

# 以藍色中性筆之染料墨水 鑑定說明拉曼光譜 於刑事鑑識上之應用

何彥承 / 新北市政府警察局刑事鑑識中心警務正

## 摘要

近年來拉曼光譜 (Raman Spectroscopy, RS) 分析法已逐漸成為熱門鑑定方法之一，其主要原因在於分析時間快速、非破壞性及不需要樣品前處理或是僅需些微樣品處理即可獲得有用、可靠之拉曼光譜圖來進行樣品鑑定工作。本文就拉曼光譜發展歷史、作用機制及常見應用技術加以介紹，並以藍色中性筆之染料墨水鑑定為例說明於刑事鑑識上之應用，以提供實務單位鑑識人員另一種快速分析之鑑定工具。



## 關鍵詞

拉曼光譜法、刑事鑑識、染料墨水、可攜式拉曼光譜儀



## 一、前言

近年來拉曼光譜分析法已逐漸成為刑事鑑識上熱門鑑定方法之一，由於可分析證物之種類不受限於特定形態，凡舉液體、固體、水溶液等樣品皆可進行鑑定分析，若樣品置於透明塑膠夾鏈袋（如毒品殘渣袋）或是透明塑膠（玻璃）瓶罐內亦可直接進行分析不須採樣，而此分析法興起之主要原因在於分析時間快速、非破壞性及不需要樣品前處理或是僅需些微樣品處理即可獲得有用、可靠之拉曼光譜圖來進行樣品鑑定工作。本文主要可分為兩部分，第一部分介紹拉曼光譜之原理及常見之應用技術，第二部分則介紹於以藍色中性筆之染料墨水鑑定為例說明於刑事鑑識上之應用。

## 二、拉曼光譜原理及常見應用技術介紹

### （一）拉曼光譜簡介<sup>(1)</sup>

拉曼光譜為分子光譜之一種形式，主要是提供分子間轉動或震動能階能量(頻率)改變之相關資訊，來進行物證鑑定。拉曼光譜於1928年由印度物理學家拉曼爵士（Sir C. V. Raman）首度提出此一現象，他是把太陽光作為光源，並利用望遠鏡與自行研發之透鏡組來收集太陽光照色物體後所散射出來的散射光，他發現有極小部分之散射光頻率(能量)與大部分之散射光頻率(能量)有所不同，此差異性會因所觀察之樣品不同而改變，故此現象為拉曼光譜之基礎原理，並將該現象稱為「拉曼效應」（Raman Effect）。當時所發現「拉曼效應」由於訊號微弱，不易觀察，故於當時並未受到重視與普及。直到1980年代，一些革命性的技術與產品逐漸導入拉曼光譜儀中，使得其普及率與重視度大幅提升，相關介紹說明如下：

1. 雷射光（LASER）：將雷射光作為激發樣品之光源，提供了高能量與單色之入射光，可大幅提升拉曼訊號，以降低觀察訊號之困難度。

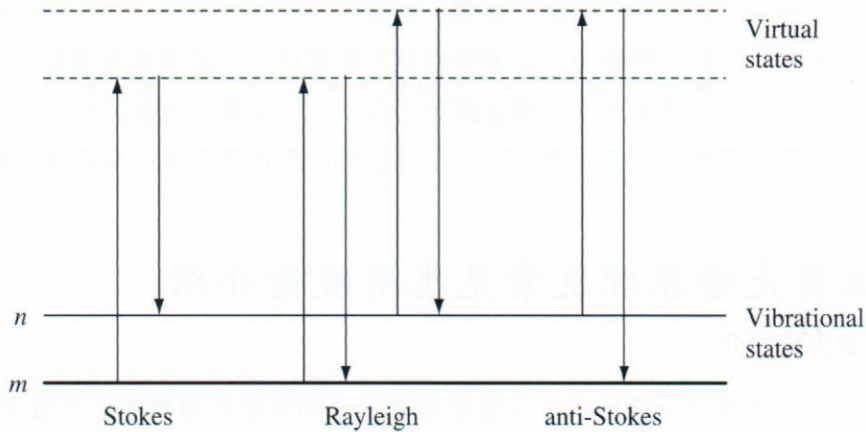
2. Holographic Notch Filters：此設計發明為簡化拉曼光譜儀器裝置之重要因素，以往拉曼光譜儀常因其設計複雜、儀器體積巨大等問題，而降低研究人員使用之意願，本設計為透過簡單的透鏡組與濾鏡組合，即可過濾雜訊及瑞利散射（Rayleigh scattering），純化拉曼光譜並且可使全部之拉曼訊號通過，使其訊號增強。

3. Charge Coupled Devices（CCDs）：目前儀器中最常見之偵測器型式之一，其優點在於靈敏度高，可偵測訊號微弱之拉曼訊號。

### （二）拉曼光譜機制<sup>(1)</sup>

拉曼光譜係以雷射作為激發光源，當樣品受到雷射照射(激發)時物體產生散射，大部分光子產生彈性碰撞，亦即能量(頻率)無損失，此可稱為瑞利散射（Rayleigh scattering），少部分光子產生非彈性碰撞，亦即光子能量（頻率）改變，若其能量（頻率）減少的话，此部分稱

為Stokes scattering，反之能量（頻率）增加的話，則稱為anti-Stokes scattering，其能量改變之程度與各分子間之震動/轉動能量有關，故可作為樣品之分析工具，圖一為Rayleigh scattering、Stokes scattering與anti-Stokes scattering之間能階關係<sup>1</sup>。



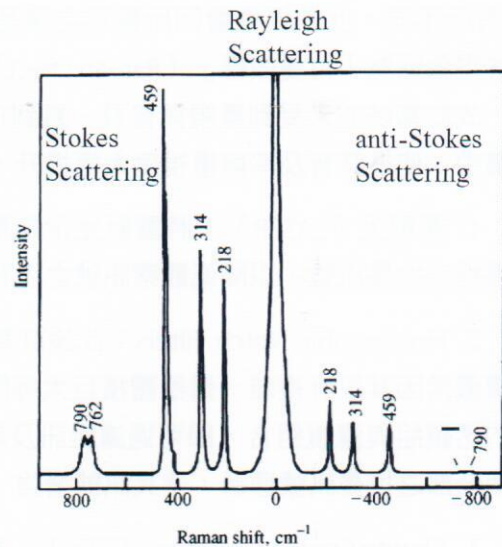
圖一、Rayleigh scattering、Stokes scattering與anti-Stokes scattering之能階關係<sup>(1)</sup>

根據熱力學平衡原理，在常溫下位於低能階之分子數目會比位於高能階狀態之分子數目來得多，因此通常Stokes scattering之訊號強度會比anti-Stokes scattering來的高，故一般而言，目前現階段所設計之儀器皆以觀察、記錄Stokes scattering部分之拉曼訊號為主，圖二為四氯化碳（ $\text{CCl}_4$ ）Stokes scattering與anti-Stokes scattering之訊號強度關係圖<sup>(2)</sup>。

### （三）拉曼光譜儀介紹

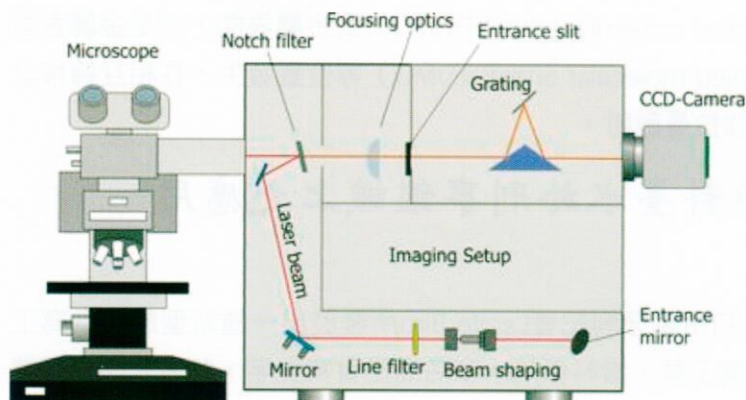
一般市售常見的顯微拉曼光譜儀可分為兩大部分，分別為顯微鏡與拉曼光譜儀，而拉曼光譜儀主要由雷射、光譜儀及偵測器等部分組成。操作模式係將微量樣品放置於顯微鏡之載物台上，而雷射光束（激發光源）

（目前常用之雷射波長為514 nm、632 nm、785 nm及1064 nm）由拉曼光譜儀中導出經由接物鏡照射在樣品上，樣品散射出拉曼訊號後經由接物鏡收集拉曼訊號，再導入通過光譜儀及偵測器後，記錄樣品之拉曼訊號，圖三為典型顯微拉曼光譜之操作模式圖<sup>(3)</sup>。



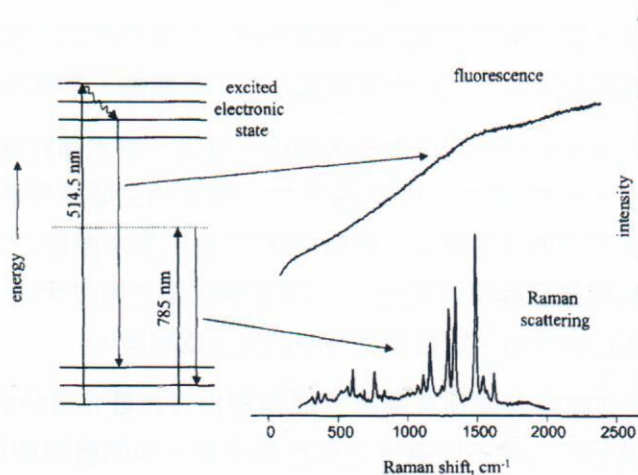
圖二、四氯化碳（ $\text{CCl}_4$ ）Stokes scattering與anti-Stokes scattering之訊號強度關係圖<sup>(2)</sup>





圖三、典型顯微拉曼光譜之操作模式圖 (3)

之挑戰，常用之方式有去除可產生螢光效應之物質、使用短波長（如 224nm）或長波長雷射進行激發（785 nm 或 1064 nm）及使用表面增強拉曼光譜法（Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS），圖四為使用 785 nm 雷射進行拉曼光譜分析，以克服樣品產生螢光效應之例子。



圖四、使用785 nm雷射進行拉曼光譜分析，以克服樣品產生之螢光效應 (4)

表面增強拉曼光譜法（SERS），為目前常見克服螢光效應方法之一，此方法能增強拉曼訊號強度至少達到 $10^{(6)}$ 倍，從而克服樣品所產生之螢光效應。一般常用方式之一為利用分析物吸附於一含金、銀或銅奈米金屬粒子之粗糙表面上，當金屬奈米粒子與分析物極為靠近時（約 2nm），受到雷射光源激發時可產生拉曼訊號之增強作用。由於SERS之作用機制尚未明確，目前較受大眾接受解釋學說有兩點：分別為電磁增強理論（Electromagnetic Enhancement Theory）與化學增強理論（Chemical Enhancement Theory）。電磁增強理論主要發生於分析物與金屬奈米粒子表面電漿震盪之間，若該金屬粒子為平坦表面時，當有一入射光（如雷射）照射該表面，電漿震盪平行於表面並會以熱形式散失而不會發生SERS現象；若於粗糙之金屬表面上，則電漿震盪模式當會有垂直方式之震盪，此有助於增強拉曼光譜與吸收入射光能量之作用。一般而言所有之SERS應效應皆可以電磁增強理論來解釋，然而有些分子如CO與N<sub>2</sub>但卻有SERS現象，此則可以用化學增強理論來說明，其發生之位置則位於分析物之共價鍵與金屬表面結合過程

#### （四）拉曼光譜常見應用技術 (1,2,4)

部分樣品於分析過程中會產生螢光效應，此螢光效應訊號因非常強烈，會遮蔽樣品之拉曼訊號，導致無法獲得拉曼光譜進行樣品分析，因此如何有效去除螢光效應進而獲得樣品之光譜將是進行拉曼光譜分析時所面臨



中，由高占領分子軌域（highest occupied molecular orbital, HOMO）到金屬表面，或是金屬表面到低未占領分子軌域（lowest unoccupied molecular orbital, LUMO）等位置發生，在相互轉移之過程中會改變分子之偏極化，進而增強拉曼散射。

### 三、拉曼光譜分析染料墨水於刑事鑑識上之應用

#### （一）文獻回顧

原子筆之發明，可回溯至20世紀初由匈牙利記者Laszlo Biro所發展出一種新型態之書寫工具，其作用方式可別於當時流行之書寫工具，當時係沾水筆沾油墨書寫文字，此方式因油墨攜帶不便，而且墨水常因保存不慎而乾硬無法使用，Laszlo Biro所發展出之書寫工具，係將油性膠質染料墨水注入一個圓形管狀物中（亦即筆管）其尖端放入一大約1mm之滾珠，利用重力原理，當運用筆管滾動尖端滾珠時，其筆桿內之墨水便會順勢流出並在書寫材料上留下墨跡，此類型之筆即為現在大家常見之原子筆雛型，亦稱為Biro pen<sup>(5)</sup>。

原子筆組成可分為三大部分，筆尖、墨水儲存器與筆桿。一般而言，原子筆墨水分別由媒介物、染料/顏料、樹脂/聚合物。媒介物主要是作為溶解染料/顏料之物質，或是幫助顏料/染料能流順地通過筆尖；顏料/染料為提供墨水顏色之主要成分；樹脂/聚合物主要作用為使墨水較黏稠並且具有延展性<sup>(6)</sup>。以刑事鑑識之角度來說，鑑識人員較感興趣之部分為如何分辨相同顏色之墨水，以追溯其可能之來源或廠牌。

2000年英國研究團隊<sup>(7)</sup>首度提出以拉曼光譜分析墨水之研究，他們以使用514nm和782nm雷射分析12種不同廠牌之黑色原子筆，他們發現使用50倍之接物鏡進行分析可避免紙張（基質）之影響，另外使用782nm雷射較優於514nm之原因在於其產生較少之螢光效應，故較適用於墨水分析。2005年瑞士研究學者8利用拉曼光譜分析分析55種不同種類之藍色原子筆，他們研究發現以甲醇溶解試驗，可將樣品分類為兩大類，其一是甲醇可溶解之樣品係屬於染料藍色墨水（Dye-based ink），反之不溶解者為顏料墨水，而染料墨水之樣品不論是以514.5 nm或830nm雷射進行分析皆因產生強烈螢光效應而無法鑑別其不同，而顏料墨水之樣品則可獲得之鑑別力（Discriminating Power, DP）分別為0.62與0.55，另綜合此二雷射之結論其DP值可提高至0.68，因此建議拉曼光譜適合分析顏料墨水之原子筆，並且利用兩種不同波長之拉曼光譜進行分析，以提高其鑑別力。所謂鑑別力(DP)可定義為可分辨樣品數之組別數與總樣品數之組別數間之比值<sup>(8,9)</sup>，其公式如下列：

$$\text{Discriminating Power} = \frac{\text{Number of Discriminated pairs}}{\text{Total Number of Sample pairs}}$$

此數值可提供分析方法辨別樣品間不同之參考數值，亦即鑑別力越高（最高值為1.0）即代表此種分析方法辨別樣品間不同之能力越強，因此刑事鑑識上常作為評估該鑑定方法可行性之

重要參考數值。

近年來，SERS技術已成為去除螢光效應之熱門方式，英國研究團隊<sup>(10)</sup>比較墨水分析之常用技術包含薄層層析法（Thin layer chromatography, TLC）、影像光譜比對儀（Video spectral comparison, VSC）、拉曼光譜（Raman Spectroscopy, RS）及表面增強拉曼光譜法(SERS)之優劣，每種方法皆分析不同廠牌之11種藍筆與15種黑筆，結果發現TLC針對染料墨水之樣品能有效的鑑別各樣品間之不同，然而卻不適用於顏料墨水之樣品，其原因在於顏料墨水無法溶於溶劑中，故無法進行TLC方式分析。VSC之鑑別力約為0.56（藍筆）及0.68（黑筆），然而效果最佳之分析結果為RS加上SERS之分析方式，因為RS方法適用於顏料墨水之樣品，而SERS適用於染料墨水之樣品，能有效互補其之間不足之處。

本研究針對13種藍色中性筆以拉曼光譜分析，期能區別其不同，表一為樣品廠牌與購買國家。

表一、13種藍色中性筆之廠牌、購買地與甲醇溶解試驗結果。

樣品編號	廠牌	購買地	甲醇溶解試驗	染料或顏料
1	Pentel Ball	U.K.	Y	Dyes
2	Pentel Energel	U.K.	Y	Dyes
3	Pilot G-1 0.7	U.K.	Y	Dyes
4	Pilot G-2 0.5	U.K.	Y	Dyes
5	Pilot V7	U.K.	Y	Dyes
6	Staedeler Silver Ball	U.K.	Y	Dyes
7	Zebra Z-Grip	U.K.	Y	Dyes
8	Pentel Energel 0.5	Taiwan	Y	Dyes
8	Pilot G-2 0.5	Taiwan	Y	Dyes
10	Zebra Surari 0.5	Taiwan	Y	Dyes
11	Pilot Acroball 0.7	Taiwan	Y	Dyes
12	Pilot Super grip (F)	Taiwan	Y	Dyes
13	Pilot G-2 0.5	Singapore	Y	Dyes

## （二）實驗方法

### 1. 樣品備製

將13種藍色中性筆樣品分別畫長約10公分之直線於標準80 gsm白色A4列印紙上，並於室溫中靜置2周以上，確保墨水中之溶劑揮發完全。



## 2. 分析儀器

將樣品直接置於顯微拉曼光譜儀之載物台上，並以Jobin-Yvon LabRam HR 800 Raman Microscop配合633 nm雷射並使用50倍之接物鏡觀察樣品與分析，光譜累積時間約30秒至60秒間，視樣品情況而定。

## 3. SERS技術

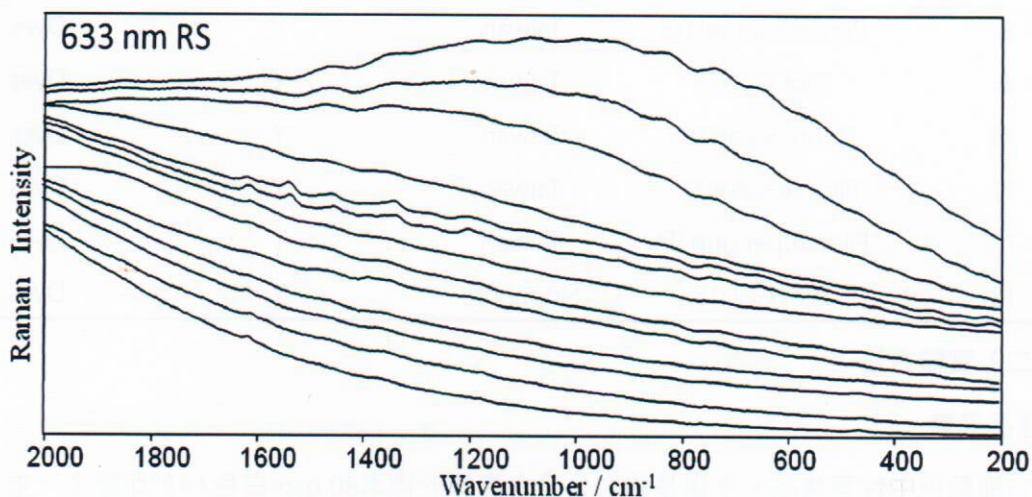
使用英國女皇大學貝爾實驗室<sup>(11)</sup>所開發之聚合薄膜〔其內含有Citrate Reduced Silver Colloid (CRSC)〕當作SERS之膠體金屬粒子，將1mm<sup>2</sup>聚合薄膜放置於分析物上，並加入20 μl 之30% 甲醇後分析並收集SERS光譜，光譜累積時間約30秒至60秒間，視樣品情況而定。圖五為本研究之顯微拉曼光譜儀外觀與使用聚合薄膜之SERS技術示意圖。



圖五、Jobin-Yvon LabRam HR 800 Raman microscope (左)、聚合薄膜外觀(中)與使用聚合薄膜之SERS技術示意圖(右)。

## (三) 分析結果

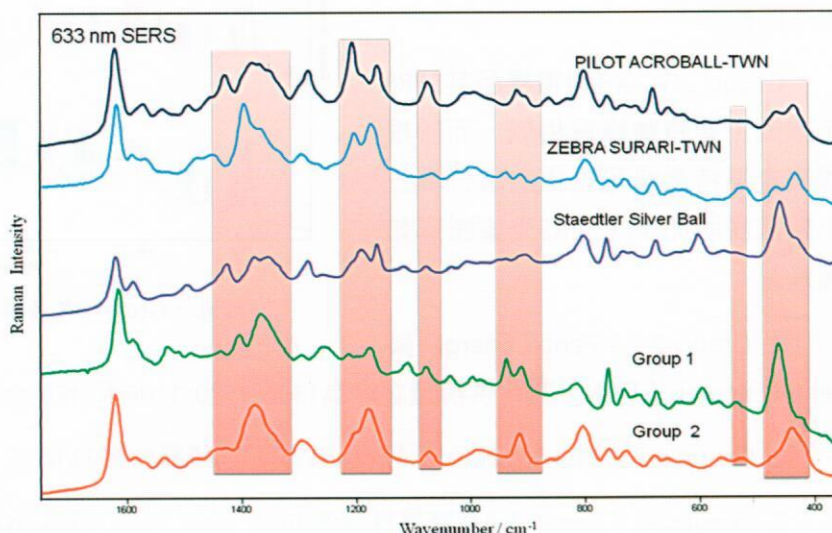
13種染料墨水之樣品經以633nm 拉曼光譜分析後發現，均有強烈之螢光效應故無法獲得可判別之拉曼光譜圖，圖六為13種樣品之633nm 拉曼光譜圖。



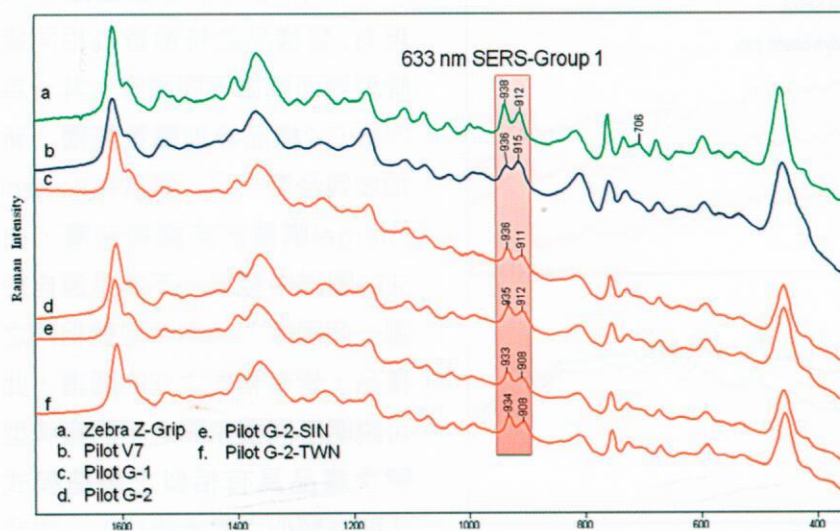
圖六、13種樣品之633nm拉曼光譜圖

由於圖六可知，所有染料墨水樣品無法獲得有效之拉曼光譜圖可供分析，故將所有樣品以SERS技術分析，期能獲得可供分析之光譜圖。由於染料墨水易溶於甲醇中，造成樣品線條因溶解於甲醇中而消失。故本階段使用30%之甲醇溶液，其目的在於讓染料部分溶解於甲醇中並吸收進入薄膜內之膠體中，以達到進行SERS之條件，而樣品線條亦可保留於紙張上不被甲醇完全洗去，且可供日後分析所用。

使用SERS技術後發現，13種染料墨水皆可獲得可供分析之拉曼光譜圖，因其拉曼光譜圖主要特異性峰有所不同，故可加以分類為3種特異性染料墨水與2大類類別，分別為Group 1含有6項樣品與Group 2含有4項樣品。圖七為種特異性染料墨水樣品與2大類類別樣品之633nm SERS光譜圖。



圖七、3種特異性染料墨水樣品與2大類類別樣品之633nm SERS光譜圖  
(紅色標記處為特異性峰不同之處)



圖八、Group 1之各樣品間之SERS光譜圖比較

於其他樣品中。

Group 1中含有6項樣品其SERS光譜圖主要特徵峰皆相似，而於根據其次要特徵峰可再樣品區分為三小類其說明如下（SERS光譜圖詳如圖八）：

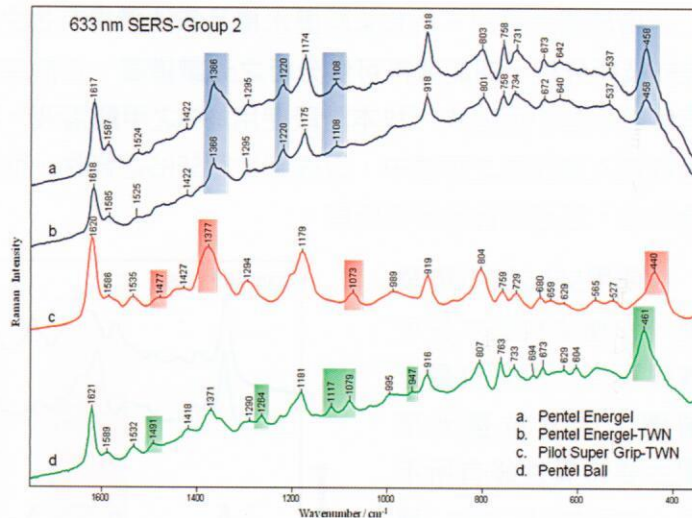
1.Group 1-1：Pilot V7 樣品於936  $\text{cm}^{-1}$ 峰強度小於915  $\text{cm}^{-1}$ 。

2.Group 1-2：Zebra Z-Grip樣品於706  $\text{cm}^{-1}$ 有一特異性峰，此峰未見



3. Group 1-3 : Pilot G-1 與 3種購置於不同國家之Pilot G-2 樣品其936  $\text{cm}^{-1}$ 峰強度皆強於915  $\text{cm}^{-1}$ ，而3種購置於不同國家之Pilot G-2 樣品之光譜圖幾乎相似，唯一不同的是其源自於不同國家。

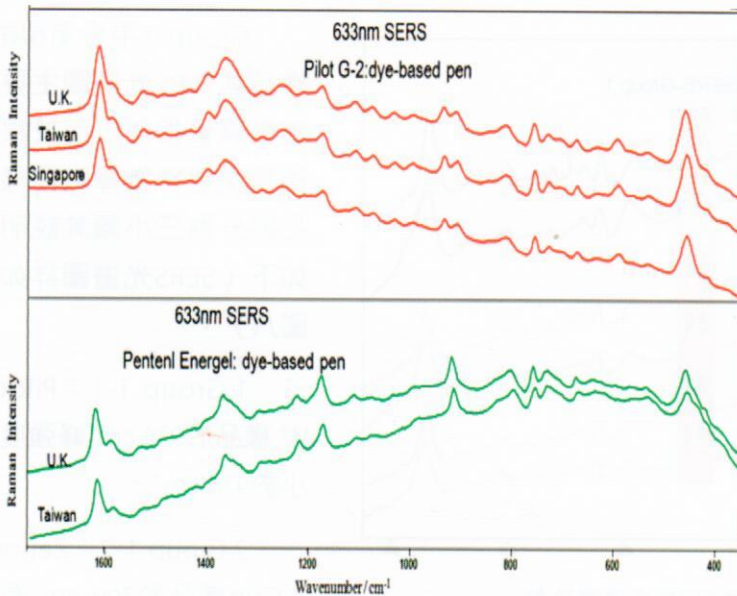
Group 2中 含有4項樣品其SERS光譜圖主要特徵峰皆相似，而於根據其次要特徵峰可再樣品區分為三小類其說明如下（SERS光譜圖詳如圖九）：



圖九、Group 2之各樣品間之SERS光譜圖比較

1. Group 2-1 : Pentel Energel 與 Pentel Energel (TWN) 其可供辨識之峰為1366, 1220, 1108 和 458  $\text{cm}^{-1}$ 等峰。
2. Group 2-2 : Pilot Super Grip (from TWN) 其特異性峰為1477, 1377, 1073和440  $\text{cm}^{-1}$ 。
3. Group 2-3 : Pentel Ball其特異性峰為1491, 1264, 1117, 1079, 947和461  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### (四) 同廠牌不同國家購買之樣品比較



圖十、相同廠牌購自不同國家樣品之633nm SERS光譜圖

不同國家樣品之633nm SERS圖。

本研究所收集之樣品中發現有2類樣品之特徵皆為相同廠牌型號而購自不同國家，其一為Pilot G-2樣品分別購置英國、新加坡與台灣，另一廠牌為Pentel Energel購置於英國與台灣，由SERS圖譜中發現，不論是源自於哪一個國家，其廠牌型號相同之樣品，皆有相同之SERS圖譜，此可說明不同國家間之相同廠牌型號之樣品具有相似之製造模式（即有類似之墨水組成），亦或於同一國家製造後再運送至其他國家販賣。圖十為相同廠牌購自



### (五) 各廠牌樣品間之比較

表二樣品廠牌與分類之關係表中可發現，相同廠牌但不同型號之樣品，其因SERS圖譜有所不同，故分類至不同類別中，而不同廠牌中亦有分類至相同類別之中。以Pilot系列為例，有Pilot V7、Pilot G-1、Pilot G-2分類於Group 1中，但Pilot Acroball (TWN) 則屬於Unique 1；而於Group 1中也有其他廠牌之樣品如Zebra Z-Grip。又以Pentel系列而言，其Pentel Energel與Pentel Ball樣品皆分類於Group 2中，但於Group 2中又含有Pilot Super Grip (TWN) 樣品。故由此可知，樣品之廠牌與其分類別並不盡然相同，亦即相同廠牌不一定分類至同一類別，其原因在於可能含有不同之墨水組成，因為製造商可能會使用不同之墨水組成來製造不同型號之中性筆，因此進行墨水分析時應著重於樣品間之墨水組成而非其廠牌型號。

表二、樣品廠牌與分類之關係

Dye-based Ink				
Group 1	Group 2	Unique 1	Unique 3	Unique 2
Pilot V7	Pentel Energel	Pilot Acroball (TWN)	Staedtler Silver Ball	Zebra Surari (TWN)
Pilot G-1	Pentel Energel (TWN)			
Pilot G-2	Pentel Ball			
Pilot G-2 (TWN)	Pilot Super Grip (TWN)			
Pilot G-2 (SIN)				
Zebra Z-Grip				

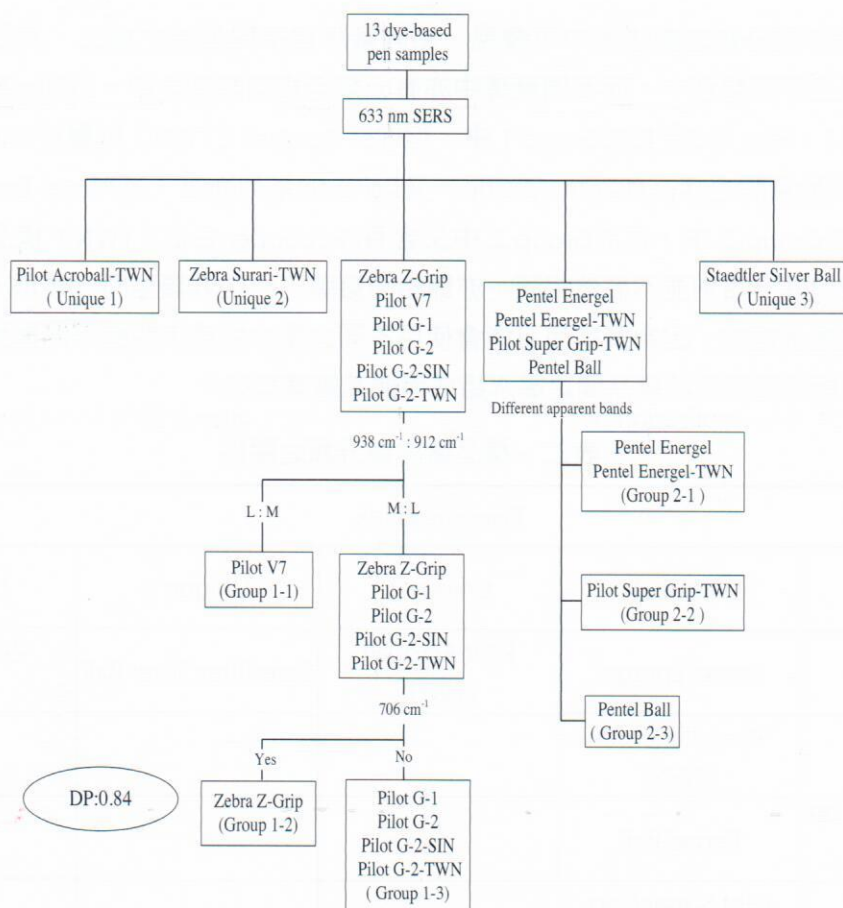
備註：TWN即購自Taiwan、SIN即購自Singapore、未註明之樣品即購自U.K.

### (六) 結果與討論

本研究所收集之13種染料墨水中經使用SERS技術後均可獲得清晰可辨識之SERS光譜圖，根據其主要特異性譜峰之不同可區分為3種特異性之染料墨水與2大類之樣品，在將此2大類之樣品中次要特異性峰加以區別個可分為7小類，利用此分類結果加以計算其鑑別力 (Discriminating Power) 為0.84，由上述實驗結果發現同一廠牌型號購置不同國家之樣品，其SERS光譜皆為相同 (亦即墨水組成相同)，故將此類樣品視為一種樣品時，再重新計算鑑別力期可提升至0.88。綜上所述，633nm雷射配合SERS技術為一有效進行染料墨水鑑定之方法，圖



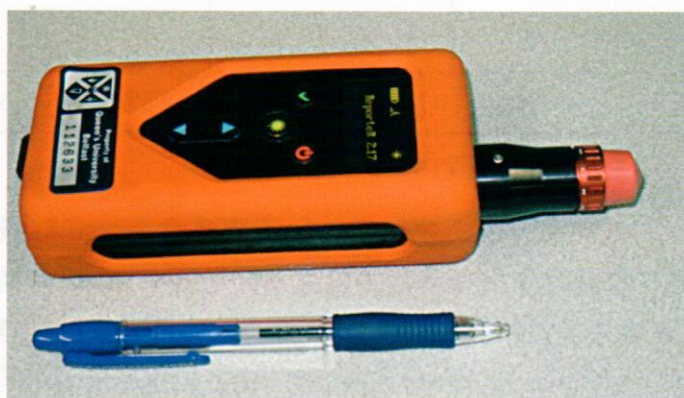
十一為使用633nm SERS技術之分類流程圖與鑑別力。



圖十一、使用633nm SERS技術之分類流程圖與鑑別力

#### 四、結論

拉曼光譜已逐漸成為刑事鑑識熱門分析方式之一，其主要原因在於分析時間快速、非破壞性及不需要樣品前處理或是僅需些微樣品處理即可獲得有用、可靠之拉曼光譜圖來進行樣品鑑定工作，目前已逐漸廣泛應用於各類之刑事鑑識證物上，其中包含毒品、爆裂物、油漆、射擊殘跡及纖維等樣品<sup>(12)</sup>。有賴於科技進步與發展，除了實驗室使用之大型儀器外，



圖十二、可攜式拉曼光譜儀之外觀 (DetlaNu Reporter™ series)



拉曼光譜儀亦已發展為更為輕巧、簡便之可攜式拉曼光譜儀，使得分析人員可以於現場第一時間獲得樣品之拉曼光譜，進而判斷證物之化學組成，圖十二為可攜式拉曼光譜儀。本文以藍色中性筆之染料墨水鑑定來說明拉曼光譜於刑事鑑識上之應用，也期望實務單位之鑑識人員得以將此法應用至現場進行初步鑑定工作，也可作為刑事鑑識的另一種快速的鑑定工具。FACT

### 參考文獻

- 1.Smith, W.E.; Dent, G. Modern Raman spectroscopy : a practical approach; John Wiley & Sons: Chichester, England, 2005
- 2.Sasic, S. Pharmaceutical application of Raman spectroscopy; John Wiley & Sons: New Jersey, 2008
- 3.Institute of Hydrochemistry, Technische Universität München, RENISHAW 2000 (Renishaw, UK), (2013)
- 4.McCreery, R.L. Raman spectroscopy for chemical analysis; Wiley Interscience: New York, 2000
- 5.Brunelle, R.L.; Reed, R.W. Forensic Examination of Ink and Paper; Charles C. Thomas Publisher,1984
- 6.Stewart, L.F. J Forensic Sci 1985, 30, 405-411.
- 7.Claybourn, M.; Ansell, M. Sci. Justice. 2000, 40, 261-271
- 8.Mazzella, W.D.; Buzzini, P. Forensic Sci. Int. 2005, 152, 241-247
- 9.Smalldon, K.W.; Moffat, A.C. J. Forensic Sci. Soc. 1973, 13, 291-295.
- 10.Bell, S.E.J.; Stewart, S.P.; Ho, Y.C.; Craythorne, B.W.; Speers, S.J. J. Raman Spectrosc. 2013, 44, 509-517
- 11.Lee, W.W.Y.; Silversson, V.A.D.; McCoy, C.P.; Donnelly, R.F. and Bell, S.E.J. Anal. Chem., 2014, 86, 8106-8113
- 12.Chalmers, J.M.; Edwards, H.G.; Hargreaves, M.D. Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science; John Wiley & Sons, 2012