

УДК 53.086

ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННЕЙ МИКРОСТРУКТУРЫ МАТЕРИАЛОВ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ПЕРЕСТРАИВАЕМОЙ ДЛИНОЙ ВОЛНЫ

И.П. Гуров, Е.В. Жукова, Н.Б. Маргарянц

Обсуждаются возможности изучения внутренней микроструктуры материалов методом оптической когерентной томографии с перестраиваемой длиной волны (1305 ± 75 нм) на примере изучения тканей биологического и искусственного происхождения. Приводятся изображения томограмм (В-сканов) и 3D-изображения областей исследования.

Ключевые слова: оптическая когерентная микроскопия, томограмма, микроструктура материалов, диагностика, 3D-изображение.

Введение

Методы оптической когерентной микроскопии или оптической когерентной томографии (ОКТ) с повышенной разрешающей способностью относятся к современному и интенсивно развивающемуся направлению исследований внутренней микроструктуры материалов и веществ [1]. Успехи в использовании ОКТ-технологий обусловлены появлением новой элементной базы фотоники и электроники, прежде всего источников излучения и видеокамер, и использованием преимуществ современных компьютерных технологий для обработки, анализа и визуализации томограмм.

Традиционная область применения методов ОКТ – это изучение внутренней микроструктуры биологических объектов и сред. В настоящее время происходит расширение области применения ОКТ, например, для обеспечения контроля различных характеристик слоистых материалов, в частности, в целлюлозно-бумажной промышленности и микроэлектронике, и повышения качества продукции [2]. Неоценимую помощь методы ОКТ оказывают в неразрушающих исследованиях предметов искусства, прежде всего живописи, поскольку позволяют визуализировать внутреннюю микроструктуру для оценки необходимости последующей реставрации [3]. Применение ОКТ-технологий включает необходимость разработки специального программного обеспечения, предназначенного для управления системой регистрации и визуализации изучаемых областей с высоким разрешением, без артефактов и с минимальными искажениями.

Перспективы развития ОКТ связывают не только с совершенствованием возможностей аппаратуры и повышением быстродействия вычислительных систем, но и с расширением круга задач, решаемых с помощью методов ОКТ-диагностики. Большинство научных публикаций по тематике ОКТ сосредоточены на конкретных областях применения, преимущественно для решения диагностических задач в биологии и медицине [4].

В настоящей работе представлены результаты поисковых исследований и изучения микроструктуры различных материалов с использованием современного оборудования. Показаны возможности применения метода ОКТ с перестраиваемой длиной волны в изучении сред различного происхождения – биологического (растительного, природного) и искусственного – для выявления возможностей диагностики их микроструктуры.

Метод оптической когерентной микроскопии с перестраиваемой длиной волны

Принято различать методы ОКТ во временной области и в частотной области [5]. В методах первой группы используется двухлучевой интерферометр с изменяемой оптической длиной пути в опорном плече, что позволяет селективировать слои среды по глубине, по критерию максимума видности интерференционных полос. Поскольку изменению оптической длины пути соответствует изменяемая временная задержка, метод принято называть ОКТ во временной области (ОКТВ).

В методах второй группы регистрируется отраженное от объекта излучение для отдельных длин волн (методика подобна использованию набора шкал с различной ценой деления для определения расстояний). Искомой величиной в ОКТ является интенсивность излучения, отраженного от каждого слоя среды. Необходимую информацию можно извлечь, применяя преобразование Фурье к зарегистрированным сигналам в спектральной области, поэтому метод часто называют ОКТ в частотной области (ОКТЧ). Подробное сравнительное описание методов ОКТВ и ОКТЧ приведено в [5].

В системах ОКТ с перестраиваемой длиной волны исследуемый объект освещают последовательно на различных длинах волн с быстрой перестройкой длины волны, что позволяет обеспечить необходимое быстродействие при высокой мощности освещающего пучка и повышает качество получаемых томограмм.

Следует отметить, что наиболее высокое разрешение в боковом направлении (в плоскости поверхности объекта) достигается в системах ОКТ, оснащенных микрообъективами с повышенной апертурой (числовой апертурой более 0,4). Такие системы получили название оптических когерентных микроскопов (ОКМ). Для выполнения исследований нами использовалась модель ОКМ EX1301 производства

фирмы Michelson Diagnostics (Великобритания). Конструкция прибора включает лазерный источник излучения HLS-2000-MDL производства фирмы SANTEC (Япония) с перестраиваемой длиной волны зондирующего излучения. Максимум мощности излучения достигает 15 мВт и соответствует длине волны 1305 ± 15 нм при диапазоне перестройки длины волны в пределах 150 нм.

Преимущество данной модели ОКМ состоит в использовании многоканальной оптической системы фокусировки лазерного излучения, которая включает четыре микрообъектива с одновременной фокусировкой на разных глубинах по толщине образца. Томограмма исследуемой области формируется за счет информации, поступающей одновременно со всех каналов. Общая глубина фокусировки равна примерно 1 мм, при этом каждый канал обеспечивает фокусировку в пределах 0,25 мм. Оптическое разрешение ОКМ по глубине исследуемого образца (аксиальное разрешение) составляет около 10 мкм, а боковое (латеральное) разрешение не хуже 7,5 мкм. С помощью микроскопа можно получать томограммы в пределах участка шириной до 7 мм.

На рис. 1 показано, как ориентирован исследуемый образец при сканировании. Размер В-скана зависит от выбранной ширины области сканирования (0,1–7 мм), а отображаемый на экране монитор диапазон глубин достигает 2 мм. Информативность экспериментальных данных, регистрируемых в пределах изучаемого объема (XYZ), зависит от шага бокового сканирования по второй координате (ΔY), минимальное значение которого равно 1 мкм при использовании специальных микропозиционеров, управляемых от компьютера. Быстродействие регистрирующей системы позволяет выполнять запись информации со скоростью до 5 кадров в секунду при ширине исследуемого участка 5 мм. Уменьшая ширину В-скана до 0,1 мм, можно вести запись со скоростью до 35 кадров в секунду при изучении динамических процессов.

Результаты экспериментальных исследований

Для демонстрации возможностей метода оптической когерентной микроскопии при изучении микроструктуры случайно-неоднородных и слоистых сред вначале был использован образец растительной ткани *перикарпия* плода сладкого перца. В фармацевтической промышленности используют методы классической микроскопии при диагностике состояния тканей этого плода для последующего технологического применения.

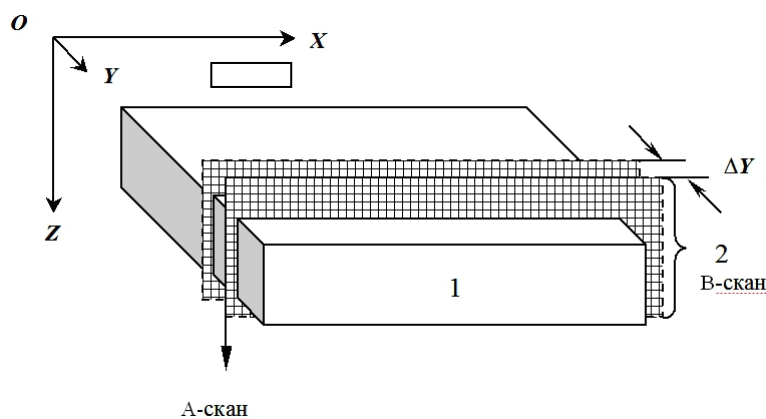
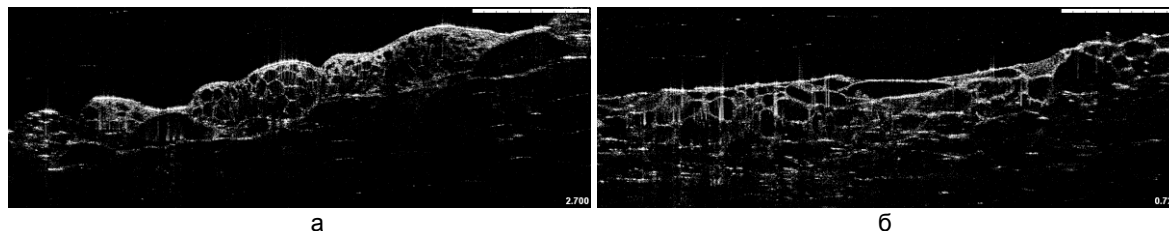


Рис. 1. Позиционирование исследуемого образца в процессе сканирования: 1 – образец; 2 – В-скан; система координат XYZ определяет положение образца и ориентацию восстановленного 3D-изображения



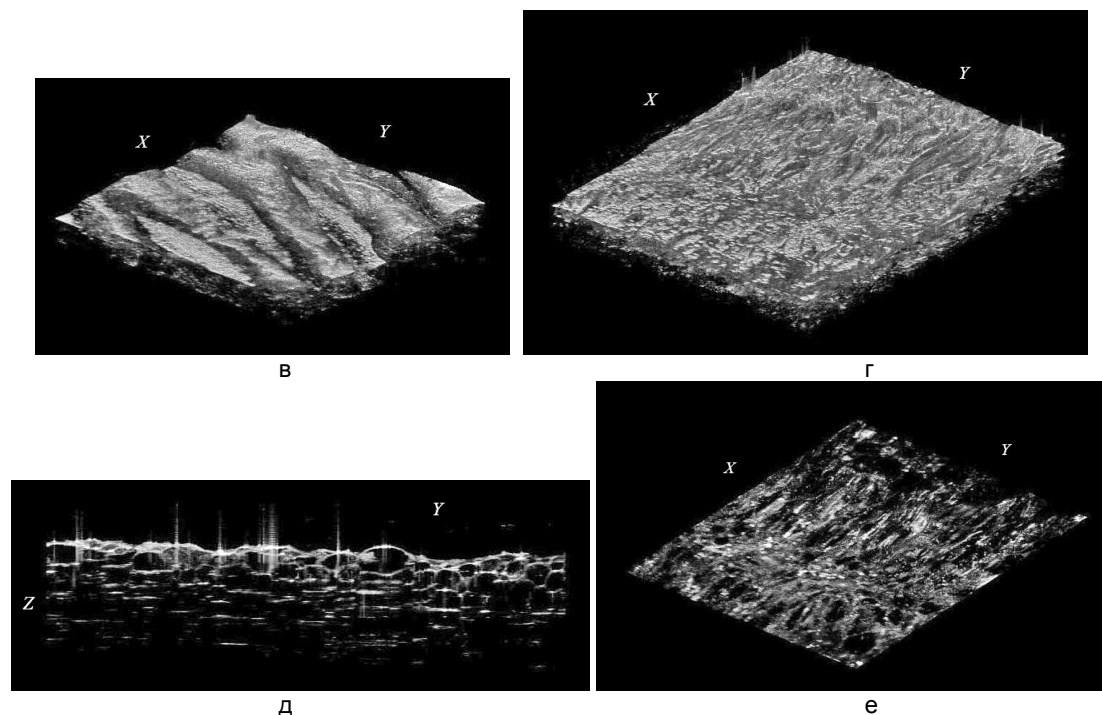


Рис. 2. Строение тканей перикарпия плода сладкого перца: томограмма (В-скан) ткани эндокарпия (а); томограмма (В-скан) ткани экзокарпия (б); 3D-изображение ткани эндокарпия ($x=2,53$ мм; $y=2,99$ мм; $z=1,35$ мм) (в); 3D-изображение ткани экзокарпия ($x=3,73$ мм; $y=2,99$ мм; $z=1,71$ мм) (г); изображение сечения ткани экзокарпия ($x=0,06$ мм; $y=2,99$ мм; $z=1,71$ мм) (д); 3D-изображение слоя ткани экзокарпия ($x=3,73$ мм; $y=2,99$ мм; $z=0,06$ мм) (е). Размер В-сканов – 5×2 мм

С помощью метода оптической когерентной микроскопии были изучены наружный слой (экзокарпий) и внутренний слой (эндокарпий), которые выполняют разные функции и имеют соответственно разное строение тканей. В спектральной области исследования ткани перикарпия прозрачны для зондирующего лазерного излучения, и оно проникает на значительную глубину. Благодаря эффектам отражения от внутренних микронеоднородностей строение тканей наглядно визуализируется, и получаемые данные пригодны для анализа.

На рис. 2 приведены результаты исследования перикарпия. Микроструктура тканей хорошо видна на В-сканах (рис. 2, а, б). Из сравнения томограмм тканей экзокарпия и эндокарпия видно, что размеры клеток для эндокарпия можно отнести к диапазону значений 125–800 мкм, именно они содержат необходимые для развития плода и семян питательные вещества. Клетки экзокарпия первыми начинают терять влагу в процессе высыхания, строение их клеток отличается от клеток внутреннего слоя перикарпия.

О форме строения клеток можно судить по реконструированным 3D-изображениям исследуемых областей (рис. 2, в, г). Восстановление трехмерного изображения выполнено при сканировании поверхности площадью 5×3 мм с шагом регистрации В-сканов $\Delta y=0,01$ мм с использованием программного обеспечения ОКМ. Ценность реконструированного 3D-изображения состоит в том, что получаемая информация дает возможность изучать строение тканей в разных сечениях. Так, на рис. 2, д, показано сечение тканей экзокарпия в направлении оси (OY), т.е. в направлении бокового сканирования (рис. 1, б). Изображение показано для слоя толщиной примерно 60 мкм.

Другой пример – это изображение сечений в горизонтальной плоскости (XOY) (или С-скан) (рис. 2, е). На этом сечении тканей экзокарпия видно, что имеются участки, которые сильно переотражают и рассеивают лазерное излучение. Из анализа изображений, полученных методом оптической когерентной микроскопии, видно, что поверхностные клетки экзокарпия извилистые, многоугольные и с утолщенными стенками, а внутренние клетки эндокарпия узкие, вытянутые, стенки утолщены благодаря содержанию влаги. Экзокарпий имеет кожистое строение эпидермиса, а эндокарпий содержит у поверхности волокнистую структуру.

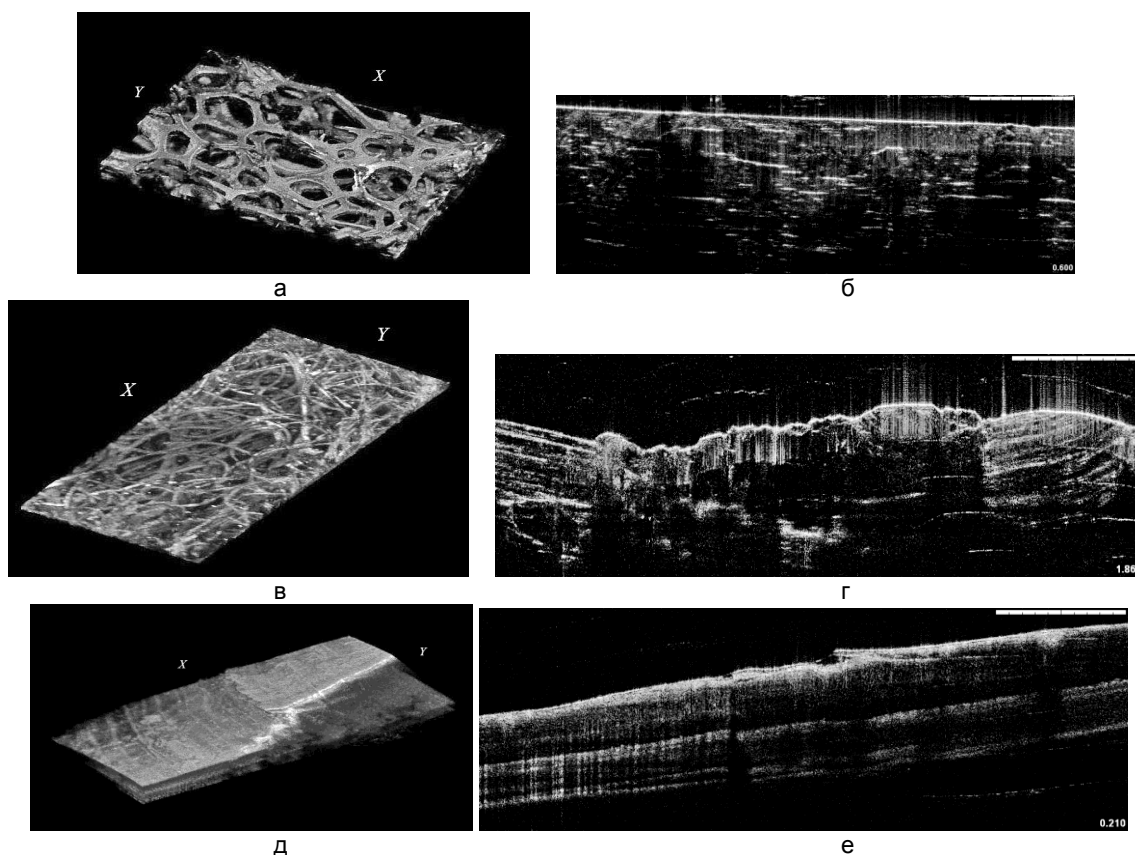


Рис. 3. 3D-изображения и томограммы материалов разного происхождения: 3D-изображение поролона ($x=2,86$ мм; $y=2,01$ мм; $z=0,92$ мм) (а); томограмма (В-скан) поверхности гранита (б); 3D-изображение технической вискозной ткани ($x=3,20$ мм; $y=1,49$ мм; $z=0,10$ мм) (в); томограмма (В-скан) поверхности пирита (г); 3D-изображение раковины речной жемчужницы (*Anodonta cygnea* L.) ($x=4,99$ мм; $y=2,99$ мм; $z=1,07$ мм) (д); томограмма (В-скан) строения раковины моллюска (е). Размер В-сканов – 5×2 мм

Были также выполнены экспериментальные исследования микроструктуры сред искусственного происхождения. На рис. 3, а, приведено 3D-изображение образца поролона, который получают путем вспенивания полиуретана. Материал широко используется в технике и производстве благодаря его мягкости, а также хорошим показателям эластичности. Однако поролон имеет свойство желтеть под действием УФ лучей, а при длительной эксплуатации материал теряет упругость, начинает крошиться и слипаться. Размеры пор влияют на впитывающие и теплоизоляционные свойства материала.

Видно, что структура материала имеет тонкостенную ячеистую структуру, диаметр пор в данном образце изменяется от 100 мкм до 550 мкм. Информация, получаемая методом оптической когерентной микроскопии, позволяет оптимизировать технологические режимы производства материала.

На рис. 3, в, показано изображение трехмерного слоя технического вискозного волокна, смоченного водой. Можно наблюдать эффект отражения излучения на участках волокон, которые хорошо впитывают влагу. Эти участки характеризуются на изображении большей яркостью. Толщина волокон в данном образце составляет около 60 мкм.

Особый интерес представляют исследования природных минералов. Известно, что метод оптической когерентной микроскопии успешно использовался для изучения нефрита [6]. В наших исследованиях были исследованы два минерала: широко распространенный камень – гранит и образец пирита, который образуется в осадочных горных породах черных глинистых сланцев. Карельский гранит имеет зернистую структуру, образец имел розовую окраску с небольшими вкраплениями черного биотита. В состав изучаемого образца гранита, как показали исследования, входит по всей толще в значительной части мусковит, или калиевая слюда, которая характеризуется слоистой структурой. Биотит, важнейший породообразующий минерал, также имеет слоистое строение. Лазерное излучение проникает в образец почти на всю глубину, доступную для наблюдения, что видно из строения минерала на томограмме (рис. 3, г). Образец пирита состоял из мелкозернистых кристаллических агрегатов сульфида железа. Изображение на томограмме в левой части рис. 3, г, указывает на присутствие достаточно большого кристалла кубического строения – сульфида железа с гранью размером около 1000 мкм.

Были выполнены также эксперименты по изучению строения материала раковины речной жемчужницы (моллюска). 3D-изображение показано на рис. 3, д. На внешней стороне раковины просматри-

ваются годовые кольца, а на внутренней стороне, обращенной к телу моллюска – слой перламутра, толщина которого изменяется по сечению раковины и составляет около 350 мкм.

Заключение

В результате выполнения экспериментальных исследований можно сделать выводы о ряде возможных и перспективных применений метода оптической когерентной микроскопии с перестраиваемой длиной волны.

Регистрация томограмм в области 1305 ± 75 нм позволяет визуализировать внутреннюю структуру веществ и тканей, которые принадлежат искусственным материалам и тканям естественного природного происхождения. В каждом конкретном случае результат зависит от оптических свойств веществ, входящих в состав образца, а именно – от коэффициентов поглощения и рассеяния. Учитывая разрешающую способность данного ОКМ, можно визуализировать структурные элементы с размерами более 10 мкм. Имеется возможность исследовать внутреннюю микроструктуру промышленных материалов, оценить взаимное расположение пустот, их размеры и толщину стенок, что видно на примере материала поролона и вискозной технической ткани.

Перспективной представляется задача изучения микроструктуры минералов, как это показано на примере изображений микроструктуры гранита и пирита. Камни природного происхождения применяются при изготовлении предметов монументального искусства, а также в декоративном искусстве, и выявление их внутренней микроструктуры вблизи поверхности очень полезно на этапах оценки их состояния и принятия решения о методах реставрации. Изучение сложных слоистых тканей животного происхождения в ряде случаев затруднено из-за их хрупкости, при этом использование методов оптической когерентной микроскопии обеспечивает неразрушающую диагностику таких материалов.

Таким образом, круг задач, в которых целесообразно использовать метод оптической когерентной микроскопии, достаточно широк. Приведенные выше результаты показывают возможности эффективного применения ОКМ в материаловедении, для изучения предметов искусства, визуализации внутренней микроструктуры материалов различной физической природы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации.

Литература

1. Fercher A.F. Optical coherence tomography – development, principles, applications // *J. Med. Phys.* – 2010. – V. 20. – № 4. – P. 251–276.
2. Гуров И.П. Компьютерная фотоника: принципы, проблемы и перспективы // *Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО.* – 2005. – № 21. – С. 5–20.
3. Adler D.C., Stenger J., Gorczynska I., Lie H., Hensick T., Spronk R., Wolohojian S., Khandeka N., Jiang J.Y., Barry S., Cable A.E., Huber R., Fujimoto J.G. Comparison of three-dimensional optical coherence tomography and high resolution photography for art conservation studies // *Opt. Expr.* – 2007. – V. 15. – № 24. – P. 15972–15985.
4. Zysk A.M., Nguyen F.T., Oldenburg A.L., Marks D.L., Boppart S.A. Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside // *J. Biomed. Opt.* – 2007. – V. 12. – № 5. – P. 051403–1–051403–21.

5. Васильев В.Н., Гуров И.П. Сравнительный анализ методов оптической когерентной томографии // Изв. вузов. Приборостроение. – 2007. – Т. 50. – № 7. – С. 30–40.
6. Chang S., Mao Y., Flueraru C., Chang G. Optical coherence tomography used for jade industry // Proc. of SPIE. – 2010. – V. 7855. – P. 785514–1–785514–9.

Гуров Игорь Петрович

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой, gurov@mail.ifmo.ru

Жукова Екатерина Владимировна

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, кандидат технических наук, доцент, zhukova-ifmo@mail.ru

Маргарянц Никита Борисович

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, старший преподаватель, fosp@grv.ifmo.ru