

# 光声光谱在法庭科学生物物证分析方面的研究进展

李佳瑞, 王继芬\*

中国人民公安大学侦查学院, 北京 100038

**摘要** 生物物证具有个体特异性, 易被犯罪分子忽视, 且稳定附着在犯罪现场, 难以彻底毁灭, 具有很高的侦查利用价值。光声光谱技术以光声效应为基础, 利用样品吸收光能转换成热能并产生声信号的机制进行检测, 为生物检材的研究提供了一种灵敏而又对检材无损的有效方法, 成为法庭科学领域常用的分析工具。本文在简要介绍光声效应及光声信号产生原理的基础上, 重点讨论了光声光谱技术在鉴定分析可以作为法庭科学生物物证的气体、液体、生物组织等检材方面的研究现状, 并对其应用过程中的局限性及发展前景进行了总结和展望。

**关键词** 光谱学; 光声光谱; 法庭科学; 生物物证分析

中图分类号 O436

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.2400004

## Biological Evidence Analysis: a Research Progress of Photoacoustic Spectroscopy in Forensic Science

Li Jiarui, Wang Jifen\*

School of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China

**Abstract** Biological evidence is individual-specific, easily ignored by criminals, stably attached to the crime scene, and difficult to destroy completely. It has a high investigative value. Based on the photoacoustic effect, the photoacoustic spectroscopy realize detection using the mechanism by which the sample absorbs light energy, converts it into heat energy, and generates a sound signal. The photoacoustic spectroscopy provides a sensitive and nondestructive effective method for the research of biological materials, and it has become an essential analysis tool in the field of forensic science. Based on a brief introduction to the photoacoustic effect and the principle of photoacoustic signal generation, this article focuses on the research status of photoacoustic spectroscopy in the identification and analysis of gas, liquid, and biological tissue materials that can be used as forensic biological evidence. The application limitations and development prospects of the technology are summarized and prospected.

**Key words** spectroscopy; photoacoustic spectroscopy; forensic science; biological evidence analysis

**OCIS codes** 000.4930; 300.6170; 000.1430

## 1 引 言

由于犯罪分子反侦查意识的提高以及犯罪手段的智能化, 现场遗留的手印、脚印等痕迹经常被破坏或伪装, 因此物证难以收集及鉴定, 增加了案件侦破的难度。生物物证是案件现场出现率较高的一类检材, 对其进行分析鉴定可为案件的快速侦破提供大量信息<sup>[1-2]</sup>。因此, 在案件侦查和法庭起诉审判中,

血液、精液、毛发、组织等生物物证可以发挥重要作用。

光声光谱(PAS)技术是一种基于光声效应的光谱技术, 是分子光谱学的一个重要分支。目前, 光声光谱技术在物理、化学、生物、医药和工程材料等方面都有一定应用<sup>[3]</sup>, 它所能检测的物质不拘于形态及形状, 对固体、液体、气体样品均适用, 普适性很强, 而且可以对样品直接进行检测, 无需进行预处理, 检测灵

收稿日期: 2020-12-27; 修回日期: 2021-01-19; 录用日期: 2021-02-26

通信作者: \*wangjifen58@126.com

敏度高且所需样品量少,操作简单便捷<sup>[4-8]</sup>。

法庭科学中的法医检验就是以生物检材为研究对象,应用临床医学和其他自然科学理论为侦查犯罪及民事或刑事案件的审理提供科学证据。光声光谱技术以其独特的检测原理和获取信息的能力,在法庭科学领域具有广阔的应用前景。本文阐述了光声光谱技术在可作为法庭科学生物物证的相关检材的鉴定、分析中的研究现状,以期对相关案件的检验、鉴定提供参考,并为相关物证的检验、鉴定提供新思路。

## 2 光声光谱技术概述

### 2.1 背景

1880 年, Bell 在实验中发现了光声效应并对此进行了报道,但由于理论与技术的限制,光声效应的应用在此后的半个多世纪中并没有得到发展<sup>[9]</sup>。1938 年,列宁格勒国家光学研究所开始研究气体对红外光的吸收并测定气体混合物中各成分的浓度,之后研究人员基于光声效应制备了能够检测气体成分的光声仪器。20 世纪 50—70 年代,由于传声器

灵敏度和光源的限制,光声气体分析仪被灵敏度更高的气相色谱仪代替,光声效应的研究再度衰落。之后,微音器和传声器的发展以及激光光源的问世,使得光声光谱技术得以进一步发展,成为一种很有前途的新技术<sup>[10-13]</sup>。

### 2.2 基本原理

用光照射某种媒质时,媒质对光的吸收会使其内部的温度改变,从而引起媒质内某些区域结构和体积的变化。当采用脉冲光源或调制光源照射媒质时,媒质温度的升降会引起其体积的胀缩,因而可以向外辐射声波,这种现象即为光声效应<sup>[14]</sup>。

Rosencwaig 等<sup>[11]</sup>提出的 R-G 理论比较清楚地展示了光声效应的物理过程。R-G 理论将光声池在一维空间上划分为样品部分、背底部分和声耦合气体部分,并在这三个空间求解热扩散方程。入射光到达样品表面就开始被吸收并且衰减。光在调制频率为  $\omega$  的周期下入射时,光声池内的压力  $P_s$  呈周期性变化,因此可以得出

$$P_s = Q \cos(\omega t), \quad (1)$$

其中,

$$Q = \frac{\beta I \gamma p [(r-1)(b+1)\exp(\sigma L) - (r+1)(b-1)\exp(-\sigma L) + 2(b-r)\exp(-\beta L)]}{2\sqrt{2}TKL'\alpha(\beta^2 - \alpha^2) [(g+1)(b+1)\exp(\sigma L) - (g-1)(b-1)\exp(-\sigma L)]}, \quad (2)$$

式中:  $Q$  为压力变化幅度;  $t$  为时间;  $I$  为入射光强度;  $\gamma$  为光声池内气体的定压热容与定容热容之比;  $p$  为光声池内气体的压强;  $r = (1+i)\beta/2\sqrt{\omega\rho C/(2K)}$ ,  $i$  为虚数单位;  $b = \sqrt{K''\rho''C''/(K\rho C)}$ ;  $\sigma = (1+i)\sqrt{\omega\rho C/(2K)}$ ;  $L$  为样品材料的厚度;  $\beta$  为材料的光学吸收系数;  $T$  为光声池内的温度;  $K$ 、 $K'$ 、 $K''$  分别为样品、气体、衬底的热导率;  $L'$  为光声池内气体空间的长度;  $\alpha = \sqrt{\omega\rho C/(2K)}$ ;  $g = \sqrt{K'\rho'C'/(K\rho C)}$ ;  $\rho$ 、 $\rho'$ 、 $\rho''$  分别为样品、气体、衬底的密度;  $C$ 、 $C'$ 、 $C''$  分别为样品、气体、衬底的比热容。从上述压力变化幅度的表达式中可以看出光声信号与材料的光学吸收系数及热力学性质有关,这说明基于光声效应对物质的光学吸收系数或其他性质进行分析是可行的。

光声光谱技术就是在光声效应的基础上发展起来的一种检测技术,物质的光声信号随入射光波长变化的谱线称为光声光谱图<sup>[15-19]</sup>。在检测过程中,样品放置在光声池内,光声池内同时配置一台高灵敏度传声器。样品被脉冲单色光照射后吸收光的能

量,此时样品中的电子以一定的概率从基态跃迁至激发态。由于分子间频繁碰撞,较高能级的分子大概率通过无辐射跃迁弛豫到基态,因此吸收的能量以碰撞的形式转化为样品分子的热运动能,由此产生热效应。周期性的光激励会在样品及其周围空气中产生周期性热流,周期性热流反过来又会导致样品晶格的周期性振动,这种振动在样品/气体界面产生声压扰动,这种扰动可通过空气传播。高灵敏度传声器能检测到声压扰动引起的声信号。声信号的强度与样品吸收光的能量呈正比,通过记录传声器的声信号随激励光波长的变化就可以得到光声光谱图<sup>[3,9]</sup>。原理如图 1 所示。

光声信号的强度为样品从光源吸收的能量与非辐射转换效率的乘积<sup>[3-5]</sup>。对于一个简单的吸收层,可根据比尔定律得到

$$P_{\text{abs},\lambda} = P_{0,\lambda} - P_{0,\lambda} \cdot \exp(-2.3\epsilon_\lambda \cdot c \cdot l) = P_{0,\lambda} [1 - \exp(-2.3\epsilon_\lambda \cdot c \cdot l)], \quad (3)$$

式中:  $P_{\text{abs},\lambda}$  为波长  $\lambda$  处的吸收强度;  $P_{0,\lambda}$  为波长  $\lambda$  处的入射光强度;  $\epsilon_\lambda$  为被测物质在某一波长处的摩尔吸光系数;  $c$  为吸收层内被测物质的浓度;  $l$  为吸

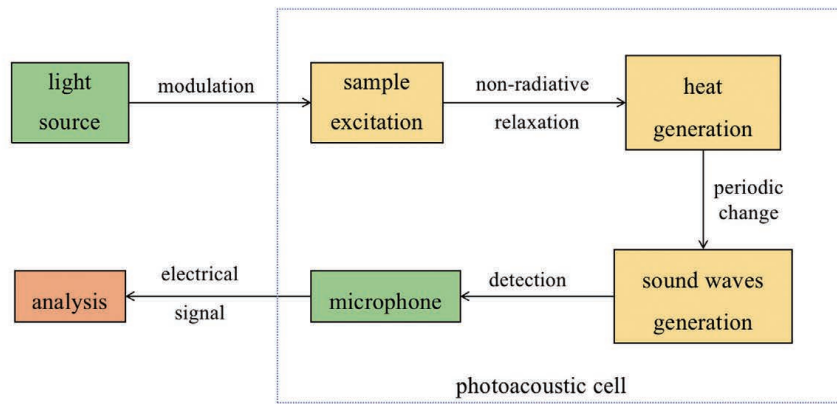


图 1 光声光谱原理图

Fig. 1 Schematic of photoacoustic spectroscopy

收层的厚度。

光声信号的强度  $P$  可由  $P_{\text{abs},\lambda}$  乘以效率因子  $\beta_\lambda$  得到 ( $\beta_\lambda$  是波长为  $\lambda$  时的转换系数), 光声信号的强度等于样品吸收的能量与非辐射过程中热能转换效率的乘积, 即

$$P = P_{\text{abs},\lambda} \cdot \beta_\lambda = P_{0,\lambda} [1 - \exp(-2.3\epsilon_\lambda \cdot c \cdot l)] \cdot \beta_\lambda. \quad (4)$$

一般情况下样品吸收的能量很少, 因此在  $1 - \exp(-2.3\epsilon_\lambda \cdot c \cdot l)$  的展开式中, 较高次项可以忽略。所以, 在试样形成均匀吸收层的情况下, 光声信号的强度 (即振幅的大小) 与吸收光的多少呈正比, 即

$$P = P_{0,\lambda} (2.3 \cdot \epsilon_\lambda \cdot c \cdot l) \cdot \beta_\lambda. \quad (5)$$

由(5)式可以看出: 在理想条件下, 光声信号的强度与单色入射光的强度以及样品池中吸光物质的摩尔吸光系数  $\epsilon_\lambda$ 、浓度  $c$ 、厚度  $l$ 、转换效率  $\beta_\lambda$  呈正比; 由于光声信号的振幅与入射光的强度呈正比, 所以对于弱吸收样品, 可以通过提高  $P_{0,\lambda}$  来增强  $P$ , 从而提高光声池内传声器的灵敏度。光声信号的强弱不仅与样品的光学性质 (即吸收系数的大小) 有关, 还与样品、气体的热学参量有关, 这是光声技术与经典光谱法测量原理的不同之处。

### 3 光声光谱在法庭科学生物物证方面的应用

#### 3.1 对气体光声光谱的研究

人在呼吸过程中完成体内与体外气体的交换, 呼出气体中存在能反映体内变化的信息。利用光声光谱气体检测技术, 通过检测光声效应产生的声波幅度值来检测气体浓度, 可以实现呼出气体成分的分析。采用光声光谱技术对呼出气体进行分析的主

要优势在于其具有无创性, 且样品易获取, 支持多次取样。呼出气体中存在的微量气体或挥发性代谢物与身体状况有一定关系。

王健伟<sup>[20]</sup>设计了一套用于检测呼出气体中氨气浓度的光声光谱呼气分析系统, 该系统具有恒温控制气路系统, 光声池材料为全聚四氟乙烯。将该系统与多组分气体测量算法相结合, 可以降低呼出气体中高浓度  $\text{CO}_2$  和水汽等背景气体对目标气体 (超低浓度氨气) 浓度测量的干扰。常温常压下, 呼出气体中  $\text{CO}_2$  的体积分数一般高达 5.3%。他通过测量发现, 呼出气体中的  $\text{CO}_2$  与微量氨气在 1522.44 nm 波长附近产生的光声信号的幅值基本相同, 从而证明了高浓度  $\text{CO}_2$  不会对氨气浓度的检测造成干扰。此外, 他还进行了水汽和氨气混合气同时测量的实验, 在同一浓度氨气和不同浓度水汽以及同一浓度水汽和不同浓度氨气的情况下, 光声信号都呈现出良好的线性叠加性, 由此排除了高浓度水汽对氨气检测造成的干扰。利用该系统对终末期肾病患者在血液透析过程中呼出的氨气进行了监测, 结果表明: 终末期肾病患者透析前呼出氨气的浓度比健康者呼出氨气浓度高 6 倍左右; 终末期肾病患者在透析过程中呼出氨气的浓度随透析时间的延长而逐渐降低, 透析结束时呼出氨气的浓度接近健康者的水平。李良<sup>[21]</sup>利用 LabVIEW 程序在可调谐掺铒光纤激光器 (TEDFL)、串接大功率掺铒光纤放大器 (EDFA) 光声光谱系统的基础上设计了系统控制与数据处理程序, 采用该程序排除了高浓度水汽和  $\text{CO}_2$  对氨气浓度测量的干扰。他利用该系统对 3 名健康者呼出的氨气浓度进行了检测, 然后将检测结果与其他学者的测量结果进行对比, 结果发现该系统基本符合对临床肾透析患者进行实时监测

的需求。光声光谱法为分析人类呼气生物标记物提供了一种新方法,这种独特的方法特别适用于环氧乙烷、一氧化二氮、氨气等化合物以及七氟烷、氟烷、异氟烷、甲烷、乙烷和丙酮的测定<sup>[22]</sup>。通过分析肺癌患者呼出气体中的挥发性有机化合物,能够对肺癌患者和健康者进行区分。Saalberg 等<sup>[23]</sup>设计了一种基于光声光谱的传感器,用于检测与肺癌相关的挥发性有机化合物。该传感器使用波长范围为 3.2~3.5  $\mu\text{m}$  的光参量振荡器,其对 6 种肺癌生物标记物(2-丁酮、1-丙醇、异戊二烯、乙苯、苯乙烯、己

醛)的检出限在  $5 \times 10^{-9} \sim 142 \times 10^{-9}$  之间。随着此类传感器的进一步发展,基于光声光谱技术的肺癌筛查设备将成为可能。图 2 给出了 6 种肺癌生物标记物的光声光谱图,每幅图均包含了美国国家标准技术研究院(NIST)的数据,乙苯和苯乙烯的光谱图中还显示了美国太平洋西北国家实验室(PNNL)的数据。由于 NIST 不提供任何测量参数(例如浓度或光程长度等),因此该光谱只作为定性参考。为了实现可比性,将 NIST 光谱按一定比例进行了缩放处理。

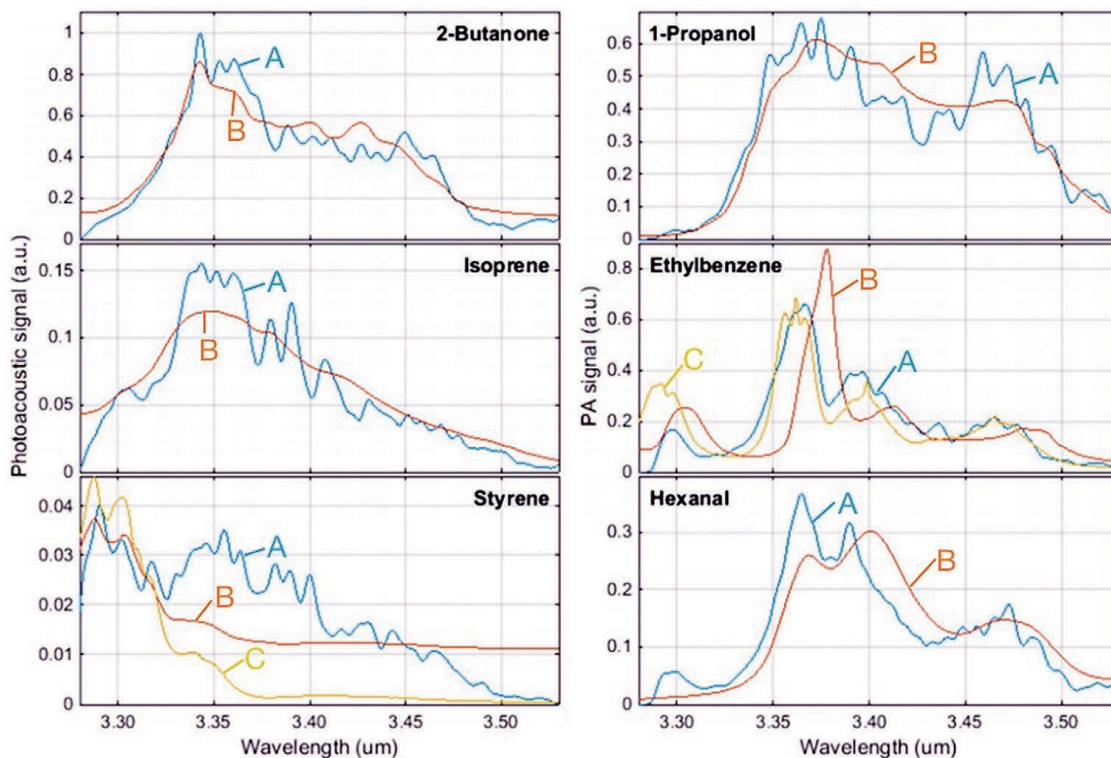


图 2 生物标志物的光谱图(A:测量值;B:NIST;C:PNNL)<sup>[23]</sup>

Fig. 2 Biomarker spectra (A: measurement; B: NIST; C: PNNL)<sup>[23]</sup>

光声光谱法也可以用于研究吸烟对慢性阻塞性肺疾病和哮喘患者呼出气体的影响。研究人员使用 ILPA-1  $\text{CO}_2$  激光光声气体分析仪,分别对健康志愿者、慢性阻塞性肺疾病患者和哮喘患者呼出气体的吸收光谱进行了分析,并基于对象状态的整体估计对分析结果进行了评估。通过对比呼出气体的吸收光谱发现,哮喘患者呼出气体的成分不同于吸烟和不吸烟的健康志愿者,吸烟会严重影响健康个体呼出气体的成分<sup>[24]</sup>。可见,吸烟会对呼气生物标记物的检测带来一定干扰,而使用特定参考组可在一定程度上提高光声光谱检测的准确性。朝这个方向进一步发展,将为生物物证的分析方法开辟新道路。

光声光谱气体检测技术具有选择性好、灵敏度

高、取样操作简单等优点,不仅能实现样品的快速实时检测,还不会对人体造成伤害。未来,采用光声光谱技术对人体呼出气体进行分析,对于案件的侦破以及一些疾病的早期诊断和后期监控具有重要作用。

### 3.2 对液体光声光谱的研究

为了防止误判,法庭要求提供可靠的科学证据。因此,在法庭科学背景下对人体血液的研究正在成为一个热门研究课题<sup>[25]</sup>。光声光谱技术在分析人类血液样本方面取得了一定进展。血液是人体新陈代谢过程中必不可少的组成部分,机体发生某些变化时会引起体液成分的变化。血氧饱和度是血液中与氧结合的氧合血红蛋白的容量占全部可结合的血

红蛋白容量的百分比,是呼吸循环过程中的重要生理参数,在临床观察上具有重要意义。对于血氧饱和度的检测,传统的无创检测大多采用双光源和多光源光电容积脉搏波描记法。马瑶等<sup>[26]</sup>研究了生物组织对光的吸收、散射等特性,并基于光声光谱技术提出了一种对血氧饱和度、脱氧血红蛋白浓度和氧合血红蛋白浓度进行无创检测的方法。他们利用血液对光信号的吸收呈线性关系的特点搭建了单波长光声光谱血氧饱和度检测设备,并以单波长激光脉冲作为光源,用两种颜色的墨水进行了模拟实验,结果发现检测得到的伪血氧饱和度与实际浓度误差小于 6.97%。相比传统方法,这一方法更加简便,同时还能够降低激光系统的成本。随着光声成像过程中光强度的增加,光吸收的饱和度和热膨胀系数的温度依赖性会导致光声信号对激发脉冲能量密度具有可测量的非线性依赖性。通过研究氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白在不同光波长和分子浓度下的强度依赖性的光声信号可以发现,氧合血红蛋白的非线性光声光谱对波长、浓度的依赖性显著大于脱氧血红蛋白,同时这一效应还会受到血红蛋白浓度的影响<sup>[27]</sup>。郭萍等<sup>[28]</sup>利用 GS-1 光声光谱仪对正常人以及三类白血病患者(急性粒细胞白血病患者、急性单核细胞白血病患者、慢性粒细胞白血病急变期患者)的全血进行了检测。从获得的光声光谱图谱中可以发现,四类人群的特征吸收峰具有明显差异:急性粒细胞白血病患者全血的光声光谱图与正常人的相似,出现了 4 个特征吸收峰;急性单核细胞白血病患者与慢性粒细胞白血病急变期患者全血的光声光谱图中均只出现了一个特征吸收峰,且正常人全血的特征峰吸收强度最大,之后依次为急性粒细胞白血病患者、急性单核细胞白血病患者、慢性粒细胞白血病急变期患者。结果表明,患者全血的光声光谱图有助于白血病的分型,在临床诊断上具有重要

意义。妊高征也称为妊娠高血压,是妊娠期特有的疾病,会严重影响母婴健康,是孕产妇和新生儿发病、死亡的主要原因之一。符运良等<sup>[29]</sup>利用自行设计的双光路光声光谱仪,对分别加入了肝素或乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝剂的正常孕妇及妊高征患者的全血进行了检测。结果表明,相比住院待产的正常孕妇,妊高征患者的光声光谱图在 630~650 nm 范围内有一个特征吸收峰,该特征吸收峰对妊娠期高血压的诊断具有重要作用。传统的血糖检测往往需要静脉或者指尖取血,可避免患者痛苦的血糖无创检测引起广泛关注。凌明胜等<sup>[30]</sup>先利用光声光谱系统对葡萄糖粉末进行测定,得到葡萄糖的光声光谱特征峰,然后分别对血清、红细胞和葡萄糖含量不同的全血进行测定,通过小波变换降噪处理原始光谱信号,得到了全血中葡萄糖光声光谱的特征峰位置。结果显示,降噪处理后的高血糖全血的光声光谱图与正常全血的光声光谱图相比,在 670 nm 附近出现了明显的葡萄糖特征吸收峰,并且吸收强度随着血糖浓度的变化而变化。以前用于葡萄糖测量的光声光谱系统使用的是带有宽带电容微音器的共振声学单元,为的是提高测量灵敏度。然而,由于该系统的工作频率范围低于微音器膜的共振频率,微音器的共振特性尚未得到研究。Sim 等<sup>[31]</sup>通过测量微音器的响应频率以及分析光声池的共振特点设计了如图 3 所示的光声光谱系统,该系统由中红外激光光源、激光控制器、内嵌微音器的光声单元和信号处理模块组成,利用超声共振微音器提高灵敏度。研究发现,将光声池的共振与微音器的共振相匹配可以增加信噪比,这一系统可以用于区分血液等液体中的葡萄糖浓度。光声光谱法已被证明是一种无创检测血糖的有力工具。然而,由于红外激发光会吸收皮肤分泌物或水,这种方法的可重复性易受皮肤状态(如洗手前后皮肤状态变化)的影响。采

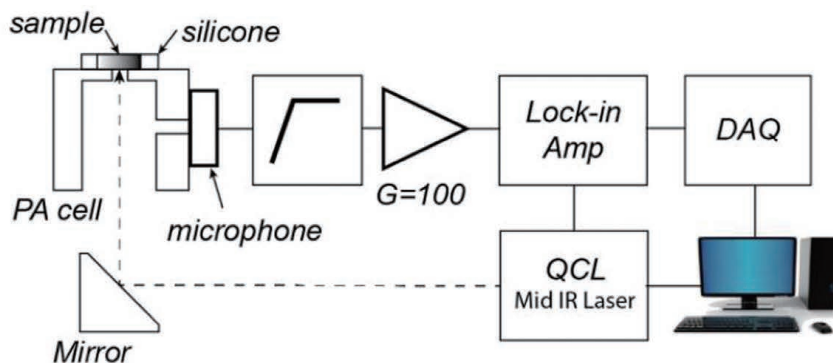


图 3 光声光谱测量装置示意图<sup>[31]</sup>

Fig. 3 Block diagram of photoacoustic spectroscopy measurement apparatus<sup>[31]</sup>

用该系统进行光谱测量时,可以通过皮肤的微观空间信息选择对红外光谱不敏感的皮肤区域,以提高光声光谱信号测量血糖浓度的可靠性<sup>[32]</sup>。

近年来,研究人员采用光声光谱技术对汗液、血液、唾液等体液斑痕进行了检验,重点分析了这些斑痕中的药物、毒品成分,以期为根据体液斑痕中的某些特征成分得到斑痕供体的相关信息提供理论基础和参考依据。

### 3.3 对生物组织光声光谱的研究

通过光声光谱可以测定组织的物理和化学特征,从而提供有价值的信息。近些年,光声光谱技术被广泛应用于人和动物软组织、硬组织的研究。

光声光谱分析具有识别生物组织中微结构的能力<sup>[33]</sup>。Xu 等<sup>[34]</sup>针对特定区域内光声源的尺寸与光声信号频谱的线性拟合模型之间的关系进行了理论分析,并按照超声波频谱分析程序,对聚乙烯微球体嵌入猪明胶中制成的模型进行模拟实验,实验结果验证了光声频谱分析作为表征生物样品中微结构的潜在可能性。精子是犯罪现场尤其是强奸案件中典型的法庭证据之一。光声光谱法可以检测稀释样品中的精子细胞。精子的亚细胞结构在吸收激光脉冲后会产生光声波,光声波可以通过聚偏氟乙烯(PVDF)薄膜光声传感器检测到。传统光声系统在 450 nm 处的检测阈值为 3 个精子细胞,改进光声系统后,有可能达到对单个细胞的检测。基于葡萄糖在 1064 nm 和 532 nm 处对光声信号的影响,可以将光声光谱技术用于血液和组织变化的体外监测<sup>[35]</sup>。采用光声光谱技术可以对同一个体中不同种类的癌细胞或不同个体中同种癌细胞之间的差异进行探究,探究结果可以作为癌症诊断、治疗和研究的重要依据。唐志列等<sup>[36]</sup>利用双光束归一化光声光谱技术对三株人鼻咽癌细胞 SUNE-1、CNE-2 和 CNE-1 进行了检测,结果显示,这三株人鼻咽癌细胞具有不同的光声光谱特性,CNE-1 的放射敏感性小于 SUNE-1 和 CNE-2。Xu 等<sup>[37]</sup>利用光声光谱系统对小鼠的正常肝脏和脂肪肝进行离体检测分析,获得了相应参数。结果表明:光声光谱分析可以确定小鼠肝脏由于脂肪积累而发生的结构变化;分别采用 1200 nm 和 532 nm 光谱分析得到的小鼠正常肝脏及脂肪肝参数具有一定差异,前者的参数差异更加明显,这对于脂肪肝的诊断具有参考价值。研究人员利用多参数光谱光声成像技术,基于血氧饱和度、总血红蛋白和脂质含量对转基因乳腺癌小鼠模型中正常、增生、原位导管癌和浸润性乳腺癌 4 种

乳腺组织进行了区分。结果表明,以血氧饱和度作为单一参数或者将血氧饱和度、脂质含量与 750 nm 处的原始光声信号组合,可在组织分类方面取得不错的效果<sup>[38]</sup>。侵袭性前列腺癌的诊断依赖于通过核芯针穿刺活检提取的组织的微观结构,而能够评估组织结构且无需提取组织的技术将通过更多的采样位点来实现无创性,同时提高诊断的准确性。Jo 等<sup>[39]</sup>开发了一套光声光谱分析系统,该系统利用细胞核在紫外线波长 266 nm 处的独特光吸收,实现了对小鼠前列腺组织结构异质性的量化。他们的实验结果表明,离体和在体小鼠前列腺在正常、癌症早期和癌症晚期之间存在显著差异。骨骼中的元素组成、生物分子的含量能够提供个体健康状况、饮食健康等直观信息<sup>[40]</sup>。Feng 等<sup>[41]</sup>通过分析来自骨骼的光声信号,研究了光声光谱技术表征骨骼微结构的可行性。射频光声信号的频域功率分布代表了生物样品组织微观结构的信息。牙齿封闭在口腔中,通常可以抵抗可能与个人死亡相关的危险条件,因此作为生物物证在案件分析中非常有价值<sup>[42]</sup>。光声光谱法被认为是一种评估、穿透硬组织的方法,将其与拉曼光谱法结合是评估牙本质光谱响应的有效、可行方法。Occhi-Alexandre 等<sup>[43]</sup>利用光声光谱技术比较了两种不同浓度的赤藓红素渗透到完整牙齿样品以及在体外被腐蚀的牙齿样品中的能力,结果发现,赤藓红渗透入牙齿的能力只与其浓度有关,不受牙齿状态的影响。牙齿可能有助于估计死者的年龄。可以根据人类牙齿的独特形态特征进行个体识别。牙齿在案件侦破中起着至关重要的作用,是司法鉴定的重要辅助手段。

光声光谱法是一种简单有效的快速测量方法。与其他常用的红外技术相比,光声检测在样品制备方面具有很大优势,这使得其在样品制备方法复杂的材料(如人类头发和其他纤维材料)的研究中被广泛应用。样品制备的优势,再加上光声技术和悬臂微音器的极高灵敏度,使得该方法相比其他类似方法更加快速和简单。头发主要由纤维蛋白组成,这种蛋白通常被称为角蛋白。角蛋白是由酰胺键连接在一起组成的氨基酸长链。除角蛋白外,头发中还含有水分、脂质和微量元素。利用光声检测技术对人类头发进行检测,可以获得其不同的酰胺键振动模式、不同的氨基酸、脂类和脂肪酸个体、结合水、微量元素等特征。

Wilson 等<sup>[44]</sup>将蛋白质中的氨基酸和酰胺键作为待研究的两种基本元素,通过深度剖面分析和化

学处理,从少量的头发角蛋白中获得了内容详细的光谱;此外,他在样品提取和制备上花费的时间较短。图 4 中的(a)是长度为 2 mm 的头发碎片组合物样本,(b)是长度为 1 cm 的单根头发样本,(c)为指甲样本,(d)为唾液样本,这些样本均来自同一人。 $A_A$ 、 $A_B$ 、 $A_I$ 、 $A_{II}$ 、 $A_{III}$  分别表示酰胺的 A、B、I、II、III 峰,CH 代表脂质和脂肪酸的  $CH_2$  和  $CH_3$  峰,OH 在光谱中表示结合水。如图 4 所示,4 种样品的光谱形状相似,具有相同的特征和光谱峰。同时可以看出两种不同的头发样本的光谱很相似,只是信噪比不同。对酰胺 I 和 II 峰进行比较后发现,这两个峰的形状在不同的样品之间具有明显差异,这与蛋白质二级结构(即氨基酸链)的不同有关。从样品制备方法和时间跨度上来看,头发是最理想的样品类型。相比之下,唾液所需要的样品制备和储存方法更加困难,而指甲通常比头发修剪得更加频繁,因此携带信息的时间跨度更短。头发可用于监测个体健康状况以及药物的滥用情况。与更加常用的血液或尿液样本相比,头发样本最重要的优势在于具有更长的储存时间:对于血液或尿液样本,其有效的储存时间通常为 2~4 d,而头发样本的储存时间可长达 3 a,而且头发中待检测物质的含量几乎是永久不变的。头发一旦被剪下并储存好,其状况就可以被认为是相对稳定的。头发样本较长的储存时间使得可通过对其进行检测来评估一个人的吸毒史,以判断其为长期吸毒还是偶然滥用。大多数情况下,头发采样也被认为是一种非侵入式方法。头发很容易收集,不会存在血液和尿液样本经常遇到的前处理和储存问题<sup>[45-48]</sup>。与更常用的基于透射或反射的

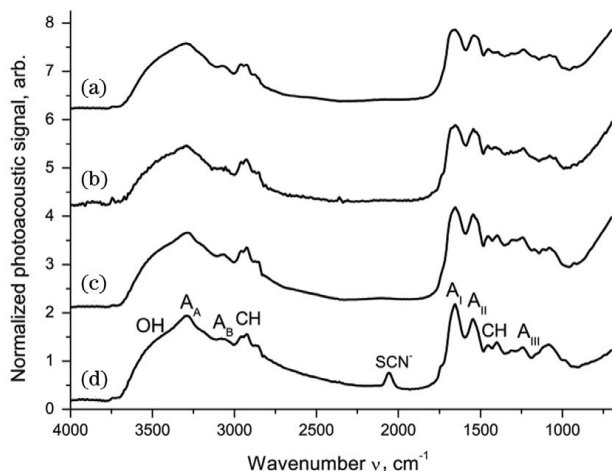


图 4 不同类型角蛋白和唾液蛋白的 FTIR-PAS 测定<sup>[44]</sup>

Fig. 4 Different types of keratin and saliva proteins measured with FTIR-PAS<sup>[44]</sup>

红外技术相比,光声光谱法具有一定优势:不需要制备样品,可以对分层样品进行深度分析,具有非破坏性,适用于不透明样品。在悬臂增强型光声光谱法中,大多数光声检测器选择干涉硅悬臂式微音器而不是电容式微音器作为压力传感器,为的是提高测量灵敏度。Lehtinen 等<sup>[49]</sup>利用悬臂增强光声光谱法和主成分分析法对滥用可卡因的人的头发进行了识别。高灵敏度且无需额外的样品制备,使得悬臂增强型光声光谱法成为测量头发纤维的理想技术。基于光声光谱学中的微采样技术进一步开发测量技术,可以实现几毫米长单根毛发纤维的测量。此外,还可以通过使用扫描傅里叶变换红外光谱(FTIR)干涉仪或可调谐激光源来提高和控制采样深度,从而提高测量精度。

#### 4 结束语

各种检验技术随着科技的进步而发展,生物物证的检验在犯罪嫌疑人的确定、案件侦破以及定罪量刑等方面都具有重要意义。作为诸多领域研究中的一种有力分析工具,光声光谱技术克服了生物组织散射特性对测量结果的影响,为生物物证的研究提供了一种高灵敏度、无需对样品进行预处理、无损的有效检测方法<sup>[50]</sup>。光声光谱法作为一种无损的检测方法已经被用于分析和鉴定法庭科学样品,但目前光声光谱法在法庭科学领域的研究尚处于起步阶段,与色谱法和质谱法相比,光声法的弱点和局限性显而易见。光声光谱学不能对含有多种成分的样品进行检测,而且需要对不同环境条件下的样本进行更多的分析,利用光声光谱进行识别的可行性需要进一步研究。目前,光声光谱技术还属于正在发展中的新技术,经过不断的完善和发展,可以预计,在不远的将来,它将成为法庭科学中常规的研究和分析工具。

#### 参 考 文 献

- [1] Liang D. Research progress of human biological evidence inspection technology[J]. Guangdong Gong'an Keji, 2013, 21(3): 7-11.  
梁迪. 人体生物物证检验技术研究进展[J]. 广东公安科技, 2013, 21(3): 7-11.
- [2] Arenas M, Pereira F, Oliveira M, et al. Forensic genetics and genomics: much more than just a human affair[J]. PLoS Genetics, 2017, 13(9): e1006960.
- [3] Zhao T H. Photoacoustic spectroscopy and its application[J]. Jiangsu Chemical Industry, 1986, 14

- (3): 49-51.  
赵体慧. 光声光谱法及其应用[J]. 江苏化工, 1986, 14(3): 49-51.
- [4] Liu Z L, Li X. Principle and application of photoacoustic spectroscopy[J]. Foreign Medical Sciences Section on Pharmacy, 1987, 14(4): 230-235.  
柳正良, 李修. 光声光谱法的原理及其应用[J]. 国外医学药学分册, 1987, 14(4): 230-235.
- [5] Zheng Z Z. Photoacoustic spectroscopy and its application[J]. Analytical Instrumentation, 1979(2): 19-27.  
郑朱梓. 光声光谱法及其应用[J]. 分析仪器, 1979(2): 19-27.
- [6] Somoano R B. Photoacoustic spectroscopy of condensed matter[J]. Angewandte Chemie, 1978, 17(4): 238-245.
- [7] Campbell S D, Yee S S, Afromowitz M A. Applications of photoacoustic spectroscopy to problems in dermatology research[J]. IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, 1979, 26(4): 220-227.
- [8] Park E, Lee Y J, Lee C, et al. Effective photoacoustic absorption spectrum for collagen-based tissue imaging[J]. Journal of Biomedical Optics, 2020, 25(5): 056002.
- [9] Lü X H, Zhao G W. Photoacoustic spectroscopy and its application[J]. Analytical Instrumentation, 1993(2): 37-41.  
吕小虎, 赵贵文. 光声光谱法及其应用[J]. 分析仪器, 1993(2): 37-41.
- [10] Zhang H F, Maslov K, Stoica G, et al. Functional photoacoustic microscopy for high-resolution and noninvasive *in vivo* imaging[J]. Nature Biotechnology, 2006, 24(7): 848-851.
- [11] Rosencwaig A, Gersho A. Photoacoustic effect with solids: a theoretical treatment [J]. Science, 1975, 190(4214): 556-557.
- [12] Li H, Zhao W L. Photoacoustic spectrometer based on waveguide CO<sub>2</sub> laser and its application [J]. Journal of Agricultural Mechanization Research, 2001, 23(3): 42-43.  
李红, 赵伟力. 基于波导 CO<sub>2</sub> 激光器的光声光谱仪及其应用[J]. 农机化研究, 2001, 23(3): 42-43.
- [13] Chen C W, Ming C J, Liu Y T, et al. Development and application of photoacoustic spectrometers [J]. Analytical Instrumentation, 1980(S1): 67-72.  
陈传文, 明长江, 刘耀田, 等. 光声光谱仪的研制及其应用[J]. 分析仪器, 1980(S1): 67-72.
- [14] Yin Q R, Wang T, Qian M L. Optoacoustic heat technology and its application[M]. Beijing: Science Press, 1991.  
殷庆瑞, 王通, 钱梦禄. 光声光热技术及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 1991.
- [15] Zuo B L, Deng Y Z, Zeng Y E. Liquid photoacoustic spectroscopy and its applications[J]. Analytical Laboratory, 1991, 10(1): 48-51.  
左伯莉, 邓延倬, 曾云鄂. 液体光声光谱及其应用[J]. 分析实验室, 1991, 10(1): 48-51.
- [16] Chen C W, Ming C J, Liu Y T, et al. Laser optoacoustic spectroscopy of gases and its applications [J]. Laser, 1980, 7(9): 48-51.  
陈传文, 明长江, 刘耀田, 等. 气体的激光光声光谱及其应用[J]. 激光, 1980, 7(9): 48-51.
- [17] Li Z F, Zhang C P, Zhang G Y. Photoacoustic spectroscopy and its application[J]. Physics, 1983, 12(9): 545-550.  
李增发, 张春平, 张光寅. 光声光谱技术及其应用[J]. 物理, 1983, 12(9): 545-550.
- [18] Quimby R S, Selzer P M, Yen W M. Photoacoustic cell design: resonant enhancement and background signals[J]. Applied Optics, 1977, 16(10): 2630-2635.
- [19] Cheng G, Cao Y N, Tian X, et al. Influence of photoacoustic cell geometrical shape on the performance of photoacoustic spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(8): 2345-2351.  
程刚, 曹亚南, 田兴, 等. 光声池几何形状对光声光谱检测性能的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(8): 2345-2351.
- [20] Wang J W. Near-infrared laser based photoacoustic spectroscopy for multi-component gas detection and medical application[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2012: 64-73.  
王建伟. 近红外激光光声光谱多组分气体检测技术及其医学应用[D]. 大连: 大连理工大学, 2012: 64-73.
- [21] Li L. Real-time detection of breath ammonia *in vivo* based on photoacoustic spectroscopy [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2010: 33-45.  
李良. 人体呼出氨气的光声光谱检测技术研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2010: 33-45.
- [22] Navas M J, Jiménez A M, Asuero A G. Human biomarkers in breath by photoacoustic spectroscopy [J]. Clinica Chimica Acta, 2012, 413(15/16): 1171-1178.
- [23] Saalberg Y, Bruhns H, Wolff M. Photoacoustic spectroscopy for the determination of lung cancer biomarkers: a preliminary investigation[J]. Sensors, 2017, 17(1): E210.
- [24] Bukreeva E B, Bulanova A A, Kistenev Y V, et al.



- Photoacoustic spectroscopy evaluation of the impact of smoking on the composition of exhaled air in patients with bronchopulmonary diseases[J]. *Terapevticheski Arkhiv*, 2017, 89(3): 34-37.
- [25] Smith F R, Nicloux C, Brutin D. A new forensic tool to date human blood pools [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 8598.
- [26] Ma Y, Gao B, Chen C, et al. Single-wavelength oxygen saturation detection fusing optical absorption and scattering properties: a phantom study[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2017, 37(8): 2652-2656.  
马瑶, 高博, 陈昶, 等. 单波长光声光谱血氧饱和度检测技术研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(8): 2652-2656.
- [27] Danielli A, Maslov K, Favazza C P, et al. Nonlinear photoacoustic spectroscopy of hemoglobin[J]. *Applied Physics Letters*, 2015, 106(20): 203701.
- [28] Guo P, Liu L E, Liu Q. Photoacoustic spectra of the whole blood from leukemia patients[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2000, 20(3): 457-458.  
郭萍, 刘礼恩, 刘琴. 白血病人血液的光声光谱 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2000, 20(3): 457-458.
- [29] Fu Y L, Zhong X B, Fu Y L, et al. Study on whole blood photoacoustic spectroscopy for PIH (pregnancy-induced hypertension) [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2000, 20(3): 425-426.  
符运良, 钟旭滨, 符玉良, 等. 妊高征的全血光声光谱研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2000, 20(3): 425-426.
- [30] Ling M S, Qian Z Y. Research for blood glucose concentration monitoring technique by photoacoustic spectroscopy [J]. *Journal of Biomedical Engineering Research*, 2006, 25(4): 217-219, 223.  
凌明胜, 钱志余. 血糖浓度光声光谱检测技术的研究 [J]. *生物医学工程研究*, 2006, 25(4): 217-219, 223.
- [31] Sim J Y, Ahn C G, Jeong E, et al. Photoacoustic spectroscopy that uses a resonant characteristic of a microphone for *in vitro* measurements of glucose concentration [C] // 2016 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), August 16-20, 2016, Orlando, FL, USA. New York: IEEE Press, 2016: 4861-4864.
- [32] Sim J Y, Ahn C G, Jeong E J, et al. *In vivo* microscopic photoacoustic spectroscopy for non-invasive glucose monitoring invulnerable to skin secretion products [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1059.
- [33] Xu G, Fowlkes J B, Tao C, et al. Photoacoustic spectrum analysis for microstructure characterization in biological tissue: analytical model [J]. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2015, 41(5): 1473-1480.
- [34] Xu G, Dar I A, Tao C, et al. Photoacoustic spectrum analysis for microstructure characterization in biological tissue: a feasibility study [J]. *Applied Physics Letters*, 2012, 101(22): 221102.
- [35] Hou J M. Photoacoustic spectroscopic analysis of photosynthesis and forensic chemistry [J]. *Journal of Analytical Science*, 2019, 35(6): 685-700.  
侯建敏. 光合作用和法庭化学中光声光谱分析研究进展 [J]. *分析科学学报*, 2019, 35(6): 685-700.
- [36] Tang Z L, Xia Y F, Li M Z, et al. Photoacoustic absorption characteristics of SUNE-1, CNE-2, and CNE-1 human nasopharyngeal carcinoma cell lines measured using photoacoustic techniques [J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2001, 17(2): 241-244.  
唐志列, 夏云飞, 李满枝, 等. 用光声光谱技术测量鼻咽癌细胞的光谱吸收特性 [J]. *生物物理学报*, 2001, 17(2): 241-244.
- [37] Xu G, Meng Z X, Lin J D, et al. Functional indicators of organs: quantitative analysis of tissue structure by photoacoustic spectroscopy [J]. *International Journal of Medical Radiology*, 2014, 37(3): 289.
- [38] Lehtinen J. Spectroscopic studies of human hair, nail, and saliva samples using a cantilever-based photoacoustic detection [J]. *International Journal of Thermophysics*, 2013, 34(8/9): 1559-1568.
- [39] Jo J, Siddiqui J, Zhu Y, et al. Photoacoustic spectral analysis at ultraviolet wavelengths for characterizing the Gleason grades of prostate cancer [J]. *Optics Letters*, 2020, 45(21): 6042-6045.
- [40] Roschger P, Paschalis E P, Fratzl P, et al. Bone mineralization density distribution in health and disease [J]. *Bone*, 2008, 42(3): 456-466.
- [41] Feng T, Perosky J E, Kozloff K M, et al. Characterization of bone microstructure using photoacoustic spectrum analysis [J]. *Optics Express*, 2015, 23(19): 25217-25224.
- [42] Shah P, Velani P R, Lakade L, et al. Teeth in forensics: a review [J]. *Indian Journal of Dental Research*, 2019, 30(2): 291-299.
- [43] Occhi-Alexandre I G P, Baesso M L, Sato F, et al. Evaluation of photosensitizer penetration into sound and decayed dentin: a photoacoustic spectroscopy study [J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2018, 21: 108-114.
- [44] Wilson K E, Bachawal S V, Tian L, et al. Multiparametric spectroscopic photoacoustic imaging of breast cancer development in a transgenic mouse model [J]. *Theranostics*, 2014, 4(11): 1062-1071.

- [45] Karacić V, Skender L. Hair testing for drugs of abuse[J]. Collegium Antropologicum, 2003, 27(1): 263-269.
- [46] Kintz P. Value of hair analysis in postmortem toxicology[J]. Forensic Science International, 2004, 142(2/3): 127-134.
- [47] Boumba V A, Ziavrou K S, Vougiouklakis T. Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants[J]. International Journal of Toxicology, 2006, 25(3): 143-163.
- [48] Barroso M, Gallardo E, Vieira D N, et al. Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology[J]. Bioanalysis, 2011, 3(1): 67-79.
- [49] Lehtinen J, Hirschmann C B, Keiski R L, et al. Human hair in the identification of cocaine abuse with cantilever-enhanced photoacoustic spectroscopy and principal component analysis[J]. Applied Spectroscopy, 2013, 67(8): 846-850.
- [50] Li L, Xie W M, Li H. Applications of photoacoustic spectroscopy in the field of modern biomedicine[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2012, 49(10): 100008.
- 李莉, 谢文明, 李晖. 光声光谱技术在现代生物医学领域的应用[J]. 激光与光电子学进展, 2012, 49(10): 100008.