

附件 1：化学成像指导原则公示稿（第一次）

化学成像指导原则

化学成像 (chemical imaging) 结合具有空间分辨能力的传感技术与数据分析技术, 利用主要获自样品表面的信息来表征样品的化学、物理性质, 包括光谱成像、质谱成像、磁共振成像等, 其中光谱成像是利用不同波长的光照射样品表面各个空间位点, 收集所产生的反馈信号, 构建反映样品表面化学和物理特性的图像, 用于成分鉴别及浓度、晶型、空间排列、区域尺寸和颗粒大小分析等。

本指导原则主要适用于基于振动光谱 (例如, 近红外、中红外、远红外和拉曼光谱) 的化学成像系统, 但也适用于其他成像技术。

一、适用范围

化学成像特别适合分析固体、半固体和液体样品的物质属性, 包括成分鉴别 (活性成分、中间体、辅料)、含量分布评估、多态性及颗粒形态表征、尺寸及形貌测量等。因此, 化学成像可用于化学药物、生物样品、包材和设备中的活性成分、中间体和辅料的鉴别和定量, 还可用于评价样品的均匀性、检测样品内芯或包衣的裂纹等物理缺陷以及识别外来污染物。化学成像也可用于中药的成分鉴别与含量测定。此外, 化学成像有助于理解、跟踪和/或评价工艺过程, 还是快速鉴别假冒伪劣药品的工具。

化学成像通过可视化分析样品表面的分布特征, 实现不同样品之间的快速和无损比较, 可作为传统光谱分析方法的补充。在实际应用中需根据检测目的和空间分辨率需求选择合适的化学成像方法。

二、成像特点

1. 成像模式

化学成像模式根据光谱分辨率主要分为: 多光谱成像 (multispectral imaging)、高光谱成像 (hyperspectral imaging) 和超光谱成像 (ultraspectral imaging), 对应的光谱分辨率分别约为 $10^{-1}\lambda$, $10^{-2}\lambda$ 和 $10^{-3}\lambda$ (λ 为波长)。多光谱成像是一种多通道成像技术, 采用两个或两个以上光谱波段, 对样品进行二维空间信息和一维光谱信息的瞬时采集。由于所获取图像的光谱波段是离散、非连续的, 因此多光谱成像检测时间及信息复杂程度远低于高光谱成像。高光谱成像通过测量接近连续的光谱波段, 可记录每个像素点的完整光谱图, 获得使用平均光谱通常无法获取的特征信息, 并将单个位点光谱扩展为涵盖样

品整个测量区域的二维投影。超光谱成像则在高光谱成像基础上可以获得更多波段的图像信息，也可辅助多光谱成像的波段选择。化学成像本质上多是高光谱成像，其所得光谱质量可以与常规光谱法相当，但需要更长的测量时间、更大的数据量和更复杂的计算支持，可适当降低光谱质量以提升成像通量。

2. 数据立方体

化学成像是多个离散或连续波长下扫描样品的每一个空间位点所得，由二维空间 (x, y) 和一维波长 (λ) 组成三维的数据阵，称为数据立方体 (datacube) 或超立方阵 (hypercube)。数据立方体由一系列空间分辨光谱 (称为像素, pixel) 或一系列光谱分辨图像 (称为像平面, imaging plane) 组成。选择一个独立像素就会得到样品某一特定空间点的连续光谱; 选择一个像平面就会得到样品所有空间位点在某一特定波长下的强度响应 (如光的吸收或透射强度)。

3. 多维化学成像

化学成像在数据立方体 (x, y, λ) 基础上，通过增加第三维空间 (z 方向) 的光谱信息可拓展为四维 (x, y, z, λ) 成像; 为获得三维空间的光谱信息，可用侵入式、破坏性的样品制备方式 (例如对样品进行逐层切片处理)，按序采集并汇总每一层的二维光谱信息; 也可以使用具有三维空间分辨率的技术 (如远红外/太赫兹和时域太赫兹光谱、共聚焦拉曼光谱等断层扫描技术) 非侵入式、非破坏性地直接进行成像。在 (x, y, z, λ) 基础上，如引入时间轴等维度，可实现更多维化学成像。

三、成像系统

化学成像系统具有多个特征参数，如仪器装置、空间和光谱分辨率、放大倍数、适用样品的类型及大小、样品制备和展示方式、样品可移动或固定、采集时间、测量次数、数据分析算法及软件等，需根据检测分析目的选择具体的成像系统。下面简要介绍基于振动光谱的化学成像系统类型：

1. 近红外光谱 近红外光谱主要由 C—H, N—H, O—H 和 S—H 等含氢基团基频振动的倍频和合频组成。电磁波谱范围通常为 $12800\sim 4000\text{cm}^{-1}$ ($0.78\sim 2.5\mu\text{m}$)。其测量是非接触式的，通常采用漫反射模式，以表征样品的物理和化学信息。

2. 中红外光谱 中红外光谱主要用于研究物质的分子内振动，电磁波谱范围通常为 $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ ($2.5\sim 25\mu\text{m}$)。中红外成像可用于描述混合成分中化学物质的特征，通常采用衰减全反射红外显微技术测量。对于含水量较大的样品，由于来自水的吸收干扰，

测量较困难。

3. 远红外/太赫兹光谱 远红外光谱的电磁辐射范围通常为 400 到 10cm^{-1} 左右 ($25\sim 1000\mu\text{m}$)，包含分子间和晶格振动，可用于固体多态性和结晶度的表征。振荡频率为 $0.1\sim 10\text{THz}$ 的电磁波被命名为太赫兹波，其光子能量低，不会对检测样品产生光电离及破坏，且在非极性材料中具有良好的穿透能力，可透过塑料、橡胶、纸板等材料探测内部物质。

4. 拉曼光谱 拉曼光谱利用强单色光（通常为激光）照射样品，记录入射光与非弹性散射光的频率之差（拉曼位移）对应于散射强度所得到的研究分子振动的图谱。拉曼光谱包含许多窄谱带，有利于化学成分和晶型的鉴别。水、空气和玻璃的拉曼散射信号较弱，因此水溶液样品的分析可在样品池等玻璃材质中于大气条件下进行。然而，要注意荧光对拉曼信号的干扰。

基于各种光谱方法的化学成像技术各有特点和适用性，例如，相对于拉曼成像，红外光谱成像空间分辨率较低，但成像速度更快，而拉曼光谱成像由于可以用很小的光束进行扫描成像，成像空间分辨率更高。

四、采集模式

数据采集模式主要分为扫描型和快照式 (snapshot)，其中扫描型又可分为摆扫式 (whiskbroom)、推扫式 (pushbroom) 和凝视式 (staring)。

1. 摆扫式，也称点扫描 (point scanning) 或点映射 (point mapping): 通常采用矩形网格模式，沿 x 轴和 y 轴两个方向移动，同时获取单个像素点的所有光谱信息，完成二维空间成像。

2. 推扫式，也称线扫描 (linear scanning) 或线映射 (line mapping): 同时获取样品一个空间轴（行）上每个像素点的所有光谱信息，通过平台沿轨道推扫实现另一空间轴（列）成像，采集整个样本区域的光谱信息，其扫描速度和灵活性使基于化学成像的在线分析成为可能。

3. 凝视式，也称焦平面扫描 (focal plane scanning) 或全局成像 (global imaging): 同时记录各个像素点在不同波长处的光谱信息，由于检测器和样品的位置都是固定的，无需移动，所以被称为凝视采集。不同于映射 (mapping) 模式中样品需要平移，成像 (imaging) 模式中样品不需要平移，可通过滤波器或可调谐滤波器获取视场在某个波段下的光强度响应，进而将不同波段的二维图像重组为三维光谱图像。

4. 快照式：通过特定的成像及分光方式，可以一次性采集整个样本区域的光谱信息 (x, y, λ) 。相对于扫描型光谱成像技术，快照式光谱成像技术在动态场景探测中具有显著优势。

化学成像的像素点包含来自于样品表面和次表面的大量化学和物理特征信息，成像质量与空间分辨率和光谱分辨率直接相关。空间分辨率是指图像中可识别的两个相邻点之间的最小距离，直接影响图像的处理和结果分析。例如，被测区域大小应与成像系统的空间分辨率相匹配，否则信息无法辨识。空间分辨率由仪器性能决定，包括激光光斑大小、衍射极限、检测器大小、放大倍数、数值孔径等，同时也受辐射光在样品表面的扩散影响，在样品表面以下发生的散射很可能会使图像失真而使空间分辨率受限。光谱分辨率影响图像的定性和定量分析，对成分识别等化学特征提取有一定影响。随成像技术的不同，光谱分辨率可受到激发波长、光栅、检测器和光谱仪焦距等不同因素的影响。通常推扫式扫描对空间干扰更敏感，而光谱分辨率在凝视式扫描中更为关键。

五、成像过程

1. 样品制备

样品制备应与所使用的成像技术相对应。对于不同仪器装置，样品表面的拓扑结构有时会影响成像性能。如用探头原位测量不需要样品制备，但拉曼散射等非接触聚焦则需要进行样品表面制备以获得一个平整的表面。如果是仪器无法补偿的形变，需要对样品表面进行机械性修饰，例如将片剂凹面压平；而通过自动重新对焦可以补偿成像过程中样品表面的轻微不均匀性问题。在衰减全反射红外成像中，由于镜片和样品之间需要接触，也必须进行样品表面制备。同时，样品需要根据成像设备及方法要求妥善放置于样品台，并尽可能减少镜面反射等干扰，探头或光束、样品和检测器之间的角度和距离应符合装置要求。

由于穿透深度和空间分辨率的限制，基于反射的化学成像从表面光谱信息得到的样品形态或颗粒分布情况可能并不能代表整个样品的成分分布，特别是内外分布不均一的样品。为确保所选择的样品表面检测区域具有代表性，必须评估样品均质性。此外，可以通过测量样品的多个横截面，以提升对整体样本评估的准确性；或利用具有更强穿透深度的成像设备，例如采用共聚焦成像获取近表面信息、利用断层扫描或透射成像收集样品整个基体的信息。

2. 仪器装置

必须对仪器性能和图像分析方法进行评价，避免错误解读和人为干扰。仪器性能确认包括周期性的性能确证和系统适用性试验。性能确证的周期间隔取决于仪器的技术特点、性能稳定性和实际使用情况。在测量之前进行系统适用性试验，确保成像系统能正常运行。在性能确证和系统适用性试验中，需要评估的参数及其可接受标准必须合理，以符合化学成像技术要求和分析目的。

(1) 化学成像系统组件调整：典型的化学成像系统通常由光源、光学装置、样品台、检测器和数据采集与处理系统组成，成像系统及各个组件需符合方法需求。

光源、光学装置和检测器：在进行系统校准或测量样品之前，需要确认光源强度。任何一个像素点的光路、共聚焦、波长精度和能量输出都需符合技术指标。光学装置、样品和检测器的准直要符合距离、角度和偏振的测量要求，需注意它们可能会受温度及湿度影响。此外，样品或目标区域的光照条件必须尽可能均匀且可重现，且应控制如散射、背景、噪音、不良像素点、宇宙射线、实验室内的荧光灯和样品荧光等干扰，以及由缺陷表面反射可能引起的杂散光、鬼线和鬼像等负面效应。

多波长和多光谱系统：多波长系统应在波长分布范围，选用具有良好信噪比特性的参比物质多个峰标定波长。多光谱系统应确认所有的信号源。

映射：准直来自多个仪器的图像时，需确认 x - y 刻度。

放大倍数：当化学成像系统允许不同放大倍数时，需优化光学或电子放大倍数。如放大倍数不足以分辨相关特征，成像分辨率可能会下降；如放大倍数偏高，成像视场就会偏小。

(2) 仪器校准

光谱轴 (spectral axis)：最佳的波长 (或波数) 精度至关重要，应达到与常规光谱仪相同的水平。光谱轴校准是将波长 (或波数) 和强度值分配给映射到样品表面的每个像素点。为明确它们的相关性，可以使用典型光源或参比物质 (由仪器供应商或第三方提供的经认证/标准化的内标或外标) 进行校准。此外，也需要关注技术方法和环境因素的影响。

空间轴 (spatial axes)：空间轴校准会影响化学成像系统的真实视场和采样表面积，如像素位置，通过校准可修正由光学装置等引起的空间变形。例如，像素点的定位可能会受检测器中心到边缘光谱分辨率偏差的影响；相邻像素点的信号可能会发生重叠。这两种误差都会改变像素点光谱，并可能降低后续数据分析的准确性。另外， x 和 y 方向

上的空间分辨率还受到移动平台或传送带的成像画面大小和步长等的限制。

方法：需要合适的数据处理方法和分析模型以输出成像中观察到的相关特征属性的信息。例如，在校准过程中需要根据分析目的来识别和估计样品的特性或形态特征。

3. 图像处理

图像处理目的是便于后续的图像呈现和特征评估，包括调整亮度和对比度、降噪、增强边缘、去除非特征信息等，以提高图像中与被测样品属性相关的光谱信息的提取效率。

(1) 光谱选择：图像对比度高低取决于样品表面成分的光谱特征，包括特征峰强度和峰位，散射差异产生的基线变化，以及经多变量分析计算所得数据。

(2) 图像预处理：成像数据集的数据分析方法通常以与单点光谱相似的步骤开始。收集到的原始光谱数据容易受仪器噪音干扰的影响，通常采用预处理的方式来提高图像质量，从背景中分离得到样品的化学和物理特征，也可能需要消除或减少不相关信息的干扰(包括由于样品表面不均匀引起的光散射效应、来自外部光源的干扰、随机噪声等)。常用的预处理方法包括基线校正、求导数、平滑处理、小波滤波、标准正态变量变换(SNV)、多元散射校正(MSC)、归一化处理、截断和傅里叶变换。同时必须确认预处理过程不致引入伪影。

4. 图像分析

所得图像中的像素排列体现样品的化学或物理属性及特征的分布。根据分析目的，可以从中获取相应的光谱特征、空间特征或两者的结合。

(1) 可视化探索和特征提取：图像预处理后，需要选择合适的分析方法获取样品的可视化图像。对于化学成像，光谱分析和空间分析同等重要，两者本质上具有迭代特性，在实际应用中，优先使用光谱信息还是空间信息，取决于对何者更感兴趣，其目的是降低数据维度，尽可能多地提取特征。

一般采用化学计量学方法，单变量分析方法或多变量分析方法，对化学成像数据立方体进行分析。样品中化学成分的光谱具有特征信号，即光谱信号并不完全重叠时，可采用单变量分析方法。但多数情况下样品组成复杂，光谱信号重叠显著，难以获取单一化学成分在特征波长处的光谱，需采用多变量分析方法。

(2) 组分定量分析：定量模型可以通过使用平均光谱或合并样品表面感兴趣区域计算得到。当存在的成分对所使用的分析方法有不同响应时，可以根据已知组分浓度进

行单一波长的峰面积积分或其他化学计量方法定量。

当单个像素光谱混合度增加时，可以选用与单点光谱法类似的方式进行化学计量学分析（通常为多变量数据分析）。例如，可从纯组分光谱入手评估组分的相对丰度。对照光谱数据库通常是单个纯组分样品光谱图的汇总，这些光谱既可用非成像型光谱仪采集，也可由纯组分的光谱成像获得，后者通过收集来自大量像素点的数据可提升所得谱图的耐用性。对照光谱和未知样本也可以在同一视场下同时测量，创建单一数据集。如果纯组分对照光谱可以直接从被测样品的某个区域分离得到，则无需另行采集用于校准的对照光谱。多变量模型的开发可以基于外部对照光谱，也可以基于自身图像分离得到的光谱。对于同时或分开获取的纯组分光谱，需要通过回归残差等方法来确认它们是否对当前分析具有代表性。

（3）图像特征的空间分析：图像的空间分析包括形状分布、特征区域大小和位置等，通常以带有强度标度的灰色或彩色图像来描述像素间待测成分的有无或含量比例。

（4）尺寸测量：图像分析可以获取样品面积、周长、长宽比和真圆度等。

（5）数学统计：像素的统计分析可有助于进一步解析图像。例如方差分析和箱形图方法对区域大小、形状分布和域间距的统计，能评估图像中的差异性。这些方法高度概括图像域之间关系，可简化图像分析，也可从中获得性能测评。

起草单位：浙江大学、浙江省食品药品检验研究院

参与单位：中国食品药品检定研究院

主要起草人及联系方式：钱玲慧，lhqian@zju.edu.cn，浙江大学，杭州市西湖区余杭塘路 866 号