

中药黄连饮片活性成分分布的检测研究

赵 静¹, 庞其昌^{2*}, 马 骥^{3*}, 胡翠英², 王念萍¹, 王 琳², 崔代军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 为了实现中药饮片的活性成分空间分布检测, 有效地对药用部位进行质量评价, 以中药黄连饮片为研究对象, 运用光谱成像分析技术进行检测。首先获取检品的荧光光谱立方体, 根据中药鉴定学知识, 人工提取3个不同组织结构处的光谱曲线; 进而运用主成分分析法重构光谱图像, 将3个不同组织结构的特征差异集中于前几个主成分图中; 最后采用阈值法对第一主成分图像进行分割, 获得了不同组织结构的空间分布情况及各组织结构有效成分的相对含量。实验结果显示光谱成像技术可以提供中药饮片有效成分的空间分布状态, 为入药部位的选择提供依据, 且检测过程无损、快速。

关键词 生物光学; 无损检测; 光谱成像; 黄连饮片; 主成分分析

中图分类号: R282.5; TN911.7 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)06-1692-05

品等许多学科的重视^[3-8]。

引 言

中药饮片是在中医药理论的指导下, 根据辨证施治和调配制剂的需要, 对中药材进行加工炮制后的成品。中药饮片是中药的重要组成部分, 直接影响着中成药的品质和疗效。为了提高药效, 中药种植和生产厂经常需要获得饮片不同生物组织部位活性成分的分布状况, 以最有效的部位入药。然而, 长期以来我国缺乏中药饮片的质量标准和有效的质量控制手段, 导致中药饮片市场混乱, 入药饮片品质良莠不齐, 严重影响了中药临床疗效。如何采用现代化科学技术对中药饮片进行检测, 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]。

本文将光谱成像技术引入中药饮片的检测中, 以常见中药黄连饮片为例, 通过构建其光谱成像指纹图谱, 实现黄连饮片的活性成分空间分布检测, 为入药部位选择、饮片质量评价提供依据。

光谱成像技术是指利用多个光谱通道进行图像采集、显示、处理和分析解释的技术。它是光谱分析技术与光学成像技术相结合的产物。由于光谱成像技术可以获得丰富的信息, 近年来它的应用正越来越受到生物医学、精细农业、食

1 检 测

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。现代药理化学研究表明, 黄连的主要活性成分有小檗碱、黄连碱、甲基黄连碱等^[9-12]。由于其主要活性成分多数具有荧光, 本文采用荧光光谱成像技术对黄连饮片进行检测。

1.1 荧光光谱成像装置

实验采用的检测装置是在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连续光谱成像测试装置^[13, 14]的基础上改进而成。

如图1所示, 装置为凝视型光谱成像系统。相对于推扫式系统, 凝视型系统不进行扫描成像, 通过二维分光系统分光后, 可直接采集光谱图像, 避免了机械震动, 易于系统组建。本系统的核心器件包括紫外光源及其干涉滤光片, 电可控液晶滤光器, 镜头组, 低照度面阵CMOS, 图像采集器, 计算机等。其中电可控液晶滤光器为分光器件, 它决定了系统的最高光谱分辨率和光谱覆盖范围。接收端的CMOS和液晶滤光器共同决定了系统的空间分辨率。之所以选用两个相

收稿日期: 2010-07-14, 修订日期: 2010-10-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(60908038), 华南农业大学校长基金项目(2009X011)和广州市农业科技攻关项目(GZCQC1002FG08015)

资助

作者简介: 赵 静, 1976年生, 华南农业大学理学院教师 e-mail: edithzj@gmail.com; zhjtlg@163.com

* 通讯联系人 e-mail: tpqch@jnu.edu.cn; majilx@163.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

同的紫外光源, 是为了使得受检 黄连饮片光照均匀, 实现均匀激发。

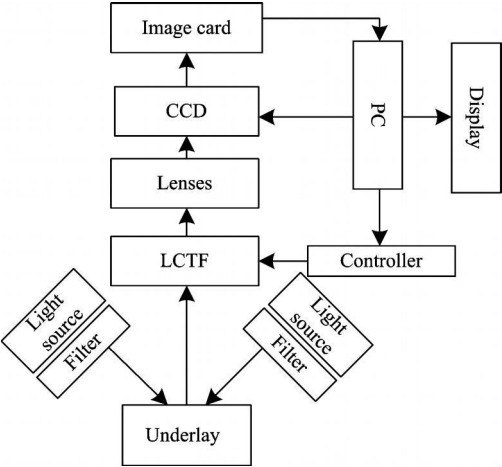


Fig 1 Optical route of the instrument

1. 2 检测过程

系统采用单通道方式工作。调节系统接收端高度, 使物空间分辨率最大, 并对焦在检品表面, 此时光谱图像中每个像素所对应的空间尺度约为 0.1 mm×0.1 mm。设置系统光谱分辨率参数为 5 nm, 光谱范围为 480~ 680 nm, 接收器曝光时间 800 ms。将检品放置在载物台上, 2 个相同的紫外光源出射中心波长为 254 nm 的窄带光, 调节光源与载物台的相对位置, 实现样品的均匀激发。激发光经液晶滤光器 (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 数据分析

实验获得的原始数据是检品的光谱立方体, 由 41 帧光谱图像组成。

黄连饮片肉眼可视的部位从外向内主要包括皮层、木质部和髓部, 三个部位的活性成分含量不相同。分别在三个部位人工选取 10×10 像素的小区域, 提取其光谱曲线平均值, 如图 2 所示。

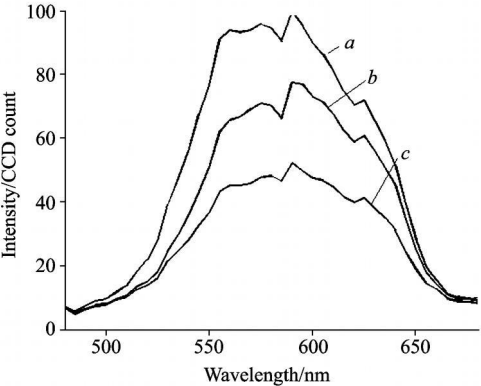


Fig 2 Spectral curves of different areas

图 2 中曲线 *a*, *b*, *c* 分别代表同一黄连饮片检品木质部、髓部和韧皮部的特征光谱曲线。它们的峰位、峰形都具有很大的相似性, 而曲线下面积有较大差异。因此, 本文在光谱图像重构后, 采用阈值法进行图像分类。

2.1 光谱图像重构

光谱立方体具有检品光谱维和空间维的丰富信息, 光谱图像重构的目的是将光谱立方体的有效信息, 即最大特征集中于少数几幅图像中, 去除冗余, 方便分析。本文运用主成分分析方法进行光谱图像的特征提取。从图 3 中可以看出, 黄连饮片的特征峰在 555 和 595 nm 处, 首先提取这两个波段的光谱图像, 运用主成分分析方法进行考查。结果如图 3 所示, 图 3(a) 为两个波段图像的散点图, (b) 为经主成分分析后重构的两幅图像的散点图。从图中可以看出, 经主成分变换后, 最大的特征差异投影在了第一主成分轴上。

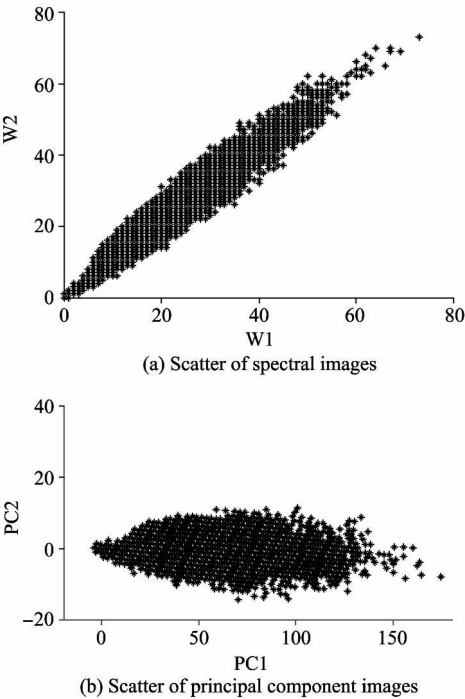


Fig 3 Scatter of principal component analysis

对黄连饮片检品的光谱立方体进行主成分分析, 结果显示第一主成分中最大的权值为 595 nm 波段, 其次是 575 和 565 nm 波段。通过特征值可以确定每个主成分所解释的方差占总方差的百分比。前 5 个特征向量所对应的特征值见表 1, 从中可以看出, 第一主成分所解释的方差百分比高达 98.814%, 远高于其他的主成分, 已基本满足特征维提取的要求; 而前两个主成分的累计方差已超过了 99%。可见,

Table 1 Character values of principal component analysis					
	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
特征值	1 591.912	14.039	2.061	1.401	0.406
百分比/%	98.814	0.871	0.127	0.087	0.025
累计百分比/%	98.814	99.685	99.812	99.899	99.924

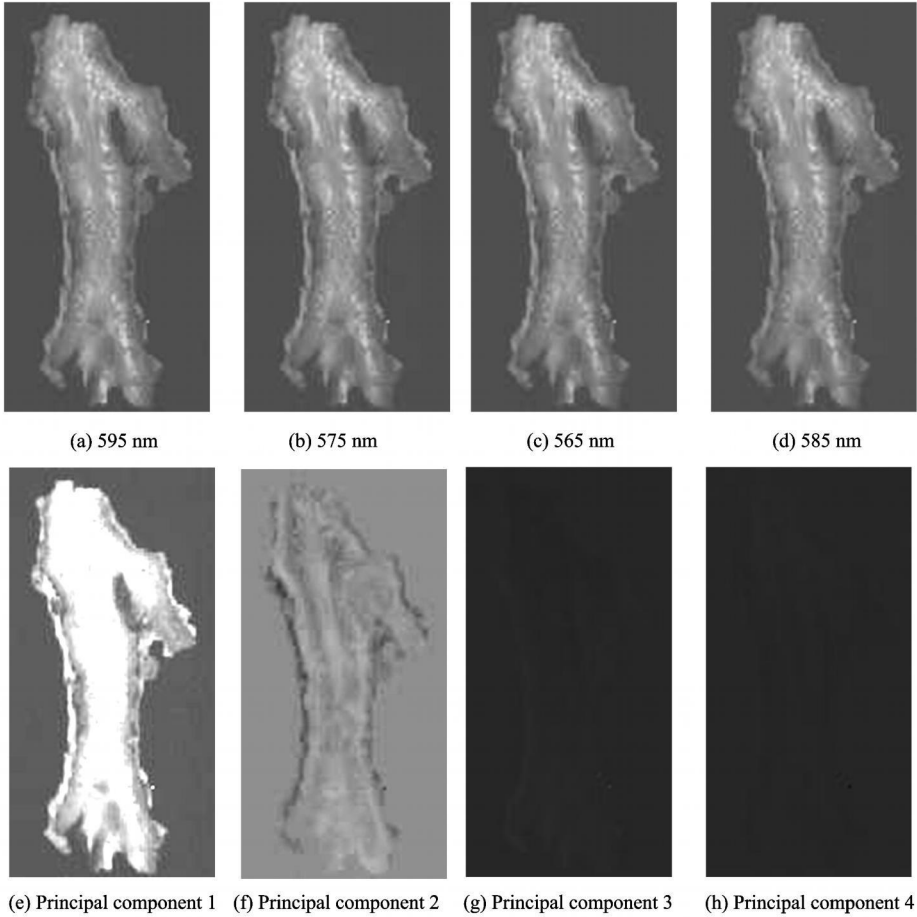


Fig 4 Spectra images and principal component images

对于黄连饮片的光谱立方体来说,主成分变换是非常有效的。在主成分变换中权重前 4 位的光谱图像和主成分变换后前 4 个主成分图像见图 4。

2.2 光谱图像分类

从图 4 中可以看出,由第一主成分构建的图像,其各组织部位的差异性比其他主成分图像以及原始光谱图像都强。根据第一主成分图像的直方图确定三个组织结构的分类。黄连饮片的第一主成分直方图如图 5 所示,其中横坐标为灰度级,纵坐标为频率,即不同灰度级下的像素数,图中竖线的高度代表相应灰度级下像素数的大小。从直方图中看到,经过主成分变化,黄连饮片第一主成分图像的像素点按照灰度阈值划分,可分为 4 组,其中灰度值在 0~ 21 的是背景,其他三组像素点则分别对应于黄连饮片的三个肉眼可视的生物

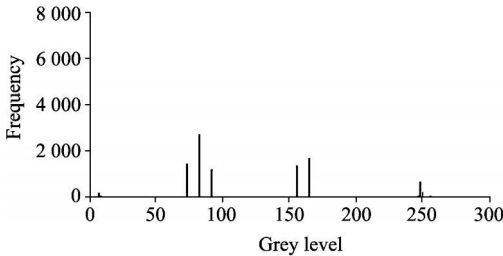


Fig 5 Histogram of the first principal component

组织部位。

采用伪彩色显示分类结果,如图 6 所示。其中,黑色区域对应灰度值小于 21 的背景区域,红色代表灰度值处于 50 ~ 100 的像素,绿色代表灰度值处于 150~ 200 的像素,蓝色代表灰度值大于 200 的像素。对比检品和伪彩色图可以看出本方法基本实现了对黄连三个不同组织部位的分类。只是饮

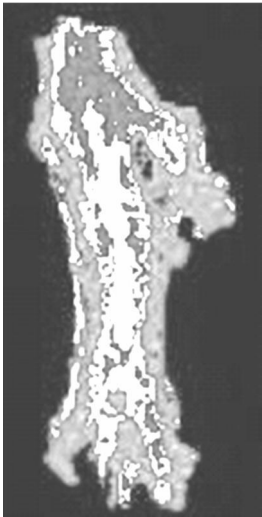


Fig 6 Pseudo color image

片左侧边缘处少数像素被误判为髓部。

2.3 活性成分空间分布

根据黄连光谱立方体的第一主成分图像,可以获得饮片上各点的光谱特征,见图7(a),即空间光谱图,其中的两维是空间维,一维是光谱维。空间光谱图可以直接显示检品任意空间位置处的生物特征参量,对于黄连饮片,我们已经证明由特征光谱曲线线性组合而成的主成分图像中的灰度值与该像素点活性成分含量的高低成正比。因此,可以利用空间光谱图判断饮片各空间位置处活性成分含量的相对高低。

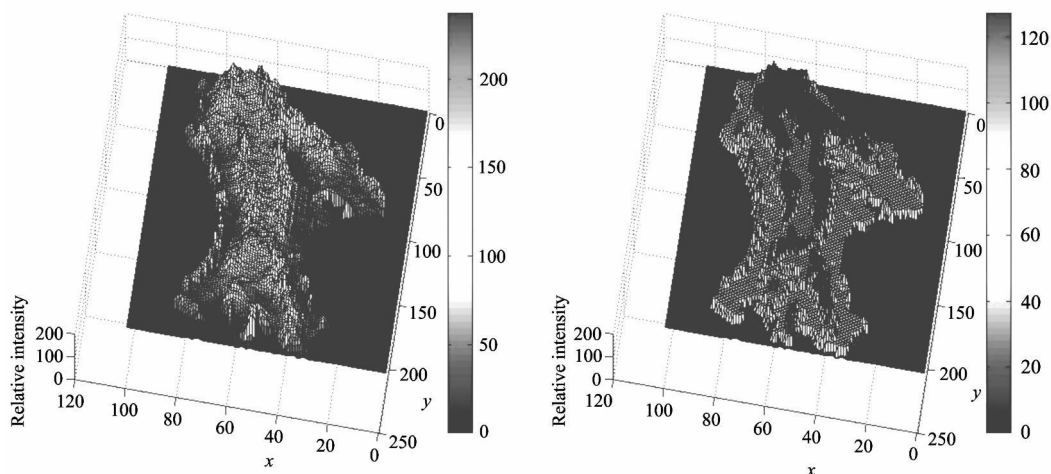


Fig 7 Three dimensional spectral images

3 结 论

中药饮片不同组织结构中活性成分的分布直接决定着入药部位的选择,但目前主要通过经验判断。本文运用荧光光

对第一主成分图像分类后,可以看出在不同组织结构中其主要活性成分含量的相对高低,见图7(b)。从图中可以看出黄连饮片的主要活性成分木质部最高、髓部其次、皮层最低。用平均灰度值表示分别为127, 90和51。另外,通过对图7(b)的统计分析,还可计算出各生物组织部位面积占饮片总面积的百分比。忽略影像畸变,因每个像素点所对应的空间面积相同,像素数比即为面积比。统计各组织部位的像素数可得到:皮层、木质部、髓部分别占饮片总面积的51.4%, 30.2%, 18.4%。

谱成像分析技术对黄连饮片进行了在体检测。实验结果显示可以通过分析黄连饮片不同组织部位的光谱特征,运用主成分分析法确定检品活性成分的空间分布。进一步,可通过图像分割,获得饮片各组织结构的空间分布及其活性成分的相对含量,可为入药部位的质量控制提供依据。

References

- [1] DENG Shao-wei, HE Qiang(邓少伟, 贺强). Chinese Pharmaceutical Affairs(中国药事), 2006, 20(9): 566.
- [2] LI Wei, XIAO Xiang-lin, GONG Ao-di(李薇, 肖翔林, 龚奥娣). Journal of Chinese Medicinal Materials(中药材), 2003, 26(3): 222.
- [3] Gowena A A, O' Donnell C P, Cullen P J. Trends in Food Science & Technology, 2007, 18(12): 590.
- [4] Masoud Taghizadeh, Aoife Gowen, O' Donnell C P. Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety, 2009, 3(4): 219.
- [5] Masry G E, Wang N, Sayed A E, et al. Food Science and Technology, 2008, 41(2): 337.
- [6] Wu Di, Yang Haiqing, Chen Xiaojing. Journal of Food Engineering, 2008, 88(3): 474.
- [7] Heia K, Sivertsen A, Stormo S, et al. Journal of Food Science, 2007, 72(1): E011.
- [8] Wu Di, Yang Haiqing, Chen Xiaojing. Journal of Food Engineering, 2008, 88(4): 474.
- [9] Sun S W, Tseng H M. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005, 37(1): 39.
- [10] Chen J, Zhao H, Wang X, et al. Electrophoresis, 2008, 29(10): 2135.
- [11] XIE Zong-wan(谢宗万). Discussion of Varieties of Traditional Chinese Medicine(中药材品种论述). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press(上海: 上海科学技术出版社), 1999.
- [12] Yu Sen, Yu Yunli, Liu Li, et al. Planta Medica, 2010, 76(9): 876.
- [13] ZHAO Jing, PANG Qi-chang, MA Ji, et al(赵静, 庞其昌, 马骥, 等). Acta Photonica Sinica(光子学报), 2008, 37(4): 758.
- [14] ZHAO Jing, PANG Qi-chang, MA Ji, et al(赵静, 庞其昌, 马骥, 等). Acta Optica Sinica(光学学报), 2008, 28(12): 2288.

The Research on Active Constituent Distribution of Rhizoma Coptidis Pieces

ZHAO Jing¹, PANG Qi-chang^{2*}, MA Ji^{3*}, HU Cu-ying², WANG Nian-ping¹, WANG Lin², CUI Dai-jun²

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

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

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

Abstract In order to test the distribution of active constituent of traditional Chinese medicine and to evaluate the quality of medicinal part effectively, spectral imaging analysis technology was used, and rhizoma coptidis pieces were tested as an example. First, the fluorescence spectral cube was taken, and the spectral curve of 3 different medicinal parts of the piece was obtained; second, spectral images were reconstructed by principal components analysis method, and the differences of 3 medicinal parts on the first few principal components were focused; third, the first component image was divided by the threshold method, then the distribution and relative content of 3 medicinal parts were obtained. The results show that spectral imaging analysis technology can provide the distribution of the active constituent, which can be used as the criterion of selecting medicinal parts. The testing course is nondestructive and rapid.

Keywords Bio-optics; Nondestructive testing; Spectral imaging analysis technology; Rhizoma coptidis pieces; Principal components analysis

(Received Jul. 14, 2010; accepted Oct. 5, 2010)

* Corresponding author