

РЕНТГЕНОВСКАЯ МИКРОСКОПИЯ В ОБЛАСТИ «УГЛЕРОДНОГО ОКНА» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МНОГОСЛОЙНОЙ ОПТИКИ И ЛАЗЕРНО-ПЛАЗМЕННОГО ИСТОЧНИКА

И. А. Артюков^{a*}, *А. В. Виноградов*^a, *Е. А. Бугаев*^b, *А. Ю. Девизенко*^b,
В. В. Кондратенко^b, ***Ю. С. Касьянов***^c

^a *Физический институт им. П. Н. Лебедева Российской академии наук
119991, Москва, Россия*

^b *Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»
61002, Харьков, Украина*

^c *Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук
119991, Москва, Россия*

Поступила в редакцию 20 апреля 2009 г.

Представлены результаты изготовления и тестирования многослойных зеркал для рентгенооптических систем, работающих в диапазоне «углеродного окна» (длины волн от 4.5 до 5 нм), а также результаты их применения в экспериментах по получению рентгеновских изображений внутренней структуры органических объектов. Разработанные подходы изготовления и контроля многослойных градиентных покрытий Co/C позволили создать рентгеновскую многозеркальную систему с рекордными на данный момент пропусканием и светосилой. Использование созданной рентгеновской оптики высокого пространственного разрешения позволит значительно расширить область практического применения абсорбционной микроскопии мягкого рентгеновского диапазона на основе компактных лазерно-плазменных источников.

PACS: 07.85.Tt, 81.15.Cd, 87.59.-e

1. ВВЕДЕНИЕ

Микроскопия в мягком рентгеновском (МР) диапазоне как метод исследования биологических объектов активно развивается в течение последних 20 лет. Начиная с пионерских работ немецких ученых Рудольфа и Шмаля [1–3], в которых было предложено использовать МР-излучение в спектральном диапазоне «водяного окна» ($2.3 \text{ нм} < \lambda < 4.4 \text{ нм}$), в мире были проведены десятки экспериментов и опубликованы сотни статей на эту тему.

Развитие рентгеновской микроскопии «водяного окна» происходило на фоне быстрого прогресса новых и традиционных методов микроскопии вы-

сокого пространственного разрешения, таких как конфокальная микроскопия [4–7], низковакуумная электронная микроскопия [8, 9], флуоресцентная микроскопия [10, 11]. Оптические и электронные микроскопы следующего поколения стали успешно применяться для решения многих новых научно-исследовательских задач.

В таких условиях дальнейшее развитие микроскопии в МР-диапазоне (МР-микроскопии) было направлено на улучшение практической привлекательности этого метода исследования, расширение его возможностей и приложений. Например, появились NEXAFS-спектромикроскопия [12, 13], внутриклеточная томография [14], компактная рентгеновская микроскопия на основе рентгеновских лазеров и других лабораторных (несинхротронных) источников [15–19] и т. п.

*E-mail: iart@sci.lebedev.ru

Существенно расширить область применения методов МР-микроскопии может и появление эффективных и недорогих микроскопов, работающих в спектральной области так называемого «углеродного окна», на длинах волн максимальной прозрачности углерода, $4.5 \text{ нм} < \lambda < 5 \text{ нм}$ [20, 22].

В этом диапазоне существует уникальная для МР-излучения возможность исследовать на просвет толстые слои органических и других углеродосодержащих материалов, используя при этом стандартные гистологические средства приготовления образцов [20, 21]. Контраст получаемых в «углеродном окне» изображений в значительной степени определяется различием в химическом составе элементов микроструктуры и легко выявляет ткани, отличающиеся, например, количеством атомов фосфора, серы, кислорода, азота и т. д. При этом сам углерод, являясь элементом, прозрачным для МР-излучения, может служить в качестве «матрицы», включающей в себя исследуемые структуры. Высокой прозрачностью в спектральном диапазоне «углеродного окна» обладают широко распространенные в гистологии органические соединения, такие как параформ, формальдегид и т. п., которые используются для фиксации и сохранения материала [20]. Таким образом, можно полностью отказаться от сложных и дорогостоящих криогенных методов фиксации образцов, обычно используемых в МР-микроскопии.

По сравнению с просвечивающей электронной микроскопией и МР-микроскопией в области «водяного окна», в диапазоне «углеродного окна» поглощенная доза излучения и, следовательно, степень повреждения образцов существенно меньше из-за относительно высокой прозрачности органических структур. Высокая прозрачность позволяет использовать методы абсорбционной микроскопии при исследовании углеродосодержащих структур толщиной в десятки микрон и более с высоким пространственным разрешением и большой глубиной резкости. Относительно легко получать трехмерные изображения в «углеродном окне» [22].

Как было отмечено в работе [2], относительно высокая прозрачность воздуха на длине волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$ ослабляет требования к рабочему вакууму и, следовательно, делает проведение эксперимента проще и быстрее.

Очевидно, что задача создания эффективного нового метода в МР-микроскопии может быть решена только в результате совместной работы специалистов разных областей знания с целью разработки компактного и недорогого прибора, позволяющего получать эксклюзивную и полезную информацию об

объекте исследований. В настоящей статье представлены первые результаты по созданию лабораторного рентгеновского микроскопа для получения изображений высокого пространственного разрешения в диапазоне «углеродного окна».

2. ОБЪЕКТИВ ШВАРЦШИЛЬДА

В качестве оптической системы, обеспечивающей высокое пространственное разрешение в МР-диапазоне, в различных экспериментах, в том числе и по микроскопии, хорошо зарекомендовала себя двухзеркальная схема объектива Шварцшильда с многослойным отражающим покрытием [20, 23–27]. Являясь простейшей оптической системой с использованием двух концентрических сферических многослойных зеркал (см. рис. 1), объектив Шварцшильда позволяет получать увеличенные изображения объектов с пространственным разрешением лучше 100 нм в поле зрения в сотни микрон. Однако создание светосильного объектива Шварцшильда, работающего в коротковолновой части МР-диапазона ($\lambda < 6 \text{ нм}$), является сложной научно-технической задачей и требует решения целого ряда специальных вопросов при изготовлении многослойных покрытий зеркал.

Прежде всего, достижение высокого пикового коэффициента отражения при нормальном падении возможно только при напылении короткопериодной ($d \approx \lambda/2$) с толщиной слоев около 1 нм многослойной структуры с совершенными границами раздела слоев, высокой однородностью пленок и малой шероховатостью поверхностей и границ раздела. Наличие межслоевой шероховатости или диффузионного слоя размером всего 0.3–0.5 нм снижает величину отражения зеркала уже в 5–6 раз по сравнению с идеальным случаем.

Кроме того, короткопериодные многослойные зеркала имеют чрезвычайно малую спектральную ширину полосы отражения. На длине волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$ эта ширина обычно составляет десятые

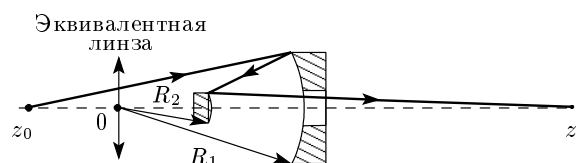


Рис. 1. Концентрический объектив Шварцшильда. В параксиальном приближении эта зеркальная оптическая система эквивалентна тонкой линзе, помещенной в центре кривизны зеркал 0

доли ангстрема, что приводит к чрезвычайно высокой селективности короткопериодных зеркал по спектру и углу падения. Многослойное отражающее покрытие зеркал, предназначенных для объектива Шварцшильда, должно изготавливаться с учетом как переменного угла падения лучей, так и связи между углами падения при последовательном отражении от зеркал объектива.

Таким образом, многослойные отражающие покрытия объектива Шварцшильда для «углеродного окна» должны быть изготовлены из слоев высокого качества с изменяемым по определенному закону периодом по поверхности зеркал с кривизной разного знака.

Ранее предпринимался ряд попыток создать объектив Шварцшильда для рабочих длин волн короче 7 нм, в основном для спектрального диапазона «водяного окна» [28–32]. Однако низкий коэффициент отражения градиентных зеркал ($R < 3\%$) и малая светосила объектива не позволили говорить о каких-либо практических применениях созданных систем в МР-микроскопии. Отметим также низкую практическую эффективность использования объективов Шварцшильда для получения изображений биологических объектов в диапазоне «водяного окна». Для достижения максимального контраста между водой и углеродом необходима рентгеновская оптика, работающая вблизи края поглощения кислорода ($\lambda \approx 2.3$ нм), т. е. там, где эффективность многослойной отражающей оптики нормального падения чрезвычайно мала и существенно ниже эффективности зонных пластинок [16, 33].

3. КОРОТКОПЕРИОДНЫЕ МНОГОСЛОЙНЫЕ СТРУКТУРЫ КОБАЛЬТ–УГЛЕРОД

Известно, что для создания многослойных отражающих покрытий, работающих в спектральном диапазоне «углеродного окна», можно использовать следующие пары материалов: Cr/C [34], NiCr/C [29], Co/C [35]. К моменту начала нашей работы максимально достигнутые значения пикового коэффициента отражения на длине волны $\lambda = 4.5$ нм при нормальном падении составляли приблизительно 12% для зеркал Cr/C [34] и 10% для зеркал Co/C [35].

В данной работе рентгеновские зеркала изготавливались на основе пары Co/C, которая, как показывают расчеты (см. рис. 2), обеспечивает большую спектральную ширину зеркала, что важно при создании многозеркальных систем. Например, при

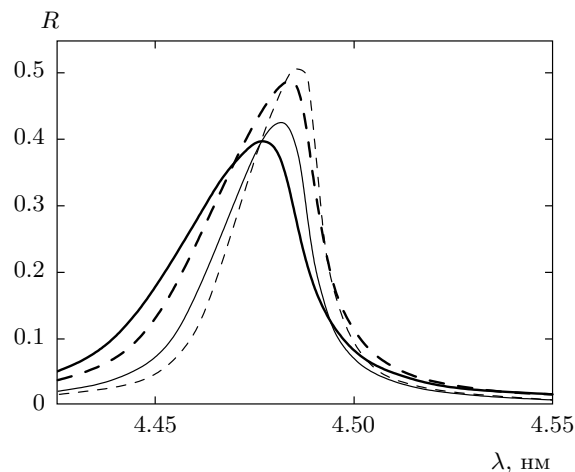


Рис. 2. Расчетные кривые отражения в области «углеродного окна» для рентгеновских зеркал Co/C (жирные линии) и Cr/C (тонкие линии) при соотношении толщин слоев $\Gamma = 0.5$ (сплошные линии), 0.4 (штриховые)

оптимальном значении отношения толщин слоев $\Gamma = d_{metal}/d = 0.4$ интегральный коэффициент отражения у системы Co/C заметно выше по сравнению с покрытием типа Cr/C и составляет соответственно 0.019 нм и 0.015 нм.

Второе немаловажное обстоятельство, которое принималось во внимание при выборе материала для короткопериодных зеркал, — наличие взаимодействия и растворимости материалов слоев друг в друге. С этой точки зрения система кобальт–углерод выглядит предпочтительней, поскольку в отличие от пары Cr/C в ней могут образовываться только метастабильные карбиды (Co_2C и Co_3C), причем растворимость углерода в кобальте при комнатной температуре обычно не превышает 0.1 вес.%. В этом случае можно предположить более резкие границы раздела слоев и, соответственно, более высокую отражательную способность всей многослойной структуры.

Для изготовления многослойных зеркал Co/C методом магнетронного распыления на постоянном токе кобальтовый катод был модернизирован, чтобы добиться эффективного распыления ферромагнитной мишени. Стабилизированный источник питания ($\pm 0.05\%$) позволял обеспечить плотность ионного тока на мишени в широких пределах от 0.02 до 0.4 А/см². Для формирования сплошной плотной кобальтовой пленки использовалась максимальная плотность тока на мишени кобальта [36], в то время как на мишени углерода плотность тока устанавли-

валась минимальной для замедления формирования метастабильных карбидов, что особенно важно при синтезе короткопериодных рентгеновских зеркал.

Для напыления многослойных структур в качестве плоских подложек использовались полированные пластины кремния со среднеквадратичной шероховатостью $\sigma \approx 0.15$ нм (измерение методом АСМ). Сферические зеркала изготавливались на аттестованных сверхгладких подложках средней точности формы (ошибка формы меньше 600 нм) со среднеквадратичной шероховатостью $\sigma = 0.18\text{--}0.22$ нм (измерена оптическим интерферометром ZYGO NewView). Начальное давление в камере не превышало 10^{-4} Па, распыление проводилось в аргоне при давлении 0.17 Па. Температура подложки не превышала 50°C и в ходе нанесения покрытия не контролировалась.

Структура слоев и межслоевых границ многослойной структуры исследовалась методами малоугловой дифракции рентгеновских лучей (длина волны $\lambda = 0.154$ нм и $\lambda = 0.166$ нм), просвечивающей электронной микроскопии поперечных срезов, атомно-силовой микроскопии и рентгеноструктурного анализа. Вблизи рабочей длины волны ($\lambda \approx 4.5$ нм) отражательные характеристики рентгеновских зеркал измерялись на синхротронных источниках BESSY (ФРГ) и ALS (США).

На рис. 3 приведен пример электронно-микроскопического изображения поперечного среза многослойной структуры Co/C с периодом $d = 2.4$ нм, состоящего из сплошных аморфных слоев кобальта и углерода (отсутствие кристаллических фаз подтверждается также исследованиями методом электронной микродифракции и рентгеноструктурным анализом). На рис. 3 видно, что экспериментально наблюдаемое соотношение толщины слоев Co и C составляет 4:1. Это соотношение существенно отличается от ожидаемого 2:3, которое определяется исходя из скорости осаждения компонентов и времени экспозиции подложки над соответствующей мишенью. Кроме того, на рис. 3 хорошо заметно не кратное двум увеличение толщины углеродного слоя при пропущенном при нанесении покрытия слое кобальта.

Отмеченные эффекты связаны с особенностями формирования структур Co/C, а именно: увеличением толщины металлического слоя, уменьшением суммарной толщины многослойной структуры и уменьшением плотности металлического слоя [37, 38]. Проведенные исследования свойств структуры при различных толщинах слоев кобальта и углерода позволяют заключить, что в многослойной композиции

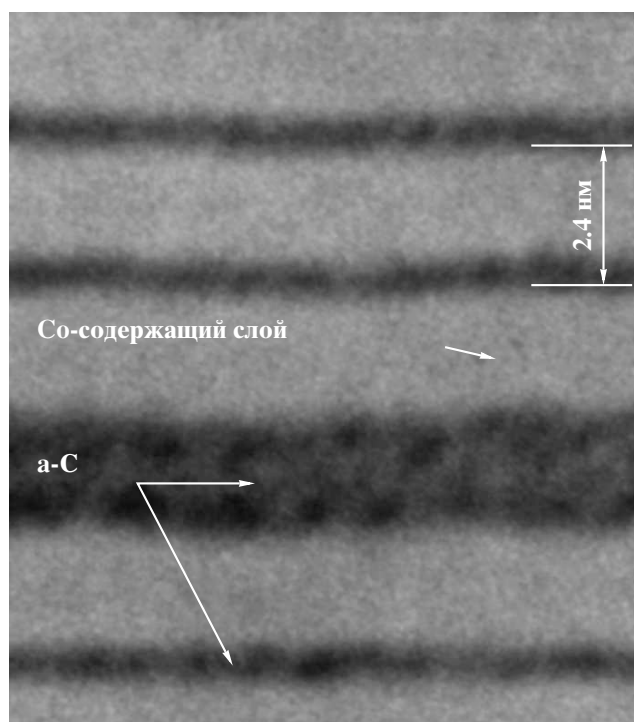


Рис. 3. Электронно-микроскопическое изображение поперечного среза многослойной структуры Co/C с периодом 2.4 нм с пропущенным слоем кобальта

действительно присутствует метастабильный карбид, по составу близкий к Co_2C и имеющий плотность $\rho \approx 6.2$ г/см³, который формируется в процессе осаждения покрытия. Таким образом, реальная структура короткопериодного покрытия представляет собой многослойную композицию карбида кобальта $\text{Co}_2\text{C}/\text{C}$, что необходимо учитывать при изготовлении многослойных структур.

Расчет отражательной способности многослойных зеркал $\text{Co}_2\text{C}/\text{C}$ и Co/C показан на рис. 4. Видно, что указанное межслоевое взаимодействие существенно снижает интегральную отражательную способность R_{int} и в меньшей степени — пиковый коэффициент отражения, а также приводит к сужению и сдвигу полосы пропускания зеркала в длинноволновую область.

Межслоевое взаимодействие в многослойных структурах металл/углерод с образованием карбидов наблюдалось и в других системах. Например, слои аморфного карбида хрома образовывались при изготовлении структуры Cr/C [39]. Отметим также, что по величине интегральной отражающей способности многослойное зеркало $\text{Cr}_3\text{C}_2/\text{C}$ уступает «карбидному» зеркалу $\text{Co}_2\text{C}/\text{C}$ в спектральной области «углеродного окна».

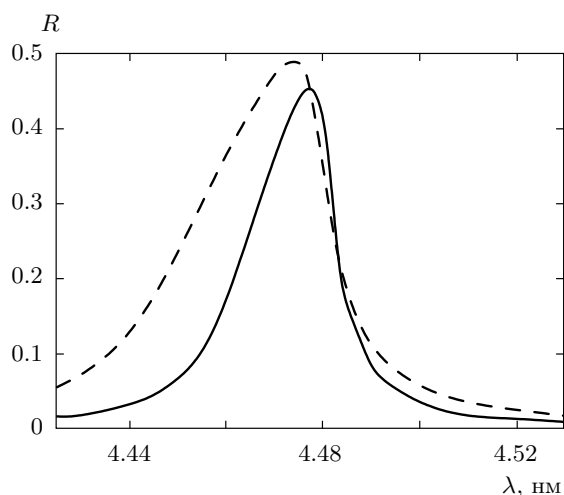


Рис. 4. Расчетные кривые отражения в области «углеродного окна» для многослойных рентгеновских зеркал $\text{Co}_2\text{C}/\text{C}$ (сплошная линия), Co/C (штриховая) при $d = 2.245$ нм, $\Gamma = 0.4$

Отмеченное выше взаимодействие между кобальтом и углеродом и увеличение средней плотности многослойной структуры учитывались нами при изготовлении многослойных структур (мы продолжим называть их Co/C): для достижения требуемых значений периода, $d = 2.25\text{--}2.3$ нм, и соотношения толщин слоев 1:1 ($\Gamma = 0.5$) на подложку попеременно осаждалось приблизительно 0.7 нм кобальта и 1.8 нм углерода.

В табл. 1 представлены характеристики некоторых изготовленных многослойных структур типа Co/C , предназначенных для отражения рентгеновского излучения в диапазоне «углеродного окна» при угле падения около 5° . Спектральные кривые отражения на рабочей длине волны вблизи $\lambda \approx 4.5$ нм измерялись на синхротронном источнике BESSY (г. Берлин, ФРГ) [35, 40].

Шероховатость поверхности слоев измерялась методом атомно-силовой микроскопии на площадке размером 0.25×1 мкм² [40]. Из табл. 1 видно, что шероховатость верхнего слоя зеркала не зависит от толщины покрытия и примерно соответствует шероховатости подложки. Подгонка расчетных кривых малоугловой дифракции рентгеновских лучей и кривых отражения в мягкой области рентгеновского спектра дает наилучшее совпадение с экспериментальными кривыми при шероховатости слоев 0.3–0.37 нм, при этом основной вклад в шероховатость границ вносит диффузионная составляющая. Кроме того, отжиг зеркала Co/C при

240°C приводит к увеличению периода структуры на 2 % при росте зеркального коэффициента отражения на 3.5 %. Отмеченное явление роста периода металл-углеродных композиций [41, 42] при средних температурах отжига без потери отражательной способности зеркала можно использовать для точной «настройки» спектрально-угловых характеристик многослойных зеркал.

Измерения кривых отражения зеркал в мягком рентгеновском диапазоне показали, что ширина полос отражения зеркал $\Delta\lambda$ соответствует количеству осажденных периодов N ($\Delta\lambda/\lambda = 1/N$). Это указывает на малую величину изменения толщины слоев ($\Delta d < 0.005$ нм) в процессе изготовления многослойной структуры, что в сочетании с низкой шероховатостью границ вследствие аморфной структуры слоев позволяет получить достаточно высокий (до 15 %) пиковый коэффициент отражения на рабочей длине волны. Ее отличие от теоретически возможной отражательной способности $R \approx 45\%$ связано, по-видимому, с нерезкой границей раздела карбида кобальта и углерода. Отметим также, что, как показали наши исследования, при отжиге происходит увеличение плотности слоев, содержащих металл, уменьшение плотности углеродных слоев и снижение шероховатости за счет формирования более резких границ раздела.

4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СФЕРИЧЕСКИХ МНОГОСЛОЙНЫХ ЗЕРКАЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ НА ДЛИНЕ ВОЛНЫ $\lambda = 4.5$ нм

В работе [20] было предложено использовать спектральный диапазон «углеродного окна», в котором углеродосодержащие материалы являются прозрачными для МР-излучения, в просвечивающей (абсорбционной) микроскопии биологических и других объектов. Разработанные в ходе данной работы многослойные рентгеновские зеркала с коэффициентом отражения R , большим 10 % на длине волны $\lambda = 4.5$ нм [40], дали возможность начать эксперименты по получению рентгеновских изображений в «углеродном окне».

На первом этапе были изготовлены несколько сферических зеркал нормального падения с однородным многослойным покрытием Co/C в пределах небольшой (около 1 см) рабочей апертуры с радиусом кривизны $r = 100$ мм. Период покрытия составлял $d = 2.28\text{--}2.29$ нм, число периодов $N = 150$ и $N = 200$.

Таблица 1. Измеренные характеристики плоских рентгеновских многослойных зеркал Co/C

Номер образца	1	2	3	4	5 (отжиг)
Число пар слоев	80	100	150	200	200
Период многослойной структуры, нм	2.32	2.28	2.28	2.25	2.29
Среднеквадратичная шероховатость верхнего слоя углерода, нм (АСМ, площадь измерения $0.25 \times 1 \text{ мкм}^2$)	0.142	0.135	0.137	0.154	0.146
Пиковый коэффициент отражения, %	8.1	9.7	13	14.3	14.8
Длина волны максимального отражения, нм	4.606	4.522	4.535	4.466	4.555

Примечание. Образец № 5 получен в результате отжига образца № 4.

Эксперименты по получению рентгеновских изображений на длине волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$ проводились на лазерной установке ФЕНИКС, описанной в работе [43]: лазер на Nd-стекле позволял получать импульсы с энергией до 30 Дж (во второй гармонике, $\lambda = 0.53 \text{ мкм}$), длительностью импульса 1–2 нс при диаметре пятна фокусировки 30–80 мкм (размер лазерно-плазменного источника на длине волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$ не измерялся).

Достаточно высокая эффективность используемой рентгеновской оптики (зеркал нормального падения и тонкопленочных фильтров) позволила получить изображения всех изучаемых объектов всего за один лазерный выстрел при энергии лазерного импульса всего 0.5–1.2 Дж за наносекундные времена экспозиции.

Схема эксперимента показана на рис. 5. Излучение второй гармонике лазера (8) фокусировалось на массивную мишень из рения (1), в результате чего возникало плазменное облако (2). Далее рентгеновское излучение плазмы попадало на сферическое многослойное рентгеновское зеркало ($d = 2.287 \text{ нм}$, $N = 150$) нормального падения (3) с апертурой примерно 1 см, которое одновременно служило в качестве коллиматора рентгеновского излучения точечного лазерно-плазменного источника и монохроматора со средним спектральным разрешением ($\Delta\lambda/\lambda \approx 1/150$). В результате после прохождения тонкопленочных скандиевых фильтров (4) [44] исследуемый образец (5) облучался квазипараллельным пучком мягкого ($\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$) рентгеновско-

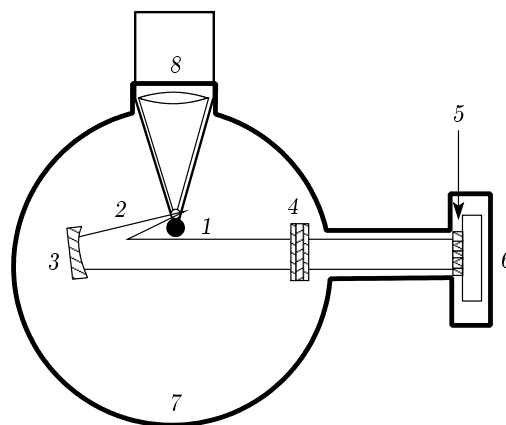


Рис. 5. Схема экспериментальной установки: 1 — массивная мишень из рения, 2 — плазменное облако, 3 — многослойное рентгеновское зеркало нормального падения Co/C, 4 — фильтр Sc/C на основе полиамидной пленки, 5 — исследуемый образец, 6 — рентгеновская фотопленка УФ-4, 7 — вакуумная камера, 8 — лазерное излучение ($\lambda = 0.53 \text{ мкм}$)

го излучения. Прошедшее излучение регистрировалось с помощью рентгеновской фотопленки УФ-4 (6). Короткая длина волны, узкая спектральная ширина ($\Delta\lambda \approx 0.03 \text{ нм}$), малая угловая расходимость (около 20 мрад) пучка и небольшое расстояние (100–200 мкм) между исследуемым образцом и фотопленкой позволили получать контрастные рентгенографические изображения с пространственным разрешением, равным размеру зерна используемой

фотопленки (1–5 мкм) в поле зрения размером около 4 мм. Все оптические компоненты располагались внутри вакуумной камеры (7), рабочее давление составляло 10^{-2} Торр.

5. ПРИМЕРЫ РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ УГЛЕРОДОСОДЕРЖАЩИХ ОБЪЕКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В ДИАПАЗОНЕ «УГЛЕРОДНОГО ОКНА»

Главной целью экспериментов по получению изображений биологических объектов в спектральном диапазоне «углеродного окна» была демонстрация возможности достижения необходимого контраста биологических тканей за пределами «водяного окна». Спектральная фильтрация широкополосного излучения лазерной плазмы, осуществляемая многослойным зеркалом и фильтром, в отличие от более ранних экспериментов по лазерно-плазменной рентгеновской «контактной» микроскопии [45–47], обеспечивала узкую рабочую полосу в диапазоне «углеродного окна», что необходимо для получения хорошего абсорбционного контраста углеродосодержащих объектов.

Ниже приводятся несколько примеров изображений, полученных в диапазоне «углеродного окна» при экспозиции в один лазерный импульс, т. е. за время порядка наносекунды. Всего на установке, схема которой представлена на рис. 5, было получено несколько десятков рентгенографических изображений различных объектов и микроструктур.

а) Край крыла мухи *Sarcophaga carnaria* L (рис. 6).

Этот объект не подвергался специальной физической или химической предварительной обработке, однако в вакуумной камере был, очевидно, обезвожен. На рис. 6 хорошо заметны полости внутри волосков на краю, а также внутренние неоднородности материала, вызванные неравномерными скоростями роста волосков в светлое и темное время суток. Указанные неоднородности невозможно так же легко заметить при использовании других методов микроскопии: микроскопии в видимом свете или электронной микроскопии из-за непрозрачности хитинового покрытия волосков. Наблюдение этого объекта в жестком рентгеновском диапазоне без использования техники фазового контраста тоже не обеспечивает необходимого абсорбционного контраста. Отметим также наблюдаемое высокое пропускание основной части биологического материала, которое позволило обойтись без среза ткани.

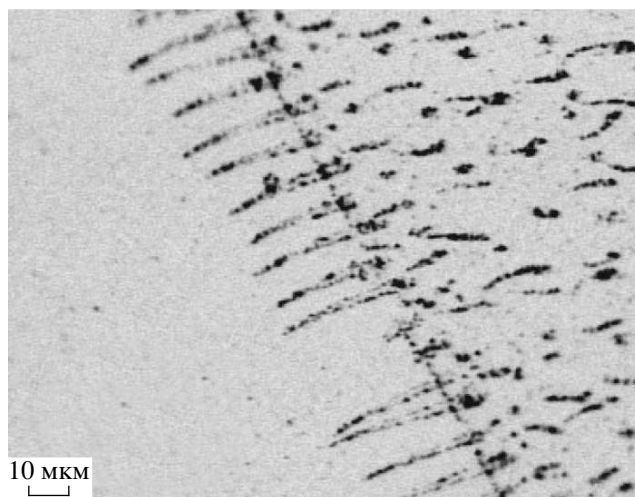


Рис. 6. Рентгеновское изображение края крыла мухи *Sarcophaga carnaria* L. Длина волны $\lambda \approx 4.5$ нм, время экспозиции около 1 нс

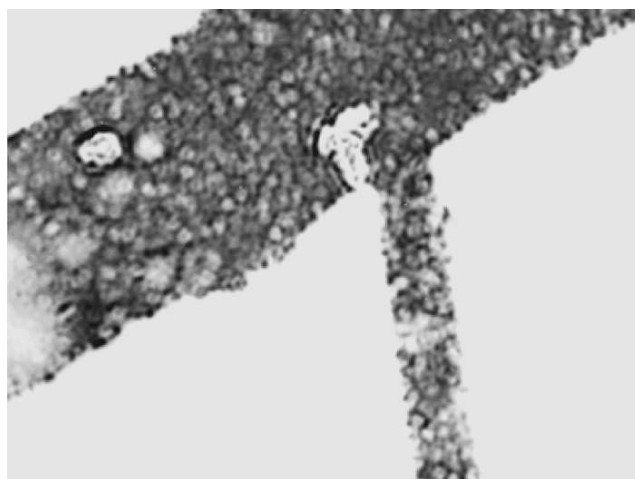


Рис. 7. Рентгеновское изображение высушенного плацентарного котилидона. Длина волны $\lambda \approx 4.5$ нм, время экспозиции около 1 нс

б) Плацентарный котилидон (рис. 7).

Этот образец предварительно подвергался лиофилизированной сушке. На рентгеновском снимке хорошо заметны неоднородности трубчатого строения котилидона плаценты. Наблюдаемое одинаковое почернение в изображениях отростка и основного сосуда указывает на равную толщину стенок сосудов вне зависимости от их диаметра.

в) Гистологический срез кровеносного сосуда эмбриона (рис. 8).

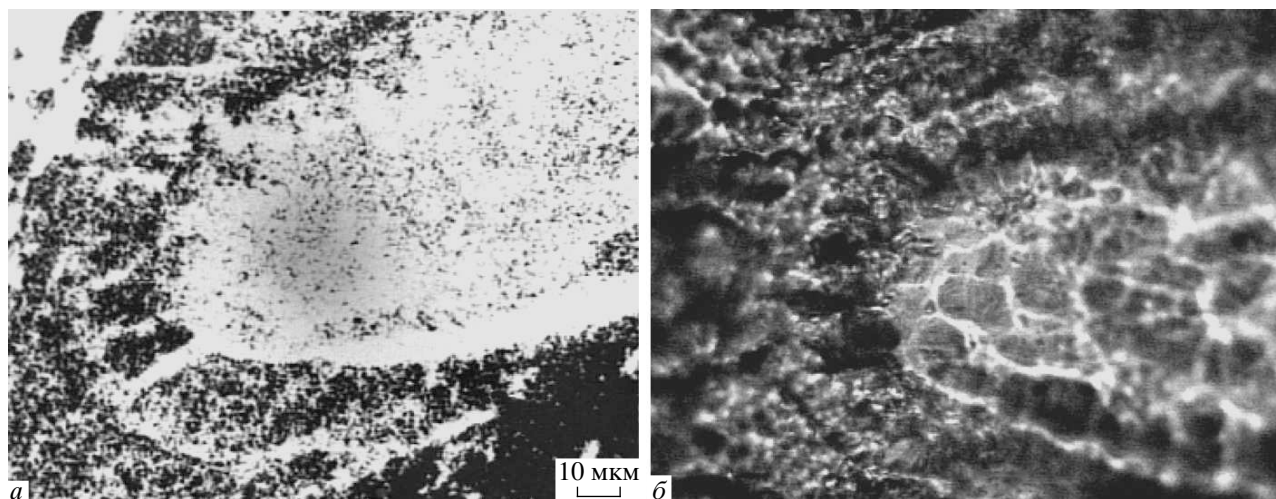


Рис. 8. Сравнение фрагментов изображений гистологического среза кровеносного сосуда, полученных методами мягкой рентгеновской микроскопии ($\lambda = 4.5$ нм, экспозиция около 1 нс) (а) и микроскопии видимого света (б). Толщина среза 10 мкм

Данный срез был приготовлен с использованием стандартного метода, применяемого в биологии и медицине для гистологических исследований тканей: обезвоженный образец фиксировался в специальном парафине, после чего с помощью микроатомного ножа делались срезы толщиной около 10 мкм. На рис. 8 видно, что в сравнении с соответствующим изображением, полученным при использовании стандартного оптического микроскопа, рентгеновская микроскопия обеспечивает лучшую глубину резкости и лучший контраст без использования специальных окрашивающих или контрастирующих материалов. На рис. 8 хорошо заметно чрезвычайно высокое пропускание заполнившего центр сосуда парафина, который оказывается в МР-диапазоне даже более прозрачным, чем в видимом свете.

г) Графитовые волокна типа PAN (полиакрилонитрильные) (рис. 9).

Такие графитовые волокна обладают высокой механической прочностью и широко используются в композиционных материалах при изготовлении легких и прочных изделий. МР-микроскопия в диапазоне «углеродного окна» позволяет достаточно простым способом получать изображения их внутренней структуры. На рис. 9 легко выявляются трещины и неоднородности волокон, которые, как известно, содержат графитовые дискообразные цепи, при этом видно, что пространственное разрешение используемой рентгенографической схемы недостаточно для более качественной визуализации внутренней структуры волокон.



Рис. 9. Рентгеновское изображение графитовых PAN-волокон. Диаметр волокон около 10 мкм. Длина волн $\lambda \approx 4.5$ нм, время экспозиции около 1 нс

д) Материал сверхмалой плотности для лазерных мишеней (рис. 10).

Пенообразные материалы сверхмалой плотности ($\rho \ll 1$ г/см³) в настоящее время рассматриваются как важный компонент мишеней для лазерного термоядерного синтеза (ЛТС), обеспечивающий равномерность прогрева материала [48, 49]. Просвечивающая МР-микроскопия на длине волн $\lambda \approx 4.5$ нм позволяет получать резкие изображения толстых, толщиной до 1 мм образцов таких материалов с высоким пространственным разрешением, при низкой радиационной нагрузке и большой глубине резко-



Рис. 10. Рентгеновское изображение материала мишени ЛТС, изготовленной из триацетатцеллюлозы плотностью 10 мг/см^3 с 10 вес. % меди. Толщина объекта 300 мкм. Длина волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$, время экспозиции около 1 нс

сти. Таким образом, микроскопия в диапазоне «углеродного окна» может служить эффективным методом исследования однородности трехмерного распределения плотности внутри материала, т. е. для контроля критического параметра качества мишени [22] (см. рис. 10).

Наглядное представление о трехмерном распределении плотности в низкоплотных органических материалах дают рентгеновские стереоизображения. На рис. 11 показана такая стереопара, полученная с помощью двух одинаковых сферических зеркал с многослойным покрытием Co/C ($r = 100 \text{ мм}$, рабочая апертура 1 см), обеспечивающих угол параллакса около 7.8° при двух последовательных экспозициях объекта на длине волны $\lambda \approx 4.5 \text{ нм}$ [50].

6. ОБЪЕКТИВ ШВАРЦШИЛЬДА НА ОСНОВЕ ГРАДИЕНТНЫХ МНОГОСЛОЙНЫХ ЗЕРКАЛ ДЛЯ ДИАПАЗОНА «УГЛЕРОДНОГО ОКНА»

Результаты экспериментов по получению изображений, описанные в разд. 5, продемонстрировали необходимость улучшения пространственного разрешения рентгеновских изображений, т. е. использования более сложных рентгенооптических систем с высоким пространственным разрешением, создающих увеличенное изображение объекта. Как было указано в разд. 2, одной из таких простейших и эффективных систем является объектив Шварцшильда,

Таблица 2. Характеристики объектива Шварцшильда

Параметр	Величина
Увеличение	21
Числовая апертура	0.2
Большое (вогнутое) зеркало	
Диаметр	54 мм
Радиус кривизны	100 мм
Малое (выпуклое) зеркало	
Диаметр	10.5 мм
Радиус кривизны	35 мм

изготовление которого для диапазона «углеродного окна», однако, требует разработки усовершенствованной технологии синтеза короткопериодных многослойных градиентных зеркал с переменным периодом вдоль поверхности зеркала.

В качестве базовой геометрической конфигурации использовалась схема объектива Шварцшильда, ранее применявшаяся в экспериментах по получению изображений на длинах волн 18–20 нм [19, 51] (см. табл. 2). В отличие от предыдущих экспериментов, для создания коротковолнового объектива необходимо было обеспечить сопряжение полос отражения многослойных зеркал с точностью $\Delta\lambda/\lambda < 0.5\%$ во всем диапазоне рабочих углов падения $2^\circ\text{--}9^\circ$.

В качестве отражающего покрытия на сферические подложки наносилось 100 пар ($N = 100$) слоев структуры Co/C (см. разд. 3). На первом этапе многослойное покрытие наносилось на выпуклую (маленькую) подложку без использования специальных затеняющих масок и сложного движения подложки над мишенью, причем подложке придавалось аксиальное вращение для получения центрально-симметричного распределения периода. На втором этапе определялось распределение периода по поверхности изготовленного выпуклого зеркала методом малоугловой дифракции рентгеновских лучей с помощью дифрактометра ДРОН-3М на длине волны $\lambda = 0.15405 \text{ нм}$ в геометрии $\Theta\text{--}2\Theta$ сканирования.

Кроме этого, для дополнительного контроля локальных параметров покрытия в разных точках проводилось осаждение на небольшие плоские пластины кремния (размером $3 \times 3 \text{ мм}^2$), расположенные по касательной к сферической поверхности такого же радиуса, как у выпуклой подложки. Дифрактограмма от плоских образцов моделировалась на основе модифицированных уравнений Френеля [52] и позво-

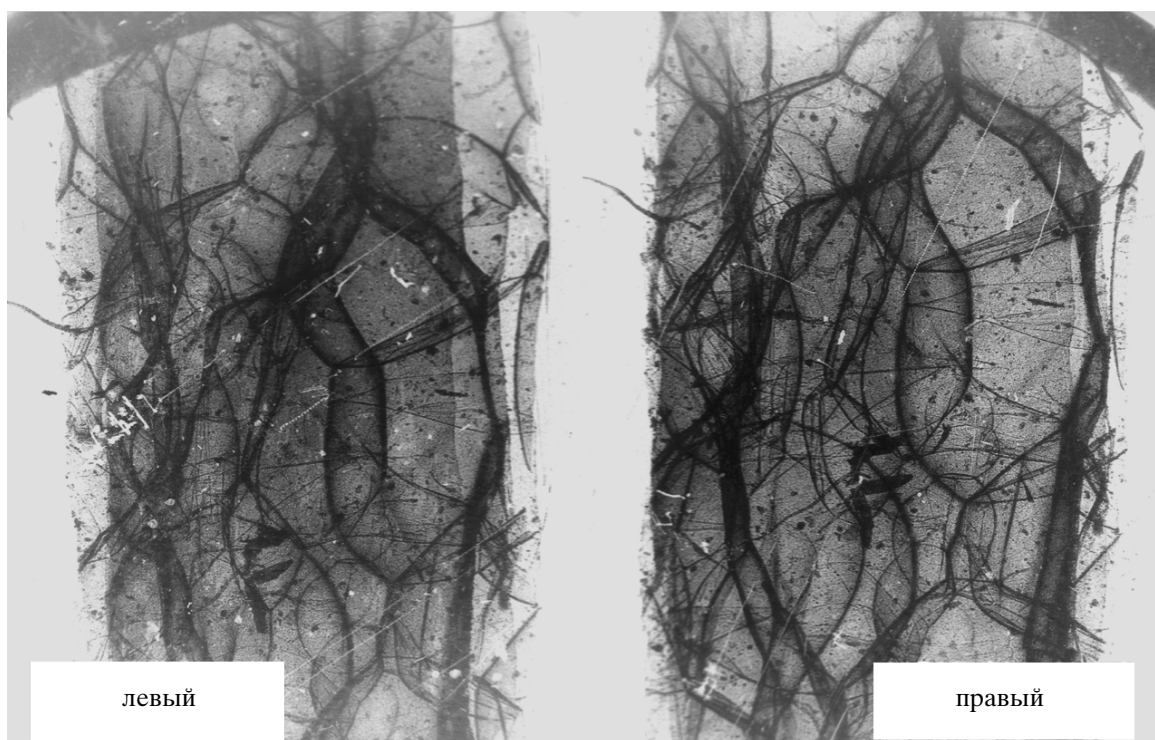


Рис. 11. Стереопара рентгеновских изображений малоплотного материала мишени ЛТС толщиной около 1 мм. Длина волны $\lambda \approx 4.5$ нм, время экспозиции около 1 нс, угол параллакса 7.8°

ляла определить соотношение толщин слоев, а также поправку на преломление, что увеличивало точность локального определения периода на выпуклой сферической поверхности.

Распределение периода покрытия выпуклого зеркала определяет период в каждой точке вогнутого зеркала. Для получения необходимого градиента периода на вогнутом зеркале ($r = 100$ мм) на начальном этапе были рассчитаны затеняющие маски, обеспечивающие однородное ($\pm 0.5\%$) осаждение кобальта и углерода на плоскую подложку при постоянной скорости ее движения над источником. В результате моделирования процесса осаждения при переменной скорости подложки был определен необходимый закон движения. Затем закон движения уточнялся для получения необходимого распределения периода на плоских подложках, расположенных по касательным к сферической поверхности нужного радиуса. В дальнейшем закон движения дополнительно уточнялся по измерениям периода вдоль изогнутых полосок тонкой (толщиной 20–50 мкм) слюды.

После экспериментального подтверждения получения необходимого распределения периода соответствующая многослойная структура наносилась на вогнутую подложку зеркала объектива. Для кон-

троля процесса нанесения многослойного покрытия использовался плоский образец-свидетель, помещенный в центральное отверстие подложки большого зеркала объектива. К сожалению, прямой контроль покрытия на вогнутой сферической поверхности с помощью измерения дифракционной кривой при скользящих углах невозможен из-за затенения первичного пучка образцом.

Для дополнительной подстройки периодов двух зеркал использовалось упоминавшееся выше явление роста периода металл-углеродных многослойных композиций при нагреве [39]. Соответствующий отжиг проводился в специальной печи, обеспечивающей низкий градиент и высокую стабилизацию температуры, при давлении порядка 10^{-4} Па.

Окончательный контроль параметров нанесенных многослойных покрытий выпуклого и вогнутого зеркал объектива проводился вблизи рабочей длины волны $\lambda \approx 4.5$ нм на канале 6.3.2 синхротронного источника ALS, (г. Беркли, США) [53]. Сканирование осуществлялось по длинам волн с шагом $\Delta\lambda \approx 0.02$ нм при фиксированном угле падения $\varphi = 5^\circ$. Облучаемая площадь зеркал составляла 0.3×0.05 мм².

Моделирование измеренных спектров отражения

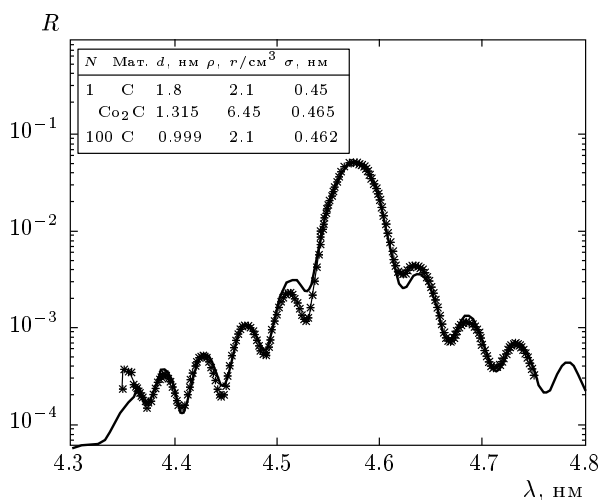


Рис. 12. Пример локально измеренной кривой отражения на поверхности многослойного выпуклого зеркала (*) и расчетная кривая на основе модели, приведенной на вставке

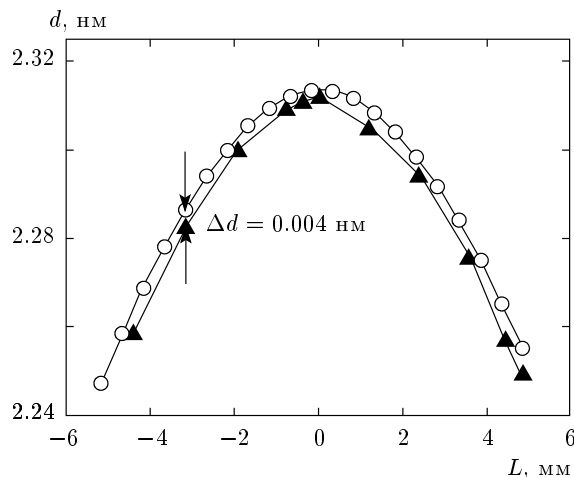


Рис. 14. Распределения периода многослойной периодической структуры вдоль диаметра выпуклого зеркала, рассчитанные по данным, полученным в жесткой (▲, $\lambda = 0.154$ нм) и мягкой (○, $\lambda = 4.5$ нм) областях рентгеновского спектра

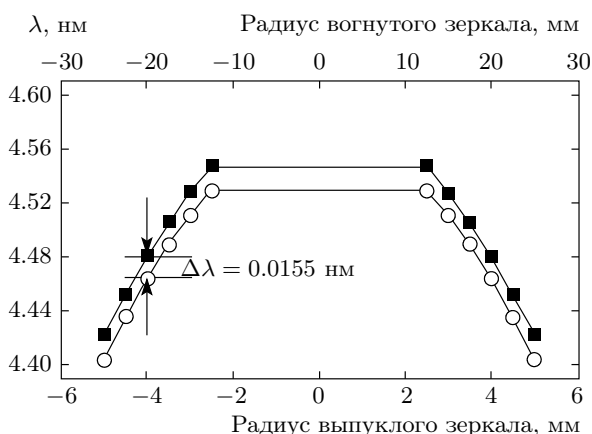


Рис. 13. Изменение резонансных длин волн отражения зеркал по поверхности вогнутого (○) и выпуклого (■) зеркал объектива Шварцшильда с учетом соответствия точек падения лучей на зеркала

зеркал в МР-диапазоне позволило достаточно точно определить распределение периода покрытий вдоль диаметра обоих зеркал (см. рис. 12).

С использованием этих значений и углов падения в объективе были рассчитаны резонансные длины волн при отражении лучей в пределах апертуры объектива (рис. 13). На рис. 13 видно, что ошибка сопряжения резонансных длин волн многослойных покрытий зеркал составляет всего $\Delta\lambda = 0.0155$ нм, т. е. периоды зеркал ($d \approx \lambda/2$) совпадают с точностью около $\Delta d = 0.008$ нм (0.3%), причем ход изменения

периода выдержан с еще лучшей точностью (менее 0.1%). Поскольку корректирующий отжиг вогнутого зеркала проводился по образцу-свидетелю, разница в 0.3% определяется, по-видимому, неточностью расположения образца-свидетеля. Получив результаты измерений распределения периода обоих зеркал, можно провести дополнительный корректирующий отжиг и добиться более точного совмещения их полос отражения.

Необходимо отметить, что метод контроля периода многослойного покрытия на выпуклой поверхности с помощью дифрактометра обладает достаточно высокой точностью определения градиента периода. На рис. 14 приведено сравнение распределений периода покрытия вдоль диаметра выпуклого зеркала, проведенных на основе измерений углового/волнового положения брэгговского максимума в жесткой области рентгеновского спектра с использованием рентгеновской трубки и в МР-диапазоне на источнике синхротронного излучения. Видно, что значения периода зеркала различаются на 0.004 нм. При этом градиент периода совпадает с точностью $\pm 5 \cdot 10^{-4}$ нм/мм, что в пределах апертуры объектива (приблизительно 3 мм от края зеркала) соответствует точности 0.06%.

Различие в периоде, по-видимому, связано с использованием при расчетах табличных оптических констант [54]. В области «углеродного окна» поправка на преломление существенна даже при нормальных углах падения и оптические константы влияют

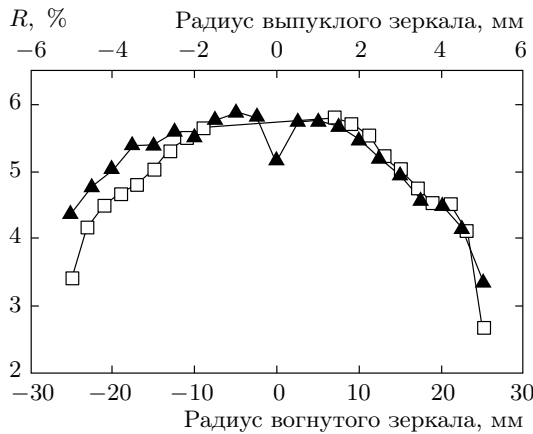


Рис. 15. Распределение коэффициента отражения вдоль диаметра выпуклого (▲) и вогнутого (□) зеркал в «углеродном окне» (угол падения 85°). Масштаб выбран так, что точки соответствуют одному оптическому пути

на расчетное значение периода. Расхождения в положении резонансных пиков в области «углеродного окна» не должны влиять на точность совмещения полос пропускания зеркал, поскольку в значительной мере компенсируют друг друга на выпуклом и вогнутых зеркалах.

На рис. 15 показаны результаты измерения пикового коэффициента отражения выпуклого и вогнутого зеркал на различных участках их поверхности. Относительно невысокий коэффициент отражения $R = 4.5\% - 6\%$ связан с развитием шероховатости межслоевых границ на неплоских поверхностях. Для сравнения, аналогичное многослойное покрытие Co/C ($N = 100$), нанесенное на плоскую подложку, демонстрируют коэффициент отражения $R \approx 15\%$ на длине волны $\text{CuK}_{\alpha 1}$ и $R \approx 10\%$ в «углеродном окне».

При осаждении покрытий на плоские подложки, расположенные по касательным к сферической поверхности радиуса 35 мм, также был отмечен сильный рост межслоевой шероховатости на периферийных участках зеркала: коэффициент отражения на длине волны $\lambda = 0.154$ нм уменьшался примерно в три раза. Таким образом, шероховатость границ раздела на криволинейных подложках оказалась несколько выше (0.46 против 0.38 нм), чем на плоских подложках. Развитие шероховатости границ, по-видимому, связано с эффектами затенения при конденсации на скользящих углах к подложке. Это явление требует дополнительного исследования.

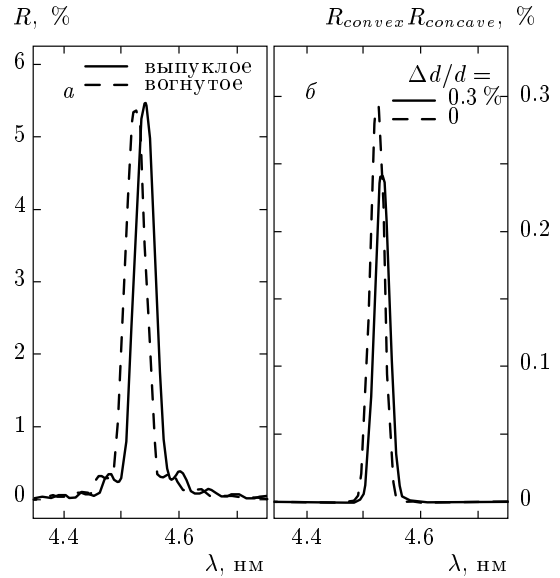


Рис. 16. Зависимости от λ коэффициента отражения каждого из двух зеркал в точках отражения по ходу луча (а) и соответствующая суммарная отражательная способность объектива (б)

Используя полученные данные по спектральным зависимостям коэффициента отражения изготовленных зеркал, можно оценить достигнутую эффективность (пропускание) объектива Шварцшильда (см. рис. 16). Она составляет величину около 0.25% в пределах всей рабочей апертуры объектива, что в 2.5 раза больше достигнутого ранее результата [29]. Необходимо отметить, что примененный в нашей работе подход позволяет очень точно ($\Delta d/d = 0.1\% - 0.3\%$) совмещать полосы пропускания зеркал. При такой высокой точности возможно увеличить число пар слоев до $N = 200$, что даже при нынешнем уровне шероховатости границ раздела между кобальтом и углеродом приведет к более чем двукратному увеличению коэффициента пропускания объектива (до $0.6 - 0.7\%$).

7. ВЫВОДЫ

Созданная в последние годы рентгеновская многослойная оптика нормального падения позволила начать эксперименты по МР-микроскопии в области «углеродного окна» с использованием лабораторного лазерно-плазменного источника. С использованием методов рентгенографии в МР-диапазоне были получены контрастные изображения различных биологических и других углеродосодержащих объектов толщиной $10 - 1000$ мкм с наносекундными

временами экспозиции. Дальнейшее развитие техники МР-микроскопии лежит в области разработки новых, более совершенных рентгенооптических систем высокого пространственного разрешения, подобных объективу Шварцшильда.

Разработанный подход в изготовлении зеркал объектива Шварцшильда для области «углеродного окна», их аттестация в жесткой области рентгеновского спектра, методика корректировки периода покрытия путем термической обработки позволили авторам достичь высокой точности в нанесении необходимого градиентного отражающего покрытия: полосы отражения зеркал совпали с точностью 0.3%. С использованием данных измерений в рабочем МР-диапазоне точность сопряжения зеркал может быть в дальнейшем улучшена до 0.1% с соответствующим увеличением суммарной пропускной способности объектива до 0.6–0.7%.

Созданная двухзеркальная рентгенооптическая система, обладая низкими геометрическими aberrациями, позволяет достигнуть высокого пространственного разрешения в десятки нанометров при использовании компактного рентгеновского источника, такого как, например, лазерная плазма, и является новым шагом по направлению к совершенствованию методов МР-микроскопии для самого широкого круга применений.

Авторы благодарны С. В. Савельеву (НИИ морфологии мозга человека, г. Москва), Р. М. Фещенко, Ю. А. Успенскому, Ю. А. Меркульеву и Н. Н. Мельнику (Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, г. Москва), а также Е. М. Гулликсону (Центр рентгеновской оптики, г. Беркли, США) за их помощь и вклад в эту работу. Работа выполнена при частичной поддержке Американского фонда гражданских исследований (CRDF) (грант № RP2-2845-МО-02) и РФФИ (грант № 07-02-01244-а).

ЛИТЕРАТУРА

- G. Schmahl, D. Rudolph, B. Niemann et al., *Quart. Rev. Biophys.* **13**, 297 (1980).
- D. Rudolph, B. Niemann, G. Schmahl et al., in *X-ray Microscopy*, ed. by G. Schmahl and D. Rudolph, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1984), Vol. 43, p. 192.
- B. Niemann, V. Safaris, D. Rudolph et al., *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A* **246**, 675 (1986).
- M. Minsky, *Scanning* **10**, 128 (1988).
- I. J. Cox, *J. Microsc.* **33**, 149 (1984).
- G. J. Brakenhoff, H. T. M. van der Voort, E. A. van Spronsen et al., *Nature* **317**, 748 (1985).
- J. B. Pawley, *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, Plenum Press-Springer, New York (2006), p. 1.
- G. D. Danilatos, *Microscopy Res. Techn.* **5–6**, 354 (1994).
- A. Bognera, P.-H. Jouneau, G. Thollet et al., *Micron* **38**, 390 (2007).
- D. J. Arndt-Jovin, R. M. Nicoud, J. Kaufmann et al., *Science* **230**, 13330 (1985).
- P. I. Bastiaens and S. W. Hell, *J. Struct. Biol.* **147**, 1 (2004).
- C. Jacobsen, T. Beetz, M. Feser et al., *Surf. Rev. Lett.* **9**, 185 (2002).
- A. P. Hitchcock, J. J. Dynes, G. Johansson et al., *Micron* **39**, 311 (2008).
- D. Y. Parkinson, G. McDermott, L. D. Etkin et al., *J. Struct. Biol.* **162**, 380 (2008).
- C. A. Brewer, F. Brizuela, P. Wachulak et al., *Opt. Lett.* **33**, 518 (2008).
- P. A. Takman, H. Stollberg, G. A. Johansson et al., *J. Microsc.* **226**, 175 (2007).
- Kyong Woo Kim, Youngman Kwon, Ki-Yong Nam et al., *Phys. Med. Biol.* **51**, 99 (2006).
- J.-F. Adam, J.-P. Moy, and J. Susini, *Rev. Sci. Instr.* **76**, 091301 (2005).
- И. А. Артюков, В. Е. Асадчиков, А. В. Виноградов и др., *КЭ* **22**, 951 (1995).
- И. А. Артюков, А. В. Виноградов, Ю. С. Касьянов и др., *КЭ* **34**, 691 (2004).
- А. Хэм, Д. Кормак, *Гистология*, Мир, Москва (1983), с. 1.
- И. А. Артюков, Н. Г. Борисенко, А. В. Виноградов и др., *Кратк. сообщ. по физике ФИАН* № 4, 46 (2006).
- I. A. Artioukov and K. M. Krymski, *Opt. Eng.* **39**, 2163 (2000).
- Н. Н. Салащенко, Н. И. Чхало, *Вестник РАН* **78**, 450 (2008).
- D. A. Tichenor, G. D. Kubiak, M. E. Malinowski et al., *Appl. Opt.* **32**, 7068 (1993).
- D. DiCicco, D. Kim, R. Rosser et al., *Opt. Lett.* **17**, 157 (1992).

27. Д. С. Буренков, Ю. А. Успенский, И. А. Артюков и др., КЭ **35**, 195 (2005).
28. R. В. Hoover, D. L. Shealy, В. R. Brinkley et al., Opt. Eng. **30**, 1086 (1991).
29. К. Murakami, Т. Oshino, Н. Nakamura et al., Appl. Opt. **32**, 7057 (1993).
30. М. Kado, К. Tanaka, R. Kodama et al., Opt. Lett. **16**, 109 (1991).
31. J. В. Kortright, E. M. Gullikson, and P. E. Denham, Appl. Opt. **32**, 6961 (1993).
32. Н. Takenaka, К. Nagai, Н. Ito et al., Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A **467–468**, 337 (2001).
33. W. Chao, E. Anderson, G. Denbeaux et al., Opt. Lett. **28**, 2019 (2003).
34. S. S. Andreev, Н. Ch. Mertins, Yu. Ya. Platonov et al., Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A **448**, 133 (2000).
35. F. Schafers, Physica B **283**, 119 (2000).
36. А. I. Fedorenko, Yu. P. Pershin, O. V. Poltseva et al., Mat. Res. Soc. Symp. Proc. **458**, 249 (1997).
37. E. Spiller, D. Stearns, and M. Krumrey, J. Appl. Phys. **74**, 107 (1993).
38. Е. А. Бугаев, А. Ю. Девизенко, Е. Н. Зубарев и др., Металлофизика и новейшие технологии **30**, 1533 (2008).
39. Е. А. Бугаев, Е. N. Zubarev, V. V. Kondratenko et al., Surf. Investigation **15**, 141 (1999).
40. I. A. Artyukov, Ye. A. Bugayev, O. Yu. Devizenko et al., Proc. SPIE **5919**, 94 (2005).
41. А. Д. Ахсахалян, Ю. Я. Платонов, Н. И. Полушкин, Поверхность. Физика, химия, механика **11**, 137 (1991).
42. E. Bugaev, A. Fedorenko, V. Kondratenko et al., J. X-ray Sci. Technol. **5**, 295 (1995).
43. В. Л. Арцимович, С. В. Талонов, Ю. С. Касьянов и др., Письма в ЖЭТФ **46**, 311 (1994).
44. I. A. Artioukov, Yu. S. Kasyanov, I. A. Kopylets et al., Rev. Sci. Instr. **74**, 4964 (2003).
45. А. G. Michette, P. C. Cheng, R. W. Easons et al., J. Phys. D: Appl. Phys. **19**, 363 (1986).
46. А. C. Cefalas, P. Argitis, Z. Kollia et al., Appl. Phys. Lett. **72**, 3258 (1998).
47. Н. Kondo and Т. Tomie, J. Appl. Phys. **75**, 3798 (1994).
48. К. Nagai, Н. Azechi, F. Ito et al., Nucl. Fusion **45**, 1277 (2005).
49. С. Странгио, А. Карузо, С. Ю. Гуськов и др., КЭ **36**, 424 (2006).
50. I. A. Artyukov, Y. A. Bugayev, O. Y. Devizenko et al., Proc. SPIE **6702**, 67020V-1, (2007).
51. I. A. Artyukov, А. I. Fedorenko, V. V. Kondratenko et al., Opt. Comm. **102**, 401 (1993).
52. D. G. Stearns, J. Appl. Phys. **65**, 491 (1989).
53. J. H. Underwood and E. M. Gullikson, J. Electron. Spectrosc. Relat. Phenom. **92**, 265 (1998).
54. В. L. Henke, E. M. Gullikson, and J. C. Davis, Atom. Data Nucl. Data Tables **54**, 181 (1993).