基于光纤显微傅里叶变换红外光谱的液体非接触式化学与形貌分析

Ching-Ping Chang, [1,2] Jaehyeon Kim, [1,2] Guanhua Qiao, [1,2] Jonathan Matsuura, [2,4] Jimai Chen, [1,2] Lalith Krishna Samanth Bonagiri, [1,2] Yiran Zhao, [1,2] 和 Yingjie Zhang[1,2,3,a)]

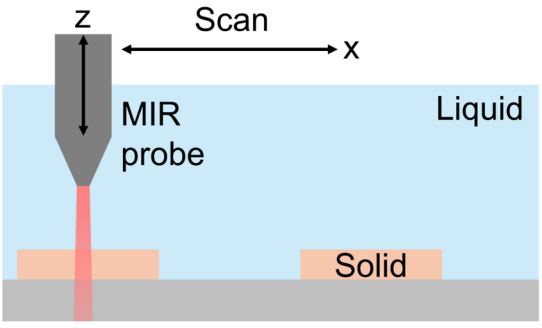
[1]伊利诺伊大学材料科学与工程系，美国伊利诺伊州厄巴纳 61801 [2]伊利诺伊大学材料研究实验室，美国伊利诺伊州厄巴纳 61801 [3]伊利诺伊大学贝克曼先进科学技术研究所，美国伊利诺伊州厄巴纳 61801 [4]伊利诺伊大学化学系，美国伊利诺伊州厄巴纳 61801

a) 通讯联系：yjz@illinois.edu

摘要

液相中红外（MIR）成像颇具挑战性，这是因为大多数液体介质对中红外光具有很强的吸收。现有的液相中红外显微术主要通过超薄液体池或衰减全反射（ATR）装置来克服背景吸收。然而，这些设计会带来其他挑战，例如样品约束、探测体积有限、探针扰动以及缺乏定量能力等。在本研究中，我们开发了一种基于光纤的傅里叶变换红外（FTIR）显微光谱术方法，以克服液相中红外表征的技术障碍。通过集成锥形光纤微探针、透射式光学装置和扫描台，我们实现了液体中的非接触式化学与形貌分析。通过测量水中的微图案化光刻胶基底，对显微傅里叶变换红外光谱的性能进行了基准测试，获得了定量空间化学分布和形貌轮廓，其横向分辨率为 ~35 μm，垂直检测限达到纳米尺度。这种非接触、定量的液相显微傅里叶变换红外光谱技术，有望用于液体中异质结构的非扰动表征。

目录图



1. 引言

许多化学、 electrochemical 和生物系统都依赖液体作为必不可少的功能介质。[1–3] 在这些系统中，核心的相互作用、反应和运输过程都需要浸入其中的固体（电极、大分子等）与周围液体的共同积极参与。在固液界面两侧，即固体侧和液体侧，微观非均匀性往往对系统的整体功能至关重要。例如，在电化学系统中，电极——包括用于电池的微粒电极、用于燃料电池及其他电催化系统的多孔气体扩散电极等——通常具有多尺度结构非均匀性，并表现出不同的电化学活性。[4–6] 这些系统中的近表面电解质也具有空间非均匀性，因为传质会在距电极表面几十至几百微米的范围内形成浓度梯度；扩散层内反应物、中间体和产物的空间浓度分布会显著影响整体电化学反应动力学。[6–8] 尽管功能各异，跨越相界面的微观非均匀性也普遍存在于生物构件中，包括细胞外基质、细胞和亚细胞结构。[9–11] 这些由膜区室化和液–液相分离调控的空间非均匀性，[12,13] 会强烈影响分子运输、基因表达、细胞信号传导、细胞应激反应以及许多其他生物功能。[14–16]

为解析固液界面的空间形貌和化学分布，人们已采用多种成像技术，包括电子显微镜、光学显微镜和扫描探针显微镜。[17–19] 这些技术在提供固体表面的结构和形貌信息方面表现出色，空间分辨率可达微米至亚纳米级。然而，其中大多数技术几乎无法提供近表面液相物种的化学信息，而这些物种可能延伸至距离固体表面数百微米处。振动光谱显微术，包括拉曼和中红外技术，可通过对分子振动模式进行空间探测，实现无标记化学成像。[20,21] 尽管拉曼和中红外方法通常具有互补性，但中红外通常更适用于精确定量，因为中红外吸收直接遵循比尔-朗伯定律。[22] 相比之下，拉曼强度不仅取决于所探测物种的浓度，还取决于激光功率、焦体积、收集效率、光学对准、折射率、偏振、探测器响应，有时还取决于荧光；这些因素会降低绝对定量的稳健性。[23–25]

液相中红外表征的一项关键挑战是液体的强背景吸收。[26–28] 对于水系而言，这一限制尤为显著，因为水在整个中红外光谱范围内都具有强烈且宽广的吸收带。[26,29,30] 为缓解这一挑战，人们探索了多种方法（图1）。其中一种方法将薄液体池（<10 μm）与强同步辐射中红外光相结合（图1a），实现了非接触式光谱显微术，空间分辨率可达 ~2–10 μm。[31–34] 然而，液体池法对样品尺寸有严格要求（必须小于液体池光程）。[35] 此外，传统中红外显微术采用大数值孔径物镜来实现高成像分辨率，[36] 由此产生的高度非准直光束使信号定量变得复杂。[22]另一种方法是采用微区衰减全反射傅里叶变换红外光谱，利用倏逝场减弱体相吸收，并实现

使用焦平面阵列（FPA）探测器进行成像，空间分辨率可达微米级（图1b）。[37–40] 然而，其探测深度仅限于ATR晶体周围~1 μm的范围；由于确切光程存在不确定性，ATR测量的定量分析也颇具挑战。[22, 41–43] 另一种实现液相中红外成像的方法是将原子力显微镜（AFM）与中红外光谱学相结合。根据检测算法的不同，这些纳米红外方法包括散射型扫描近场光学显微镜（s-SNOM）、光热诱导共振（PTIR）和峰值力红外（PFIR）显微术。[44–50] 近期，研究人员将超薄膜与s-SNOM结合，通过将AFM探针与水性环境隔开，减弱水的强吸收（图1c）。[51–53] 然而，现有纳米红外技术的探测深度仅为~100 nm。[51,52] 此外，由于检测到的信号会受到探针几何形状、近场散射、光热膨胀和/或探针–样品耦合的显著影响，定量解读仍然面临挑战。[48, 54–56] 此外，在这些纳米红外测量过程中，探针与样品直接或间歇接触，可能会扰动脆弱的样品和/或附近的液体环境。总体而言，现有液相中红外微纳光谱技术在探测深度、定量能力和/或样品扰动方面均存在局限。

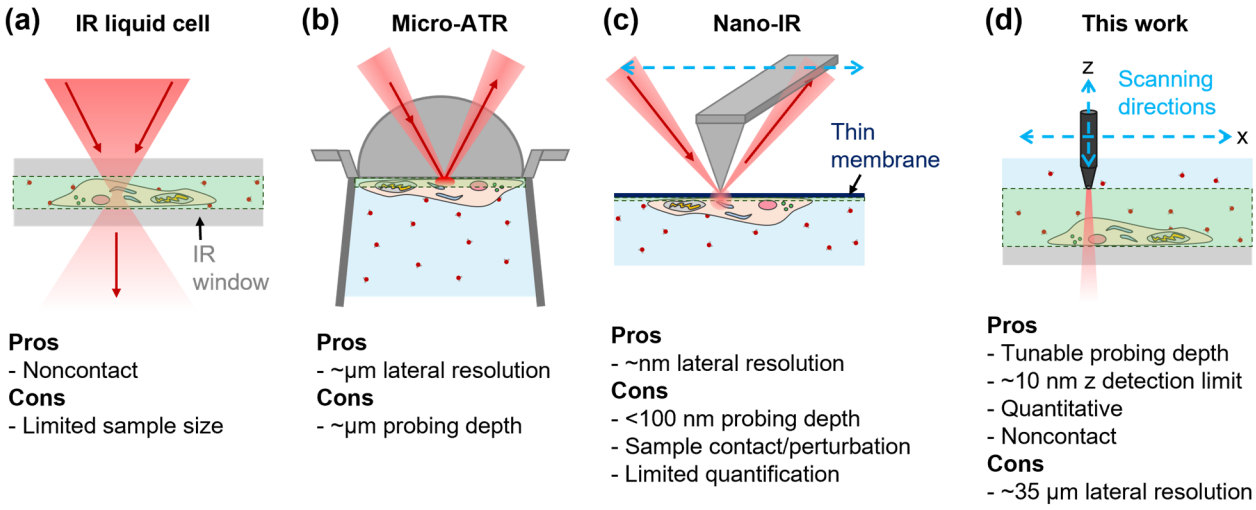


图 1. 不同中红外光谱显微方法用于液相化学和/或形貌成像的比较。绿色虚线框标出了每种方法的主动探测体积。

为克服现有液相中红外测量面临的挑战，我们实验室近期展示了一种内窥式傅里叶变换红外光谱（内窥傅里叶变换红外光谱）方法，使用光纤探针在液体内部实现可变光程傅里叶变换红外表征。[57,58] 通过以~1 μm为步长控制光程（z），并将其缩短至~3 μm的最小值，我们在中红外光谱范围的大部分区域内，实现了对液体吸收系数（α）的精确定量，最高可达~3×10^3 cm^{-1}。然而，仍存在两项主要局限：1）在水溶液中，~3100–3700 cm^{-1} 范围内的中红外透射率低于检测限（其中 $\alpha > 3\times10^3$ cm^{-1}，这是由于水的强 O–H伸缩振动模式所致），因为有效光程无法缩短至低于~3 μm

这是由于探针表面的微米尺度粗糙度（直径为~170 μm）以及探针存在无意产生的微小倾斜；2）未能实现面内分辨率，这是因为光学通量有限、硬件控制受限且缺乏探针锥化。

在本研究中，我们通过制备具有平坦端面的锥形中红外光纤探针，并将孔径缩小至~10 μm，克服了现有内窥傅里叶变换红外光谱方法的关键局限；同时提高了光学装置与探针的耦合效率，并增加了面内扫描能力（图1d）。新建立的内窥式显微傅里叶变换红外光谱（endo-μFTIR）方法实现了对光程的精细控制，z向最小值低于1 μm，从而能够定量测定 $\alpha > 10^4$ cm^{-1}，并实现水溶液中覆盖整个1000–4000 cm^{-1} 范围的光谱覆盖。通过在液体内部、位于固体表面上方数微米处进行扫描，我们展示了真正的非接触式化学成像，面内分辨率最低可达~35 μm。利用比尔-朗伯定律，我们进一步测定了非中红外透明固体薄膜和液体区域的局部厚度，检测限分别低至~17 和7.3 nm。该内窥式μFTIR方法将实现对众多电化学、化学和生物系统在其原生液体环境中的原位、定量且具化学分辨能力的表征。

2. 结果与讨论

锥形探针微加工

为提高表面平整度和中红外光的耦合效率，我们首先对光纤探针的输入端进行了抛光处理。抛光使光纤横截面的算术平均高度（Sa）从 ~17.1 μm 降至 ~1.1 μm（图 S1a、b）。表面平整度的改善使测得的中红外光通量增加了约 55 倍（图 S1c），这可能是由于表面散射损耗降低，从而提高了中红外光耦合进入微探针的效率。

我们进一步进行了微加工，将探针孔径直径从原始的 170 μm 减小至几十 μm，并改善端面平整度（图 2a）。首先，通过化学刻蚀使光纤变细。具体而言，将探针部分浸入覆盖有姥鲛烷油保护层的食人鱼溶液中。在刻蚀过程中，强氧化性的食人鱼溶液对 As_2Se_3 光纤表面进行化学刻蚀并将其溶解。[59] 溶解的反应产物在光纤表面附近积聚，提高了局部溶液密度，并沿光纤产生向下的对流。新鲜蚀刻剂不断从油–蚀刻剂界面流向光纤探针，从而使探针发生优先刻蚀并逐渐颈缩。最终，变细的颈部无法继续支撑光纤下部，后者发生脱落，留下锥形探针（图 2a）。锥形结构取决于保护油–蚀刻剂–光纤界面处的表面张力，并可能通过调节蚀刻剂温度和浓度进行控制。[59,60] 设置摄像机监测锥形形状的演变，并在光纤达到所需形状后将其取出。刻蚀完成后，立即用水和异丙醇（IPA）冲洗光纤，以去除残余蚀刻剂和反应产物。完成锥化后，将光纤插入陶瓷套管的孔中，并采用我们先前工作中报道的相同方法，用环氧树脂进行密封。[57] 为最大限度地减少杂散光，在锥形光纤表面涂覆

10 nm 的铬黏附层，随后按照我们先前工作中确立的工艺涂覆 100 nm 的金层。[57] 随后，使用聚焦离子束（FIB）铣削制备所需的探针孔径，并改善输出端的平整度。由于聚焦离子束（FIB）铣削暴露了锥形探针的内部，最终输出端表面除周边区域外均无 Cr/Au 涂层。

扫描电子显微镜（SEM）图像展示了探针在聚焦离子束铣削前后的形貌，如图2b、c所示，揭示了整体的锥形结构以及由聚焦离子束形成的平坦孔径开口。随后通过光学轮廓测量进一步表征了探针输出端的表面形貌，确认Sa低于1 μm（图S2）。

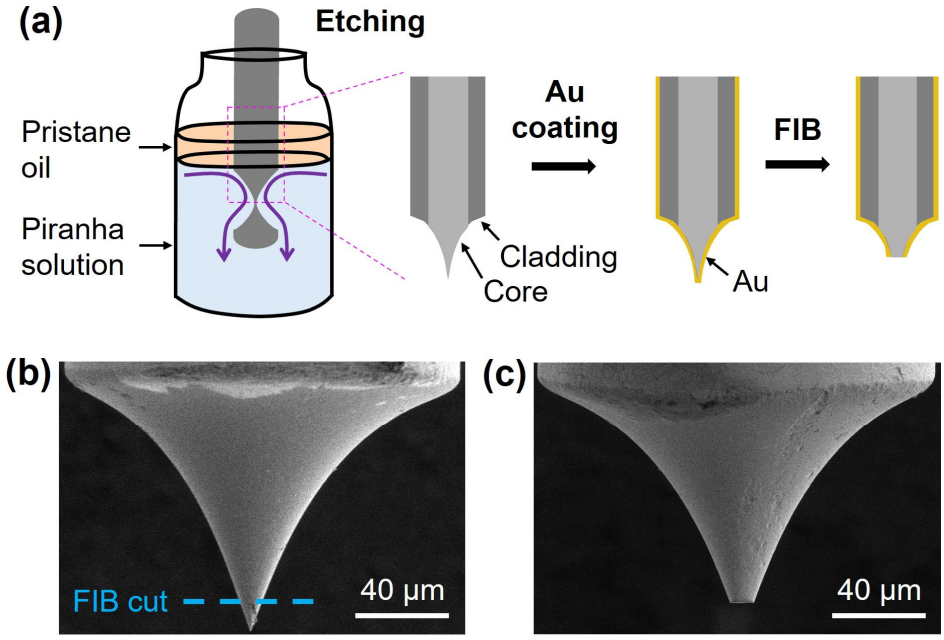


图2. 锥形微探针的微加工工艺。 (a) 探针制造工艺示意图。(b、c) 微探针（探针3）在化学刻蚀和金涂层处理后（b）以及聚焦离子束铣削后（c）的扫描电子显微镜（SEM）图像。(c)中的孔径开口面积为~111 μm^2。

锥形探针通量研究

图3a和图S3分别展示了实验中红外测量和光线追迹模拟所采用的光学配置。模拟中使用的探针几何形状经过设计，可尽可能准确地再现实验制备探针的几何形状（图S4和图S5）。由于微探针开口的尺寸（几十微米）大于中红外波长（2.5–10 μm），因此几何光学可以有效近似光传播。在此近似下，我们使用8 μm的波长（波数为1250 cm^{-1}）进行光线追迹模拟，以预测透射中红外光的通光率和光束发散（图3b、c）。将直径为12 mm的准直光束射入光学系统，并对10^6 条光线进行追迹。鉴于金在中红外区域具有高反射率，[61] 锥形探针的金涂层在模拟中被建模为反射表面，并以足够厚的铝涂层进行近似，

探针孔径后，中红外光束逐渐发散，如图3b中的光线分布和图3c中的横截面辐照度图所示。以844 W/cm^2 的辐照度阈值作为噪声基线（图S6），我们计算了不同z位置处的光束直径。结果发现，在z = 0 处直径为~42 μm，在z = 18 μm处直径为~44 μm，这表明在最初的~20 μm范围内，发散程度较小。因此，我们预计在该z范围内比尔-朗伯定律适用。

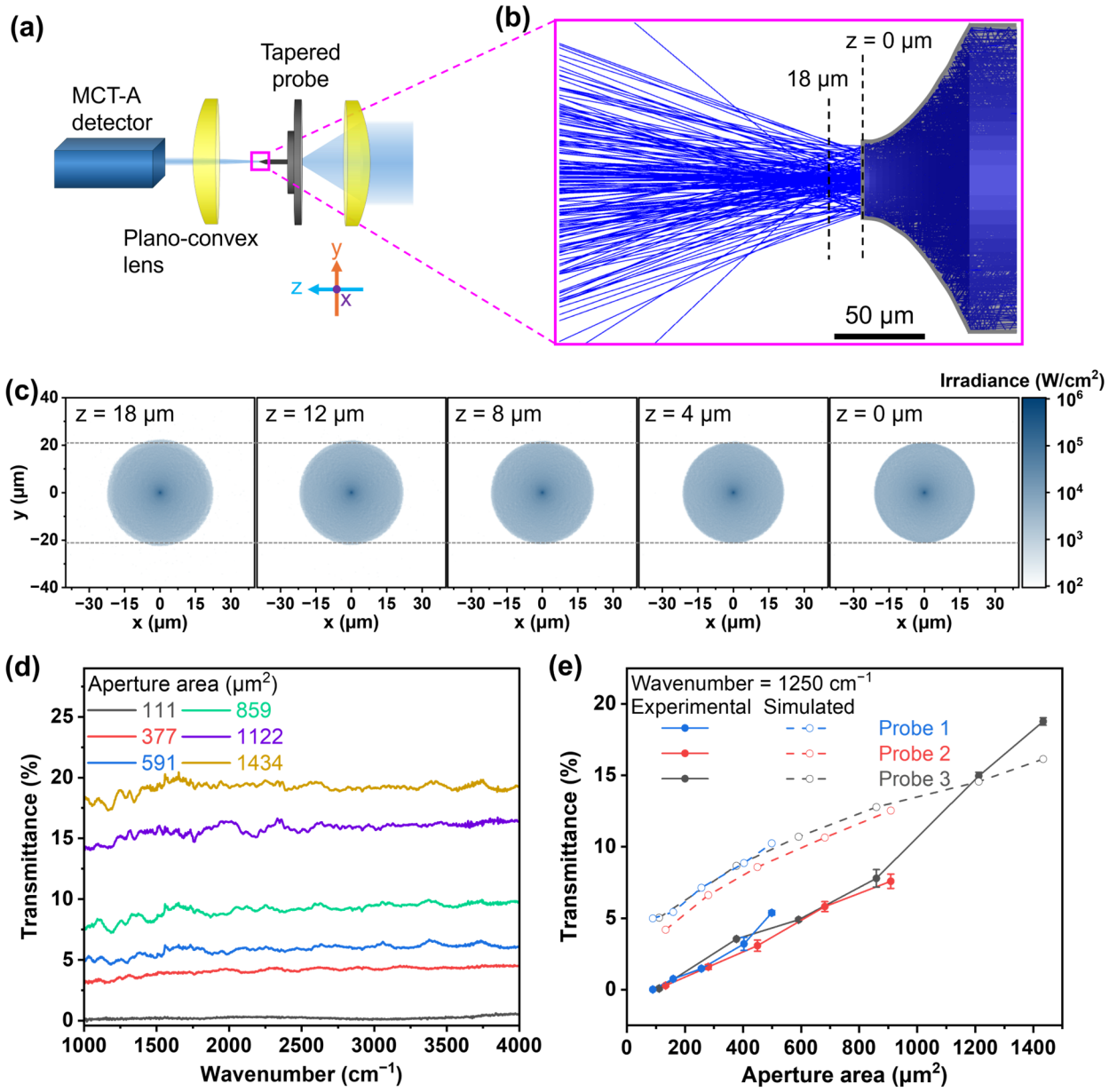


图3. 锥形探针中红外透射率定量。（a）用于实验中红外透射率测量的光学装置示意图。（b）在波数为1250 cm^{-1}时，带有直径为42 μm孔径开口的金涂层锥形探针（探针3）的模拟中红外光线分布。整体模拟光学装置如图S3所示，模拟探针的几何结构如图S5所示。（b）中显示了900条光线。（c）.....的辐照度分布

z = 18、12、8、4 和 0 μm 处的出射中红外光束截面（从左至右）。z = 0 μm 对应于微探针的输出端。（d）探针3在逐步切割至不同孔径面积后测得的实验中红外透射光谱。（e）在波数为 1250 cm^{-1} 时，三组锥形探针在多个孔径面积下的实验透射率（实心圆和实线）与模拟透射率（空心圆和虚线）。每个实验数据点表示 2 次或 3 次独立测量的平均值和标准差。三组探针的扫描电子显微镜图像见图S4。

为实验量化锥形探针的通光率随孔径的变化，采用聚焦离子束铣削逐步增大探针开口（图S4），并在每个铣削步骤后测量输出强度（图S7）。通光率计算为测得的输出强度（图S7a、d、g）与输入强度之比；输入强度则使用直径为 100 μm、与光纤芯径相对应的针孔进行估算（图S8）。对于每个探针开口，在 1000–4000 cm^{-1} 的宽广光谱范围内均观察到几乎恒定的透射率，表明无论孔径大小如何，该探针都能够可靠地探测多种分子种类（图3d）。随后，将三组独立制造的锥形探针所获得的实验通光率与光线追迹模拟结果进行了比较（图3e）。在三种不同的锥形几何结构下，模拟和实验所得的透射率均呈现出相似的总体趋势，即输出孔径越大，透射率越高。模拟透射率通常高于实验值，这可归因于模拟模型中的理想化处理。具体而言，模拟探针采用了简化几何结构，其输入和输出表面均为完全平坦，并处于理想光学对准状态（图S5）。相比之下，实验制造的探针在几何结构上存在一些不规则性（图S4）和有限的表面粗糙度（图S2）；同时，光学对准由人工完成，因此会受到定位误差的影响。这些偏离理想化模型的因素可能引入不同的光束反射／折射路径和／或额外散射，从而导致较低或不同的实验透射率。

液体中的精确z剖析

与我们此前内窥傅里叶变换红外光谱研究中使用的光纤探针相比，[57] 本研究制备的新型锥形探针具有更小的孔径开口和更低的表面粗糙度（图 4a），预计能够实现更精确的光程控制，精度可达亚微米尺度。为测试其性能，我们将制备的锥形探针浸入水中，并进行了水的 z 分布测量（图 4a 和 S9）。此外，我们校正了中红外光束传播路径上各界面的反射，以量化水的中红外透射率（详见材料与方法）。图 4b 显示了一系列 z 值下水的透射率随波数的变化。我们在 1000–4000 cm^{-1} 的光谱范围内观察到所有显著的水振动模式，包括 ~1650 cm^{-1}处的 H–O–H弯曲振动、~2130 cm^{-1}处的合频模式（H–O–H弯曲振动与受阻转动的合频），以及 ~2900–3700 cm^{-1}处的 O–H伸缩振动。[57]

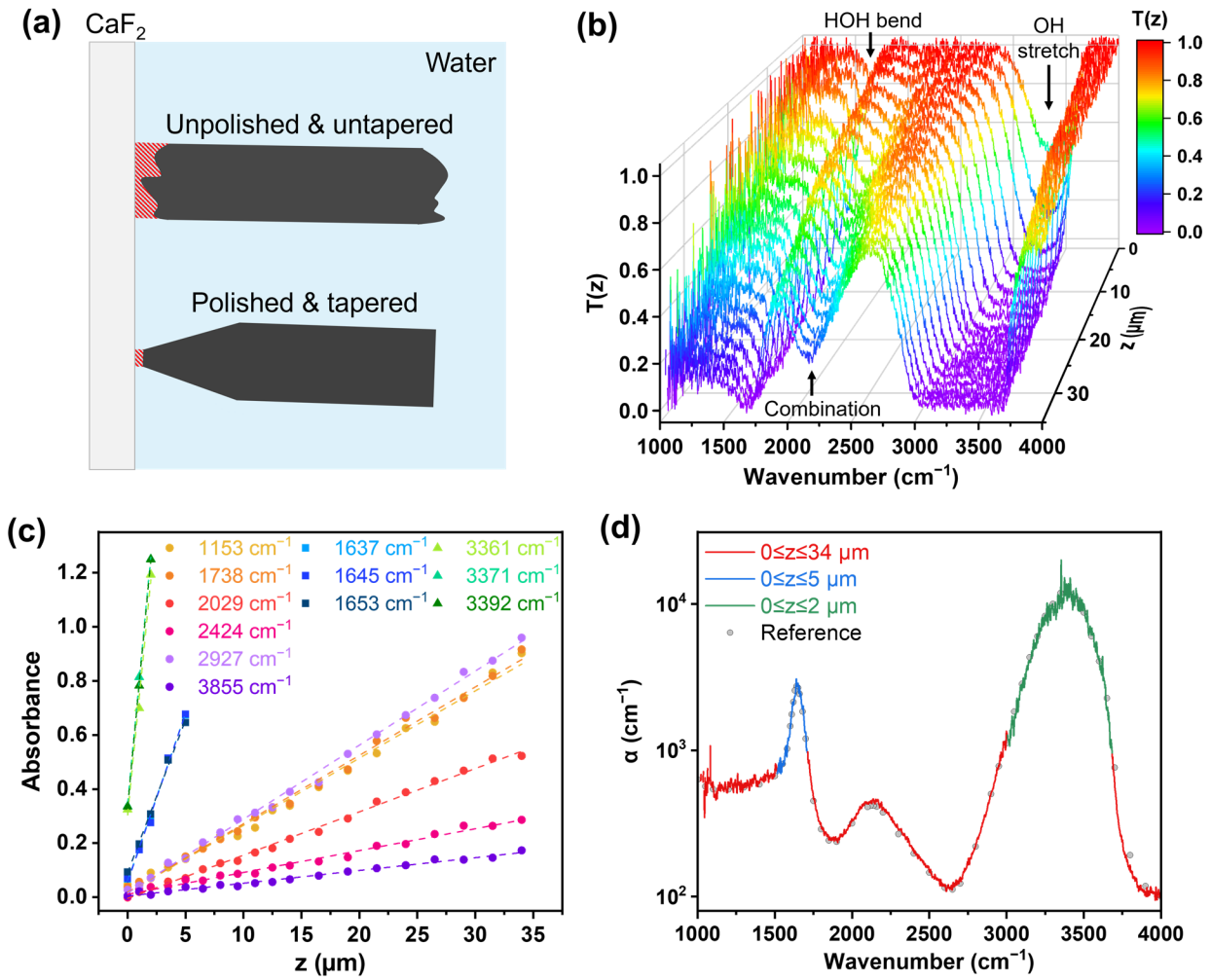


图 4. 使用锥形探针测量水的 z 分布。(a) 未抛光、未锥化探针与已抛光、锥化探针浸入水中的示意图，分别代表我们先前工作[57] 和本工作中使用的微探针。(b) 水的中红外透射率随波数和 z 的变化。(c) 不同 z 位置处水在所选波数下的吸光度及其线性拟合。(d) 水的吸收系数（α）光谱与参考光谱的比较。由于测量光谱范围内的中红外衰减长度（1/α）变化显著，为了提高精度，α 在不同波数范围内采用了不同的 z 范围进行计算。具体而言，波数范围为 3007–3682 cm^{-1}时使用0≤z≤2 μm，1518–1711 cm^{-1}时使用 0≤z≤5 μm，而在 1001–1516、1713–3005 和 3683–4000 cm^{-1}范围内使用 0≤z≤34 μm。参考光谱（灰色圆点）经许可改编自参考文献 62。© 1971年美国光学学会。

我们进一步将中红外透射率转换为吸光度，并分析其与光程的关系。如图 4c 所示，吸光度与 z 之间呈线性关系，证实了比尔-朗伯定律的适用性。我们根据各波数处吸光度与 z 线性拟合的斜率，提取了水的吸收系数（α），并绘制了

图4d中的所得光谱。由于中红外衰减长度（1/α）随波数变化显著，因此针对不同波数范围内的吸光度线性拟合，选择了不同的z范围，以获得精确的α 值。在1000–4000 cm^{-1} 范围内得到的α 值均与采用楔形透射池获得的现有标准结果吻合良好。[62] 需要注意的是，这些楔形池无法提供空间分辨率，因此仅适用于空间均匀样品；相比之下，我们的内窥式μFTIR方法能够定量表征沿z方向和平面内方向的空间非均匀性。

我们量化得到的最高α 值为~1.2×10^{4} cm^{-1} ，位于O–H伸缩振动带峰值处，对应可实现的最小中红外衰减长度为 ~0.8 μm。这相比我们此前的工作有了显著改进，[57] 此前由于粗糙的探针表面与基底之间困 trapped 的残余水，无法分辨完整的O–H伸缩振动带（图4a）。在当前的内窥式μFTIR装置中，通过多项改进实现了更大的α 和z可测范围，包括：1）将我们此前报告中使用的物镜[57] 更换为通光孔径更大的平凸透镜，从而提高信噪比（图S10）；2）对探针的输入端进行机械抛光（图S1）；3）使用孔径更小的锥形探针，在探针无意中发生小角度倾斜时减小残余水层厚度（这类无法控制的小幅倾斜目前在所有现有扫描探针方法中都不可避免；图4a）；以及4）降低锥形探针输出端探针表面的粗糙度（图S2b），进一步将低z处的残余水体积降至最低。

面内　　固体与近表面液体的化学和形貌映射

为评估面内化学与形貌映射能力，我们制备了一个微图案化的 SU-8分辨率靶标，由交替排列的 SU-8条纹和裸露的 CaF_2 区域组成（图 S11）。我们使用开口直径为 38.4 至 45.4 μm 的锥形微探针（探针3）（图5a 和 S12），在水中对制备的分辨率靶标进行成像（图5b）。条纹宽度和间距（裸露的 CaF_2 区域）均为 ~200 μm，远大于微探针的 ~40 μm 孔径直径。目前尚未实现精确定位和反馈控制。尽管如此，只要微探针足够靠近感兴趣区域，现有装置已能对光路上的所有中红外吸收物质进行精确定量。我们在沿 x 方向进行面内扫描时采集中红外吸光度光谱，该方向垂直于分辨率靶标的条纹方向。扫描距离为 ~650 μm，足以分辨分辨率靶标图案的 1.5 个以上周期。面内扫描过程中，我们观察到 1246 cm^{-1} 和 1508 cm^{-1}处的峰周期性出现，分别归因于 SU-8 的 C–O–C 不对称伸缩振动和芳香族 C–C 环内伸缩振动[63,64] （图5c 和 S13）。水的 H–O–H弯曲振动（~1650 cm^{-1}）和组合带（~2130 cm^{-1}）也随扫描而变化，反映出图案化表面上方局部水层光程的变化。

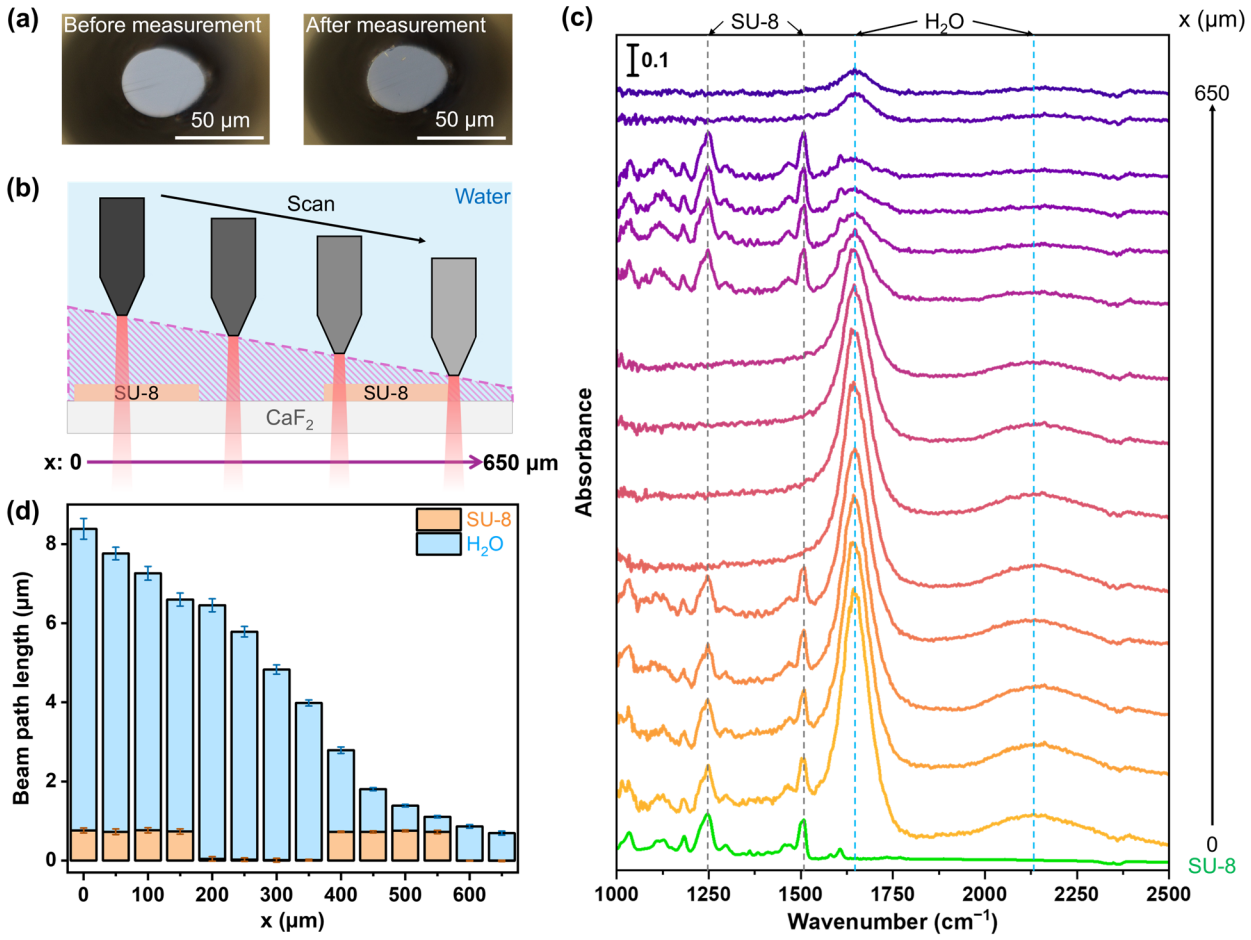


图5. 使用 endo-μFTIR 对水中的分辨率靶标进行面内化学与形貌映射。 (a) 锥形探针在endo-μFTIR测量前后的光学显微镜图像。(b) 侧视示意图，展示了对水中微图案化分辨率靶标进行的面内 endo-μFTIR测量。紫色虚线区域表示主动探测体积，其中包括 SU-8微条带及其周围的水。(c) 沿 x 方向扫描时获得的水中分辨率靶标的中红外吸光度光谱，步长为 50 μm （橙色至紫色），以及空气中的 SU-8 参考光谱（绿色）。SU-8 参考光谱通过针孔配置，在空气中测量 CaF_2 基底上的连续 SU-8薄膜吸光度，并扣除裸 CaF_2 背景后获得（图 S15a）。(d) SU-8厚度和水层厚度随 x 的变化。SU-8厚度根据 1500–1516 cm^{-1} 范围内的 9 个光谱数据点计算。水层厚度根据 1630–1660 cm^{-1} 范围内的 17 个数据点计算。误差棒表示标准差。

为对吸光度光谱进行定量解卷积并提取局部 SU-8 和水层厚度，需要获得各组分在整个光谱范围内的吸收系数值。水的吸收系数光谱已在图4d中确定。我们进一步通过测量一个样品的吸光度光谱，获得了 SU-8 的吸收系数（α_{SU8}）

具有预定厚度的连续SU-8薄膜，并应用比尔-朗伯定律（图S14和S15）：

$$\alpha = \frac{A_{exp} ln(10)}{z}, \quad (1)$$

其中，A_{exp} 是实验测得的中红外吸光度。

基于图5c中的原始吸光度光谱，我们进一步扣除了水的贡献，以分离出SU-8吸光度（材料与方法；图S16）。使用实验确定的α_{SU8}，将式1应用于扣除水贡献后的SU-8吸光度，以计算局部SU-8厚度。由于SU-8表现出两个明显的峰（图5c和S16b），因此可以利用这两个峰提取SU-8薄膜的局部厚度。分别使用1500–1516 cm^{-1} 和1238–1254 cm^{-1} 光谱范围计算得到的厚度曲线如图5d和图S17所示。在这两种结果中，我们都观察到厚度几乎恒定的SU-8条纹，其宽度为~200 μm，间距为~200 μm。根据图5d和图S17，分别得到平均厚度0.74 ± 0.02 μm和0.74 ± 0.08 μm。这些数值与通过原子力显微镜测得的0.75 ± 0.15 μm厚度接近（图S14）。同样地，通过从面内扫描期间采集的光谱中扣除SU-8的贡献，分离出水吸光度（材料与方法；图S16a）。利用H–O–H弯曲振动模式（1630–1660 cm^{-1}）并结合式1，对局部水层厚度进行了定量。如图5d所示，在各个SU-8区域和CaF_2 基底区域内，局部水层厚度均从左向右减小（即随着x增加而减小），这是由于探针扫描轨迹大致向下（图5b）。然而，在每条SU-8条纹的右侧边界处，水层厚度突然增加（当x从150 μm增加到200 μm时，从5.87 ±0.17 μm增加到6.41 ± 0.16 μm；当x从550 μm增加到600 μm时，从0.38 ± 0.03 μm增加到0.86 ± 0.04 μm），这是因为从SU-8过渡到CaF_2 导致光在水中的光程增加。随着x从0增加到650 μm，SU-8厚度与水层厚度之和从~8.39 ± 0.27 μm减小到~0.68 ± 0.05 μm（图5d），这同样反映了微探针向下的扫描轨迹（图5b）。

扫描过程中测得水层厚度始终有限（图5d），且测量后探针表面未发生变化（图5a），这表明扫描时探针并未接触固体表面。

为评估锥形探针的空间分辨率，我们使用小于探针孔径的步长，跨越SU-8条纹图案的一条边缘（仍浸没在水中）进行了endo-μFTIR测量（图6a）。使用了图5a所示的同一个锥形探针，其孔径为~40 μm。当探针在SU-8区域上方扫描时（从x = 0 到125 μm），SU-8吸光度（峰位于1246 cm^{-1} 和1508 cm^{-1}）基本保持不变，而水吸光度（峰位于1650 cm^{-1} 和~2130 cm^{-1}）持续增加（图6b和S18），这与SU-8薄膜厚度恒定以及探针向上的扫描轨迹（图6a）一致。当探针从SU-8区域向暴露的CaF_2 区域移动时，SU-8吸光度在x = 125 到160 μm范围内急剧下降（图6b和S18），这与固体局部成分变化一致。使用图5所述的相同方法，我们进一步提取了扫描区域内的定量水厚度和SU-8厚度（图

S19和6c）。从1500–1516 cm^{-1} 区域提取的SU-8厚度在$0 \le x \le 125$ μm处为0.64 ± 0.01 μm，并随着x从125 μm增加到160 μm而急剧降至零（图6c）。使用1238–1254 cm^{-1} 区域进行厚度定量得到了类似结果（图S20）。因此，该过渡区域的~35 μm宽度（x = 125–160 μm；图6c中的红色虚线）提供了横向空间分辨率的实验估计值。尽管所用探针的孔径为38.4–45.4 μm（图5a），但我们的光线追迹模拟显示，探针中心处的光子通量更强，而在探针边缘附近则显著减弱（图S6）。因此，实现略优于探针开口的面内空间分辨率是合理的。

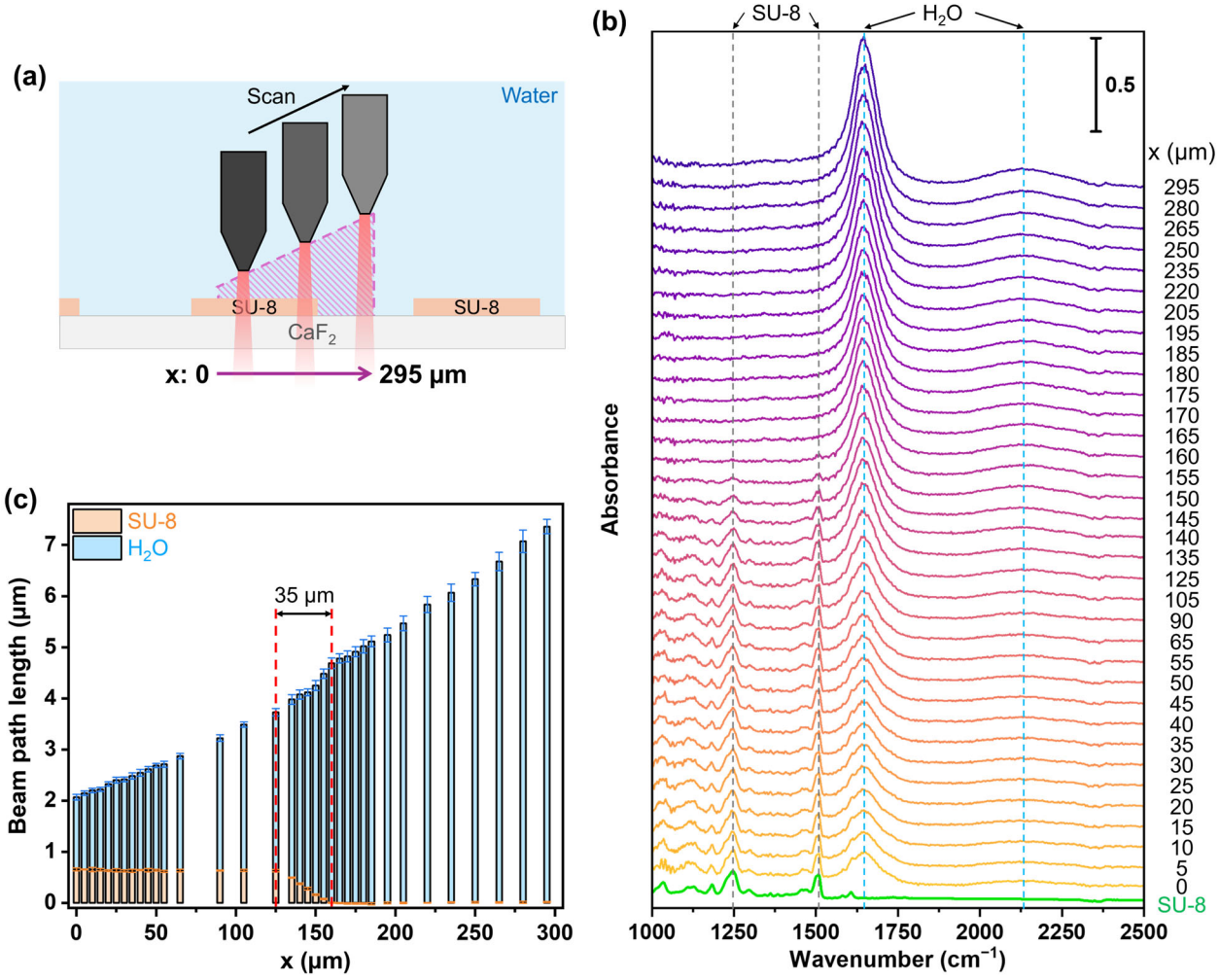


图6. endo-μFTIR的精细扫描与分辨率测定。 (a) 示意图为从侧面展示探针在水中横跨SU-8条带边缘进行endo-μFTIR测量。(b) 如(a)所示，微探针沿x方向从0扫描至295 μm时获得的中红外吸光度（颜色由橙色渐变至紫色）。同时显示空气中的SU-8光谱（绿色），与图5c中的光谱相同，作为参考。(c) 根据(b)中的数据获得的局部SU-8厚度和水层厚度随x的变化。SU-8厚度根据1500–1516 cm^{-1}范围内的9个光谱数据点计算得出，而水层厚度根据1630–1660 cm^{-1}范围内的17个数据点计算得出。红色

虚线标示了从 SU-8 到 CaF_2 基底的过渡，显示出 35 μm 的面内分辨率。

我们进一步量化了 endo-μFTIR 对 SU-8 和水的 z 检测限，此处将其定义为可检测的最小光程。z 检测限根据仪器的噪声背景、所测材料的吸收系数（α）以及比尔-朗伯定律（公式 1）计算得出（材料与方法）。计算得到的检测限分别为 SU-8 的 ~17 nm（采用 1246 cm^{-1} 振动峰）和水的 ~7.3 nm（采用 3390 cm^{-1} 峰）。这些结果表明，endo-μFTIR 对 z方向上纳米尺度的光程变化具有灵敏度，从而能够检测固体和液体样品厚度的细微变化。

3. 结论

通过在透射式中红外光学装置中集成锥形光纤微探针和三维扫描台，我们开发了内窥式μFTIR方法。该技术能够对固体结构及其周围的液体环境进行真正的非接触式定量化学分析和形貌成像，实现 ~35 μm 的面内分辨率。当应用于水中的 SU-8分辨率靶标时，我们实现了 SU-8 为 17 nm、水为 7.3 nm 的垂直检测限。我们预计，该开发的技术在存在非均质固液界面的许多化学、电化学和生物系统中具有广阔的应用前景，例如电池、催化过程/系统、活细胞等。[4–6, 9–11]

内窥式μFTIR方法的未来发展将聚焦于两项改进。一项是引入反馈控制系统，在面内或三维扫描过程中主动调节探针-样品距离。液体的中红外吸光度可作为位置反馈的输入，因为它能够直接指示局部液层厚度（探针-基底距离）。这种反馈控制能够在避免探针-基底接触的同时，实现高速化学成像。另一项未来改进是用输出功率更强的中红外激光器取代傅里叶变换红外光源（硅碳棒光源），从而实现显著更高的空间分辨率（例如，亚微米级面内分辨率和亚纳米级 z 向检测限）以及更高的化学灵敏度。例如，量子级联激光器（QCL）的光谱功率密度比傅里叶变换红外光源高 4–5 个数量级。[65] 因此，在探针和样品条件均相同的情况下，预计使用 QCL 能够获得显著高于基于傅里叶变换红外光谱的测量的信噪比。

4. 方法

光纤输入端和输出端处理

如我们先前的研究所报道，块体 As_2Se_3 光纤（IRflex Corporation，IRF-Se-100R）被切割成 ~30–35 mm长的段，随后去除聚丙烯酸酯（PA）涂层。[57] 之后

去除聚酰胺后，将光纤插入钢针管中，并在140 °C下加热~2 小时以进行拉直。随后，将光纤置于光纤插芯（Thorlabs，CFX230-10）中，并使用碳漆（Ted Pella DAG-T-502）将其固定在漏斗端。使光纤末端从光纤插芯的平端伸出不超过~1 mm。然后，将装有光纤的光纤插芯插入抛光夹具（Thorlabs，D50-F）中，平面朝下。熔化蜡，并用其将光纤固定在夹具的平面上。使用一系列氧化铝研磨片（Thorlabs，LF5P、LF3P、LF1P和LF03P）对光纤插芯平端上的光纤输入端进行抛光，以降低表面粗糙度。使用聚焦离子束铣削（FEI Helios 600i 双束扫描电子显微镜/聚焦离子束系统）精确加工光纤输出端的尺寸和平整度。

锥形探针化学刻蚀的蚀刻剂制备

首先将水浴加热至 50 °C，制备食人鱼溶液。在另一个用于冷却的水浴中，将 3.5 mL 硫酸（95.0–98.0%，Fisher Chemicals，A300S-212）加入 20 mL 玻璃小瓶中，随后滴加 1.5 mL 27% H_2O_2 溶液（由 30% H_2O_2, Fisher Chemicals，H325-500 配制）。轻轻搅拌混合物，直至气体析出停止。随后，小心地将 1 mL 姥鲛烷油（合成，≥98%，Sigma-Aldrich，P2870-100ML）滴加在食人鱼溶液上方，作为保护性溶剂层。

光线追迹模拟与透射率计算

使用 Zemax OpticStudio 进行光线追迹模拟，以研究光在锥形 As_2Se_3 光纤探针中的传播。模拟配置基于实验装置（图 S3b 和 S21）构建，探针几何形状经过设计，使其尽可能还原实验制备的锥形探针（图 S4 和 S5）的形状。直径为 12 mm、波长为 8 μm 的准直光束入射到平凸透镜（Thorlabs，LA 7656-G，焦距（FL）为 50.0 mm）上，并在非序列模式下使 10^6 条光线通过系统进行追迹。光纤纤芯和包层的折射率分别设为 2.72 和 2.70。锥形探针的镀金外表面被建模为反射表面。为考虑实验中可能存在的对准误差，在模拟中将入射光束焦点与光纤输入面之间设置了 0.5 mm 的向左偏移。

每个微探针的光学通量通过输出光功率与输入光功率之比计算。输入光功率使用一个放置在光纤输入端的 100 μm × 100 μm 探测器记录（图S3a），而输出光功率则使用一个放置在相对于微探针输出端不同 z 位置的 200 μm × 200 μm 探测器记录（图S3b）。

SU-8 分辨率靶标的制备

为展示 endo-μFTIR 技术的面内扫描能力，我们制作了一个分辨率靶标，由宽度为 200 μm 的 SU-8 光刻胶条纹（Kayaku Advanced Materials，TF 6000.5）组成，基底为 CaF_2（International Crystal Laboratory，0002D-1457）。我们以 1000 rpm 的转速将 SU-8 旋涂在 CaF_2 基底上，并在 110 °C 下软烘烤。随后，将样品置于波长为 375 nm 的可见光下曝光，曝光能量为

100 mJ/cm^2，使用数字掩模（Heidelberg MLA150 对准机）进行曝光。随后，我们将样品在 110 °C 下再烘烤 2 分钟，并使用 SU-8 显影液进行显影。我们使用光学显微镜（Keyence VK-X1000 三维激光扫描共聚焦显微镜）和原子力显微镜（Asylum Cypher S）对分辨率靶标进行成像。

傅里叶变换红外测量

傅里叶变换红外测量基于我们此前在商用傅里叶变换红外光谱仪（Thermo Nicolet iS50）的透射腔中搭建的装置进行（图S21）。该仪器配备 Polaris 中红外光源，光谱范围为 10–9600 cm^{-1}，以及对 600–11700 cm^{-1} 光谱范围敏感的液氮冷却型 MCT-A 探测器。使用一枚硒化锌平凸透镜（Thorlabs，LA7656-E4，50.1 mm 焦距，>20.3 mm 通光孔径）将中红外光聚焦到锥形光纤上（图S10a）。入射中红外光束（入射到平凸透镜上）直径为 ~12 mm。与我们此前工作中使用的物镜（Edmund Optics，88-448，0.08 数值孔径（NA），18 mm 焦距，5 mm 通光孔径）相比，硒化锌平凸透镜具有更大的通光孔径，因此能够收集并耦合进入光纤的中红外光比例更高。这一改进使测得的中红外光通量提高了 ~1.7 倍（图S10b）。

SU-8/CaF_2 分辨率靶标安装在XYZ 平移台（Thorlabs，MT3A）上，可提供精度为~1 μm的三维位置控制。中红外光透过锥形光纤和样品后，经另一枚ZnSe平凸透镜（Thorlabs，LA7656-E4，焦距50.1 mm）重新聚焦，然后到达探测器。

为在液体中进行精确的z 轴剖面测量，将z = 0 μm定义为低于该z位置时原始强度几乎不再发生变化的位置。所有傅里叶变换红外测量均通过设置红外分辨率= 4 cm^{-1}、数据间隔= 1.928 cm^{-1}、扫描次数= 16、增益= 8、移动镜的光学速度= 0.1581 cm/s和光阑= 230进行。

原子力显微成像

成像前，使用双面 Kapton 胶带将样品固定在钢圆盘上。使用 Cypher S 原子力显微镜（Asylum Research，Oxford Instruments）在环境空气中进行原子力显微镜测量；仪器采用轻敲（交流）模式，并通过压电声激励运行。使用了两种探针：FS-1500AuD 探针（Asylum Research，Oxford Instruments），制造商标称弹簧常数为 6–26 N/m，标称共振频率为 ≈1.5 MHz；以及 PPP-NCHAuD 探针（NanoAndMore USA），制造商标称弹簧常数为 42 N/m，实测共振频率为 ≈287 kHz。[66–68] 根据制造商规格，两种探针的标称针尖半径均小于 10 nm。自由振荡振幅通常设为 ≈800 mV 或 1 V，振幅设定值维持在自由振幅的约 65–75%。图像以 0.5 Hz 的扫描速率采集，分辨率为 256 × 256 像素，扫描区域为 20 × 20 μm 或 30 × 30 μm。由于测量关注的是微米尺度特征高度，而非纳米尺度表面形貌，因此预计探针选择不会显著影响结果；相应地，使用两种探针均获得了一致的高度测量结果。使用 Gwyddion 进行图像处理与分析。

反射率校正

光在多个界面间传播时，每个界面处的反射都会影响测得的原始强度（图 S22）。为正确应用比尔-朗伯定律，需校正各界面的反射损耗。[22] 对于 CaF_2 基底在空气中、CaF_2 基底在水中，以及 CaF_2 基底/SU-8 在水中的测量（图 S22），相应的原始强度可表示为：

$$I_{air} = I_0(1-\eta_{others})exp(-\alpha_{air}z_{air})\left(1-R_{CaF_2/air}\right)\left(1-R_{air/probe}\right), \quad (2)$$

$$I_{H_2O} = I_0(1-\eta_{others})exp\left(-\alpha_{H_2O}z_{H_2O}\right)\left(1-R_{CaF_2/H_2O}\right)\left(1-R_{H_2O/probe}\right), \quad (3)$$

$$I_{SU8+H_2O} = I_0(1-\eta_{others})exp\left(-\alpha_{H_2O}z_{H_2O}-\alpha_{SU8}z_{SU8}\right)\left(1-R_{CaF_2/SU8}\right)\left(1-R_{SU8/H_2O}\right)\left(1-R_{H_2O/probe}\right). \quad (4)$$

其中，I_{air}、I_{H_2O}和 I_{SU8+H_2O} 分别是在空气中的 CaF_2 基底、水中的 CaF_2 基底以及水中的 CaF_2 基底/SU-8 配置下测得的原始强度。α_{air}、α_{H_2O} 和 α_{SU8} 分别为空气、H_2O 和 SU-8 的吸收系数，而 z_{air}、z_{SU8}和 z_{H_2O} 则是它们对应的光程。$R_{CaF_2/air}$、$R_{air/probe}$、R_{CaF_2/H_2O}、$R_{H_2O/probe}$、$R_{CaF_2/SU8}$、R_{SU8/H_2O} 和$R_{H_2O/probe}$ 分别是 CaF_2 基底/空气、空气/探针、CaF_2 基底/H_2O、H_2O/探针、CaF_2 基底/SU8、SU8/H_2O 以及 H_2O/探针界面之间的反射率。I_0 是傅里叶变换红外光谱仪输出光束的原始强度。η_{others} 对应于中红外光束到达微探针输出端之前以及到达 CaF_2 基底表面之后的总损耗；由于探针和样品外部使用了相同的光学装置，因此假设这些损耗在空气中的 CaF_2、水中的 CaF_2 以及水中的 CaF_2/SU-8 配置下相同。

使用菲涅耳方程计算了每个界面的反射率（R），假设光线垂直入射于界面：[69]

$$R = \frac{(n_1-n_2)^2+(k_1-k_2)^2}{(n_1+n_2)^2+(k_1+k_2)^2}, \quad (5)$$

其中，n_1 和 n_2 分别为介质1和介质2的折射率实部，k_1 和 k_2 为相应的虚部。探针（$n_{probe} \approx 2.7$，$n_{air} \approx 1.0$），制造商指定值）和空气（.）的实部折射率被假定在整个中红外光谱范围内保持恒定，并忽略其虚部。对于CaF_2 基底，考虑了实部折射率对波长的依赖性，[70] 而忽略其虚部。对于H_2O和SU-8，则同时考虑了折射率实部和虚部对波长的依赖性。[30,71] 由此得到的多个界面处随波长变化的反射率如图 S23所示。在这些界面中，反射损耗主要来自H_2O/探针和空气/探针界面，因此将这些贡献纳入透射率校正。对于纯水光谱，校正后的透射率为：

$$\frac{I_{H_2O}}{I_{air}} = \frac{1 - R_{H_2O/probe}}{1 - R_{air/probe}} exp\left(-\alpha_{H_2O} z_{H_2O}\right). \quad (6)$$

对于SU-8 + 水光谱，校正后的透射率为：

$$\frac{I_{SU8+H_2O}}{I_{air}} = \frac{1 - R_{H_2O/probe}}{1 - R_{air/probe}} exp\left(-\alpha_{H_2O} z_{H_2O} - \alpha_{SU8} z_{SU8}\right). \quad (7)$$

此处，$exp(-\alpha_{air} z) = 1$，因为已观察到 I_{air} 与 z 无关（表明 α_{air} 可忽略），这与我们先前的工作一致。[57]

SU-8 与水分离方法

SU-8 背景去除和 H_2O 厚度测定

对于每个包含 SU-8 贡献的光谱，首先计算 SU-8 峰（位于 1246 cm^{-1}）与参考点（位于 1198 cm^{-1}）之间的吸光度差。随后，将在空气中测量的 SU-8参考光谱进行缩放，使其与该吸光度差相匹配，并从 SU-8 + H_2O 的测量光谱中减去，以去除 SU-8 的贡献。扣除 SU-8 后，根据 H_2O 的参考吸收系数，使用下式计算每个光谱的水层厚度：

$$z_{water} = \frac{ln(10) A_{water}}{\alpha_{water\ reference}}, \quad (8)$$

其中，A_{water} 为扣除 SU-8 的贡献后的红外吸光度，z_{water} 为每个光谱计算得到的水层厚度，$\alpha_{water\ reference}$ 为水的参考吸收系数。[30]

H_2O 背景去除和 SU-8 厚度测定

首先，使用上述方法确定每个光谱中的 H_2O 厚度。根据获得的 H_2O 厚度，计算相应的水背景吸光度，并从每个光谱中扣除，以分离出 SU-8 的贡献。随后，使用参考 SU-8 吸收系数对 SU-8 厚度进行定量。

$$A_{water\ background} = \alpha_{water\ avg} \frac{z_{water}}{ln(10)}, \quad (9)$$

$$A_{SU8} = A - A_{water\ background}, \quad (10)$$

$$z_{SU8} = \frac{ln(10) A_{SU8}}{\alpha_{SU8}}, \quad (11)$$

其中，$\alpha_{water\ avg}$ 是根据在多个 x 位置采集的仅含水的光谱得到的平均水吸收系数，各位置的吸收系数均使用比尔-朗伯定律确定。z_{water} 是根据公式 8 为每条光谱确定的水层厚度，$A_{water\ background}$ 是相应计算得到的水背景吸光度光谱。 A

表示每个 x 位置测得的吸光度光谱。扣除水背景后，剩余的吸光度（A_{SU8}）归因于 SU-8。随后，使用图S15b中确定的 SU-8吸收系数（α_{SU8}）计算相应的 SU-8厚度（z_{SU8}）。分析前，所有用于公式 9–11 的吸光度光谱均已校正反射损耗。

z 检测限的确定

吸光度的检测限定义为：[72]

$$A_{min} = \mu + 3\sigma, \tag{12}$$

其中，μ 和 σ 分别表示仪器噪声基线的平均值和标准差，根据1842–3242 cm^{-1}波数范围计算得到。仪器噪声基线光谱是在探针完全浸没于水中、位于CaF_2 基底上方足够大的z处获得的，此时中红外信号被水完全衰减，剩余信号主要由仪器噪声构成（图S24）。根据吸光度检测限和实验测定的吸收系数，使用比尔-朗伯定律（式1）计算z检测限。

相关内容

补充信息

补充信息可在线免费获取。

通过抛光光纤输入端提高通光率；探针3输入端和输出端的光学轮廓测量结果；光线追迹模拟装置；微探针经过一系列聚焦离子束铣削前后的图像；用于光线追迹模拟的不同形状和孔径开口的微探针几何形状；利用光线追迹模拟评估光束发散；三组独立制造的锥形探针的实验中红外通光率；通过直径为 100 μm 的针孔获得的原始强度光谱；利用 endo-μFTIR 进行水的 z 分布测量所得的原始强度光谱；以平凸透镜替换物镜所带来的通光率提升；分辨率靶标在 endo-μFTIR 面内扫描测量前后的光学图像；用于获得图5和图6结果的微探针侧视光学图像；图5分辨率靶标测量期间获得的叠加中红外吸光度光谱；用于确定 SU-8薄膜高度的原子力显微镜表征；SU-8吸收系数的测定；从图5c中提取的水和 SU-8 的分离吸光度光谱；面内扫描期间从 x = 0 到 650 μm 的 SU-8 和水层厚度定量；图6分辨率靶标测量期间获得的叠加中红外吸光度光谱；沿 x 方向扫描水中 SU-8条带边缘时水和 SU-8 的分离光谱；面内扫描期间从 x=0 到 295 μm 的 SU-8 和水层厚度定量；endo-μFTIR 实验装置；示意图展示了在空气、水和 SU-8 + 水中测量所用光学配置的反射损耗；多个界面处反射率随波数的变化，以及仪器噪声基线（PDF）

注释

作者声明不存在任何竞争性经济利益。

致谢

我们感谢阿诺德与梅布尔·贝克曼基金会提供的贝克曼青年研究者奖以及阿尔弗雷德·P·斯隆基金会提供的斯隆研究奖学金。J.K.感谢伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校TechnipFMC教育基金提供的资助。部分实验在伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校材料研究实验室完成。

参考文献

(1) Laage, D.; Elsaesser, T.; Hynes, J. T. 生物分子水合壳层中的水动力学。《化学评论》 **2017 年** , *117* (16), 10694–10725. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00765 (2) Kashin, A. S.; Ananikov, V. P. 利用电子显微镜监测液体介质中的化学反应。 《自然评论：化学》 **2019年**, *3* (11), 624–637. https://doi.org/10.1038/s41570-019- 0133-z (3) Scalfi, L.; Salanne, M.; Rotenberg, B. 电极-溶液界面的分子模拟。《物理化学年度评论》 **2021 年** , *72*, 189–212. https://doi.org/10.1146/annurev-physchem- 090519-024042 (4) Yuan, J.; Sundén, B. 燃料电池电极多孔结构中多组分气体扩散的机理与模型。 《国际传热与传质杂志》 **2014年**, *69*, 358–374. https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2013.10.032 (5) Wang, L.; Zhong, Y.; Wang, H.; Malyi, O. I.; Wang, F.; Zhang, Y.; Hong, G.; Tang, Y. 新兴的快速充电微尺度电极材料。 《*Small*》 **2024年**, *20* (16), 2307027. https://doi.org/10.1002/smll.202307027 (6) Böhme, A.; Bui, J. C.; Fenwick, A. Q.; Bhide, R.; Feltenberger, C. N.; Welch, A. J.; King, A. J.; Bell, A. T.; Weber, A. Z.; Ardo, S.; Atwater, H. A. 通过多功能pOH成像直接观测非均质CO_2 还原气体扩散电极中的局部微环境。 《能源与环境科学》 **2023**, *16* (4), 1783–1795. https://doi.org/10.1039/d2ee02607d (7) Xie, Y.; Ou, P.; Wang, X.; Xu, Z.; Li, Y. C.; Wang, Z.; Huang, J. E.; Wicks, J.; McCallum, C.; Wang, N.; Wang, Y.; Chen, T.; Lo, B. T. W.; Sinton, D.; Yu, J. C.; Wang, Y.; Sargent, E. H. 酸性介质中CO_2 还原为多碳产物时的高碳利用率。 《自然·催化》 **2022**, *5* (6), 564–570. https://doi.org/10.1038/s41929-022-00788-1

(8) Lu, X.; Zhu, C.; Wu, Z.; Xuan, J.; Francisco, J. S.; Wang, H. 原位观测碱性电解质中 CO_2 还原气体扩散电极附近的pH梯度。《美国化学会志》 **2020年**, *142* (36), 15438–15444. https://doi.org/10.1021/jacs.0c06779 (9) Theocharis, A. D.; Skandalis, S. S.; Gialeli, C.; Karamanos, N. K. 细胞外基质结构。《高级药物递送评论》 **2016**, *97*, 4–27. https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.001 (10) Nelson, C. M.; Tien, J. 组织工程与发育中的微结构化细胞外基质。《生物技术当前观点》 **2006**, *17* (5), 518–523. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2006.08.011 (11) Sezgin, E.; Levental, I.; Mayor, S.; Eggeling, C. 膜组织之谜：脂筏的组成、调控与作用。《自然评论：分子细胞生物学》 **2017年**, *18* (6), 361– 374. https://doi.org/10.1038/nrm.2017.16 (12) Banani, S. F.; Lee, H. O.; Hyman, A. A.; Rosen, M. K. 生物分子凝聚体：细胞生物化学的组织者。《自然评论：分子细胞生物学》 **2017年**, *18* (5), 285–298. https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7 (13) Fare, C. M.; Villani, A.; Drake, L. E.; Shorter. 生物分子凝聚体的高阶组织。《开放生物学》 **2021**, *11* (6), 210137. https://doi.org/10.1098/rsob.210137 (14) Baker, B. M.; Chen, C. S. 解构第三维度——三维培养微环境如何改变细胞信号。《细胞科学杂志》 **2012年**, *125* (13), 3015–3024. https://doi.org/10.1242/jcs.079509 (15) Fan, D.; Creemers, E. E.; Kassiri, Z. 基质作为间质传输系统。《循环研究》**2014**, *114* (5), 889–902. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302335 (16) Bissell, M. J.; Hall, H. G.; Parry, G. 细胞外基质如何引导基因表达? 《理论生物学杂志》 **1982**, *99* (1), 31–68. https://doi.org/10.1016/0022-5193(82)90388- 5 (17) Fukuma, T.; Garcia, R. 利用三维原子力显微镜以原子和分子分辨率绘制固液界面。《*ACS*纳米》 **2018**, *12* (12), 11785–11797. https://doi.org/10.1021/acsnano.8b07216 (18) Wang, Y.; Cao, Z.; Yang, Q.; Guo, W.; Su, B. 以空间分辨率研究局部电化学反应的光学方法：批判性综述。《分析化学学报》 **2019**,*1074*, 1–15. https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.053 (19) Ross, F. M. 液体池电子显微镜的机遇与挑战。《科学》 **2015**,*350* (6267), aaa9886. https://doi.org/10.1126/science.aaa9886 (20) Geraldes, C. F. G. C. 红外与基于拉曼的生物医学分子成像简介及其与其他成像模态的比较。《分子》 **2020**, *25* (23), 5547. https://doi.org/10.3390/molecules25235547

(21) Weber-Bargioni, A.; Schwartzberg, A.; Cornaglia, M.; Ismach, A.; Urban, J. J.; Pang, Y.; Gordon, R.; Bokor, J.; Salmeron, M. B.; Ogletree, D. F.; Ashby, P.; Cabrini, S.; Schuck, P. J. 使用同轴光学天线扫描探针在介电基底上进行高光谱纳米成像。《纳米快报》 **2011年**，*11* (3)，1201–1207。https://doi.org/10.1021/nl104163m (22) Mayerhöfer, T. G.; Pahlow, S.; Popp, J. 布格-比尔-朗伯定律：为晦涩现象照亮一束光。《化学物理化学》 **2020年**，*21* (18)，2029–2046。https://doi.org/10.1002/cphc.202000464 (23) Pelletier, M. J. 使用拉曼光谱测定进行定量分析。《应用光谱学》 **2003年**，*57*(1)，20A-42A。https://doi.org/10.1366/000370203321165133 (24) Szostak, R.; Mazurek, S. 通过对光谱进行简单变换，有效降低复杂系统傅里叶变换拉曼多变量分析中的定量误差。《振动光谱学》**2009年**，*49* (2)，298–302。https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2008.09.001 (25) Wu, Z.; Zhang, C.; Stair, P. C. 吸收对拉曼光谱学中定量分析的影响。《今日催化》 **2006年**，*113* (1)，40–47。https://doi.org/10.1016/j.cattod.2005.11.077 (26) Fomina, P. S.; Proskurnin, M. A.; Mizaikoff, B.; Volkov, D. S. 水溶液中的红外光谱学：能力与挑战。《分析化学评论》 **2023年**，*53* (8)，1748– 1765。https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2041390 (27) Porter, J. M.; Jeffries, J. B.; Hanson, R. K. 3.4 μm附近液态烃燃料的中红外吸收测量。《定量光谱学与辐射传递杂志》 **2009 年**，*110* (18)，2135– 2147。https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2009.05.017 (28) Buffeteau, T.; Grondin, J.; Lassègues, J.-C. 离子液体的红外光谱学：定量方面与光学常数的测定。《应用光谱学》 **2010年**，*64* (1)，112–119。https://doi.org/10.1366/000370210790572089 (29) Venyaminov, S. Yu.; Prendergast, F. G. 1000–4000 cm^{-1} 范围内水（H_2O和D_2O）的摩尔吸光系数及水溶液的定量红外光谱学。《分析生物化学》 **1997年**，*248* (2)，234–245。https://doi.org/10.1006/abio.1997.2136 (30) Hale, G. M.; Querry, M. R. 200 nm至200 mm波长范围内水的光学常数。《应用光学》 **1973年**，*12* (3)，555–563。https://doi.org/10.1364/AO.12.000555 (31) Tobin, M. J.; Puskar, L.; Barber, R. L.; Harvey, E. C.; Heraud, P.; Wood, B. R.; Bambery, K. R.; Dillon, C. T.; Munro, K. L. 使用微加工样品支架，通过同步辐射红外显微术在水性介质中对单个活细胞进行傅里叶变换红外光谱学研究。《振动光谱学》 **2010年**，*53*(1)，34–38。https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.02.005 (32) Birarda, G.; Ravasio, A.; Suryana, M.; Maniam, S.; N. Holman, H.-Y.; Grenci, G. IR-Live：制造一种低成本塑料微流控器件，用于活细胞的红外显微光谱学。《实验室芯片》 **2016年**，*16* (9)，1644–1651。https://doi.org/10.1039/C5LC01460C

(33) Prati, S.; Joseph, E.; Sciutto, G.; Mazzeo, R. 傅里叶变换红外显微术和光谱学在艺术材料表征中的应用新进展。《化学研究评论》**2010年**，*43* (6)，792–801。https://doi.org/10.1021/ar900274f (34) Loutherback, K.; Birarda, G.; Chen, L.; N. Holman, H.-Y. 用于活体生物系统同步辐射傅里叶变换红外（SR-FTIR）光谱显微术的微流控方法。《蛋白质与肽快报》 **2016年**，*23* (3)，273–282。https://doi.org/10.2174/0929866523666160106154035 (35) Doherty, J.; Zhang, Z.; Wehbe, K.; Cinque, G.; Gardner, P.; Denbigh, J. 通过水性介质增加光程，以实现活细胞的红外微区分析。《分析与生物分析化学》 **2018年**，*410* (23)，5779–5789。https://doi.org/10.1007/s00216-018-1188-2 (36) Malek, K.; Wood, B. R.; Bambery, K. R. 组织的傅里叶变换红外成像：分析技术与方法。载于 《生物学与医学中的光学光谱学和计算方法》；Baranska, M. 编；Springer Netherlands：Dordrecht，2014；第419–473页。https://doi.org/10.1007/978-94-007-7832-0_15(37) G. Kazarian, S.; Andrew Chan, K. L. 衰减全反射傅里叶变换红外光谱成像：近期进展及其在生物系统中的应用。《分析家》 **2013年**，*138* (7)，1940–1951。https://doi.org/10.1039/C3AN36865C (38) Naumann, A. 真菌的傅里叶变换红外（FTIR）显微术与成像。载于《真菌学中的高级显微术》；Dahms, T. E. S., Czymmek, K. J. 编；Springer International Publishing：Cham，2015；第61–88页。https://doi.org/10.1007/978-3-319-22437- 4 4_(39) Kazarian, S. G.; Chan, K. L. A.; Tay, F. H. 用于药物和聚合物材料的衰减全反射傅里叶变换红外成像：从微观到宏观的方法。载于 《红外与拉曼光谱成像》；John Wiley & Sons, Ltd，2009；第347–375页。https://doi.org/10.1002/9783527628230.ch10 (40) Glassford, S. E.; Govada, L.; Chayen, N. E.; Byrne, B.; Kazarian, S. G. 悬滴蛋白质结晶的微型衰减全反射傅里叶变换红外成像。《振动光谱学》 **2012年**，*63*，492–498。https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2012.07.011 (41) Averett, L. A.; Griffiths, P. R.; Nishikida, K. 衰减全反射光谱学中的有效光程。分析化学 **2008年**，*80* (8)，3045–3049。https://doi.org/10.1021/ac7025892 (42) A. Mudunkotuwa, I.; Al Minshid, A.; H. Grassian, V. 衰减全反射傅里叶变换红外光谱学：探测环境与生物相关介质中液-固界面纳米颗粒表面吸附的工具。《分析家》 **2014年**，*139* (5)，870–881。https://doi.org/10.1039/C3AN01684F

(43) Tranter, G. E. 水溶液的傅里叶变换红外光谱学。载于《光谱学与光谱测量百科全书》；爱思唯尔，2017年；第762–769页。https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12157-2 (44) Jin, M.; Lu, F.; Belkin, M. A. 水中的高灵敏度红外振动纳米光谱学。*Light Sci. Appl.* **2017年**，*6*（7），e17096。https://doi.org/10.1038/lsa.2017.96 (45) Wang, H.; González-Fialkowski, J. M.; Li, W.; Xie, Q.; Yu, Y.; Xu, X. G. 用于化学纳米成像和光谱学的液相峰值力红外显微镜。分析化学 **2021**，*93*（7），3567–3575。https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c05075 (46) Pfitzner, E.; Heberle, J. 水中生物膜的红外散射型扫描近场光学显微镜。*J. Phys. Chem. Lett.* **2020**，*11*（19），8183–8188。https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.0c01769 (47) O'Callahan, B. T.; Park, K.-D.; Novikova, I. V.; Jian, T.; Chen, C.-L.; Muller, E. A.; El- Khoury, P. Z.; Raschke, M. B.; Lea, A. S. 液相红外散射扫描近场光学显微镜，用于化学与生物纳米成像。《纳米快报》 **2020**，*20*（6），4497–4504。https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01291 (48) Ramer, G.; Aksyuk, V. A.; Centrone, A. 利用光热诱导共振技术进行纳米尺度定量化学分析。分析化学 **2017**，*89*（24），13524–13531。https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b03878 (49) Wang, H.; Janzen, E.; Wang, L.; Edgar, J. H.; Xu, X. G. 探测水相中的中红外声子极化激元。《纳米快报》 **2020**，*20*（5），3986–3991。https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c01199 (50) Wang, L.; Wang, H.; Xu, X. G. 峰值力红外显微镜的原理与应用。*Chem. Soc. Rev.* **2022**，*51*（13），5268–5286。https://doi.org/10.1039/d2cs00096b (51) Zhao, X.; Li, D.; Lu, Y.-H.; Rad, B.; Yan, C.; Bechtel, H. A.; Ashby, P. D.; Salmeron, M. B. 通过结合纳米尺度显微镜与红外光谱学，体外研究蛋白质组装。*Proc. Natl. Acad. Sci.* **2022**，*119*（32），e2200019119。https://doi.org/10.1073/pnas.2200019119 (52) Kaltenecker, K. J.; Gölz, T.; Bau, E.; Keilmann, F. 水中活细胞和纳米颗粒的红外光谱动态近场显微术。*Sci. Rep.* **2021**，*11*，21860。https://doi.org/10.1038/s41598-021-01425-w (53) Khatib, O.; Wood, J. D.; McLeod, A. S.; Goldflam, M. D.; Wagner, M.; Damhorst, G. L.; Koepke, J. C.; Doidge, G. P.; Rangarajan, A.; Bashir, R.; Pop, E.; Lyding, J. W.; Thiemens, M. H.; Keilmann, F.; Basov, D. N. 用于水性环境中水和生物材料红外近场纳米光谱学的石墨烯基平台。《*ACS*纳米》**2015**，*9*（8），7968–7975。https://doi.org/10.1021/acsnano.5b01184

(54) Jakob, D. S.; Schwartz, J. J.; Pavlidis, G.; Grutter, K. E.; Centrone, A. 理解原子力显微镜-红外信号对样品厚度和激光激发的依赖性：实验与理论见解。分析化学 **2024**，*96*（41），16195–16202。https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c02834 (55) Woo, H. J.; Kang, M.; Koo, Y.; Park, K.-D.; Kim, B.; Lee, E. S.; Jahng, J. 动态光诱导力显微术的进展与挑战。*Discov. Nano* **2024**，*19*（1），190。https://doi.org/10.1186/s11671-024-04150-1 (56) Xiao, L.; Schultz, Z. D. 纳米尺度的光谱成像：技术与近期应用。分析化学 **2017**，*90*（1），440–458。https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04151 (57) Kim, J.; Tian, Y.; Qiao, G.; Villarta, J. A.; Zhao, F.; He, A.; Ho, R.-J.; Liu, H.; Bhargava, R.; Zhang, Y. 通过光纤微探针进行内窥镜傅里叶变换红外光谱。科学仪器评论 **2025**，*96*（3），033702。https://doi.org/10.1063/5.0233920 (58) Matsuura, J.; Huang, A.; Kim, J.; Chang, C.-P.; Zhang, K.; Zhang, Y. 水性介质中大肠杆菌的可变光程傅里叶变换红外光谱。arXiv，2026年8月14日。https://doi.org/10.48550/arXiv.2608.14219 (59) Unger, M. A.; Kossakovski, D. A.; Kongovi, R.; Beauchamp, J. L.; Baldeschwieler, J. D.; Palanker, D. V. 用于近场红外扫描显微术的刻蚀硫族化物光纤。科学仪器评论 **1998**，*69*（8），2988–2993。https://doi.org/10.1063/1.1149045 (60) Hoffmann, J. A.; Gamari, B.; Raghu, D.; Reeves, M. E. 用于中红外波长近场消融的探针制备。科学仪器评论 **2012**，*83*（10），103703。https://doi.org/10.1063/1.4757200 (61) Olmon, R. L.; Slovick, B.; Johnson, T. W.; Shelton, D.; Oh, S.-H.; Boreman, G. D.; Raschke, M. B. 金的光学介电函数。物理评论*B*辑 **2012**，*86*（23），235147。https://doi.org/10.1103/PhysRevB.86.235147 (62) Robertson, C. W.; Williams, D. 水在红外波段的朗伯吸收系数。*J.Opt. Soc. Am.* **1971年**，*61*（10），1316–1320。https://doi.org/10.1364/JOSA.61.001316 (63) Ye, X.; Kestell, J.; Kisslinger, K.; Liu, M.; Grubbs, R. B.; Boscoboinik, J. A.; Nam, C.-Y. 残留溶剂分子对非反应性聚合物中氧化锌渗透合成的促进作用。化学材料 **2017**，*29*（10），4535–4545。https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b01222 (64) Keller, S.; Blagoi, G.; Lillemose, M.; Haefliger, D.; Boisen, A. 薄SU-8薄膜的加工。微机械与微工程期刊 **2008**，*18*（12），125020。https://doi.org/10.1088/0960- 1317/18/12/125020

(65) Brandstetter, M.; Genner, A.; Anic, K.; Lendl, B. 用可调谐外腔量子级联激光器同时测定水相中的葡萄糖和乳酸。《分析家》**2010年**, *135* (12), 3260–3265. https://doi.org/10.1039/c0an00532k (66) Ai, Q.; Bonagiri, L. K. S.; Panse, K. S.; Kim, J.; Zhou, S.; Zhang, Y. 固–液界面处的成核伴随着电双层的重构。*Proc.Natl. Acad. Sci.* **2025年**, *122* (30), e2421635122. https://doi.org/10.1073/pnas.2421635122 (67) Li, Y.; Ai, Q.; Bonagiri, L. K. S.; Zhang, Y. 铂–水界面处两种液体结构共存。*J. Phys. Chem. C* **2025年**, *129* (48), 21486–21495. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5c06276 (68) Bonagiri, L. K. S.; Arvelo, D. M.; Zhao, F.; Kim, J.; Ai, Q.; Zhou, S.; Panse, K. S.; Garcia, R.; Zhang, Y. 通过关联三维原子力显微镜和壳层隔绝增强拉曼光谱，探测石墨–水界面处的分子结构。*Nat. Commun.* **2026**, *17*, 2230. https://doi.org/10.1038/s41467-026- 68667-y (69) Hecht, E. 《光学》，第4版；培生，2012年。(70) Li, H. H. 碱土金属卤化物的折射率及其波长和温度导数。*J. Phys. Chem. Ref. Data* **1980**, *9* (1), 161–290. https://doi.org/10.1063/1.555616 (71) Ashraf, S.; Niskanen, I.; Kanyathare, B.; Vartiainen, E.; Mattsson, C.; Heikkilä, R.; Thungström, G. 采用克拉默斯–克勒尼希色散关系法测定SU-8在2.5–22.0 μm波长范围内的复折射率。《定量光谱学与辐射传递杂志》 **2019年**, *224*, 309–311. https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2018.11.026 (72) 分析方法委员会。关于检测限的定义、估算和使用的建议。《分析家》**1987**, *112* (2), 199–204. https://doi.org/10.1039/AN9871200199