

引用格式: 窦彤彤, 张普敦. 红外成像技术在高分子材料表征中的应用[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2024, 51(3): 1-21.

DOU TongTong, ZHANG PuDun. Applications of Fourier transform infrared (FT-IR) imaging in the characterization of polymers[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science), 2024, 51(3): 1-21.

红外成像技术在高分子材料表征中的应用

窦彤彤¹ 张普敦^{2*}

(1. 中国石油 石油化工研究院, 北京 102206; 2. 北京化工大学 化学学院 分析测试中心, 北京 100029)

摘要: 红外成像技术是基于官能团特征进行成像的一种先进的化学成像方法, 集红外光谱和显微分析于一体, 能够直接反映样品微区内(从微米到毫米)真实的化学组成信息和空间分布信息, 从分子水平上可视化地识别样品精细结构, 空间分辨率高, 是多组分体系样品显微分析强有力的工具。该技术自发展之初就在高分子材料分析和表征领域受到广泛关注。本文阐述了红外成像技术的基本原理, 详细介绍了红外成像系统的仪器构造与工作模式, 以及常用图像采集、图像预处理和图像分析的方法, 总结了近年来红外成像技术在高分子材料表征领域中的一些典型应用, 包括结晶和取向研究、共混物相容性研究、聚合反应及聚合物溶解、降解的可视化动力学研究、聚合物基组织工程材料的矿化研究、药物释放及微塑料分析的研究等。此外, 还对红外成像在生命科学与临床诊断方面的研究进展作了简介。最后对红外成像技术的发展趋势进行展望。希望本文能够起到抛砖引玉的作用, 帮助读者深刻理解红外成像这门先进的技术, 进一步拓展其在聚合物材料领域中的应用。

关键词: 聚合物; 红外成像; 结构表征; 图像分析

中图分类号: O657.33 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2024.03.001

引言

高分子化合物具有复杂的聚集态结构和独特的物理化学性能, 其链结构、结晶度、空间取向、形貌及形成复合材料的均匀性、相容性等都会影响最终产品的性能及其实际应用。红外光谱是表征高分子材料化学结构的最重要的方法, 它可从化学和物理两方面为聚合物提供定性及定量的表征信息。化学方面包括组成和结构的信息, 物理方面则包括构象、序列态以及取向等信息^[1]。随着人们对微观世界越来越深入的了解, 仅可对样品进行宏观总体分析的传统红外光谱法已无法满足科研人员对未知世界探索的需求。

红外成像(FT-IR imaging)技术集红外光谱和显微分析于一体, 是一种无需染色即可直接对样品进行高光谱成像(hyperspectral imaging)且不破坏样

品结构的新技术, 它能够同时给出样品中的化学组成及其在空间中的分布信息, 是一种无损化学成像(chemical imaging)技术。第一篇真正意义上的红外成像研究发表于1995年^[2], 该工作采用了128像素×128像素的InSb焦平面阵列(focal plane array detector, FPA)检测器代替之前的逐点扫描式红外显微成像(即FT-IR mapping)。近二三十年来, 红外成像技术已经将红外光谱从“点分析”扩展到“面分析”甚至“体分析”, 是多组分体系化学成分微观分析的强有力工具, 被广泛应用于聚合物、生命科学、农业科学、食品科学及法医学等领域。

本文阐述了红外成像技术的基本原理、仪器构造及工作模式, 介绍了红外成像的实验方法、数据处理方法和图像分析技术, 最后总结了近年来红外成像技术在高分子材料表征中的一些典型应用及进展。

1 基本原理及成像系统

1.1 基本原理

进行红外成像时, 首先要根据检测目的在显微镜下选择感兴趣区域(region of interest, ROI), 一般

收稿日期: 2024-01-26

第一作者: 女, 1992年生, 硕士

* 通信联系人

E-mail: zhangpd@mail.buct.edu.cn

在几平方微米~几平方毫米。样品 ROI 被“分割”为很多更小的微区,这些被“分割”的微区称作像素(pixels),它是红外成像的最小采集单元。对 ROI 的各个像素进行光谱扫描,得到其干涉图,经傅立叶变换后即可得到其光谱,再将所有像素点的光谱按采集顺序绘制二维或三维图谱,即得到所需要的红外图像。ROI 内的各组分分布情况根据特定波数下的透过率或吸光度用灰度图或 RGB 格式的彩色图显示,通过灰度大小或颜色变化反映微区内组分的空间分布及浓度变化情况。红外图像的采集可通过自动光阑调节、自动聚焦、自动校正、标记、照明等实现完全自动化。

如图 1 所示,得到的红外图像是一个三维数据立方体(data cube),该立方体包含了 ROI 被测样品组分的全部化学信息及其空间分布信息^[3]。红外图像数据集可以用矩阵 $D(x, y, \lambda)$ 表示,其中 x, y 是空间位置坐标(μm),表示样品的空间维度信息; λ 是样品的光谱维度坐标(波数或波长),代表样品化学组成及结构的信息^[3]。原始红外图像数据矩阵 D 用一个双线性模型表示^[3]

$$D = CS^T + E \quad (1)$$

式中, S^T 是由样品中包含的各纯组分的光谱构成的矩阵; C 是由任意像素点处各组分的浓度构成的矩阵; E 为真实测量时由于信号波动引起的误差矩阵,与化学组分的变化无关。

通过提取矩阵 C 的行向量,就可获取相关像素的化学组成信息(即光谱);而特定组分在 ROI 各像素间的浓度变化可通过对列向量提取得到。将矩阵 C 的列向量再卷积即可恢复其原始浓度分布的二维或三维图像。

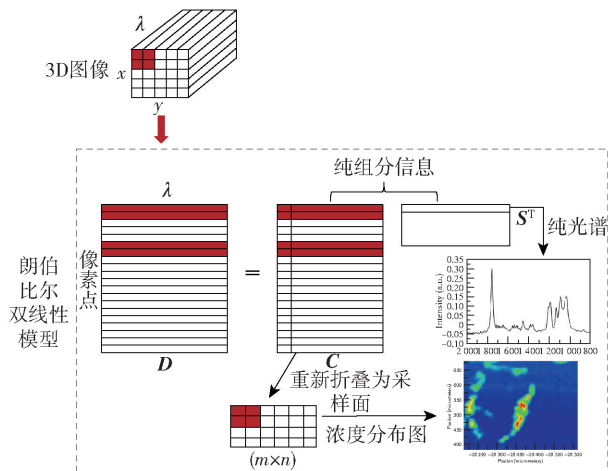


图 1 红外成像原理示意图^[3]

Fig. 1 Schematic diagram of the principle of FT-IR imaging^[3]

1.2 红外成像系统

基于宽光谱的红外成像是最常用的红外成像系统,其构成如图 2 所示^[4]。该红外成像系统主要包括 3 部分:干涉仪、红外显微镜以及成像检测系统。进行成像检测时,红外干涉光通过红外显微光学系统的物镜和聚光镜在待分析样品上聚焦,经样品吸收后进入到成像检测器,并通过计算机实现微

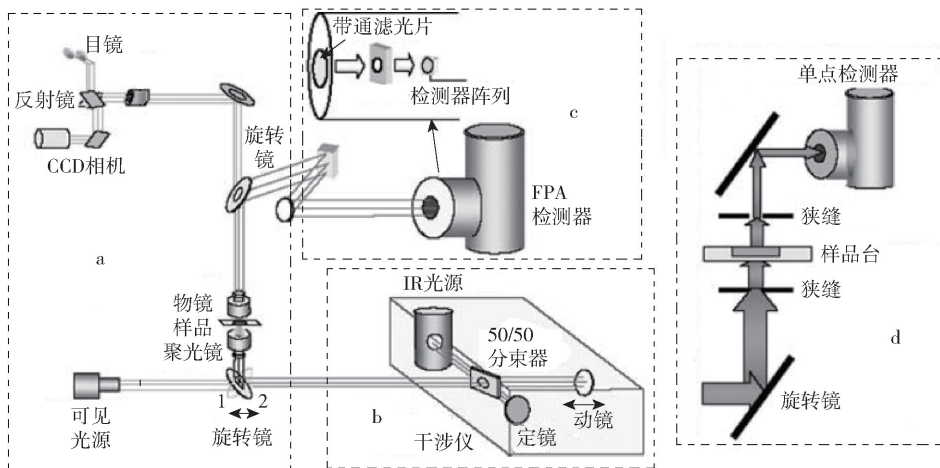


图 2 红外成像系统组成示意图^[4]。(a)红外显微镜系统;(b)干涉仪系统;(c)多通道检测器;(d)单点检测器及其光学通路(c和d的区别在于后者需要狭缝及精密样品载物台,而前者则不需要)

Fig. 2 Schematic diagram of the FT-IR imaging system^[4]. (a) IR microscope; (b) Interferometer; (c) Multi-channel detector; and (d) Single element detector and its optical path (The difference between c and d is that a slit must be provided for d while not for c)

区域内光谱信号的同步操作、数据转换及可视化。大多数红外显微光学系统都与傅立叶变换红外光谱仪主机相连,由光谱仪提供调制的干涉光,从而实现“一机两用”的目的。近年来一些仪器公司也推出了专用的显微红外成像光谱仪,其特点是体积更小、操作更方便、应用场景更专一,仪器价格也相对较低。

1.2.1 干涉仪系统

干涉仪系统分为干涉仪和光源两部分。当红外显微镜与红外光谱仪主机相连时,调制干涉光由红外光谱仪主机完成,而将红外干涉仪与标准光学显微镜集成为一体可实现传统光学显示与红外成像显示的结合,此时光调制在红外显微镜内完成。

宽光谱红外成像系统常用的红外光源大多是白炽光源,如碳硅棒、金属陶瓷棒、EVER-GLO 光源、硅化钼或硅化钼钨 ($\text{Mo}_x\text{W}_{1-x}\text{Si}_2$) 等^[5],其工作温度高 ($>1\,400\text{ K}$),有些甚至可达 $1\,900\text{ K}$ 以上。同步辐射 (synchrotron radiation, SR) 光源具有光谱宽、亮度高、发散小等特点,是红外光谱技术的新兴光源。它采用同步电场和磁场对其中的电子加速,电子沿回旋通道加速时会产生光子。该光源具有超高的亮度^[6],光束有效直径仅为 $100\text{ }\mu\text{m}$ 左右。采用这种光源的红外成像系统具有更高的空间分辨率、更大的信噪比和更高的图像采集速度^[7]。近年来也出现了一些准单色激光红外光源,最典型的就是自由电子激光 (free electron laser, FEL),它是由相对论状态电子束在波荡器 (undulator) 中做扭摆运动产生的“受激辐射”^[8-9],其特点是波长从微波到 X-射线范围连续可调、结构精细稳定、光束质量好、激光效率高。不过,基于光参量振荡或放大的激光红外光源 (OPO/OPA) 波长范围较窄 (一般小于 $5\text{ }\mu\text{m}$),需要有经验的人员进行调谐和维护,目前仅在气体分析方面有报道,很少用于有机结构分析的红外光谱设备上。采用 SR 和 FEL 作为红外成像光源,能够克服光学衍射限制导致的红外成像空间分辨率不足问题 ($\sim 10\text{ }\mu\text{m}$)。不过这两种光源在普通实验室均无法实现,因为都需要超大的回旋加速装置。目前上海同步辐射光源中心和中国科技大学同步辐射实验室 (合肥) 分别可预约进行 SR 和 FEL 的红外相关实验。量子级联激光器 (quantum cascade laser, QCL) 是一种以连续波或脉冲波模式工作的激光器,具有小型、可集成、大功率和可调谐的优点^[10],蔺百杨等^[11]采用 QCL 作为中红外光源构建了一套气体

检测系统,并用于微量 CO 气体的分析检测。该光源价格较便宜、可配套大尺寸非冷却阵列检测器,并能提供更高的信噪比,目前也在一些红外成像仪器中使用。基于 QCL 光源的激光红外成像系统无需宽光谱 FT-IR 成像的干涉仪和分束器等部件,样品吸收信号直接进入检测器,光路简单,能量损失小, QCL 的波数范围取决于光源集成的模块数及模块材料层厚,每个模块调谐范围在 $400\sim 200\text{ cm}^{-1}$ 。目前大多数 QCL 光源波数范围在 $1\,900\sim 900\text{ cm}^{-1}$,仍然存在光谱信息不全等问题。

1.2.2 红外显微镜系统

红外显微镜是红外成像系统的核心组件,通常由目镜、物镜、载物台、照明灯、可见光阑控制及聚光器组成^[3-4],能够同时满足对样品微区状态的观察及红外测量的需求。在红外显微光学系统中,一般都采用 Cassegrain 反射光学模式将红外光聚焦到样品面上。为了获得可见光区的显微照片,在光路系统中还采用了一个独立的可见光光路以及 CCD 相机。可见光视场比红外光通路大,因而可以对样品精确定位。可见光图像或红外图像可采用一系列分光镜或旋转镜进行同时观察或交替观察。

1.2.3 检测器

中红外光谱的检测器主要有热释电型氘代硫酸三甘肽 (DTGS) 检测器和光电导型碲镉汞 (MCT) 检测器。DTGS 检测器是将光信号转化为热信号,通常在室温下工作,灵敏度低,用于显微红外测试时信号太弱。MCT 检测器由半导体碲化镉和半金属化合物碲化汞混合制成,在红外光辐射下, MCT 会产生载流子,使其电导率上升。在一定范围内,光生载流子的量与入射光强成正比,通过测量光照时电导率的上升来测量光子流强度,从而实现对红外光的检测。该检测器的灵敏度、精度和响应速度都优于 DTGS 检测器,但须在液氮冷却下工作。根据 Hg、Cd 的比例组成不同, MCT 检测器又分为窄带 ($4\,000\sim 750\text{ cm}^{-1}$)、中带 ($4\,000\sim 600\text{ cm}^{-1}$) 和宽带 ($4\,000\sim 450\text{ cm}^{-1}$) 3 种类型,其中窄带灵敏度最高,为绝大多数红外显微镜采用。根据采集模式的不同,红外成像的 MCT 检测器又分为单点检测器 (single element detector) 和阵列检测器,其中阵列检测器又分为线阵列和焦平面阵列检测器。

(1) 单点检测器

单点检测器适用于绘地图模式 (mapping) 的红外成像采集。检测器上只有 1 个检测单元,尺寸一

一般为 $250\text{ }\mu\text{m} \times 250\text{ }\mu\text{m}$ 。单点检测器的光路采用双狭缝设计(图 2(d)),通过控制狭缝尺寸限制红外光束的照射面积。这种设计可以消除由于单狭缝衍射引起的光偏移,但同时也减小了光通量。为提高图像和光谱的质量,就必须增加扫描次数,这又导致对大面积样品的红外成像耗时较长,因此 mapping 模式仅适合分析面积较小的局部区域^[12]。采用超高亮度的 SR 或 FEL 光源可大大减少扫描次数,缩短采集时间,上海同步辐射光源中心就是采用这样的模式进行红外成像。采用 mapping 模式成像时,样品载物台通过程序的精确控制自动变换采样位置(编码)并逐点扫描,最后通过软件拼成一幅完整的图像(即解码)。

(2) 阵列检测器

线阵列检测器(linear array detector)是最简单的阵列检测器,一般是将一组或两组 16 个窄带 MCT 检测器排列在一起,形成 16×1 或 16×2 的线阵列检测器(也有 8×1 或 8×2 检测器),一个检测单元对应一个像素。成像时一次可同时采集线阵列上 16(或 32)个像素的响应信号并进行相应的数据处理。阵列检测器中每个像素单元的尺寸只有几到几十微米,远小于单点检测器,因而其信噪比较高(信噪比与检测单元面积的平方根成反比)。采用线阵列检测器同样需要精确控制载物台移动以获取完整的图像。但线阵列检测器在光学系统上有两个重要变化:(1)不需要狭缝,因此光通量高,其空间分辨率由光学系统决定;(2)斑点大小与检测器阵列的尺寸匹配。

焦平面阵列(FPA)检测器适用于拍照模式(imaging)的红外成像采集^[12]。FPA 检测器通常由数千到数万个独立的检测单元构成,总的检测器芯片大小为几个平方毫米。当样品采集面积与显微镜光学系统的放大倍数和检测器总大小相匹配时,即可一次成像,而不需显微镜载物台移动。常见的 FPA 检测器有 256×256 、 128×128 、 64×64 及 32×32 像素,可以同时采集数千到数万个像素点光谱。和单点及线阵列检测器相比,FPA 检测器的采集效率很高。线阵列检测器也采用照相方式,但其一次成像的面积小,因此通常需将分析区域“分割”成若干块,再分别对各块照相,然后将其组合成一幅完整的图像(类似于手机拍照设置中的“全景”模式)。线阵列检测器是单点和 FPA 检测器的结合。

不过由于 MCT 材料是通过钢焊接技术与基板

结合,并且检测器需在液氮冷却下工作,反复的热-冷循环可能导致焊接脱落以及检测器边缘分层,使检测器中出现坏像素点,并且随着使用时间的增加,这种现象会更加严重,这是目前 FPA 检测器的最大限制,也使得大像素数检测器的开发和应用受到很严峻的挑战。

2 实验方法和图像分析

2.1 采集方式

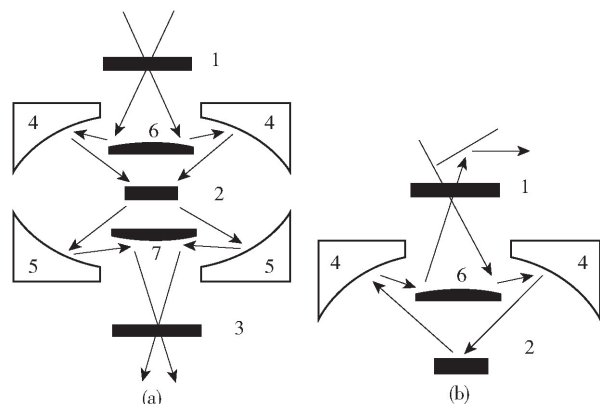
和红外光谱一样,红外成像的采集方式也包括透射成像、反射成像和衰减全内反射成像 3 种模式^[13]。红外成像一般采用 Cassegrain 光学模式,这种模式的特点是光路系统均采用反射模式将红外光聚焦到样品上,如图 3 所示。

2.1.1 透射成像

透射成像如图 3(a)所示,适合测量厚度小于 $30\text{ }\mu\text{m}$ 的薄膜、固体切片和微量液态样品^[14]。对于高分子薄膜样品,由于其易卷曲变形,需用胶带等将其固定,或将其夹在 KBr、ZnSe 等红外透明片之间再进行测量。与普通光学显微镜测量不同,透射成像需要聚焦两次,即首先通过图 3(a)的上物镜 6 将光束聚焦在样品上,6 在这里起物镜(objective)作用;然后穿透样品的红外光再通过下物镜 7 导入到成像检测器进行红外图像采集,这里 7 起聚光镜(condenser)作用。透射成像信噪比高,图像质量好,但对较厚的固体样品需先进行显微切片才可分析。由于是微区分析,切片时一定要保证切刀和冷台温度足够低,否则会出现撕裂现象,使得到的微区图像不能真实反映样品原貌。另外采用透射成像进行多组分样品分析时,样品厚度应小于或与采样区域大小相近,否则会出现伪影。

2.1.2 反射成像

反射成像如图 3(b)所示,其本质上是一种透反射(transflection)成像,适用于样品沉积或附着在具有镜面反射效应或者红外反射效应的基底上的测量。测量时,红外光首先经上物镜 4 聚焦到样品上,并穿透样品到达下方反射镜面,反射光再次穿过样品后被上物镜沿原光路聚焦并导入到成像检测器中。从图 3(b)可看出,反射成像中只有二分之一物镜用于照射样品,另一半物镜用于收集反射光,即起到透射成像的聚光镜作用。镜面反射基底包括镀有 Au、Pt、Cd、Al 等的玻璃镜面,以及一些表面光亮的金属箔片,如铝箔、铜箔等。当样品厚度过大、平整



1,3—上、下光阑;2—样品载物台;4,5—上、下物镜;6,7—上、下半球面反射镜。

图3 透射(a)和反射(b)成像光路图

Fig.3 Optical paths for transmission (a) and reflection (b) imaging

度不好时,得到的图像质量较差。

2.1.3 衰减全内反射成像

衰减全内反射成像(ATR FT-IR imaging)适用于透射和反射条件下均难以制样的样品以及需要进行表面微区分析的样品。这种方式几乎不需要对样品进行任何预处理,是非常方便的一种成像方式,且由于ATR晶体具有较高的折射率,红外成像的空间分辨率也大大提高^[15]。不过,与传统ATR方式尽可能采用多次反射来增加光程不同,ATR成像模式采用单次反射,以保留样品的空间特征。实验时将ATR晶体(单晶硅、锗或金刚石)安装到反射成像的物镜下方,升高载物台使ATR晶体与样品紧密接触,然后用mapping方式逐点采集光谱。Kazarian等^[14-19]发明了一种可采用FPA检测器的大区域成像模式,其特点是采用的ATR晶体较大,在仪器中呈倒金字塔形放置(图4)。与显微成像模式最显著的不同是红外光经过ATR晶体内反射后不再需要通过物镜聚光,而是直接进入FPA检测器,因此随检测器大小的不同成像面积的范围为 $500\text{ }\mu\text{m} \times 500\text{ }\mu\text{m} \sim 5\,000\text{ }\mu\text{m} \times 5\,000\text{ }\mu\text{m}$ 。

2.2 样品制备

用于红外成像分析的样品无需任何染色或标记,但样品通常须事先进行干燥(尤其是生物样品),也可以使用溶液铸膜法制备适合红外光谱测试的薄膜。此外,由于载物台和物镜之间距离较小,对于较厚的样品须先进行切片,特别是透射成像模式下,样品厚度一般不能超过 $30\text{ }\mu\text{m}$ 。

2.3 红外图像采集和显示

首先在亮场显微镜的视场下移动载物台使样品

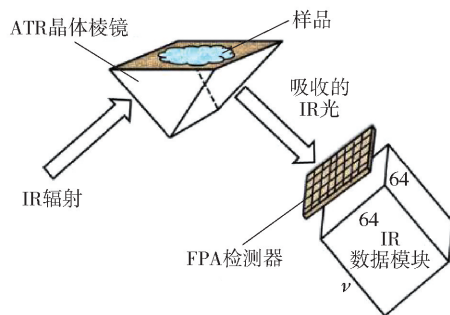


图4 大区域成像示意图^[16]

Fig.4 Schematic diagram of macro-FT-IR imaging^[16]

清晰可见,然后选择ROI,即图5(a)的红框所示(这是红外成像的实际采集区域);再将镜头换为红外显微镜物镜,通过调节载物台高度使样品在红外区域清晰可见,如果是透射模式成像,还需再调节载物台下方的聚光镜;一切就绪后即可进行红外成像采集。对于ATR成像,此时即可装上ATR镜头,然后进行图像采集。无论哪种模式,都可得到如图5(b)所示的红外图像。将光标置于图5(b)中不同像素点处,可实时显示该位置的光谱,如图5(c)所示;反过来,为了得到某一特定组分在空间中的分布,只需将光标放在光谱图中该组分的特征吸收位置(如图5(c)中的竖线),其在空间中的分布情况(图5(b))就能直观地显现出来,其中不同的RGB颜色代表了该组分在不同区域的红外吸收强度分布,亦即其浓度分布情况。

2.4 红外图像预处理

由于红外图像大多是在开放环境中采集,原始图像的质量直接受不同像素处的光谱背景、仪器噪音、总信号强度、仪器波动、出现异常像素光谱以及样品折射率变化引起的色散伪影等因素影响^[20]。为了消除或减小上述影响,提高定性和定量数据分析的稳健性和准确性,对图像进行预处理十分必要^[21]。

红外图像预处理包括图像信号预处理和图像压缩两种。图像信号预处理包括滤噪、光谱平滑、基线校正、 CO_2 抑制或扣除等,当采用ATR成像模式时,还需要对图像进行ATR校正。这些预处理方法与普通红外光谱法类似,所不同的是这里需要用一个批处理命令对图像中的所有像素光谱进行统一处理。异常像素光谱是指由于不同的仪器假象存在,某些像素在图像测量时会显示出期望的光谱读数(如光谱显著增强或降低)或出现完全异常的光谱(由FPA检测器使用过程中产生的坏像素点导

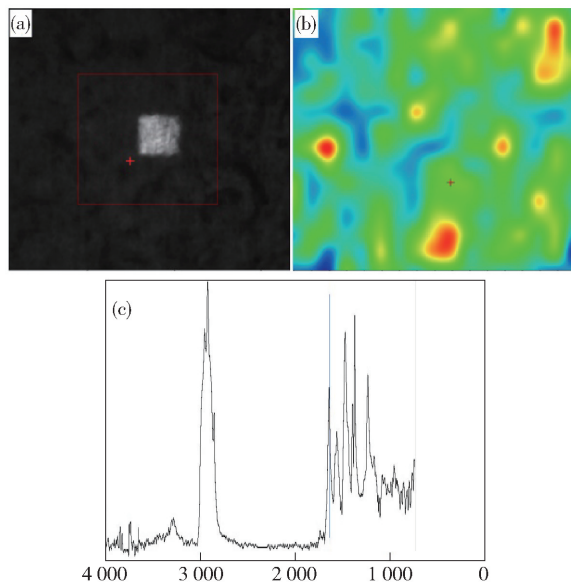


图5 氯化丁基橡胶/聚酰胺-12(CHIR/PA12)复合材料的ATR FT-IR mapping采集信息。(a) 亮场照片,红色方框为选择的ROI;(b)以酰胺I带(1656 cm^{-1})成像得到的红外图像,颜色顺序蓝-靛-绿-黄-红代表吸光度由低到高;(c) b中红色十字处的真实光谱

Fig. 5 Collection of ATR FT-IR mapping of chlorobutyl rubber/polyamide-12 (CHIR/PA-12) blends. (a) Bright field photograph of the sample, where the red square is the ROI region for FT-IR imaging; (b) The IR image generated based on the amide I band (1656 cm^{-1}), where the color order of blue-cyan-green-yellow-red represents the increase in absorbance; (c) is the true spectrum of the pixel at the red cross position of (b)

致)^[22]。异常读数和坏像素谱可用内插替换值或内插替换光谱代替,内插替换值或内插替换光谱为相邻的正常光谱读数的平均值或相邻的正常像素光谱的平均谱。

此外,红外图像占用的计算机空间很大,从几MB到几十GB不等,对如此巨大的数据进行完全分析既不可能,也没必要。因此可在保证信号质量的前提下对图像进行压缩以减少数据量。需要注意的是,图像经压缩后其空间或光谱分辨率会受损失。当前比较好的图像压缩方法是主成分分析法(principal component analysis, PCA),这种方法将数百乃至上千个原始光谱通道压缩为少数几个有意义的变量(称作主成分,PC),这几个变量仅仅是原始变量的线性组合,它们能非常有效地表达图像。

2.5 红外图像分析

红外图像分析的目的是对样品ROI内重要的化学或物理性质进行分类或量化。对经过预处理后的红外图像进行分析,大致包括以下几个步骤:

(1)对图像中包含的各组分红外光谱图进行定性分析,确定不同组分的特征官能团;

(2)依据图像中不同像素处特征官能团吸收谱带的强度分布(以不同颜色作为标尺)来确定不同组分在ROI的空间分布;

(3)根据红外光谱图提供的信息,对图像微区进行单变量分析或与化学计量学方法结合进行更深入的研究。

可以看出,对图像包含的红外光谱图进行深入分析是红外图像分析的首要步骤,也直接决定研究者对红外图像分析的深度。红外图像分析方法主要包括单变量分析和多元图像分析。

2.5.1 单变量分析

单变量分析(univariate image analysis)是最简单直观的红外图像数据处理方法^[23]。首先根据图像包含的红外光谱选择不同组分的特征谱带(选定的谱带之间尽量不要重叠,或重叠较小),并选择适当的基线和积分区间,通过批处理指令计算所有像素的峰面积或峰高,从而获得特征官能团所代表组分在空间中的真实化学分布。由于样品厚度很难保持完全一致,较宜采用峰面积比或峰高比法。吸光度比值法要求选择的参比谱带所代表组分在样品中大量存在(即作为基体),且不与待分析谱带相重叠。单变量分析法只考虑图像中少数几个光谱特征,大量的光谱维度信息被忽略。当样品中组分不完全已知或即使完全已知但各组分的吸收谱带相互重叠时,这种方法会引起较大的计算误差。

2.5.2 多元图像分析

多元图像分析(multivariate image analysis)是采用化学计量学技术对图像进行深度分析的一种较好的方法,它巧妙地利用了红外图像包含的大数据量,通过多元计算获得各种纯组分的光谱和空间信息,计算时同时考虑红外图像的空间特性和光谱特性。红外图像分析中常用的多元图像分析方法有以下几种^[3]。

1) 主成分分析

主成分分析是最常用的多元图像分析方法^[24],它将原始光谱数据分解为少数几个潜变量的双线性模型,这些潜变量称作主成分。PCA表达式为

$$\mathbf{D} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (2)$$

式中, \mathbf{D} 为光谱数据阵, \mathbf{P}^T 为载荷阵 (loadings), \mathbf{T} 为得分阵 (scores), \mathbf{E} 为误差阵。

原始图像的光谱维中存在大量重复信息, PCA 分析的目的就是将这些原始变量重新进行线性组合, 使得到的少数几个新变量 (即 PC) 在多维抽象空间中两两正交, 没有重复, 从而能最大限度地包含图像中尽可能多的数据。PC 分布一般按照它们对总方差的贡献排序, 贡献最大者为 PC1, 次大者为 PC2……, 通常只有前几个 PC 能描述与化学组成有关的光谱变化。本课题组曾系统讨论了对红外图像进行 PCA 分析时的主成分数目选择原则^[25]。

注意到, 式(2)和式(1)非常形似, 但各变量的意义不同。一般地, 式(2)中载荷阵 (\mathbf{P}^T) 的行和得分阵 (\mathbf{T}) 的列可分别解释为图像经 PCA 处理后获取的一系列抽象纯光谱及其在空间中的浓度分布。多数情况下真实光谱的主要特征在载荷谱中均能体现, 而各个 PC 的得分图也与真实组分的化学图像相似。由于 PCA 仅是对原始变量进行数学运算获得的, 得到的载荷谱和得分图中可能会出现一些负峰或负值 (由计算方法不同或过拟合引起), 因此 PC 不能直接与真实化合物相关, 但通过取绝对值等处理后仍可以有效地对图像进行解释。

图像经 PCA 处理后, 组成相似的像素应具有相似的载荷谱, 这可被用于图像聚类分析, 即在聚类算法中用载荷谱代替像素谱作为输入信息。

2) 图像聚类分析

具有相似光谱的像素一般也具有相似的组成及相似的化学、生物学性质, 采用聚类分析可将这些像素从其他组中区分出来^[26-29]。将这些像素指定为某一官能团就可基于官能团而不用基于吸光度来显示图像。图像聚类分析包括以下两大类。

①无监督和有监督聚类分析法 这两类方法的区别为无监督法采用所有未知图像来寻找像素簇或像素种类, 而有监督法采用提前定义的像素种类, 即种类模型先用已识别的像素生成, 然后再用于未知像素的种类指认。

当像素谱足够相似时, 无监督法即将这些像素指认为同一簇, 相似度可用不同方法评估。PCA 的二维得分散点图是较好的无监督聚类分析法。在散点图中, 两个 PC (经常用 PC1 和 PC2 表示) 作为两个坐标轴, 每个像素按照其相应的得分坐标用一个点表示。相似的像素在显示的 PCA 空间中聚成一

簇 (cluster), 不同簇通过对散点图的观察来定义。PCA 用于聚类分析的优点是不仅能获得不同簇, 而且从对应的载荷谱中还能够检测到不同官能团的光谱特征。其他无监督图像聚类分析法还包括空间距离法 (如欧氏距离、马氏距离、曼哈顿距离等) 和分层聚类法等。

有监督聚类分析法中每个不同种类都用一个模型描述, 这些模型将未知像素指认为预定义种类。自交互建模分类类比法 (SIMCA) 或偏最小二乘-判别分析 (PLS-DA) 是有监督聚类法中的常用算法。

②硬聚类和模糊聚类分析法 硬聚类分析中, 一个像素仅属于一类, 各个簇之间完全分开。这种聚类法更适合进行清晰分割。不过需假定已定义类之间没有重叠, 即每一类的像素谱都有完全明确且一致的光谱形状。而在模糊聚类分析中, 一个像素可能有不同的几率来归属于不同种类, 即它对所有的簇而言都有一个分数值, 亦即允许簇间产生交叠。很多真实图像中像素谱反映的是图像空间上几种化合物重叠的信号贡献, 因此在非均相图像中模糊聚类法更适合描述真实的图像性质。

图像聚类分析一般只通过像素间的光谱相似度来获得, 这种方法有助于发现样品光谱中的特征官能团。但图像中各像素之间相互并不独立, 相邻像素比相互间隔较远的像素更相似, 因此空间位置也可作为图像聚类分析的一些潜在信息使用^[30]。

3) 图像分辨

图像分辨的目的是获取每个特定成分的空间信息 (分布图) 和化学信息 (纯光谱)^[31-35]。简单交互自模式混合物分析 (SIMPLISMA) 是主要的图像分辨方法^[36]。该方法首先需预设一个初始浓度分布矩阵或一个纯组分的光谱矩阵, 然后对真实情况进行迭代搜索。由于要获取的信息都包含在原始测量数据矩阵中, 该法主要致力于在原始图像中寻找“最纯的”光谱维或像素。多元曲线分辨-交替最小二乘法 (multivariate curve resolution-alternating least squares, MCR-ALS) 能满足图像分辨的要求, 是最常用的 SIMPLISMA 方法之一。它首先通过 PCA 确定有效组分数, 然后通过给式(1)中的 \mathbf{C} 或 \mathbf{S}^T 赋一初值, 再进行交替最小二乘的迭代运算, 最终获得几个最纯的“光谱”或“浓度分布”图。本课题组采用红外成像结合 MCR-ALS 法分别对氯化丁基橡胶/聚酰胺-12 共混物 (CIIR/PA12) 和两种未知的商业聚合物盲样进行了研究^[37-38], 较方便地鉴定出其中

的共混中间体化学结构以及多个添加剂的种类。

3 典型应用

和物理成像技术相比,红外成像技术能无损地反映出微区域内的化学组成及其分布情况;相较于其他化学成像(如核磁共振成像和质谱成像),该技术又具有较高的空间分辨率和灵敏度,且无需复杂的标记和严苛的测试条件。因此红外成像自发展之初就被应用于高分子材料、生命科学、环境、法医学、考古学等多个领域,本文仅对其在高分子材料领域的一些典型应用进行介绍。

3.1 聚合物结晶和取向研究

聚合物结晶对高分子材料的生产至关重要,因为晶体结构、结晶度和形貌会影响最终产品的性能^[39]。聚合物在结晶时其红外光谱中会出现一些结晶特征谱带、某些谱带会发生偏移或谱带变锐等现象,因此红外光谱是表征聚合物结晶行为的重要手段。红外成像技术将光谱信息与空间信息结合,能够揭示成像区域内聚合物不同结构的分布情况^[40]。当用于聚合物结晶动力学或构象变化的研究时,可根据不同晶型特征峰的出现或强度增减来对其进行表征。Lu 等^[41-42]采用原位 ATR FT-IR 成像考察了共混组分 T_m 对聚(3-羟基丁酸)/聚乳酸(PHB/PLLA)共混物的等温结晶过程的影响,总结了发生相分离和结晶的条件。PHB 和 PLLA 在非晶态时其羰基(C=O)谱带分别在 1731 cm^{-1} 和 1748 cm^{-1} 处出现一个单峰,而在等温结晶过程中,结晶 PHB 位于 1720 cm^{-1} 处的 C=O 吸光度逐渐增大, 1731 cm^{-1} 处的吸光度逐渐减小;同时,结晶 PLLA 的 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 在 1756 cm^{-1} 的吸光度逐渐增大,而位于 1748 cm^{-1} 的非晶态峰逐渐减小。分别对共混物中的 1720 cm^{-1} 和 1756 cm^{-1} 峰的吸光度进行成像,即可直观看出其结晶过程和相分离的情况。从图 6 可以看出,PHB 只在结晶型 PLLA 含量少的区域结晶,同样,PLLA 也仅在结晶型 PHB 含量少的区域结晶,说明有相分离发生;此外还可看出,降低结晶温度可减小相分离程度。另外,他们的研究也表明,随 PHB 量(低 T_m 组分)的增加,相分离程度增强,结晶被延迟。这是因为开始结晶的时间越晚,其混合物相分离的时间就越长,因为结晶“冻结”了聚合物分子链,且低的 T_m 会削弱结晶的驱动力,进一步限制晶体的形成。

聚合物材料的取向结构对其力学、光学以及热

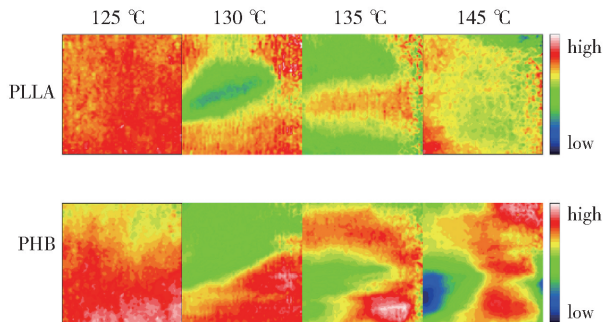


图 6 PHB/PLLA 共混物在不同温度下等温结晶 6 小时后的红外图像^[41]

Fig. 6 ATR-FT-IR images of the PHB/PLLA blend at different crystalline temperatures for 6 h^[41]

性能等有显著影响。Vogel 等^[43]采用偏振红外成像对单轴拉伸 PHB/PLA 共混物薄膜的空间取向进行了研究。取向函数 f_{\perp} 用 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 吸收谱带强度来评估

$$f_{\perp} = -2 \frac{R-1}{R+2} \quad (3)$$

式中, R 是偏振光谱中 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 吸收谱带的二向色性比($R = A_{\parallel}/A_{\perp}$)。为了进一步监测拉伸时聚合物序列态的变化,其结构吸光度 A_0 按式(4)计算。

$$A_0 = \frac{A_{\parallel} + 2A_{\perp}}{3} \quad (4)$$

式(4)的目的是消除取向效应对峰强度的影响。分别对 A_0 和 f_{\perp} 进行红外成像即可得到其序列态和取向的空间分布(图 7)。可以看出当 PHB/PLA 质量比为 50/50 时,PHB 在 PLA 基质中呈“海岛”状分布(图 7(b)和(c)),且 PHB 组分在共混物中为负取向($f_{\perp} \approx -0.4$)(图 7(d)的深蓝色岛型区域),而 PLA 组分在共混物同一位置为正取向($f_{\perp} \approx 0.3$)(图 7(e)的红色岛型区域),同时还可看出在基底中 PHB 和 PLA 的取向均轻微为正。这些结果表明:对 PHB/PLA 共混物薄膜拉伸时,两种组分的取向相反,富含 PHB 的相延展程度更大,而富含 PLA 的相延展较小。有意思的是,作者通过红外成像还证明,仅在 PHB/PLA 质量比为 50/50 时才会出现这种海岛型分布,其他比例的共混物膜均未发现这种现象。

Hikima 等^[44]采用偏振显微 ATR FT-IR 成像对 PHB 球晶的分子取向进行了系统研究,结果表明偏振红外成像能增强聚合物分子取向表征的灵敏度。他们还用这种技术对单轴拉伸聚乙烯薄膜、结晶

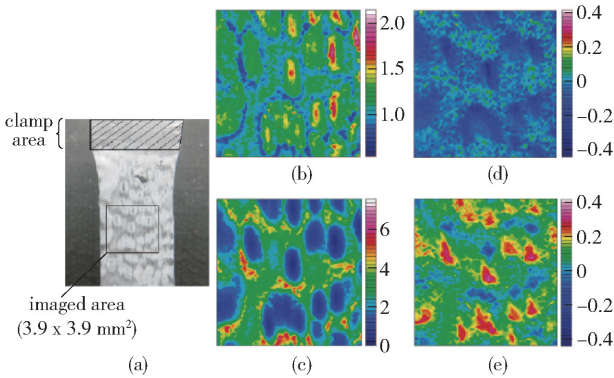


图 7 拉伸 PHB/PLA (50/50 wt%) 共混物膜的光学图像 (a) 基于 A_{OPHB}/A_{OPLA} (b) 和 A_{OPLA}/A_{OPHB} (c) 的红外图像, 以及相应的 PHB (d) 和 PLA (e) 取向函数 (f_{\perp}) 图像^[43]

Fig. 7 Optical image (a) and FT-IR images ($3.9 \times 3.9 \text{ mm}^2$) of A_{OPHB}/A_{OPLA} (b) and A_{OPLA}/A_{OPHB} (c) and the corresponding orientation function (f_{\perp}) images of PHB (d) and PLA (e) of the stretched PHB/PLA (50/50 wt %) blend film^[43]

PHB 和 PLLA 的环带状球晶的面内分子链取向进行了系统研究^[45-46], 并发展了一种图像处理算法。此外, Ishige 等^[47]也采用偏振显微 ATR FT-IR 成像对双向拉伸薄膜中芳香聚酰亚胺 (PI) 及其前驱体聚酰胺酯 (PAE) 分子取向进行了研究, 获得了微米尺度上 PI 主链和芳香亚胺平面的分子取向空间分布图。红外成像表明薄膜在 PI 主链空间分布图上具有良好的均匀性, 而在芳香亚胺平面的空间分布图上表现出非均匀性, 即“正面”和“侧面”取向域共存。红外成像结果说明在热亚胺化过程中, 刚性 PI 链的取向方向固定在 PAE 基体的平均取向方向上, 而芳香亚胺环可以绕主链旋转。

3.2 聚合物共混物相容性与相分离研究

组分之间的相容性是聚合物共混改性的关键, 直接决定聚合物复合材料的使用性能。理想的复合材料各组分之间应具有良好的相容性。红外成像是研究共混物相容性与相分离的理想方法, 本课题组在该领域做了较系统的研究工作。我们采用透射红外成像研究了两种牌号 EVA 树脂与 C5 石油树脂之间的相容性, 考查了 C5 含量 (质量分数) 对相容性的影响, 方便快捷地确定了组分间的最佳比例^[48]。此外, 我们还采用 ATR FT-IR 成像考察了增容剂聚丙烯接枝马来酸酐 (PP-g-MAH) 对 PP/PA6 相容性的影响^[49]。如图 8 所示, 每个图像左上侧数字代表

加入的 PP-g-MAH 的份数, 未加增容剂时, PP/PA6 共混物呈现出明显的宏相分离; 加入增容剂后, PP/PA6 的相容性得到显著改善; 通过红外成像还直观地得到了最佳的相容剂加入量为 6 份。进一步地, 本课题组又采用 ATR FT-IR 成像系统考察了 PP-g-MAH 对 CIIR/PA12 相容性的影响^[37], 结果显示加入 15 份增容剂即可获得最佳的相容性。而且我们采用 MCR-ALS 技术成功提取了聚合物共混过程中产生的中间相光谱, 结果表明当不加增容剂时 CIIR 和 PA12 相互作用形成酰胺类化合物 (CIIR-g-PA12); 而加入 10 份以上的相容剂后, 形成一种酰亚胺类中间相, 从而促进了 CIIR 和 PA12 的相容。基于中间相的确认, 我们进一步提出了 PP-g-MAH 对 CIIR/PA12 共混物的增容机理。在以上工作基础上, 我们又尝试将红外成像结合 MCR 技术用于对两种未知商用聚合物材料盲样的组成进行全分析, 分别鉴别出 8 种和 6 种成分, 其中大部分都是含量极低的组分, 取得很好的结果^[38]。这种方法不用冗长的分离步骤, 简便快速。

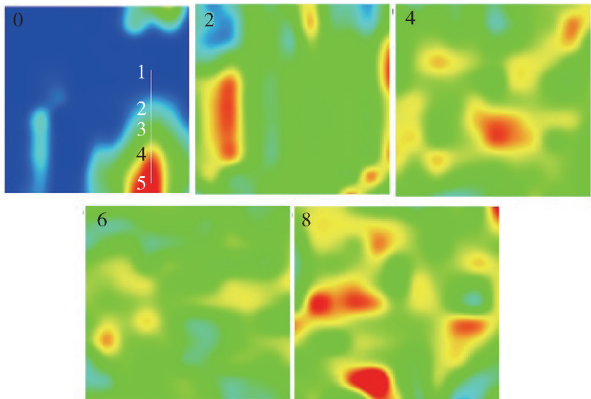


图 8 PP/PA6/PP-g-MAH 共混物的 ATR FT-IR 图像。图像尺寸为 $100 \times 100 \text{ }\mu\text{m}^2$, PP/PA6 = 70/30^[49]。未加入 PP-g-MAH 时出现明显宏相分离, 其中蓝色区为 PP, 红色区为 PA6

Fig. 8 ATR FT-IR image of PP/PA6/PP-g-MAH blends. The size of each image is $100 \times 100 \text{ }\mu\text{m}^2$. PP/PA6 = 70/30^[49]. Without PP-g-MAH, the macro-phase separation is displayed, in which blue region represents PP while red one represents PA6

表 1 总结了其他研究者采用红外成像技术在聚合物共混物相容性研究方面做的一些工作。可以看出, 该方法直观、可视、易于理解, 与物理成像方法相比, 这种化学成像方法能反映复合材料中最真实的共混情况, 从而为聚合物共混加工提供最可靠的指导。

表 1 红外成像技术在研究聚合物复合材料相容性方面的一些典型应用

Table 1 Some typical applications of FT-IR imaging in studying the miscibility of polymer composites

测定对象	主要结果	文献
明胶/HPMC 共混物	采用明胶特征峰(1 740 ~1 486 cm ⁻¹) 与 HPMC 特征峰(1 180 ~953 cm ⁻¹) 的吸光度比值进行红外成像,结果显示,明胶分子与 HPMC 分子发生相互作用,进入 HPMC 的三维网络形成结带,结带在共混物表面形成突出物;随着冷却和成膜,明胶形成三维网络结构,HPMC 和明胶分子相互纠缠形成高强度的中间相进而导致相分离。随浓度增加,明胶与 HPMC 的分子间相互作用增强,共混膜表面的突出物增大,明胶以球形或不规则形状的分相相存在	[50]
丝素蛋白共混物	采用同步加速器光源进行红外成像,结果显示,丝素蛋白与壳聚糖相容、与海藻酸钠部分相容,与 PEG 共混时发生相分离;并发现经乙醇处理后的丝素蛋白/壳聚糖混合物中,富含丝素蛋白的相和富含壳聚糖的相中丝素蛋白的 β -折叠构象含量也有所差异	[51]
超高分子量聚乙烯(UHMWPE)/再生聚酰胺 6(R-PA6) 共混物	采用同步加速器红外成像发现,在 UHMWPE/R-PA6 共混体系中,R-PA6 相呈连续分布,而 UHMWPE 相呈不连续分散;当共混物中 UHMWPE 与 R-PA6 的质量分数相差较大时,两相的分散均匀性显著降低,UHMWPE 易形成 <5 μm 的团聚体。加入少量 HDPE-g-MAH 增容剂可显著改善 UHMWPE 和 R-PA6 的相容性,减少 UHMWPE 的团聚现象;当 R-PA6 的加入量为 44wt% 时,两相在共混体系中均匀分布,表现出最佳的混相行为	[52]
PA6,6/PTFE/硅油共混物(80/18/2)	研究发现,10 ~30 μm 的 PTFE 微簇随机地分散在 PA6,6 基质中,硅油则分布在 PTFE 微簇和 PA6,6 基质的界面	[53]
聚丁二烯/邻苯二甲酸烯丙酯(PBD/DAP)	研究了硫化和未硫化的 PBD/DAP 共混物的相形态和界面区域,域尺寸和结构通过监测 C—H、C=O 以及 C—O 特征得到。随着老化进行,小颗粒会合并导致未硫化的域尺寸增大;共混物在高临界溶解温度(UCST)之上硫化时会形成外观均匀的网络结构	[54]

3.3 聚合反应及聚合物溶解的可视化动力学研究

将红外成像用于对聚合反应动力学进行可视化研究时,通常以某一参与反应的官能团特征谱带成像,通过该谱带强度的实时变化观察不同时间下同一区域红外图像的变化,从而获得相应的聚合反应动力学。这种方法直观可视,易于理解。Biswal 和 Hilt^[55]用红外成像法对一种微格化芯片上基于甲基丙烯酸(MAA)和四乙二醇甲基丙烯酸酯(TEGDMA)形成的智能水凝胶的自由基聚合过程进行可视化原位监测,通过 C=C 双键(1 636 cm⁻¹)的逐渐消失直观地展示反应的动态化进程。从图 9 中可清晰地看到 44 h 后反应完成。他们还用该法分析了微格化芯片水凝胶在紫外光聚合过程中的氧抑制效应^[56]。这些工作有助于微格化芯片工程化过程的优化。同样地,Sorber 等^[57]采用 ATR FT-IR 成像对聚丙烯酸/聚乙烯醇(PAA/PVA)水凝胶基 pH 压阻传感器的溶胀行为进行了研究,并采用 PCA 对不同溶胀条件下的光谱变化进行了分析,对几个主成分进行了识别。González-Benito^[58]也采用红外成像研究了硅烷涂层玻纤/环氧树脂的固化过程,获取了界面区 OH 基和 NH₂ 基的化学图像,图像显示从纤维表面到聚合物内部环氧基体的结构存在梯度变化。相似的思路也可用于聚合物溶解动力学研究,Koenig 等^[59]通过定量观察红外视场内 1 600

cm⁻¹、1 720 cm⁻¹以及 2 148 cm⁻¹处的吸收强度变化,对缠结聚合物聚 α -甲基苯乙烯(PAMS)在甲基异丁基酮和氘代环己烷混合溶剂(MIBK/C₆D₁₂)中的溶解行为进行了可视化观察,结果表明溶解过程并不是均匀发生的,而是首先聚合物界面发生碎裂及变粗糙,然后逐步溶解。此外在缠结聚合物中还发现溶剂分离现象,而在非缠结聚合物中却没有。另外,他们也对 PEO 在 D₂O 中的溶解行为进行了研究^[60]。

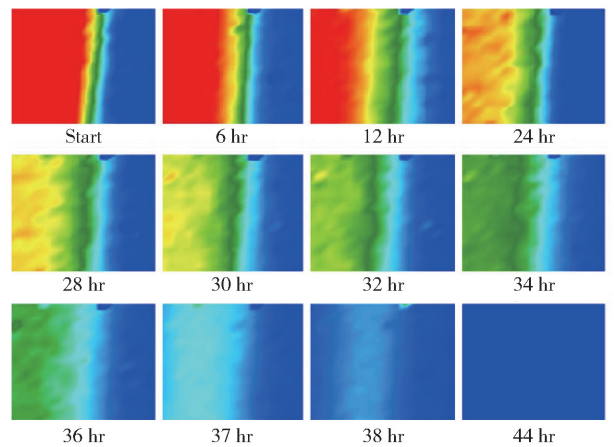


图 9 1 636 cm⁻¹峰强度随反应时间变化的实时红外图像^[55]

Fig. 9 FT-IR images of spectral slices extracted from 1 636 cm⁻¹ as a function of reaction time^[55]

3.4 聚合物降解的可视化动力学研究

降解性是聚合物性能的重要指标之一,聚合物的化学组成、分子量、微观结构、结晶度等决定了其降解性,研究聚合物的降解行为有助于人们对其使用周期进行正确评估。本课题组采用透射红外成像对聚丙烯紫外光氧化进行了系统研究^[61],用吸光度比($A_{C=O}/A_{2720}$)进行红外成像可直观地获得不同时间段 PP 光氧化的演变过程(图 10)。可以看出 PP 光氧化过程是不均匀的,这种不均匀可能与 PP 生产中引入的杂质有关。由图中还可看到,光照 8 h 后 PP 即发生轻微氧化,20 h 后氧化已较明显;随光照时间延长,氧化深度更深,氧化强度更大;当光照 60 h 时,在 100 μm 深度内几乎全部出现了光氧化特征。我们还采用 PCA 对每一阶段的图像进行深入分析,获得了不同阶段的光氧化产物。我们首次发现在光照 16 h 后产生酸酐,在 32 h 后出现羧酸酯。根据这些不同阶段的光氧化产物,我们提出了不同于以往的 PP 光氧化机理^[61]。此外,Persson 等^[62]通过监测 1 550 cm^{-1} 处三聚氰胺特征谱带的减小程度,采用 ATR FT-IR 成像对聚酯三聚氰胺涂层在加速老化和自然老化后三聚氰胺官能度的损失进行了径向深度分辨,他们发现,在 UV 和湿气的影响下,涂层最外层降解最明显;在 QUVA 老化箱加速老化 2 163 h 及暴露在海洋环境自然老化 4 年后,三聚氰

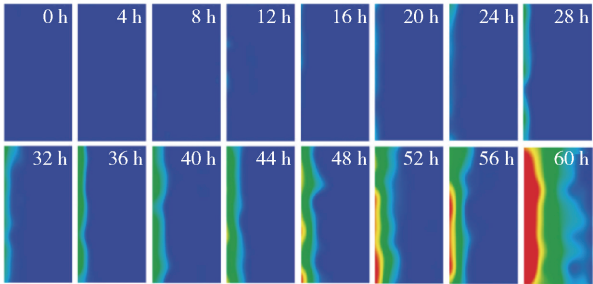


图 10 PP 在不同紫外光照时间下的红外图像。红外图像通过求取 1 800 ~ 1 660 cm^{-1} 范围的 C=O 吸光度与 2 750 ~ 2 690 cm^{-1} 范围的 C—H 峰吸光度比值而获得。图像尺寸为 200 μm × 100 μm , 图像左侧暴露在 UV 灯下^[61]

Fig. 10 FT-IR images of PP after different irradiation times. The images are generated by measuring the ratio of band area of the C=O stretch between 1 800 cm^{-1} and 1 660 cm^{-1} to that of the band between 2 750 cm^{-1} and 2 690 cm^{-1} . The image size is 200 μm × 100 μm . For each image, the left side is exposed to UV irradiation^[61]

胺官能度损失可在涂层径向深度 8 ~ 10 μm 处检测到,进一步加速老化 4 000 h 后,整个外层涂层都会降解。此外,Nagle 等^[63]也采用 ATR FT-IR 成像对乙烯-降冰片烯共聚物(Topas)的光降解行为进行了初步研究。不过,后两个工作均仅对红外图像进行单变量分析,得到的化学动态演变信息有限。

3.5 聚合物基组织工程材料的矿化研究

在组织工程应用中,生物降解材料可用于植入式医疗装置,或作为支架材料用于组织修复,因为生物材料矿化与组织愈合速率的协调性直接决定组织修复的成功程度,因此充分了解生物材料的矿化动力学和矿化机制至关重要。聚乳酸/羟基磷灰石(PLLA/HA)纳米复合材料是重要的骨组织工程材料,本课题组采用 ATR FT-IR 成像对其体外矿化进行了较系统的研究。图 11 为我们制备的一种 PLLA/HA 多孔纳米复合材料在体外降解一百余天时不同降解阶段的红外图像^[64],颜色由蓝到红代表材料表面的 HA 在增多,即 PLLA 被逐渐降解。通过对红外图像进行 PCA 分析,并对占总方差 90% 以上的 PC1 成分进行定量分析发现,该材料在模拟体液(SBF)中矿化遵循零级动力学模型,而在磷酸盐缓冲液(PBS)中降解遵循二级动力学模型,并且多孔材料的矿化速率比无孔材料高一个数量级。在此基础上我们对两种介质中不同的矿化模型机理进行了理论推导。为进一步了解 PLLA 在体外的降解行为,我们还对 PLLA 在降解过程中的结构多样性演变进行了考察,首次从分子水平上提出了其矿化机制^[65]。首先发现两组峰对(1 384 cm^{-1} /1 361 cm^{-1} 和 1 211 cm^{-1} /1 186 cm^{-1})的吸收强度比可用来区分无定型 PLLA (amor-PLLA)、 α 晶型 PLLA (α -PLLA)和 α' 晶型 PLLA (α' -PLLA)3 种形态。通过对其红外图像进行 PCA 分析发现:复合材料中 PLLA 基质的无定型和结晶、 α 和 α' 转变是一个交替变化的过程(图 12),且随着矿化进行,无定型态越来越多的过程,但 α 和 α' 的转变逐渐趋于稳定。红外成像的结果为这种组织工程材料矿化的深入研究提供了理论支持。此外我们课题组^[66]和 Kazarian 等^[67]还分别对 PLLA/生物活性玻璃的矿化过程进行了研究,Leroy 等^[68]也对 PLLA 的体外及体内降解进行了探索。

3.6 药物释放研究

口腔缓释贴片是一种由聚合物基质包覆药物的特定尺寸薄片,对吞咽胶囊或药片困难的患者是一

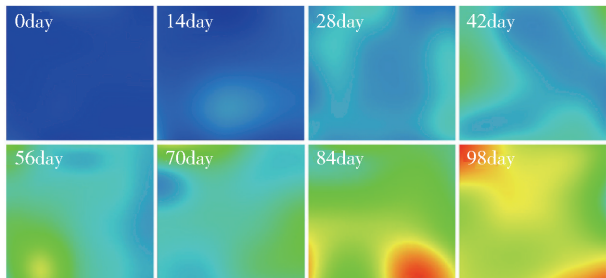


图 11 p-PLLA/HA 纳米复合材料矿化不同天数的红外图像^[64]

Fig. 11 ATR FT-IR images of p-PLLA/HA nanocomposite after mineralization for different times^[64]

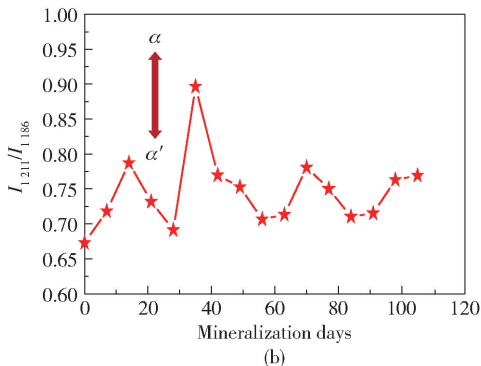
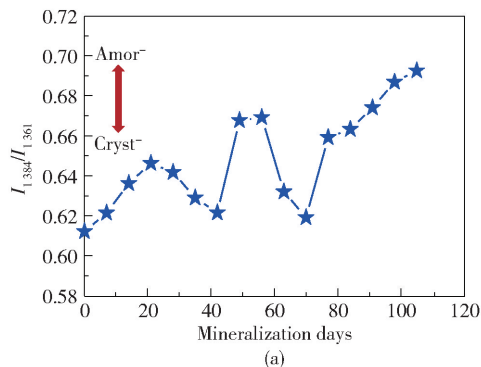


图 12 体外矿化过程中 PLLA/HA 纳米复合材料红外图像中的两峰对强度比 I_{1384}/I_{1361} (a) 和 I_{1211}/I_{1186} (b) 的变化^[65]

Fig. 12 The variation in the intensity ratios I_{1384}/I_{1361} (a) and I_{1211}/I_{1186} (b) of PLLA/HA nanocomposites during in vitro mineralization^[65]

种非常好的治疗手段。口腔缓释贴片的药物释放性能受聚合物基质的物理化学性质影响,因此了解药物和聚合物在制造过程和溶解过程中的行为有助于药物配方开发和质量控制。Hifumi 等^[69]通过改变水环境的 pH 和基膜的疏水性,采用 ATR FT-IR 成像技术研究了速释型羟丙基甲基纤维素(HPMC)基布洛芬和缓释型聚乙烯吡咯烷酮(PVP)基布洛芬两

种薄片的溶解行为。图 13 表明,药物随着水的浸入同步开始释放,HPMC 薄膜比 PVP 薄膜溶解快,此外在 HPMC 膜中能够检测到少量的结晶型布洛芬沉淀。包覆布洛芬的 HPMC 膜在溶解伊始,首先形成结晶型布洛芬并在膜上扩散,在膜吸水 1 min 后,结晶型布洛芬很快溶解;PVP 膜上则始终无结晶型布洛芬沉淀。此外,ATR FT-IR 成像还表明,较低的进水速率可防止低溶解度药物的沉淀,并可通过改变外包膜的疏水性来控制药物的释放速率。Tetteh 等^[16]将红外成像与多元目标因子分析结合对 PEG-600/H₂O 中的药物 4-氰基酚在皮肤中的扩散行为进行研究,分析了不同位置 4-氰基酚平均扩散图像的相似性。热熔挤出法可以将水溶性差的药物活性成分包裹在聚合物载体中制成固体分散剂,增加其溶解度和生物活性。振动光谱(红外和拉曼)及成像特别适合研究热熔挤出制剂的分散均匀性和药物在空间中的分布^[70]。Pudlas 等^[71]将原位流动池与红外显微成像技术结合分析了热熔挤出制剂中不同辅料对药物缓释的影响作用,结果表明药物与聚合物的相互作用以及聚合物的种类都会造成药物释放速率的差异,相互作用越强,释放速率越低。加入碳酸钠可以提高释放速率,因为它可以减弱药物和聚合物之间的相互作用,允许形成更多的水溶性布洛芬盐。

3.7 微塑料分析

2004 年 Thompson 等^[72]在“Science”上刊文,首次将微塑料(microplastics)明确定义为粒径小于 5 mm 且不溶于水的聚合物碎片或颗粒。根据尺寸大小微塑料还可进一步区分为“大”微塑料(500 μm ~ 5 mm)、“小”微塑料(1 μm ~ 500 μm)^[73]和纳米塑料(nanoplastics, < 1 μm)^[74]。微塑料对环境(包括土壤和水体)、生物以及通过食物链对人类的各种已知和未知的危害已引起科学界的广泛关注。不过,由于自然界中的微塑料尺寸小、含量低,对其进行分析面临很大挑战^[73-74]。由于红外成像微观可视,且能方便可靠地识别各种聚合物成分,并给出这些聚合物成分的丰度、形状和大小信息,因此最近十多年其已成为微塑料分析的最重要手段。

微塑料分析的第一步是采集各种代表性样品并对其进行前处理。由于微塑料浓度都非常低,水样处理时一般都需要采集大量的水(10 ~ 100 L 甚至更多);土壤或沉积物的采样需根据样品特点和采集位置不同而分别采样(表面、不同深度以及

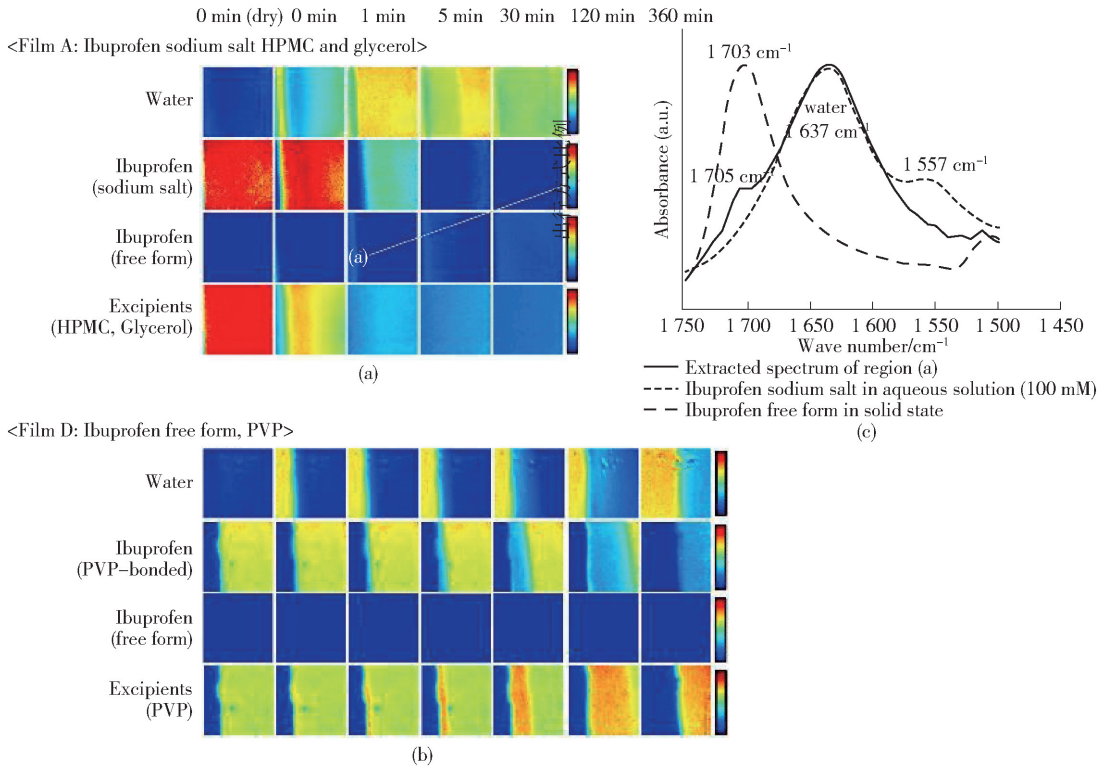


图 13 HPMC 基质薄片 (a) 和 PVP 基质 (b) 薄片溶解过程的 ATR-FTIR 图像^[69]。(c) 为图 (a) 中溶解 1 min 时提取的羰基区域 (C=O) 的光谱 (实线), 以及布洛芬及其钠盐标准物的光谱 (虚线) (1 703 cm⁻¹ 和 1 557 cm⁻¹), 1 637 cm⁻¹ 的宽强峰与水分子的弯曲振动吸收有关

Fig. 13 ATR-FTIR images of the dissolution behavior of the (a) HPMC-based film (Film A) and (b) PVP-based film (Film D)^[69]. The carbonyl (C=O) stretching band extracted from Film A at 1 min during the dissolution (solid line), as well as the reference spectra of ibuprofen and its sodium salt in an aqueous solution (dashed line) (1 703 cm⁻¹ and 1 557 cm⁻¹) are shown in (c). The broad band at 1 637 cm⁻¹ corresponds to the bending mode of water

采样位置是否有特定污染物等);生物体消解液的取样更主要取决于其消解的器官部位或生物体本身(如鱼、虾等海产品)。采集完成后再进一步对样品进行分离、浓缩等处理,以使微塑料能被较方便地甄别。

Tagg 等^[75]通过加标法开发了一种用于有机废水中的微塑料分析方法。首先用 30% 的 H₂O₂ 对废水进行前处理,然后用滤膜过滤,再直接对滤膜进行红外成像采集。从图 14 可以看出,几种不同的微塑料得到了很好的识别。他们的工作表明采用红外成像对微塑料进行分析和鉴定从方法学角度是完全可行的。Primpke 等^[76]建立了一个既能用于单颗粒分析,也特别适用于红外成像结果分析的微塑料数据库。该数据库基于对 3 600 ~ 1 250 cm⁻¹ 范围的参比光谱进行分层聚类分析的结果,并可与自动分析软件相连。通过对环境样品进行实测,证明微塑料的

正确识别率显著优于之前报道的数据库。Tekman 等^[77]采用红外成像对北极圈的水和沉积物样品中的小粒径微塑料(11 ~ 500 μm)进行分析,发现 18 个样品中有 16 个样品都含有微塑料,共鉴定出 15 种尺寸在 11 ~ 150 μm 范围内的合成聚合物,其中 ≤ 25 μm 的颗粒占一半以上;水样中微塑料的浓度在 9 ~ 1 287 N/m³ 之间,其中含量最丰富的是聚酰胺(39%)和乙丙橡胶(23%);而沉积物中微塑料浓度在 239 ~ 13 331 N/kg,含量最丰富的聚合物是氯化聚乙烯(31%)。这些结果表明水体中的微塑料浓度低于沉积物。他们还分别在北极、北欧及瑞士阿尔卑斯山附近采集了 21 个雪样本^[78],采用红外成像对样品中的微塑料组成、浓度及大小进行分析,共发现 19 种不同类型的聚合物,每种样品的组成从 2 种到 12 种不等,在欧洲每个样品的聚合物数量明显高于北极,其中清漆、橡胶、聚乙烯和聚酰胺

出现的频率最高;80% 的微塑料尺寸小于 25 μm , 98% 的微塑料小于 100 μm 。根据这些结果可以推断北欧圈微塑料的迁移行为,为微塑料防治提供了理论依据。Jung 等^[79]采用 ATR FT-IR 成像结合

PCA 分析对海龟体内的微塑料种类进行鉴别,发现海龟体内存在的微塑料主要为 HDPE、LDPE、PVC、PP 及 PA。表 2 总结了近年来红外成像用于微塑料分析的一些典型工作,可供感兴趣者参考。

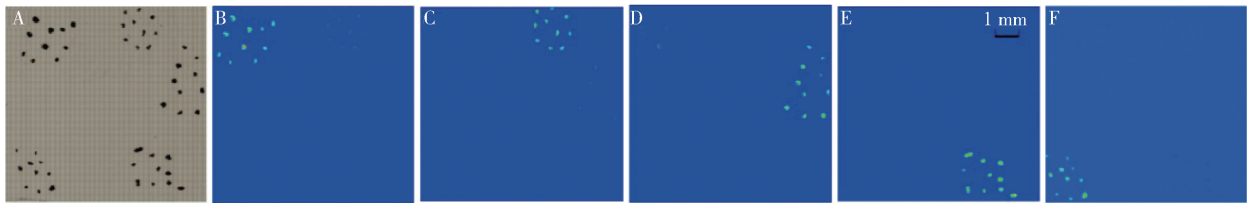


图 14 有机废水加标后采集到玻璃片上已知位置的微塑料红外成像图(每张图像展示一种聚合物):A. 光学全貌照片;B. 聚丙烯;C. 聚氯乙烯;D. 尼龙;E. 聚苯乙烯;F. 聚乙烯^[75]

Fig. 14 FTIR images of microplastics at known locations on a glass slide collected after organic wastewater spiking (Each map displays a particular polymer type). A. Visible image; B. PP; C. PVC; D. Nylon; E. PS; F. PE^[75]

表 2 红外成像在微塑料分析中的一些典型应用

测定对象	主要结果	文献
海洋聚乙烯碎片	采用红外成像及 AFM-IR 成像对海洋聚乙烯碎片(纳米塑料)的变化进行了研究,通过碎片上羰基峰的出现以及分子量的减小得出 PE 被氧化降解	[80]
地下水源采集的饮用水	对德国西北部几个水处理厂不同采集位点的地下水和饮用水中的微塑料(>20 μm)用红外成像进行了分析。地下水或饮用水中的微塑料浓度在 0~7 个/ m^3 之间,平均值为 0.7 个/ m^3 。微塑料种类识别分别为聚乙烯、聚酰胺、聚酯、聚氯乙烯及环氧树脂,粒径在 50~150 μm 之间	[81]
北海南部两个区域 24 个站点的沉积物及地表水	大微塑料(500~5 000 μm)直接用 ATR FT-IR 光谱进行识别;剩余物通过酶解、浓缩和过滤后再用 FT-IR imaging 识别小微塑料(11~500 μm)。沉积物和地表水中微塑料的浓度分别在 2.8~1 188.8 颗粒/kg 之间和 0.1~245.4 颗粒/ m^3 之间,且<100 μm 的微塑料分别占 98%和 86%。两类样本中最普遍的微塑料类型为聚丙烯,丙烯酸酯/聚氨酯/清漆和聚酰胺。在沉积物和地表水样本中,以及在弗里斯兰群岛和大西洋英吉利海峡监测站点的微塑料组成均明显不同,表明微塑料在两者中都不均匀分布,这对于监控协议的开发具有启发性	[82]
饮用水及水厂原水和淤泥	对英格兰和威尔士 8 个水厂的微塑料进行了表征,原水包括河水、地下水及高地水库。微塑料采用 10 μm 滤膜收集,用红外成像分析了 $\geq 25 \mu\text{m}$ 的微塑料,结果显示有 PE、PET 及 PP 污染。定量结果显示微塑料在原水和饮用水中浓度分别为 4.9 个/L 和 0.000 11 个/L	[83]
蓝色贻贝	提出了蓝色贻贝体内微塑料测定的优化方案:用 10% KOH(质量分数)消解贝类软体组织,对沉积物进行多步处理。用该方案处理法国大西洋海岸采集的贻贝样,>99.9%的有机和矿物质都能被除去。用红外成像直接对滤膜进行分析,发现了 14 种尺寸在 30~200 μm 的微塑料	[84]
土壤中的陆地蠕虫 蚯蚓	采用红外成像研究了土壤中尼龙和 PVC 微塑料对蚯蚓生存的影响,考察了尼龙和 PVC 的粒径对蚯蚓存活和繁殖的影响,发现蚯蚓存活率不受微塑料种类和粒径影响,但当尼龙浓度大于 90 g/kg 时繁殖率深受影响,且小粒径微塑料(13~18 μm)的影响比大粒径(>63 μm)的更大	[85]

尽管红外成像技术在微塑料分析中已占据主导地位,但仍存在一些局限:(1) 因其分辨率受衍射限制,无法对粒径<10 μm 的小颗粒进行分析;(2) 红外图像质量易受颗粒的形状、大小及厚度影响;(3) 红外成像无法用于黑色微塑料分析^[73];(4) 采用红外成像技术研究微塑料,需要对样品中的每一个粒子进行定性及定量分析,如何解决海量数据分析过

程中耗时又费力的问题,以及如何进行自动化分析是一个新的挑战^[86]。

3.8 生命科学与临床诊断研究

除聚合物外,红外成像在生命科学、环境、法医学、考古学等领域都有重要应用,在此我们仅对其在生命科学领域的应用简单介绍。在生命科学领域,红外成像早期主要用于区分肿瘤组织与正常组织,

但现在很多报道都致力于通过分子特征信息进行临床诊断和代谢过程研究。与其他技术(如磁共振成像、荧光成像等)相比,红外成像不需对样品进行染色就可获得样品的化学信息,且红外成像的空间分辨率低至 $10\text{ }\mu\text{m}$,比磁共振成像($\sim 1\text{ mm}$)高2个数量级,因此有望在未来成为这些重大疾病早期诊断的有力工具。Shi 等^[87]通过特别设计对 $2\text{ }000\sim 2\text{ }300\text{ cm}^{-1}$ 区域进行红外成像,实现了具有高信息通量的代谢物成像,并将其成功用于单细胞代谢成像分析,为重大疾病的早期精准诊断提供了新思路。Ducic 等^[88]采用同步加速器-红外成像对使用利鲁唑药物后脑胶质母细胞瘤细胞系的生物大分子变化进行了监测,发现给药主要影响糖代谢产物及 DNA 结构,另外脂质结构和蛋白二级构象也会受到影响。该工作揭示,未来的治疗方法可以根据每种肿瘤类型的特定生物大分子特征实现对其活细胞代谢产物的监测,从而开发出更特异性的治疗方法。Tiwari 等^[89]提出一种基于高清红外成像的肿瘤组织测量框架,该框架利用组织的内在化学对比来标记肿瘤及其微环境中的独特成分,并采用自动计算方法确定了对预测十分重要的组织特征。该工作显示用该框架评估的肿瘤空间组织可以预测结肠癌的总体存活情况,这为测量和研究肿瘤空间组织与疾病进展之间的关系开辟了一条全数字化途径。此外, Sachar 等^[90]对如何获取脑组织高质量红外成像的各种采集参数进行了系统讨论,为该方法的实用化奠定了基础。

4 总结与展望

本文系统介绍了红外成像的基本原理、成像系统和仪器构造、图像采集、预处理及分析方法,并对红外成像在分子材料表征中的一些典型应用,包括结晶和取向、共混物相容性与相分离、聚合反应及聚合物溶解、降解的可视化动力学、聚合物基组织工程材料的矿化、药物释放及微塑料分析等方面的研究作了系统介绍,此外也对红外成像的另一重要应用领域—生命科学与临床诊断方面的研究进展作了简介。本文为高分子材料研发工作者提供了新的研究思路,可启发其从分子水平上对相关样品或样品进行结构设计、配方改进或工艺过程优化,为提高高分子材料最终性能提供支持及指导。

除了不断拓宽在聚合物及其他领域的应用外,红外成像技术也从以下几个方面在不断发展。

(1) 纳米分辨红外成像技术。由于红外光波长较大,传统红外显微成像很难突破其衍射限制,因此空间分辨率一般到不了亚微米级。尽管 ATR 成像能将分辨率提高 n 倍(n 为 ATR 晶体折射率),但仍在几微米左右。近年来,人们将原子力显微镜与红外成像联合(AFM-IR imaging),可使空间分辨率达到几十纳米级别。其原理是通过检测原子力显微镜探针与样品表面接触时的偏转及样品在红外光下的快速瞬态热膨胀(这种热膨胀与不同红外波长下样品的折射率有关),采用傅里叶变换将 AFM 探针震荡的振幅信号转变为与红外吸光度密切相关的 AFM-IR 信号^[91-93]。这种技术已被用于石墨烯-电解质相互作用及聚偏二氟乙烯-六氟丙烯共聚物等的研究^[94-96]。为了提高 AFM-IR 成像的分析灵敏度,需要采用高功率激光器提高样品的热膨胀幅度,因此超高亮度光源是实现纳米分辨红外成像需解决的主要问题。QCL 光源正在成为这些方法的首选激光器。(2) 采用超高亮度光源。同步加速器和自由电子激光光源能量高,线宽窄,既可显著增加成像表征的灵敏度,获取高质量图像,也能大大提高检测速度(减少了光谱采集次数)。不过,这些大光源需要专门的空间和装置,目前在普通实验室里无法实现。QCL 可调谐激光光源提供了在实验室完成高亮度红外成像的可能性,未来有可能成为突破衍射限制红外成像的主要光源,但需要研发具有更大功率输出、更好时间稳定性以及波数覆盖范围可与宽光谱光源相媲美的激光器。(3) 实现 3D 红外成像。3D 红外成像可以看到样品内部任何位点的化学组成,在分子材料和生命科学领域有极其重要的用途。目前通过旋转样品并连续采集不同角度的 2D 红外图像,然后对其进行计算机层析术(CT)计算,可实现 3D 红外成像^[97-100]。不过为探测到样品深处的化学信息,同样需采用超高亮度光源,这在目前也受到很大限制。此外,3D 成像数据量特别大(一般至少 $\sim 10\text{ GB}$),数据处理复杂,运算速度慢。因此开发高效、快速的 3D 红外成像数据处理软件,提高其空间定位精度以及实现图像的精准还原是该领域当前面临的另一挑战。(4) 此外,红外成像技术与其他装置联用,有望解决更复杂的科学问题。如除了与 AFM 成功联用外,与流变学装置联用可探测复合材料中聚合物基体在分子尺度上的变形行为^[101]。

总之,从红外成像走过的近 30 年历程看,这种技术在不断地发展、进步和完善,并不断拓宽其在多

个领域中的应用。随着小型高亮红外光源的发展,以及图像分析软件的商用化和普适化,这种技术必将在科学研究中发挥更加重要的作用。

参考文献:

- [1] SIESLER H W. Vibrational spectroscopy[M]//MATY-JASZEWSKI K, MÖLLER M. Polymer science: a comprehensive reference. Amsterdam: Elsevier BV, 2012: 255–300.
- [2] LEWIS E N, TREADO P J, REEDOR R C, et al. Fourier transform spectroscopic imaging using an infrared focal-plane array detector[J]. Analytical Chemistry, 1995, 67(19): 3377–3381.
- [3] DE JUAN A, MAEDER M, HANCEWICZ T, et al. Chemometric tools for image analysis[M]//SALZER R, SIESLER H W. Infrared and Raman spectroscopic imaging. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009: 65–109.
- [4] LEVIN I W, BHARGAVA R. Fourier transform infrared vibrational spectroscopic imaging: integrating microscopy and molecular recognition[J]. Annual Review of Physical Chemistry, 2005, 56: 429–474.
- [5] 张普敦. 红外光谱新技术[M]//柯以侃, 董慧茹. 分析化学手册 3B: 分子光谱分析. 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2016: 409–511.
ZHANG P D. New techniques of infrared spectroscopy[M]//KE Y K, DONG H R. Handbook of analytical chemistry 3B: Molecular spectroscopy analysis. 3rd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2016: 409–511. (in Chinese)
- [6] 凌盛杰, 黄郁芳, 黄蕾, 等. 同步辐射红外显微光谱学和成像技术在分析化学中的应用[J]. 化学进展, 2013, 25(5): 821–831.
LING S J, HUANG Y F, HUANG L, et al. Application of synchrotron FTIR microspectroscopy and mapping in analytical chemistry[J]. Progress in Chemistry, 2013, 25(5): 821–831. (in Chinese)
- [7] ELLIS G J, MARTIN M C. Opportunities and challenges for polymer science using synchrotron-based infrared spectroscopy[J]. European Polymer Journal, 2016, 81: 505–531.
- [8] 李和廷, 何志刚, 吴芳芳, 等. 合肥红外自由电子激光装置[J]. 中国激光, 2021, 48(17): 7–15.
LI H T, HE Z G, WU F F, et al. Hefei infrared free-electron laser facility[J]. Chinese Journal of Lasers, 2021, 48(17): 7–15. (in Chinese)
- [9] 高琛, 鲍骏, 周银贵, 等. 合肥红外自由电子激光光束线的设计与性能[J/OL]. (2023–09–20). 中国激光: 1–28. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1339.tn.20230918.1400.011.html>.
GAO C, BAO J, ZHOU Y G, et al. Design and performance of Hefei infrared free-electron laser facility[J/OL]. (2023–09–20). Chinese Journal of Lasers: 1–28. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1339.tn.20230918.1400.011.html>. (in Chinese)
- [10] 黄慧, 周亦辰, 彭宇, 等. 基于量子级联激光器中红外光谱技术的幽门螺旋杆菌呼气诊断的可行性研究[J]. 分析化学, 2022, 50(9): 1328–1335.
HUANG H, ZHOU Y C, PENG Y, et al. Feasibility study of breath diagnosis in helicobacter pylori based on quantum cascade laser mid-infrared spectroscopy[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(9): 1328–1335. (in Chinese)
- [11] 蔺百杨, 党敬民, 郑传涛, 等. 中红外量子级联激光气体检测系统[J]. 光子学报, 2018, 47(4): 73–80.
LIN B Y, DANG J M, ZHENG C T, et al. Mid-infrared quantum cascade laser gas detection system[J]. Acta Photonica Sinica, 2018, 47(4): 73–80. (in Chinese)
- [12] PILLING M, GARDNER P. Fundamental developments in infrared spectroscopic imaging for biomedical applications[J]. Chemical Society Reviews, 2016, 45: 1935–1957.
- [13] KAZARIAN S G, CHAN K L A. Sampling approaches in Fourier transform infrared imaging applied to polymers[M]//GRUNDKE K, STAMM M, ADLER H J. Progress in colloid and polymer science, vol 132. Berlin: Springer, 2006.
- [14] CHAN K L A, KAZARIAN S G. Macro FTIR imaging in transmission under a controlled environment[J]. Vibrational Spectroscopy, 2006, 42(1): 130–134.
- [15] CHAN K L A, KAZARIAN S G. New opportunities in micro- and macro-attenuated total reflection infrared spectroscopic imaging: spatial resolution and sampling versatility[J]. Applied Spectroscopy, 2003, 57(4): 381–389.
- [16] TETTEH J, MADER K T, ANDANSON J M, et al. Local examination of skin diffusion using FTIR spectroscopic imaging and multivariate target factor analysis[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 642(1–2): 246–256.
- [17] CHAN K L A, KAZARIAN S G. ATR-FTIR spectroscopic imaging with expanded field of view to study formulations and dissolution[J]. Lab on a Chip, 2006, 6(7):

- 864 – 870.
- [18] CHAN K L A, GOVADA L, BILL R M, et al. Attenuated total reflection-FTIR spectroscopic imaging of protein crystallization [J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(10): 3769 – 3775.
- [19] KAZARIAN S G, CHAN K L A. “Chemical photography” of drug release [J]. *Macromolecules*, 2003, 36(26): 9866 – 9872.
- [20] MUKHERJEE S, GOWEN A. A review of recent trends in polymer characterization using non-destructive vibrational spectroscopic modalities and chemical imaging[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 895(3): 12 – 34.
- [21] SIQUEIRA L F S, LIMA K M G. A decade (2004—2014) of FTIR prostate cancer spectroscopy studies; an overview of recent advancements[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 82: 208 – 221.
- [22] BURGER J, GELADI P. Hyperspectral NIR image regression part II: dataset preprocessing diagnostics [J]. *Journal of Chemometrics*, 2006, 20: 106 – 119.
- [23] SPEVAK L, FLACH C R, HUNTER T, et al. Fourier transform infrared spectroscopic imaging parameters describing acid phosphate substitution in biologic hydroxyapatite [J]. *Calcified Tissue International*, 2013, 92: 418 – 428.
- [24] RINGNÉR M. What is principal component analysis[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26: 303 – 304.
- [25] JING N, JIANG X T, WANG Q, et al. Attenuated total reflectance/Fourier transform infrared (ATR/FTIR) mapping coupled with principal component analysis for the study of in vitro degradation of porous polylactide/hydroxyapatite composite material [J]. *Analytical Methods*, 2014, 6 (15): 5590 – 5595.
- [26] YU P Q. Application of cluster analysis (CLA) in feed chemical imaging to accurately reveal structural-chemical features of feeds and plants within cellular dimension[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(8): 2872 – 2880.
- [27] LY E, PIOT O, WOLTHUIS R, et al. Combination of FTIR spectral imaging and chemometrics for tumour detection from paraffin-embedded biopsies [J]. *Analyst*, 2008, 133: 197 – 205.
- [28] NALLALA J, LLOYD G R, SHEPHERD N, et al. High-resolution FTIR imaging of colon tissues for elucidation of individual cellular and histopathological features[J]. *Analyst*, 2016, 141: 630 – 639.
- [29] LIMA C, CORREA L, BYRNE H, et al. K-means and hierarchical cluster analysis as segmentation algorithms of FTIR hyperspectral images collected from cutaneous tissue [C] // 2018 SBFoton International Optics and Photonics Conference (SBFoton IOPC). Campinas, 2018.
- [30] KROOSHOF P W T, TRAN T N, POSTMA G J, et al. Effects of including spatial information in clustering multivariate image data [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2006, 25(11): 1067 – 1080.
- [31] FELTEN J, HALL H, JAUMOT J, et al. Vibrational spectroscopic image analysis of biological material using multivariate curve resolution-alternating least squares (MCR-ALS) [J]. *Nature Protocols*, 2015, 10: 217 – 240.
- [32] JUAN A D, JAUMOT J, TAULER R. Multivariate curve resolution (MCR). Solving the mixture analysis problem [J]. *Analytical Methods*, 2014, 6: 4964 – 4976.
- [33] JUAN A D, TAULER R, DYSON R, et al. Spectroscopic imaging and chemometrics: a powerful combination for global and local sample analysis [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23(1): 70 – 79.
- [34] WANG J H, HOPKE P K, HANCEWICZ T M, et al. Application of modified alternating least squares regression to spectroscopic image analysis [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 476(1): 93 – 109.
- [35] DUPONCHEL L, ELMI-RAYALEH W, RUCKEBUSCH C, et al. Multivariate curve resolution methods in imaging spectroscopy: influence of extraction methods and instrumental perturbations [J]. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 2003, 43(6): 2057 – 2067.
- [36] WINDIG W, GUILMENT J. Interactive self-modeling mixture analysis [J]. *Analytical Chemistry*, 1991, 63(14): 1425 – 1432.
- [37] TANG Y J, JING N, ZHANG P D. Attenuated total reflectance/Fourier transform infrared (ATR FT-IR) mapping coupled with multivariate curve resolution (MCR) for studying the miscibility of chlorobutyl rubber/polyamide-12 blends [J]. *Applied Spectroscopy*, 2015, 69(11): 1319 – 1326.
- [38] LI Q, TANG Y J, YAN Z W, et al. Identification of trace additives in polymer materials by attenuated total reflection Fourier transform infrared mapping coupled with multivariate curve resolution [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 180: 154 – 160.
- [39] LI S Y, SUN X L, LI H H, et al. The crystallization behavior of biodegradable polymer in thin film [J]. *Europe-*

- an Polymer Journal, 2018, 102: 238 – 253.
- [40] SNIVELY C M, KOENIG J L. Fast FTIR imaging: a new tool for the study of semicrystalline polymer morphology [J]. Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, 1999, 37: 2353 – 2359.
- [41] LU H Q, SATO H, KAZARIAN S G. Effect of T_m of blend components on the isothermal melt-crystallization process of PHB/PLLA blends investigated using spectroscopic imaging and DSC [J]. Polymer, 2022, 248: 124820.
- [42] LU H Q, KAZARIAN S G, SATO H. Simultaneous visualization of phase separation and crystallization in PHB/PLLA blends with in situ ATR-FTIR spectroscopic imaging[J]. Macromolecules, 2020, 53: 9074 – 9085.
- [43] VOGEL C, WESSEL E, SIESLER H W. FT-IR spectroscopic imaging of anisotropic poly(3-hydroxybutyrate)/poly(lactic acid) blends with polarized radiation [J]. Macromolecules, 2008, 41: 2975 – 2977.
- [44] HIKIMA Y, MORIKAWA J, KAZARIAN S G. Analysis of molecular orientation in polymeric spherulite using polarized micro attenuated total reflection Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopic imaging[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1065: 79 – 89.
- [45] HIKIMA Y, MORIKAWA J, HASHIMOTO T. FT-IR image processing algorithms for in-plane orientation function and azimuth angle of uniaxially drawn polyethylene composite film[J]. Macromolecules, 2011, 44: 3950 – 3957.
- [46] HIKIMA Y, MORIKAWA J, HASHIMOTO T. Wavenumber dependence of FT-IR image of molecular orientation in banded spherulites of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(L lactic acid) [J]. Macromolecules, 2013, 46: 1582 – 1590.
- [47] ISHIGE R, SONG C L, HARA S, et al. Analysis of spatial orientation distribution of highly oriented polyimide film using micro ATR-FTIR spectroscopic imaging method[J]. Polymer, 2021, 221: 123616.
- [48] ZHOU X, ZHANG P D, LI Z F, et al. Miscibility behavior of ethylene/vinyl acetate and C5 petroleum resin by FTIR imaging [J]. Analytical Sciences, 2007, 23 (7): 877 – 880.
- [49] ZHOU X, ZHANG P D, JIANG X T, et al. Influence of maleic anhydride grafted polypropylene on the miscibility of polypropylene/polyamide-6 blends using ATR-FTIR mapping [J]. Vibrational Spectroscopy, 2009, 49 (1): 17 – 21.
- [50] LIU X X, JI Z L, PENG W W, et al. Chemical mapping analysis of compatibility in gelatin and hydroxypropyl methylcellulose blend films [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 104: 105734.
- [51] LING S J, QI Z M, KNIGHT D P, et al. FTIR imaging, a useful method for studying the compatibility of silk fibroin-based polymer blends [J]. Polymer Chemistry, 2013, 4: 5401 – 5406.
- [52] CHENG J Y, YANG X Y, DONG L B, et al. Effective nondestructive evaluations on UHMWPE/recycled-PA6 blends using FTIR imaging and dynamic mechanical analysis [J]. Polymer Testing, 2017, 59: 371 – 376.
- [53] GUPPER A, WILHELM P, SCHMIED M, et al. Combined application of imaging methods for the characterization of a polymer blend [J]. Applied Spectroscopy, 2002, 56 (12): 1515 – 1523.
- [54] OH S J, KOENIG J L. Phase and curing behavior of polybutadiene/diallyl phthalate blends monitored by FT-IR imaging using focal-plane array detection [J]. Analytical Chemistry, 1998, 70 (9): 1768 – 1772.
- [55] BISWAL D, HILT J Z. Microscale analysis of patterning reactions via FTIR imaging: application to intelligent hydrogel systems [J]. Polymer, 2006, 47 (21): 7355 – 7360.
- [56] BISWAL D, HILT J Z. Analysis of oxygen inhibition in photopolymerizations of hydrogel micropatterns using FTIR imaging [J]. Macromolecules, 2009, 42 (4): 973 – 979.
- [57] SORBER J, STELNER G, SCHULZ V, et al. Hydrogel-based piezoresistive pH sensors: investigations using FT-IR attenuated total reflection spectroscopic imaging [J]. Analytical Chemistry, 2008, 80 (8): 2957 – 2962.
- [58] GONZÁLEZ-BENITO J. The nature of the structural gradient in epoxy curing at a glass fiber/epoxy matrix interface using FTIR imaging [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2003, 267 (2): 326 – 332.
- [59] MILLER-CHOU B A, KOENIG J L. FT-IR imaging of polymer dissolution by solvent mixtures. 3. Entangled polymer chains with solvents [J]. Macromolecules, 2002, 35 (2): 440 – 444.
- [60] COUTS-LONDON C, KOENIG J L. Visualization strategies for infrared spectroscopic images [J]. Applied Spectroscopy, 2005, 59 (6): 717 – 723.
- [61] ZHOU Y M, LI B B, ZHANG P D. Fourier transform infrared (FT-IR) imaging coupled with principal component analysis (PCA) for the study of photooxidation of

- polypropylene[J]. *Applied Spectroscopy*, 2012, 66(5): 566–573.
- [62] PERSSON D, HEYDARI G, EDVINSSON C, et al. Depth-resolved FTIR focal plane array (FPA) spectroscopic imaging of the loss of melamine functionality of polyester melamine coating after accelerated and natural weathering[J]. *Polymer Testing*, 2020, 86: 106500.
- [63] NAGLE D J, GEORGE G A, RINTOUL L, et al. Use of micro-ATR/FTIR imaging to study heterogeneous polymer oxidation by direct solvent casting onto the ATR IRE[J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2010, 53(1): 24–27.
- [64] DOU T T, JING N, ZHOU B Y, et al. In vitro mineralization kinetics of poly (L-lactic acid)/hydroxyapatite nanocomposite material by attenuated total reflection Fourier transform infrared mapping coupled with principal component analysis[J]. *Journal of Materials Science*, 2018, 53(11): 8009–8019.
- [65] DOU T T, ZHOU B Y, HU S, et al. Evolution of the structural polymorphs of poly(L-lactic acid) during the in vitro mineralization of its hydroxyapatite nanocomposites by attenuated total reflection Fourier transform infrared mapping coupled with principal component analysis[J]. *Polymer*, 2021, 236: 124318.
- [66] WANG Q, JIANG X T, XIN Y Z, et al. Characterization of in vitro mineralization of porous poly (L-lactic acid)/bioactive glass composites by attenuated total reflectance-Fourier transform infrared mapping[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(2): 221–226.
- [67] KAZARIAN S G, CHAN K L A, MAQUET V, et al. Characterisation of bioactive and resorbable polylactide/bioglass® composites by FTIR spectroscopic imaging[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(18): 3931–3938.
- [68] LEROY A, RIBEIRO S, GROSSIORD C, et al. FTIR microscopy contribution for comprehension of degradation mechanisms in PLA-based implantable medical devices[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2017, 28: 87.
- [69] HIFUMI H, EWING A V, KAZARIAN S G. ATR-FTIR spectroscopic imaging to study the drying and dissolution of pharmaceutical polymer-based films[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 515(1–2): 57–68.
- [70] NETCHACOVITCH L, THIRY J, DE BLEYE C, et al. Vibrational spectroscopy and microspectroscopy analyzing qualitatively and quantitatively pharmaceutical hot melt extrudates[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2015, 113: 21–33.
- [71] PUDLAS M, KYEREMATENG S O, WILLIAMS L A M, et al. Analyzing the impact of different excipients on drug release behavior in hot-melt extrusion formulations using FTIR spectroscopic imaging[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 67: 21–31.
- [72] THOMPSON R C, OLSEN Y, MITCHELL R P, et al. Lost at sea: where is all the plastic? [J]. *Science*, 2004, 304(5672): 838.
- [73] MÖLLER J N, LÖDER M G J, LAFORSCH C. Finding-microplastics in soils: a review of analytical methods[J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(4): 2078–2090.
- [74] XU J L, THOMAS K V, LUO Z S, et al. FTIR and Raman imaging for microplastics analysis: state of the art, challenges and prospects[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 119: 115629.
- [75] TAGG A S, SAPP M, HARRISON J P, et al. Identification and quantification of microplastics in wastewater using focal plane array-based reflectance micro-FT-IR imaging[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(12): 6032–6040.
- [76] PRIMPKE S, WIRTH M, LORENZ C, et al. Reference database design for the automated analysis of microplastic samples based on Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410: 5131–5141.
- [77] TEKMAN M B, WEKERLE C, LORENZ C, et al. Tying up loose ends of microplastic pollution in the arctic: distribution from the sea surface through the water column to deep-sea sediments at the HAUSGARTEN observatory [J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(7): 4079–4090.
- [78] BERGMANN M, MÜTZEL S, PRIMPKE S, et al. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic[J]. *Science Advances*, 2019, 5(8): eaax1157.
- [79] JUNG M R, HORGAN F D, ORSKI S V, et al. Validation of ATR FT-IR to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 127: 704–716.
- [80] ROWENCZYK L, DAZZI A, DENISET-BESSEAU A, et al. Microstructure characterization of oceanic polyethylene debris [J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(7): 4102–4109.
- [81] MINTENIG S M, LÖDER M G J, PRIMPKE S, et al. Low numbers of microplastics detected in drinking water

- from ground water sources[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 648: 631–635.
- [82] LORENZ C, ROSCHER L, MEYER M S, et al. Spatial distribution of microplastics in sediments and surface waters of the southern North Sea[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 1719–1729.
- [83] JOHNSON A C, BALL H, CROSS R, et al. Identification and quantification of microplastics in potable water and their sources within water treatment works in England and Wales[J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(19): 12326–12334.
- [84] PHUONG N N, ZALOUK-VERGNOUX A, KAMARI A, et al. Quantification and characterization of microplastics in blue mussels (*Mytilus edulis*): protocol setup and preliminary data on the contamination of the French Atlantic coast[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25: 6135–6144.
- [85] LAHIVE E, WALTON A, HORTON A A, et al. Microplastic particles reduce reproduction in the terrestrial worm *Enchytraeus crypticus* in a soil exposure[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 255: 113174.
- [86] RENNER G, SCHMIDT T C, SCHRAM J. Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics; which are fit for purpose? [J]. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2018, 1: 55–61.
- [87] SHI L X, LIU X W, SHI L Y, et al. Mid-infrared metabolic imaging with vibrational probes[J]. *Nature Methods*, 2020, 17: 844–851.
- [88] DUCIC T, NINKOVIC M, MARTÍNEZ-ROVIRA I, et al. Live-cell synchrotron-based FTIR evaluation of metabolic compounds in brain glioblastoma cell lines after Riluzole treatment [J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(4): 1932–1940.
- [89] TIWARI S, KAJDACSY-BALLA A, WHITELEY J, et al. INFORM: Infrared-based organizational measurements of tumor and its microenvironment to predict patient survival[J]. *Science Advances*, 2021, 7(6): eabb8292.
- [90] SACHARZ J, PEREZ-GUAITA D, KANSIZ M, et al. Empirical study on the effects of acquisition parameters for FTIR hyperspectral imaging of brain tissue[J]. *Analytical Methods*, 2020, 12: 4334–4342.
- [91] WROBEL T P, BHARGAVA R. Infrared spectroscopic imaging advances as an analytical technology for biomedical sciences[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(3): 1444–1463.
- [92] QIN N, ZHANG S Q, JIANG J J, et al. Nanoscale probing of electron-regulated structural transitions in silk proteins by near-field IR imaging and nano-spectroscopy[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13079.
- [93] LAHIRI B, HOLLAND G, CENTRONE A. Chemical imaging beyond the diffraction limit: experimental validation of the PTIR technique[J]. *Small*, 2013, 9(3): 439–445.
- [94] BARTLAM C, MORSCH S, HEARD K W J, et al. Nanoscale infrared identification and mapping of chemical functional groups on graphene[J]. *Carbon*, 2018, 139: 317–324.
- [95] LU Y H, LARSON J M, BASKIN A, et al. Infrared nanospectroscopy at the graphene-electrolyte interface [J]. *Nano Letters*, 2019, 19(8): 5388–5393.
- [96] SCHNELL M, GOIKOETXEA M, AMENABAR I, et al. Rapid infrared spectroscopic nanoimaging with nano-FTIR holography[J]. *ACS Photonics*, 2020, 7(10): 2878–2885.
- [97] PETIBOIS C. 3D quantitative chemical imaging of tissues by spectromics [J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(12): 1194–1207.
- [98] UNGER M, SEDLMAIR J, SIESLER H W, et al. 3D FT-IR imaging spectroscopy of phase-separation in a poly(3-hydroxybutyrate)/poly(L-lactic acid) blend[J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2014, 75: 169–172.
- [99] CEFARIN N, BEDOLLA D E, SUROWKA A, et al. Study of the spatio-chemical heterogeneity of tannin-furanic foams: from 1D FTIR spectroscopy to 3D FTIR micro-computed tomography[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(23): 12869.
- [100] OGUNLEKE A, RECUR B, BALACEY H, et al. 3D chemical imaging of the brain using quantitative IR spectro-microscopy[J]. *Chemical Science*, 2018, 9: 189–198.
- [101] WATANABE R, SUGAHARA A, HAGIHARA H, et al. Molecular-scale deformation of polypropylene/silica composites probed by Rheo-optical Fourier-transform infrared (FTIR) imaging analysis combined with disrelation mapping [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(18): 12160–12167.

Applications of Fourier transform infrared (FT-IR) imaging in the characterization of polymers

DOU TongTong¹ ZHANG PuDun^{2*}

(1. Petro China Petrochemical Research Institute, Beijing 102206;

2. Analysis & Test Center, College of Chemistry, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Fourier transform infrared (FT-IR) imaging is an advanced chemical imaging method based on functional group characteristics. It integrates FT-IR and microscopic analysis into one system, which can directly visualize the real chemical compositions and their spatial distributions in target micro-regions (from μm to mm), and identify the fine structure of sample at the molecular level with high spatial resolution. It is a powerful tool for micro-analysis of multi-component samples. This technique has attracted extensive attention for the analysis and characterization of polymer. In this review, the mechanism of FT-IR imaging is described, and the detailed instrumental structure, work models, image collection, pretreatment and analysis methods are presented. We also summarize some typical recent applications of FT-IR imaging in the field of polymer characterization including crystallization and orientation research, miscibility of polymer blends, visualization of polymerization reactions, dissolution and degradation dynamics, mineralization of polymer-based tissue engineering materials, drug release and microplastic analysis. In addition, the extension of FT-IR imaging to life science and clinical diagnosis is also introduced. Finally, future advances in FT-IR imaging are predicted. It is hoped that this paper can play a role in helping readers to understand advanced FT-IR imaging technology and further expand its application in polymer research.

Key words: polymer; FT-IR mapping/imaging; structure characterization; image analysis

(责任编辑: 吴万玲)