

# 单粒子束精确定位照射装置在 CR-39 膜上刻蚀中国地图边界研究\*

张俊<sup>1)</sup> 王旭飞 胡智文 陈连运 王晓华 李军 吴瑜  
陈斌 胡素华 许明亮 吴李君 余增亮<sup>2)</sup>

(中国科学院等离子体物理研究所离子束生物工程学重点实验室 合肥 230031)

**摘要** 采用自编写的图像处理程序把中国地图处理成为边界点阵图,并根据点阵图每点的坐标位置,利用中国第 1 台单粒子束精确定位照射装置提供的单质子束在 CR-39 膜上几百  $\mu\text{m} \times$  几百  $\mu\text{m}$  的范围内辐照并刻蚀出中国地图边界.研究表明,该单粒子束精确定位照射装置计数准确(98%),定位精确(平均误差小于  $3\mu\text{m}$ ),辐照路径算法选择合理(近邻法),预测值和实测值吻合程度高,可以满足刻蚀 CR-39 膜微图像和生物细胞辐照实验的要求.

**关键词** 单粒子 CR-39 膜 近邻法 中国地图 微细加工

## 1 引言

单粒子束精确定位照射装置是指将辐照生物细胞或材料等的粒子束斑缩小到  $\mu\text{m}$  尺度并能对辐照的离子进行定量计数和控制的装置<sup>[1]</sup>.该装置能够控制单一或精确数量的离子入射到细胞或材料的不同部位中,为研究细胞间的通讯,细胞的损伤修复,辐射育种,致癌机理,防伪技术研究,材料表面微加工等方面提供了高技术实验平台<sup>[2,3]</sup>.美国 Columbia 大学 1994 年建成世界上第 1 台可用于生物实验的单粒子束装置,接着英国 Gray 实验室于 1997 年建成,到目前为止世界可用于生物实验的单粒子束装置共有 15 台<sup>[4,5]</sup>.

中国科学院等离子体物理研究所承担的“十五”国家重点攻关项目和中国科学院重大设备研制项目“单粒子束细胞精确定位照射装置”<sup>[6]</sup>(图 1)于 2002 年研制成功后,在 2004 年又上一个新台阶.能量为 3.5MeV 的质子束通过内径为  $1\mu\text{m}$  的毛细玻璃管后,单能性好,流强度高,平均可达 20000 个粒子/s,质

子刚进入空气中能量约为 2MeV.日本原子力研究所利用 460MeV 的 Ar 离子在 CR-39 上刻蚀出一个日本达摩吉祥娃娃(daruma)的头像来展现单粒子束单细胞辐照装置的性能<sup>[7]</sup>.对于我国的单粒子束装置也可采用类似的方法来展现其精确控制单个粒子辐照的性能以及微图像刻蚀加工的能力.

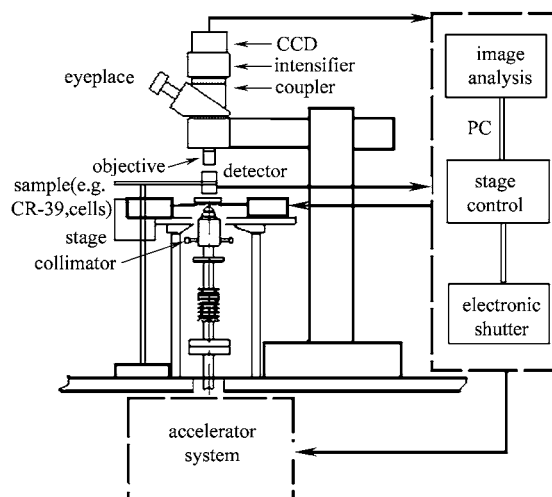


图 1 单粒子束精确定位照射系统示意图

2004-04-27 收稿

\*“十五”国家重点攻关项目(2001BA302B)和中国科学院重大设备研制项目(19875054)资助

1) E-mail: zhangjunwork@sina.com

2) 通讯作者 E-mail: zlyu@ipp.ac.cn

本文研究单粒子束装置在 CR-39 上刻蚀中国地图边界,分析实验结果并得出单粒子束微刻图像时辐照性能.

## 2 实验

实验仪器:中国科学院离子束生物工程学重点实验室单粒子束精确定位照射装置,Leica 激光共聚焦显微镜,可控硅控温水浴锅.

实验材料:CR-39 膜(11mm × 10mm × 0.8mm),NaOH 溶液(6.25M),3 $\mu\text{m}$  Mylar 膜,7 $\mu\text{m}$  铝箔,18 $\mu\text{m}$  闪烁体.

软件:自编写的图像处理、粒子计数、载物台控制、电子开关控制程序,VB,Delphi,Matlab.

实验步骤:

1)单粒子束产生:调试单粒子束精确定位辐照系统提供的质子微束,获得单质子束.

2)能谱调试:实验中质子穿过 3.5 $\mu\text{m}$  真空封膜、7 $\mu\text{m}$  铝箔、18 $\mu\text{m}$  闪烁体和 3.5 $\mu\text{m}$  Mylar 膜后,能量约为 2MeV(图 2),流强约 800 个/ $\mu\text{m}^2 \cdot \text{s}$ .

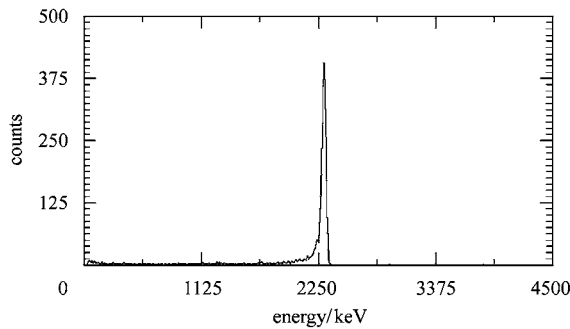


图 2 单能质子束能谱图

3)粒子入射点(坐标原点)确定:质子束轰击 18 $\mu\text{m}$  闪烁体,闪烁体发出弱光,把对应的光斑定为辐照原点.

4)粒子计数:利用光电倍增管收集闪烁光子,采用单道甄别方式进行粒子计数.计入质子激发闪烁体发射光子数(150—180 光子/质子).

5)中国地图边界点阵图的坐标获取和辐照路径的选择:根据中国政区地图<sup>[8]</sup>,自编软件提取出中国地图边界,以 3—4 个像素的间隔把中国地图边界分别预处理成两个中国地图边界点阵图.中国地图边界点阵图输入到控制 PC 中的图像处理系统处理,以质子入射点为原点,得到各点相对坐标,采用近邻法程序在 1ms 内寻找出辐照路径.

6)辐照单粒子中国地图:在电子开关控制程序、粒子计数检测器和样品架控制程序的协同工作下,根据图像处理程序得到的中国地图边界各点相对坐标值,按近邻路径依次在 CR-39 膜每个对应点上辐照一个质子.辐照时候为了保证装置的稳定性,平均每点做了适当延时,总机时约 2min.

7)刻蚀 CR-39 膜:把配置好的 6.25M 的 NaOH 溶液放到 70 $^{\circ}\text{C}$  的可控硅控温水浴锅里,把辐照过的 CR-39 放到该 NaOH 溶液中刻蚀 2—3h.

8)拍摄照片:冲洗和晾干 CR-39 膜,在激光共聚焦显微镜下拍摄照片.

## 3 实验结果与分析

实验中分别依照标准底图加工处理成的点阵图在 CR-39 膜上刻蚀的中国地图边界点阵图如图 3 所示.

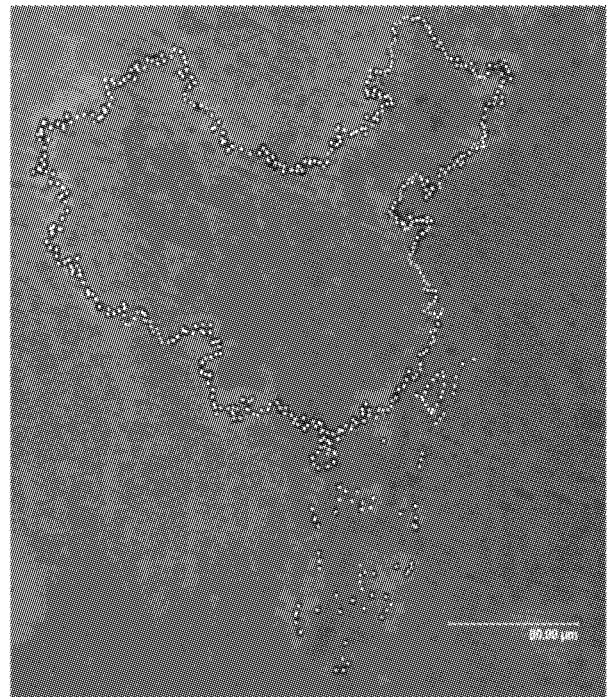


图 3 单粒子束在 CR-39 膜上刻蚀的中国地图边界点阵

经测量,地图的范围小于 300 $\mu\text{m}$  × 350 $\mu\text{m}$ , CR-39 上对应点蚀刻后的深度都大约在 100 $\mu\text{m}$ —200 $\mu\text{m}$  之间,所以这是一幅 3 维的微图像.取中国大陆边界点阵分析,相邻点之间的平均距离为 4 $\mu\text{m}$ .

刻蚀的实测总点数和预测总点数的比例: 618/630 = 98%.这说明系统的计数准确性可达到 98%,满足生物实验的要求<sup>[9,10]</sup>.少点的原因主要有 3 点:

1) 本实验采用后探测法探测粒子数,少数粒子穿过

闪烁体发光并被计数后,和闪烁体分子、闪烁体与 CR-39 膜之间的空气分子和 Mylar 膜分子碰撞而损失大部分能量,无法打到 CR-39 膜上或在 CR-39 膜上留下辐照点痕迹<sup>[11]</sup>.2) 部分光噪声热噪声和电噪声的干扰,造成误计数.3) 少数粒子刻蚀痕迹与 CR-39 膜背景噪声重叠,图像处理去噪时候,粒子刻蚀痕迹与重叠噪声一起被滤掉.

刻蚀点辐照位置准确性分析:均方差误差分别为  $1.7\mu\text{m}$ .造成误差的主要原因:粒子从瞄准器出来后要经过铝铂、闪烁体、Mylar 膜和空气,有一定散射才能打到 CR-39 上<sup>[12]</sup>.用 matlab 把地图预测点和实测点的距离差(误差)从小到大的排序后作图,再转化为误差——不大于该误差的粒子数百分比的关系图——图 4 后可以看出,95% 以上的点落在以对应预测点为圆心、半径为  $3.5\mu\text{m}$  的圆内,分辨率达到  $7\mu\text{m}$ ,而相同概率下日本的原子力所用来辐照日本达摩吉祥娃娃(daruma)的单细胞精确定位照射系统的分辨率仅为  $10\mu\text{m}$ <sup>[7]</sup>.与用 TRIM2000 模拟得到的结果类似,99% 的粒子可辐照到半径为  $5\mu\text{m}$  的圆内,这和英国的 Gray 实验室的单粒子束装置(99% 在  $4.52\text{—}6.53\mu\text{m}$  的圆内)的位置精度接近<sup>[13]</sup>.该精度满足单粒子束刻蚀简单微图像的要求.因为大多数生物实验中辐照的真核细胞的直径一般为  $10\text{—}40\mu\text{m}$ <sup>[14]</sup>,所以本装置识别和定位的准确性也满足普通的生物体精确粒子辐照实验的要求.如果要进一步提高辐照位置准确性,除了改进程序外,减少样品架上 Mylar 膜和瞄准器之间的空气厚度也是可行的方法之一.

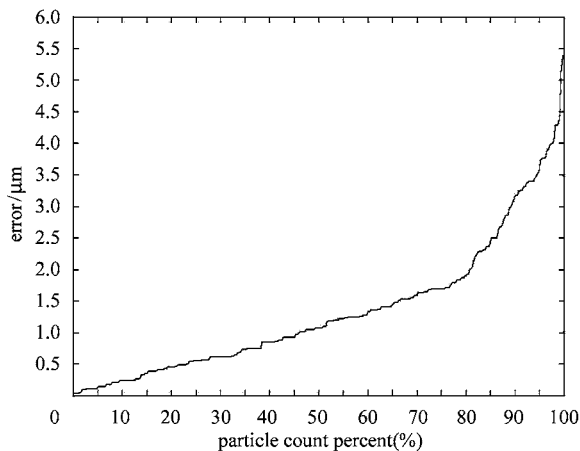


图 4 中国地图边界点阵图预测点和刻蚀点的距离误差

CR-39 膜上刻蚀点形状分析:点的形状基本都是圆形;CR-39 膜上刻蚀点的平均直径约为  $0.8\mu\text{m}$ .一般说来,在 NaOH 溶液 ( $6.25\text{M}$ ) 里浸泡的时间越长,单粒子辐照痕迹的刻蚀直径越大<sup>[15]</sup>.

辐照时间分析:辐照一幅间隔约为  $4\mu\text{m}$ 、总点数约为 600 的中国地图仅需要约 1min,该时间包括了辐照、移动样片架和程序延时的时间;平均每点耗时约 100ms.这个速度对刻蚀少量的简单微图像是足够的.虽然该方式(移动样品架加工精细图像方式)在辐照效率上比不上扫描电场方式,但是其定位精度更高.同时,由于该方式没必要把样品放到真空中,所以具有了样品替换方便和样品可以在空气中加工的优点.比如在一批 CR-39 膜上种活细胞,然后根据活细胞特点刻蚀细胞的轮廓的实验,就需要采用该方式快速替换样品和在空气中进行加工.

辐射路径的算法分析:计算辐射路径的算法对辐射图像速度有重要影响.在计算辐照中国地图边界的载物台行走路径算法的选择上,采用近邻法比采用哈密顿算法和行扫描法优.以图 3 中国地图边界为例,近邻法的路径总长约为  $5.0 \times 10^3 \mu\text{m}$ ,哈密顿算法的某次路径总长为  $8.7 \times 10^4 \mu\text{m}$ ,行扫描法路径总长约为  $2.2 \times 10^5 \mu\text{m}$ .在大多数生物细胞辐照实验中细胞的位置是随机的,这时候采用哈密顿算法较优<sup>[16]</sup>.但在辐照图像轮廓点阵的时候采用近邻法要优于行扫描法和哈密顿算法.所以在不同类型的实验中根据辐照目标图片的特点选取不同的算法,可以节约辐照总时间.

## 4 结论

本文研究表明,中国科学院等离子体物理研究所单粒子束精确定位辐照系统图像识别正确,计数准确,定位精确,可以满足生物细胞辐照实验和微图像刻蚀的要求.要进一步提高装置性能和刻蚀效果,必须改进束流的稳定性和单能性,继续设法降低实验环境中干扰,优化实验程序,尽量采用干净的 CR-39 膜,以及减少样品架 Mylar 膜和瞄准器之间的距离.同时分析数据表明,对于随机的细胞点,用哈密顿算法为优,对于图像轮廓点阵,近邻法路径长度比哈密顿算法和行扫描算法都短.

## 参考文献 (References)

- 1 YU Zeng-Liang. Introduction of Ion-Beam Engineering. Hefei: Science and Technology Publisher of Anhui, 1998. 1—2(in Chinese)  
(余增亮. 离子束生物工程导论. 合肥:安徽科技出版社, 1998. 1—2)
- 2 PENG Shi-Xiang. Research of Physical Performance of Micro Ion-beam and Design of Micro Ion-Beam System. In: Academic of Science, Institute of Plasma Physics. Doctor Papers. Hefei: Press of ASIPP, 2000. 40 (in Chinese)  
(彭士香. 微束物理性能研究和微束装置设计. 见:中国科学院等离子体所编辑. 博士论文集. 合肥:中国科学院等离子体所出版社, 2000. 40)
- 3 Zirkle R E. Advances in Biological and Medical Physics. New York: Academic Press, 1957. 103—146
- 4 Folkard M. Nucl. Instrum. Methods, 2002, **B188**: 49—54
- 5 Randers-Pehrson Gerhard. Technical Characteristic of the Columbia University Single-Ion Microbeam. Annual Report. USA: Columbia University Press, 1999. 3—6
- 6 YU Zeng-Liang. Physics, 1997, **26**: 333—338
- 7 Tomihiro Kamiya. Nucl. Instrum. Methods, 2001, **B181**: 27—31
- 8 Sinomaps Press. New Pratical Atlas of China. Beijing: Sinomaps Press, 1996. 1-1(in Chinese)  
(中国地图出版社. 最新实用中国地图册. 北京:中国地图出版社, 1996. 1-1)
- 9 Folkard M. Nucl. Instrum. Methods., 2003, **B210**: 302—307
- 10 HEI T K, WU Li-Jun, LIU Su-Xian et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, **94**: 3765—3770
- 11 WANG Xu-Fei. Design of Detector System of Single Particle Facility. In: Academic of Science, Institute of Plasma Physics. Master Papers. Hefei: Press of ASIPP, 2002. 40(in Chinese)  
(王旭飞. 单粒子束装置中探测系统的设计. 见:中国科学院等离子体所编辑. 硕士论文集. 合肥:中国科学院等离子体所出版社, 2002. 40)
- 12 Folkard M, Vojnovic B, Hollis K J et al. Int. J. Radiat. Biol., 1997, **72**: 387—395
- 13 PENG Shi-Xiang. Research of Physical Performance of Micro Ion-Beam and Design of Micro Ion-Beam System. In: Academic of Science, Institute of Plasma Physics. Doctor Papers. Hefei: Press of ASIPP, 2000. 49 (in Chinese)  
(彭士香. 微束物理性能研究和微束装置设计. 见:中国科学院等离子体所编辑. 博士论文集. 合肥:中国科学院等离子体所出版社, 2000. 49)
- 14 HAN Yi-Ren. Molecular Cell Biology. Beijing: Science Press, 2002. 57 (in Chinese)  
(韩仪仁. 分子细胞生物学. 北京:科学出版社, 2002. 57)
- 15 Togo V. Nuclear Physics, 2003, **B125**: 217—221
- 16 HU Zhi-Wen, YU Zeng-Liang, WU Li-Jun. Nucl. Instrum. Methods, 2003, **A507**: 617—621

## Single Particles Irradiating Scattergrams of China Map Profile Etched on CR-39 Film\*

ZHANG Jun<sup>1)</sup> WANG Xu-Fei HU Zhi-Wen CHEN Lian-Yun WANG Xiao-Hua LI Jun  
WU Yu CHEN Bin HU Su-Hua XU Ming-Liang WU Li-Jun YU Zeng-Liang<sup>2)</sup>  
(Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering, Institute of Plasma Physics, CAS, Hefei 230031, China)

**Abstract** High resolution scattergrams of China map profile are etched on the CR-39 film within a small area of hundreds of microns  $\times$  hundreds of microns by the AS-LIBB single proton microbeam, according to the coordinates of the standard images, which are acquired by the home-developed image-processing program. The testing results show that the single particle detection efficiency for this facility is over 98%, and the target-positioning accuracy is within  $3\mu\text{m}$ . Moreover, the near-path traversing algorithm for stage control is optimal for irradiating scattergrams of picture profile, and the dots on CR-39 film for the measured results and the expected values are quite identical. Therefore, this single particle irradiation system meets to the demands of etching micron-dimensional pictures on CR-39 film in dot manner with single particles and the needs of the biological cell irradiation experiments.

**Key words** single particle, CR-39, near path method, map of China, micro-etch

Received 27 April 2004

\* Supported by National Major Technologies R&D Program of China during the 10th Five-Year Plan Period (2001BA302B) and Magnitude Instrument Developing Project of CAS (19875054)

1) E-mail: zhangjunwork@sina.com

2) Correspondence author E-mail: zlyu@ipp.ac.cn