

文章编号: 0253-2239(2008)12-2288-04

# 中药黄柏主要活性成分的光谱成像检测技术

赵 静<sup>1,3</sup> 庞其昌<sup>1</sup> 马 骥<sup>2</sup> 郑茜文<sup>1</sup> 孟庆霞<sup>1</sup> 刘传明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>暨南大学光电工程系, 广东 广州 510630  
<sup>2</sup>南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515  
<sup>3</sup>华南农业大学应用物理系, 广东 广州 510640

**摘要** 为了实现中药主要活性成分的在体检测, 运用光谱成像技术检测中药活性成分。使用自行开发的液晶光谱成像装置对中药黄柏的主要活性成分盐酸小檗碱进行了在体检测, 选取紫外光源波长 254 nm, 获取了检品 480~700 nm 之间的连续荧光光谱图像。在分析检品光谱剖面图的基础上, 以中国药品生物制品检定所提供的盐酸小檗碱标准品的光谱剖面图为依据, 设计了高通滤波器得到了检品的特征光谱数据。对八种不同来源的市售黄柏饮片特征光谱, 以及黄柏与其同科植物黄皮特征光谱的比较显示, 使用本方法对中药进行定性、定量的检测, 样品无需特殊处理, 可在原生态的情况下进行; 检测过程无损、实时; 检测结果指纹特征明显。

**关键词** 医用光学与生物技术; 无损检测; 光谱成像技术; 黄柏特征光谱; 中药指纹图谱

**中图分类号** O434.13; TN911.73 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/AOS20082812.2288

## Main Active Constituent Detection of Cortex Phellodendri Chinensis by Spectral Imaging Technology

Zhao Jing<sup>1,3</sup> Pang Qichang<sup>1</sup> Ma Ji<sup>2</sup> Zheng Xiwen<sup>1</sup> Meng Qingxia<sup>1</sup> Liu Chuanming<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Optoelectronic Engineering, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510630, China  
<sup>2</sup> College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China  
<sup>3</sup> Department of Applied Physics, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640, China

**Abstract** The spectral imaging technology is applied to active constituent detection of traditional Chinese medicines (TCMs) in-vivo. The active constituent of cortex phellodendri chinensis-berberine is detected in-vivo by the home-made liquid crystal spectral imaging system. The central wavelength of the light source is 254 nm and the selected spectral range is from 480 nm to 700 nm. A series of fluorescent images called spectrum cube are obtained. After analyzing the spectrum section of the spectrum cube of the samples, a high-pass filter is designed based on the spectrum section of berberine, which is the standard sample supplied by national institute for the control of pharmaceutical and biological products. The characteristic spectra of the samples are got. The characteristic spectra of cortex phellodendri chinensis from eight sources are compared, as well as that and wampee. The results show that the spectral imaging technology is available to detect TCMs rapidly, accurately, in-vivo, and none-destructively.

**Key words** medical optics and biotechnology; non-destructive detection; spectral imaging technology; characteristic spectrum of cortex phellodendri chinensis; fringerprint of traditional Chinese medicine

## 1 引 言

中药是祖国医药宝库的重要组成部分, 具有资源丰富、疗效独特、毒副作用较小等优点。但由于绝大部分中药材和中成药缺乏被国际认可的、客观而

严格的检测标准及规范, 仍难以进入世界市场。如何采用现代化科学技术对中药材和中成药进行质量标准研究, 增强其质量的可控性, 已成为当代中药领域研究的重要任务之一<sup>[1~3]</sup>。

收稿日期: 2008-03-03; 收到修改稿日期: 2008-05-16

基金项目: 广东省科技计划项目(2004A10507001)重大专项资助。

作者简介: 赵 静(1976-), 女, 博士研究生, 主要从事生物信息检测方面的研究。E-mail: edithzj@gmail.com

导师简介: 庞其昌(1951-), 男, 教授, 主要从事光电检测和信处理方面的研究。E-mail: tpqch@jnu.edu.cn

光谱法具有简便、实用、检测成本较低等优点，目前在中药活性成分的定性及定量分析方面应用较为普遍。但光谱法需对检品进行粉碎、提取、制备供试液，甚至提纯等前处理工作。为了进一步简化检测程序、提高检测精确度、拓宽检测范围，本文在光谱法的基础上，将光谱成像技术应用于中药检测。

光谱成像技术是 20 世纪 70 年代末首先发展起来的，现已在遥测遥感、地质勘探、刑侦分析等领域得到广泛应用<sup>[4~6]</sup>。由于光谱成像技术可以同时得到被测物光谱维和空间维的丰富信息，近年来它的应用正越来越受到生物医学、精细农业、食品等许多学科的重视<sup>[7~12]</sup>。

光谱成像技术检测中药的工作原理是在普通光谱法的基础上，利用不同物质成分具有不同特征光谱的基本原理，通过探测物质的二维反射光谱、透射光谱或激发光谱等，对检品的成分进行定性和定量的检测。

## 2 检 测

本文在采用光谱成像技术对大黄、黄连、附子、丹参、延胡索、厚朴、天麻、秦皮等 12 种传统中药进行系统研究的基础上，对八种不同来源的市售黄柏饮片进行了检测。

中药黄柏来源为芸香科植物黄皮树和黄檗的干燥树皮。前者习称“川黄柏”，主产四川、贵州等省区；后者习称“关黄柏”，主产东北。性寒，味苦。清热燥湿，泻火解表，退虚热。

现代药理化学研究表明，黄柏含多种生物碱，主要活性成分为小檗碱，其次还有黄柏碱、木兰碱、掌叶防己碱等<sup>[13]</sup>。

### 2.1 样品制备

实验检测了八种不同来源的市售黄柏饮片，分别取自广州正光、甘肃方民等药业公司，包括了关黄柏和川黄柏两个品种。

所有供试品均分为 2 组，一组依据 2005 版药典做性状、显微及理化鉴定；另一组采用光谱成像技术检测。同时，以中国药品生物制品检定所提供的盐酸小檗碱标准品和川黄柏、关黄柏药材的标准品为对照。

### 2.2 检测装置

检测所用的设备是自行研制的液晶光谱成像装置<sup>[14]</sup>，其原理如图 1 所示。将样品放置在载物台上，宽光谱光源出射的光经过滤光装置后照射在样

品上，样品产生的反射光或激发荧光经过液晶滤光器(LCTFs)后，被分作若干个窄的光谱带，并依次被接收装置接收。接收装置主要包括成像镜头、摄像机和图像采集器。采集的光谱图像在计算机中保存并处理，处理结果可显示在显示器上。本文采用非空间色散型面阵分光器——VariSpec 电可调液晶滤光器，光谱最高分辨率可达到 0.5 nm，光谱覆盖范围为 400~1100 nm，由主机的 USB 接口直接供电进行控制，响应时间为 50 ms。光谱透过率与入射光波长成正比关系<sup>[14]</sup>。装置的光谱分辨单元以像素记，每个像素对应应在样品空间的尺度约为 0.14 mm×0.14 mm。

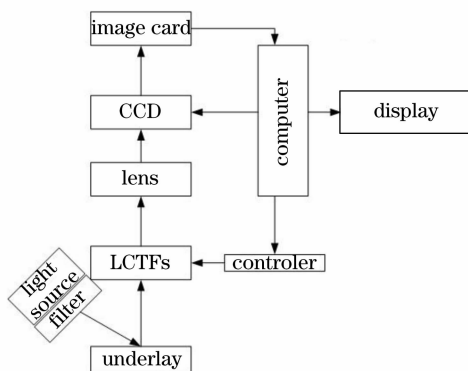


图 1 装置原理框图

Fig. 1 Block diagram of the instrument

由于黄柏的主要活性成分盐酸小檗碱具有明显的荧光效应，实验选用低压汞灯作为激发光源，接收器接收发射光谱。

### 2.3 检测方法

使用滤光装置将出射光中心波长控制为 254 nm。依次将标准品和各黄柏供试品放置在载物台的衬底上。设置液晶滤光器的光谱扫描范围为 480~700 nm，每 5 nm 采集一帧。摄像机对每个样品采集了 45 幅光谱图像，这些图像称为该样品的一个光谱立方体。

## 3 实验数据处理及结果

### 3.1 光谱剖面图

在光谱立方体每一帧图像的相同位置提取灰度值，以波长为横坐标，对应的灰度值为纵坐标做出的光谱曲线称为该像素点处的光谱剖面图。在接收器的线性工作区间，用灰度值代表 CCD 接收到的相对光强。提取光谱剖面图是成像光谱数据处理的第一步，从光谱剖面图中可以得到待测品空间任意点的光谱曲线，并通过光谱剖面图对其进行总体分

析。图 2 为川黄柏对照品光谱立方体的任意三个像素点处的光谱剖面图。

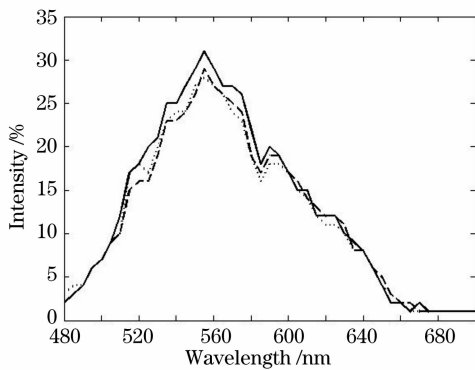


图 2 光谱剖面图

Fig. 2 Spectral section of three points

### 3.2 特征光谱图

从图 2 可以看出, 尽管都是中检所的川黄柏标准品, 但不同位置处的光谱剖面图并不完全相同, 因此仅用光谱剖面图无法正确地反映供试黄柏的质量。产生这样结果的原因有两方面, 一方面来自供试品, 另一方面来自测试装置。对于供试品, 因为未经提取和溶液配置, 供试品在空间上的均匀性有偏差, 其不同位置处的组织结构及成分含量不可能完全相同。对于测试装置, 不可避免的存在随机噪声, 随机噪声无论从空间还是时间上都是不确定的。

为了能够客观地反映一个检品的实际状态, 对样品空间点的光谱进行了像素级的处理。处理的目的是消除样品成分的空间不均匀性、样品表面形态对光谱的影响以及测试装置的随机噪声。

样品的表面形态会直接影响 CCD 接收的光强, 而光谱立方体实质上是面阵 CCD 在各波段接收到的二维光强图的组合, 因此首先对原始数据进行反射率校正。本文使用对数残差法消除检品表面形态的影响。

$$(DN_{ij}/DN_i)/(DN_j/DN) = Y_{ij}, \quad (1)$$

其中,  $DN_{ij}$  是对应波长为  $j$  的光谱图像中的第  $i$  个像素的灰度值,  $DN_i$  表示像素  $i$  的所有波段的灰度均值,  $DN_j$  表示对应波长为  $j$  的光谱图像中所有像素的灰度均值,  $DN$  表示所有像素在所有波段的灰度均值, 则  $Y_{ij}$  为消除了检品表面形态影响的结果。

第二步, 设计光强滤波器, 排除光谱图中的奇异点。滤波器函数根据盐酸小檗碱的标准光谱, 使用数学软件 Matlab 拟合得到。拟合曲线为高斯型函数:

$$I_{\min}(\lambda) = a_1 e^{-[(\lambda-b_1)/c_1]^2} + a_2 e^{-[(\lambda-b_2)/c_2]^2}, \quad (2)$$

其中  $I_{\min}$  代表滤滤器的光强, 当像素点的光强低于  $I_{\min}$  时, 认为奇异点。 $a_1$ 、 $a_2$  是拟合曲线的峰值,  $b_1$ 、 $b_2$  是拟合曲线的峰位,  $c_1$ 、 $c_2$  是拟合曲线与峰宽相关的物理量。拟合结果为

$$I_{\min}(\lambda) = A e^{-[(\lambda-550.9)/43]^2} + \frac{1}{3} A e^{-[(\lambda-613.3)/41]^2} \quad (3)$$

其中振幅  $A$  由具体实验数据决定。实验确定黄柏激发光的峰值不会低于 10, 而背景光的强度在 1~6 之间波动, 因此在数据处理中, 取  $A = 10$ 。(以上数值为 CCD 接收的灰度值)

最后, 将非奇异点的光谱剖面图加权平均, 得到整个样品统计平均的特征光谱。

图 3 所示即为实验测得的黄柏标准品和中药黄柏的特征光谱图。曲线 a 是中检所的盐酸小檗碱标准品的特征光谱, 曲线 b 是由广州保健堂提供的盐酸小檗碱的特征光谱, 曲线 c、d、e、f、g、h、i、j、k、l 分别是甘肃方民药业检品、中检所川黄柏标准品、中检所关黄柏标准品、甘肃永新药业检品、广州正光药业 07 检品、广州正光药业 06 检品、广州同仁堂检品、甘肃大药房检品、兰州安泰堂检品、广州清平市场检品的特征光谱。图中中药黄柏的特征峰位在 555 nm 和 590 nm 处, 特征谷位在 585 nm 处。本文根据特征峰和特征谷的高度对检品进行质量判断, 峰值和谷值越大, 对应的检品质量越好。从图中可看出, 八种不同来源黄柏的质量具有明显的差异。

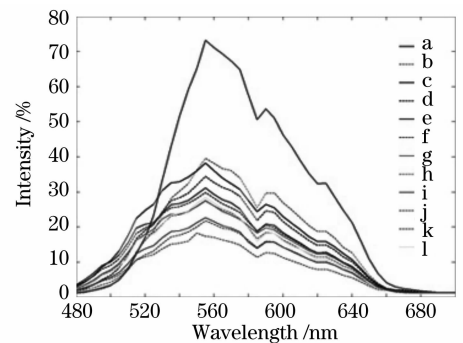


图 3 黄柏检品特征光谱图

Fig. 3 Characteristic spectra of cortex phellodendri chinensis

依据 2005 版中国药典所做性状、显微及理化鉴定结果表明, 八种不同来源的市售黄柏饮片均为正品黄柏, 但在质量方面存在明显差异, 其质量的优劣与运用光谱成像技术检测得到的特征光谱曲线中特征峰值的大小吻合。在 555 nm 和 590 nm 处具有较大光强值的黄柏饮片, 质量更优。

### 3.3 对比实验数据

为了进一步验证本方法的可行性, 实验使用同

样方法对黄柏的近缘植物黄皮的干燥树皮进行了光谱成像检测,其特征光谱见图 4。

图 4 中曲线 a、b 分别是中检所的川黄柏和关黄柏标准品的特征光谱。曲线 c 是黄皮干燥树皮的特征光谱,不具有曲线 a、b 的特征峰和特征谷。实验结果表明,采用光谱成像技术可以区分黄柏及其近缘植物。

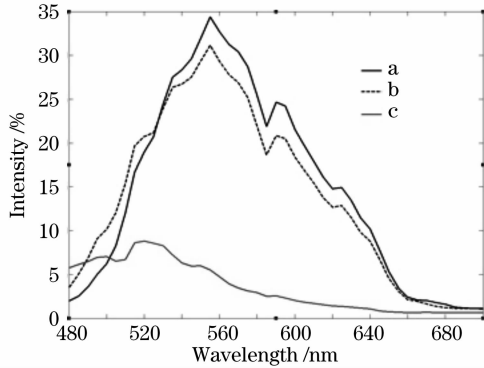


图 4 黄皮和黄柏特征光谱图

Fig. 4 Characteristic spectra of wampee and cortex phellodendri chinensis

### 3.3 光谱不确定度分析

测量过程中,影响光强最终显示值的不确定度分量主要有光源的稳定性、滤光器对输入光谱值的响应、接收器的响应及灰度值数字化过程中引入的不确定度。按照测量不确定度的 A 类评定标准得到各分量的不确定度,并合成标准不确定度。以  $M$  代表测量值,光强的不确定度结果为

$$I = M \pm 1.07\%$$

## 4 结 论

通过实验可以得到以下结论:

(1) 从波长 505~700 nm, 中检所的关黄柏和川黄柏对照品与市售黄柏具有相同的光谱特征,说明本方法可用于黄柏的定性检测。

(2) 从波长 505~700 nm, 盐酸小檗碱标准品与中药黄柏具有相同的光谱特征,包括峰位、谷位、上升趋势与下降趋势等。说明本方法可以检测黄柏中小檗碱的相对含量,进而反映黄柏的品质。

(3) 在波长 480~505 nm 的范围内,中药黄柏的荧光强度高于标准品。表明使用本方法可以同时检测小檗碱以外的其它成分。

## 参 考 文 献

1 Shi Zhihong, He Jiantao, Chang Wenbao. Fringeprint technology

- of traditional Chinese medicine[J]. *University Chemistry*, 2004, **19**(1): 33~39
- 石志红, 何建涛, 常文保. 中药指纹图谱技术[J]. *大学化学*, 2004, **19**(1): 33~39
- 2 Nie Jing, Tian Songjiu, Wang Guorong. The development of fingerprinting research on TCM[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2000, **31**(12): 881~884
- 聂 晶, 田颂九, 王国荣. 中药指纹图谱的研究现状[J]. *中草药*, 2000, **31**(12): 881~884
- 3 Xiao Xiaohu, Jin Cheng, Zhao Zhongzhen *et al.*. Probe into innovation and development of pattern of quality control and evaluation for Chinese medicine[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, **32**(14): 1377~1381
- 肖小河, 金城, 赵中振等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展[J]. *中国中药杂志*, 2007, **32**(14): 1377~1381
- 4 Xun Lina, Fang Yonghua Li Xin. A small target detection approach based on endmember extraction in hyperspectral image [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(7): 1178~1182
- 寻丽娜, 方勇华, 李 新. 高光谱图像中基于端元提取的小目标检测算法[J]. *光学学报*, 2007, **27**(7): 1178~1182
- 5 Liu Delian, Zhang Jianqi He Guojing. Target detection for remote sensing image based on Gaussian transformation of background[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(4): 638~642
- 刘德连, 张建奇, 何国经. 背景高斯化的遥感图像目标检测[J]. *光学学报*, 2007, **27**(4): 638~642
- 6 Hu Xupeng, Su Rongguo, Zhang Chuansong *et al.*. Fluorescence discrimination technology for the red tide algae by spectra similarity index[J]. *Chin. J. Lasers*, 2008, **35**(1): 115~119
- 胡序鹏, 苏荣国, 张传松等. 基于光谱相似性指数的赤潮藻荧光识别技术[J]. *中国激光*, 2008, **35**(1): 115~119
- 7 Gowena A A, Friasb C P O P J C G D ; M. Hyperspectral imaging-an emerging process analytical tool for food quality and safety control[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, **18**(12): 590~598
- 8 Ariana D, Lu R, Guyer D E. Hyperspectral reflectance imaging for detection of bruises on pickling cucumbers[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2006, **53**(1): 60~70
- 9 Peng Zhihong Zhang Chunmin. Influence of depth of field on resolution of a microscope polarization interference imaging spectrometer[J]. *Acta Optica Sinica*, 2006, **26**(2): 239~243
- 彭志红, 张淳民. 显微偏振干涉成像光谱仪中景深对系统分辨率的影响[J]. *光学学报*, 2006, **26**(2): 239~243
- 10 Masry G E, Wang N, Sayed A E *et al.*. Hyperspectral imaging for nondestructive determination of some quality attributes for strawberry[J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, **81**(1): 98~107
- 11 Heia K, Sivertsen A, Stormo S *et al.*. Detection of nematodes in cod (*Gadus morhua*) fillets by imaging spectroscopy[J]. *Journal of Food Science*, 2007, **72**(1): E011~E015
- 12 Liu Muhua, Chen Quansheng, Lin Huaiwei. The study of non-destructive measurement of fruit internal qualities using spectral imaging[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(11): 2042~2046
- 刘木华, 陈全胜, 林怀蔚. 苹果糖度的光谱图像无损检测技术研究[J]. *光学学报*, 2007, **27**(11): 2042~2046
- 13 Li Jiashi. Identificology of Chinese materia medica [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2000: 308~311
- 李家实. 中药鉴定学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 308~311
- 14 Zhao Jing, Pang Qichang, Ma Ji *et al.*. Design of the continuous spectrum imaging apparatus based on LCTFs[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2008, **37**(4): 758~762
- 赵 静, 庞其昌, 马 骥等. 基于液晶滤光器的连续光谱成像测试装置[J]. *光子学报*, 2008, **37**(4): 758~762