

引用格式: YUAN Rongsui, WU Zhiqiang, NIE Rongzhi, et al. Noninvasive Detection of Skin Moisture Content Based on Spatially Offset Raman Spectroscopy[J]. Acta Photonica Sinica, 2023, 52(9):0930003
袁榕穗, 吴植强, 聂荣志, 等. 基于空间位移拉曼光谱的皮肤含水量无创检测[J]. 光子学报, 2023, 52(9):0930003

基于空间位移拉曼光谱的皮肤含水量无创检测

袁榕穗¹, 吴植强², 聂荣志³, 钟文婷⁴, 张克勤⁴

(1 广西食品药品审评查验中心, 南宁 530000)

(2 广西医疗器械检测中心, 南宁 530000)

(3 贺州学院 公共基础教学部, 贺州 542899)

(4 苏州大学 纺织与服装工程学院, 苏州 215021)

摘要: 基于空间位移拉曼光谱原理, 搭建了一套可以实现微小空间位移的装置, 确定了最优的空间位移距离为 300 μm , 用于穿透皮肤表层, 减少皮肤表面水份、油脂等污染物的干扰, 最终采集到皮肤内层的水份拉曼信号。该装置采用拉曼波数在 3 390 cm^{-1} (水拉曼峰) 和 2 935 cm^{-1} (蛋白峰) 处的强度之比确定组织中的水-蛋白比例, 采用便携式光谱仪使设备便于移动, 探头和光谱仪以光纤相连使探头可灵活操作, 设计满足临床使用要求。实验中检测了 7 个人、每人 10 个共 70 个不同位置的皮肤光谱, 将光谱进行去背景算法处理, 然后得到精确的拉曼峰强度。以电学法皮肤水份测试仪测试结果作为对比, 以组内相关系数作为一致性分析指标, 由单个测量组内相关系数为 0.889 可以看出, 基于空间位移拉曼光谱法的人体活体皮肤含水量检测具有较高可行性。

关键词: 空间位移拉曼光谱; 皮肤含水量; 无创检测; 一致性分析; 组内相关系数

中图分类号: O433.4

文献标识码: A

doi: 10.3788/gzxb20235209.0930003

0 引言

成年人体重的约 60% 是水, 具体取决于年龄, 性别等因素。人体脱水或水合过度会导致严重的健康问题, 并可能伴随各种医疗状况。在健康老龄化和医疗保健成本不断增加的时代, 脱水导致大量的老年人入院治疗, 同时水合过度也与脱水一样频繁发生。此外, 在耐力运动中, 许多生理参数被监测以优化表现, 十分需要直接测量机体含水量。总之, 存在许多可能导致过度水合或脱水的医疗状况以及急性事件, 及时干预和适当的管理需要可靠的水合状态分析。然而目前还没有快速简单, 非侵入性的方法可以可靠地测量和监测某人的水合作用状态^[1]。

皮肤是人体主要蓄水池之一, 含水量占全身的 18%~20%, 是理想的机体含水量检测位置。目前皮肤含水量的研究主要以电学法^[2-3]和拉曼光谱法^[4]为主, 其中电学法基于皮肤的电导或电容特性计算含水量, 除检测皮肤样品外还可检测人体活体, 但使用前需要对皮肤严格的清洁以及等待清洁后恢复正常状态的时间, 准确度依赖清洁的效果, 实际使用时非常不便利。拉曼光谱法可直接识别水的光谱信号强度, 在体外皮肤样本含水量检测中展现了很高的精度, 但面对活体检测时有着穿透深度不足、难以聚焦以及依赖中大型光谱仪的缺点, 未能应用到人体活体实验中。

空间位移拉曼光谱技术穿透性更强, 可很大程度的减少皮肤表面水份、油脂等污染物的干扰, 更换被测人时不需要重新校准光路, 激发光斑大可避免皮肤刺痛感, 但现有的空间位移拉曼光谱装置激发点和收集点之间的空间位移量一般为几个毫米, 最常用于穿透药瓶等包装材料, 若应用于生物探测时会忽略皮肤厚

基金项目: 国家自然科学基金(No. 51873134)

第一作者: 袁榕穗, 7264892@qq.com

通讯作者: 钟文婷, zhongwenting_1221@163.com

收稿日期: 2023-03-27; 录用日期: 2023-04-27

<http://www.photon.ac.cn>

度,采集到来自皮下的信号,因此更适用于皮下,例如骨信号的检测^[5-9]。当应用于皮肤检测时,水信号占比极小,光谱收集效率低,而且受限于机械结构和光学元件尺寸,难以缩小空间位移量。

本研究没有使用传统空间位移拉曼光谱装置的机械偏移或者遮挡实现激发点和收集点的相对位移,而是设置了可微移的光源,利用光源与激发点的共轭关系调节空间位移量,同时引入显微成像光路控制调节,最终实现了小于 $1\ 000\ \mu\text{m}$ 的空间位移量的连续可调,应用于皮肤含水量的检测,通过对不同空间位移量下光谱数据的分析,最终在 $300\ \mu\text{m}$ 的最优条件下实现了皮肤中水信号的检测,并报道了基于拉曼光谱的皮肤含水量无创检测。

1 实验部分

1.1 实验装置

用于对比的检测方法为电学法,使用了Real Bube公司RB-916型皮肤水份测试仪。使用时将电极按压到待测皮肤上,单次测量时间大约5秒,仪器根据电导率等信号可直接给出含水量。空间位移拉曼激发和收集装置为实验室搭建,考虑到人体检测需要仪器可移动,以及探头和光谱仪分离^[10-11],光谱仪采用了可便携的光纤光谱仪^[12],型号为Wasatch Photonics公司的WP785ER型拉曼光谱仪。

图1为空间位移拉曼实验装置的示意图,整套装置由采样区(Sampling region)、激发区(Excitation region)、收集区(collecting region)和成像区(Imaging region)组成,其中采样区为激发和收集光路共用,成像区用来确定空间位移量。

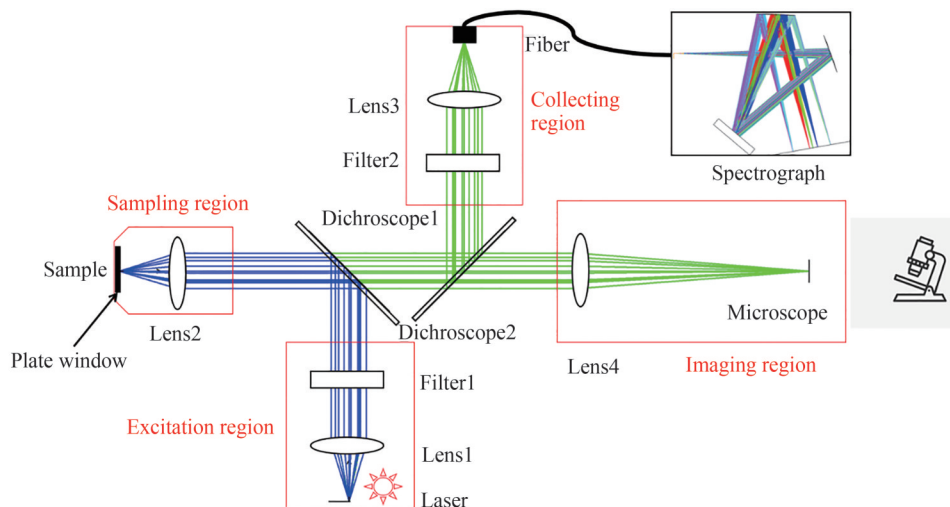


图1 空间位移拉曼装置

Fig. 1 Device of spatially offset Raman spectroscopy

激发光路:光源采用QPhotonics公司波长为 $761\ \text{nm}$ 的单模光纤输出激光器(Laser),光谱宽度 $0.2\ \text{nm}$,功率为 $100\ \text{mW}$,经过镜头1(Lens1)准直后由窄带通滤光片1(Filter1)去除边频,以 45° 角入射到二向色镜1(Dichroscope1)表面,经反射后由镜头2(Lens2)聚焦于样品(Sample)位置,最终可达皮肤的激光功率为 $80\ \text{mW}$,光斑直径约为 $15\ \mu\text{m}$ 。被测位置放置平面窗口(Platowindow),测量时用手按压,保持不动,测量时间为 $30\ \text{s}$ 。除此之外,平面窗口在光路校正时还起到反射信标光斑的作用,激发光路或者收集光路都可向平面窗口发射一束信标光,其中被反射的光的强度足够被成像光路产生清晰的光斑像,用以确定光斑的尺寸和位置。

收集光路:样品受激发后产生的拉曼散射光信号由镜头2(Lens2)收集并准直,输送到二向色镜1(Dichroscope1),二向色镜1(Dichroscope1)允许波长大于激发光的信号通过,但还有约百分之一的激发光残余,为粗滤。粗滤后的光由二向色镜2(Dichroscope2)反射转向滤光片2(Filter2),滤光片2(Filter2)为Semrock公司 $\text{OD}=7$ 的长通滤光片,可将残余激发光的强度降为百万分之一,为精滤,精滤后的光由镜头3(Lens3)耦合进光纤光谱仪(Spectrograph),形成拉曼散射光谱。

成像光路:粗滤后残余的激发光穿过二向色镜2(Dichroscope2),由镜头4(Lens4)投射到像面成像,由目镜(Microscope)观察,首先在平面窗口处放置带刻度的分划板,用来标定视野中像的尺寸,便于后续确定空间偏移量。在空间位移拉曼实验中,收集光路保持在中心光轴位置不动以保证收集效率,通过调整光源位置使光源离轴,将激发光源固定到一维精密位移台上,移动位移台(螺纹牙间距小于0.35 mm),相应的窗口处光斑也会偏离光轴,根据分划板的标定使成像视野中激发光光斑偏移中心位置200~1 000 μm ,其下限200 μm 用以保证穿透角质层,上限设为1 000 μm ,此时像差已经非常明显,且接近视场边缘,不宜继续偏移。

1.2 实验过程

实验目标为7人,5男2女,年龄分布在25~40岁之间,为增加样本多样性,每人的每个手指分别作为一个样本,则可将样本量扩展到至少70个。所有受试者手部皮肤健康、光滑无伤疤,无红斑、脱屑。洗洁被测部位后5~10 min(表面水分自然消失)进行测试。实验期间受试部位不可使用护肤品,以避免电解质渗入皮肤,不可使用洗涤剂,以避免破坏角质层,干扰测试结果。测试时将被测位置轻压在平面光学窗口上,保持不动,测量时间为30 s,测试过程需要遮光。

实际测试发现指尖含水量明显高于手掌其它部位,因此对测试部位分组,指尖编为A组,手指中部编为B组,大鱼际和指跟编为C组,编号结果见图2。实验后发现,B组和C组的电学法测量受洗手时间和环境湿度影响较大,最终只取A区结果进行分析。

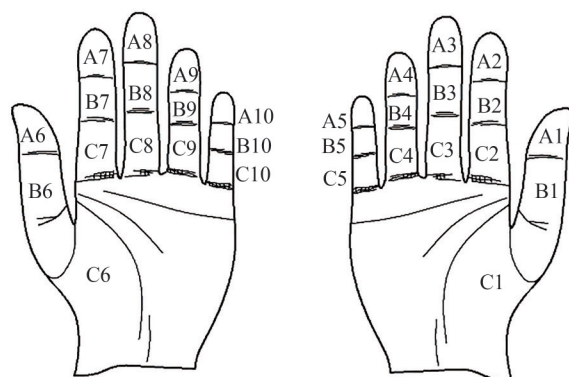


图2 双手分区编号示意图
Fig.2 Numbered partition map of hands

2 结果与讨论

2.1 光谱定量分析

拉曼光谱的横坐标为拉曼位移,单位为波数(cm^{-1}),纵坐标为光谱强度,由于光纤拉曼光谱仪采用了硅基探测器作为光电转换器件,其对光信号强度为线性响应,因此该读数可以用于定量分析^[13-14]。

2.1.1 光谱去背景

图3展示了荧光背景高低不同的三条光谱,需要注意的是这是对同一人同一位置皮肤的三次重复测试,按先后分别对应图中的a、b、c。从拉曼光谱中可以看到无论是中心波数位于3 390 cm^{-1} 的水峰还是中心波数位于2 935 cm^{-1} 的蛋白峰,光谱1、光谱2和光谱3都不重合,其原因主要来源于荧光信号强度随照射时间的衰减,造成了光谱基线不重合,为了保证从三条光谱中得到相同的结果,必须对光谱进行去背景处理^[15]。

假设采集得到的拉曼光谱数据集合为 $Y_{(i,j)}$,光谱对应的拉曼位移为 X_i , $i=1\sim n$, n 为光谱仪数据点个数, $j=1\sim m$, m 为拉曼光谱条数。在 X_i 寻找最接近2 790 cm^{-1} 和3 780 cm^{-1} 的 i 值 i_{2790} 和 i_{3780} ,对每一条光谱,做计算,即

$$Y1_{(i,j)} = Y_{(i,j)} - Y_{(i_{3780},j)} - (Y_{(i_{2790},j)} - Y_{(i_{3780},j)}) / (X_{i_{2790}} - X_{i_{3780}}) \cdot (X_i - X_{i_{3780}}) \quad (1)$$

获得去背景后的光谱集合 $Y1_{(i,j)}$ 。其中横坐标区域限定在2 790 cm^{-1} 到3 780 cm^{-1} 段,因为皮肤中与水相关的信息主要集中于此,过多则会增加干扰信息。

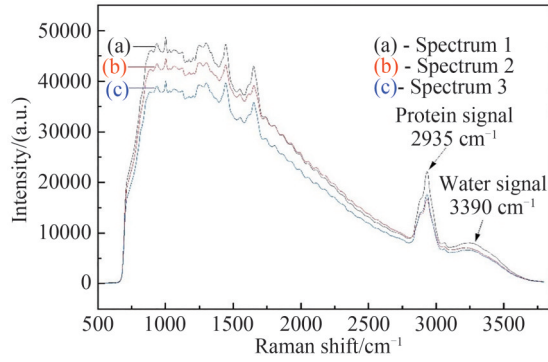


图3 同一位置重复测试三遍得到的差异性光谱
Fig.3 Three different spectra collected from the same location

2.1.2 计算水峰面积和蛋白质峰面积

在 X_i 寻找最接近水峰范围边界 3350 cm^{-1} 和 3550 cm^{-1} 对应的 i 值 i_{3350} 和 i_{3550} , 以及蛋白质峰范围边界 2910 cm^{-1} 和 2965 cm^{-1} 对应的 i 值 i_{2910} 和 i_{2965} , 使用积分法计算光谱面积有

$$W_j = \sum_{i=i_{3350}}^{i_{3550}} Y1_{(i,j)} \times \frac{X_{i+1} - X_{i-1}}{2} \quad (2)$$

$$P_j = \sum_{i=i_{2910}}^{i_{2965}} Y1_{(i,j)} \times \frac{X_{i+1} - X_{i-1}}{2} \quad (3)$$

式中, W_j 为水峰面积, P_j 为蛋白质峰面积。

2.1.3 根据光谱数据推算皮肤相对含水量

基于拉曼光谱的水含量定量分析采用拉曼波段在 3390 cm^{-1} 处的强度和 2935 cm^{-1} 处的强度之比确定组织中的水蛋白比例^[16], 计算每个样本的含水量 P_w , 公式为

$$P_w(\%) = \frac{mW}{mW + mP} = \frac{W_j/P_j}{W_j/P_j + R} \times 100\% \quad (4)$$

对于水峰和蛋白质峰, 有

$$\frac{W_j}{P_j} = \frac{mW_j}{mP_j} R \quad (5)$$

式中, mW_j 为每个样本所对应的水的质量, mP_j 为每个样本所对应的蛋白质的质量, R 为水峰和蛋白质峰的峰面积比例系数。

人体平均含水量为 60%, 按含水量计算公式

$$P_w(\%) = \frac{mW}{mW + mP} = 60\% \quad (6)$$

则 $mW/mP=1.5$ 。据此, $R = \frac{1}{1.5} \times \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \frac{W_j}{P_j}$ 。

按照以上方法, A 组产生 70 个相对水含量, 重复三次实验以增加稳定性, 对应的三条光谱在正常情况下经过上述算法处理后可以得到重复的结果。图 4 为所有 70 条光谱的合集, 图中右上角为经过去背景处理后的效果。含水量用百分比 (%) 表示, 表 1 和表 2 分别记录了用电学法和光谱法测得的皮肤含水量数值, 其中 7 行代表编号为 1~7 的 7 个受试者, 10 列代表每个受试者的 10 个测试位置, 下文将两组结果做一致性分析。

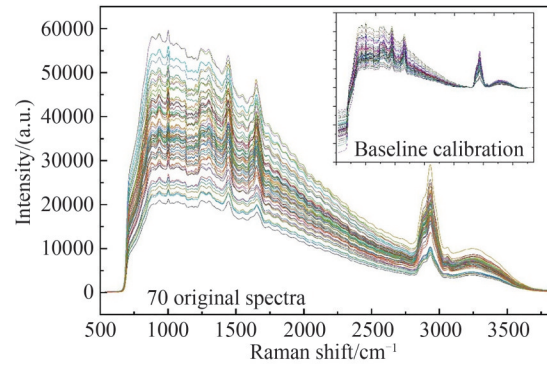


图4 70条原始光谱以及去背景光谱的集合

Fig.4 A collection of 70 original spectra and 70 spectra after baseline calibration

表1 1-7号受试者的光谱法结果(%)

Table 1 Results of spectroscopic methods for subjects 1-7(%)

Subject No.	Relative water content(%) of 10 palm positions									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
1	60	60	60	56	59	60	58	58	55	55
2	58	64	64	69	66	58	65	58	58	56
3	60	58	55	53	53	58	58	60	60	56
4	56	59	55	55	55	58	58	60	60	56
5	48	50	46	47	47	55	56	55	53	53
6	56	53	53	53	50	58	58	55	53	48
7	68	66	69	69	64	69	72	65	66	66

表2 1-7号受试者的电学法结果(%)

Table 2 Results of electrical conductivity methods for subjects 1-7(%)

Subject No.	Relative water content(%) of 10 palm positions									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
1	57	58	57	53	56	57	55	55	53	53
2	55	61	60	65	57	56	63	54	57	54
3	58	56	53	50	51	59	60	58	54	52
4	54	57	53	52	52	56	57	58	58	55
5	45	48	43	45	42	53	55	52	50	41
6	54	50	50	49	38	57	53	49	47	34
7	72	71	67	71	72	66	75	59	62	61

2.2 一致性分析

组内相关系数(ICC)常用于评价不同方法、设备或测试人员对同一定量测量结果的一致性和可重复性^[17-18], $ICC = \sigma_t^2 / (\sigma_t^2 + \sigma_b^2 + \sigma_e^2)$ 。其中 σ_t^2 为被测者变异, σ_b^2 为系统误差(不同测试方法), σ_e^2 为随机误差造成的变异。相关工作由SPSS方法完成,选择“可靠性分析”功能,调用适用于两项分析的Alpha模型, α 是衡量信度的一种方法, $\alpha > 0.7$ 属于高信度, $0.35 < \alpha < 0.70$ 表示可以接受, $\alpha < 0.35$ 属于低信度。

对数据统计时选用组内相关系数,组内相关系数的计算有三种模型,分别是单向随机、双向随机和双向混合。其中,单项随机模型不适用于评价结果的可重复性。双向随机模型与双向混合模型接近,理论上都可用来评价可重复性,其中双向随机模型适用于采用任意同样设备的两个研究者,而双向混合模型的结果仅限于给定的两种设备,不能推论其他。因此,本研究选择双向混合模型。该模型下又分为两种评价类型,分别为一致性和绝对一致,考虑到电学法和光谱法得到的含水量未经过统一标定,因此选择一致性评价方法。计算的结果见表3,结果包含了组内相关系数及其95%置信区间,其中单个测量(Single measurement)

可以估计单个设备的可靠性,平均测量(Average measurement)为两者的平均值。由单个测量组内相关系数为0.889可以看出,两种方法的检测结果有较高的一致性,但基于空间拉曼光谱法的检测装置对皮肤的清洁要求并不严格,应用更加便利。

表3 组内相关系数结果
Table 3 Interclass correlation coefficient

	ICC	95% confidence interval	
		Lower limit	Upper limit
Single measurement	0.889	0.827	0.930
Average measurement	0.941	0.906	0.964

个体的差异使信号来源并不一致,例如若甲比乙的角质层厚,则甲的信号很可能来自上层水含量低的位置而乙的信号来自下层水含量高的位置,这使两人含水量的对比失去意义。幸运的是,皮肤中水含量稳定的储水层具有足够的厚度,这使本研究可以找到一个适合的探测参数,使每个人的信号来源既不过浅,又不过深,即位于甲和乙能代表总体含水量的区域的重叠位置,基于此建立一种适用于多数人的含水量比较方法。

找到适合大多数人的适宜深度是消除差异性的关键,假设人体的差异体现到空间位移距离上小于 $800\ \mu\text{m}$,从 $200\ \mu\text{m}$ 到 $1\ 000\ \mu\text{m}$ 的范围内做了4组对比实验,用来探索效果最佳的探测参数。如图5所示,本文设置了4种不同空间位移量的实验,图5中(a)~(d)对应的空间位移距离分别为 $200\ \mu\text{m}$ 、 $300\ \mu\text{m}$ 、 $500\ \mu\text{m}$ 和 $1\ 000\ \mu\text{m}$,每个光谱都连续的重复测量3次,用以展示荧光衰减后光谱强度的分布范围。不同空间位移量下测得的来自同一人同一位置的皮肤光谱,可以看到只在信号强度上有明显区别,而在光谱轮廓和细节上没有显著和规律的变化,无法区别哪种光谱的效果更好,只能依靠定量分析的结果来判断。本文在4种空间位移量下分别重复了上文所述的实验和分析过程,最终确认了空间位移量为 $300\ \mu\text{m}$ 时可以得到最佳的效果。

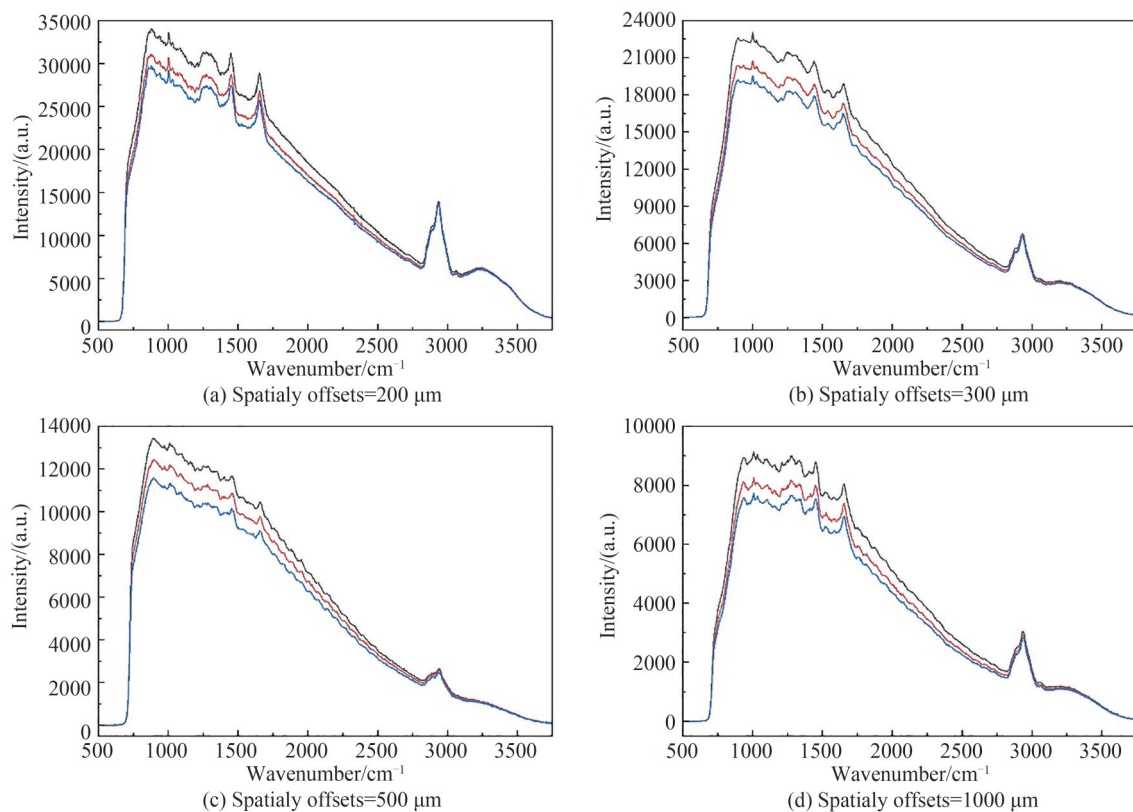


图5 在不同空间位移量下测得的拉曼光谱
Fig.5 Raman spectra at different spatially offsets

用统计学的方法证明该装置具有空间灵敏性并且得到最优的装置参数后,我们也希望总结出一种更直观的通过光谱特征快速的判断信号优劣的方法,图5为在不同空间位移量下测得的拉曼光谱,依旧是连续采集三条光谱以保证光谱典型性,从表4可以看出随着空间位移距离的增大,光谱高度依次降低,但一致性却随着光谱高度的递减呈现先升高后降低然后再升高的趋势,并没有什么规律,因此不能从光谱高度来判断信号优劣。我们注意到即使是同一个人的同一个位置,水信号相对强度(拉曼波数在 $3\ 390\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\ 935\text{ cm}^{-1}$ 处的强度之比)在不同空间位移距离的检测条件下,其值也是不相等的,原因在于皮肤并非所有的深度都能正确的体现含水量。表4展示了不同空间位移下获得的数据的组内相关系数以及相对水峰强度。总体而言,如果水信号相对强度小于0.05,那么检测结果就只有低可置信度,例如实验中空间位移距离为 $500\ \mu\text{m}$ 时,水信号相对强度只有0.023,组内相关系数只有0.316,这种条件下就需要调整光路,或者检查被测人皮肤是否有损伤、疤痕等问题;如果水信号相对强度接近0.10,即可判断此时的光路配置基本合格,只需要进一步细调,以确定最佳参数,该经验方法可以快速有效的对弱信号、强背景光谱进行筛选,提高研究效率。

表4 不同空间位移对应的组内相关系数
Table 4 ICC for different spatially offsets

Spatially offset/ μm	Relative strength of water	ICC for different spatially offsets
200	0.122	0.612
300	0.101	0.889
500	0.023	0.316
1 000	0.050	0.544

3 结论

本文探索了基于空间位移拉曼光谱和便携式光纤光谱仪检测皮肤含水量的可行性,搭建了精密的空间位移拉曼光谱装置并用统计学的方法证明了该装置具有空间灵敏性。实验装置设计了可微移的光源,利用光源与激发点的共轭关系调节空间位移量,同时引入显微成像光路控制调节,最终实现了小于 $1\ 000\ \mu\text{m}$ 的空间位移量的连续可调,在不同空间位移距离下采集了一系列人体光谱,经过光谱去背景、水相对含量分析等算法的处理,得到了稳定的相对水含量,证明该实验装置可以得到重复性良好的光谱。通过对电学法和光谱法测试结果的对比统计分析得到组内相关系数,当空间位移距离分别为 $200\ \mu\text{m}$ 、 $300\ \mu\text{m}$ 、 $500\ \mu\text{m}$ 和 $1\ 000\ \mu\text{m}$ 时,对应的组内相关系数分别为0.612、0.889、0.316和0.544。确定了适用于人体皮肤含水量检测的最优空间位移量为 $300\ \mu\text{m}$,在该条件下基于空间位移拉曼光谱测得的人体活体皮肤含水量结果与电学法检测结果具有较高一致性,同时不需要电学法严格的皮肤清洁过程,有望实现皮肤内层水含量的便捷检测。光纤光谱仪和探测探头分离的设计也满足实用化的要求,便于展开大量人体测量实验,有转化成医疗器械的潜能。

参考文献

- [1] FENG Yiwei, FANG Guoliang, WANG Han, et al. Research progress of athlete's hydration status evaluation and optimization strategies[J]. China Sport Science and Technology, 2022, 11(58):69-75.
冯亦唯, 房国梁, 汪涵, 等. 运动员水合状态评定与优化策略的研究进展[J]. 中国体育科技, 2022, 11(58):69-75.
- [2] HUA Wei, LI Li. The measurement of stratum corneum hydration using electrical instruments[J]. The Chinese Journal of Dermatovenerology, 2015, 29(3):314-317.
华薇, 李利. 皮肤角质层含水量的电学法测量[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2015, 29(3):314-317.
- [3] BONCHEVA M, STERKE J D, CASPERS P J, et al. Depth profiling of Stratum corneum hydration in vivo: a comparison between conductance and confocal Raman spectroscopic measurements[J]. Experimental Dermatology, 2009, 18(10):870-876.
- [4] WANG H, ZHANG Q, MAO G, et al. Novel confocal Raman microscopy method to investigate hydration mechanisms in human skin[J]. Skin Research and Technology, 2019, 25(5):653-661.
- [5] LIU Z, HUANG M, ZHU Q, et al. A packaged food internal Raman signal separation method based on spatially offset Raman spectroscopy combined with FastICA[J]. Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc, 2022, 275:121154.

- [6] ZENG Qi, LIU Rui, WANG Nan, et al. Research progress of raman spectroscopy in medical laboratory science (invited) [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2021, 50(10):1017002.
曾琦, 刘瑞, 王楠, 等. 拉曼光谱技术在医学检验领域中的研究进展(特邀)[J]. *光子学报*, 2021, 50(10):1017002.
- [7] MOSCA S, DEY P, SALIMI M, et al. Non-invasive depth determination of inclusion in biological tissues using spatially offset Raman spectroscopy with external calibration[J]. *Analyst*, 2020, 145(23):7623-7629.
- [8] MATTHIAE M, KRISTENSEN A. Hyperspectral spatially offset Raman spectroscopy in a microfluidic channel [J]. *Optics Express*, 2019, 27(3): 3782-3790.
- [9] MOSCA S, DEY P, SALIMI M, et al. Spatially offset raman spectroscopy-how deep?[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(17):6755-6762.
- [10] GAO Nan, ZHANG Yichao, XU Danyang, et al. Design and experimental research of probe in handheld / portable laser Raman testing device[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2019, 48(5):0522002.
高楠, 张一超, 徐丹阳, 等. 手持/便携式激光拉曼测试装置中探头的设计与实验研究[J]. *光子学报*, 2019, 48(5): 0522002.
- [11] MILENKO K, YEROLATSITIS S, AKSNES A, et al. Micro-lensed negative-curvature fibre probe for raman spectroscopy[J]. *Sensors*, 2021, 21(24):8434-8443.
- [12] SU Jianjia, YUAN Junchun, CHEN Hong, et al. A compact raman spectroscopy device for the rapid detection of food additives[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2018, 37(3):270-274.
苏建加, 袁俊春, 陈宏, 等. 便携拉曼检测集成装置与芯片式卡盒相结合用于食品添加剂的快速检测[J]. *分析试验室*, 2018, 37(3):270-274.
- [13] CASPERS P J, NICO C, SCHUT T, et al. Method to quantify the in vivo skin penetration of topically applied materials based on confocal Raman spectroscopy[J]. *Translational Biophotonics*, 2019, 1:201900004.
- [14] YAN Shuai, LI Yongyu, PENG Yankun, et al. Rapid detection of quinolone antibiotics residues in chicken eggs by surface-enhanced Raman spectroscopy combined with chemometrics[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 50(10): 1578-1586.
闫帅, 李永玉, 彭彦昆, 等. 表面增强拉曼光谱结合化学计量学快速检测鸡蛋中的喹诺酮类抗生素残留[J]. *分析化学*, 2022, 50(10):1578-1586.
- [15] AFSETH N K, KOHLER A. Extended multiplicative signal correction in vibrational spectroscopy, a tutorial [J]. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*, 2012, 117(8):92-99.
- [16] CASPERS P J, LUCASSEN G W, CARTER E A, et al. In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of molecular concentration profiles[J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2001, 116(3): 434-442.
- [17] XIE Yu, LI Huiyi, ZHOU Yue, et al. Comparison of two methods for evaluating the toothpastes on the efficacy of prevention of extrinsic staining[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2020, 50(012):875-878.
谢宇, 李慧怡, 周悦, 等. 两种评价牙膏预防外源性色素沉积功效方法的比较[J]. *日用化学工业*, 2020, 50(012): 875-878.
- [18] YU Jiajia, LI Jian. Data consistency and replaceability based on different human measurement methods [J]. *Journal of Textile Research*, 2019, 40(9):167-172.
余佳佳, 李健. 基于不同人体测量方法的数据一致性和可替换性研究[J]. *纺织学报*, 2019, 40(9):167-172.

Noninvasive Detection of Skin Moisture Content Based on Spatially Offset Raman Spectroscopy

YUAN Rongsui¹, WU Zhiqiang², NIE Rongzhi³, ZHONG Wenting⁴, ZHANG Keqin⁴

(1 *Guangxi Food and Drug Evaluation & Inspection Center, Nanning 530000, China*)

(2 *Guangxi Medical Device Testing Center, Nanning 530000, China*)

(3 *Department of Public Foundation Education, Hezhou University, Hezhou 542899, China*)

(4 *College of Textile and Clothing Engineering, Soochow University, Suzhou 215021, China*)

Abstract: In this study, the feasibility of detecting skin water content based on spatial displacement Raman spectroscopy and portable fiber optic spectrometer was explored. A device was constructed that can achieve an optimal spatial displacement distance of 300 μm . It is selected to detect signals noninvasively under the surface of the skin and reduce the interference of pollutants such as water and oil on the surface of the skin.

Instead of using the traditional spatial shift Raman spectroscopy device to achieve the relative shift of excitation point and collection point by mechanical offset or light blocking, a micro-shiftable light source was set up to adjust the spatial shift by using the conjugate relationship between the light source and the excitation point, and at the same time, a microscopic imaging device was introduced to control the adjustment, which finally realized the continuous adjustable spatial shift of less than 1 000 μm .

The ratio of the intensity of Raman shift at 3 390 cm^{-1} (water Raman peak) and 2 935 cm^{-1} (protein Raman peak) is employed to characterize the skin moisture content, a portable spectrometer is employed to make the device moveable, the probe and the spectrometer are connected by optical fiber to make the probe flexible. Therefore, the design meets the clinical requirements. In total, 70 spectra from different locations were collected (7 people, 10 spectra each) in the experiment, and the spectra were processed by a de-backgrounding algorithm, and then the exact Raman peak intensity was obtained. The intra-group correlation coefficient was used as an index for consistency analysis. The intra-group correlation coefficient of 0.889 for a single measurement showed that the results of the two methods were in good agreement.

In this study, four experiments with different spatial displacement amounts were set up, and the spatial displacement distances were 200 μm , 300 μm , 500 μm and 1 000 μm . The skin spectra from the same person at the same location measured under different spatial displacement amounts can be seen to be significantly different only in signal intensity, while there is no significant and regular change in the spectral profile and details, and it is impossible to distinguish which spectrum is better. The results of the quantitative analysis can only be judged by the results of the quantitative analysis. The experimental and analytical procedures described above were repeated at four spatial shifts in the study, and it was finally confirmed that the best results could be obtained at a spatial shift of 300 μm .

After proving the spatial sensitivity of the device by statistical methods and obtaining the optimal device parameters, we also hope to conclude a more intuitive method to quickly judge the signal superiority by spectral characteristics. As the spatial displacement distance increases, the spectral height decreases in turn, but the consistency shows a trend of first increasing, then decreasing and then increasing with the decreasing spectral height, there is no rule, so we cannot judge the signal superiority from the spectral height. We note that even for the same person at the same location, the relative intensity of the water signal (the ratio of the intensity of the Raman shift at 3 390 cm^{-1} and 2 935 cm^{-1}) is not equal under the detection conditions of different spatial shift distances, the reason is that not all depths of the skin can correctly reflect the water content. Overall, if the relative intensity of the water signal is less than 0.05, then the detection results will only have low confidence, for example, when the spatial displacement distance is 500 μm in the experiment, the relative intensity of the water signal is only 0.023, and the intra-group correlation coefficient is only 0.316. Under such conditions, it is necessary to adjust the optical path or check whether the skin of the subject has damage, scars and other problems; if the relative intensity of the water signal is close to 0.10, you can judge that the optical path configuration at this time is basically qualified, only need further fine tuning to determine the best parameters, the empirical method can quickly and effectively filter the weak signal, strong background spectrum, improve the efficiency of the study.

It is proved that the experimental device can obtain a spectrum with good repeatability. The design of the fiber spectrometer and probe separation also meets the practical requirements, which is convenient for a large number of human body measurement experiments and has the potential to be transformed into medical devices. Indicating that the skin water content measured based on the spatial displacement Raman spectroscopy has high effectiveness and is expected to achieve convenient detection of the skin inner water content.

Key words: Spatially offset Raman spectroscopy; Skin moisture content; Noninvasive detection; Correspondence analysis; Interclass correlation coefficient

OCIS Codes: 300.6450; 170.1470; 170.3660