

文章编号: 0253-2239(2010)12-3622-05

基于液晶光谱仪的西洋参品质荧光检测方法

李子雷¹ 王琳¹ 庞其昌¹ 马骥² 赵静^{1,3} 林富斌¹

(¹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
²南方医科大学中药学院, 广东 广州 510515; ³华南农业大学应用物理系, 广东 广州 510640)

摘要 利用基于可调液晶滤光器做为分光器件的液晶光谱仪,对西洋参进行了紫外光照射下的连续荧光光谱成像检测。检测中发现西洋参切片存在着显著的荧光特性,通过对不同等级的西洋参及西洋参的有效成份(人参总皂苷)进行分类检测,验证西洋参所包含的荧光物质为人参总皂苷,并且所发出的荧光强度与其总皂苷含量存在对应关系,因此可以通过检测西洋参的荧光光谱强度判断其品质。从而,得到一种简单、快速和无损的西洋参品质判定和成份检测的方法。同时,通过对西洋参切片荧光光谱图像的分析处理得到了西洋参的荧光光谱曲线和总皂苷分布的三维图谱,获得了西洋参总皂苷含量的三维空间分布信息。

关键词 光谱学;西洋参总皂苷快速检测;连续光谱成像;液晶光谱仪;西洋参荧光光谱
中图分类号 O436 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS20103012.3622

Panax Quinquefolium's Active Ingredients Detecting Method Based on LCTF Spectrograph

Li Zilei¹ Wang Lin¹ Pang Qichang¹ Ma Ji² Zhao Jing^{1,3} Lin Fubin¹

¹Guangdong Key Laboratory of Optoelectronic Information and Sensing Technologies, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510630, China

²College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China

³Department of Applied Physics, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510640, China

Abstract A liquid crystal spectrograph is designed to collect Panax quinquefolium's spectral image based on liquid crystal tunable filter (LCTF) spectroscopy. Panax quinquefolium slice is put under UV light, and its fluorescence image is collected by the instrument continuously. Panax quinquefolium's fluorescence effect is obvious during the detection. Corresponding relations are found between fluorescence intensity and saponins which is panax quinquefolium's effective active ingredient, when the slice of different grades and standards is detected. So a simple, fast, non-destructive method, which can be applied to assess panax quinquefolium's quality and ingredient, is established. More over, the slice's fluorescence curve of spectrum and panax quinquefolium's saponins 3 dimensional distribution spectrum can be obtained, its saponins' distribution information can also be obtained.

Key words spectroscopy; fast detection of panax quinquefolium's saponins; continuous spectral image; liquid crystal tunable filter (LCTF) spectrograph; panax quinquefolium's fluorescence spectrum

1 引 言

西洋参又名花旗参,原产美国和加拿大,因其具有增强机体抵抗力,提高人体免疫力等功能,在国内外享有很高的知名度,是一种贵重的药品和保健品。

随着人们生活水平的提高,保健意识逐步增强,市场对西洋参的需求逐年增加。目前,市场上销售的西洋参按其产地、参龄和规格等进行分类已有十余种,并且不同种类的西洋参价格差别很大^[1,2]。

收稿日期: 2010-03-22; 收到修改稿日期: 2010-04-29

基金项目: 国家自然科学基金(60908038)资助课题。

作者简介: 李子雷(1983—),男,硕士研究生,主要从事光谱图像检测方面的研究。E-mail: lizilei53@163.com

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

(通信联系人)

近几年来,中国、日本及美国等国家都对西洋参的有效成份及药性进行了研究,证实西洋参的主要药用成份是其中包含的多种皂苷类化合物,各种单体皂苷在不同免疫和保健功能中起的作用也有所不同^[3, 4]。所以,总皂苷含量一直是衡量西洋参品质的一个直接指标。然而,对于不同种植年限及规格的西洋参,其总皂苷的含量存在较大差异^[5],这给高品质西洋参的生产和检测带来了困难,同时也造成目前市场上销售的西洋参产品的品质良莠不齐。

传统的西洋参品质判别方法主要是从其外在形态、口味等方面入手^[6],这种方法需要相当经验,并且难以反映西洋参有效成份的含量。要对西洋参的总皂苷含量进行精确检测,目前常采用高效液相色谱法(HPLC),但其分析过程较为繁琐,耗时长,成本高,并且属于破坏性检测,样品因化学污染无法重新使用。另外,利用红外或拉曼光谱法对西洋参进行检测,虽然可以得到西洋参的特征指纹图谱,但其样品制备复杂,设备要求高,因而主要用于中药的鉴别领域,难以在其生产及销售环节推广使用。所以,找到一种简单、快速和无损的西洋参总皂苷检测方法是十分必要的^[7~11]。

本文提出了一种利用连续光谱成像检测技术对西洋参进行荧光光谱成像的西洋参品质检测方法。较之其它荧光光谱检测方法,该方法不仅可以检测西洋参的荧光光谱,同时可以获取西洋参荧光图谱的空间分布信息,进而判断西洋参有效成分的空间分布情况^[12~14]。

2 原理及系统结构

2.1 检测原理

当紫外光照射到某些物质的时候,这些物质会发出各种颜色和不同强度的荧光。荧光现象与这些物质的组份含量及分子结构有关。荧光物质的分子结构不同,发射荧光的波长也不同,据此可对物质进行定性鉴定;荧光物质的含量不同,发射荧光的强度不同,由此可对物质进行定量分析。利用这种现象对物质进行检测的方法称为荧光分析法。

本文介绍的西洋参快速检测方法,是利用不同品质的西洋参中所含荧光物质的结构与含量存在的差别,在紫外光的照射下,使之激发出含有与西洋参有效成份相关的特征荧光光谱。利用液晶光谱仪采集荧光光谱图像,根据荧光图谱的特征及荧光光强进行西洋参品质级别及有效物质含量的判别与检测。

2.2 检测装置

系统的主要组成部分有紫外光源、液晶滤光器、面阵 CCD 和视频采集卡等,系统结构如图 1 所示。

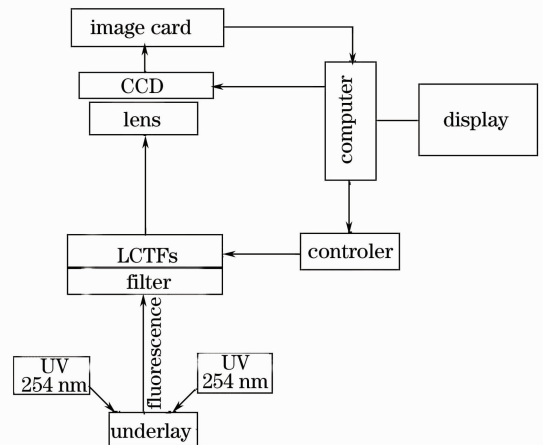


图 1 装置原理图

Fig. 1 Block diagram of the instrument

紫外光(254 nm)照射到西洋参切片表面激发出荧光,经过紫外滤光片滤去紫外光后进入液晶滤光器,液晶滤光器以 5 nm 的波长间隔在 400~720 nm 光谱范围内进行波长扫描,从滤光器出射的单体荧光光谱图像进入 CCD 转换为电信号,由视频采集卡采集并保存在计算机中进行处理。实验中的滤光器是 VariSpec 可调液晶滤光片(LCTF),其空间分辨率为 4000 pixel×4000 pixel,最高光谱分辨率 0.5 nm,光谱带宽 10 nm(最大透过功率的半峰全宽),工作波长范围为 400~720 nm 及 700~1100 nm 响应时间 50 ms,接受半角宽度为 7.5°。液晶滤光片无需机械推扫装置即可进行波长扫描,只需将滤光片置于普通图像采集设备(CCD)上就可以得到光谱图像,具有成像稳定、噪声低,精度较高的特点,适用于对西洋参切片进行连续光谱图像的检测。

2.3 系统测试

为了测试液晶光谱仪的光谱准确性,使用其对已标定的低压汞灯的可见光谱及氦氖激光器的光谱进行了测试,测试范围从 480~680 nm。根据漫反射光谱检测原理 Kubelka-Munk 函数为

$$f(R) = \frac{K}{S} = \frac{[1 - R(\lambda)]^2}{2R(\lambda)} = \frac{(1 - I_t/I_s)^2}{2I_t/I_s}$$

式中 $f(R)$ 是波长 λ 的函数, I_t 是样品的反射光强, I_s 是标准板的反射光强, $R(\lambda) = I_t/I_s$ 是样品的相对反射率。可知,只要测得样品的相对反射率,则在样品粒度、温度等因素一定的情况下,就可以得到它的特征光谱。

测试中的低压汞灯的光谱是低压汞灯发出的可见光经标准板反射后的测试结果;氦氖激光器的光谱是指激光经过扩束后照射标准版反射后的测试结果。结果如图 2 所示,在测试中得到了低压汞灯的全部三个特征峰位,分别处于 546, 577 和 579 nm

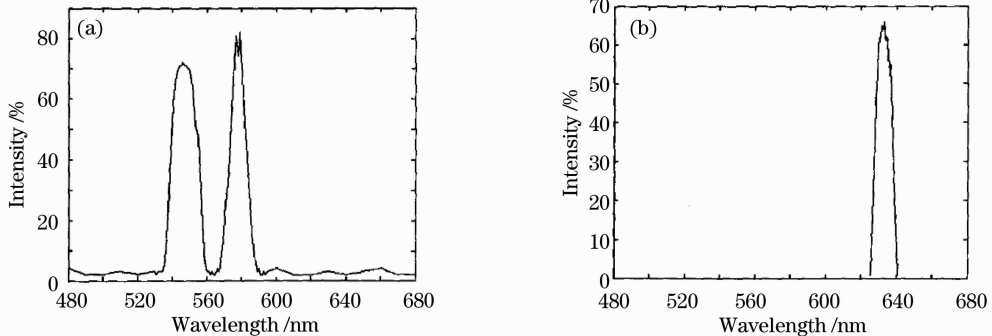


图 2 标准光源光谱检测结果。(a)低压汞灯; (b) He-Ne 激光器

Fig. 2 Spectrum of the standard lamps. (a) low-pressure mercury lamp; (b) He-Ne laser

3 实验及结果分析

实验中使用的不同等级的西洋参样品由南方医科大学中医药学院马骥教授提供,按其等级分为一级品,二级品和三级品(产地加拿大,分别为一年,两年及三年生西洋参)。按其规格不同分为长支、中支和短支西洋参。西洋参标准品(批号为 120997-200608 由中国药品生物制品检定所提供),人参总皂苷(批号为 1553-200201 由中国药品生物制品检定所提供)。

3.1 不同等级西洋参的测试

取一级西洋参的切片一片,将其用洁净玻璃片压平后放入样品池中;调节镜头焦距使之对西洋参切片成清晰像;开启紫外光光源,预热 10 min 待光源功率稳定;设定液晶滤光器扫描范围为 400~720 nm,光谱图像光谱间距 5 nm,并且为与成像 CCD 的分辨率匹配将探测器分辨率设为 1024 pixel×1024 pixel,曝光时间调至 800 ms 进行检测。开始检测后便可得到一组西洋参切片的连续光谱图像,每幅图像对应着切片在某一波长上的荧光光强,光强信息反应在这些图像的灰度变化上,将这些图像按对应波长排列便得到了西洋参切片的荧光光谱立方体。对每一帧图像的有效像素区域提取灰度均值,再以波长为横坐标,灰度值为纵坐标便可做出西洋参切片的荧光光谱剖面图^[13,14]。

图 3 为对不同批次的 5 组一级品西洋参切片及西洋参标准品(粉末)进行的光谱图像检测结果。从中可以发现西洋参标准品及一级品样品所发的荧光

处,测出氦氖激光器的峰位处于 633 nm 处。两组数据与汞灯及氦氖激光器的标定峰值的差别均小于等于 0.3 nm。对氦氖激光器进行 10 次峰值连续测试,得其标准偏差为 0.27^[12]。

光谱在 495, 530 和 705 nm 附近存在峰值,并且不同批次的一级品西洋参切片的荧光谱线的特征峰值位置和荧光强度的拟合度均比较高,5 组一级品西洋参的光谱相关系数分别为 1.0, 0.964, 0.959, 0.975, 0.969(取样品 1 为标准)。由此,对 5 组一级品西洋参的光谱图像取平均,并将平均后的结果作为一级品西洋参的荧光谱标准剖面图,如图 3 所示。

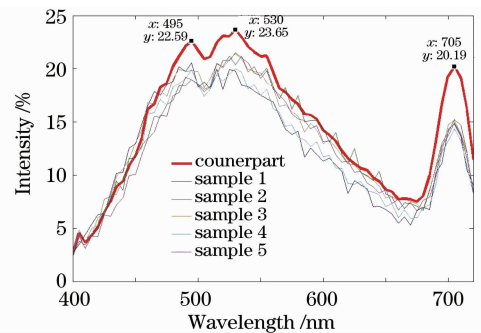


图 3 一级西洋参 5 次实验图谱

Fig. 3 First grade panax quinquefolium's spectral section of 5 times

为了进一步验证不同等级西洋参所发荧光强度与其品质之间,及荧光物质与西洋参有效成份(人参皂苷)之间的关系,对人参总皂苷、二级品和三级品西洋参的切片分别重复上述实验,从而得到了不同等级西洋参的荧光谱标准剖面图及人参皂苷标准品的荧光谱标准剖面图,结果如图 4 所示。

实验结果表明,人参皂苷存在着显著的荧光特性,其荧光峰值位置分别在 495, 530 和 705 nm 处。并且,尽管西洋参由于其成份的复杂性使其谱线形

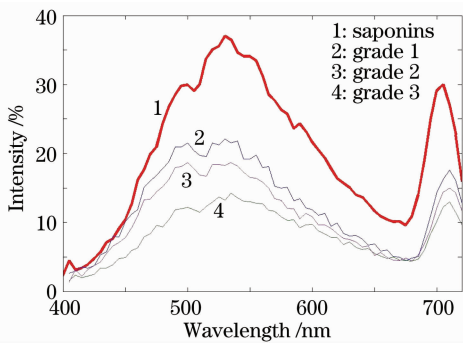


图 4 不同等级西洋参的荧光光谱图像

Fig. 4 Fluorescent spectra of different grade Panax quinquefolium

态与人参皂苷存在一定差异,但西洋参切片的荧光光谱特征峰位置与人参皂苷相同,从而可以证明西洋参切片中所含有的荧光物质主要为人参皂苷。并且不同级别西洋参切片的荧光强度存在显著差异,结合荧光分析法的原理,可以推断这种差异主要是由于不同等级西洋参切片中总皂苷含量不同引起。实验中西洋参切片的荧光强度与其级别存在对应关系,级别高的西洋参其荧光强度越强。

3.2 不同规格西洋参的测试

对长支、中支和短支西洋参切片进行连续光谱图像检测,测得的荧光光谱剖面图如图 5 所示, a, b, c 曲线分别对应于中支,长支和短支西洋参的切片。图中中支西洋参切片荧光光强最强,其他依次为长支和短支。实验结果与相关文献[5]测定的长支、中支及短支西洋参中的总皂苷含量一致。由上述两组实验可以发现,对于不同级别及规格的西洋参,其在紫外光照射下激发出的荧光强度与其皂苷总量存在对应关系。因此,通过检测西洋参切片的荧光光强,可以间接地检测出西洋参的总皂苷含量,从而对其等级或规格进行判定,实现对西洋参的检测。

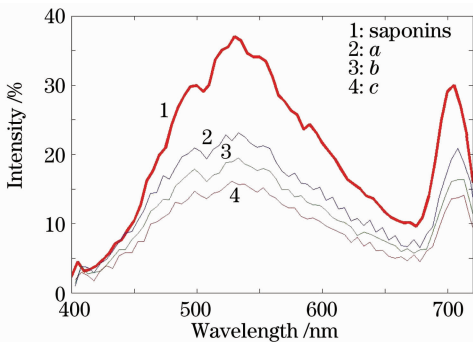


图 5 不同规格西洋参的荧光光谱曲线

Fig. 5 Fluorescent spectra of different samples panax quinquefolium

3.3 西洋参切片荧光光谱图像处理

对以上两组实验得到的西洋参切片的荧光光谱图像,以西洋参切片所在平面作为 x, y 轴,对应的荧光灰度值作为 z 轴,即得西洋参切片的三维荧光分布图谱,如图 6 所示。从图中可以看到,西洋参切片的荧光以其形成层为界呈现出内侧芯部高外侧木部低的特点,说明该方法还可以用于检测西洋参皂苷的空间分布,这对于西洋参及类似中药的栽培及加工具有一定的意义。

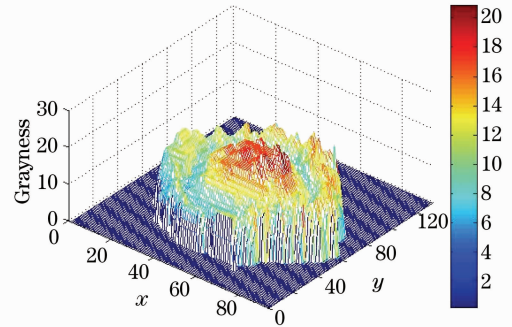


图 6 西洋参切片皂苷含量分布图像

Fig. 6 Image of saponins distribution in panax quinquefolium

4 结 论

利用基于液晶光谱仪的荧光光谱图像检测法,探讨了一种通过检测西洋参的荧光光谱对西洋参总皂苷含量进行检测的系统与方法。利用对不同等级及规格的西洋参切片进行的检测,验证了该方法的可行性,证实了对于不同级别及规格的西洋参,其在紫外光下激发出的荧光光谱强度与其皂苷总量存在的对应关系,可以基于此判断西洋参产品的品质。同时,通过对西洋参荧光光谱图像的处理得到了西洋参总皂苷的荧光光谱曲线及西洋参总皂苷分布的三维图像。

参 考 文 献

- Xue Yanling, Xiao Tiqiao. Microscopic identification of Panax quin quefolium and Panax ginseng by X-ray phase contrast imaging[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, **28**(9): 1828~1831
- 薛艳玲,肖体乔. 西洋参和高丽白参的 X 射线显微鉴定研究[J]. *光学学报*, 2008, **28**(9): 1828~1831
- Wei Wang, Yuqing Zhao, Elizabeth R. Rayburn *et al.*. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of Panax ginseng [J]. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2007, **59**: 589~601
- Ma Xiaoning, Chai Ruihua, Zhao Yuqing. Rare constituents with anti-cancer activity from hydrolytic products in saponins of Panax quin stems and leaves [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2008, **39**(9): 1291~1294
- 马晓宁,柴瑞华,赵余庆. 西洋参茎叶皂苷水解产物中稀有抗肿瘤

- 瘤成分的化学研究[J]. 中草药, 2008, **39**(9): 1291~1294
- 4 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
- 5 Zhu Danni, Yang Li, Yan Yongqing. Comparisons of saponin contents of american ginseng, ginseng and red ginseng (prepared ginseng)[J]. *Plant Resour. & Environ.*, 2000, **9**(3): 1~4
- 朱丹妮, 杨力, 严永清. 西洋参与人参中人参皂甙含量的比较[J]. 植物资源与环境学报, 2000, **9**(3): 1~4
- 6 Zheng Hanchen, Cai Shaoqing. *Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy* [M]. Beijing: People Public Health Press, 2003
- 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
- 7 Rebecca M. Corbit, Jorge F. S. Ferreira, Stephen D. Ebbs *et al.*. Simplified extraction of ginsenosides from american ginseng (panax quinquefolius L.) for high-performance liquid chromatography-ultraviolet analysis [J]. *J. Agr. Food Chem.*, 2005, **53**(26): 9867~9873
- 8 Zhao Xiaohui, Nie Zhichu, Zhang Lianshui *et al.*. Study on tea and its principal components by infrared spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(2): 533~536
- 赵晓辉, 聂志矗, 张连水等. 茶叶及其组份的红外光谱研究[J]. 光学学报, 2009, **29**(2): 533~536
- 9 Han Donghai, Wang Jiahua. Review of nondestructive measurement of fruit quality by means of near infrared spectroscopy [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(8): 1123~1131
- 韩东海, 王加华. 水果内部品质近红外光谱无损检测研究进展[J]. 中国激光, 2008, **35**(8): 1123~1131
- 10 L. Novakova, L. Matysova, P. Solich. Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis [J]. *Talanta*, 2006, **68**(3): 908~918
- 11 Zhang Haihong, Zhang Shujuan, Wang Fenghua *et al.*. Study on fast discrimination of seabuckthorn juice varieties using visible-nir spect roscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, **30**(2): 574~578
- 张海红, 张淑娟, 王凤花等. 应用可见-近红外光谱快速识别沙棘汁品牌[J]. 光学学报, 2010, **30**(2): 574~578
- 12 Zhao Jing, Pang Qichang, Ma Ji *et al.*. Main active constituent detection of cortex phellodendri chinensis by spectral imaging technology [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2008, **28**(12): 2288~2291
- 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, **28**(12): 2288~2291
- 13 Hu Xupeng, Su Rongguo, Zhang Chuansong *et al.*. Fluorescence discrimination technology for the red tide algae by spectra similarity index[J]. *Chinese 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
- 14 Zhao Huijie, Qu Lei, Cheng Xuan. Iterative restoration algorithm based on expectation maximization (EM) for hyperspectral image [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(8): 2164~2168
- 赵慧杰, 曲磊, 称宣. 基于期望值最大化的高光谱图像迭代复原算法[J]. 光学学报, 2009, **29**(8): 2164~2168