

УДК 534.6.08

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ИМПУЛЬСНОЙ АКУСТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГУБЧАТЫХ БИОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

© 2025 г. Ю. С. Петролюк<sup>1, \*</sup>, Е. А. Храмова<sup>1</sup>, К. Г. Антипова<sup>2</sup>, С. Г. Васильева<sup>3</sup>,  
А. Н. Богаченков<sup>1</sup>, А. Е. Соловченко<sup>3</sup>, Т. Е. Григорьев<sup>2, 4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля Российской академии наук», Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт элементоорганических соединений имени А. Н. Несмеянова Российской академии наук», Москва, Россия

\*e-mail: jps7@mail.ru

Поступила в редакцию 06.09.2024 г.

После доработки 16.09.2024 г.

Принята в печать 30.09.2024 г.

Предложена методика локальной оценки акустических свойств губчатых полимерных образцов, основанная на визуализации микроструктуры, измерении затухания и скорости звука. Предложенный подход является актуальным для изучения биополимерных композитных материалов и конструкций на их основе, поскольку дает возможность *in situ* наблюдать деградацию структуры под воздействием внешних факторов, а также при необходимости исследовать накопление биологических соединений.

**Ключевые слова:** акустическая микроскопия, губчатые материалы, биокompозиты, хитозан, Lobosphaera

DOI: 10.31857/S0367676525010246, EDN: CYREYA

### ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды из-за попадания в воду тяжелых металлов, молекул красителей, пестицидов, гербицидов, остатков антибиотиков и других фармацевтических препаратов могут приводить к различным опасным заболеваниям [1]. В настоящее время для очистки воды разрабатываются новые методы очистки [2], в том числе экологически безопасные пористые материалы на основе природного полимера хитозана с уникальными адсорбционными свойствами [1, 3–6]. Этот класс материалов привлекает значительное внимание благодаря нетоксичности, биосовместимости и способности к биологическому разложению. Важнейшим функциональным свойством губчатых композитов является их пористая архитектура, которая увеличивает площадь сорбирующей поверхности и обеспечивает свободную диффузию по системе микропор. Имобилизация микроорганизмов, в том числе микроводорослей

(МВ), способных к биодegradации опасных поллютантов [7], на хитозановых композитах, позволяет увеличивать эффективность процесса очистки сточных вод. Для повышения функциональных свойств, эффективности и экономичности в структуру сорбента вводят разнообразные природные наполнители [8–10], что оказывает влияние на механические и сорбционные характеристики итогового продукта. Поскольку разрабатываемый композит с иммобилизованными клетками МВ должен сохранять свою целостность при продолжительном инкубировании в водной среде, изучение его физико-химических и механических свойств является первостепенной задачей.

Самым эффективным неразрушающим методом для исследования объемной микроструктуры и упруго-механических свойств биополимерных композитов является сканирующая импульсная акустическая микроскопия (СИАМ). Метод достаточно давно и успешно применяется в материаловедении для изучения структуры и упругих

свойств неоднородных сред [11–18]. Неинвазивность метода является особенно ценной для биомедицинских исследований [18, 19], поскольку позволяет наблюдать динамику развития биообъектов *in vivo* и анализировать влияние внешних воздействий на эволюцию тканеинженерных или композитных конструкций [20–23]. Ультразвуковой контакт осуществляется с применением иммерсионной жидкости, что дает преимущества при обеспечении необходимых условий сохранения интактных биообразцов.

В данной работе метод СИАМ применялся для изучения пористых губчатых образцов на основе хитозана, сшитого глутаровым альдегидом, с функциональным наполнителем из мицелля и иммобилизованных на них клеток МВ. Помимо акустической визуализации и наблюдения микроструктуры пористого губчатого материала, исследовались скорости звука и затухание в образцах интактно и непосредственно под нагрузкой. Такой подход позволяет оценивать динамику эволюции композитных образцов с иммобилизованными на них клетками МВ, в зависимости от концентрации функциональных добавок в составе композита.

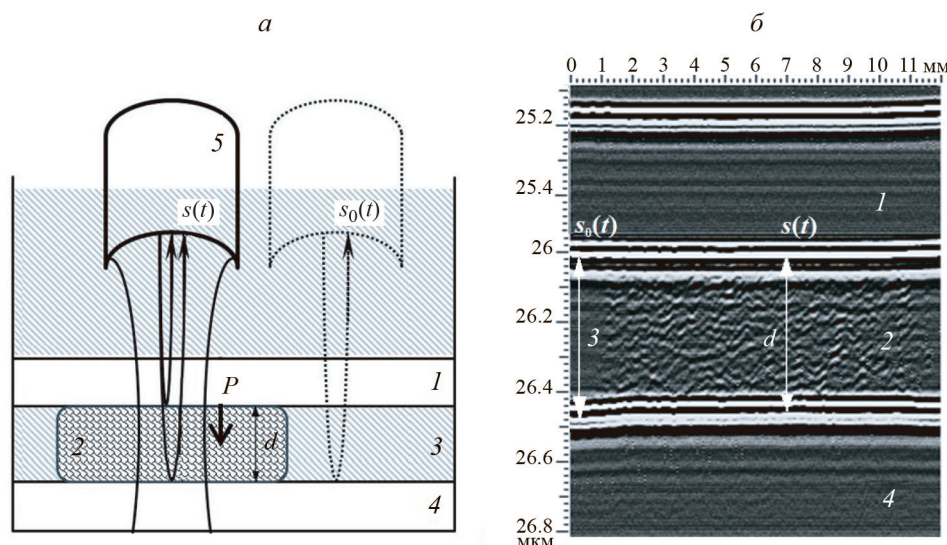
### МЕТОДЫ

В акустических системах визуализации высокого разрешения применяются импульсы фокусированного ультразвука. Объемная визуализация осуществляется короткими импульсами в 1–2 периода на основной частоте 50–200 МГц [13]. Фокусировка ультразвукового зондирующего пучка определяется его угловой апертурой [25]. Для объемной ультразвуковой визуализации используют линзы с узкой апертурой, что обеспечивает оптимальное соотношение длины и диаметра фокальной перетяжки, минимизирует абберации, деформацию фоку-

са внутри образца и позволяет избежать возбуждения поверхностных упругих волн. В данной работе использовался сканирующий акустический микроскоп, разработанный в ИБХФ РАН [13]. Номинальная частота фокусирующего преобразователя соответствовала 50 МГц. Отраженный от границы подложки с объектом эхо-сигнал оцифровывался аналого-цифровым преобразователем с частотой дискретизации 500 МГц. Напряжение на входе акустического преобразователя соответствовало 20 В. Максимум амплитуды регистрируемого эхо-сигнала определялся по его огибающей. В обводненных образцах визуализация микроструктуры осуществлялась акустической линзой с углом апертуры 30°.

Количественную оценку скорости звука и затухания, а также измерение толщины образцов выполняли акустической линзой с апертурным углом 8°. Для линзы с частотой 50 МГц диаметр фокальной области составлял 0.13 мм, а ее длина — 6 мм. В этом случае волновой фронт внутри фокальной области оказывается близок к плоскому. В изотропном образце распространяются продольные упругие волны вдоль направления оси зондирующего пучка. Каустика ультразвукового пучка трансформируется слабо при переходе из контактной среды (вода) в образец (обводненная губка из хитозана), благодаря несущественной разнице в акустических импедансах контактирующих сред.

На рис. 1 показана акустическая ячейка для измерения скорости звука и затухания, которая также позволяет измерять акустические параметры для нагруженных образцов. Нагрузка и плоскопараллельность границ обеспечиваются с помощью тонкой пластинки из полистирола, который является максимально прозрачным для ультразвука: его акустический импеданс близок к иммерсии (воде).



**Рис. 1.** Схема и акустическое изображение экспериментальной акустической ячейки: 1 и 4 — пластинка из полистирола, 2 — образец, 3 — среда для образца, 5 — излучатель,  $P$  — давление на образец.

Интактные образцы измеряются без нагрузочной пластинки.

Принимаемый акустический сигнал  $s(t)$  от нижней границы акустической ячейки между образцом и подложкой описывается выражением:

$$s(t) = A \cdot R \cdot \exp(-i\omega) \left( t - \frac{2d}{c} \right) \cdot \exp(-2d \cdot \alpha), \quad (1)$$

где  $A$  — приемопередаточная характеристика измерительной системы;  $d$  — расстояние внутри ячейки;  $c$  — скорость звука,  $\alpha$  — коэффициент затухания в биокомпозитном образце. Амплитудный коэффициент  $R$  обусловлен эффективностью отражения и прохождения зондирующего ультразвукового импульса в слоях экспериментальной ячейки и зависит от соотношения акустических импедансов контактирующих сред [26, 27]. Из выражения (1) видно, что скорость звука в образце определяется по времени прохождения эхо-импульса продольных волн в образце  $\Delta t = 2d/c$  (рис. 1). Точность измерения задержки эхо-импульсным методом зависит от выбора референсных точек внутри измеряемых сигналов. Нужно принимать во внимание, что форма эхоимпульсов может деформироваться при дефокусировании границы раздела [28, 29], а также в результате зависимости коэффициента затухания от частоты используемого звука. В нашем случае половинная частота дискретизации (250 МГц) в несколько раз превышает максимальную частоту в спектре сигнала, что позволяет выбрать более точно референтные точки внутри эхоимпульсов для увеличения разрешения сигнала.

Коэффициент затухания ультразвука в композитном образце определяется соотношением амплитуд сигналов, регистрируемых от дна акустической ячейки с образцом и без него:  $\alpha = \frac{1}{2d} \cdot 20 \times \lg \frac{s}{s_0}$  [26] (рис. 1а). При этом область фокуса позиционируется на нижнюю границу образца с подложкой, длина фокуса превышает толщину образца, а его структурные неоднородности малы по отношению к его диаметру.

### МАТЕРИАЛЫ

Композит изготавливался из хитозана ( $M_w = 500$  кДа, Биопрогресс, Россия) в водном растворе уксусной кислоты (ООО «Компонент-Реактив», Россия) и сшиванием глутаровым альдегидом (50% водный раствор, Hubei Jinghong Chemical Co. Ltd, Китай). В качестве наполнителя использовался грибной мицелий вешенок. Иммерсионную бидистиллированную воду получали на аппарате Millipore Milli-Q Synthesis (Merck, Германия).

Исходные образцы губки были приготовлены из 2% (масс.) раствора хитозана в 2% (масс.) водном растворе уксусной кислоты (УК). Для этого к 96 г бидистиллированной воды добавляли 1.96 г УК и 2 г хитозана, и перемешивали на магнитной ме-

шалке Heidolph MR Hei-Тес в течение 48 ч при комнатной температуре.

Водно-кислую суспензию мицелия готовили, добавляя 2 г сухого порошка к 98 мл 2% (масс.) раствора уксусной кислоты. Для получения сорбентов раствор хитозана и измельченной биомассы наполнителя соединяли в пропорции 1:1, 1:3, 3:1 и размешивали в течение 1 ч. Смесь помещали в ячейки 24-луночного планшета, замораживали в морозильной камере в течение 24 ч при температуре  $-24^\circ\text{C}$ , и подвергали сублимационной сушке на установке Martin Christ Alpha 2-4LSC (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Германия) 48 ч в режиме с глубиной вакуума 0.25 Мбар, затем 2 ч в режиме с глубиной вакуума 0.010 Мбар (температура конденсора  $-75^\circ\text{C}$ ). Дисперсия мицелия в хитозановом растворе имела низкую суспензионную устойчивость, что приводило к седиментации дисперсной фазы в процессе заморозки суспензии и образованию сорбентов с градиентом концентрации наполнителя от нижней поверхности губки к верхней. В качестве контрольных образцов по описанной методике были получены материалы без наполнителя.

В работе использовали альгологическую монокультуру микроводоросли (МВ) *Lobosphaera* IPPAS C-2047 (далее в тексте *Lobosphaera*) с ассоциированными гетеротрофными бактериями. Клетки *Lobosphaera* иммобилизовали на сорбентах и культивировали как описано ранее [30] в течение 30 сут.

Механические испытания набухших сорбентов проводили на универсальной разрывной машине Instron 5965 (Instron, США) при одноосном сжатии с постоянной скоростью деформации 50% в минуту при комнатной температуре. Давление осуществлялось с помощью цилиндрической плиты диаметром 25 мм. Измерения проводилось на воздухе на набухших образцах.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для анализа градиента концентрации наполнителя были изготовлены продольные срезы сорбентов толщиной 1 мм, включающий все слои. В верхней части образцов, с противоположной стороны от скопления мицелия отмечали более высокую концентрацию иммобилизованных клеток *Lobosphaera* и ассоциированных с ней бактерий. Были выделены три гетерогенные области на срезе: верхняя часть с МВ, средняя гомогенная (большая часть объема образца), и нижняя часть с мицелием.

При измерении механических свойств композита применялось одноосное сжатие, образец сжимался целиком, невозможно было учесть разницу в механических свойствах отдельных зон. Акустическая микроскопия высокого разрешения позволяет успешно дифференцировать эти области и определить их упругие свойства бесконтактным

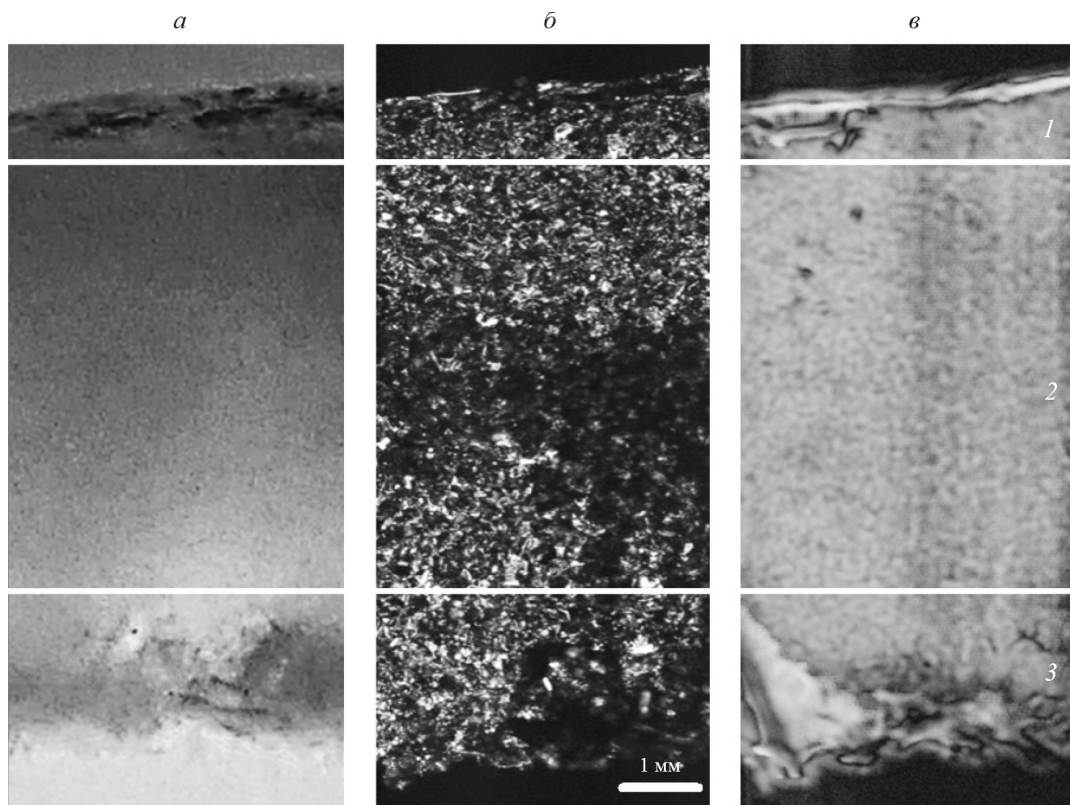
методом, а также визуализировать их микроструктуру (рис. 2).

В табл. 1 представлены количественные данные для образца 50% мицелия + 50% хитозана. Было установлено, что скорость звука и затухание варьируются в диапазоне 1496–1499 м·с<sup>-1</sup> и 0.85–2.3 дБ·мм<sup>-1</sup>, соответственно. При этом центральная область (зона 2) занимает больший объем, является наиболее гомогенной и определяет механические свойства композита в целом. Для дальнейших ультразвуковых исследований использовалась эта область.

Количественные оценки упруго-механических характеристик были получены для композитов с разной пропорцией наполнителя в матрице: 25, 50, 75 масс. % мицелия. На рис. 3 показаны эхоимпульсы продольных волн, отраженных от нижней границы “образец-подложка”. Для сравнения приведен импульс, отраженный от подложки в иммерсии (вода) без образца. Хорошо видно, что вре-

мя задержки импульса растет, а скорость звука соответственно уменьшается, с увеличением количества наполнителя (рис. 3а). Установлено, что при набухании структура композита, содержащего 75% наполнителя, по акустическим свойствам приближается к гидрогелю. Рост амплитуды эхо-сигнала с увеличением концентрации наполнителя также свидетельствует о том, что стенки губки становятся акустически более прозрачными. Предположительно, тонкие волокна мицелия интегрируются в губчатую матрицу, повышают ее гидрофильность и способствуют дополнительному набуханию. Полученные значения скорости звука и затухания в образцах разной концентрации представлены в табл. 2.

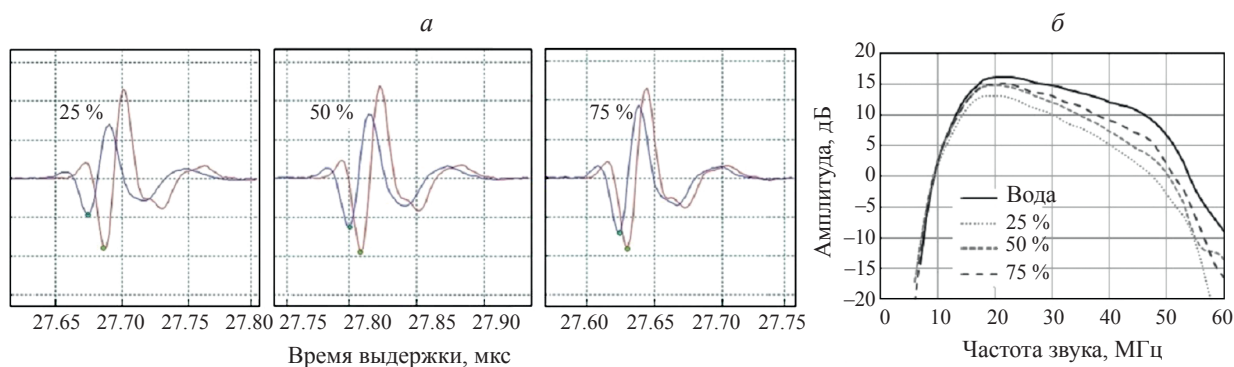
Анализ спектра полученных эхоимпульсов показывает, что ширина спектра коррелирует с количеством наполнителя в хитозане: с ростом концентрации спектр становится более широким и смещается в сторону более высоких частот (табл. 2).



**Рис. 2.** Изображения структуры биокомпозита на основе хитозановой губки с мицелием (50% + 50%) и водорослями: фото поверхности (а), акустическое изображение поверхности (б), распределение амплитуды сигнала прошедшего через образец толщиной 1 мм (в). 1 — зона максимальной концентрации водорослей, 2 — однородная центральная часть губки, 3 — неоднородная зона с макровключениями мицелия.

**Таблица 1.** Локальные акустические параметры композита на основе хитозана с наполнителем из мицелия (50% + 50%) и водорослей

Область наблюдения	Скорость звука, м/с	Затухание, дБ/мм
1. Водоросли и бактерии	1498 ± 0.6	1.50 ± 0.13
2. Гомогенная губка с мицелием и водорослями	1496 ± 0.3	0.85 ± 0.08
3. Крупные включения мицелия	1499 ± 0.6	2.30 ± 0.2



**Рис. 3.** Акустические измерения хитозановой губки с разным количеством наполнителя (мицелия) — 25, 50 и 75%: эхоимпульсы от нижней границы «образец-подложка» (а), соответствующие спектры принятых сигналов (б).

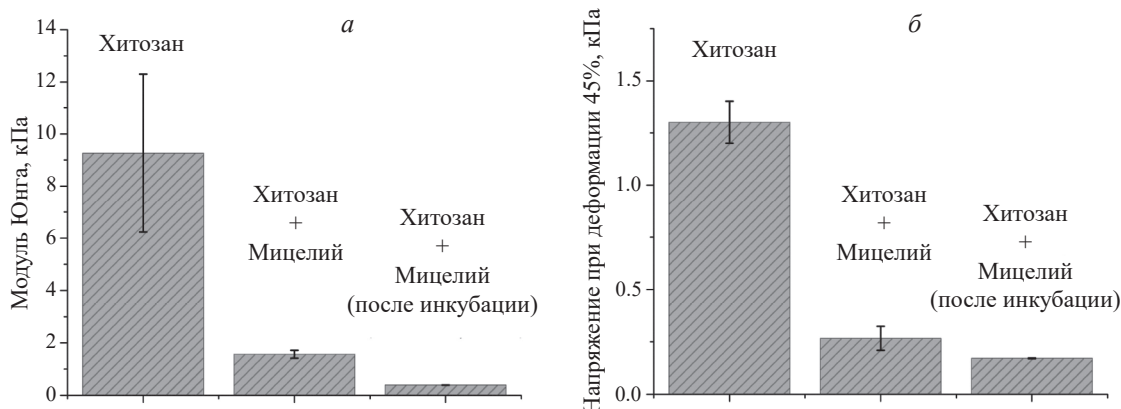
**Таблица 2.** Параметры принимаемого акустического сигнала для композита на основе хитозана с наполнителем из мицелия и водорослей

Количество наполнителя	Скорость, м/с	Затухание, дБ/мм	Максимум спектра, МГц	Полоса $\Delta f$ по уровню $-3$ дБ, МГц
25%	$1498 \pm 0.6$	$0.94 \pm 0.06$	$18.5 \pm 0.1$	$16.1 \pm 0.1$
50%	$1496 \pm 1.0$	$0.85 \pm 0.06$	$19.5 \pm 0.1$	$16.4 \pm 0.1$
75%	$1494 \pm 0.6$	$0.60 \pm 0.06$	$21.5 \pm 0.1$	$18.1 \pm 0.1$
вода	$1490 \pm 0.5$	$0.01 \pm 0.01$	$22.4 \pm 0.1$	$21.8 \pm 0.1$

Испытания губчатых образцов на сжатие, выполненные классическим методом с помощью универсальной разрывной машины показали, что наличие добавки из мицелия существенно влияет на механические характеристики композита (рис. 4). Измеренный модуль Юнга для образца с 50% содержанием наполнителя составил  $1.6 \pm 0.2$  кПа по сравнению с  $9.3 \pm 3.0$  кПа для чистого хитозана. Поскольку сорбенты данного типа будут применяться для иммобилизации МВ и последующей очистки водоемов, представляется целесообразным исследовать изменения механических свойств образцов при длительном инкубировании (30 дней). Получен, что после инкубации упругий модуль снизился в 4 раза ( $0.4 \pm 0.1$  кПа). На рисунке 4б приведены значения механического напряжения для деформации композитов 45%. По-

лученные результаты свидетельствуют, что композит после биodeградации в присутствии иммобилизованных МВ при одинаковой деформации требует меньшего напряжения ( $0.17 \pm 0.02$  кПа) по сравнению с чистым хитозаном ( $1.30 \pm 0.1$  кПа) и интактным композитом ( $0.27 \pm 0.06$  кПа).

Под нагрузкой также были измерены значения скорости звука и затухания в образцах с разной концентрацией мицелия после биodeградации. Установлено, что величины скорости звука и затухания растут с увеличением приложенной нагрузки. В отличие от более хрупких образцов с низким содержанием наполнителя (25 и 50%) для композита с высоким содержанием (75%) мицелия, затухание почти не изменяется с ростом нагрузки, что может быть связано с высокой обводненностью его структуры.



**Рис. 4.** Механические характеристики композита с 50% содержанием наполнителя: модуль Юнга при одноосном сжатии (а), напряжение при деформации 45% (б).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представлены акустические изображения структуры высокопористых композитных образцов на основе хитозана с разным содержанием наполнителя из грибного мицелия, описана методика измерения скорости звука и затухания для таких образцов с помощью СИАМ метода, в том числе под нагрузкой в иммерсии.

Механические испытания позволили установить влияние концентрации наполнителя на упруго-механические характеристики хитозановой губчатой матрицы. Существенное снижение упругого модуля композита при наличии наполнителя вероятно обусловлено разной степенью набухания хитозана и мицелия. Это приводит к возникновению дополнительных напряжений на стенках пор, приводящих к ускоренной потере ими устойчивости и необратимой деформации образца при более низких нагрузках.

Акустическая микроскопия позволила определить неоднородность губчатых композитов с наполнителем, выделить гомогенную зону и измерить акустические свойства отдельных фракций в объеме композита. Также было выявлено снижение механических характеристик сорбента в результате биодеградации при длительном инкубировании (30 сут) в присутствии МВ и ассоциированных гетеротрофных бактерий. Результаты показали высокую чувствительность микроакустических измерений к изменениям упругих свойств под действием внешних факторов, таких как: наличие биоактивной компоненты, гидролиз и биодеградация, давление, механических нагрузок. Полученные данные и предложенные методики в перспективе будут служить основой для оценки типа и количества адсорбированных загрязнителей, что актуально для исследований в области зеленых технологий.

Ультразвуковые исследования образцов выполнены в рамках государственного задания ИБХФ РАН (№ 122041400112-8); изготовление сорбентов и изучение их механических свойств; иммобилизация микроводорослей и культивирование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-44-00006).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Peluso G., Petillo O., Ranieri M. et al.* // *Biomaterials*. 1994. V. 15. P. 1215.
2. *Магомедов К.Э., Омелянчик А.С., Воронцов С.А. и др.* // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2023. Т. 87. № 6. С. 819; *Magomedov K.E., Omelyanchik A.S., Vorontsov S.A. et al.* // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2023. V. 87. No. 6. P. 720.
3. *Fiebrig I., Harding S.E., Stokke B.T. et al.* // *Eur. J. Pharm. Sci.* 1994. V. 2. P. 185.
4. *Grzybek P., Jakubski Ł., Dudek G.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. Art. No. 9932.
5. *Wujcicki Ł., Kluczka J.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. Art. No. 12060.
6. *Wujcicki Ł., Mandok T., Budzinska–Lipka W. et al.* // *Sci. Reports*. 2023. V. 13. Art. No. 13049.
7. *Vasilieva S., Lukyanov A., Antipova C. et al.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. No. 13. Art. No. 10988.
8. *Kluczka J.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. P. 554.
9. *Kluczka J.* // *Polymers*. 2020. V. 12. Art. No. 635.
10. *Lingait D., Rahagude R., Gaharwar S.S. et al.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2024. V. 257. Art. No. 128676.
11. *Briggs A., Kolosov O.* *Acoustic microscopy*. Oxford University Press, 2009. 380 p.
12. *Yu H.* // *Appl. Microscopy*. 2020. V. 50. No. 25. P. 3.
13. *Zakutailov K.V., Levin V.M., Petronyuk Y.S.* // *Inorg. Mater.* 2010. V. 46. No. 15. P. 655.
14. *Anastasiadis P., Zinin P.* // *Open Neuroimag. J.* 2018. V. 12. P. 69.
15. *Levin V., Petronyuk Y., Morokov E. et al.* // *Phys. Stat. Sol. B*. 2016. V. 253. P. 1952.
16. *Петронюк Ю.С., Морокков Е.С., Левин В.М.* // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2015. Т. 79. № 10. С. 1425; *Petronyuk Y.S., Morokov E.S., Levin V.M.* // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2015. V. 79. No. 10. P. 1268.
17. *Петронюк Ю.С., Рыжова Т.Б., Левин В.М.* // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2022. Т. 86. № 1. С. 110; *Petronyuk Y.S., Levin V.M., Ryzhova T.B.* // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2022. V. 86. No. 1. P. 74.
18. *Khramtsova E., Morokov E., Antipova C. et al.* // *Polymers*. 2022. V. 14. No. 17. Art. No. 3526.
19. *Ngwa W., Luo W., Katanyi A. et al.* // *J. Microscopy*. 2005. V. 218. No. 3. P. 208.
20. *Hozumi N., Yoshida S., Kobayashi K.* // *Ultrasonics*. 2019. V. 99. Art. No. 105966.
21. *Kim E.V., Petronyuk Y.S., Guseynov N.A. et al.* // *Bull. Exp. Bio. Med.* 2021. V. 170. No. 3. P. 356.
22. *Петронюк Ю.С., Трофимова Н.Н., Зак П.П. и др.* // *Хим. физика*. 2022. Т. 41. № 2. С. 27.
23. *Ruland A., Chen X., Khansari A. et al.* // *Soft Matter*. 2018. V. 14. No. 35. P. 7228.
24. *Куликова О.Р., Храмова Е.А., Антипова К.Г. и др.* // *Биомедицина*. 2021. Т. 17. № 3Е. С. 42.
25. *Мэзон У.* *Физическая акустика. Т. 1. Методы и приборы ультразвуковых исследований.* М.: Мир, 1966. 592 с.
26. *Salzer R.* *Biomedical imaging: principles and applications.* John Wiley & Sons Inc., 2012. 441 p.
27. *Петронюк Ю.С., Титов С.А., Богаченков А.Н. и др.* // *Изв. РАН. Сер. физ.* 2023. Т. 87. № 1. С. 84; *Petronyuk Y.S., Titov S.A., Bogachenkov A.N. et al.* // *Bull. Russ. Acad. Sci. Phys.* 2023. V. 87. No. 1. P. 70.
28. *Petronyuk Y.S., Levin V.M., Titov S.A.* // *Phys. Procedia*. 2015. V. 70. P. 626.
29. *Titov S.A., Levin V.M., Petronyuk Y.S.* // *Acoust. Phys.* 2017. V. 63. No. 6. P. 744.
30. *Vasilieva S., Lobakova E., Grigoriev T. et al.* // *J. Water Proc. Engin.* 2021. V. 40. Art. No. 101774.

## Application of pulsed acoustic microscopy for studying chitosan-based biocomposite sponges

Y. S. Petronyuk<sup>a, \*</sup>, E. A. Khramtsova<sup>a</sup>, K. G. Antipova<sup>b</sup>, S. G. Vasilyeva<sup>c</sup>, A. N. Bogachenkov<sup>a</sup>,  
A. E. Solovchenko<sup>c</sup>, T. E. Grigoriev<sup>b, d</sup>

<sup>a</sup> *Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences,  
Moscow, 119334 Russia*

<sup>b</sup> *National Research Centre "Kurchatov Institute",  
Moscow, 123182, Russia*

<sup>c</sup> *Lomonosov Moscow State University,  
Moscow, 119991, Russia*

<sup>d</sup> *Institute of Organoelement Compounds of the Russian Academy of Sciences,  
Moscow, 119334, Russia*

\* *e-mail: jps7@mail.ru*

We proposed a method for local assessment of acoustic properties in spongy polymer samples, based on visualizing the microstructure, measuring attenuation, and sound velocity. This approach is relevant to the study of biopolymer composite materials and their structures, as it allows for in situ observation of structural degradation under external influences, as well as investigation of the evolution of native tissue replacement, if necessary.

*Keywords:* acoustic microscopy, spongy materials, biocomposites, chitosan, Lobosphaera