

# 基于 X 射线显微层析成像技术的板状化石检测方法

## Detection Method Based on X-Ray Micro-Computed Laminography for Slab-shaped Fossils

尹鹏飞<sup>1,2</sup>, 侯叶茂<sup>1,2,3</sup>, 朱敏<sup>1,2,4,\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院脊椎动物演化与人类起源重点实验室, 中国科学院古脊椎动物与古人类研究所, 北京 100044

<sup>2</sup>中国科学院生物演化与环境卓越创新中心, 北京 100044

<sup>3</sup>生命科学技术学院, 西安电子科技大学, 西安 710126

<sup>4</sup>中国科学院大学, 北京 100049

\*通讯作者邮箱: [zhumin@ivpp.ac.cn](mailto:zhumin@ivpp.ac.cn)

引用格式: 尹鹏飞, 侯叶茂, 朱敏. (2022). 基于 X 射线显微层析成像技术的板状化石检测方法. *Bio-101* e1010680. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010680.

How to cite: Yin, P. F., Hou, Y. M., and Zhu, M. (2022). Detection Method Based on X-Ray Micro-Computed Laminography for Slab-shaped Fossils. *Bio-101* e1010680. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010680. (in Chinese)

**摘要:** 在古生物学研究中, 无损获得化石内部结构信息至关重要。高精度计算机断层扫描 (Computed Tomography, CT) 技术作为一种常见的无损检测样品内部结构的方案, 在化石无损检测领域取得了极大的成功。不过, 针对特定的大尺寸薄板状化石, 常规高精度 CT 具有一定的局限性。X 射线显微层析成像技术 (Micro-Computed Laminography, CL) 利用有限角扫描的方式, 解决了板状化石高精度成像问题。本文详细描述了 X 射线显微层析成像技术检测板状化石的方法, 通过大量的实验研究, 结果表明在检测大尺寸薄板状化石时, Micro-CL 在空间分辨和密度分辨都明显优于常规高精度 CT, 有效的改善大尺寸薄板状动植物化石的内部结构成像效果, 在脊椎动物、维管植物演化研究中发挥了重要作用。

**关键词:** 计算机断层扫描技术, 层析成像技术, 板状化石, 高精度, 高衬度

## 研究背景

随着现代生物学技术在古生物学中的广泛应用，获取更多的生物学信息对古生物学研究至关重要。一些化石的生物信息，如脑颅、神经血管系统、内耳以及一些其他细微或者内部结构，在扩展我们对化石的生物性认识、以及这些结构在生物功能形态和演化研究上有很大的潜力，能为研究生命起源与演化提供关键的证据。古生物研究最初使用的经典磨片法 (Chang, 1982)，以破坏标本为代价获得其内部结构信息。后来，高精度 CT 技术作为一种无损检测手段在古生物学领域得到了广泛应用 (盖志琨等., 2013; 王燕芳等., 2019)，能够对包埋在岩石内部或者古生物化石内部组织结构、器官形态等进行无损观察研究。常规高精度 CT 通常将化石固定在一个小载物台上，将其进行 360° 旋转扫描采集并重建其三维数据做进一步研究。不过，针对特殊的大型薄板状化石，想要无损的获得其内部结构，常规高精度 CT 有一定的局限性且存在化石损坏的风险，如在长轴方向穿透样品困难甚至无法穿透，若将化石立起来穿透短轴，又容易损坏薄板化石，再则无法将感兴趣的区域足够靠近光源以实现高分辨成像。

近年来，在国家重大科学仪器设备开发专项支持下，中国科学院高能物理研究所 (The Institute of High Energy Physics of the Chinese Academy of Sciences, IHEP) 研发的国内首台新型工业 X 射线显微层析成像系统 160kV-Micro-CL (Liu *et al.*, 2015, Wei *et al.*, 2017, 尹鹏飞等., 2016)，只需将化石直接水平固定在大载物台上，通过有限角倾斜入射的方法实现高分辨三维成像。本文主要介绍使用 Micro-CL 对板状化石进行三维数据采集及重建的方法，并应用到不同门类的大型板状化石研究中，该方法相较于传统高精度 CT，能在保障样品安全的前提下，提高空间分辨率和图像衬度。

## 仪器设备

1. 新型工业 X 射线显微层析成像系统 (中国科学院高能物理研究所, IHEP-IVPP, 160kV-Micro-CL), 如图 1 所示。
2. 225 kV- $\mu$ CT (中国科学院高能物理研究所, IHEP-IVPP, 225kV- $\mu$ CT)
3. GE – Phoenix v|tome|x m 成像系统 (General Electric Measurement and Control Solutions, GE, Phoenix v|tome|x m)

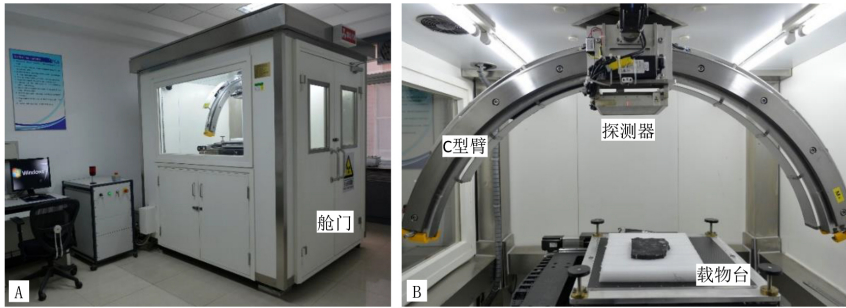


图 1. 160KV-Micro-CL 设备图 A. Micro-CL 设备外观图； B. Micro-CL 设备内部图。

软件

1. VGStudio 3.4 (Volume Graphics GmbH, <https://www.volumegraphics.com/>).

实验步骤

Micro-CL 扫描板状化石的整个流程分为三个步骤：Micro-CL 扫描前准备；Micro-CL 三维数据采集；Micro-CL 三维数据重建。整个扫描流程如图 2 所示，详细步骤如下：

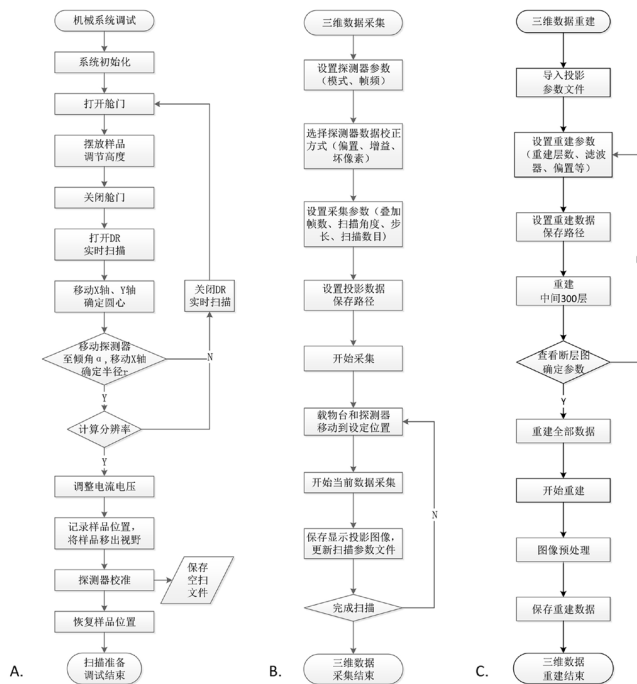


图 2. Micro-CL 扫描流程图

- A. Micro-CL 扫描前准备流程图； B. Micro-CL 三维数据采集流程图； C. Micro-

CL 三维数据重建流程图。

## 一、Micro-CL 扫描前准备

### 1. 扫描系统初始化

打开系统电源，光机抽真空、预热、聚焦，机械运动系统回零，复位。初始位置：载物台运动到正中心( $x=-150, y=-150$ ), 探测器运动到载物台正上方倾角  $\alpha=0$ , 转角  $\beta=0$ 。

### 2. 摆放固定样品

借助激光十字定位样品扫描中心，通过升降台或者垫泡沫板等方式调整样品高度。本台设备的高度范围为 0-50 cm。根据样品的大小和感兴趣区域的大小，在保证安全的情况下，调整样品高度。越靠近光源，视野越小，分辨率越高。当样品和光源的距离一定时，以载物台默认高度为测量点，记录视野大小和倾角的关系如图 3 所示，同一高度下，倾角越大，视野越大。

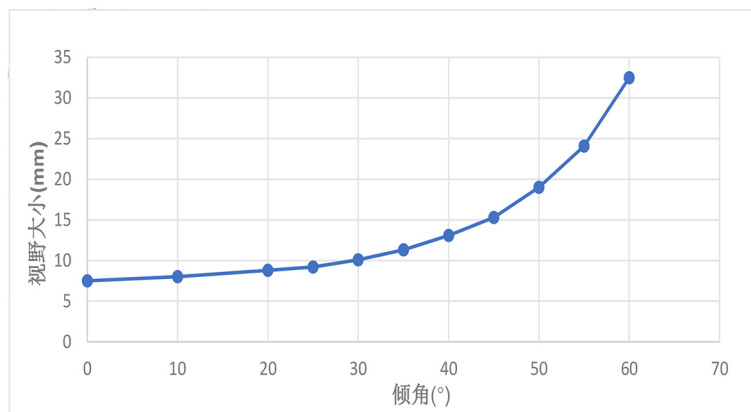


图 3. 倾角和视野大小的关系图

### 3. 调整扫描参数( $x, y, \alpha, r, U, I$ )

首先，打开 X 光用 DR (Digital Radiography) 实时扫描查看样品位置，分别沿 X、Y 轴方向移动载物台，使感兴趣区域移动到视野中心，并记录中心点即圆心的坐标 ( $x_0, y_0$ ) 以及此时的图像。当扫描对比度较差的样品时，DR 实时扫描很难直接清晰的定位感兴趣区域，此时需要借助外部标记物，常用的有铜丝、铁丝等密度大又可以贴近样品表面的物体，在正式扫描前移走。

其次，将探测器沿 C 型臂移动到某一角度  $\alpha$  ( $\alpha \in [0, 60^\circ]$ ) 时，再沿 X 轴方向移动载物台，使感兴趣区域的中心再次出现在视野中心，记录载物台在 X 轴方向相对运动距离，即为半径  $r$  ( $r \in (0, 150)$ )。若两个中心点无法重合，则适当减小倾角或者提高样品高度重新调整参数。

然后，计算空间分辨率判断是否满足用户需求。CT 空间分辨率与放大比  $M$ 、探测器像素尺寸和 X 射线源焦点尺寸等有关，放大比  $M = \text{SOD}/\text{SDD}$ ，SOD (source to object distance) 是光源到样品的距离，SDD (source to detector distance) 是光源到探测器距离。本台设备在检测板状化石时，X 射线源焦点尺寸的影响可忽略不计，空间分辨率 =  $M \times$  探测器像素尺寸，其中  $\text{SOD} = r/\sin(\alpha)$ ， $\text{SDD} = 580.5\text{mm}$ ，探测器像素尺寸 =  $0.127\text{mm}$ 。得到空间分辨率 =  $r/\sin(\alpha) / 580.5 \times 0.127$  (mm) ( $r$  为旋转半径， $\alpha$  为探测器倾斜角度)。

最后，根据 X 光穿透扫描样品后的计数值，调整扫描电压  $U$  电流  $I$ 。将样品移出视野，选择叠加数目，在探测器倾斜的状态下做偏置、增益校正，采集并保存空扫文件，重建时作为背景计数使用。恢复样品位置，并将其固定在载物台上，保证在整个扫描过程中不发生位移。

## 二、Micro-CL 三维数据采集

160kV-Micro-CL 三维数据采集主要使用投影数据获取模块，通过 X 光 DR 实时扫描检查位置并微调。设置探测器参数包括模式帧频、采集时间、叠加张数，选择探测器数据校正方式包括偏置、增益、坏像素，扫描角度为 360 度，设置采集参数、叠加帧数、扫描数目和保存路径。开始采集投影文件，当载物台移动到设定位置时，采集数据保存并显示投影图像，然后更新扫描参数文件，载物台和探测器再移动到下一个位置，依次采集，直至扫描结束。采集到的三维数据是图像尺寸为 1536\*1920 的序列图像集。

## 三、Micro-CL 三维数据重建

使用 160kV-Micro-CL 软件打开采集到的投影文件及参数文件，设置修改重建参数，包括重建起始层、终止层、选择滤波器、调节偏置等，选择保存路径，开始重建。

使用修正的 FDK 算法反投影重建出对应的三维数据，重建后的三维数据是图像尺寸为 2048\*2048 的序列图像集，后期根据需求做不同的图像处理。

## 使用案例

### 一、使用 Micro-CL 扫描化石标本案例

早期哺乳动物化石以板状形态保存的有很多，如燕辽生物群和热河生物群中的哺乳型动物。以晚侏罗世早期燕辽生物群中的阿霍氏树贼兽 (Han *et al.*, 2017) 为例，岩性为泥岩，平均厚度只有 0.3 cm，大小尺寸为 42 cm \*26 cm。对于这块超薄的板状化石标本，如果使用常规高精度 CT，需要将其立于载物台上，这样的载样方式对标本有着极高的风险。然而，使用 Micro-CL 就很安全且容易实现，将标本水平放置于 50 cm\*50 cm 的载物台上，固定后就可以进行 CL 扫描。这块标本的感兴趣区域分别是该哺乳动物的整体骨架、头部以及耳区。由于样品距离光源越近，视野越小，分辨率越高。因此，用低分辨率展现阿霍氏树贼兽的整体骨架，用高分辨率放大其头部，用超高分辨率清晰精确的再现其耳区精细结构。采用低电压 60 kV 高电流 80  $\mu$ A 的方式增强图像对比度，并针对不同尺寸的感兴趣区域设置不同的参数，具体参数详见表 1。相关扫描结果如图 4 所示，从整体聚焦到精细的耳区，展示了一个全新的哺乳动物中耳类型，为研究中生代哺乳动物中耳结构演化提供了可靠的证据，也扩展了燕辽生物群的多样性。

**表 1. 阿霍氏树贼兽标本不同区域扫描参数表**

感兴趣区域	视野尺寸 (cm)	倾角 (°)	半径 (mm)	电压 (kV)	电流 ( $\mu$ A)	分辨率 ( $\mu$ m)
整体骨架	18.0	15	100.0	60	80	84.50
头部	5.5	50	93.0	90	45	26.56
耳区	1.8	50	30.5	60	80	8.70

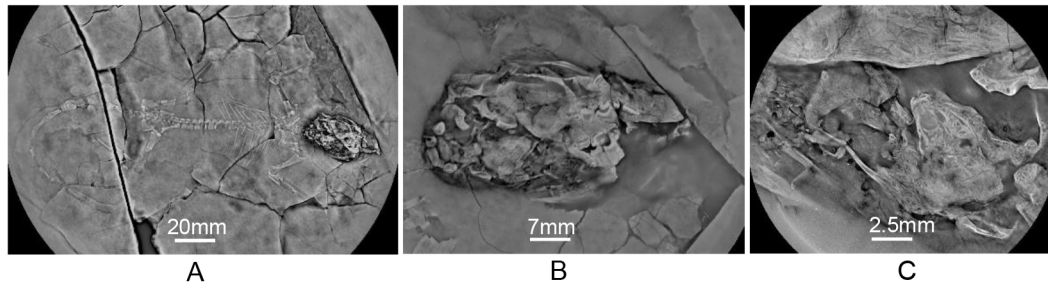


图 4. 阿霍氏树贼兽标本的 Micro-CL 断层图

A.整体骨架 Micro-CL 断层图；B.头部 Micro-CL 断层图；C.中耳 Micro-CL 断层图。

对于不同的化石类群，根据这些化石标本不同的岩性、大小、厚度、感兴趣区域等调整合适的参数，用 Micro-CL 针对感兴趣区域进行精细扫描，譬如三叠复兴鱼 (马昕莹等, 2017)、施氏慈母鸟 (Bailleul *et al.*, 2019)、谢氏红山蜥 (Dong *et al.*, 2019) 等脊椎动物，以及南京花 (Fu *et al.*, 2018) 等维管植物，详细参数如表 2 所示，相关扫描结果如图 5 所示。通过大量的化石检测，Micro-CL 无损获得了相关区域的内部高精度三维结构，为科研人员研究化石内部形态结构提供了新的证据，对于探索脊椎动物和维管植物演化具有重要意义。

表 2. 三叠复兴鱼、施氏慈母鸟、谢氏红山蜥、南京花标本扫描参数表

感兴趣区域	倾角 (°)	半径 (mm)	电压 (kV)	电流 ( $\mu$ A)	分辨率 ( $\mu$ m)
三叠复兴鱼头部	50	66.0	100	50	18.85
施氏慈母鸟腹部	40	45.5	90	50	15.49
谢氏红山蜥头部	40	29.5	70	70	10.04
南京花子房	55	36.0	90	50	9.61

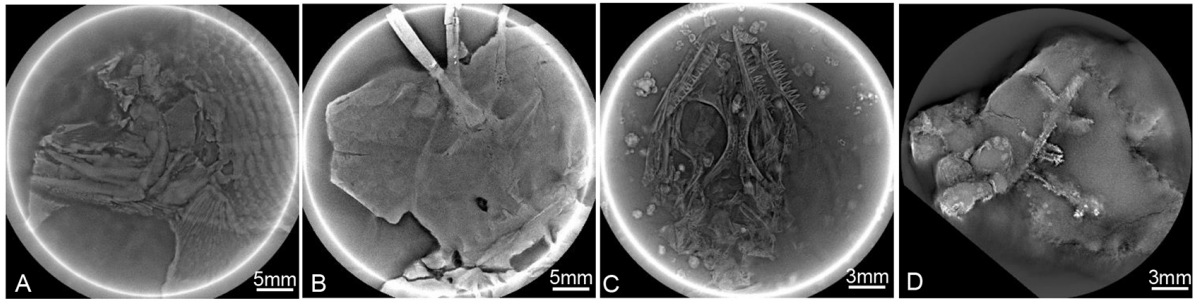


图 5. 不同标本的 Micro-CL 扫描断层图

A. 三叠复兴鱼 Micro-CL 断层图; B. 施氏慈母鸟 Micro-CL 断层图; C. 谢氏红山蜥 Micro-CL 断层图; D. 南京花的 Micro-CL 断层图。

## 二、与常规 CT 对比

对同样的标本，如果使用 225 kV- $\mu$ CT 扫描，根据标本尺寸、感兴趣区域大小位置，距光源距离按照该 CT 相关参数计算对应的空间分辨率 ( $225\text{ kV-}\mu\text{CT}$  空间分辨率 =  $\text{SOD}/1237 \times 0.194\text{mm}$ )，结果如表 3 所示。例如在扫描 18 cm 大区域时，CL 可以一次扫描完成分辨率为  $84.5\ \mu\text{m}$ ，225 kV- $\mu$ CT 单次最大视野为 9.64 cm，需要分两次扫描后期拼接，分辨率为  $62.73\ \mu\text{m}$ ；在扫描 5.5 cm 区域时，CL 比常规 CT 精度略微提高；在扫描更小区域 1.8 cm 时，由于标本尺寸限制了旋转半径，导致物体无法足够靠近光源，使得常规 CT 无法获得高分辨率成像，而 CL 可以很靠近光源，分辨率比常规 CT 有较大改善。

表 3. 扫描同一块化石 Micro-CL 和 225kV- $\mu$ CT 空间分辨率对比表

感兴趣区域名称	阿霍氏树贼兽骨架	阿霍氏树贼兽头部	阿霍氏树贼兽耳区	三叠复兴鱼头部	施氏慈母鸟腹部	谢氏红山蜥头部	南京花子房
标本大小(cm)	42*26*0.3	42*26*0.3	42*26*0.3	23*14*1.5	21*16*1.1	27*25*1.8	19*12*0.9
区域大小(cm)	18.0	5.5	1.8	3.9	3.2	2.1	2.0
225kV- $\mu$ CT SOD(cm)	40.0	22.8	13.0	16.2	13.3	15.5	10.5
Micro-CL 空间分辨率( $\mu\text{m}$ )	84.50	26.56	8.70	18.85	15.49	10.04	9.61
225kV- $\mu$ CT 空间分辨率( $\mu\text{m}$ )	62.73	35.76	20.39	25.39	20.83	24.31	16.47

另一方面，由于较大的板状化石长轴和短轴方向相差一般大于 10 倍，这就使得用常规高精度 CT 扫描这类样品时，X 光穿过长轴时所剩无几，进一步使密度分辨降低。中科院古脊椎所毛方园在研究翔兽牙齿时，分别使用 GE – Phoenix v|tome|x m 和 Micro-CL 扫描了同一块标本的同一区域，实验结果如图 6 所示，A 为 GE 常规高精度 CT 扫描的断层图，无法区分牙齿根部和密度相近的围岩；B 为 Micro-CL 扫描的断层图，可以明显区分。

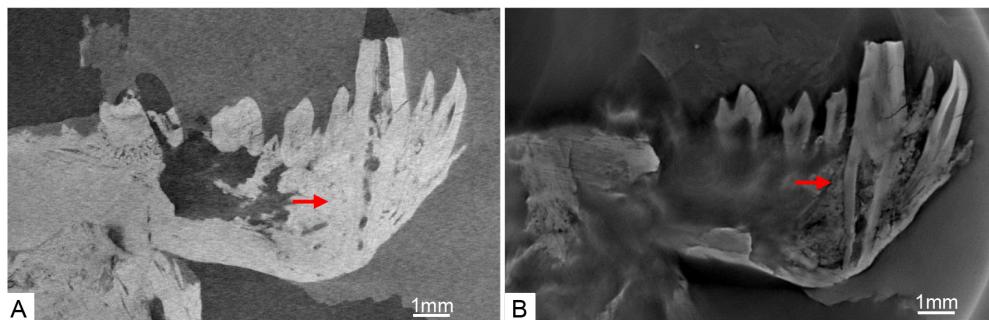


图 6. 不同设备扫描翔兽牙齿的断层图

A. GE Phoenix v|tome|x m CT 扫描断层图； B. Micro-CL 扫描断层图。

## 讨论

大量的科研实验研究表明，显微层析成像技术(Micro-CL)可以方便安全的将样品水平固定在载物台上，解决了常规高精度 CT 载样需要将化石倾斜或者垂直放置可能存在的风险；Micro-CL 扫描样品时，在一定范围内不受样品本身长宽尺寸限制，可以很靠近光源，获得比常规高精度 CT 更高的空间分辨率；同时避免了样品长轴方向计数低甚至无法穿透的问题，衬度也得到明显的提升。扫描大区域譬如 18 cm 阿霍氏树贼兽骨架时，Micro-CL 可以一次完成；扫描大尺寸样品局部微小区域譬如 1.8 cm 阿霍氏树贼兽耳区时，Micro-CL 可以达到高分辨率成像，清晰再现其内部的精细结构；扫描低对比度样品如翔兽牙齿时，Micro-CL 可以获得更好的密度分辨，可以从密度相近的围岩中分割提取出完整的牙齿结构。

## 结论

针对不同的板状化石标本，根据标本的岩性、埋藏环境、厚度、尺寸等适当调整 Micro-CL 的扫描参数，能获取并重建化石清晰的内部形态与三维结构，为古生物学研究提供大量关键的形态学基础数据。通过大量的实验研究表明，该方法在大型薄板状动植物化石的研究中发挥了非常重要的作用，支撑了一批创新成果的产出，这些成果对于研究脊椎动物和维管植物的起源、演化具有非常重要的意义。

## 致谢

感谢中国科学院古脊椎动物与古人类研究所毛方园、徐光辉、Bailleul Alida M.、董丽萍，中国科学院南京地质古生物研究所王鑫为本文提供的数据支持，感谢毛方园对本文的修改提供指导意见。本文工作得到了中国科学院战略性先导科技专项 (XDA19050102; XDB26000000); 国家自然科学基金项目 (41530102); 中国科学院前沿科学重点研究项目 QYZDJ-SSW-DQC002 联合资助。

## 利益冲突

我声明，作者没有符合 NCSP 定义的竞争利益或其他可能被认为影响本文报道的结果和讨论的竞争利益。

## 参考文献

1. Chang, M. M. (1982). The braincase of *Youngolepis*, a Lower Devonian crossopterygian from Yunnan, south-western China, Stockholm University.
2. 盖志琨, 朱敏. (2013). [显微 CT 技术在古生代鱼类研究中的应用](#). *生命科学* 25(08): 779-786.
3. 王燕芳, 魏存峰, 阙介民, 张文定, 孙翠丽, 舒岩峰, 侯叶茂, 张久昶, 戎坚, 魏龙. (2019). [古生物 CT 装置的研制及应用](#). *古脊椎动物学报* 57(01): 84-92.
4. Liu, B. D., Wei, Z. H., Wei, C. F., Wang, Y. F., Yuan, L. L., Shu, Y. F., Que, J. M., Sun, C. L., Wang, Y. X., Shao, Y. M., Chai, J. B. and Wei, L. (2015). [An Industrial Computed Laminography Imaging System](#). *Proceedings of Digital Industrial Radiology and Computed Tomography*. (DIR2015): 22-25.

5. Wei, Z. H., Yuan, L. L., Liu, B. D., Wei, C. F., Sun, C. L., Yin, P. F., & Wei, L. (2017). [A micro-CL system and its applications](#). *Review of Scientific Instruments*. 88(11): 115107
6. 尹鹏飞, 侯叶茂 (2016). [Micro-CL 成像系统在古生物中的应用](#). 2016 年全国射线数字成像与 CT 新技术研讨会论文集, 2016: 79-83.
7. Han, G., Mao, F. Y., Bi, S. D., Wang, Y. and Meng, J. (2017). [A Jurassic gliding euharamiyidan mammal with an ear of five auditory bones](#). *Nature* 551(7681): 451-456.
8. 马昕莹, 徐光辉. (2017). [云南中三叠世\(安尼期\)预言鱼目\(全骨鱼类:近鲱形类\)一新属种](#), *古脊椎动物学报*, **55**(02): 162-176.
9. Bailleul, A. M., O'Connor, J., Zhang, S., Li, Z., Wang, Q., Lamanna, M. C., Zhu, X. and Zhou, Z. (2019). [An Early Cretaceous enantiornithine \(Aves\) preserving an unlaidd egg and probable medullary bone](#). *Nat Commun* 10(1): 1275.
10. Dong, L., Wang, Y., Mou, L., Zhang, G. and Evans, S. E. (2019). [A new Jurassic lizard from China](#). *Geodiversitas* 41(16): 623-641, 619.
11. Fu, Q., Diez, J. B., Pole, M., Garcia Avila, M., Liu, Z. J., Chu, H., Hou, Y., Yin, P., Zhang, G. Q., Du, K. and Wang, X. (2018). [An unexpected noncarpellate epigynous flower from the Jurassic of China](#). *Elife* 7: e38827.