

文章编号: 0253-2239(2010)11-3259-05

中药黄连黄柏混合粉末的光谱成像分析技术

赵 静¹ 庞其昌^{2*} 马 骥³ 刘传明³ 王 琳² 崔代军² 孟庆霞²

1 华南农业大学理学院, 广东 广州 510640
2 暨南大学广东省高等学校光电信息与传感技术重点实验室, 广东 广州 510630
3 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515

摘要 为了实现对中药粉末掺假现象的快速鉴别, 有效地控制中药粉末的质量, 引入光谱成像分析技术, 以中药黄连和黄柏的混合粉末为例进行检测。首先以中国药品生物制品检定所提供的黄连、黄柏对照药材为参照, 分别构建黄连和黄柏的光谱成像指纹图谱, 进而分析二者指纹图谱的差异, 提取特征波段。将质量各为 1 g 的两种粉末混合, 采集混合粉末检品的光谱图像, 依据两种中药粉末的光谱特征, 采用波段比重构光谱图像, 并采用域值法进行图像分类。分类结果实现了对检品的鉴别, 同时得到检品的空间分布状态。鉴别结果表明光谱成像分析技术是一项有望解决掺假中药粉末鉴别难题的技术, 且检测过程无损、快速。

关键词 生物光学; 无损检测; 光谱成像技术; 中药指纹图谱; 粉末掺假

中图分类号 O434.13; TN911.73 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS20103011.3259

Spectral Imaging Technology Applied to Mixed Powder of Rhizoma Coptidis and Cortex Phellodendri Chinensis

Zhao Jing¹ Pang Qichang² Ma Ji³ Liu Chuanming³ Wang lin²
Cui Daijun² Meng Qingxia²

¹ College of Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640, China

² Key Laboratory of Optoelectronic Information and Sensing Technologies, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510630, China

³ College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China

Abstract In order to identify the adulteration of traditional Chinese medicine (TCM) powder quickly and control the quality of TCM powder effectively, spectral imaging analysis technology is used to test the mixed powder of rhizoma coptidis and cortex phellodendri chinensis. The standard samples of rhizoma coptidis and cortex phellodendri chinensis applied by National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products are used to construct the fingerprint atlas. After analyzing the differences of two fingerprints, the characteristic wave bands are obtained. Take 1 g of rhizoma coptidis powder and cortex phellodendri chinensis powder respectively, and mix them. The spectral images of mixed powder are captured. The spectral images are reconstructed with band ratio method and classified with threshold method. The technology realizes the identification of mixed powder and obtains the spatial distribution of samples. The results show that the spectral imaging analysis technology can resolve the problem of TCM powder adulteration and that the testing process is nondestructive and rapid.

Key words bio-optics; nondestructive testing; spectral imaging technology; fingerprint of tradition Chinese medicine (TCM); adulteration of powder

收稿日期: 2010-01-18; 收到修改稿日期: 2010-05-09

基金项目: 国家自然科学基金(60908038)、华南农业大学校长基金(2009X011)和广州市农业科技攻关项目(GICQC1002FG08015)资助课题。

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

* 通信联系人。E-mail: tpqch@jnu.edu.cn

本文电子版彩色效果详见中国光学期刊网(<http://www.opticsjournal.net>)

1 引 言

中药是祖国医药宝库的重要组成部分,以其资源丰富、疗效独特和毒副作用较小等优点引起了越来越多的关注。但由于绝大部分中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、中成药和中药饮片等进行检测,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^[1,2]。

中药粉末掺假是中药市场上常见的一种现象。为了获得更大的经济利益,药商会在某一正品中药粉末中加入一定量的、价格相对便宜的其它中药粉末或其它物质。这一做法不但损害消费者利益,降低药效,甚至可能产生严重的不良反应。目前常用的中药检测技术有色谱法、质谱法和光谱法^[3,4]等,其基本原理都是通过分离、提纯中药检品中的有效活性成分,并对其进行检测,以实现检品的定性、定量分析。这些技术虽然各有优势,但都难以快速、无损地判别中药粉末掺假的问题。本文运用荧光多光谱成像技术,以中药指纹图谱的思想实现了中药粉末掺假的定性和定位检测。光谱成像技术是空间成像技术和光谱分析技术有机结合形成的一种新的分析检测技术,近年来逐渐受到生物医学、精细农业、食品安全等许多领域的重视^[5]。新近已有不少研究成果报道。例如:将其运用于水果蔬菜的检测^[6~8]、鳕鱼体内寄生虫的检测^[9]和茶叶质量鉴别^[10,11]等。光谱成像技术按照分光方式的不同,可分为光栅或棱镜分光、干涉法分光和滤光器分光等;按照光谱分辨率的高低和光谱通道数的多少,可分为多光谱成像、高光谱成像和超高光谱成像;按照检测光波长所处的波段区间,可分为紫外光谱成像、可见光谱成像和红外光谱成像等;按照发光机理可分为吸收光谱成像和荧光光谱成像。本文所采用的荧光多光谱成像技术工作在可见光波段,采用液晶滤光器分光,具有灵敏度高、特征性强等优点。中药指纹图谱是利用现代信息采集技术和质量分析手段获得中药检品的图像、图形和光谱的技术,它不追求单一成分的控制,其整体性和模糊性可以提供丰富的中药信息,能够更加有效地体现中药成分的综合作用,从而更好地鉴别中药真伪,评价中药质量^[12~14]。

2 检 测

本文以中药黄连粉末和黄柏粉末的混合品为例进行中药粉末掺假的判别。中药黄连为毛茛科植物

黄连、三角叶黄连或云连的干燥根茎,具有清热燥湿、泻火解毒等功效;中药黄柏来源为芸香科植物黄皮树或黄檗的干燥树皮,具有清热燥湿、泻火解表和退虚热等功效。二者虽然属于不同的科属,具有不同的药性,但它们的粉末却具有相似的宏观形态及颜色,且现代药理化学研究表明二者主要活性成分同为小檗碱^[15~17]。若将黄连和黄柏的粉末混合在一起,就非常难以判别。

2.1 样品制备

实验检测的黄连、黄柏分别由广州同仁堂和甘肃大药房提供。将黄连、黄柏饮片研磨成粉,过60目(0.3 mm)筛后,分别称取1 g,混合待检。同时,以中国药品生物制品检定所提供的三角叶黄连药材对照品(批号:120913-200407)和川黄柏药材对照品(批号:121510-200702)为参照。

2.2 实验装置

实验采用暨南大学广东省高等学校光电信息与传感技术重点实验室设计研制的凝视型中药检测光谱成像系统,如图1所示。主要器件包括:紫外光源及其干涉滤光片、电可控液晶滤光器(LCTF)、镜头组、低照度面阵CMOS、图像采集器、计算机等。

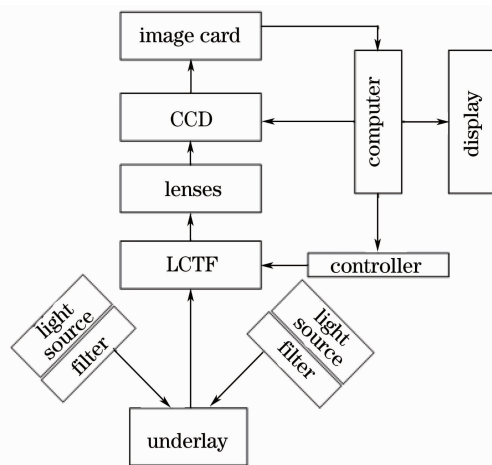


图1 系统框图

Fig. 1 Block diagram of the system

电可控液晶滤光器作为本系统的分光器件,具有带通窄和背景光截止深度大等优点。与推扫式光谱成像系统相比,凝视型系统没有机械推扫结构,在各波长的切换过程中,没有震动,可获得高空间分辨率和高光谱分辨率的光谱影像。液晶滤光器具有更适于计算机控制的电控方法,与计算机的USB接口直接相连,用于光谱选择。接收器采用低噪声、曝光时间可控的互补型金属氧化物半导体(CMOS)成像器件,可通过调节CMOS的曝光时间获取满意的荧

光图像。接收器的配套软件带有二次开发包,以二次开发程序实现与液晶滤光器的光谱同步扫描。自行开发的数据处理软件可实时进行光谱图像处理和数据合成,如提取光谱剖面图,获取特征光谱,特征参量与空间图像的定位合成等,并实时显示。本文在原系统^[18]的基础上,采用双光源作为激发源,实现更加均匀的检品激发。凝视型光谱成像系统的光谱分辨率由分光器的光谱分辨率决定,为 0.5 nm,光谱覆盖范围为 400~1100 nm;空间分辨率由接收端的滤光器、镜头和 CMOS 共同决定,约为 50 lp/mm。

系统采用单通道方式工作。将样品放置在载物台上,2 个相同的紫外光源出射中心波长为 254 nm 的窄带光,实现样品的均匀激发。激发光经 LCTF 面阵分光后,被分作若干个窄的光谱带,并依次按照波长序列被接收装置接收。数据由计算机保存处理。

2.3 检测方法

首先构建黄连和黄柏的光谱成像指纹图谱。分别将黄连和黄柏的药材对照品放置在载物台上,调节光路,设置参数。设置液晶滤光器为连续扫描工作方式,光谱范围为 480~680 nm,光谱分辨率为 5 nm;设置接收器曝光时间为 800 ms,与液晶滤光器同步扫描。最后获得各自的由 41 幅光谱图像组成的光谱立方体,并从中提取特征光谱曲线作为指纹图谱。根据指纹图谱的对比结果,在相同条件下采集待检中药混合粉末的光谱立方体,实现判别。

3 实验数据分析与结果

3.1 指纹图谱构建

以光谱立方体中有效像素的总体光谱作为特征光谱曲线来构建检品的指纹图谱。所谓有效像素点是指检品空间所对应的像素点。在光谱立方体中除了有效像素外,还存在噪声和检品背景等。提取特征光谱曲线的主要任务就是去除这些像素点,以获得有效像素的总体光谱曲线。

根据有效像素与其它像素光谱特征的不同,首先设计光谱的高通滤波器对光谱立方体进行像素级的滤波。因为黄连、黄柏的最主要活性成分同为小檗碱,在有效像素点的光谱中应含有小檗碱的荧光,因此根据小檗碱的特征光谱曲线来设计高通滤波器。对小檗碱的光谱曲线进行数学拟合,获得滤波器函数^[13]

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

式中 $I(\lambda)$ 为波长 λ 处的荧光光强, A 为峰值光强,由具体实验数据决定。文中经过大量实验确定黄连、黄柏药材对照品的激发光峰值不会低于 10,而背景光的强度多在 1~4 之间波动,因此在文中取 $A=10$ 。(以上数值为 CMOS 接收的灰度值)

确定有效像素之后,对有效像素进行加权平均即可得到特征光谱曲线

$$\overline{I(\lambda)} = \frac{\sum_{n=1}^N I_n(\lambda)}{N}, \quad (2)$$

式中 N 为有效像素的个数, $I_n(\lambda)$ 为任意有效像素的荧光强度, $\overline{I(\lambda)}$ 即为所求的特征光谱曲线。

图 2 所示为黄连、黄柏归一化后的特征光谱曲线。

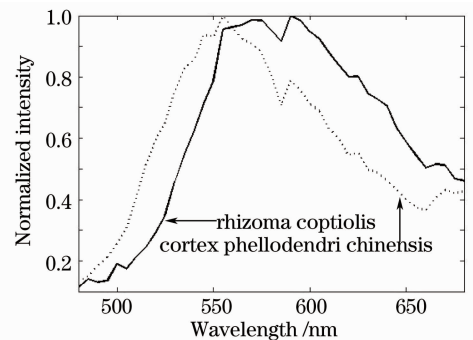


图 2 归一化特征光谱曲线

Fig. 2 Normalized characteristic spectrum

从图 2 中可以看出,黄连的特征光谱在 555~575 nm 和 595 nm 处有两个波峰,而黄柏的特征光谱仅在 555 nm 处有波峰。由光谱成像技术所构建的黄连、黄柏指纹图谱具有明显的差异性,可以用于二者的鉴别。

3.2 图像重构

因黄连、黄柏的特征光谱曲线在 555 nm 处有共同的波峰,而在 595 nm 处仅黄连具有波峰,黄柏在该波段的强度明显下降,根据这一指纹图谱特点,选用波段比重构光谱图像。波段比是通过多幅光谱图像对应像素点的光强比值来获得新的图像,从而将特征差异集中于新图像中的一种方法:

$$C_r = \frac{C_{555}}{C_{595}}, \quad (3)$$

式中 C_{555} , C_{595} 分别代表光谱立方体中的 555 nm 和 595 nm 波段图像, C_r 为采用波段比获得的新图像。图 3 中显示了波段比重构图像的结果。从图中可以看出,在 555 nm 和 595 nm 处都不易于区分的 2 种粉末,在波段比图中差异明显了。同时,波段比法还能消除空间光照的影响,使得结果更加可靠。

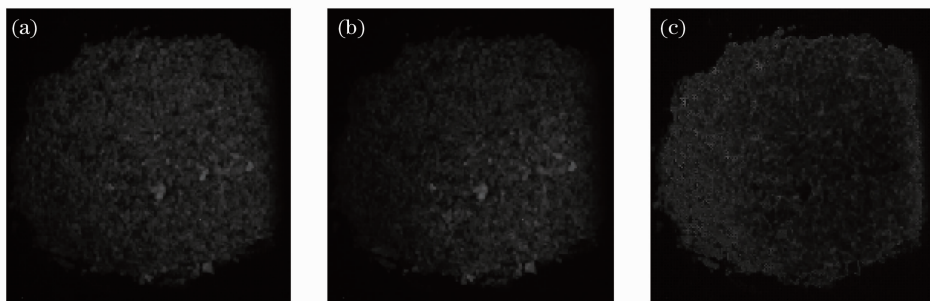


图 3 波段比重构图。(a) 555 nm 图像；(b) 595 nm 图像；(c) 波段比图像

Fig. 3 Reconstructed images of band ratio. (a) image of 555 nm; (b) image of 595 nm; (c) image of band ratio

3.3 混合粉末判别

对重构图像分类即可实现对混合粉末的判别。本文使用阈值法进行分类,确定阈值采用直方图搜寻和最大类间方差联用的方法。首先获得图 3 中(c)波段比图的直方图,如图 4 所示。图中的谷位即为图像分类所对应的阈值范围。

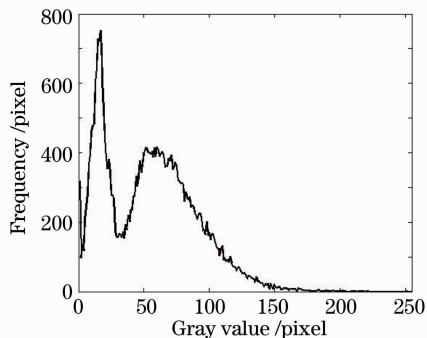


图 4 重构图像的直方图

Fig. 4 Histogram of reconstructed image

直方图中有两个波谷,分别在灰度值等于 4 和 30~33 位置处。考查混合粉末的光谱立方体可以看出,灰度值低于 4 的像素点为背景像素点,因此分类在灰度值 5~255 的区间内进行。根据谷位初步选定的阈值为灰度值在 30~33 的范围。进而根据最大类间方差确定阈值,即

$$\sigma^2(T) = W_A(\mu_A - \mu)^2 + W_B(\mu_B - \mu)^2, \quad (4)$$

式中 σ^2 是对应阈值为 T 时 A, B 两类具有的方差, W_A 为 A 类概率, μ_A 为 A 类平均灰度, W_B 为 B 类概率, μ_B 为 B 类平均灰度, μ 为两类的总体平均灰度。阈值 T 将图像分成 A, B 两部分,使得两类总方差 σ^2 取最大值 T ,即为最佳分割阈值。将 30~33 的灰度值分别代入(4)式,计算比较后得到具有最大类间方差的阈值 $T=31$ 。以该阈值作为分类标准得到的分类结果如图 5 所示,其中绿色代表黄柏粉末,红色代表黄连粉末。统计分类结果可以得到,在受检面上黄柏粉末约占全部检品面积的 15.93%,黄连粉末约占全部检品面积的 84.07%。因受检粉末

为一薄层,可认为其上下层面分布基本相同,则黄柏、黄连粉末的体积比约为 1:5,与粉末混合前体积测定结果基本吻合。

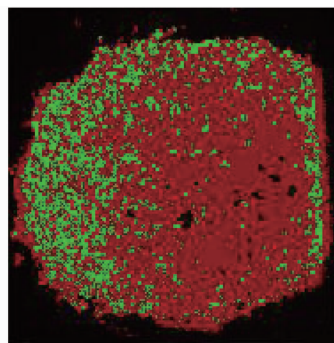


图 5 混合粉末分类结果的伪彩色图

Fig. 5 Pseudo color image of classification result of mixed powder

4 结 论

粉末状中药的掺假问题是目前中药鉴别的一个难点。以中药黄连和黄柏的混合粉末为例,将光谱成像技术引入到中药粉末掺假的检测中。通过实验可以看出,光谱成像技术适用于中药粉末掺假的检测,检测结果不但能够提供检品的定性分析结果,还可以提供空间定位分析结果,丰富了检测信息,为中药粉末的质量控制提供了更加有效的检测手段。

参 考 文 献

- Deng Shaowei, He Qiang. The research progress and recommendations of traditional Chinese medicine quality standard test method[J]. *Chinese Pharmaceutical Affairs*, 2006, **20**(9): 566~568
- 邓少伟, 贺 强. 中药质量标准检测方法的研究进展和建议[J]. *中国药事*, 2006, **20**(9): 566~568
- Li Wei, Xiao Xianglin, Gong Aodi. The development characteristic of development of traditional Chinese medicine in recent years[J]. *J. Chinese Medicinal Materials*, 2003, **26**(3): 222~225
- 李 薇, 肖翔林, 龚奥迪. 近年来中药鉴定技术发展的特点[J]. *中药材*, 2003, **26**(3): 222~225
- Nie Lixing, Wang Gangli, Li Zhimeng *et al.*. Application of near

- infrared spectroscopy in process analysis of TCM manufacturing [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(2): 541~547
- 聂黎行, 王钢力, 李志猛等. 近红外光谱法在中药生产过程分析中的应用[J]. *光学学报*, 2009, **29**(2): 541~547
- 4 Wang Di, Zhang Aili, Meng Qingfan *et al.*. Application of near infrared spectroscopy on rapid determination of essential components for cordyceps militaris[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(10): 2795~2799
- 王 迪, 张媛莉, 孟庆繁等. 近红外光谱在快速测定蛹虫草有效成分含量中的应用[J]. *光学学报*, 2009, **29**(10): 2795~2799
- 5 A. A. Gowena, C. P. O'Donnella, P. J. Cullen. Hyperspectral imaging an emerging process analytical tool for food quality and safety control[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, **18**(12): 590~598
- 6 Masoud Taghizadeh, Aoife Gowen, Colm P. O' Donnell. Prediction of white button mushroom (*agaricus bisporus*) moisture content using hyperspectral imaging[J]. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2009, **3**(4): 219~226
- 7 Liu Fei, Wang Li, He Yong. Application of multi-spectral imaging technique for acquisition of cucumber growing information[J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(6): 1616~1620
- 刘 飞, 王 莉, 何 勇. 应用多光谱图像技术获取黄瓜叶片含氮量及叶面积指数[J]. *光学学报*, 2009, **29**(6): 1616~1620
- 8 Xue Long, Li Jing, Liu Muhua. Detecting pesticide residue on navel orange surface by using hyperspectral imaging[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(12): 2277~2280
- 薛 龙, 黎 静, 刘木华. 基于高光谱图像技术的水果表面农药残留检测试验研究[J]. *光学学报*, 2008, **28**(12): 2277~2280
- 9 K. Heia, A. Sivertsen, S. Stormo *et al.*. Detection of nematodes in Cod (*Gadus morhua*) fillets by imaging spectroscopy [J]. *J. Food Science*, 2007, **72**(1): E011~E015
- 10 Di Wu, Haiqing Yang, Xiaojing Chen. Application of image texture for the sorting of tea categories using multi-spectral imaging technique and support vector machine [J]. *J. Food Engineering*, 2008, **88**(4): 474~483
- 11 Chen Quansheng, Zhao Jiewen, Cai Jianrong *et al.*. Estimation of tea quality level using hyperspectral imaging technology [J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(4): 669~674
- 陈全胜, 赵杰文, 蔡健荣. 利用高光谱图像技术评判茶叶的质量等级[J]. *光学学报*, 2008, **28**(4): 669~674
- 12 Shao Jianqiang. Advances in studies on fingerprints of Chinese materia medica [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2009, **40**(6): 994~998
- 邵建强. 中药指纹图谱的研究进展[J]. *中草药*, 2009, **40**(6): 994~998
- 13 Shi Zhihong, He Jiantao, Chang Wenbao. The fingerprint 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
- 14 Xie Peishan. Discussion on the actuality, development and problems of traditional Chinese medicine fingerprints [J]. *J. Chinese Medicinal Materials*, 2007, **30**(3): 257~259
- 谢培山. 刍议中药指纹图谱的现状、发展和问题[J]. *中药材*, 2007, **30**(3): 257~259
- 15 Li Jiashi. Identificology of Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2008
- 李家实. 中药鉴定学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008
- 16 Chi-on Chan, Ching-ching Chu, Kam-WahMok Daniel *et al.*. Analysis of berberine and total alkaloid content in cortex phellodendri by near infrared spectroscopy (NIRS) compared with high-performance liquid chromatography coupled with ultra-visible spectrometric detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **592**(2): 121~131
- 17 J. Chen, H. Zhao, X. Wang *et al.*. Analysis of major alkaloids in rhizoma coptidis by capillary electrophoresis-electrospray-time of flight mass spectrometry with different background electrolytes [J]. *Electrophoresis*, 2008, **29**(10): 2135~2147
- 18 Zhao Jing, Pang Qichang, Ma Ji *et al.*. Main active constituent detection of cortex phellodendri chinensis by spectral imaging technology [J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(12): 2288~2291
- 赵 静, 庞其昌, 马 骥等. 中药黄柏主要活性成分的光谱成像检测技术[J]. *光学学报*, 2008, **28**(12): 2288~2291