

# материалов и технологий

Э.Р. КЛАРК,  
К.Н. ЭБЕРХАРДТ

Микроскопи-  
ческие методы  
исследования  
материалов



ТЕХНОСФЕРА



*Издание осуществлено при финансовой поддержке  
Российского Фонда Фундаментальных Исследований  
По проекту № 07-03-07015-д*

**Кларк Эшли Р., Эберхардт Колин Н.**  
**Микроскопические методы исследования материалов**  
**Москва:**  
**Техносфера, 2007. – 376с. ISBN 978-5-94836-121-5**

За последние десятилетия в области материаловедения был совершен огромный скачок вперед. Одновременно очень быстро развивались и оптические методы исследования материалов. В компьютерной микроскопии произошли столь значительные изменения, что появилась потребность в книге, описывающей возможности новейших оптических микроскопов, используемых для исследования конструкционных материалов.

В книге рассматриваются основы оптической микроскопии, описываются методы оптических исследований, как классические (методы темного поля и интерференционная микроскопия), так и новейшие, а также неоптические – например, акустические и рентгеновские. Рассматривается построение двумерного изображения на основе трехмерного массива данных и методы преобразования цифрового изображения на компьютере, изучается работа конфокального лазерного сканирующего микроскопа, приводятся примеры трехмерной реконструкции структуры композитов.

Книга будет полезна ученым, специалистам в области материаловедения, аспирантам.



© 2002, Woodhead Publishing Limited  
© 2007, ЗАО "РИЦ "Техносфера", перевод на русский язык,  
оригинал-макет, оформление

**ISBN 978-5-94836-121-5**  
**ISBN 1-85573-587-3 (англ.)**

# Содержание

<b>Часть I. Основные принципы.....</b>	<b>15</b>
<b>Глава 1. Взаимодействие электромагнитного излучения с материалом.....</b>	<b>15</b>
1.1. Введение.....	15
1.1.1. Технология – структура – свойства.....	16
1.1.2. Оптические и неоптические методы.....	17
1.1.3. Возможности автоматизированных микроскопов.....	18
1.1.4. Моделирование и визуализация трехмерных объектов.....	20
1.2. Характеристики электромагнитного излучения.....	21
1.2.1. Математическое моделирование и физическая реальность.....	21
1.2.2. Электромагнитная волна.....	22
1.2.3. Показатель преломления.....	25
1.2.4. Групповая скорость.....	29
1.2.5. Поляризация.....	30
1.2.6. Поляризаторы и пластинки в четверть длины волны.....	32
1.3. Распространение световых волн.....	34
1.3.1. Отражение света от плоских поверхностей.....	34
1.3.2. Влияние угла падения на коэффициент отражения.....	36
1.3.3. Отражение от неплоских поверхностей.....	37

1.3.4. Интерференция волн.....	38
1.3.5. Светофильтры.....	42
1.3.6. Дифракция.....	44
1.3.7. Поглощение света.....	46
1.3.8. Квантовая механика и теория Бора.....	49
1.3.9. Источники электромагнитного излучения.....	53
1.4. Конструкция микроскопа.....	55
1.4.1. Линзы.....	55
1.4.2. Микроскоп.....	60
1.4.3. Аберрация.....	64
1.4.4. Оптический микроскоп проходящего света.....	71
1.4.5. Оптический микроскоп отраженного света.....	72
1.4.6. Флуоресцентный микроскоп.....	73
1.4.7. Методы темного поля, фазового контраста и интерференционная микроскопия .....	74
1.4.8. Поляризационный микроскоп.....	78
1.5. Фотоника.....	79
1.5.1. Магнитооптические и электрооптические материалы.....	79
1.5.2. Оптические свойства линзы.....	82
1.5.3. Оптоэлектронные нейронные сети.....	85
1.5.4. Будущее компьютерной оптической микроскопии.....	87
1.6. Литература.....	89

1.7. Дополнительная литература.....	89
<b>Глава 2. Цифровое изображение и его обработка.....</b>	<b>90</b>
2.1. Введение.....	90
2.2. Цифровая информация.....	91
2.2.1. Числовые коды.....	91
2.2.2. Кодирование текста.....	92
2.2.3. Кодированные процессы и действия.....	93
2.3. История развития вычислительных методов .....	95
2.3.1. Транзистор.....	95
2.3.3. Motorola 6802.....	100
2.3.2 История развития микропроцессоров.....	100
2.3.4. Измерительные системы Vela и LabView.....	102
2.3.5. Связь языка программирования с электроникой.....	104
2.3.6. Транспьютер T800 фирмы INMOS.....	104
2.3.7. Сигнальный процессор (DSP).....	107
2.3.8. Корреляция и свертка.....	110
2.3.9. Прогноз вычислительных возможностей.....	110
2.4. ПЗС-матрицы.....	111
2.4.1. Спектральные характеристики.....	113
2.4.2. Температура эксплуатации.....	114
2.4.3. Спектральное и пространственное разрешение.....	115

2.4.4. Диапазон измерений и увеличение.....	116
2.5. Оцифровка и АЦП-устройства.....	116
2.5.1. Медленное сканирование в режиме реального времени.....	119
2.5.2. Ошибки, обусловленные дискретностью сигнала.....	119
2.5.3. Значения времени выборки.....	120
2.5.4. Теорема Котельникова о частоте съема информации.....	121
2.5.5. Видеокарты C80 и «Genesis» .....	122
2.6. Цифровое изображение.....	125
2.6.1. Структура цифрового изображения.....	125
2.6.2. Анализ изображения.....	128
2.6.3. Преобразование изображения.....	129
2.7. Хранение и редактирование изображений.....	130
2.7.1. Структура файлов данных.....	130
2.7.2. Формат изображения.....	132
2.7.3. Сжатие без потери качества.....	134
2.7.4. Сжатие с потерей информации.....	134
2.8. Преобразованные изображения.....	134
2.8.1. Коррекция изображения.....	135
2.8.2. Преобразование распределения интенсивности.....	138
2.8.3. Пространственные фильтры.....	140
2.8.4. Частотный фильтр.....	141

2.8.5. Преобразование Хоуга.....	143
2.8.6. Выделение областей.....	148
2.8.7. Характеризация и классификация.....	151
2.9. Ошибки и стереология.....	151
2.10. Литература.....	154
<b>Часть II. Микроскопия отраженного света и конфокальная растровая лазерная микроскопия.....</b>	<b>155</b>
<b>Глава 3. Микроскопия отраженного света .....</b>	<b>155</b>
3.1. Введение.....	155
3.1.1. Подготовка образца.....	158
3.1.2. Микроскоп Olympus BH2.....	160
3.1.3. Измерения на единичном кадре.....	162
3.2. Автоматизированная микроскопия крупных областей.....	169
3.2.1. Введение.....	169
3.2.2. Система на основе транспьютеров.....	172
3.2.3. Калибровка поля зрения.....	173
3.2.4. Определение ориентации волокна.....	176
3.2.5. Волокна необычной формы.....	181
3.3. Ориентация волокон в композитах, полученных литьем под давлением...185	
3.3.1. Краткое описание.....	185

3.3.2. Введение.....	186
3.3.3. Автоматизированная система определения ориентации волокон.....	189
3.3.4. Стереология.....	191
3.3.5. Разделение касающихся волокон.....	191
3.3.6. Характеристики степени ориентации волокон.....	193
3.3.7. Анализ процесса многократной инъекции расплава.....	194
3.3.8. Заключительные замечания.....	196
3.4. Измерение длины волокон.....	196
3.4.1. Краткое описание.....	196
3.4.2. Введение.....	197
3.4.3. Области детекции.....	198
3.4.4. Метод.....	200
3.4.5. Результаты.....	202
3.5. Последние достижения.....	202
3.5.1. Последовательные 2D-сечения.....	202
3.5.2. Изучение трехмерной структуры композита.....	206
3.6. Литература.....	207
<b>Глава 4. 3D конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.....</b>	<b>211</b>
4.1. Принципы конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.....	211
4.1.1. Первые конфокальные микроскопы.....	211
4.1.2. Оптика конфокального микроскопа.....	215



4.2. Современные конфокальные микроскопы.....	218
4.2.1. Конфокальный микроскоп Biorad MRC 500.....	219
4.2.2. Конфокальный микроскоп «Одиссей» фирмы Норан.....	220
4.3. Оптические сечения.....	222
4.3.1. Влияние диафрагмы.....	223
4.3.2. Показатель преломления и проблема глубины.....	225
4.3.3. Максимальная глубина проникновения.....	228
4.3.4. Уменьшение интенсивности света в образце.....	228
4.3.5. Интерпретация данных.....	230
4.4. Проблемы калибровки.....	230
4.4.1. Коррекция неравномерности освещенности.....	230
4.4.2. Геометрическая коррекция.....	232
4.4.3. Z-калибровка.....	234
4.5. Способы построения изображения.....	235
4.5.1. Работа в отраженном и флуоресцентном свете.....	235
4.5.2. Представление трехмерной структуры.....	238
4.5.3. Методы получения тонких оптических сечений.....	241
4.5.4. Исследование поверхности.....	241
4.5.5. Автофокусировка микроскопа.....	245
4.6. Анализ тонких пленок, наполненных частицами.....	246
4.6.1. Краткое описание.....	246

4.6.2. Полимерные пленки.....	247
4.6.3. Стереологический анализ частиц.....	248
4.6.4. Анализ частиц методом конфокальной микроскопии.....	249
4.6.5. Методы измерения объема.....	250
4.6.6. Эксперимент.....	254
4.6.7. Результаты и выводы.....	255
4.7. Исследование волнистости волокон.....	256
4.7.1. Краткое описание.....	256
4.7.2. Введение.....	257
4.7.3. Изучение однонаправленных композитов методом конфокальной микроскопии.....	260
4.7.4. Изучение формы волокон.....	262
4.7.5. Анализ многослойных композитов.....	264
4.7.6. Изучение волнистости волокон.....	267
4.7.7. Заключение.....	273
4.8. Перспектива развития конфокальной микроскопии.....	273
4.9. Литература.....	274
<b>Часть III. Дополнительные микроскопические методы.....</b>	<b>278</b>
<b>Глава 5. Дополнительные оптические и электромагнитные методы исследования...278</b>	
5.1. Введение.....	278



5.2. Рамановская микроскопия.....	280
5.2.1. Раманскоп.....	282
5.2.2. Дополнительные методы, связанные с эффектом комбинационного рассеяния.....	284
5.3. Растровая атомно-силовая микроскопия и микроскопия ближнего поля.....	287
5.3.1. Сканирующий туннельный микроскоп (СТМ).....	290
5.3.2. Атомно-силовой микроскоп (АСМ).....	291
5.3.3. Сканирующая микроскопия ближнего поля.....	292
5.4. Дополнительные оптические и электромагнитные методы.....	294
5.4.1. Термография и метод Фурье-анализа инфракрасного света (FTIR).....	294
5.4.2. Флуоресцентная микроскопия (FLIM).....	298
5.4.3. Программируемый матричный микроскоп (ПММ) с двойным оптическим путем.....	300
5.4.4. Когерентная оптическая томография.....	301
5.5. Рентгеновская микроскопия, томография и микротомография.....	304
5.5.1. Микроскопы, использующие мягкое рентгеновское излучение.....	304
5.5.2. Рентгеновская микрорадиография.....	307
5.6. Рентгеновская микротомография волокнистых материалов.....	308
5.6.1. Краткое описание.....	308
5.6.2. Введение.....	308

5.6.3. Рентгеновская компьютерная томография.....	310
5.6.4. Качество изображения. Артефакты и разрешение.....	311
5.6.5. Текстильные и композиционные волокнистые материалы.....	313
5.6.6. Микротомография волокнистых структур.....	315
5.6.7. Автоматизированный анализ формы волокон.....	316
5.6.8. Выводы.....	320
5.7. Литература.....	321
<b>Глава 6. Другие микроскопические методы.....</b>	<b>327</b>
6.1. Растровая и просвечивающая электронная микроскопия .....	329
6.1.1. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия и Оже-спектроскопия.....	334
6.1.2. Спектроскопия отраженных электронов и спектроскопия энергопотерь электронов.....	335
6.2. Ядерный магнитный резонанс (ЯМР).....	338
6.2.1. Основные принципы ЯМР.....	338
6.2.2. Практические соображения.....	339
6.2.3. Применение ЯМР в материаловедении.....	341
6.3. Ультразвуковая и сканирующая акустическая микроскопия.....	341
6.3.1. Введение.....	342
6.3.2. Сканирующая акустическая микроскопия.....	343
6.3.3. Сканирующие системы, измеряющие время распространения ультразвука.....	344

6.4. Ультразвуковая трехмерная картография констант упругости композиционных материалов.....	345
6.4.1. Введение.....	345
6.4.2. Методология.....	348
6.4.3. Исследование полиметилметакрилата.....	353
6.4.4. Углепластики, армированные непрерывными волокнами.....	357
6.4.5. Стеклопластик, полученный методом литья под давлением.....	358
6.4.6. Выводы.....	362
6.5. Заключение.....	366
6.6. Литература.....	368

# Часть I

## Основные принципы

### Глава 1

## Взаимодействие электромагнитного излучения с материалом

### 1.1. Введение

На первый взгляд кажется, что для использования оптического микроскопа не нужно читать специальных книг. Однако скорость развития современной техники (вычислительной и приборной) столь высока, что, как нам кажется, имеется потребность в книге, описывающей аппаратуру и возможности новейших оптических микроскопов, используемых для исследования конструкционных материалов.

Роль микроскописта состоит в изучении и интерпретации двумерной или трехмерной структуры образца. При изучении нового образца микроскопист должен выполнить следующие действия:

- выбрать оптический микроскоп;
- разрезать образец и подготовить его поверхность (возможно, отполировать ее);
- проанализировать особенности двумерного (2D) изображения;
- вычислить параметры, которые соответствуют этим особенностям в трехмерном образце.

Что может быть проще? Однако при более внимательном рассмотрении каждого из этих действий начинают выявляться проблемы. Во-первых, имеется несколько возможностей решения каждого из этих вопросов. Поэтому микроскопист должен иметь ясное представление, какие измерения наиболее адекватно отвечают поставленным целям. Рассмотрим задачу определения размера особенностей. Ее решение выходит за пределы микроскопического анализа и зависит от специфики исследуемого материала. Еще одним вопросом является выбор плоскости сечения образца. Если материал гомогенен и изотропен, выбор сечения непринципиален. Однако при наличии анизотропии (например, в армированном волокнистом композите) выбор сечения очень важен. Отметим, что при подготовке поверхности

простой полировки может оказаться недостаточно. Например, могут потребоваться травление или напыление! Наконец, одно дело – интерпретировать плоское сечение образца, а другое – описать трехмерный объект без сползания в сложные математические вычисления. Еще один вопрос состоит в том, сколько нужно данных для получения статистически достоверного результата?

Цель этой книги состоит в обучении практическому использованию микроскопа, а не в описании сложной математики, на которой он основан. Книга разделена на три части, каждая из которых состоит из двух глав.

Часть I ориентирована на новичков в микроскопии и обработке компьютерных изображений. Более опытные читатели могут ее опустить. В первой главе обсуждаются принципы распространения электромагнитного излучения, его взаимодействие с материалом, а также основные проблемы оптической микроскопии. Однако и опытные читатели могут найти в ней некоторые темы, заслуживающие внимания. В главе 2 описано развитие электроники, приведшее к созданию микропроцессора и появлению цифрового изображения. В ней рассмотрено, как компьютер строит цифровое изображение, и обсуждаются способы его преобразования.

Часть II состоит из двух глав, в которых рассмотрены два стандартных метода оптической микроскопии. В главе 3 описан оптический микроскоп отраженного света и даны примеры его применения для изучения волокнистых композиционных материалов. В главе 4 рассмотрен конфокальный сканирующий лазерный микроскоп (КСЛМ). В ней рассмотрены примеры реконструкции трехмерной структуры материала, в том числе образцов с тонким покрытием. Приведенные в части II примеры использования КСЛМ основаны на идеях части I. Здесь же описан выбор программного обеспечения для анализа и интерпретации полученной информации.

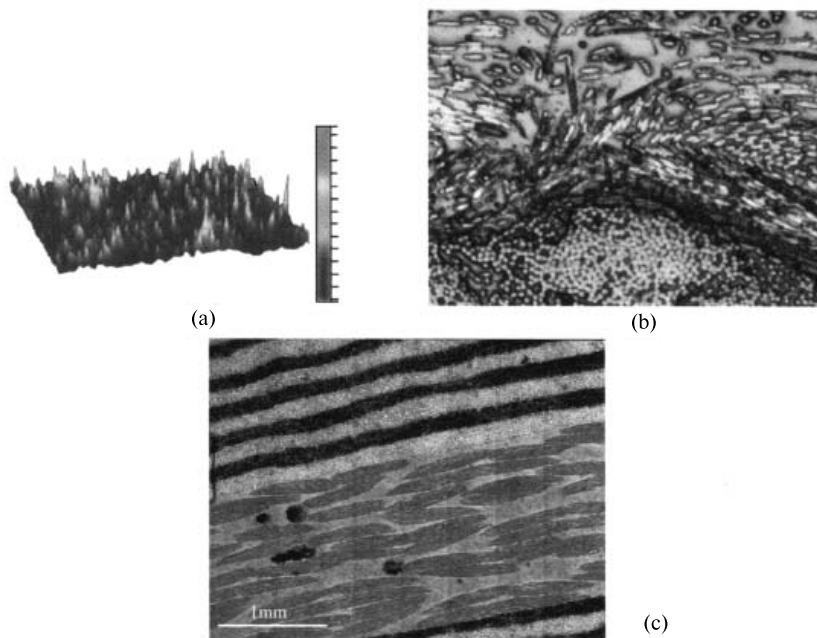
В части III рассмотрены менее известные (в основном оптические) методы исследования материалов. В главе 5 описаны новые оптические методы, появившиеся в самое последнее время. Наконец, в главе 6 дан обзор акустических и других методов исследования материалов.

Преимуществом компьютерной микроскопии является возможность быстрого измерения параметров трехмерной структуры материалов. Эта книга иллюстрирует современные методы измерений и указывает путь развития оптической микроскопии.

Книга начинается с описания физических основ распространения света в веществе. Однако, дорогой читатель, если Вы нетерпеливы и желаете пропустить часть I, краткий обзор основных вопросов двух первых глав дан в следующих трех параграфах.

### **1.1.1. Технология – структура – свойства**

При постановке исследования одной из самых трудных задач является определение необходимого объема работы. Важнейшая задача микроскописта состоит в исследовании стабильности технологии производства детали, которая должна нести требуемые нагрузки. По существу, это является контролем качества технологического процесса. Размеры детали могут варьироваться в пределах от нескольких сантиметров до многих метров, а в последнее время появились и мелкие детали нанометрового масштаба ( $10^{-9}$  м). Диапазон исследований теперь охватывает нано-, микро- и мезоуровни, как показано на рис. 1.1.



**Рис. 1.1.** (а) – Изображение особенностей наномасштабного размера ( $10^{-9}$ – $10^{-6}$  м) в пленке полиэтилентерфалата, полученное при помощи профилометра ВУКО; (b) – особенности микромасштабного уровня ( $10^{-6}$  –  $10^{-3}$  м) в армированном волокнистом композите; (с) – особенности мезомасштабного уровня на поперечном сечении вертолетного винта ( $10^{-3}$  –  $10^{-1}$  м), полученные объединением нескольких кадров высокого разрешения.

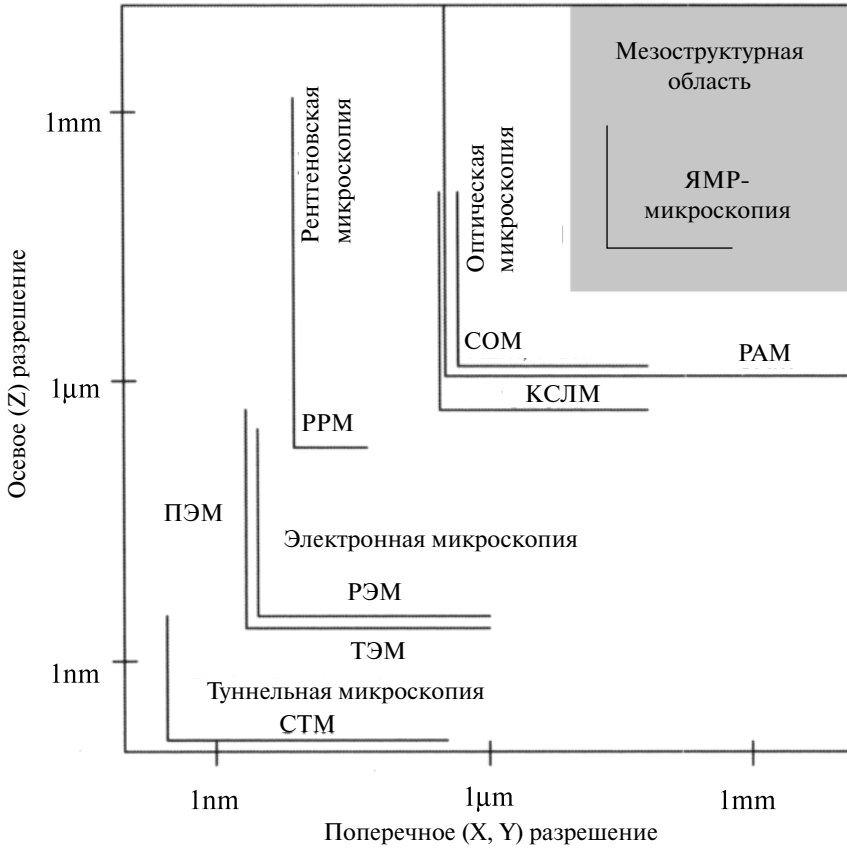
Разработка в последние 50 лет высокопрочных композиционных материалов\*, армированных стеклянными и углеродными волокнами, привела к необходимости исследования их структуры, что едва ли возможно без компьютерной микроскопии. Вплоть до самого последнего времени материалы разрабатывали, изменяя параметры технологического процесса и фиксируя изменение контролируемых макроскопических свойств. Изучение микроструктуры позволяет ускорить и облегчить этот процесс путем выяснения причины разрушения и изучения связи технологии со структурой материала.

### 1.1.2. Оптические и неоптические методы

Одна из целей микроскопии состоит в описании трехмерной структуры материала. Если материал изотропный и его свойства не зависят от направления в пространстве, размер  $A$  особенностей микроструктуры (в направлениях  $x$ ,  $y$  и  $z$ ) может быть измерен при помощи электромагнитной или акустической волны, если ее длина  $\lambda$  меньше  $A$ . На рис. 1.2 дан обзор пределов пространственного решения различных методов исследования структуры, описанных в частях II и III.

\* В Советском Союзе первые стеклопластики были разработаны А.К.Буровым на 15 лет раньше, чем в Великобритании, и использовались в обшивке военных самолетов уже во время Великой Отечественной войны. – *Прим. редактора перевода.*





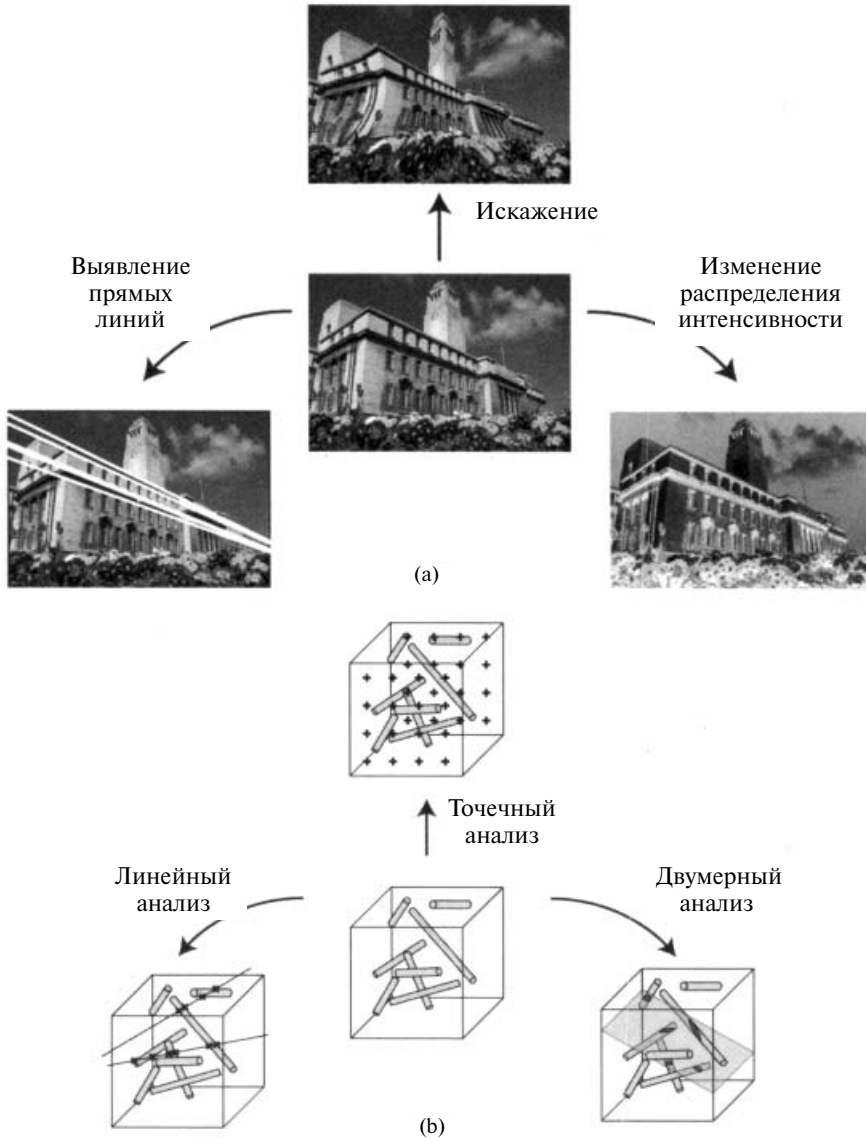
**Рис. 1.2.** Пределы пространственного разрешения различных методов. КСЛМ – конфокальная сканирующая лазерная микроскопия, РАМ – растровая акустическая микроскопия, ЯМР – ядерный магнитный резонанс, РЭМ – растровая электронная микроскопия, СТМ – сканирующая туннельная микроскопия, РРМ – растровая рентгеновская микроскопия. ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия, РЭМ – растровая электронная микроскопия, АСМ – атомно-силовая микроскопия, СТМ – сканирующая туннельная микроскопия, КОМ – сканирующая оптическая микроскопия.

До середины двадцатого столетия считалось, что предел разрешения микроскопа ограничен длиной световой волны (параграф 1.4.1). Достичь нанометрового разрешения и получить изображение индивидуального атома удалось только после появления неоптических приборов типа сканирующего туннельного микроскопа (СТМ) и атомно-силового микроскопа.

### 1.1.3. Возможности автоматизированных микроскопов

Имеется несколько способов увеличения функциональных возможностей обычного микроскопа при помощи компьютера. Во-первых, компьютер ускоряет процесс получения изображения. Во-вторых, он позволяет преобразовать изоб-

ражение для улучшения контраста (чтобы были лучше видны определенные особенности) и снижения уровня шума (посредством фильтрования и суммирования сигнала). В-третьих, компьютер позволяет интерпретировать изображение и

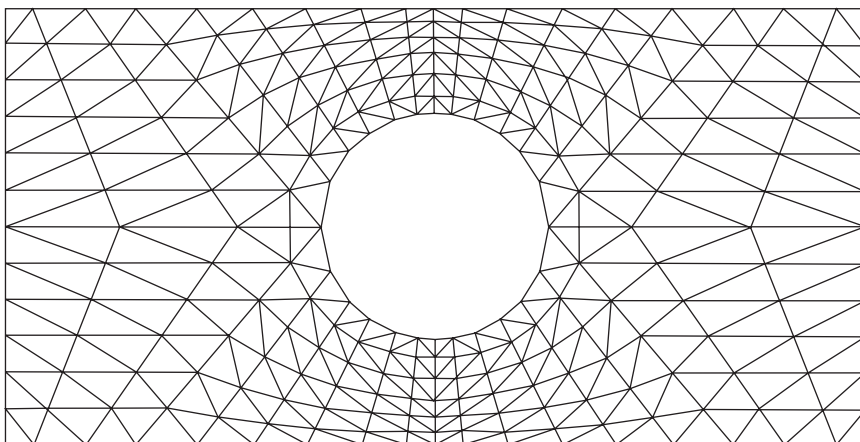


**Рис. 1.3.** (а) – Цифровое изображение можно анализировать и преобразовывать при помощи различных программ для выявления определенных особенностей, изменения контраста или получения специальных визуальных эффектов; (б) – стереология разрабатывает объективные методы измерения размеров особенностей. Области выборки могут быть точечными, линейными или двумерными. Отметим, что при интерпретации двумерных изображений гетерогенных структур нужно проявлять осторожность.

уменьшить субъективные ошибки оператора (например, при подсчете количества объектов или оценке их длины). Трехмерная интерпретация 2D-изображений осуществляется стереологическими методами, требующими выполнения множества вычислений, для чего компьютер практически идеален. Краткий обзор стереологии и методов обработки изображений приведен на рис. 1.3.

#### 1.1.4. Моделирование и визуализация трехмерных объектов

Постоянно возрастающая мощь компьютера позволяет применять методы математического моделирования для исследования влияния технологии на структуру и свойства материала. Наиболее популярным методом моделирования сегодня является метод конечных элементов (рис. 1.4). Он основан на делении анализируемой структуры на множество мелких элементов простой формы. К модели прикладывают силу и вычисляют напряжение и деформацию в узлах сетки. Этим методом можно моделировать поведение детали при изменении температуры, влажности и других параметров.



**Рис. 1.4.** Одним из важнейших методов компьютерного моделирования является метод конечных элементов, в котором материал разбивается на сетку мелких элементов. Для каждого элемента рассчитываются физические переменные и обеспечивается непрерывность числовых значений напряжения в узлах сетки.

Достоинством компьютерного моделирования является возможность построить виртуальную 3D-структуру исходя из набора 2D-изображений. При этом можно получить 2D-сечение трехмерного массива данных. На рис. 1.5 показана трехмерная структура армированного стеклопластика, полученная методом конфокальной сканирующей лазерной микроскопии.

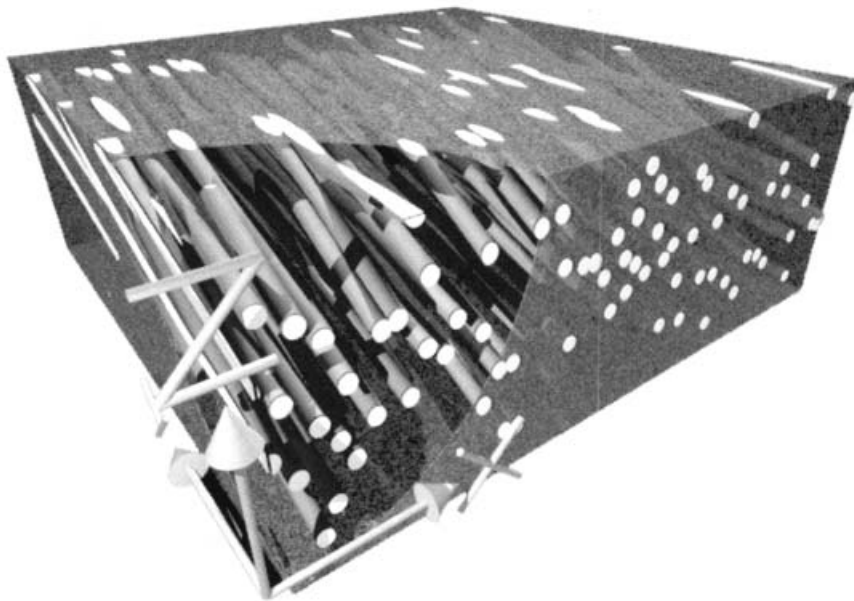
## 1.2. Характеристики электромагнитного излучения

И сказал Бог: да будет свет. И стал свет.

*Бытие 1,3.*

### 1.2.1. Математическое моделирование и физическая реальность

Подобно автору Бытия, мы примем в этой книге прагматический подход к основному игроку в оптической микроскопии – свету. Философы и ученые пытались выяснить природу света в течение многих тысячелетий. В этой области достигнуты большие успехи, но даже теория Струн (являющаяся самым последним кандидатом на построение Великой всеобщей теории всего сущего) [1] требует некоторой доли веры для принятия теоретической модели, пытающейся объяснить связь между силами, элементарными частицами и светом. Почему? Потому что при попытках трактовать процессы субатомного мира приходится использовать лишь аналогии с нашим бытовым опытом. Что еще важнее, даже наиболее чувствительные приборы не могут непосредственно измерять характеристики субатомных явлений. Как следствие, невозможно получить прямое экспериментальное подтверждение новых теорий, аналогичное подтверждениям предсказаний классической механики в быту или астрономии.



**Рис. 1.5.** Трехмерная структура стеклопластика, полученная методом конфокальной сканирующей лазерной микроскопии. При построении изображения использовали штриховку.

К счастью, при изучении структуры материала его достаточно описать на наноуровне ( $10^{-9}$  м), не прибегая к описанию элементарных частиц ( $10^{-20}$  м). Более