

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2024.06.015

## 扫描电镜及其联用技术在法医学中的应用

张楠 综述 张璐 审校

(中国刑事警察学院刑事科学技术学院, 沈阳 110854)

**摘要** 扫描电镜及其联用技术因其方法简单快捷、分辨率高、结果准确、检材用量少且不破坏检材等优点,在法医学的许多研究方向和工作中已经得到了广泛的应用,本文通过介绍运用扫描电镜及其联用技术进行死亡原因推断、死后间隔时间推断、致伤物的推断、生物物证检验、毒物分析等几个方面的应用,阐述了其在法医学领域中的研究现状和广阔的应用前景,希望能够为该技术在法医学中的更广泛应用提供参考。

**关键词** 扫描电镜;法医学鉴定;死亡原因;致伤物推断;生物物证

中图分类号:R89 文献标识码:B 文章编号:1000-9760(2024)12-529-04

### Application of scanning electron microscopy and its associated technology in forensic medicine

ZHANG Nan, ZHANG Lu

(College of Criminal Science and Technology, Criminal Investigation Police University of China, Shenyang 110854, China)

**Abstract** Scanning electron microscopy and its associated technology has been widely applied in various research fields and tasks in forensic medicine because of its simple and fast method, accurate and intuitive results, low sample loss and low detection cost. This paper introduces its research and application in the field of forensic medicine in several aspects such as estimation of cause of death, postmortem interval inference, estimation of the instrument causing the trauma, biological evidence analysis and toxicant analysis, and elaborates its current research status and broad prospects in the field of forensic medicine, aiming to provide a reference for the application of this technology in forensic medicine.

**Keywords:** Scanning electron microscopy; Forensic science; Cause of death; Estimation of the instrument causing the trauma; Biological evidences

扫描电镜<sup>[1]</sup> (Scanning Electron Microscope, SEM) 是一种现代化的分析仪器,在法医学中通过对各类生物物证的微观形态和结构的观察,可以提供关键证据和准确的分析结果,用于物证分析、案件重建和鉴定等方面。例如在鉴定溺死案件中,采用扫描电镜观察脏器中的硅藻,硅藻微细结构清晰、硅藻放大效果明显,利于硅藻种属的鉴定。扫描电镜与其他分析技术相结合,能够快速对微量物质的表面形态及成分差异进行分析,并且具有分辨率高、倍率连续可调、立体感强、结果准确、简单快捷、检材用量少且不破坏检材等优点,因此在法医学的许多研究方向和工作中得到了广泛的应用,被认为是适合分析多种生物物证的技术之一。

### 1 扫描电镜及其联用技术

扫描电镜是利用电子枪发射电子束经聚焦后在样品表面进行有序的光栅状扫描,被加速的入射电子与样品相互作用将激发出二次电子、背散射电子、吸收电子、俄歇电子、阴极荧光等各种信息,这些信号被相应的探测器检测后放大处理,输出到显示系统形成图像,从而对样品表面的形貌及结构等进行观察和分析。随着科学技术的发展,环境扫描电镜和其他类型的扫描电镜相继出现,同时扫描电镜还在向复合型、分析型方向发展,扫描电镜可以与多种分析技术联用,如扫描电镜可搭配 X 射线能谱分析仪<sup>[2]</sup> (Energy Dispersive X-ray spectrometer, EDX), X 射线能谱仪作为扫描电镜的附件,当电子枪发射的高能电子束轰击样品表面时,引起原子中电子轨道的跃迁并释放出具有一定能量的特征 X 射线,不同元素发出的特征 X 射线具有不同的能量,只要检测不同光子的能量,可以实现对目标区域的化学元素进

[基金项目]公安部刑事技术“双十计划”重点攻关任务(公刑侦(2023)4806号);公安部科技计划项目(2022YY09)

[通信作者]张璐, E-mail: zhangluzhaoyang@sohu.com

行定性、定量及分布等多功能分析,在爆炸、枪击、凶杀、交通事故等各类刑事案件中的物证检验中有较为广泛的应用。

## 2 扫描电镜及其联用技术在法医学中的应用

### 2.1 推断死亡原因

电击死的判定一直是法医学实践中的常见问题。鉴定电击死的传统方法是寻找电流斑等特征表现,再结合现场勘验、法医病理学检验和案情做出判断。但在低电压、环境潮湿等情况下可能不形成电流斑,对无明显电流斑、高度腐败尸体进行扫描电镜/X射线能谱分析(Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray spectrometer, SEM-EDX)可以辅助电击死的判断。Visonà 等<sup>[3]</sup>利用 SEM-EDX 对 5 例极有可能触电死亡的病例进行分析,观察皮肤表面的形态学超微结构特征和金属沉积物的存在,在所有病例均可见典型的触电皮肤损伤和检测到嵌入皮肤中的金属。对损伤皮肤表层及深层金属含量进行定性定量的检测,并与金属电极上的金属含量进行比对。该方法能在鉴定电流斑及电击死中提供较为准确、客观的依据。

电穿孔(Electroporation)系电流通过人体组织细胞时形成的特征性形态改变。Wang 等<sup>[4]</sup>利用扫描电镜观察无电流斑电击死动物的红细胞与血管内皮细胞,在电击后的红细胞、肺动脉及主动脉内皮细胞表面均可见电穿孔,穿孔直径 0.8~2.4 $\mu\text{m}$ ,提示细胞穿孔可以作为无明显电流斑电击死的一个诊断指标。Mondello 等<sup>[5]</sup>对一名可能死于意外触电的尸体进行了法医分析,使用 SEM-EDX 对电流斑进行微观分析,发现皮肤金属化且在肺动脉内皮表面发现电穿孔,检出电穿孔为电击死的诊断提供了新的思路,可以应用于法医学实践。

当今法医学界通常使用硅藻检验<sup>[6]</sup>来鉴定水中尸体的死亡原因及推断落水区域。因生前溺死者主动呼吸,硅藻进入人体循环到达全身各器官。而死后抛尸入水者,因无上述呼吸循环运动,硅藻可能进入呼吸道甚至肺,但无法进入人体循环,故通过对溺死和非溺死者体内硅藻量定性定量实验可以有效区分。苏会芳等<sup>[7]</sup>用微波消解—扫描电镜联用法和硝酸破机—光镜联用法对尸体的离体肺、肝、肾、骨髓组织及水样进行硅藻定性、定量检测,表明扫描电镜联用法对尸体离体组织脏器中的硅藻检出率更高。因为采用扫描电镜观察硅藻,硅藻微细结构更清晰、图像视野更大,对于小尺寸硅藻放大效果尤为明显,利于硅藻种属的鉴定,而光学显微镜因放大倍数的局限性,镜下观察细微纹理不够清晰。扫描电镜可与人工智能相结合进行数据自动分析。余丹媛等<sup>[8]</sup>对溺死尸体的肝、肾组织应用扫描电镜进行硅藻检验获得视场图片,分别在硅藻人工智能识别系统的不同阈值下进行硅藻检测,通过用硅藻召回率、查准率等参数来检测系统效能。扫描电镜自动扫描分析避免了光镜检测中逐个视野进行聚焦、观察的人工硅藻检测方式,大大

降低了劳动强度并且提高了检测结果的客观性,在法医学溺死鉴定中具有较好的应用价值。

### 2.2 推断死亡时间

死后间隔时间(Postmortem Interval, PMI)是指死亡发生时时刻起尸体所经历的时间。根据嗜尸昆虫的某些特定数据推断死亡时间是法医学中的重要研究内容,对在尸体内、尸体表面或尸体附近采集到的昆虫标本,用扫描电镜观察蝇卵的表面超微结构可以作为区分种属的依据,可以为相关案件提供有用的信息。Hore 等<sup>[9]</sup>首次报道了对灰蝶成年雄性和雌性触角感觉器形态的扫描电镜研究,在法医昆虫学中对更好地理解昆虫形态具有深远的意义。王启燕等<sup>[10]</sup>通过扫描电镜观察大头金蝇卵与巨尾阿丽蝇卵表面的超微结构及不同发育时期的结构变化,得出在不同发育阶段其形态结构变化存在一定规律,并且观察蝇卵形态的变化可以判定蝇卵的发育阶段。现有实验结果证明扫描电镜可以作为鉴别不同蝇种和法医学推断 PMI 的有效工具。

### 2.3 致伤物的推断

致伤物的推断一直是法医学中的重要内容,但致伤物推断多停留在形态学检验水平,对人体创口微量遗留物研究较少,不能实现致伤物的种类推断和同一认定。Rancati 等<sup>[11]</sup>报告的一起使用假肢造成阴道内致命伤害的案例,使用扫描电镜观察到被检阴道组织中有微小的木屑碎片,并在假肢上检验出该妇女的血液物质,故确定该假肢是作案工具,为案件的侦破提供了关键证据。同时在一些骨损伤中,利用扫描电镜可以在微观层次中细致的观察损伤特征。Nogueira 等<sup>[12]</sup>利用扫描电镜检查了斧头对人类骨骼产生的损伤,并对砍伤骨的宏观和微观特征进行比较,确定了斧砍骨损伤的一个具体的标准,即侧向推移、碎片隆起、骨边缘凹窝和垂直条纹。在解剖学中,“false starts bones”指的是法医在使用解剖锯切割骨头时,可能会意外导致切口的深度不符合预期或不完整,这种情况可能会与犯罪分尸者制造的切口混淆。Bernardi 等<sup>[13]</sup>在肢解案件中通过扫描电镜检查骨中的锯痕切口壁的磨损特征进行锯痕分析,比较了 20 个此类损伤的特征。从而得出关于死后肢解中使用的锯的类别特征的重要信息,通过在锯痕切口壁和轮廓形状、条纹、骨岛和骨碎片中得出损伤的主要差异可用于区分损伤性质。综合上述文献,SEM-EDX 在致伤工具推断中能够快速、准确、科学的提供相关信息。

### 2.4 生物物证检验

生物物证是指能够证明案件事实的,来源于人类、动植物,以及其他一切生物体的物质,包括血液(斑)、精液(斑)、牙齿、骨骼等。为了毁尸灭迹,嫌疑人常见的会使用盐酸破坏人体遗骸。Jones 等<sup>[14]</sup>利用扫描电镜对浸泡在盐酸(HCL, 38%)中的未成熟人恒磨牙进行分析,研究由于盐酸浸泡引起未成熟白齿物理变化的时间和性质规律,可以帮助评估遭受破坏的牙齿组织的年龄。对于牙齿个人识别的最新研究中, Singroha 等<sup>[15]</sup>通过扫描电镜确定釉质印迹

的表达是牙冠表面釉柱结构差异的直接结果,评估釉质印痕(类似于指纹)及其图案作为识别个体特征工具的可行性、再现性和识别范围,可用于犯罪现场和灾难现场的牙齿物证鉴定的管理、检验和评价。火灾调查中,对焚烧的牙齿进行物理、组织学和超微结构检查有助于推断火灾的原因以及受害者的识别。Swamy 等<sup>[16]</sup>通过扫描电镜对焚烧牙齿的超微结构进行初步分析,评估在不同温度下逐渐加热时,新拔出的牙齿的物理和超微结构变化,这些变化在特定温度(100℃、300℃和 600℃)下明显可见。这一结果表明侦查人员可以根据牙齿状况来确定焚烧温度。

在一些碎尸案件中,由于骨骼碎小,损毁重,难以与其他动物骨骼区分开,李永久等<sup>[17]</sup>利用扫描电镜进行骨骼种属鉴定,通过哈氏系统的形态学特征区分人骨与其他动物骨骼,在 32 份检材中经扫描电镜检验确认出其中 9 份碎骨块存在人类骨骼哈氏系统结构,大大减少了后续 DNA<sup>[18]</sup>检验的工作量,此方法适用于陈旧碎骨 DNA 的快速检验。在性侵案件中,需要在女性内生殖器中检查是否存留精子,却多数没有考虑精液在皮肤上外部沉积的机会。Gibelli 等<sup>[19]</sup>为探究精子在人体皮肤上的持久性,使用扫描电镜来分析腐烂皮肤样本,以测试其检测精子的持久性,结果显示 12d 后光学显微镜未能检测到精子,而扫描电镜分析显示精子在 84d 后仍然可见。结果表明了精子结构的持久性,得出扫描电镜技术在检测皮肤残留精液中的良好应用。Madkour 等<sup>[20]</sup>通过使用扫描电镜对 7 种不同动物鼻腔皮肤进行法医学鉴定,记录了每种动物鼻腔皮肤的特殊差异特征,扫描电镜为识别动物物种提供一种新的方法,同时在法医调查中可以发挥重要提示作用。

## 2.5 毒物分析

中毒案件中,为提高检验效率和准确率可采用多种仪器相结合的方法。孙振文等<sup>[21]</sup>在卤水中毒案件中取红外灯下析出的白色晶体进行扫描电镜/能谱法分析,检出 Mg、Cl、O 元素,分析应为氯化镁、高氯酸镁等,但仍需用离子色谱法进行进一步确证,扫描电镜与多种仪器联用将会获得更多的信息。王力春等<sup>[22]</sup>采用 SEM/EDX 和离子色谱联合分析方法对死者生前喝过的瓶装液体进行能谱和离子色谱检验,均检出了氟离子,且心血中氟离子的含量远超致死浓度,判断死者是口服氢氟酸中毒致死。和以前的毒物分析方法相比,此方法只需要对样品进行简单的处理,而且用量少且不破坏检材,故扫描电镜联用技术在未来的毒物分析检测中一定会变得越来越重要。

## 3 展望

扫描电镜及其联用技术未来在法医学中有着更加广阔的应用前景。首先,扫描电镜可以与多种新仪器技术联用从而开发更多的功能区,即多样化的分析能力,将从各类物证中得到更多的信息。其次,扫描电镜未来可以与其他成像技术相结合,如热红外成像等,即通过不同的成像传感

方法来捕获数据,得到更全面、多维度的样品表征。扫描电镜未来在法庭科学中的应用会更加注重标准化和数据共享,此外扫描电镜与人工智能联用并通过深度学习等技术,不断提高数据模型的准确性,提取有用信息来做出决策,进而实现数据分析的智能化,也是该技术未来的发展方向之一。扫描电镜与 AI 自动分析技术联用将会大大提高工作效率和结果的可靠性,降低劳动强度和人工成本,在未来公安实战工作中有良好的应用价值。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

## 参考文献:

- [1] 余凌竹,鲁建.扫描电镜的基本原理及应用[J].实验科学与技术,2019,17(5):85-93. DOI:10.3969/j.issn.1672-4550.2019.05.019.
- [2] 柴晓燕,米宏伟,何传新.扫描电子显微镜及 X 射线能谱仪的原理与维护[J].自动化与仪器仪表,2018(3):192-194. DOI:10.14016/j.cnki.1001-9227.2018.03.192.
- [3] Visonù SD,Chen Y,Bernardi P,et al. Diagnosis of electrocution: the application of scanning electron microscope and energy-dispersive X-ray spectroscopy in five cases [J]. Forensic Sci Int, 2018,284:107-116. DOI:10.1016/j.foresciint.2018.01.001.
- [4] Wang Y,Yang L,Cheng W,et al. Scanning electron microscopic observation of erythrocytes and endothelial cells of electrified death rabbits[J]. Leg Med (Tokyo),2009,11(Suppl 1):S244-S247. DOI:10.1016/j.legalmed.2009.01.097.
- [5] Mondello C,Micali A,Cardia L,et al. Forensic tools for the diagnosis of electrocution death:case study and literature review[J]. Med Leg J, 2018, 86(2):89-93. DOI:10.1177/0025817217749503.
- [6] 刘萌妍,赵伟,赵怡.硅藻检验方法及其在法医学溺死诊断中的应用现状[J].刑事技术,2019,44(4):343-346. DOI:10.16467/j.1008-3650.2019.04.013.
- [7] 苏会芳,刘超,胡孙林,等.微波消解-扫描电镜联用法在溺死诊断中的应用[J].中国法医学杂志,2012,27(2):97-100+107. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2012.02.002.
- [8] 余丹媛,刘景建,刘超,等.基于扫描电子显微镜硅藻人工智能搜索系统检验效能评估[J].法医学杂志,2022,38(1):40-45. DOI:10.12116/j.issn.1004-5619.2021.410719.
- [9] Hore G, Maity A, Naskar A, et al. Scanning electron microscopic studies on antenna of hemipyrellia ligurriens (Wiedemann, 1830) (Diptera: Calliphoridae)-a blow fly species of forensic importance [J]. Acta Trop, 2017, 172:20-28. DOI:10.1016/j.actatropica.2017.04.005.
- [10] 王启燕,张红玲,刘玉波,等.电镜下两种嗜尸性蝇卵表面超微结构及不同发育时期的结构变化[J].贵州医科大学学报,2017,42(12):1375-1378. DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.12.003.
- [11] Rancati A, Crudele GD, Gentile G, et al. The case of a prosthetic limb used to cause lethal intravaginal injuries: forensic medical aspects in a case of intimate partner violence [J]. Forensic Sci

- Int, 2014, 234: e21-e24. DOI: 10. 1016/j. forsciint. 2013. 10. 030.
- [12] Nogueira L, Quatrehomme G, Bertrand MF, et al. Comparison of macroscopic and microscopic (stereomicroscopy and scanning electron microscopy) features of bone lesions due to hatchet hacking trauma[J]. Int J Legal Med, 2017, 131(2): 465-472. DOI: 10. 1007/s00414-016-1522-1.
- [13] Bernardi C, Nogueira L, Orange F, et al. The stereomicroscope and scanning electron microscope comparison of false starts bones produced by an oscillating autopsy saw[J]. Forensic Sci Int, 2021, 324: 110816. DOI: 10. 1016/j. forsciint. 2021. 110816.
- [14] Jones CA, Bracewell T. Scanning electron microscopy (SEM) and macroscopic analysis of immature human permanent molar immersion in hydrochloric acid (HCL, 38%) [J]. J Forensic Leg Med, 2022, 90: 102385. DOI: 10. 1016/j. jflm. 2022. 102385.
- [15] Singroha K, Banerjee A, Kamath VV, et al. Scanning electron microscope corroboration of ameloglyphics-a new tool in forensic odontology[J]. Int J Appl Basic Med Res, 2020, 10(2): 76-80. DOI: 10. 4103/ijabmr. IJABMR\_39\_19.
- [16] Swamy SR, Dorankula SP, Muddana K. Ultrastructural analysis of incinerated teeth by scanning electron microscope-a short study [J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(7): ZC08-11. DOI: 10. 7860/JCDR/2016/18130. 8101.
- [17] 李永久, 郭磊, 乔婷, 等. 陈旧碎骨组织 DNA 检验[J]. 刑事技术, 2017, 42(3): 257-258. DOI: 10. 16467/j. 1008-3650. 2017. 03. 021.
- [18] 侯秀迪, 马莉, 侯森, 等. 联合应用常染色体 STR, X-STR 和线粒体 SNP 鉴别姨甥关系[J]. 济宁医学院学报, 2023, 46(5): 345-348. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2023. 05. 009.
- [19] Gibelli D, Mazzarelli D, Rizzi A, et al. Persistence of spermatozoa on decomposing human skin: a scanning electron microscopy study [J]. Int J Legal Med, 2013, 127(5): 975-979. DOI: 10. 1007/s00414-013-0817-8.
- [20] Madkour FA, Abdelsabour-Khalaf M. Scanning electron microscopy of the nasal skin in different animal species as a method for forensic identification[J]. Microsc Res Tech, 2022, 85(5): 1643-1653. DOI: 10. 1002/jemt. 24024.
- [21] 孙振文, 冷冷, 李胜林, 等. 卤水中毒案件物证检验 1 例[J]. 中国法医学杂志, 2020, 35(1): 93-94, 97. DOI: 10. 13618/j. issn. 1001-5728. 2020. 01. 022.
- [22] 王力春, 鲁蕴甜, 马健, 等. 采用扫描电镜/能谱和离子色谱联合分析方法检验氢氟酸中毒[J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(z1): 16-18. DOI: 10. 13618/j. issn. 1001-5728. 2017. S1. 007.

(收稿日期 2022-11-02)

(本文编辑:石俊强)

## 本刊对来稿中缩略语的书写要求

在本刊发表的学术论文中,文题原则上不能使用缩略语,文中尽量少使用缩略语。已被公知公认的缩略语在摘要和正文中可不加注释直接使用;不常用的和尚未被公认的缩略语以及原词过长、在文中多次出现者,若为中文缩略语可于文中第一次出现时写明全称,在圆括号内写缩略语,如:流行性脑脊髓膜炎(流脑);若为英文缩略语可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出英文全称及其缩略语,如遗传性压力易感性周围神经病(hereditary neuropathy with liability to pressure palsies, HNPP)。若该缩略语已经公知,也可不注出其英文全称。不超过 4 个汉字的名词不宜使用缩略语以免影响论文的可读性。

本刊编辑部