu simulieren und somit nur die tiefer inhalierbare Partikelfraktion zu erfassen (Patel und Aggarwal, 2022). Aufgrund der unterschiedlichen Entstehungsprozesse von Aerosolen enthalten jedoch sowohl PM_{10} als auch $\text{PM}_{2,5}$ fast immer ein komplexes Gemisch aus Feinstaub- und Grobstaubpartikeln unterschiedlicher Korngrößen.

Je nach Größe der Partikel, Morphologie und chemischer Zusammensetzung können sich ihre Wirkungen auf den menschlichen Organismus unterscheiden. Der Depositionsort von Partikeln im menschlichen Atemtrakt wird maßgeblich durch den aerodynamischen Durchmesser, in geringerem Maße durch die Wasseraufnahmefähigkeit der Partikel bestimmt. (Im menschlichen Atemtrakt herrschen relative Luftfeuchten von 99 % und mehr.) Größere Partikel werden meist bereits in der Nase abgefangen, wohingegen feinere Partikel (Partikel kleiner als 2,5 μm) tiefer in die Bronchien, Bronchiolen und bis zu den Lungenbläschen (Alveolen) vordringen können. Ultrafeine Partikel (UFP; Partikel kleiner als 100 nm) können ebenfalls bis zu den Alveolen vordringen, dort in Zellen und in den Blutkreislauf gelangen und somit auch weitere Organe erreichen. Je kleiner die Partikel sind, desto unwahrscheinlicher ist es, dass sie durch die Fresszellen der Lunge (Makrophagen) erkannt und entfernt werden.

Der wichtigste Expositionsweg luftgetragener Feinstaub- und Ultrafeinstaubpartikel ist die Inhalation. Um potenzielle Gesundheitseffekte für den Menschen abschätzen zu können, ist somit eine Charakterisierung der lungengängigen Fraktionen (PM_{10} , $\text{PM}_{2,5}$, PM_1 , UFP) erforderlich.

Die Charakterisierung von Feinstaubpartikeln und die Bewertung der damit möglicherweise verbundenen Gesundheitsrisiken konzentrierte sich bislang im Wesentlichen auf die Außenluft sowie auf industrielle Arbeitsplätze und die dort auftretenden Feinstaubtypen. Wenig gesicherte Informationen liegen bisher über die Zusammensetzung von Partikeln in Innenräumen, also z. B. Wohnungen, Büros, Bildungsstätten, vor, die für die menschliche Gesamtexposition aufgrund der hohen Aufenthaltsdauer aber am relevantesten sind. Ersten Untersuchungen zufolge können sich Typ und Konzentration der Partikel hier, je nach baulichen Gegebenheiten, Nutzerverhalten und den vorhandenen Emissionsquellen, deutlich unterscheiden. Generell ist festzuhalten, dass Partikel in Innenräumen nahezu immer ein Gemisch von Partikeln mit Herkunft aus der

Außenluft und von Partikeln mit Herkunft aus dem Innenraum und aufgrund entsprechender menschlicher Aktivitäten darstellen (Zhao et al., 2021).

Die bisher meist verwendeten Methoden der Feinstaubcharakterisierung bezogen sich entweder auf die Bestimmung integraler Parameter wie der Gesamtmassenkonzentration, der lungendeponierten Oberfläche oder der Gesamtpartikelanzahlkonzentration; alternativ der größen aufgelösten Bestimmung von Masse und Anzahl; der integralen oder auch größen aufgelösten Bestimmung masserelevanter chemischer Hauptkomponenten; der Konzentrationen von elementarem, „schwarzem“ oder organischem Kohlenstoff. Diese Methoden sind zumeist für stichprobenartige wie dauerhafte Messungen geeignet, liefern aber meist nur relativ wirkungsunspezifische Parameter bzw. Summeneigenschaften der Partikel.

Untersucht man Partikelgemische jedoch im Detail, fällt auf, dass ein Umweltaerosol in der Regel ein extrem komplexes Gemisch unterschiedlichster Partikeltypen darstellt. Es ist anzunehmen, dass diese Partikeltypen ganz verschiedene Gesundheitseffekte verursachen können. Bislang fehlt es an detaillierten Analyse- und Klassifizierungsmethoden, um die in Innenräumen auftretenden Feinstaubtypen mit vertretbarem Aufwand zu klassifizieren.

Eine Methode, mit der ein Gemisch auf Einzelpartikelebene untersucht werden kann, ist die elektronenmikroskopische Analyse mit anschließender händischer Auswertung (Ebert et al., 2004). Diese Methode ist in der Lage, Partikeltypen zuverlässig zu trennen und zahlenmäßig zu erfassen.

Diese Arbeit erweitert diesen Ansatz, indem die mikroskopische Analyse auf mehrere Analysegeräte und Bildtypen ausgedehnt wird. Es werden Grundlagen zur automatisierten Weiterverarbeitung der Bilder mit einer formmäßigen und elementaren Charakterisierung aller Partikel geschaffen. Messungen an bekannten Testpartikeln liefern Bausteine für einen Algorithmus, der anschließend die Partikeltypen dieses Gemisches zuordnet und Typen erstellt, die für eine nachfolgende gesundheitliche Bewertung infrage kommen.

1 Analyse von Innenraum- und Umweltpartikeln

1.1 Sammeln luftgetragener Partikel für quantitative Analysen

Zur bisher üblichen Praxis von Feinstaubmessungen zählen beispielsweise integrale Messungen der Partikelmassenkonzentration, Partikeloberflächenkonzentration, Partikelzahlkonzentration oder auch deren Größenverteilungen. Feinstaub in der Umwelt ist üblicherweise ein komplexes Gemisch aus unterschiedlichsten Partikeln bezüglich Durchmesser, Form und chemischer Zusammensetzung. Chemische Analytik wird üblicherweise auf Bulk-Proben angewendet, wobei keine Aussage über einzelne Partikel getroffen werden können. Eine Identifizierung von Einzelpartikeln oder die Ermittlung chemischer Bestandteile auf Basis einzelner Partikel kann über die genannten Messverfahren nicht erreicht werden. Somit fehlen Aussagen über mögliche Gesundheitseffekte, die auf Basis individueller Eigenschaften der angetroffenen Partikel abgeleitet werden können. Eine Ausnahme von der beschriebenen Praxis bildet das rasterelektronenmikroskopische Verfahren zum Messen anorganischer faserförmiger Partikel (VDI 3492), welches für die Bestimmung von Asbestkonzentrationen eingesetzt wird. Es kombiniert die Formbestimmung einzelner Partikel mit der Elementaranalyse faserförmiger Objekte.

Analog zu der für Fasern verwendeten Sammeltechnik werden für die Identifizierung von Feinstaubpartikeln in Innenräumen diese zunächst aus der Raumluft filtriert. Dafür wird ein Kernporenfilter in einem mit definierten Luftströmen arbeitenden Partikelsammelsystem verwendet. Im Folgenden wurde nur die $PM_{2,5}$ -Fraktion analysiert. Dafür wurde mithilfe eines Adapterstücks ein $PM_{2,5}$ - (MiniVS-C, Sven Leckel Ingenieurbüro GmbH, Berlin) mit einem üblicherweise für die Asbestanalyse verwendeten Probenahmekopf (CRB Analyse Service GmbH, Hardeggen) kombiniert. Als Filtermembranen wurden mit 40 nm Schichtdicke vergoldete Kernporenfilter aus Polycarbonat mit 400 nm Porengröße, 10 µm Dicke, 10 % Porosität und einem Durchmesser von 25 mm verwendet (Analytische Produktions-, Steuerungs- und Controllgeräte GmbH, Eschborn). Die Beschränkung auf die $PM_{2,5}$ -Fraktion wurde durch den verfügbaren Schärfentiefebereich des verwendeten Rasterelektronenmikroskops notwendig. Größere Partikel einer PM_{10} -Fraktion konnten bei der gewählten rastermikroskopischen Auflösung nicht vollständig scharf abgebildet werden, wodurch ihre morphologische Charakterisierung erschwert worden wäre. Der verwendete Partikelsammler ist in Abbildung 1 dargestellt. In Abhängigkeit von der Staubbelastung am Sammelort erfolgt die Probenahme mittels eines kontrollierten Volumenstroms in Filterhaltern mit definierter exponierter Filterfläche. Typischerweise wurde mit 4 l/min über ca. 8 Stunden gesammelt.

Abbildung 1: Verwendete Partikelsammler



Links: UBA-Impaktor (Fa. Leckel), Mitte: BAuA-Sammelkopf, rechts: vergoldeter Polycarbonat-Kernporenfilter
Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

1.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM) mit energiedispersiver Röntgenanalyse (EDX)

Das mit einem modernen EDX-Detektor ausgestattete Rasterelektronenmikroskop der BAuA vom Typ Hitachi REM SU8230 (Hitachi High-Tech Europe GmbH, Krefeld) ermöglicht im Rahmen des Vorhabens eine lateral hochaufgelöste Abbildung morphologischer Strukturmerkmale von Partikeln sowie eine energetisch hochaufgelöste Quantifizierung von im Partikelmaterial enthaltenen chemischen Elementen:

- ▶ Geringe Beschleunigungsspannung für detaillierte morphologische Oberflächeninformationen von Partikeln
- ▶ Gleichzeitig hohe Beschleunigungsspannung für die Erzeugung energiereicher Röntgenquanten durch Bremsstrahlung der Elektronen an Atomkernen

Die mit Partikeln beprobten Kernporenfilter wurden dazu bei hoher Vergrößerung elektronenmikroskopisch abgebildet. Um für eine statistische Auswertung der auf einem Filter gefundenen Partikel hinreichende Filterflächen analysieren zu können, wurde das Mikroskop mittels der im Rahmen des Projekts weiterentwickelten BAuA-Software *TiNa* automatisiert. Es wurden dabei eine bestimmte Anzahl von zufällig gewählten Filterpositionen innerhalb eines vordefinierten Messbereichs automatisch angefahren, der Bildbereich fokussiert, aufgenommen und gespeichert.

Die Anzahl der für eine verlässliche Quantifizierung oder Grenzwertüberprüfung notwendigen Bilder hängt dabei von der pro Filterfläche gesammelten Luftmenge, der verwendeten Punktauflösung des Mikroskops und der Bildpunktzahl eines Bildes ab (Meyer-Plath et al., 2020a; DIN EN 689). Standardmäßig wurden 2.560 x 1.960 Bildpunkte verwendet, also rund 5 Megapixel pro Bild mit einer Pixelgröße von 25 nm. Damit konnte die Größe von bis zu 250 nm großen Partikeln mit etwa 10 % Genauigkeit bestimmt und Partikel bis hinab zu 100 nm Größe konnten noch verlässlich erkannt werden.

Mittels eines FlatQUAD-Detektors (Bruker Nano GmbH, Berlin) wurde für jedes Bildfeld auch die elementare Zusammensetzung des Filters und darauf liegender Partikel im sogenannten Mapping-Mode bestimmt, bei dem an jedem Bildpunkt ein EDX-Signal erfasst wird. Die große Fläche dieses Detektortyps und seine geringe Distanz zur Probe resultieren im Vergleich zu herkömmlich seitlich platzierten EDX-Detektoren wie unserem XFlash 6-60 Detektor (Bruker

Nano GmbH, Berlin) in einer bis zu 30-fach höheren Zählrate. Dieser Faktor macht ein standardmäßiges EDX-Mapping mit vertretbaren Bildeinzugszeiten im Bereich von 240 s möglich.

1.3 Konfokale Raman-Mikroskopie

Die von einem Partikel ausgehende Raman-Streuung enthält Informationen über im Partikel vorhandene chemische Bindungen. Mittels eines hochgradig automatisierten konfokalen Raman-Mikroskops (s. Abbildung 3) vom Typ WITec apyron 300 RA (WITec GmbH, Ulm) können für viele Materialien für die Partikelidentifizierung zusätzlich notwendige optische und chemische Informationen gewonnen werden.

Im optischen Mikroskopiebild (OM) kann zunächst die Farbe und Transparenz optisch auflösbarer Objekte, also solcher größer als 300 nm, bewertet werden. Dies erlaubt beispielsweise, erste Hinweise auf Rußpartikel, Mineralien oder Mikroplastik zu erhalten. Einzelpartikel oder auch ganze Filterbereiche können zudem mittels punktwieser bzw. flächiger (mappender) Raman-Spektroskopie analysiert werden. Dabei wird bei Anregung mit einem Laser von 532 nm Wellenlänge und Verwendung eines Objektivs hoher numerischer Apertur eine konfokale Auflösung von etwa 300 nm lateral und 1.000 nm vertikal erreicht.

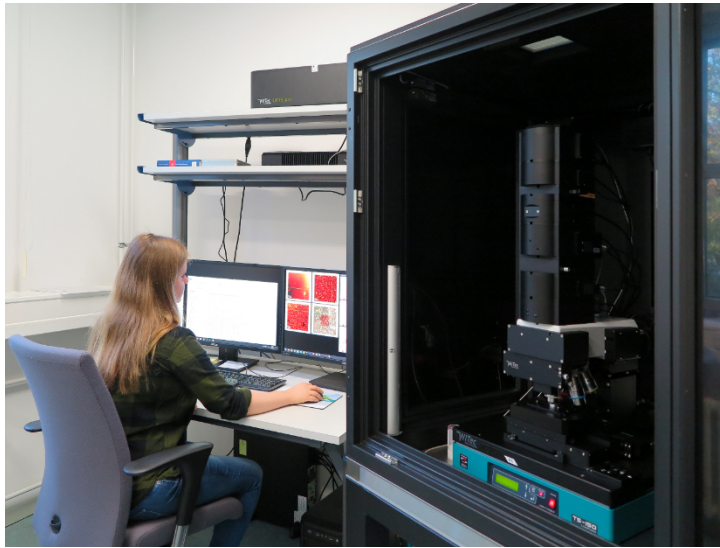
Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskop Hitachi REM SU8230



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Abbildung 3: Automatisiertes konfokales Raman-Mikroskop WITec apyron 300 RA im geöffneten Licht- und Schallschutz-Gehäuse

Quelle: Eigene Darstellung, BAuA



Je höher die konfokale Auflösung, desto höher ist die im Fokusvolumen konzentrierte Laserleistung. Die während einer Signalintegration applizierte Laserenergie muss daher auf die Beständigkeit der zu analysierenden Partikel und des verwendeten Filtermaterials abgestimmt werden. So wird beispielsweise die Zerstörschwelle für einen mit 40 nm Gold bedampften Polycarbonat-Kernporenfilter bei Integrationsdauern im Sekundenbereich bereits oberhalb von etwa 3 mW Leistung eines 532-nm-Lasers erreicht. Um während eines Raman-Mappings möglicherweise durch den Laser verursachte Schädigungen an Partikeln oder dem Filter zu dokumentieren, sollte sowohl vor als auch nach dem Mapping ein OM-Bild eingezogen werden.

Für die Raman-Analyse ist ein Transfer der Filtermembran vom REM in das konfokale Mikroskop notwendig. Die im Rahmen des Vorhabens entwickelten Methoden zum Wiederanfahren von Filterbereichen, die bei der REM-Analyse als relevant erkannt wurden, werden im Folgenden beschrieben.

2 Korrelation von Analyseinformationen

2.1 Korrelationsmikroskopie

Für die Identifizierung eines auf einem Filter lokalisierten Innenraumstaubpartikels wird bei komplex zusammengesetzten Partikelgemischen seine möglichst umfassende Charakterisierung notwendig sein. Diese besteht im Folgenden aus seiner Form, d. h. seiner mittels hochauflösender Rasterelektronenmikroskopie mit niedriger Elektronenenergie bestimmten Morphologie, aus seiner bei hoher Elektronenenergie bestimmten Elementzusammensetzung, aus seiner im optischen Spektrum bewerteten Farbe und Transparenz sowie aus Raman-spektroskopisch gewonnenen Informationen zur chemischen Struktur. Hierfür muss der Partikel mit verschiedenen mikroskopischen Verfahren in mehreren Durchläufen in mindestens zwei verschiedenen Mikroskopen analysiert werden, um die Analyseergebnisse lateral zu einem Gesamtbild zu überlagern (korrelieren).

Da die für die laterale Korrelation notwendige Positionierung des Filters dieser im Mikroskop bewegt und zwischen verschiedenen Mikroskopen transportiert werden muss, stellt die geringe Größe der zu analysierenden Partikel eine Herausforderung für ihre verlässliche Wiederfindung dar. Die Wiederfindung von kleinen Partikeln wird zum einen durch die mechanische Positionierungsungenauigkeit der mit Schrittmotoren betriebenen Mikroskoptische erschwert. Zum anderen kann es bei der Handhabung und dem Transfer der Proben zwischen den Mikroskopen zu Partikelbewegungen auf dem Filter kommen. Außerdem können Partikel kleiner als 300 nm im konfokalen optischen Raman-Mikroskop prinzipiell nicht aufgelöst, also sichtbar gemacht werden. Aus diesem Grund wurde im Rahmen des Vorhabens ein nachfolgend beschriebenes Verfahren entwickelt, diese technischen und prinzipiellen Limitierungen für eine erfolgreiche Korrelationsmikroskopie an Staubpartikeln zu überwinden.

2.2 Ansteuern und Wiederfinden von Staubpartikeln

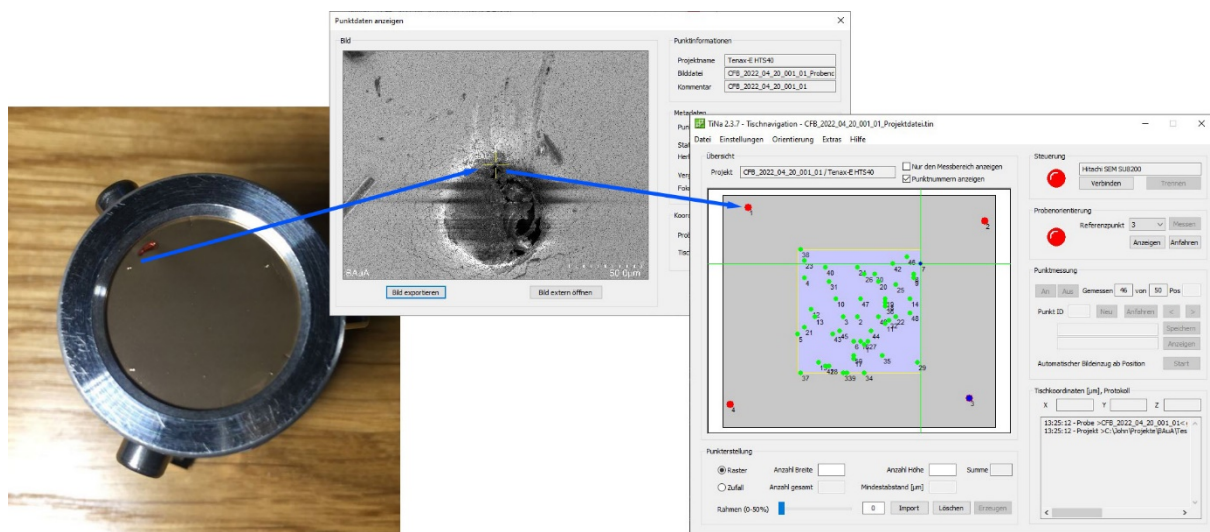
Für das für eine erfolgreiche korrelative Mikroskopie notwendige kontrollierte Anfahren und das spätere Wiederanfahren von bereits erfassten Filterbereichen reicht eine herkömmliche automatisierte Bilderfassung, wie sie viele Gerätehersteller über einen programmierbar positionierbaren Probenstisch anbieten, nicht aus. Stattdessen ist es notwendig, zu analysierende Filterproben zunächst mit einem auf den Filter bezogenen Koordinatensystem (Bezugssystem) zu versehen. Dadurch können die Positionen lokalisierter Partikel in diesem Bezugssystem angegeben werden. Die Filter werden vor der ersten Analyse mit vier sowohl bei geringer als auch sehr hoher Vergrößerung erkennbaren Referenzpunkten markiert. Da die Referenzpunkte gut erkennbar sind, kann im Koordinatensystem des Probenstisches der jeweiligen Mikroskope die Position der Referenzpunkte genau bestimmt werden, wodurch der Bezug zu dem Proben-Koordinatensystem hergestellt wird.

In der Praxis wird der Filter mittels einer Nadel mit vier Löchern markiert und einer dieser Einstiche mit einer Zusatzmarkierung (Permanentmarker) als Referenzpunkt 1 ausgewiesen. Durch die Einstiche entstandene markante Stellen werden bei hoher Vergrößerung als Referenzpunkte definiert, durch ein REM-Bild dokumentiert und im Koordinatensystem des Mikroskops eingemessen, siehe Abbildung 4. Bei der Erstanalyse eines Filters wird anschließend ein Filterbereich gewählt, innerhalb dessen eine Liste zufälliger Analysepositionen generiert wird. Die Anzahl und der Mindestabstand der Analysepositionen können festgelegt werden. Die initiale Anfahrergenauigkeit dieser Analysepositionen wird von der Genauigkeit der Probenstischpositionierung begrenzt (Moré et al., 2017; Schumann et al., 2019).

Nach Festlegung der Bildaufnahmeparameter (Detektoren, Arbeitsabstand, Beschleunigungsspannung, Punktauflösung, Bildgröße, Integrationsdauer etc.) erfolgt sukzessive die automatische Bilderfassung an allen festgelegten Analysepositionen.

Der dafür notwendige automatische Bildeinzug wird nur mit einem verlässlichen Autofokus zufriedenstellende Ergebnisse liefern. Das Hitachi SU8230 REM verfügt, sofern er auf hinreichend kontrastreiche Bildinhalte angewendet wird, über einen sehr verlässlichen geräteseitigen Autofokus. Die verwendeten vergoldeten Kernporenfilter erfüllen die für einen verlässlichen Autofokus notwendigen Voraussetzungen. Bei schwach belegten Silizium-Wafern scheitert der Autofokus hingegen, sofern er auf partikelfreie Bereiche angewendet wird.

Abbildung 4: Einmessung eines Referenzpunktes mit der Software *TiNa* und Auswahl zufälliger Analysepositionen



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.3 Abfolge der Einzelanalysen

Für ihre erfolgreiche Korrelation muss die Abfolge der Analyseschritte aufeinander abgestimmt werden. Zunächst wird in der Regel mit einer REM-Analyse bei geringer Elektronenenergie begonnen werden. Sie dient dazu, an jeder analysierten Filterposition alle dort erkennbaren Objekte in der höchsten gewählten Auflösung, Bildschärfe und im höchsten Kontrastverhältnis bestmöglich abzubilden. Für die hochauflösende Mikroskopie hat sich am SU8230 eine Beschleunigungsspannung von 2–3 kV als gut geeignet erwiesen.

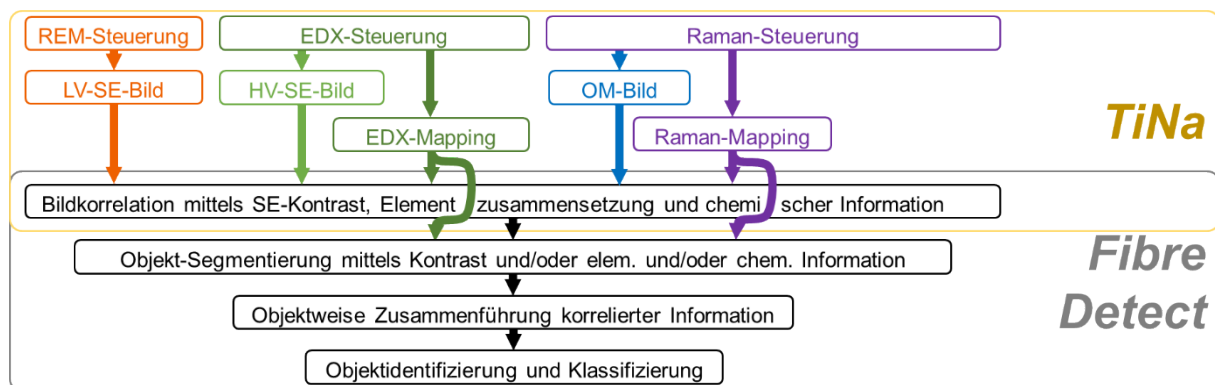
Das in diesem ersten Analyseschritt gewonnene Referenzbild enthält relevante morphologische Informationen zu Partikeln und der Filterporenverteilung. Es bildet die Grundlage sowohl für die nachfolgende Partikelerkennung, das spätere Wiederauffinden eines Partikels als auch für die Zusammenführung aller sukzessive gewonnenen partikelbezogenen Informationen. Die Wiederanfahrergenauigkeit des Schrittmotortisches des SU8230 mit Ansteuerung über unsere Software *TiNa* beträgt allerdings lediglich ca. 5 µm (Moré et al., 2017). Diese Genauigkeit wird in der Regel für eine vollständige Überlagerung von partikelbezogenen Informationen für die korrelative Mikroskopie nicht ausreichend sein. Bei hohen Vergrößerungsstufen kann es sogar

vorkommen, dass der Filterbereich, in dem das Referenzbild entstanden ist, komplett verfehlt wird.

Für die korrelative Mikroskopie ist es zwingend notwendig, die Positioniergenauigkeit auf einem Filter zu bestimmen und nach Möglichkeit weiter zu erhöhen. Korrelative Mikroskopie kann ausschließlich im Überlappungsbereich von zwei oder mehr Bildern oder Mappings mit Analyseinformationen erfolgen. Eine eingeschränkte Positioniergenauigkeit kann dazu führen, dass der Überlappungsbereich der Analyseinformation unzureichend ist. Die damit verbundene Vergeudung von Analysezeit wird erst nach Abschluss eines Analyselaufs offenbar. Vor allem der Messzeitbedarf für EDX- und Raman-Mappings ist erheblich. Daher ist es vorab notwendig, den Überlappungsbereich zu kontrollieren und zu maximieren. Bei dem hier entwickelten Verfahren wird in einem Vorabschritt bereits vor Beginn des neuen Analyseschritts ein Testbild des angefahrenen Filterbereichs eingezogen, dessen Überlappen mit dem des Referenzbilds bestimmt und ggf. iterativ über ein automatisches Nachjustieren des Probenstisches maximiert werden kann.

Um den dafür notwendigen Ablauf technisch zu unterstützen, wurden für die beiden Softwareprodukte der FG 4.5 der BAuA, *TiNa* und *FibreDetect*, Methoden zum Ansteuern und Auslesen von EDX-Detektoren und einem Raman-Mikroskop sowie zugehörigen Bildkorrelationsverfahren weiterentwickelt. Der damit realisierte Ablauf einer korrelativen Analyse bis hin zur Objektidentifizierung und -klassifizierung ist in Abbildung 5 schematisch dargestellt.

Abbildung 5: Softwareunterstützte korrelative mikroskopische Analyse mit REM, EDX und Raman



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.4 Methoden zur Korrelation von Bildinhalten

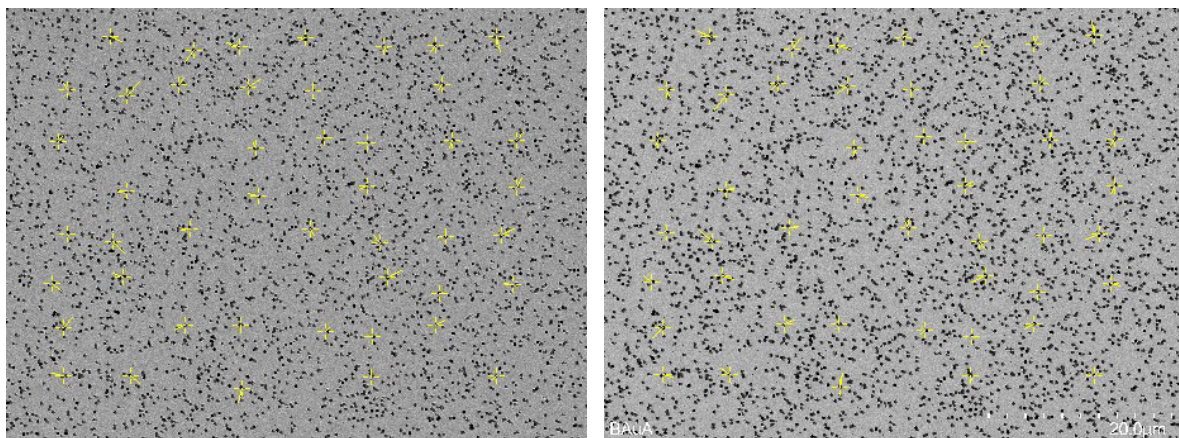
Voraussetzung der im Rahmen des Vorhabens entwickelten Methoden der Korrelation von zwei Bildern ist, dass die Bildverdrehung und der Bildmaßstab näherungsweise bekannt sind. Sofern eine Probe im jeweiligen Mikroskop über mindestens drei in den Rand der Probe eingebrachte Markierungspunkte auf wenige Mikrometer genau eingemessen wurde, können diese Parameter mit für eine automatische Korrelation ausreichender Genauigkeit berechnet werden. Die Korrelationsalgorithmen können die Fehler der Bilddrehung und des Bildmaßstabs, die durch Messfehler der Referenzpunkte und den gerätespezifischen Fehler des Bildmaßstabs resultieren, korrigieren, sofern Bildbereiche überlappen und miteinander identifizierbare Bildinhalte zeigen. Systematische Untersuchungen haben gezeigt, dass diese Fehler $\pm 2,5^\circ$ in der Drehung und $\pm 3\%$ im Maßstab nicht überschreiten sollten, da sonst die Berechnung der affinen Transformation scheitern kann.

2.4.1 Methode 1: Standard-Bildkorrelationsverfahren

Als Standardfall der Bildzuordnung in der digitalen Bildverarbeitung ist die Bildkorrelation anzusehen. Hier wird ein Bildausschnitt des „Suchbilds“ im Referenzbild gesucht. Dieser Bildausschnitt, mathematisch Kern genannt, wird in einer Faltungsoperation Zeile für Zeile und Spalte für Spalte über das Referenzbild verschoben, um an jeder Position anhand der Summe der Residuenquadrate als Abstandsmaß zu berechnen, wie ähnlich sich Kern und Referenzbildbereich sind. Der Rechenzeitbedarf aktueller Algorithmen nimmt linear mit der Größe von Bild und Kern zu. Wird, um die Berechnung zu beschleunigen, lediglich mit einem Bildausschnitt als Kern gearbeitet, ist es möglich, dass dieser keine ausreichend charakteristischen Details enthält und kein eindeutiges Korrelationsminimum resultiert. Auch können kleine Kerne Mehrdeutigkeiten in der Bildzuordnung verursachen, wenn beispielsweise sich nur eine Pore im Bildausschnitt als Kern befindet. Also wird ein Kern in der Größe von einem Viertel des Suchbilds verwendet.

Sowohl bei einer erfolgreichen als auch nicht erfolgreichen Bildkorrelation werden in einer verfeinerten Methode im Suchbild zunächst mit einem Interest-Operator (Förstner, 1986) charakteristische Bildinhalte mit einem Suchraster von z. B. 8×8 gesucht. Diese 64 Charakteristika werden dann mit der Methode der kleinsten Quadrate (Ackermann, 1984) an den Stellen des Referenzbildes gesucht. War die zuvor berechnete Bildkorrelation erfolgreich, ist mit einer hohen Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass die 64 Charakteristika schnell gefunden werden können. War die Bildkorrelation zuvor nicht erfolgreich, ist es mit dieser Methode und einem höheren Zeitaufwand noch möglich, die Bilder zuzuordnen, wenn mindestens vier Bereiche der 64 gefunden werden. Alle gefundenen Bereiche werden nun zur Berechnung der affinen Transformation verwendet und es kann eine Aussage über die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Parameter der affinen Transformation getroffen werden. In Abbildung 6 sind diese gefundenen Bildbereiche als Verknüpfungspunkte mit den zugehörigen Fehlervektoren gelb dargestellt.

Abbildung 6: Bildzuordnung durch Bildkorrelation mit Fehlervektoren 100x



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.4.2 Methode 2: Konstellationsvergleich

Da Suchbild und Referenzbild bei der Verwendung sehr unterschiedlicher Aufnahmeparameter am REM oder bei der Verwendung unterschiedlicher Mikroskope nur geringe inhaltliche Ähnlichkeit aufweisen können und zu wenige für den Interest-Operator als charakteristisch erachtete Merkmale zeigen können, vgl. Abbildung 7, kann die vorher beschriebene Methode der Bildkorrelation bei solchen Bildpaaren versagen. Als deutlich besser geeignete

Bildcharakteristika haben sich die Löcher des Kernporenmembranfilters erwiesen. Sie sind auf allen Bildern zumindest teilweise erkennbar und weisen eine bekannte Größe und Form auf. Zudem ermöglicht ihre zufällige Verteilung im Kernporenfilter eine eindeutige Zuordnung über die Identifizierung von Porenkonstellationen – analog zum Erkennen von Sternbildern am Nachthimmel. Andere Objekte auf dem Filter (Fasern, Partikel) sind hingegen nur sporadisch in einem Bildbereich vorhanden und/oder werden ganz unterschiedlich abgebildet und eignen sich nicht für eine verlässliche Bildzuordnung.

2.4.2.1 Porenerkennung

Um Poren zu erkennen, wird das Wissen um ihre reguläre Kreisförmigkeit genutzt. Da sie sich gut vom Hintergrund abheben, wird zunächst ein Kantenbild (Canny, 1986) berechnet. Es resultiert ein binäres Bild (weiß = Kante, schwarz = Hintergrund), in welchem zusammenhängende weiße Pixel zu Polygonzügen zusammengefasst werden (Pradhan et al., 2010). Da nicht alle Polygonzüge kreisförmige Objekte beschreiben, werden sie gefiltert, zusammengefasst, gekürzt und schließlich in ihrer Form erkannt, wofür ein Levenberg-Marquardt-Kreisfit-Algorithmus (Chernov, 2010) verwendet wird. Für Polygonzüge, die Kriterien eines Kreises oder Teilkreises erfüllen, werden die Koordinaten des Mittelpunktes und der Radius gespeichert. Da nun die Poren alle eine ähnliche Größe haben, werden viele Kreise mit ähnlichem Radius gefunden. Nur diese werden für die weitere Berechnung verwendet, kleinere oder größere Kreise werden verworfen. Je nach Bildausschnitt und Abbildungsunterschieden werden in beiden Bildern allerdings unterschiedliche Zahlen von Poren erkannt, zudem nicht unbedingt dieselben. Es ist vielmehr wahrscheinlicher, dass nur jeweils eine Teilmenge der erkannten Poren auf beiden Bildern übereinstimmt.

2.4.2.2 Konstellationsvergleich

Die Aufgabe besteht somit darin, die richtige Teilmenge an Poren zu finden, die dieselbe Konstellation auf beiden Bildern beschreibt. Dieses Problem ist ähnlich zur Astronomie, in der Sternkonstellationen zu Navigationszwecken gesucht werden (Spratling und Mortary, 2009). So wie dort Wolken den Blick auf den Sternenhimmel verwehren, sind wir mit der zusätzlichen Schwierigkeit konfrontiert, dass die übereinstimmende Konstellation (das Sternbild) unbekannt ist und nicht alle oder viel mehr Poren auf dem Suchbild erkannt worden sein könnten.

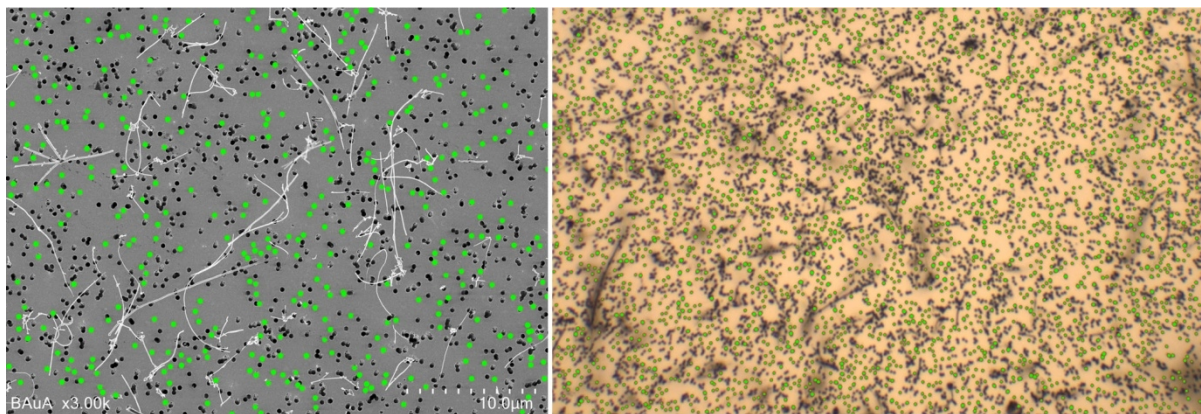
Immerhin vereinfacht die Tatsache, dass die Bildmaßstäbe in beiden Konstellationen bekannt sind, das Problem (Schumann et al., 2022). Es müssen nur noch in beiden Bildern zueinander passende Verbindungsstrecken zwischen Porenpaaren gefunden werden. In jedem Bild werden daher zu allen Poren des Bildes alle Strecken zu anderen, umliegenden Poren des Bildes berechnet. Diese Strecken werden sortiert und dann untersucht, ob in beiden Bildern je eine Pore gefunden werden kann, zu der jeweils ähnliche Streckenkombinationen gehören, die es erlauben, diese Poren der zwei Bilder miteinander zu identifizieren.

Da für die in beiden Bildern identifizierten Poren auch die zugehörigen Koordinaten bekannt sind, entstehen zwei Listen von Koordinaten für einander zugeordnete Poren, aus denen in einem überbestimmten Ausgleichungssystem die Parameter der zugehörigen affinen Transformation berechnet werden (Albertz und Wiggenghagen, 2008). Porenpaare, die nicht zueinander passen, werden als Ausreißer entfernt. Dieser Vorgang läuft iterativ so lange ab, bis bei der Ausgleichsrechnung ein hinreichend geringer Fehler von unter zwei Pixeln erreicht wird und noch genügend Porenpaare vorhanden sind (25 %).

Das Hauptproblem dieser Vorgehensweise ist die mit der Porenzahl sehr stark anwachsende Kombinatorik, da für jede Porenkombination in einem Bild eine Verbindungsstrecke berechnet wird. Bei bis zu 5.000 gefundenen Poren in einem Bild ergeben sich 25 Millionen Strecken, die

verglichen werden müssen. Auch bei optimaler Speichernutzung und optimiertem Quellcode würde diese Aufgabe mehrere Stunden erfordern. Die Lösung dieses Problems liegt in der Reduzierung der Strecken auf 500. Vom Bildmittelpunkt aus werden radial die 500 nächsten Poren ausgewählt und der Konstellationsvergleich wird berechnet. Wird eine passende Konstellation gefunden, werden mit den ermittelten Parametern der affinen Transformation alle verfügbaren Poren zu einer erneuten Berechnung hinzugefügt und nur die Ausreißer entfernt. Wird keine passende Konstellation der 500 Poren gefunden, da die Bildverschiebung möglicherweise so stark ist, dass in den Bildmittelpunkten keine Übereinstimmung zu finden ist, wird spiralförmig über das Bild eine neue Auswahl der 500 Poren getroffen, so lange, bis entweder eine gültige Konstellation oder keine Übereinstimmung gefunden wurde. Dieser Vorgang dauert weniger als eine Minute und ist deshalb für eine Online-Berechnung am Mikroskop gut geeignet. Zur Verdeutlichung dieser Vorgehensweise wurde in Abbildung 7 die Kreiserkennung in die Bilder eingeblendet und dann ähnlich wie in den Abbildungen 7 und 8 ein Differenzbild berechnet.

Abbildung 7: Überlagerung eines REM-SE-Bildes (links) mit einem Raman-OM-Bild (rechts) mit eingeblendeten erkannten Poren



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.5 Zusammenführen der Bildinformationen

Eine Kontrolle des Überlappungsbereiches unserer Analysen wurde durch die Entwicklung eines neuen elektronischen Bildverarbeitungsverfahrens möglich. Das Verfahren erlaubt es, Bildinhalte aus zwei Aufnahmen mit unterschiedlichen Positionierungsepochen aufeinander abzubilden, um eine mögliche Verschiebung, Rotation und/oder Skalierung zwischen ihnen zu ermitteln und auf diese Weise auch den Überlappungsbereich zu bestimmen.

Das Ergebnis einer erfolgreichen Bildkorrelation sind die Parameter einer affinen Transformation zwischen den beiden Bildern, deren Bildinhalte einander zugeordnet wurden. Bei zufriedenstellendem Überlappungsbereich der beiden Bilder wird der Probenstich nicht weiter verfahren. Auch sollte das neue Bild nicht durch die affine Transformation korrigiert werden, da durch den Resampling-Prozess Bildinformationen verloren gingen. Stattdessen wird jedes Bild oder Mapping mit den dazugehörigen Transformationsparametern gespeichert und gilt als „orientiert oder registriert“. So wird es möglich, jedes Pixel eines orientierten Bildes im Probenkoordinatensystem darzustellen und mit denen anderer Bilder zu vergleichen. Es entsteht also für jede Position ein exakt übereinanderliegender Bilderstapel. Zur Verdeutlichung der Güte der Bildorientierung können z. B. die im Folgenden gezeigten semitransparenten

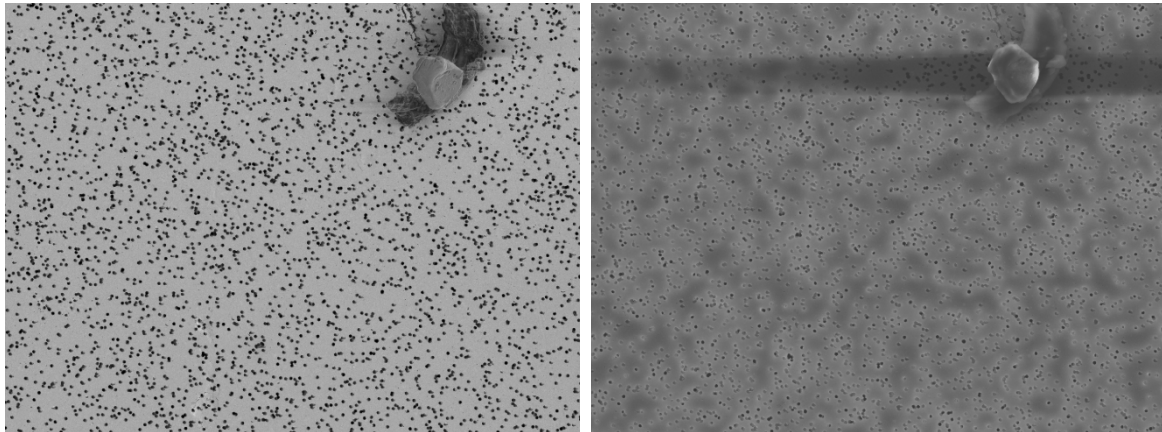
Überlagerungen oder Differenzbilder berechnet werden. Bei perfekter Überlagerung resultieren schwarze Differenzbilder.

Allerdings können sich die Bildinhalte mikroskopischer Aufnahmen, die z. B. im REM bei geringer oder hoher Elektronenenergie als SE- und/oder EDX-Mapping, im Raman-Mikroskop als visuelles Bild oder Raman-spektroskopisches Mapping entstanden sind, ganz erheblich unterscheiden, vgl. Abbildung 8. Darum erforderte die Zuordnung von Bildinhalten die Entwicklung neuer Ansätze, die über Standardalgorithmen zur Bildzuordnung gehen (Ackermann, 1984). Wie nachfolgend beschrieben, wurden im Rahmen des Vorhabens Konstellationen (Anordnungen) von Kernporen der Filtermembran als Charakteristika zur Orientierung von mikroskopischen Aufnahmen verwendet.

2.5.1 Zusammenführen von REM-Aufnahmen bei niedriger und hoher Beschleunigungsspannung

REM-Aufnahmen ein und derselben Probe stellen je nach der für den Elektronenstrahl verwendeten Beschleunigungsspannung, da diese die Eindringtiefe der Primärelektronen bestimmt, ganz unterschiedliche Oberflächendetails und Kontrastverhältnisse dar. Ein Beispiel ist in Abbildung 8 gezeigt. Bei hohen Strahlströmen können die Elektronen zu Aufladungseffekten führen, wenn die pro Zeiteinheit aufgebrachte Ladung im Verhältnis zur Leitfähigkeit der untersuchten Partikel und ihrer Kontaktierungsqualität auf dem leitfähigen Goldfilter zu hoch wird. Lokale Aufladung kann nicht nur zu den im rechten Bild sichtbaren Streifenartefakten und Helle-Kante-Effekten, sondern sogar zu durch elektrostatische Kräfte verursachter Umlagerung von Partikeln führen.

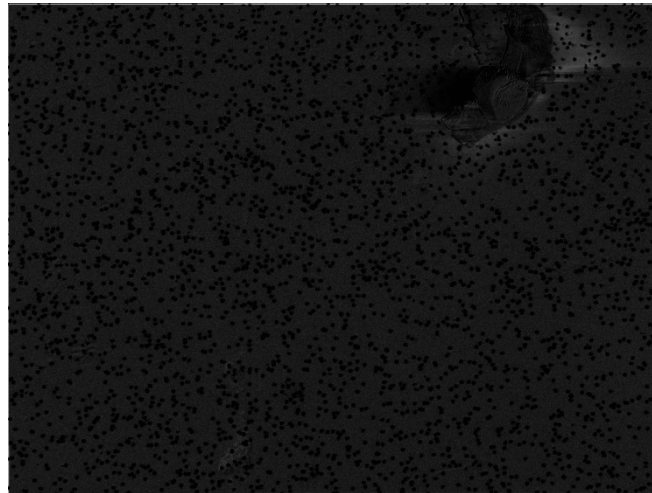
Abbildung 8: REM-SE-Aufnahmen, links bei 3 kV, rechts bei 12 kV Beschleunigungsspannung



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Mit den im Vorhaben entwickelten Porenkonstellationsverfahren können bei niedriger und hoher Beschleunigungsspannung entstandene REM-Bildpaare trotz deutlicher visueller Unterschiede miteinander in Überlagerung gebracht werden. Für das in Abbildung 8 gezeigte Paar wurde beispielsweise in Abbildung 9 eine so hohe Güte der Orientierung erreicht, dass lediglich an den Rändern des Differenzbilds Unterschiede deutlich werden (schwarz = perfekte Übereinstimmung).

Abbildung 9: Überlagerung als Differenzbild (REM-SE 3 kV – REM-SE 12 kV)



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

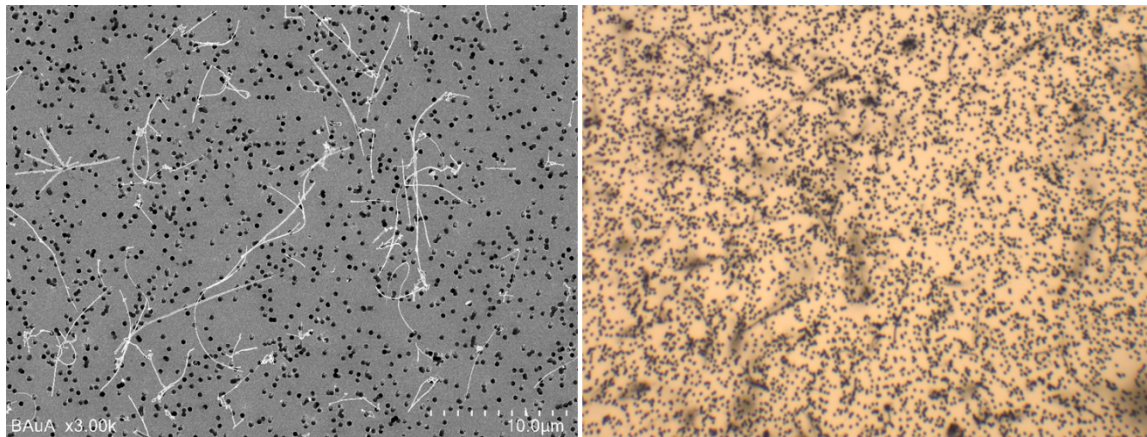
2.5.2 Zusammenführen von REM-Aufnahmen und EDX-Mappings

Da vor bzw. während des Einzugs eines EDX-Mappings auch ein SE-REM-Bild aufgenommen wird, reduziert sich das Problem der Überlagerung von REM-Bildern und EDX-Mappings auf die Überlagerung von REM-SE-Aufnahmen mit niedriger und hoher Beschleunigungsspannung. Da es für die Erzeugung einer hohen Röntgenquantenintensität bei der EDX von Vorteil ist, mit hohen Elektronenstrahlströmen und längeren Punktintegrationsdauern zu arbeiten, kann es unter Umständen jedoch leichter als bei reinen SE-Bildern zu lokalen Probenaufladungen und Partikelumlagerungen kommen. Um die Wahrscheinlichkeit dafür zu verringern, kann es bei nicht leitenden Partikeln notwendig werden, mit geringer Punktintegrationsdauer mehrere Mappings einzuziehen und das resultierende Signal punktweise zu integrieren. Um während des EDX-Mappings möglicherweise aufgetretene Partikelbewegungen zu dokumentieren und EDX-Spektren zuordnen zu können, erscheint es ratsam, sowohl vor als auch nach dem Mapping ein SE-Bild einzuziehen, vgl. auch Abschnitt 2.8 „Partikelumlagerungen während oder zwischen Analysen“.

2.5.3 Zusammenführen von REM- und Lichtmikroskopieaufnahmen

In Abbildung 10 ist ein Beispiel für ein Bildpaar von REM- und Lichtmikroskopieaufnahmen eines überlappenden Filterbereichs gezeigt. Es wird deutlich, wie schwierig sich die Bildzuordnung bei einem solchen Bildpaar anhand der Kontraste der hier abgebildeten Nanofasern gestalten kann. Aufgrund ihres geringen Durchmessers werden diese nur schemenhaft im Lichtmikroskop sichtbar.

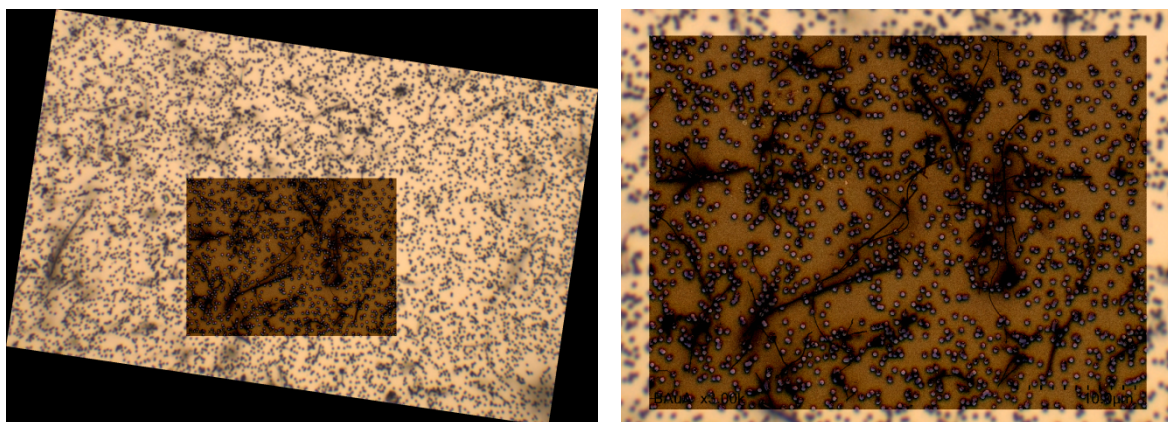
Abbildung 10: Links: REM-SE-Bild 3 kV, rechts: optisches Mikroskopiebild im Raman-Mikroskop



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Die in beiden Bildern erkennbaren Poren des Kernspurmembranfilters erlauben hingegen die in Abbildung 11 dargestellte Überlagerungsqualität. Bei Verwendung von Kernporenfiltern mit 300–400 nm Porengröße konnte durch die Suche und Überlagerung von Porenkonstellationen eine Anfahrngenauigkeit unterhalb der lateralen optischen Auflösung des Mikroskops erreicht werden, indem Bildkorrelationen über größere, viele Poren enthaltende Bereiche berechnet und optimiert wurden (Meyer-Plath, 2020b).

Abbildung 11: Überlagerung als Differenzbild (REM-SE 3 kV – OM-Bild aus dem Raman-Mikroskop)



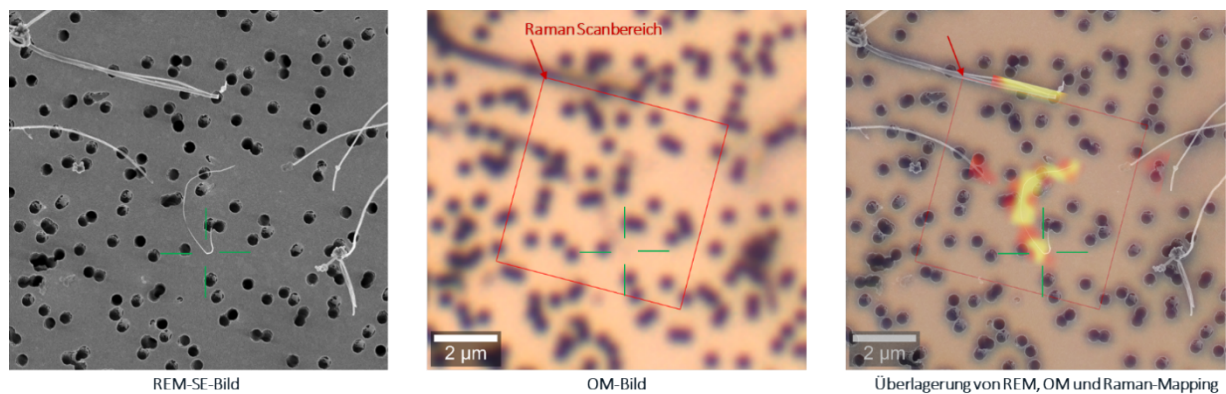
Links: Gesamter überlagerter Bildbereich von REM und Lichtmikroskopie, rechts: Vergrößerung des vom REM abgebildeten Bereichs.

Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.5.4 Zusammenführen von Lichtmikroskopieaufnahmen und Raman-Mappings

In Abbildung 12 ist anhand von Kohlenstoff-Nanoröhren und ihrer Raman-G-Bande demonstriert, dass Objekte, die optisch nicht aufgelöst werden, dennoch, sofern sie im REM-Bild lokalisiert wurden, einer korrelativen mikroskopischen Analyse im Raman-Mikroskop zugänglich sind.

Abbildung 12: Überlagerung von REM- mit Lichtmikroskopieaufnahme und Raman-Mapping



Links: Im REM-Bild sichtbare Kohlenstoff-Nanofasern, Mitte: Nicht alle Fasern sind lichtmikroskopisch visualisierbar, rechts: Die Überlagerung von REM- und OM-Bild mit einer Falschfarbendarstellung der Intensität der G-Bande von Kohlenstoff zeigt, wie mittels örtlich hoch korrelierter Bilder und Mappings wertvolle zusätzliche Informationen auch von sehr kleinen Partikeln und Fasern gewonnen werden können

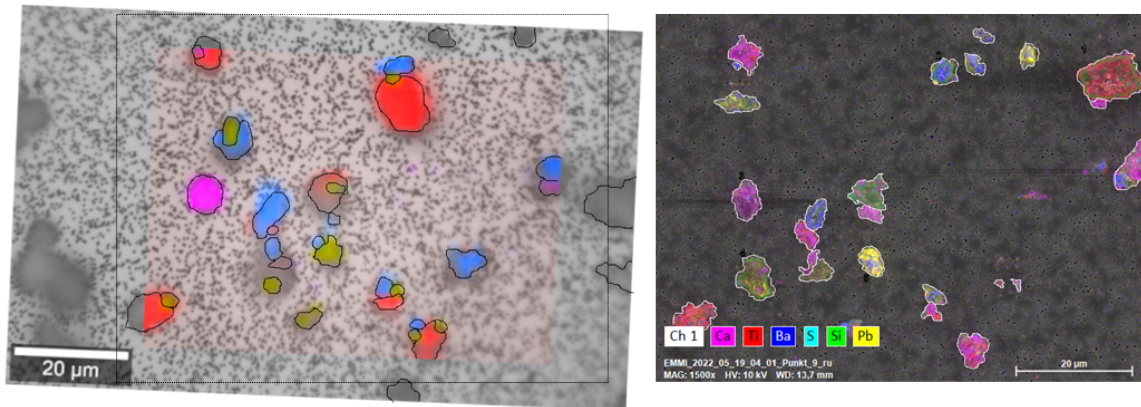
Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.6 Klassifizierung anhand der durch EDX- und Raman-Mappings generierten Informationen

Ein Ziel des Vorhabens war, erweiterte Methoden zur Identifizierung von luftgetragenen Feststoffpartikeln zu entwickeln. Für im REM lokalisierte Staubpartikel, für die sowohl mit Raman- als auch EDX-Mappings Informationen zur chemischen und elementaren Zusammensetzung gewonnen werden können, kann für viele Partikelmaterialien eine Klassifizierung erreicht werden. Der Mehrwert einer kombinierten EDX- und Raman-Analyse kann anhand des folgenden Beispiels einer bei Schleifarbeiten an alten lackierten Zimmertüren gesammelten Staubprobe gezeigt werden. Hierfür wurde zunächst eine Raman- und anschließend eine EDX-Analyse eines überlappenden Filterbereichs durchgeführt.

Die linke Abbildung 13 zeigt ein lichtmikroskopisches Bild des mit Partikeln belegten Filters, dem ein Falschfarbenbild eines Raman-Mappings überlagert wurde. Für die Orientierung des Raman-Mappings im lichtmikroskopischen Bild wurden die Raman-aktiven Partikel genutzt, da es beim Umschalten des konfokalen Mikroskops zwischen OM- und Raman-Mode durch Vibrationen beim Ausschwenken der Beleuchtungsoptik zu Verschiebungen im Bereich von 1–2 µm kommen kann. Das EDX-Mapping, das rechts in Abbildung 13 als Falschfarbendarstellung dem SE-Bild überlagert wurde, wurde hingegen mit einem vorangehenden SE-Bildeinzug kombiniert. Darum ist hier die laterale Korrelation von SE-Bild und EDX-Mapping gegeben. Allerdings können Partikelumlagerungen während des EDX-Mappings eine eindeutige Zuordnung erschweren.

Abbildung 13: Überlagerung von OM-Bild und Raman-Mapping mit REM-Bild und EDX-Mapping



Links: OM-Bild überlagert mit Falschfarbendarstellung eines Raman-Mappings, rechts: REM-Bild überlagert mit Falschfarbendarstellung eines EDX-Mappings

Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.6.1 Partikelklassifizierung anhand von Raman-Spektren

Für das im Bildbereich durchgeführte Raman-Mapping konnten die detektierten Partikelspektren (s. Abbildung 14) mithilfe von Datenbanken zu Raman-Spektren (ST Japan Raman Spectra Databases, 2022; RRUFF, 2022) sowie weiterer Literatur (Gomez et al., 2019) als von folgenden Materialien stammende Signaturen interpretiert werden, denen in der linken Abbildung 13 folgende Falschfarben zugeordnet wurden:

- ▶ Rot: Rutil, Modifikation von Titandioxid
- ▶ Magenta: Dolomit, chemisch Calcium-Magnesium-Carbonat
- ▶ Blau: Baryt, chemisch Bariumsulfat
- ▶ Gelb: Leinölfirnis, ausgehärtet

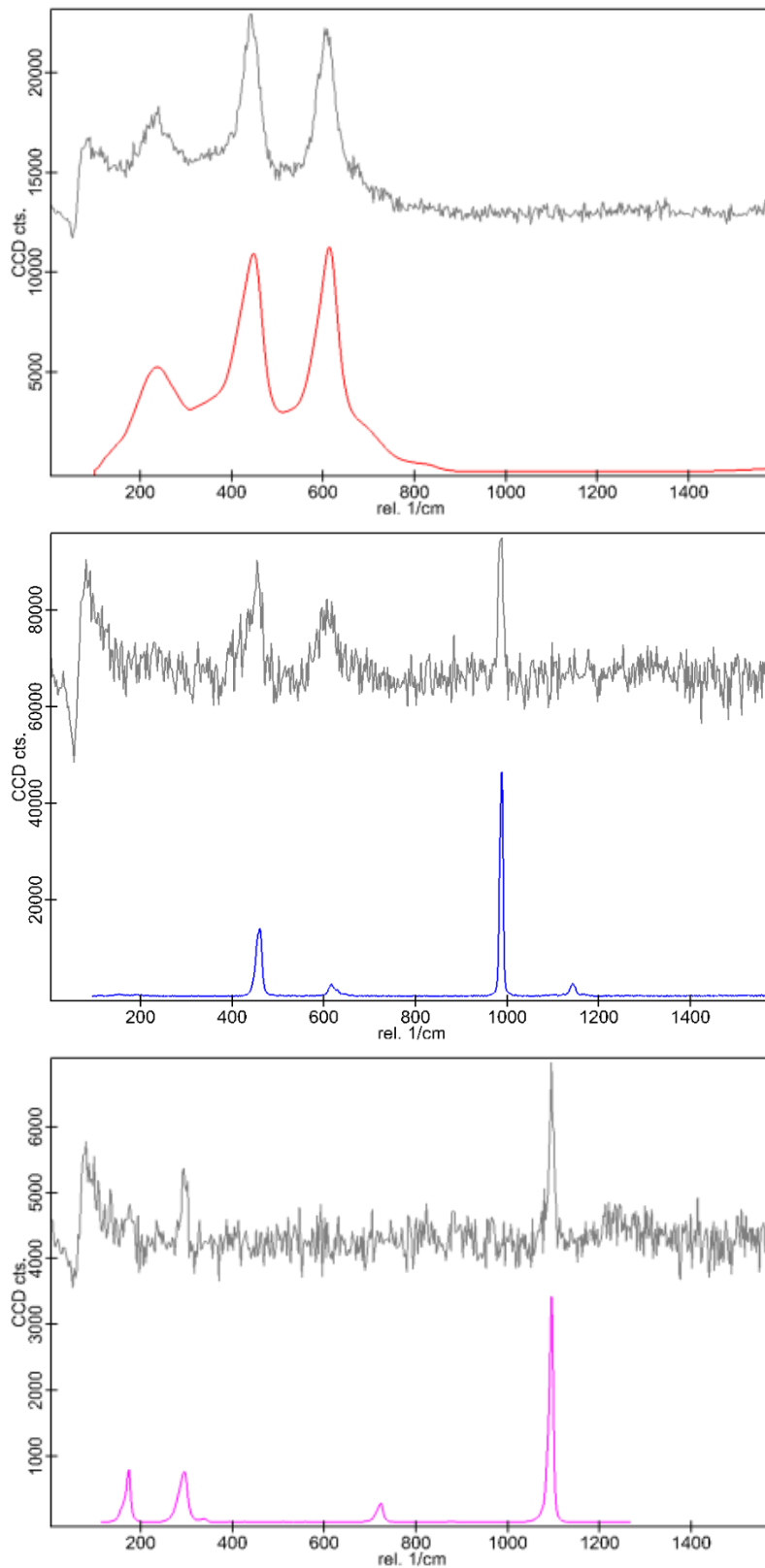
2.6.2 Partikelklassifizierung anhand von EDX-Spektren

Das EDX-Mapping ermöglichte, in einem mit der Raman-Analyse überlappenden Filterbereich neben dem Gold, Kohlenstoff und Sauerstoff des Kernporenfilters folgende dominierende Elementbestandteile der Partikel in der rechten Abbildung 13 als Falschfarben auszuweisen:

- ▶ Rot: Titan, Sauerstoff
- ▶ Magenta: Calcium
- ▶ Blau: Barium und Schwefel
- ▶ Gelb: Blei

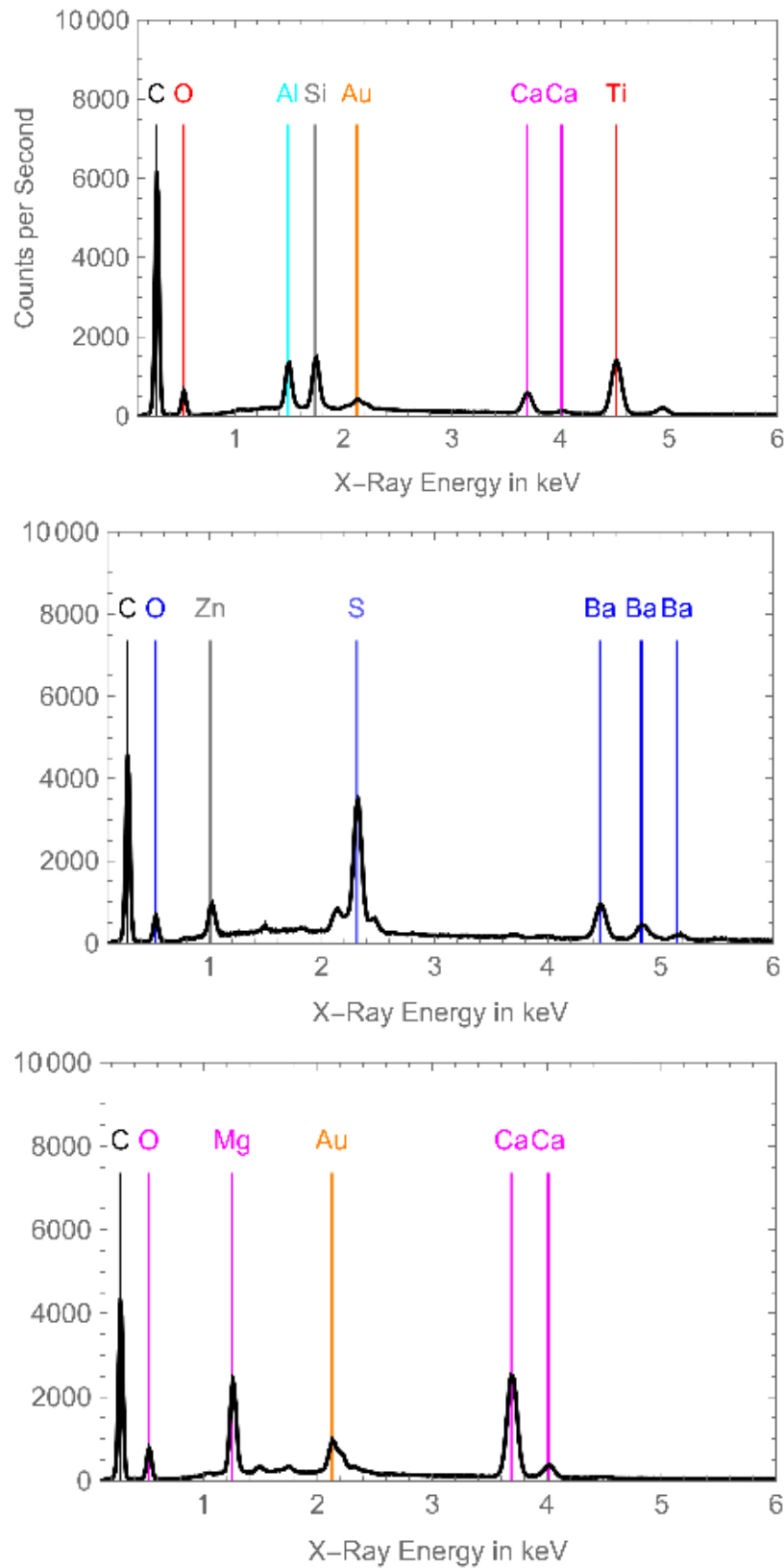
Der Begriff „dominierend“ soll dabei darauf hinweisen, dass für die meisten Partikel noch weitere Elemente nachgewiesen wurden. Es wird daher angenommen, dass die untersuchten Partikel zumeist aus Zusammen- oder Überlagerungen mehrerer Mineralien und Materialien bestanden. Beispiele für die EDX-Spektren dreier Partikelarten sind in Abbildung 15 gezeigt.

Abbildung 14: Raman-Spektren ausgewählter Partikel der Probe (grau) und Referenz-Spektren von Rutil (rot), Baryt (blau) und Dolomit (magenta)



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Abbildung 15: EDX-Spektren ausgewählter Punkte der Probe (schwarz) und Referenz-Linienpositionen von Ti_xO_y (rot), $\text{Ba}_x\text{S}_y\text{O}_z$ (blau) und $\text{Ca}_x\text{Mg}_y\text{O}_z$ (magenta)



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.6.3 Partikelklassifizierung anhand korrelierter Raman- und EDX-Analysen

Der entscheidende Mehrwert einer korrelativen Analyse, bei der sowohl Raman- als auch EDX-Ergebnisse einem Partikel zugeordnet und für eine Klassifizierung genutzt werden, zeigt sich bei der hier untersuchten Staubprobe sehr überzeugend. Die Identifizierung von Rutil-Partikeln als einer speziellen Titandioxid-Modifikation wäre mit EDX allein nicht möglich, allerdings mithilfe der Raman-Spektroskopie. Auch Dolomit und Bariumsulfat wären allein anhand ihrer EDX-Elementzusammensetzung nicht eindeutig identifizierbar. Außerdem ergibt sich eine Synergie der beiden Analysen, da, sofern die Interpretation eines Raman-Spektrums nicht eindeutig ist, die EDX-Elementarinformation genutzt werden kann, um den Kreis wahrscheinlicher Materialien einzuschränken. Die im Vergleich zur EDX-Analyse zeitaufwendige chemische Analyse mithilfe der Raman-Spektroskopie kann im Fall von nicht zu vielfältig zusammengesetzten Partikelgemischen nur auf Filterbereichen notwendig sein, auf denen sich solche Partikel befinden, die keine charakteristischen, bereits zuvor mittels Raman identifizierten EDX-Spektren aufweisen. Dann kann durch EDX mit deutlich weniger Aufwand eine nach dem Material differenzierende Partikelstatistik gewonnen werden. Dieser Ansatz wurde für die Auswertung der Probe in Abschnitt 2.7 verfolgt.

Besonders interessant sind in der hier gezeigten Staubprobe die gelb markierten Partikel. Diese wurden mit EDX als bleihaltige Partikel identifiziert. Da bleihaltige Stäube gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken sind, ist es besonders wichtig, ihre Größenverteilung und Herkunft zu ermitteln. Mittels Raman-Spektroskopie wurden dieselben Partikel allerdings nicht als Bleiverbindung, sondern als ausgehärteter Leinölfirnis identifiziert. Der scheinbare Widerspruch zwischen den Analysen löst sich auf, wenn berücksichtigt wird, dass Leinölfirnis vor dem Verbot solcher Verbindungen mit Bleioxiden oder bleiorganischen Sikkativen versetzt wurde, um die Polymerisation und Vernetzung des Leinöls zu fördern.

Die Kombination der beiden Analysetechniken ergab einander ergänzende und/oder wechselseitig absichernde Informationen. Sie lieferten wertvolle Hinweise zum Partikelspektrum der Staubprobe, zur toxikologischen Relevanz enthaltener Partikel und zu möglichen Emissionsquellen. Aufgrund des Wissens über die Herkunft der Staubprobe aus Schleifarbeiten an alten lackierten Zimmertüren konnten die in der Staubprobe gefundenen Partikelarten anhand ihrer Elementzusammensetzung und Raman-Signaturen folgenden Materialsorten zugeordnet werden:

- ▶ Aluminosilikat: Füllstoffkandidat Kaolin, aus Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Bleiverbindung: Sikkativ für Leinölfarben, aus Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Zinkweiß (Zinkoxid): Weißpigment, aus Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Baryt (Bariumsulfat): Weißpigment, identifiziert mittels Raman-Spektroskopie, gestützt durch Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Rutil (Titandioxid-Modifikation): Weißpigment, identifiziert mittels Raman-Spektroskopie, gestützt durch Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Dolomit (Calcium-Magnesium-Carbonat): identifiziert mittels Raman-Spektroskopie, gestützt durch Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Calciumcarbonat: Füllstoffkandidat, aus Interpretation des EDX-Spektrums
- ▶ Leinölfirnis, ausgehärtet: identifiziert mittels Raman-Spektroskopie

Viele Partikel lagen jedoch nicht sortenrein vor, sondern bestanden aus einer Aneinander- oder Überlagerung mehrerer Partikelarten.

2.6.4 Automatische Partikelklassifizierung

Eine Reihe von Staubpartikeln auf dem Filter wiesen charakteristische Elementzusammensetzungen auf und konnten, teilweise gestützt auf Raman-Analysen, als weitgehend reine Materialien identifiziert werden. Sie wurden als sogenannte Materialbasis verwendet, um für alle gefundenen Partikel die Hypothese zu testen, dass ihre gemessenen Elementkonzentrationen als eine Linearkombination der charakteristischen Elementzusammensetzungen der Materialbasis mit positiven Koeffizienten interpretiert werden können, sie also als Aneinander- oder Überlagerungen einer oder mehrerer Basismaterialien vorlagen.

Mit der „Methode der Kleinsten Quadrate“ (MKQ), bei der die Summe der Quadrate der Residuen von Partikelzusammensetzung und Linearkombination durch Variation der Koeffizienten numerisch minimiert wird, wurde ein automatischer Klassifizierungsalgorithmus für Elementzusammensetzungen entwickelt, mit dem die Anteile der Basismaterialien an einem Partikel abgeschätzt werden konnten. Tabelle 1 listet Beispiele für die Ergebnisse dieses Klassifizierungsansatzes auf. Es werden bis zu drei das Partikel dominierende Bestandteile der neun Basismaterialien und die für den Fit berechnete χ^2 -Wahrscheinlichkeit ($P\chi^2$) angegeben. Das Fragezeichen steht für eine nicht zuvor identifizierte Partikelzusammensetzung.

Wird eine Identifizierungsverlässlichkeit von 95 % gefordert, so gilt die getestete Hypothese als nicht widerlegt, wenn die χ^2 -Wahrscheinlichkeit 5 % oder mehr beträgt. Die mit unserer Hypothese nicht als Mischung der Basismaterialien zu deutenden Partikel sind in Tabelle 2 aufgeführt. Für vier von ihnen ist ein gegenüber Barium erhöhter Schwefelanteil nicht mit der getesteten Hypothese verträglich, da Schwefel für die auf dieser Probe als bekannt angenommenen Materialien in Kombination mit Barium vorkommen muss. Für die fünfte bereitet die Zusammensetzung der als Basismaterial verwendeten Bleiverbindung Probleme, da sie offenbar an nicht ausreichend reinen Partikeln ermittelt wurde und darum die hier gefundene Partikelzusammensetzung nicht überzeugend zu interpretieren vermag.

Für die erfolgreiche Anwendung des hier entwickelten Ansatzes auf eine Staubprobe ist daher die Identifizierung von möglichst sortenrein vorliegenden Partikeln der Basismaterialien Voraussetzung. Zudem müssen die Elementzusammensetzungen der Basismaterialien charakteristische Signaturen aufweisen, die ihre verlässliche Identifizierung erlauben.

Als Alternative zur Methode der Kleinsten Quadrate wurden die Elementzusammensetzungen der Basismaterialien für die Entwicklung und das Training eines überwachten Maschinellen Lernverfahrens mit der Methode der Multinomialen Logistischen Regression (MLR) verwendet, bei dem eine Liste von Elementkonzentrationen auf jeweils eine Materialklasse abgebildet wird (Logistic Regression, 2022; Jurafsky und Martin, 2021). Es zeigte sich, dass ein solcher Klassifizierer auch in der Lage ist, für Partikel, die aus Aneinander- und Überlagerungen verschiedener Basismaterialien bestehen, eine Reihe der wahrscheinlichsten Materialbestandteile anzugeben. Allerdings erwiesen sich diese Wahrscheinlichkeiten als nicht quantitativ verwertbar, da sie nicht proportional zu den mit der Methode der Kleinsten Quadrate aus der EDX-Elementzusammensetzung direkt bestimmbaren Basismaterialanteilen waren. Darum erwies sich die Methode der Kleinsten Quadrate in diesem Fall als der Multinomialen Logistischen Regression überlegen.

Tabelle 1: Beispiele für erfolgreiche MKQ-Klassifizierungen von Elementverhältnissen mit $P\chi^2 \geq 5\%$

ID	Hypothese	Elementverhältnisse in Atom%	Ergebnis der automatischen Klassifizierung	$P\chi^2$
1004	Aluminosilikat		Aluminosilikat → 98%, Rutil → 2%	97%
403	Bariumsulfat		Bariumsulfat → 94%, Bleiverbindung → 4%, Zinkoxid → 2%	94%
6	Bleiverbindung		Bleiverbindung → 100%	100%
105	Calciumcarbonat		Calciumcarbonat → 97%, Dolomit → 1%, Siliziumdioxid → 1%	91%
206	Dolomit		Dolomit → 91%, Magnesiumsilikat → 9%	42%
518	Magnesiumsilikat		Magnesiumsilikat → 100%	100%
511	Rutil		Rutil → 98%, Calciumcarbonat → 2%	100%
201	Siliziumdioxid		Siliziumdioxid → 96%, Rutil → 4%	94%
901	Zinkoxid		Zinkoxid → 94%, Bariumsulfat → 5%, Bleiverbindung → 1%	24%
103	?		Aluminosilikat → 41%, Rutil → 16%, Zinkoxid → 14%	97%
3	?		Bariumsulfat → 50%, Zinkoxid → 47%, Aluminosilikat → 3%	22%
2	?		Bleiverbindung → 45%, Calciumcarbonat → 20%, Aluminosilikat → 10%	62%
4	?		Calciumcarbonat → 61%, Rutil → 35%, Zinkoxid → 3%	84%
709	?		Magnesiumsilikat → 78%, Aluminosilikat → 9%, Zinkoxid → 7%	96%
15	?		Rutil → 81%, Aluminosilikat → 11%, Calciumcarbonat → 6%	91%
503	?		Siliziumdioxid → 56%, Aluminosilikat → 42%, Calciumcarbonat → 2%	63%
19	?		Zinkoxid → 54%, Bleiverbindung → 28%, Bariumsulfat → 14%	25%

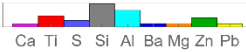
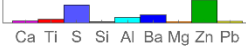
Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Tabelle 2: Nicht erfolgreiche MKQ-Klassifizierung von Elementverhältnissen mit $P\chi^2 < 5\%$

ID	Hypothese	Elementverhältnisse in Atom%	Ergebnis der automatischen Klassifizierung	$P\chi^2$
106	?		Zinkoxid → 67%, Bariumsulfat → 33%	2%
203	?		Bariumsulfat → 49%, Calciumcarbonat → 49%, Siliziumdioxid → 1%	0%
506	?		Bariumsulfat → 64%, Calciumcarbonat → 36%	0%
802	?		Bleiverbindung → 67%, Calciumcarbonat → 22%, Zinkoxid → 10%	0%
807	?		Siliziumdioxid → 30%, Bariumsulfat → 28%, Aluminosilikat → 28%	4%

Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Tabelle 3: MLR-Klassifizierung von Elementverhältnissen

ID	Hypothese	Elementverhältnisse in Atom%	Ergebnis der automatischen Klassifizierung
103	?		Aluminosilikat → 67%, Bleiverbindung → 30.1%, Zinkoxid → 1.4%
3	?		Bariumsulfat → 55%, Zinkoxid → 44.7%
2	?		Bleiverbindung → 86%, Calciumcarbonat → 13.8%, Dolomit → 0.1%
4	?		Calciumcarbonat → 100%, Rutil → 0.1%
709	?		Magnesiumsilikat → 100%
15	?		Rutil → 100%
503	?		Siliziumdioxid → 84%, Aluminosilikat → 15.7%, Magnesiumsilikat → 0.1%
19	?		Zinkoxid → 100%, Bleiverbindung → 0.3%

Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.7 Statistische Auswertung der Staubzusammensetzung

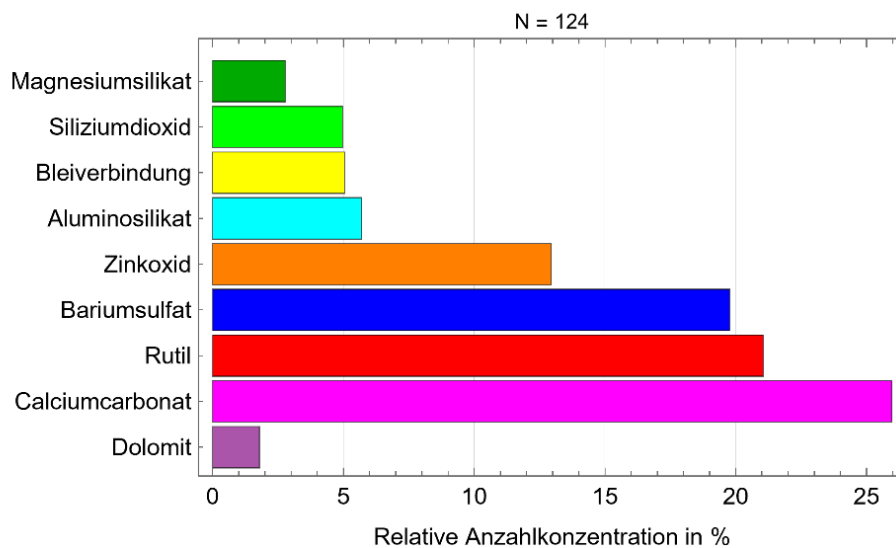
Für eine Bestimmung der Expositionshöhe gegenüber toxikologisch relevanten Staubpartikeln und der für die Bewertung der Lungengängigkeit wichtigen Partikelgrößenverteilungen sind statistische Auswertungen hinreichend vieler Partikel erforderlich. Sofern das auf einem Filter gesammelte Luftvolumen bekannt ist, können Staubpartikelanzahlkonzentrationen abgeschätzt werden (Meyer-Plath et al., 2020a) und die mit dem Einatmen des Staubgemischs möglicherweise verbundenen gesundheitlichen Risiken zu bewerten helfen.

Für die hier vorgestellte Probe wurden elf Bildbereiche à 84,8 x 63,4 µm² Fläche mittels EDX und teilweise auch mit der zeitlich deutlich aufwendigeren Raman-Spektroskopie analysiert. Dabei wurden 124 Partikel gefunden. Die drei vom Klassifizierer mit den höchsten Wahrscheinlichkeiten vorhandenen Bestandteile im EDX-Signal wurden den entsprechenden Partikelarten anteilig zugeordnet. Für mehr als 90 % Anteil eines Materials wurde ein Partikel als sortenrein identifiziert betrachtet. Aus diesem Vorgehen ergab sich die in Abbildung 16 gezeigte partikelanzahlbezogene Staubzusammensetzung, in die allerdings, mangels besserer Interpretationen, auch die acht nicht verlässlich identifizierten Partikel aus Tabelle 2 eingeflossen sind.

Für die Größe der 124 auf dem untersuchten Filterbereich gefundenen Partikel ergab sich für die untersuchte Probe die in Abbildung 17 gezeigt Verteilung des äquivalenten Durchmessers, d. h. des Durchmessers von partikelflächengleichen Kreisen. Wie der in Rot dargestellte Fit zeigt, ist die Durchmesser-Verteilung mit der Hypothese einer Log-Normalverteilung verträglich. Der für diese Probe aus dem Fit bestimmte Erwartungswert des Durchmessers betrug $(3,1 \pm 1,4)$ µm. Etwa 38 % der Partikel wiesen einen flächenäquivalenten Durchmesser kleiner als 2,5 µm auf.

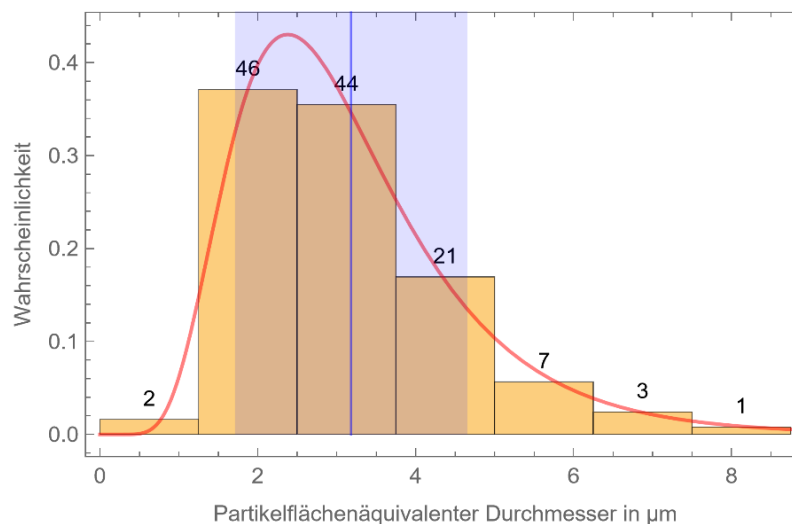
Diese exemplarische Untersuchung verdeutlicht, dass die Größenverteilung eines Partikelensembles unter Verwendung der jeweiligen partikelspezifischen Materialdichte auch in eine aerodynamische Durchmesser-Verteilung umgerechnet werden könnte. Auf diese Weise könnte beispielsweise die PM_{2,5}-Fraktion abgeschätzt werden. Im vorliegenden Fall würde sie aufgrund der im Mittel mehr als 1 g/cm³ betragenden Materialdichte geringer als 38 % ausfallen.

Abbildung 16: Relative Anzahlkonzentration von Partikelarten gemäß EDX-Analyse



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Abbildung 17: Durchmesserverteilung des analysierten Partikelensembles



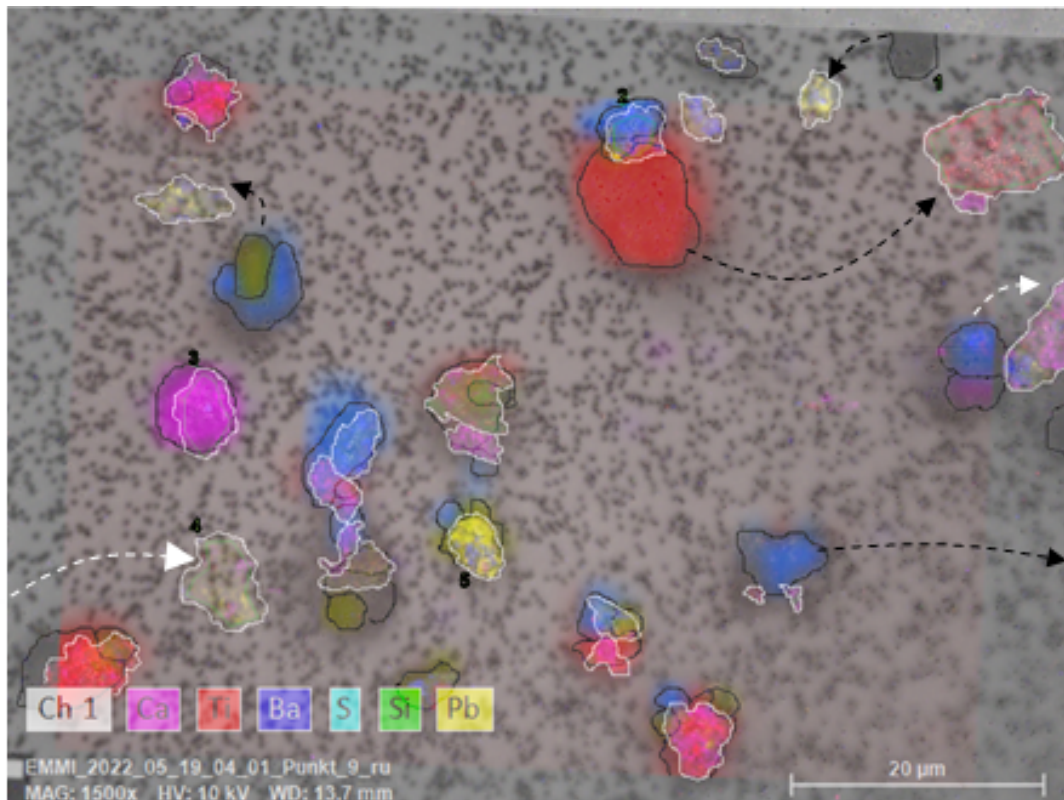
Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.8 Partikelumlagerungen während oder zwischen Analysen

Die Möglichkeit von Partikelumlagerungen während der Elektronenstrahlmikroskopie aufgrund lokaler elektrostatischer Aufladung wurde bereits in Abschnitt 2.5.1 angesprochen. Da die Korrelative Mikroskopie zudem in der Regel einen Transfer zwischen verschiedenen Mikroskopen erfordert, können auch mechanische Erschütterungen während der Handhabung der Filtermembranen die Bewegungen speziell größerer Partikel anstoßen. Eine eindeutige Zuordnung der in mehreren Analyseschritten gewonnenen Information zu einem Partikel wird im Fall einer Umlagerung unglücklicherweise erschwert. Abbildung 18 illustriert durch eine Überlagerung der Bilder aus Abbildung 13, dass es zu solchen Umlagerungen kommen kann. Die Zuordnung zu verschiedenen Epochen einer Analyse fällt zum einen durch den eingeschränkten Bildbereich schwer, da Partikel ins oder aus dem Bild gerollt zu sein scheinen. Zum anderen erschweren Änderungen der 2-D-Projektionsansicht eines (rotierend) umgelagerten dreidimensionalen Objekts eine Zuordnung. Diese kann jedoch, wie im Fall des roten Rutil-

Partikels im oberen rechten Bildbereich, durch übereinstimmende stoffliche Analysen (Rutil/ TiO_2), gepaart mit ähnlicher Partikelgröße, aufgelöst werden. Vermutete Umlagerungen wurden in Abbildung 18 mit gestrichelten Pfeilen ausgewiesen, wobei die Partikel der Raman-Epoche mit schwarzen, die der REM/EDX-Epoche mittels weißer Konturen gekennzeichnet wurden. Um während eines EDX-Mappings möglicherweise aufgetretene Partikelbewegungen zu dokumentieren und EDX-Spektren zuordnen zu können, erscheint es ratsam, sowohl vor als auch nach dem Mapping ein SE-Bild einzuziehen.

Abbildung 18: Partikelumlagerungen zwischen oder während der Raman- und REM/EDX-Analysen: die Überlagerung der beiden Bilder aus Abbildung 13



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

2.9 Speicherung aller bildbezogenen Analyseinformationen

Sind nun alle Bilder und Mappings von allen Mikroskopen orientiert, müssen sie in einer Form abgelegt werden, die es ermöglicht, für jedes Pixel alle verfügbaren Informationen einer Klassifizierung verwendbar zu machen. Hierfür wurde ein eigenes komprimiertes Datenformat basierend auf den Kompressionsalgorithmen LZW (Lempel und Ziv, 1977) und BZip2 (Seaward, 1996) entwickelt, das speichereffizient und schnell auszulesen ist. Dieses Dateiformat enthält neben den Bildern und Spektren der Mappings auch alle zugehörigen Metadaten. Zusammen mit den Spektren kann es als hyperspektrales Bild, also ein Bilderstapel mit sehr vielen Informationskanälen verstanden werden, wie in Abbildung 19 veranschaulicht.

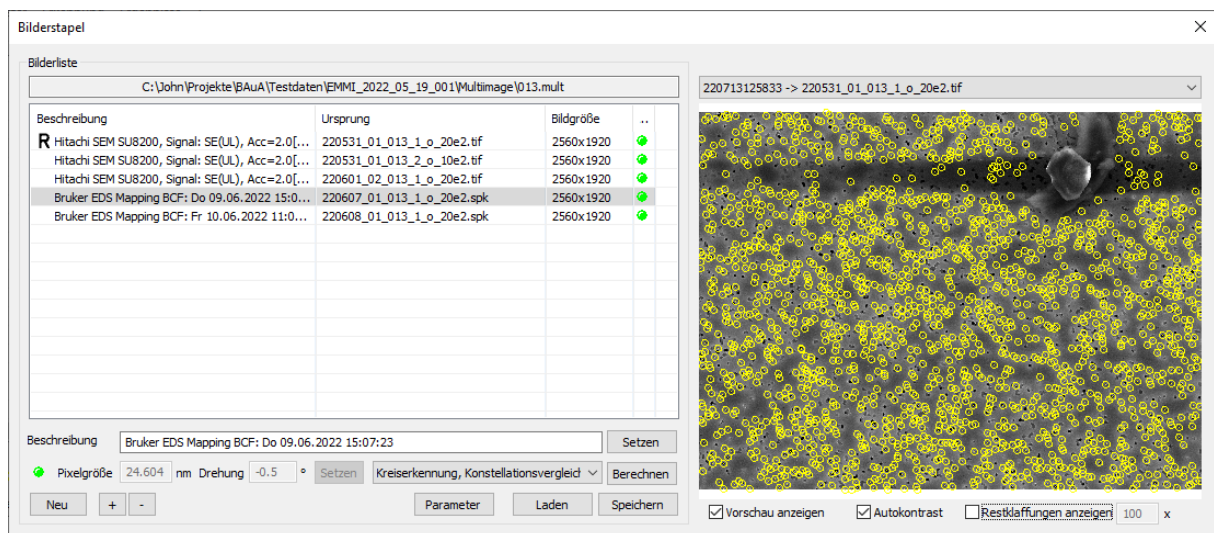
Abbildung 19: Datenmodell für Bild- und Spektraldaten eines analysierten Filterbereichs



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Die ebenfalls an der BAuA entwickelte Software *FibreDetect* kann diese Bildstapeldateien auslesen und verarbeiten. Bilder und Mappings können eingelesen, Bildzuordnungen, sofern dies nicht vorher in *TiNa* erfolgte, berechnet und Analysen durchgeführt werden. Laden und Speichern der Bildstapeldateien gehen sehr schnell und der Zugriff auf einzelne pixelbezogene Informationen erfolgt ohne erkennbare Zeitverzögerung. Für drei Bilder und zwei EDX-Mappings ist die Datei in diesem Beispiel lediglich 39 MB klein. Unkomprimiert ist jedes Bild 4,6 MB und jedes EDX-Mapping bis zu 9 GB groß. Drei Bilder und zwei Mappings benötigen also 18 GB an Speicher. Das Bruker-eigene Datenformat komprimiert ein Mapping in ca. 186 MB, also immer noch ein Vielfaches mehr als das *FibreDetect*-Bildstapelformat. Die extrem hohe Kompressionsrate ist durch die sehr dünn besetzten EDX-Kanäle zu erklären. Hier sind die meisten Werte null und/oder maximal einstellig. Die Kompressionsmethoden wurden speziell nach diesem speziellen Wertebereich ausgewählt. Abbildung 20 zeigt einen Screenshot des Programms *FibreDetect* mit einer Liste von Bildern auf der linken Seite und ein orientiertes Bild mit eingblendeten erkannten Kreisen bzw. Poren.

Abbildung 20: Handhabung von Bilderstapeln in der Software *FibreDetect*



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

3 Erkennung und Lokalisierung von Partikeln

Die Erkennung von Partikeln in REM-Bildern ist zentraler Ausgangspunkt einer Klassifizierung und wird über die Software *FibreDetect* realisiert. *FibreDetect* kann auf demselben Rechner laufen wie *TiNa* und ankommende Bilder sogleich segmentieren. Dies läuft vollautomatisch ohne manuellen Eingriff ab. Bei der sogenannten binären Segmentierung wird der Vordergrund (Partikel, Faser und andere Objekte) vom Hintergrund (Kernporen des Filters) getrennt. Sich überlappende Objekte werden derzeit noch nicht getrennt und als ein einzelnes Objekt betrachtet. Eine solche Separation von Objekten ist Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten. Für erkannte Objekte wird ihre Position auf dem Filter berechnet und dokumentiert, um ihr Material, wie in Abschnitt 2 beschrieben, unter Verwendung von zu dieser Position gehörigen EDX- und/oder Raman-Analyseergebnissen zu klassifizieren.

3.1 Segmentierung mit klassischen Methoden der digitalen Bildverarbeitung

Eine erfolgreiche und zuverlässige Segmentierung mit klassischen Methoden der digitalen Bildverarbeitung hat sich als äußerst schwierig erwiesen und führte nicht zum gewünschten Erfolg. Verantwortlich dafür ist die porendurchsetzte Filteroberfläche, für die es nicht gelang, Partikel von Poren verlässlich algorithmisch zu unterscheiden. So basieren bestehende Algorithmen auf Schwellwertverfahren, die ein helles Objekt vor einem dunklen Hintergrund erwarten. Da im REM abgebildete Partikel aber sehr unterschiedliche Helligkeiten und Oberflächentexturen aufweisen können, sind die Schwellwertalgorithmen (Zack et al., 1977; Otsu, 1979) nicht anwendbar. Dieser Ansatz wurde demnach verworfen und kommt hier nicht zum Einsatz.

3.2 Bildsegmentierung mit Künstlichen Neuronalen Netzen

Da uns zu Beginn dieses Forschungsvorhabens bereits bekannt war, dass unsere auf klassischer digitaler Bildverarbeitung basierende Segmentierungsansätze nicht zielführend waren, hat die BAuA ein zusätzliches Forschungsprojekt zur Segmentierung von REM-Bildern durch die Nutzung von Künstlichen Neuronalen Netzen (KNN) ins Leben gerufen. Die Erkenntnisse aus diesem Forschungsprojekt ermöglichen uns, Bilder mit einer hohen Genauigkeit und Zuverlässigkeit zu segmentieren und so Partikel, Fasern und andere Objekte zu erkennen.

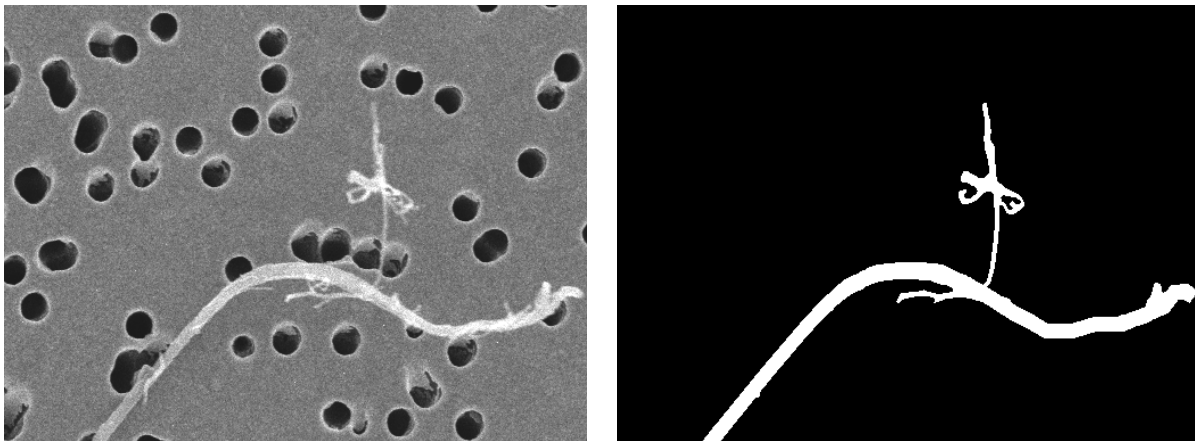
Im vergangenen Jahrzehnt konnte die Qualität automatisierter Bilderkennungsverfahren durch die Verwendung von KNN wie dem *AlexNet* (Krizhevsky et al., 2012) auf ein völlig neues Niveau gehoben werden. Durch diese Erfolge haben sich Künstliche Neuronale Netze schnell als neue Standardmethode im Bereich der Bilderkennung etabliert.

KNN verwenden in der Regel Millionen in einem Trainingsprozess optimierter Parameter, die in aufeinander folgenden Schichten miteinander strukturiert verknüpft sind. Diese Parameter dienen als Gewichte für digitale Filter, die aus eingehenden Daten wichtige Informationen selektieren. Die selektierten Informationen werden dann an die jeweils nächste Schicht weitergereicht. In der letzten Schicht sind dann idealerweise nur noch die für die Anwendung relevanten Informationen vorhanden. In unserem Fall, auf welchen Pixeln im Bild Objekte erkannt wurden. Damit aber ein KNN beurteilen kann, welche Informationen relevant sind, ist eine Anlernphase mit qualifizierten Datensätzen notwendig. Diese Anlernphase wird auch Training genannt. Während des Trainings bringen wir dem KNN mittels überwachten Lernens bei, anhand von Beispielen Objekte und Filteroberfläche voneinander zu unterscheiden. Dazu werden dem KNN im Trainingsverlauf wiederholt Bildausschnitte aus einem Trainingsdatensatz von über 1.000 verschiedenen REM-Bildern gezeigt. Überwachtes Lernen bedeutet hier, dass zu jedem Bildausschnitt eine sogenannte Grundwahrheit existiert, die nahezu pixelgenau zeigt, wo

sich im Bild Objekte befinden (s. Abbildung 21). Diese Grundwahrheiten haben Kolleginnen und Kollegen in mühsamer Detailarbeit durch eine manuelle Auswertung der Bilder mit *FibreDetect* erzeugt.

Ausgehend von zufälligen Startwerten der Parameter werden mithilfe dieser Grundwahrheiten in jedem Trainingsschritt die Gewichte der digitalen Filter nach und nach an die Aufgabenstellung angepasst. Als Maß für den Lernerfolg wird dabei eine Verlustfunktion verwendet. Je größer die Übereinstimmung zwischen der Grundwahrheit und der Vorhersage des KNN ist, desto kleiner ist der Informationsverlust und der daraus resultierende Wert der Verlustfunktion. Basierend auf der numerischen Ableitung der Verlustfunktion wird in jedem Trainingsschritt eine geringfügige Anpassung der Gewichte vorgenommen. Das Training wird beendet, wenn der Wert der Verlustfunktion trotz weiterer Anpassung der Gewichte nicht weiter reduziert werden kann, also ein Minimum der Verlustfunktion erreicht wurde. Für die Segmentierung unserer REM-Bilder verwenden wir KNN, die auf der sogenannten *U-Net*-Architektur (Ronneberger et al., 2015) basieren.

Abbildung 21: Ausschnitt einer REM-Aufnahme eines Probennahmefilters (links) und die dazugehörige Grundwahrheit eines manuell ausgewerteten Bildes (rechts)



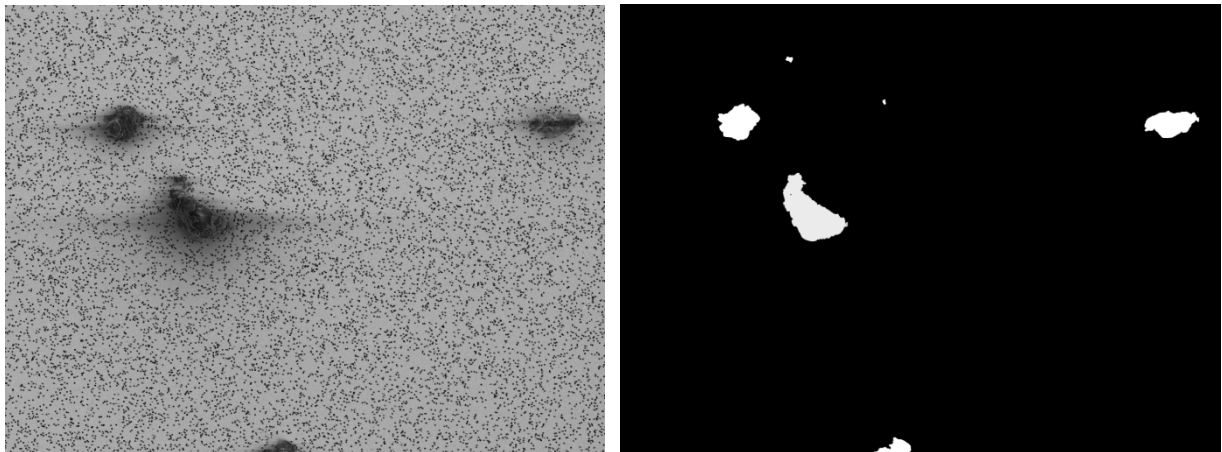
Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

3.3 Objekterkennung

Bei einer erfolgreichen Segmentierung wird das Ergebnis in einem Binärbild sichtbar. Weiße Pixel bedeuten, dass sie als Vordergrund, also Objekte erkannt werden. Ein schwarzes Pixel ist hingegen als Hintergrund zu betrachten (Filteroberfläche und Löcher). Eine solche Segmentierung eines REM-SE-Bildes ist in Abbildung 22 zu erkennen.

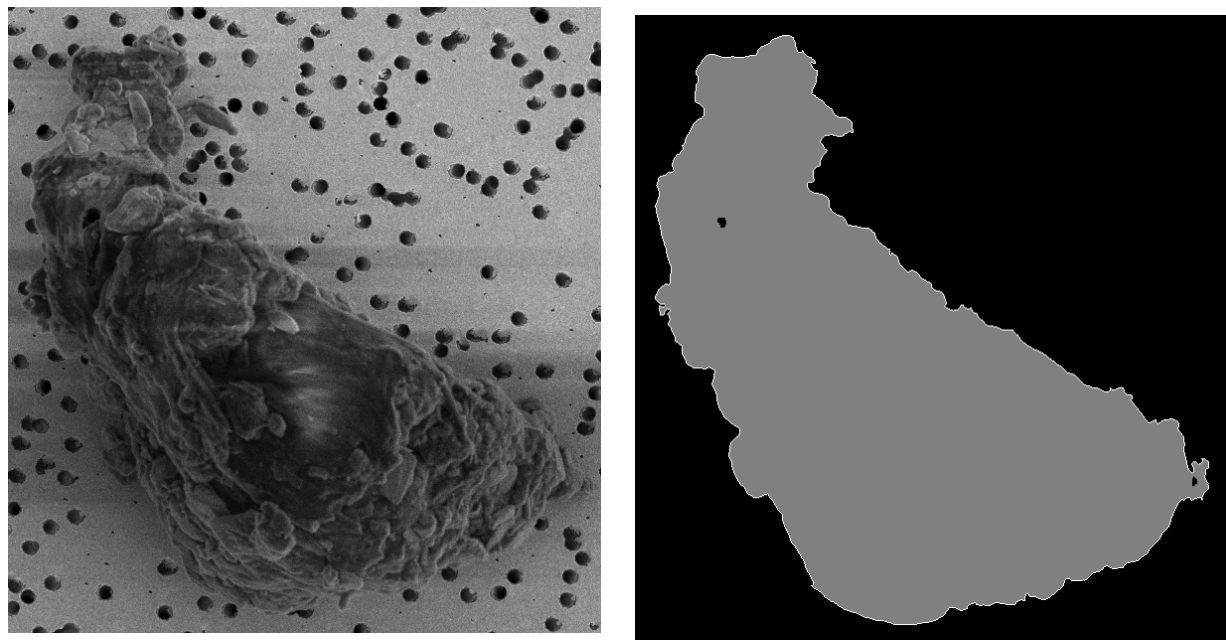
Im Segmentbild werden von *FibreDetect* nun alle weißen Bereiche nach der Methode von Moore (Pradhan et al., 2010) als geschlossene Polygone vektorisiert (s. Abbildung 23). Die Koordinaten der Knotenpunkte der Polygone werden über die Bildorientierung im Probenkoordinatensystem gespeichert. Somit ist für jedes Objekt die genaue Position sowie für alle morphologischen Werte der Bezug im metrischen System gegeben.

Abbildung 22: REM-SE-Bild (links) und segmentiertes Bild (rechts)



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

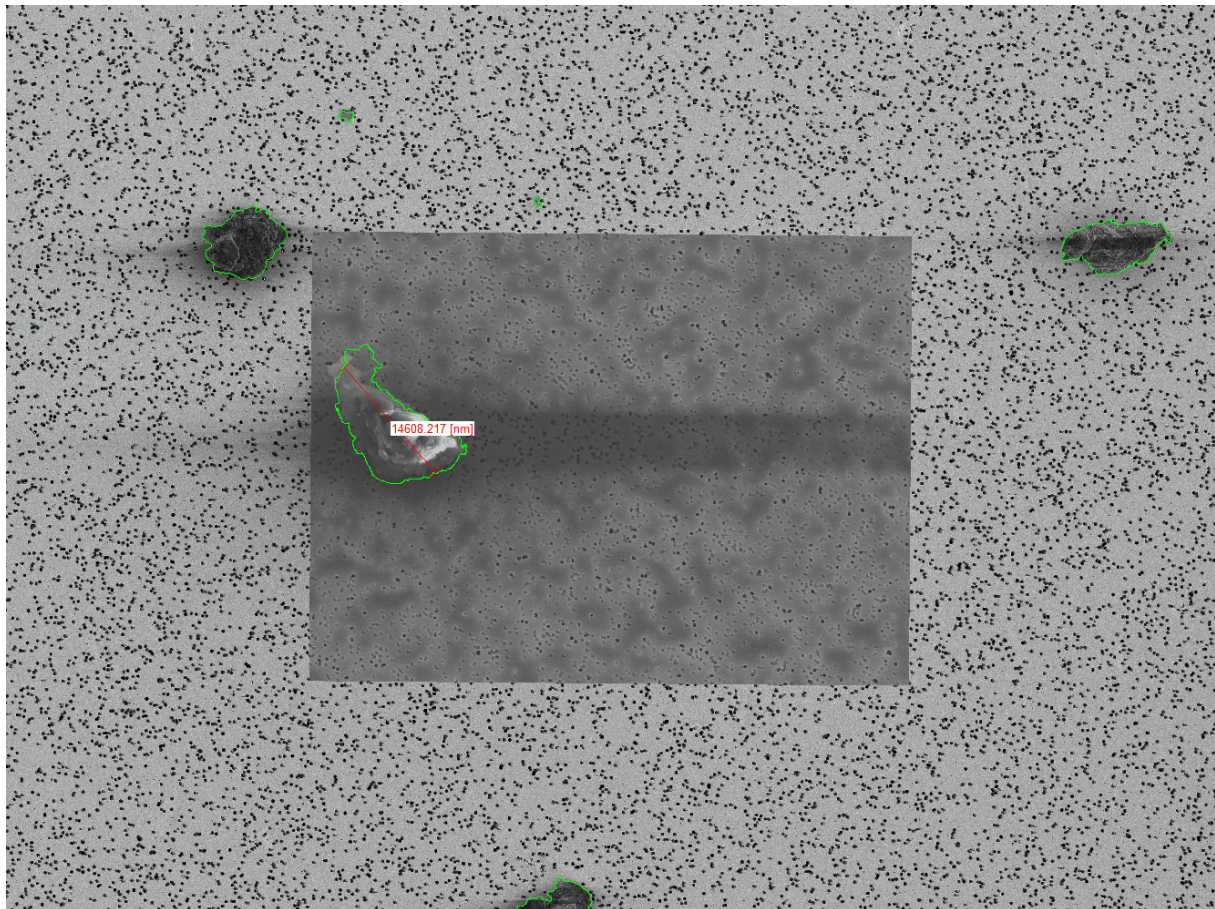
Abbildung 23: Ausschnitt REM-SE-Bild (links) und Polygon des Objekts (rechts)



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Für jedes Objekt kann nun die spektrale Information aus dem Bilderstapel abgerufen werden. Die Morphologie ist im *FibreDetect*-Projekt gespeichert und als Export im Text- und Excel-CSV-Format verfügbar. Die Methoden zur Darstellung und Analyse der Größe von Objekten ähneln sehr den Anwendungen in der Fernerkundung. Die Darstellung der Objektpolygone und Überlagerung von mit *FibreDetect* orientierten TIFF-Bildern ist auch mit einem handelsüblichen GIS-Viewer, wie in Abbildung 24 zu sehen, möglich.

Abbildung 24: REM-SE-Bild 3 kV 1.000x überblendet mit REM-SE 12 kV 2.000x und erkannte Objekte



Quelle: Eigene Darstellung, BAuA

Literatur

- Ackermann, F., High Precision Digital Image Correlation, in Schriftenreihe Institut für Photogrammetrie. 1984, Universität Stuttgart.
- Albertz, J., and M. Wiggenhagen, Taschenbuch zur Photogrammetrie und Fernerkundung, Guide for Photogrammetry and Remote Sensing. 2008: Wichmann Verlag. Seite 47–51.
- Birmili, W., et al., Ultrafeine Partikel in der Umgebungsluft – Aktueller Wissensstand, UMID: Umwelt + Mensch Informationsdienst 02/2018 (umweltbundesamt.de), Seite 57–65.
- Brasche, S., and W. Bischof, Daily time spent indoors in German homes – Baseline data for the assessment of indoor exposure of German occupants, International Journal of Hygiene and Environmental Health, Volume 208, Issue 4, 20 July 2005, Pages 247–253.
- Canny, J., A computational approach to edge detection. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 1986.
- Chernov, N., Circular and linear regression: Fitting circles and lines by least squares, Chapman & Hall/CRC, Monographs on Statistics and Applied Probability, Volume 117, 2010, Pages 256 ff.
- DIN EN 689, Exposition am Arbeitsplatz- Messung der Exposition durch Einatmung chemischer Arbeitsstoffe – Strategie zur Überprüfung der Einhaltung von Arbeitsplatzgrenzwerten. 2020.
- Ebert, M., S. Weinbruch, P. Hoffmann, and H. M. Ortner, The chemical composition and complex refractive index of rural and urban influenced aerosols determined by individual particle analysis, Atmospheric Environment, Volume 38, Issue 38, December 2004, Pages 6531–6545.
- Förstner, W., A Feature Based Correspondence Algorithm for Image Matching. Proceedings of the Symposium "From Analytical to Digital". Vol. 26(3,3). 1986: Rovaniemi, Finland ISPRS. Pages 150–166.
- Gomez, M., D. Reggio, and M. Lazzari, Linseed oil as a model system for surface enhanced Raman spectroscopy detection of degradation products in artworks, Journal of Raman Spectroscopy, Volume 50, Issue 2, 2019, Pages 242–249.
- Jurafsky, D., and J. H. Martin, Logistic Regression, in Speech and Language Processing. 2021.
- Krizhevsky, A., I. Sutskever, and G. Hinton, ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks, Advances in Neural Information Processing Systems, Volume 25. 2012: Curran Associates, Inc.
- Lempel, A., and J. Ziv, A universal algorithm for sequential data compression, IEEE Transact. Information Theory, Volume 23, 1977, Pages 337–343.
- Logistic Regression - Machine Learning Method for Classification. Available from: <https://reference.wolfram.com/language/ref/method/LogisticRegression.html>.
- Meyer-Plath, A., Correlating SEM and Raman Imaging of Nucleopore Filter Sampled Nanofibers. 2020: Virtual Raman Imaging Poster Summit 2020b.
- Meyer-Plath, A., et al., A Practicable Measurement Strategy for Compliance Checking Number Concentrations of Airborne Nano- and Microscale Fibers. Atmosphere, Volume 11, Issue 11, 2020a.
- Moré, J., et al., Relocation of defined sample positions with an automated stage navigation tool for SEM, in Microscopy Conference 2017. 2017: Lausanne, Switzerland.
- Otsu, N., A threshold selection method from gray-level histograms, IEEE Trans. Sys. Man. Cyber, Volume 9, 1979, Pages 62–66.
- Patel, P., and S. G. Aggarwal, On the techniques and standards of particulate matter sampling, Journal of the Air & Waste Management Association, Volume 72, Issue 8, 2022.

Pradhan, R., et al., Contour line tracing algorithm for digital topographic maps, International Journal of Image Processing, Volume 4, 2010, Pages 156–163.

Ronneberger, O., P. Fischer, and T. Brox, U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation, Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI). 2015: Springer. Pages 234–241.

RRUFF Database. Available from: <https://rruff.info/>, last access October 1, 2022.

Schumann, J., et al., Analysis of sampled airborne particles by correlative microscopy, in 16th Multinational Congress on Microscopy. 2022: Brno, Czech Republic

Schumann, J., et al., Automated detection, tracking and characterization of toxicologically relevant nanoscale fibres in scanning electron microscope images, in IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI) 2019. 2019: Venice, Italy.

Seward, J, bzip2 file format and file compression program, 1996.

Spratling, B. and D. Mortari, A Survey on Star Identification Algorithms. Algorithms 2. Algorithms, Volume 2, 2009, pages 93–107.

ST Japan Raman Spectra Databases. Available from: <https://www.stjapan.de/spectra-databases/raman-spectra-databases/>, last access October 1, 2022.

VDI 3492, Messen von Innenraumluftverunreinigungen – Messen von Immissionen – Messen anorganischer faserförmiger Partikel – Rasterelektronenmikroskopisches Verfahren, VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss, Editor. 2013.

Zack, G., W. Rogers, and S. Latt, Automatic measurement of sister chromatid exchange frequency. J Histochem Cytochem, Volume 25, 1977, Pages 741–753.

Zhao, J., W. Birmili, T. Hussein, B. Wehner, and A. Wiedensohler, Particle number emission rates of aerosol sources in 40 German households and their contributions to ultrafine and fine particle exposure, Indoor Air, Volume 31, Issue 3, May 2021, Pages 818–831.