

纳米 CT 样品漂移在线自动校正研究

程甲一 张祥志 邵仁忠

(中国科学院上海应用物理研究所 张江园区 上海 201204)

摘要 为满足广大用户对样品数十纳米高空间分辨率三维精细结构测量的强烈需求, 基于上海光源软 X 光谱学显微光束线站, 研制了一套满足实验要求的常温纳米 CT 系统。系统中随着转台转动, 样品出现严重漂移问题, 极大地影响了 CT 实验的精度和效率。本文利用系统现有的可见光显微镜(VLM), 记录样品转动过程中的漂移轨迹, 计算出样品的漂移规律, 用软件在线自动校正由角度转动而产生的样品漂移, 实验结果表明样品漂移控制在 1 μm 精度内, 达到了实验要求 5 μm 的精度范围, 保证了纳米 CT 实验能够连续自动进行, 大大提高了纳米 CT 的工作效率。

关键词 纳米 CT, 样品漂移, 自动校正

中图分类号 TL11

上海光源软 X 光谱学显微光束线站采用扫描透射 X 显微技术(STXM)工作模式, 能够实现 30 nm 高空间分辨能力^[1], 自 2009 年 5 月对用户开放以来, 得到了一些优秀的科研成果。但是 STXM 技术只能观测样品厚度方向的二维结构, 无法满足用户对样品三维精细结构的迫切需求, 特别是一些研究很热门的细胞内部结构及其中的微量元素的空间分布, 例如 STXM 技术可观测到人体宫颈癌细胞中 Fe_3O_4 纳米颗粒的二维分布, 但无法确认 Fe_3O_4 是分布在细胞表面还是内部^[2]; STXM 技术可探测癌细胞中铁元素在药物作用前后的空间分布, 得到药物作用可使铁元素在细胞核处聚集, 但无法得到铁元素在细胞核处的三维空间结构^[3]。而计算机断层扫描技术(CT)能在无损条件下探测到样品的三维结构信息。

科学家们将 CT 技术与 STXM 技术结合起来, 在软 X 射线谱学显微实验装置中添加可旋转样品台用来采集三维数据, 发展出了纳米 CT 技术(Nano-CT, Nano-tomography)^[4,5]。纳米 CT 技术结合 X 光显微技术和 CT 技术的优点, 可在几十纳米的空间分辨率上解析微小样品的三维内部结构, 在材料^[6]、大气颗粒物^[7]、半导体工业及生命科学^[8]等领域都有广阔前景。加拿大光源在进行纳米 CT 细胞实验时, 取得了一些优秀结果^[9]。在进行 CT 扫描时, 转动角度时样品往往会产生漂移, 导致样品不在 X 光焦点上。只有重新定位, 才能继续 CT

实验, 这样 CT 扫描的效率降低, 浪费大量宝贵的同步辐射机时和人力。本文发展了一种样品漂移在线自动校正的方法, 能有效地在线自动校正样品的漂移, 大大提高了纳米 CT 的效率和精确度。

1 样品漂移产生原因分析

图 1 为纳米 CT 系统示意图。X 光经波带片聚焦在样品上, 转台每转动一个角度, 探测器记录一幅样品的 X 光吸收衬度图像, 如图 2 所示。在理想情况下, 转台改变角度时 CT 扫描时样品和转台轴心保持在 X 光焦点上, 样品不存在漂移, 如图 3 所示。

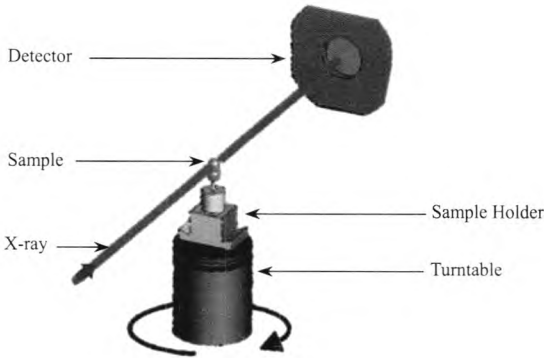


图 1 纳米 CT 系统示意图
Fig.1 Schematic of Nano-CT system.

中国科学院大科学装置开放研究项目“自组装技术与超高密度纳米阵列研究”资助
第一作者: 程甲一, 男, 1987 年出生, 2013 年于中国科学院上海应用物理研究所获硕士学位, 主要研究方向是软 X 光纳米 CT 的硬件搭建和相应 CT 重构软件开发
通讯作者: 邵仁忠, E-mail: tairenzhong@sinap.ac.cn; 张祥志, E-mail: zhangxiangzhi@sinap.ac.cn
收稿日期: 2013-03-11, 修回日期: 2013-04-24

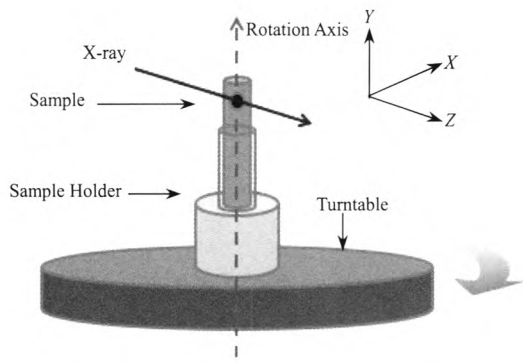


图2 理想情况下样品转动时位置保持在转台转动轴上
Fig.2 Under ideal conditions, sample should stay on the rotation axis of turntable while turntable rotated.

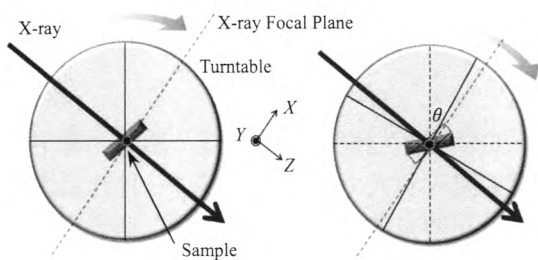


图3 理想情况下, 转台转动任一角度 θ , 样品均无漂移
Fig.3 With the turntable rotated by an angle θ , sample still stay on the focus of X-ray under ideal conditions.

在实际情况下, X 光路是固定不变的, 由于样品架的机械结构和实验台的机械精度的限制, 此时会出现两种情况: (1) 样品不在转台转动轴上, 如图 4(a)所示; (2) 样品倾斜, 可以通过后期图像配准解决^[10], 如图 4(b)所示。这两种情况大部分时间是同时出现的, 造成的整体后果就是样品随转台转动而漂移, 偏离光路焦点, 其漂移轨迹是以转台转动轴为轴心的圆周。进行 CT 扫描时, 实验台转动一个角度, 样品偏离 X 光焦点, 样品出现漂移, 如图 5 所示, 需要重新将样品调整到 X 光焦点上。

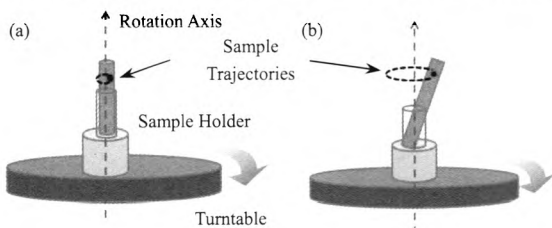


图4 实际情况下产生样品漂移的原因
(a) 样品不在转台转动轴上, (b) 样品倾斜

Fig.4 Causes of sample drift.

(a) sample is not on the rotation axis, (b) sample is tilted with relative to the rotation axis

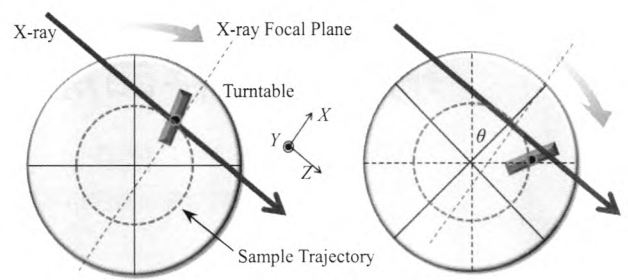


图5 转台改变角度, 样品偏离 X 光焦点, 样品有漂移
Fig.5 Sample drifted with turntable changed an angle.

纳米 CT 实验需要采集几十甚至上千幅图像, 需要转动几十到上千次角度, 每个角度都需要手动平移样品 X 和 Z 坐标, 将样品调整到 X 光焦点上, 这样纳米 CT 实验不但费时费力, 而且手动调整难以保证 CT 扫描图像采集的精度。

如图 6 所示, 样品架固定在转台上, 转台可以任意角度转动, 而实验滑台 (载着转台) 可以沿 X、Y 和 Z 方向移动, 通过控制实验滑台的移动将样品位置平移到光的焦点上, 在此基础上提出样品漂移自校正算法, 以实现样品漂移的在线自动校正, 提高纳米 CT 的精度和效率。

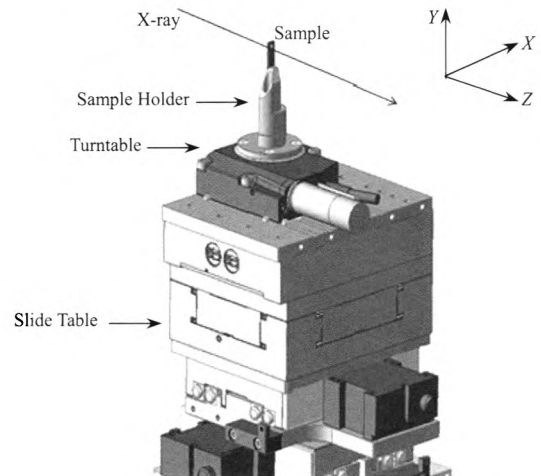


图6 上海光源软 X 光谱学显微实验站样品台机械图
Fig.6 Experiment stage of BL08U beamline at SSRF.

2 用软件实现样品漂移的在线自动校正

2.1 样品及实验方案

实验中样品是用微电极拉制仪制作的毛细管样品容器, 如图 7 所示。选择毛细管进行自校正实验, 因为它本身就是进行纳米 CT 实验时盛放含水样品的容器和载体^[9], 将毛细管两端用硅脂密封, 这样不仅可以保证样品的原始状态, 还可以隔绝墙体内部

的真空。本次实验是研究自校正的实验，毛细管里就没有放置样品，毛细管直径约 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。在转动过程中由于样品漂移的存在，CT 扫描时改变一个角度，需要重新调整样品的位置，使其始终保持在光路的焦点上。实验中采取的方案是：首先通过可见光显微镜记录样品在转动过程中每个角度对应位置所形成的轨迹；据此分析样品相对转台轴心的漂移规律，计算每个角度在 X 和 Z 方向的漂移量；最后通过软件控制电机移动，使样品重新回到光路的焦点上，实现样品的在线自动校正。

2.2 自校正参数计算和位置初始化

纳米 CT 实验开始之前，要测量自校正参数以及样品和转台位置的初始化工作：(1) 借助可见光显微镜(VLM)求出进行自校正的必要参数：样品相对转台轴心的初始位置 R 和正切角度 α ，如图 8(a) 所示；(2) 将转台转轴中心平移到 X 光轴上，同时

调整样品到 X 光焦点上，完成自校正的位置初始化工作。规定顺时针转动，角度为正；“+”代表正方向，“-”代表负方向，详细步骤如下：

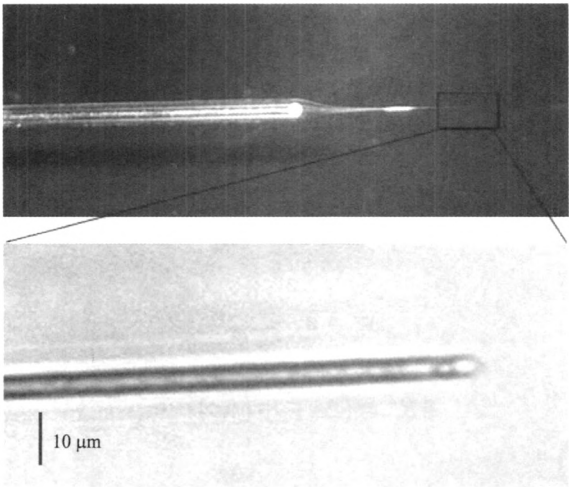


图 7 纳米 CT 实验用毛细管
Fig.7 Glass gapillary of Nano-CT experiment.

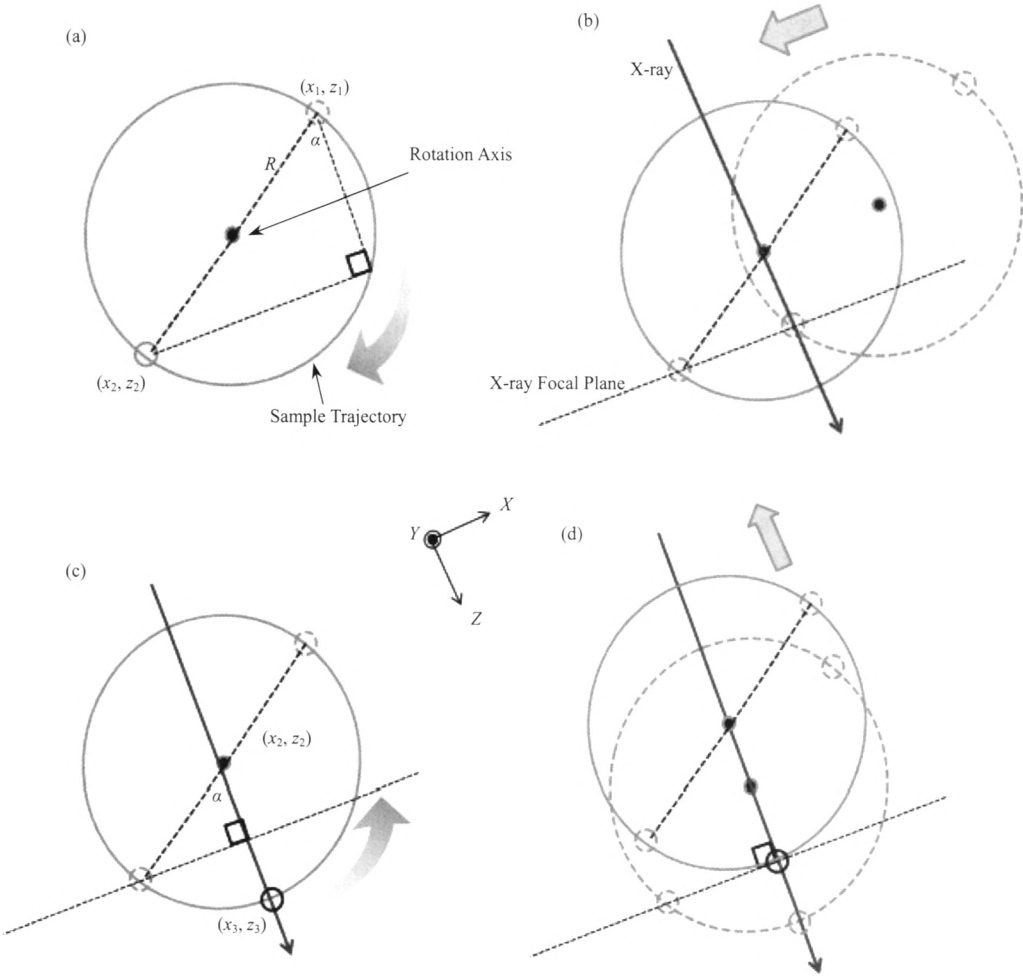


图 8 自校正准备过程图示
Fig.8 Preparation for automatic calibration.

(1) 实验开始时, 将样品平移到光路的焦点上, 此时样品在 VLM 视场中心, 记录样品位置信息(x_1 , z_1), 然后将样品转动 180° , 样品出现较大的漂移, 通过调整实验滑台 (X 和 Z 方向), 再次将样品移动到光路的焦点上, 因为 X 光始终通过 VLM 视场中心, 所以此时样品重新回到 VLM 视场中心, 记录下样品位置信息(x_2 , z_2), 如图 8(a)所示。由简单几何关系:

$$\Delta x = x_2 - x_1 \tag{1}$$

$$\Delta z = z_2 - z_1 \tag{2}$$

$$4R^2 = (\Delta x)^2 + (\Delta z)^2 \tag{3}$$

$$\alpha = \arctan\left(\frac{\Delta x}{\Delta z}\right) \tag{4}$$

求解出 R 和 α 。

(2) 将转台沿 X 方向移动 $-\Delta x/2$, 此时转台轴心在 X 光轴上, 如图 8(b)所示。

(3) 再将转台转动 α 角度, 样品位置为(x_3 , z_3), 如图 8(c)所示, 此时样品在 X 光上, 但未在 X 光焦点上。

(4) 最后将实验滑台沿 Z 方向移动 $R(1-\cos\alpha)$ 距离, 此时样品正好在 X 光的焦点上, 如图 8(d)所示, 自校正位置初始化完成, 可以开始实验。自校正初始化实验具体数据见表 1。

表 1 自校正准备过程相关实验数据
Table 1 Data about the preparation of automatic calibration.

参数 Parameters	值 Value
$x_1 / \mu\text{m}$	-618.20
$z_1 / \mu\text{m}$	3 857.10
$x_2 / \mu\text{m}$	-1 178.80
$z_2 / \mu\text{m}$	4 297.15
$\Delta x / \mu\text{m}$	-560.60
$\Delta z / \mu\text{m}$	440.05
$R / \mu\text{m}$	356.34
$-\Delta x/2 / \mu\text{m}$	280.30
α / rad	-0.905 3
$R(1-\cos\alpha) / \mu\text{m}$	136.32

2.3 自校正过程

自校正位置初始化完成后, 转台轴心正好在 X 光上且样品也在 X 光焦点上, 如图 8(d)所示, 可以开始自校正工作。当纳米 CT 扫描时, 转台转动一个角度 θ , 由于漂移, 样品不在 X 光焦点上, 如图 9 所示, 要继续进行 CT 扫描, 需要使样品调整到 X 光焦点上, 需要调整的位移为:

X 方向: $X = -R\sin\theta$
 Z 方向: $Z = R(\cos\theta - 1)$
式中, 正负表示方向。

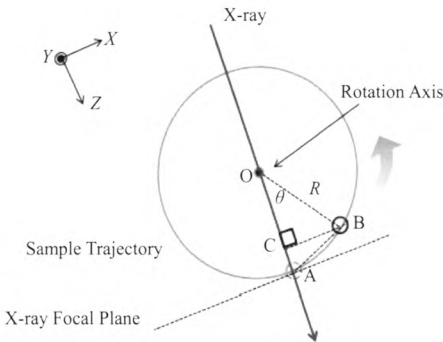


图 9 自校正漂移量计算示意图
Fig.9 Calculation of automatic calibration offset.

每次自校正过程如下: 未转动之前, 样品角度为 0° , 进行一次 CT 采样, 记录此时样品位置坐标, 此坐标为自校正初始坐标, 如图 10(a)所示。(1) 转台转动一个角度 θ , 出现样品漂移, 如图 10(b)所示。(2) 将实验滑台沿 Z 方向移动 Z 距离, 此时样品处在 X 光焦平面, 如图 10(c)所示, 但样品未在 X 光焦点上。(3) 然后将滑台沿 X 方向移动 X 距离, 样品重新回到 X 光焦点上, 且相对自身保持转动角度 θ , 如图 10(d)所示, 此时进行一次 CT 采样。(4) 采样完成后, 进行坐标复位, 回到自校正初始坐标, 如图 10(a)所示。每次自校正后需要进行坐标复位, 这样能够避免由于机械精度限制而导致的误差, 提高自校正精度。自校正过程相关实验数据如表 2。

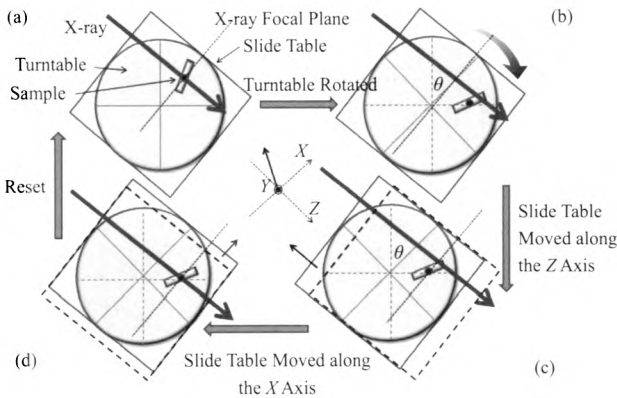


图 10 每转一个角度, 自校正过程
Fig.10 Automatic calibration process of one angle changing.

表 2 自校正过程相关数据
Table 2 Data of automatic calibration process.

$\theta / (^{\circ})$	$Z = R(\cos\theta - 1) / \mu\text{m}$	$X = -R\sin\theta / \mu\text{m}$
0	0	0
10	-5.41	-61.88
-10	-5.41	61.88
20	-21.49	-121.88
-20	-21.49	121.88
30	-47.74	-178.17
-30	-47.74	178.17
40	-83.37	-229.05
-40	-83.37	229.05
50	-127.29	-272.97
-50	-127.29	272.97
60	-178.17	-308.60
-60	-178.17	308.60
70	-234.47	-334.85
-70	-234.47	334.85
80	-294.46	-350.93
-80	-294.46	350.93
90	-356.34	-356.34
-90	-356.34	356.34

2.4 实验结果及分析

现有纳米 CT 实验扫描范围大概十几微米，样品漂移要求控制在 5 μm 以内。图 11 为未校正情况下，CT 扫描时在 VLM 观察下的一组样品漂移图。图中所示为毛细管，直径约为 5 μm，左上角数字对应转台转动的角度。可以明显看出，在未校正情况下，随转台转动，样品漂移的轨迹为一圆周，漂移十分严重。随着角度变化，50°之后样品甚至漂移出 VLM 视场范围(~600 μm)，这么大的样品漂移根本无法满足纳米 CT 实验的精度要求，CT 实验无法继续下去。

图 12 为通过在线自校正后，对应角度下的实验结果图。通过对比可以看出，样品漂移已基本被消除，样品漂移控制在约 1 μm 范围内，极大地减少了样品漂移，达到了实验要求的精度范围。

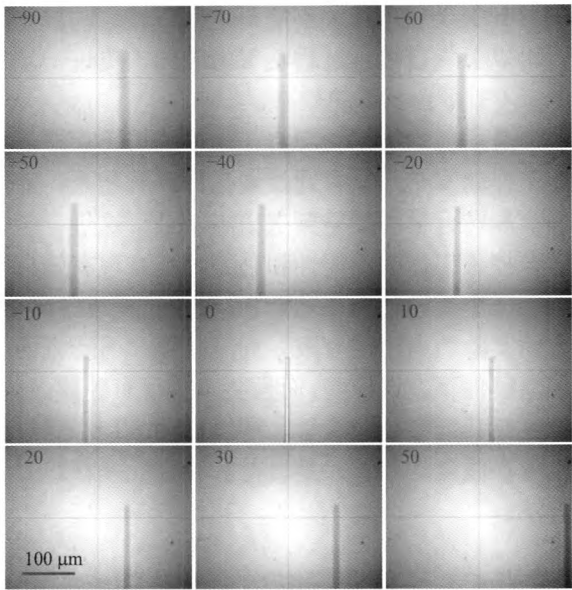


图 11 未进行在线自校正，CT 扫描时 VLM 观察下样品位置随角度变化图

Fig.11 VLM images of the CT scanning process without automatic calibration.

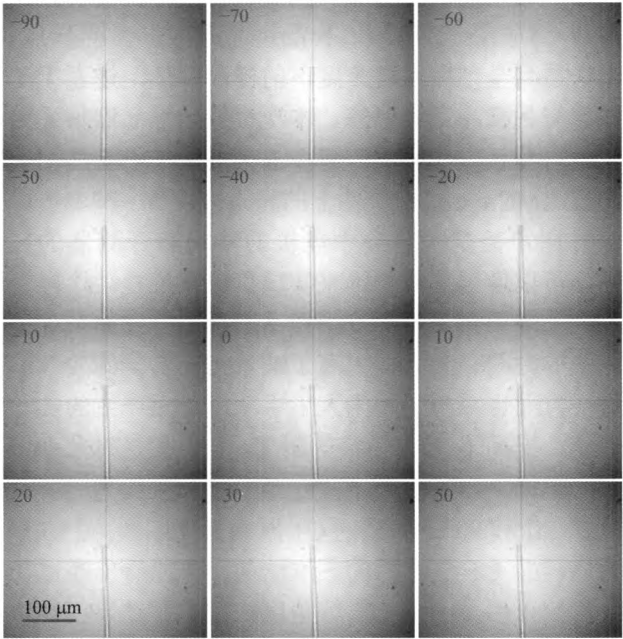


图 12 采用在线自校正算法进行自动校正后的实验结果图
Fig.12 Results after automatic calibration in the CT scanning process.

3 用硬件对样品漂移进行校正

现有的硬件是样品架搭载在转台上，转台可以任意角度转动，而实验滑台（载着转台）可以沿 X、Y 和 Z 方向移动，样品（架）无法在转台上二维平动，这样容易导致样品不在转台转轴上，出现如图 4(a)所示的样品漂移。为了解决这个问题，可以在转台上面再加一个新二维平动滑台，借助 VLM 计算出样品和转台轴心的相对位置，利用二维滑台将

样品平移到转台轴心位置, 然后通过实验滑台将二者平移到 X 光焦点上, 不需要进行在线自动校正过程, 可以节省自校正过程花费的时间, 更进一步提高纳米 CT 平台工作的效率。

但是增加二维平动滑台, 硬件的校正仍然需要现在工作的支持, 只有通过现在计算的结果, 才能使样品和转台轴心调整到 X 光焦点上, 这进一步表明了自校正工作的重要性和必要性。在现有转台上添加一个新的二维平动滑台, 目前存在以下困难: 一方面实验腔内空间有限、高度有限; 另一方面, 添加新硬件不仅造价高, 而且要改变现有腔体结构, 影响线站其他实验的进行, 所以借助 VLM 通过软件实现在线自动校正, 是目前解决样品偏移最适合的方法。

4 纳米 CT 等角度扫描实验方法初步探究

将铈化镉量子点样品(直径约 100 nm)浸透在油液中, 封装到毛细管(直径约 4 μm)中, 进行纳米 CT 等角度扫描实验。实验若不进行任何校正, 随着 CT 扫描角度转动, 样品逐渐漂移出 X 光焦点, 无法得到全部所需要角度下的样品图像, 进而无法重建得到样品三维形貌。本次实验中样品漂移采用在线自校正方法解决, 即在 BL08U STXM 线站上通过 XMController 软件上的脚本来实现。脚本接口允许用户控制实验台中电机的移动和探测器的扫描, 可以通过编写脚本来实现自校正过程。这样一来, 不需要人工手动校正样品漂移, 一方面节省了大量的时间和人力, 提高了纳米 CT 实验的效率; 另一方面也减少了因为人工手动校正而产生的实验误差, 提高了 CT 扫描的精度。CT 扫描时从 -90° 到 90° 每隔 3° 扫一幅图像, 图 13(a)依次为 -57° 、 -12° 、 30° 和 90° 下采到的 CT 原始数据图像; 图 13(b)为该样品 CT 重建后的三维结构。可以看出经过在线自校正后, 纳米 CT 等角度扫描实验结果已经达到几百纳米数量级的分辨率。

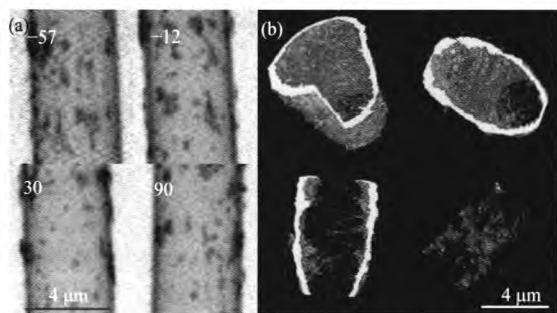


图 13 纳米 CT 实验原始 X 光吸收衬度图像(a)和重建后的三维结构图(b)

Fig.13 Some absorption contrast images of CT scanning (a) and its 3-D reconstruction structure (b).

5 结语

本文从软件角度上深度探讨了在纳米 CT 系统中, 样品在转动角度过程中产生的位置漂移在线自动校正问题, 同时根据系统现有条件从硬件角度给出了改进方案。首次创新性地借助系统自带的可见光显微镜(VLM)记录样品漂移轨迹, 分析得出样品在转动过程中的漂移规律, 提出在线自校正算法, 计算出样品在每个角度的偏移量, 从而对样品漂移进行在线精确自动校正。在 BL08U STXM 线站上自校正实验结果表明, 通过在线自校正后, 样品漂移控制在约 1 μm 范围内; 纳米 CT 等角度扫描实验结果表明在线自校正切实可行, 节约了大量实验时间和人力, 减少了由于人工手动校正而产生的实验误差, 有效地提高了纳米 CT 实验的效率和精度。

参考文献

- 1 Xue C, Wang Y, Guo Z, *et al.* High-performance soft x-ray spectromicroscopy beamline at SSRF[J]. Review of Scientific Instruments, 2010, **81**: 103502
- 2 Zhang X Z, Xu Z J, Tai R Z, *et al.* Ratio-contrast imaging of dual-energy absorption for element mapping with a scanning transmission X-ray microscope[J]. Journal of Synchrotron Radiation, 2010, **17**: 804–809
- 3 Ba Q, Hao M, Huang H, *et al.* Iron deprivation suppresses hepatocellular carcinoma growth in experimental studies[J]. Clinical Cancer Research, 2011, **17**: 7625–7633
- 4 Dierick M, Van Hoorebeke L, Jacobs P, *et al.* The use of 2D pixel detectors in micro- and nano-CT applications[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2008, **591**: 255–259
- 5 Wang Y, Jacobsen C, Maser J, *et al.* Soft X-ray microscopy with a cryo scanning transmission X-ray microscope: II. Tomography[J]. Journal of Microscopy, 2000, **197**: 80–93
- 6 Maire E. X-ray tomography applied to the characterization of highly porous materials[J]. Annual Review of Materials Research, 2012, **42**: 163–178
- 7 Yang C J, Guo Z, Zhang X Z, *et al.* Study of automobile exhaust particles by spectromicroscopy[J]. Nuclear Science and Techniques, 2010, **21**: 261–265
- 8 Le Gros M A, McDermott G, Larabell C A. X-ray tomography of whole cells[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2005, **15**: 593–600
- 9 Johansson G A, Tyliczszak T, Mitchell G E, *et al.*

- Three-dimensional chemical mapping by scanning transmission X-ray spectromicroscopy[J]. *Journal of Synchrotron Radiation*, 2007, **14**: 395–402
- 10 张祥志, 许子健, 甄香君, 等. 软 X 射线谱学显微图像漂移的精确校正[J]. *核技术*, 2010, **33**(9): 657–662
- ZHANG Xiangzhi, XU Zijian, ZHEN Xiangjun, *et al.* Accurate drift calibration of soft X-ray microspectroscopy images at SSRF[J]. *Nuclear Techniques*, 2010, **33**(9): 657–662

Study of online automatic calibrations of Nano-CT sample drift at SSRF

CHENG Jiayi ZHANG Xiangzhi TAI Renzhong

(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Zhangjiang Campus, Shanghai 201204, China)

Abstract Background: In order to satisfy the researchers' strong requirement for a three-dimensional fine structure of the sample with high spatial resolution, the Nano-CT system based on the BL08U soft X-ray microspectroscopy station of Shanghai Synchrotron Radiation Facility (SSRF) has been developed, but sample drifted seriously while CT scanning. **Purpose:** The sample drift greatly reduces the accuracy and efficiency of CT experiment, so that an accurate online automatic calibration is necessary. **Methods:** Sample drift trajectory can be recorded in the rotation process by visible light microscope (VLM), and then the shift data of every angle can be obtained which can be used in calibration online. **Results:** The sample drift had been calibrated and limited below 1 μm after the calibration algorithm, which meet the accuracy requirement of the CT experiments. **Conclusions:** Automatic calibration greatly improves the efficiency and accuracy of Nano-CT experiment.

Key words Nano-CT, Sample drift, Automatic calibration

CLC TL11