

文章编号: 0253-2239(2008)09-1828-05

西洋参和高丽白参的 X 射线显微鉴定研究

薛艳玲^{1,2} 肖体乔^{1*} 杜国浩¹ 刘丽想³ 胡 雯^{1,2} 徐洪杰¹

(¹ 中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800; ² 中国科学院研究生院, 北京 100049)
³ 山西大同大学物电学院, 山西 大同 037009

摘要 传统的中药材显微鉴定, 样品制备苛刻, 加入某些试剂容易造成结构信息丢失。本文利用 X 射线相位衬度成像方法较为系统地研究了西洋参、高丽白参的显微结构, 并对二者在草酸钙簇晶、导管、木栓细胞、韧皮部和木质部射线等显微结构方面的异同进行了详细分析。实验研究结果表明, 该方法能够在无需对样品进行特殊处理的情况下, 较好地实现西洋参、高丽白参的显微结构鉴定, 有望成为中药材显微鉴定领域中一种简便快速的新型鉴定方法。实验还发现, 西洋参和高丽白参韧皮部和木质部射线的显微结构存在很大的区别。这一显微结构有可能成为人参类贵重中药材显微鉴别中的一个新增依据。

关键词 X 射线光学; 显微鉴定; 相衬成像; 人参

中图分类号 O434.19; R282.5 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS20082809.1828

Microscopic Identification of Panax Quinquefolium and Panax Ginseng by X-Ray Phase Contrast Imaging

Xue Yanling^{1,2} Xiao Tiqiao¹ Du Guohao¹ Liu Lixiang³ Hu Wen^{1,2} Xu Hongjie¹

¹ Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China

² Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³ College of Physics and Electronical Science, Shanxi Datong University, Datong, Shanxi 037009, China

Abstract In the conventional microscopic identification of traditional Chinese medicines (TCMs), disadvantages, such as rigid sample preparations and adding extra reagents which may result in structure information loss limit its application. X-ray phase contrast imaging (XPCI) was introduced to study the microscopic identification of Panax quinquefolium and Panax ginseng, in the aspects of clusters of calcium oxalate, vessels, cork cells, phloem and xylem rays. The experimental results show that XPCI method is convenient for microscopic identification. It is expected that XPCI will provide a new practical method for the identification of TCMs without any special sample treatments. The experiments also reveal that the phloem and xylem rays of Panax quinquefolium and Panax ginseng are obviously different. This microstructure difference may add another important basis for the microscopic identification of different ginsengs.

Key words X-ray optics; microscopic identification; phase contrast imaging; ginseng

1 引 言

中药鉴定有四种方法: 来源鉴定、性状鉴定、显微鉴定和理化鉴定法^[1, 2]。由于前两者的局限性和主观性较强, 显微鉴定和理化鉴定相对更受关注。

理化鉴定重复性和准确性较高, 但是过程比较复杂、繁琐, 易受环境条件的影响。显微鉴定具有简便、快速、准确的优点, 是中药鉴定中不可或缺的手段之一。现有的中药显微鉴定手段, 包括光学显微法和

收稿日期: 2008-01-16; 收到修改稿日期: 2008-03-08

基金项目: 国家自然科学基金(10275087)、上海市自然科学基金(02ZF14116)和上海市科学技术发展基金(022261023)资助课题。

作者简介: 薛艳玲(1983-), 女, 博士研究生, 主要从事 X 射线相衬成像应用方面的研究。E-mail: ylxue@sinap.ac.cn

导师简介: 徐洪杰(1955-), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事核技术方法学及其相关学科、同步辐射装置束线站的研制和同步辐射应用等方面的研究。E-mail: xuhj@sinap.ac.cn

* 通信联系人。E-mail: tqxiao@sinap.ac.cn

电子显微法,对样品的制备都有较高的要求,而且为了鉴定需要,经常需要加入某些特定的化学试剂^[1,3]。这些试剂在起作用的同时有可能会破坏药材中其他有用的结构鉴定信息。

近几年来光学方面的各种应用逐渐增多^[4~6],X 射线相位衬度成像(X-ray phase contrast imaging, XPCI)技术从机制上克服了传统吸收成像的不足,能够实现对生物软组织或低 Z 样品的成像,得到了众多科学家的关注^[7~10]。肖体乔等^[11]建立起了一种基于微聚焦 X 射线管的新型相衬成像实验室系统,在此装置上开展了一些材料学和医学方面的研究工作,对中药材等的显微结构进行了初步研究^[12,13]。但是其工作只涉及一些最基本的、显微结构研究比较成熟的药材的显微成像,没有在常规方法难鉴定的药材或者贵重药材方面展开实验研究。

利用微聚焦 X 射线管相衬成像实验室系统,对部分人参类中药材进行了显微鉴定研究。由于实验样品等条件的限制,本实验仅采用不同种类不同产地的两种人参-西洋参和高丽白参,从草酸钙簇晶、导管、木栓细胞、韧皮部和木质部射线等的显微结构方面入手,进行了鉴定研究^[14,15]。

2 原理和方法

2.1 实验原理

X 射线相衬成像对光源性能的要求比较高,空间相干性是实现 XPCI 的必要条件,也是光源选择时首先要考虑的问题。具有空间相干性的 X 射线照射并穿透样品时,吸收效应使得出射光的振幅减小。不同介质中 X 光的传播速度差异使得相位发生变化。当满足一定条件、出射光离开样品一定距离时,光场中包含样品结构信息的相位分布可以通过强度分布反映出来。利用 X 射线相位变化的优势在于,即使对于吸收很弱的样品,其相位的变化仍然足以满足成像的需要。X 射线相衬成像正是利用这一原理实现了对软组织、轻元素等低 Z 材料的成像。

微聚焦 XPCI 实验室成像系统是利用同轴轮廓成像的方法实现的。同轴轮廓成像的机理可由菲涅尔衍射来描述,对于纯相位物体和点光源的情形,在一阶近似下,像面上的光强分布可描述为^[10]

$$I(Mx, My; Z_1 + Z_2, k) = \frac{I_0}{M^2} \left[1 - 2\pi \frac{r_e}{k^2} \frac{Z_2}{M} \Delta_{x,y}^2 \int \rho(x, y, z) dz \right], \quad (1)$$

其中 $M = (Z_1 + Z_2)/Z_1$, 为放大倍数, Z_1, Z_2 分别为点光源到样品、样品到探测器的距离, $k = 2\pi/\lambda$, λ 为波长, r_e 为经典电子半径, ρ 为样品内电子密度, I_0 为物面上的光强值。

本实验使用的 XPCI 实验室成像系统^[11]微聚焦管的输出光斑尺寸为 500 nm, 已达到亚微米量级。电压可调范围 0~100 kV, 流强 0~250 μ A, 出射光锥张角约为 30°, 分辨率可达微米量级, 曝光时间为几分钟或十几分钟。

2.2 参量选择

影响相衬成像质量的因素除了光源的类型、光源的空间相干性以及探测器的分辨率之外, 样品到探测器的距离 (Sample-detector distance, SDD) 和光子能量的大小也是非常重要的^[16,17]。

2.2.1 样品到探测器距离

考虑了微聚焦光源的效应后, 在频域上的光学传递函数 (Optical transfer function, OTF) $H(f)$ ^[18] 为

$$H(f) = \frac{J_1(\gamma)}{\gamma} 2\sin(\pi\lambda z_2 M f^2), \quad (2)$$

其中 λ 为入射 X 射线的波长, f 为空间频率, $M = (z_1 + z_2)/z_1$ 为放大倍数, $\gamma = 2\pi z_2 (\rho/z_1) f$, ρ 为点光源的半径, z_1, z_2 分别为点光源到样品、样品到探测器的距离。

对纯的弱相位物体由式(2)可以得到, 近轴近似下的系统光学传递函数与光源尺寸及样品到探测器之间的距离的关系。图 1 给出的是考虑了实际光源效应的情况下光学传递函数 (OTF) 与样品和探测器之间距离 z_2 的关系曲线。对于特定空间频率的分辨, 其衬度随样品到探测器距离 z_2 的变化不是单调的, 而是存在一个极值。因此, 对任何一个空间频

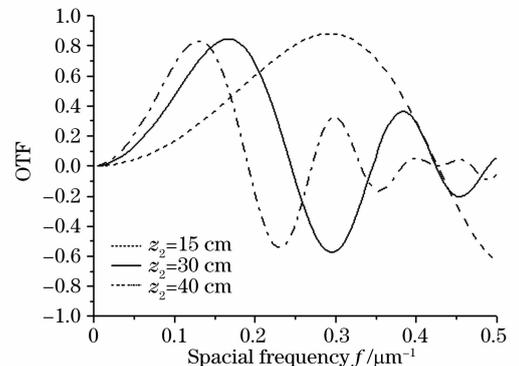


图 1 光学传递函数与距离 z_2 的关系曲线。(实际光源尺寸 0.5 μ m, z_1 为 14 cm)

Fig. 1 Relation between optical transfer function and z_2 (actual light source size $\rho=0.5 \mu$ m, $z_1=14$ cm)

率都存在一个最佳成像距离^[16]。

2.2.2 光子能量

由瑞利散射定律可知, X射线的散射系数正比于 $(1/\lambda)^4$, 也就是说光子能量的大小决定着散射影响的大小。空间相干宽度随光子能量的升高而减小。另外, X射线的穿透能力也是需要考虑的因素之一。因此, 选择合适的光子能量尤为重要。关于光子能量对成像质量的影响, 主要从衬度(Contrast)、半峰全宽(Full width at half maximum, FWHM)以及边缘增强系数(Edge-enhancing index, EEI)等方面考虑。

在样品直径为 $50\ \mu\text{m}$, 样品到探测器距离为 $2\ \text{m}$ 的情况下, 对各参量随光子能量的变化情况作了模拟分析^[19]。在综合了半峰全宽(FWHM)和Contrast随光子能量的变化的规律后, 得到边缘增强系数(EEI)随光子能量变化的曲线。EEI随光子能量的增大存在一系列的极大、极小值, 可以根据不同样品对辐射剂量的要求选择合适的光子能量值。

本实验采用微聚焦 X射线管相衬成像实验室系统, 结合具体的实验样品的材料、厚度等的需要, 选择以下具体的实验参量对未经任何特殊处理的样品进行相衬成像: 靶电压 $70.0\ \text{kV}$, 电流强度 $250.0\ \mu\text{A}$, 样品到探测器距离 $33.3\ \text{cm}$ (光源到探测器的距离为 $54.0\ \text{cm}$), 曝光时间为 $600\ \text{s}$, 样品厚度约 $0.2\sim 0.5\ \text{mm}$, 探测器为富士 IX80 型 X射线胶片。

2.3 样品制备

西洋参和高丽白参均购自上海医药嘉定大药房(总店)北京仁和堂药店专柜, 分别为五加科人参属植

物 *Panax quinquefolium* L. 和 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的根。其中西洋参产自加拿大, 样品等级属于小枝贰面; 高丽白参产自吉林, 样品等级属于小规格。

实验共采用五支西洋参, 三支高丽白参, 用徒手切片法对每支西洋参和高丽白参分别制得约 $0.5\ \text{mm}$ 厚的十几至数十个横切片和纵切片, 然后直接对切片进行 X射线相衬成像。

3 结果及分析

3.1 草酸钙簇晶

利用微聚焦 X射线管相衬成像的方法对西洋参的草酸钙簇晶进行了观察, 如图 2(a)。实验结果显示, 西洋参的草酸钙簇晶较少, 直径大约在 $13\sim 78\ \mu\text{m}$, 以 $45\ \mu\text{m}$ 左右居多, 图中标出来的簇晶的大小约 $40\ \mu\text{m}$ 。簇晶晶瓣较窄, 但较多, 棱角大多较尖, 晶体呈菊花状, 主要集中在木栓内层和韧皮部, 在木薄壁细胞与木射线细胞中几乎不存在, 与相关文献报道结果一致^[20, 21]。

图 2(b)所示是高丽白参木质部某个部分的图片。其草酸钙簇晶比西洋参中簇晶数量多, 而且簇晶也比较大, 直径以约 $70\ \mu\text{m}$ 居多。图 2(b)白框中所示的簇晶直径为 $70\ \mu\text{m}$, 另外在白框右上方的两束较明显的簇晶直径分别为 $70\ \mu\text{m}$ 、 $100\ \mu\text{m}$ 。高丽白参簇晶的晶瓣相对较少, 但较大, 簇晶的棱角大多尖锐。另外, 高丽白参的草酸钙簇晶主要分布在木质部, 这也是与西洋参进行区别的要点之一。

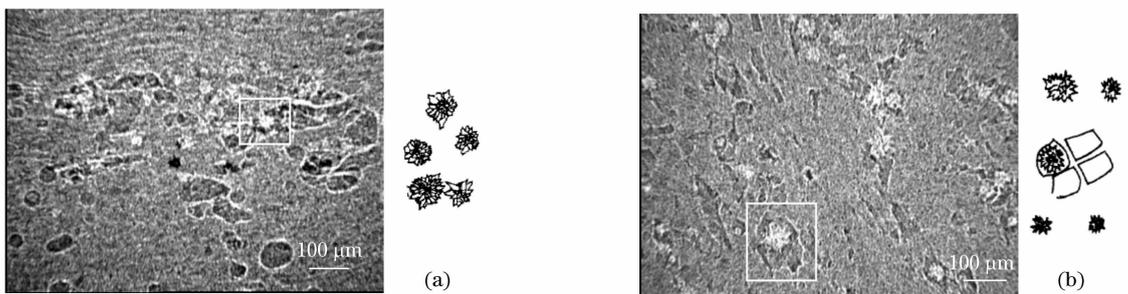


图 2 西洋参(a), 高丽白参(b)草酸钙簇晶的 XPCI 图及手绘图

Fig. 2 Comparison between the hand drawing(right) and XPCI result(left) of Calcium oxalate of *Panax quinquefolium* (a), *Panax ginseng* (b)

3.2 导管

高丽白参的导管结构清晰可见, 如图 3(a)所示。右上角显示的是框中部分放大 1.5 倍后的图片。从图中可以看出多数导管为网纹导管或梯纹导管, 直径在 $10\sim 56\ \mu\text{m}$, 网孔较大。框中标出的部分导管直径在 $30\sim 40\ \mu\text{m}$ 。右图为《中药显微鉴别图

鉴》中给出的人参导管的手绘图^[22], 很明显这与 X射线相衬成像图一致。

西洋参与高丽白参相比, 其导管较细, 从手绘图也可看出其内部结构层次不分明, 但是 XPCI 图显示其边缘的衍射增强非常明显, 如图 3(b)。从图中隐约能观察到导管边缘的结构, 多数为网纹导管和梯纹

导管,图中显示的导管直径约为 20 μm。由此可以看出,西洋参和高丽白参的导管管径及内部结构具有明

显的差异,可作为这两种人参显微鉴定的重要特征。

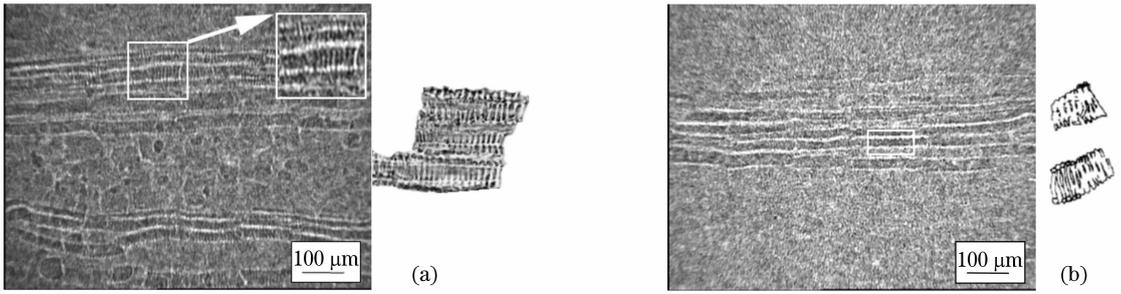


图 3 高丽白参(a),西洋参(b)导管的 XPCI 图及其手绘图

Fig. 3 Comparison between the hand drawing (right) and XPCI result (left) of vessels of Panax ginseng (a), Panax quinquefolium (b)

3.3 木栓细胞

西洋参木栓细胞^[23]表面观多为直立型细胞(直立型细胞是指细胞高与宽之比大于 1 的细胞),长方形、类方形、多角型居多,横卧型细胞(横卧型细胞是指细胞高与宽之比小于 1 的细胞)较少,细胞排列常不整齐,如图 4(a)所示。高丽白参木栓细胞表面观

则多为横卧型细胞,长方形、多角型,少有直立型细胞。细胞排列多为砖墙式,基线较平直,如图 4(b)所示。从 XPCI 方法给出的高丽白参和西洋参的木栓细胞的显微结构图,可以清楚地看出,木栓细胞的形状是这两种参类显微鉴定的重要特征结构之一。

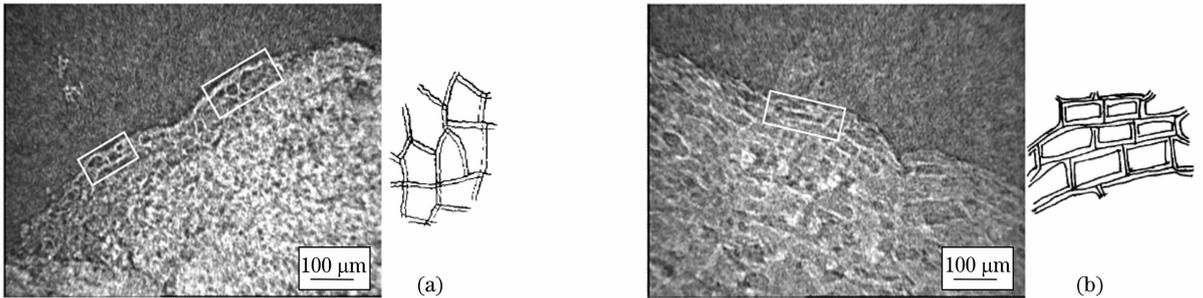


图 4 西洋参(a),高丽白参(b)的木栓细胞的 XPCI 图及其手绘图

Fig. 4 Comparison between the hand drawing (right) and XPCI result (left) of cork cells of Panax quinquefolium (a), Panax ginseng (b)

3.4 韧皮部和木质部射线

西洋参和高丽白参的韧皮部和木质部的射线还存在着明显差异,也可以作为二者的显微特征用以相互区别。高丽白参的韧皮部射线形状多数为类长

方形,且排列较疏松[如图 5(a)中 B 处所示],而且还会偶尔间隔有扁形的细胞列存在[如图 5(a)中 A 处所示]。而西洋参的射线则由数列类圆形细胞紧密排列而成,呈更明显的射线状,如图 5(b)所示。

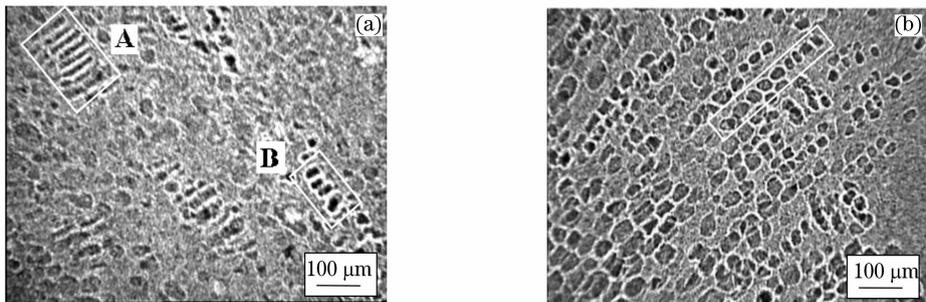


图 5 高丽白参(a),西洋参(b)韧皮部和木质部射线的 XPCI 图

Fig. 5 XPCI result of phloem and xylem rays of Panax ginseng (a), Panax quinquefolium (b)

4 结 论

采用 X 射线相衬成像方法,对西洋参和高丽白参的显微结构从多个方面作了详细地分析研究。实验说明,X 射线相衬成像方法能够用于西洋参和高丽白参的显微鉴别研究,而且不需要对样品做任何特殊处理,不会破坏样品的原有结构,具有快速、简单、准确等优点。实验还发现,西洋参和高丽白参的韧皮部和木质部射线的结构存在区别,在今后的实验中,如果能得到其他人参类中药材射线的不同显微结构,将有可能为此类中药材的显微鉴定增加另一重要鉴别依据。

参 考 文 献

- Ren Renan, Chen Ruihua, Li Jiashi. *Identificology of Chinese Traditional Medicine* [M]. Shanghai: The Science & Technology Press in Shanghai, 1986
任仁安,陈瑞华,李家实. 中药鉴定学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986
- Zheng Hanchen, Cai Shaoqing. *Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy* [M]. Beijing: People Public Health Press, 1986
郑汉臣,蔡少青. 药用植物学与生药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003
- Lou Zhicen, Li Shenghua. *The Methods of Morphological and Microscopic Identification of Chinese Herbal Medicines* [M]. Beijing: Beijing Medical University & Peking Union Medical College Press, 1997
楼之岑,李胜华. 中草药性状和显微鉴定法[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997
- Zhou Zhenming, Ding Zhihua, Yang Yaliang. Development of optical coherence tomography based projected index computed tomography system[J]. *Chin. J. Lasers*, 2007, **34**(6): 833~836
周振明,丁志华,杨亚良. 基于光学相干层析成像的投影折射率计算机层析成像系统研制[J]. 中国激光,2007, **34**(6): 833~836
- Xiao Kai, Liu Ying, Chen Liang *et al.*. Characterization of relative diffraction performance of soft X-ray zone plates by experiment[J]. *Acta Optica Sinica*, 2006, **26**(10): 1598~1600
肖凯,刘颖,陈亮等. 软 X 射线聚焦波带片相对衍射特性的实验研究[J]. 光学学报,2006, **26**(10): 1598~1600
- Zeng Nan, He Yonghong, Ma Hui *et al.*. Pearl detection with optical coherence tomography [J]. *Chin. J. Lasers*, 2007, **34**(8): 1140~1145
曾楠,何永红,马辉等. 应用于珍珠检测的光学相干层析技术[J]. 中国激光,2007, **34**(8): 1140~1145
- Sun Yi, Zhu Peiping, Yu Jian *et al.*. Absorption, refraction and extinction contrast computerized tomography of X-ray diffraction enhanced imaging method[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(4): 749~754
孙怡,朱佩平,于健等. X 射线衍射增强成像中吸收、折射以及散射衬度的计算层析[J]. 光学学报,2007, **27**(4): 749~754
- Gao Hongyi, Xie Honglan, Chen Jianwen *et al.*. Experimental research on X-ray phase contrast imaging[J]. *Chin. J. Lasers*, 2005, **32**(2): 167~169
高鸿奕,谢红兰,陈建文等. 硬 X 射线相位衬度成像的实验研究[J]. 中国激光,2005, **32**(2): 167~169
- Yu Hong, Zhu Pinpin, Han Shensheng. A study of diffractive phase imaging and phase restoration with partially coherent X-ray [J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, **23**(4): 390~397
喻虹,朱频频,韩申生. 部分相干 X 射线衍射相位成像与相位复原的模拟研究[J]. 光学学报,2003, **23**(4): 390~397
- S. W. Willkins, T. E. Gureyev, D. Gao *et al.*. Phase-contrast imaging using polychromatic hard X-rays [J]. *Nature*, 1996, **384**(28): 335~338
- Xiao Tiqiao, Xu Hongjie, Chen Min *et al.*. A new type of laboratory system for X-ray phase-contrast imaging[J]. *Nuclear Techniques*, 2003, **26**(10): 743~747
肖体乔,徐洪杰,陈敏等. 一种新型 X 射线相衬成像实验室系统[J]. 核技术,2003, **26**(10): 743~747
- Xun Wei, Tiqiao Xiao, Lixiang Liu *et al.*. Application of X-ray phase contrast imaging to microscopic identification of Chinese medicines[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2005, **50**(18): 4277~4286
- Jungang Li, Yanling Xue, Bo Han *et al.*. Application of X-ray phase contrast imaging technique in detection of pulmonary lesions induced by multi-walled carbon nanotubes in rats[J]. *J. Nanoscience and Nanotechnology*, 2008, **8**(7): 3357~3362
- Wang Ping, Chen Zeqin, Xie Hongping *et al.*. Preliminary study on traditional Chinese medicine samples of different geographical areas based on near infrared spectra[J]. *J. China West Normal University* (Natural Sciences), 2004, **25**(1): 92~95
王平,陈泽琴,洪洪平等. 不同产地中药材的近红外光谱初步研究[J]. 西华师范大学学报(自然科学版),2004, **25**(1): 92~95
- Tang Jun, Lu Jing. Application of HPLC/ELSD on quantitative determination of pseudoginsenoside F11 in radix panax quinquefolii [J]. *J. Pharmaceutical Analysis*, 1999, **19**(4): 241~243
汤俊,鲁静. 应用 HPLC/ELSD 法测定西洋参中拟人参皂苷 F11 的含量[J]. 药物分析杂志,1999, **19**(4): 241~243
- T Q Xiao, A Bergamaschi, D Dreossi *et al.*. Effect of spatial coherence on application of in-line phase contrast imaging to synchrotron radiation mammography [J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, 2005, **548**: 155~162
- A Pogany, D Gao, S W Wilkins. Contrast and resolution in imaging with a microfocus X-ray source[J]. *Review of Scientific Instruments*, 1997, **68**(7): 2774~2782
- Chen Min, Xiao Tiqiao, Luo Yuyu *et al.*. Phase-contrast imaging with microfocus X-ray source [J]. *Acta Physics Sinica*, 2004, **53**(9): 2953~2957
陈敏,肖体乔,骆玉宇等. 微聚焦管硬 X 射线相位衬度成像[J]. 物理学报,2004, **53**(9): 2953~2957
- Liu Lixiang, Du Guohao, Hu Wen *et al.*. Effect of some factors on imaging quality of X-ray in-line outline imaging [J]. *Acta Physica Sinica*, 2007, **56**(8): 4556~4564
刘丽想,杜国浩,胡雯等. X 射线同轴轮廓成像中影响成像质量的若干因素研究[J]. 物理学报,2007, **56**(8): 4556~4564
- Li Jingjing, Xu Guojun, Jin Rongluan *et al.*. The pharmacognosy study of the medicinal parts of Panax quinquefolius[J]. *China J. Chinese Materia Medic*, 1993, **18**(2): 73~76
李晶晶,徐国钧,金蓉鸾等. 西洋参各药用部分的生药学研究[J]. 中国中药杂志,1993, **18**(2): 73~76
- Liu Haiqing, Liu Yarong, Zhu Zhiqiang *et al.*. The microscopic identification of Panax quinquefolius and Panax gensing[J]. *J. Chinese Medicinal Materials*, 1995, **18**(1): 17~19
刘海青,刘亚蓉,朱志强等. 西洋参与人参的显微鉴别[J]. 中药材,1995, **18**(1): 17~19
- Zhao Zhongzhen. *An Illustrated Microscopic Identification of Chinese Materia Medica* [M]. Shenyang: The Science & Technology Press in Liaoning, 2005
赵中振. 中药显微鉴别图鉴[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2005
- Li Ao, Yang Cunwu, Zhang Nairong. The cork tissues comparison of Panax gensing and Panax quinquefolius [J]. *J. Chinese Medicinal Materials*, 1992, **15**(4): 22
李翱,阳存武,章迺荣. 人参与西洋参木栓组织比较[J]. 中药材,1992, **15**(4): 22