

光谱成像技术无损鉴别西洋参饮片的研究

赵 静¹, 庞其昌², 马 骥^{3*}, 刘传明³, 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 应用电可控液晶光谱成像装置, 测定不同市售来源的西洋参饮片, 以期为其质量控制提供新的方法。系统光谱分辨率 5 nm, 光谱覆盖范围为 405~680 nm, 空间分辨率 50 lp·mm⁻¹。从成像光谱立方体中提取特征光谱曲线, 构建饮片指纹图谱; 采用主成分等聚类分析方法解析其指纹图谱, 用于饮片真伪鉴别与质量判定。结果与性状、显微及理化鉴定结果相吻合。表明光谱成像分析技术可用于中药指纹图谱的构建和质量评价, 操作方法简便、快速、无损。

关键词 西洋参; 饮片; 无损检测; 光谱成像分析; 指纹图谱构建

中图分类号: R282.5 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)01-0210-04

引 言

西洋参(*Radix Panacis quinquefolii*)又名洋参或花旗参, 商品有称广东人参、美国人参者。为五加科(*Araliaceae*)植物西洋参(*Panax quinquefolius* L.)的干燥根。味甘、微苦, 性凉; 补肺阴、清火、生津液; 主治肺虚咳嗽, 胃热伤津, 口干舌燥, 阴虚发热等证。西洋参原产美国北部和加拿大, 当地人较少使用, 主要出口东南亚及中国。我国 20 世纪 50 年代开始引种栽培, 目前已形成较大规模的商品生产基地^[1-3]。

现代药理化学研究表明, 西洋参主含人参皂甙 Ro, Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 以及假人参皂甙 F1, 尚含精氨酸、天冬氨酸等 18 种氨基酸, 又含挥发油、树脂等^[4-7]。近年来由于西洋参在药材和保健品市场上的用量增加较快, 其饮片质量控制方面存在着急需解决的问题。为了全面控制西洋参饮片的质量, 更好地保证临床用药的有效性和安全性, 引入光谱成像分析技术^[8,9] 构建其指纹图谱, 并运用主成分分析、欧氏距离等聚类分析方法对不同市售来源的西洋参及其伪品白芷(*Angelica dahurica*), 桔梗(*Platycodon grandiflorum*)和人参(*Panax quinginseng*)的饮片, 分别进行了检测, 以期对西洋参饮片的质量控制提供新的有效方法。

1 材料与方法

1.1 仪器

本实验所采用的检测设备为凝视型光谱成像仪。高压汞灯配合干涉滤光片作为光源出射窄带紫外光, 电可控二维液晶分光器可实现无振动光谱扫描, 高透过率的 computer 镜头配合曝光时间可控的低照度 CMOS 实现了微弱信号探测^[10]。

1.2 样品与试药

表 1 中 1—6 号样品用于真伪鉴别, 7—12 号样品用于质量鉴别。所有样品的对比实验均依据 2005 版中国药典^[11] 西洋参项下药材性状鉴定、显微鉴定及理化鉴定等方法进行鉴别。

Table 1 Detected samples of *Radix panacis quinquefolii*

编号	样品来源	采集时间	编号	样品来源	采集时间
1	广州同仁堂药店	2009.09.13	7	广州清平药材市场	2008.05.04
2	广州好又多超市	2009.06.15	8	广州清平药材市场	2008.05.04
3	九天绿药业公司	2009.09.05	9	广州清平药材市场	2008.05.04
4	广州宝芝林药店	2009.09.13	10	广州清平药材市场	2008.05.04
5	广州同仁堂药店	2009.09.13	11	广州清平药材市场	2008.05.04
6	多伦多华人超市	2009.04.06	12	广州清平药材市场	2008.05.04

收稿日期: 2010-01-08, 修订日期: 2010-04-12

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: majilx@yahoo.com.cn; majilx@163.com

定,并以经验鉴别法判断西洋参饮片质量等级。

西洋参对照药材(批号:120997-200608)、人参对照药材(批号:120917-200609)均由中国药品生物制品检定所提供。

1.3 实验条件

检测过程中分光器的光谱随时间连续变化,由单一摄像机接收光谱图像。首先确定汞灯光源出射光中心波长为254 nm,并将系统的光谱扫描范围设置在405~680 nm区间,调节光谱分辨率为5 nm,光谱宽度为30 nm。然后调节成像镜头,在550 nm波段处焦平面与检品表面重回,空间分辨率为 $50 \text{ lp} \cdot \text{mm}^{-1}$;CMOS接收器设为连续工作方式,与光谱扫描时间同步进行西洋参荧光光谱图像采集。一次检测可得到一个西洋参饮片检品的光谱立方体,该光谱立方体由56帧256阶灰度级的图像组成。

2 结果与讨论

2.1 指纹图谱的构建

调节载物台的高度、方向等参数,取西洋参对照药材供试品,直接放置在载物台的胶皮衬底上进行检测,获得相应的荧光光谱立方体,并保存于计算机中。设计带通滤波器以消除图像噪声,确定有效像素后,对其进行统计平均,获得光谱-光强曲线,进而对其进行归一化,获得特征光谱曲线,见图1。以该特征曲线作为西洋参的光谱成像指纹图谱。从图中可以看到西洋参的特征光谱曲线具有双峰结构。

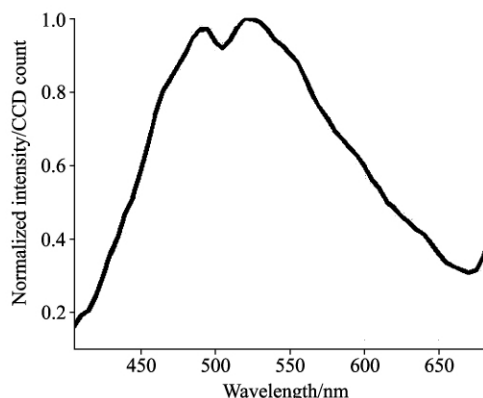


Fig 1 Fingerprint of radix panacis quinquefol

2.2 方法学考察

2.2.1 稳定性测试

取同一西洋参供试品,每24 h检测1次,连续检测5次,对比得到的5条特征光谱曲线,其峰形的相似度(量度采用协方差计算)均大于0.95,且特征峰位不变。表明西洋参饮片的特征光谱具有较好的稳定性。

2.2.2 精密度测试

取同一西洋参供试品,连续重复检测5次,对比得到的5条特征光谱曲线,其峰形的相似度(量度采用协方差计算)均大于0.95,且特征峰位不变,表明本文所用仪器精密度良好。

2.2.3 重现性测试

取同一批西洋参供试品,分为5份,分别进行检测,对比

得到的5条特征光谱曲线,其峰形的相似度(量度采用协方差计算)均大于0.95,且特征峰位不变,表明本文所采用的荧光光谱成像法重现性良好。

2.3 结果

2.3.1 伪品特征光谱曲线

在相同实验条件下,以2.1项下的方法提取伪品特征光谱曲线。图2所示为西洋参对照药材、人参对照药材、白芷和桔梗的特征光谱曲线。从图中可以看出,白芷和桔梗的光谱曲线峰下面积明显小于西洋参,且与西洋参光谱曲线的变化率具有较大差异,因此较易鉴别其真伪。西洋参和人参的特征光谱曲线相似度较高,在495和525 nm处都具有波峰。所不同的是西洋参是双峰结构,而人参的峰值在495 nm处低于525 nm处。

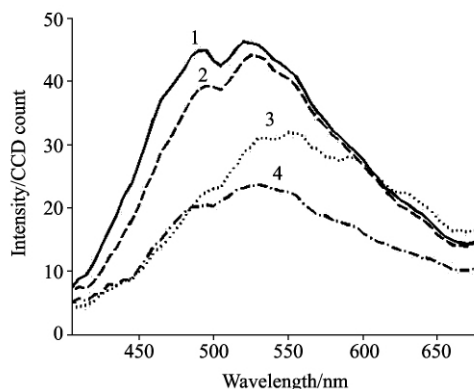


Fig 2 Characteristic spectra curves

1: 西洋参; 2: 人参; 3: 桔梗; 4: 白芷

2.3.2 生晒参伪品的鉴别

目前市场上最常见的西洋参伪品为生晒参(人参)^[12-14]。在相同实验条件下,以2.1项下的方法提取表1中1—6号检品的特征光谱曲线,并归一化6条曲线和西洋参对照品、人参对照品的特征光谱曲线。分别采用欧氏距离和主成分分析两种方法进行检品的分类鉴别。

计算8条曲线的欧氏距离,并进行聚类分析。分析结果如图3聚类树所示。其中编号1—6代表表1中对应的1—6号检品,7和8号分别代表西洋参对照品和人参对照品。根

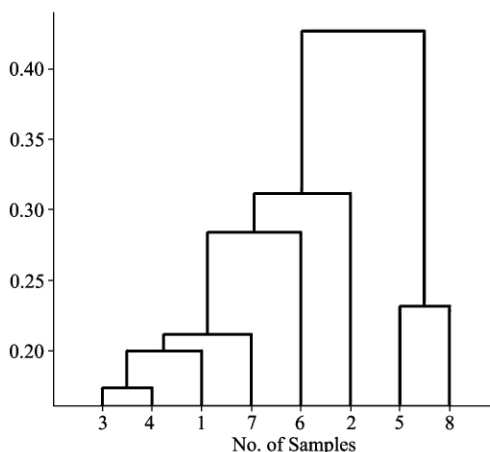


Fig 3 Cluster tree of tested samples

据聚类树结合线确定了类群的划分, 编号 1, 2, 3, 4, 6 的样品与西洋参对照品具有更接近的分类距离, 在分类距离 $L=0.31$ 处 5 个样品聚在一个类群中; 编号 5 的样品与人参对照品具有更接近的分类距离, 在分类距离 $L=0.23$ 处 2 个样品聚在一个类群中。在分类距离 $L=0.43$ 时, 8 个供试样品聚合为 1 类。由此判定 5 号样品为西洋参的伪品。

西洋参光谱曲线的解析运用主成分分析(PCA)方法。归一化西洋参光谱曲线数据, 并将其组成一个 8×56 的数据矩阵, 运用 PCA 进行数据重构, 结果前 5 个主成分的累计特征贡献率达到总特征量的 98.99%, 表明主成分分析方法在西洋参光谱曲线解析中能够较好的提取特征, 具体见表 2。

Table 2 Result of principal analysis

	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
特征值	0.073 5	0.025 2	0.007 1	0.002 0	0.000 7
贡献率/%	67.06	22.99	6.48	1.82	0.64
累积贡献率/%	67.06	90.05	96.53	98.35	98.99

表 2 中的 5 列分别对应着西洋参检品的前 5 个主成分, 从中可以看出, 第一主成分所具有的特征贡献率占总特征贡献率的 67.06%, 前两个主成分的累积特征贡献率已达到了 90.05%。可见, 主成分变换可以将西洋参特征光谱曲线的主要特征信息集中于前几个主成分中, 具有理想的解析效果, 因此可以选择主成分变换后的前几个主成分代替西洋参特征光谱曲线, 进行其真伪鉴别。采用西洋参、人参对照品和 6 个检品的前两个主成分作图, 见图 4。图中编号 1~6 代表本文表 1 中对应的 1~6 号检品, 7 和 8 号分别代表西洋参对照品和人参对照品。从图中可以看到, 编号为 1, 2, 3, 4, 6 的检品与 7 号西洋参对照品具有较大的相似特征; 编号为 5 的检品与人参对照品具有较大的相似特征。由此判断编号为 1, 2, 3, 4, 6 的检品为正品西洋参, 编号为 5 的检品为伪品生晒参。

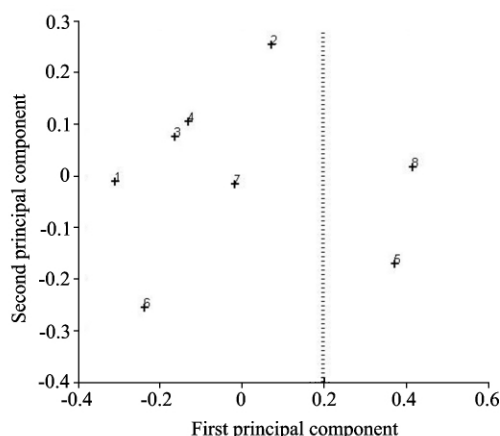


Fig 4 Cluster result by principal components

作为对照实验, 依据 2005 版药典对 1—6 号不同市售来源饮片做性状和显微鉴定, 结果显示: 1, 2, 3, 4, 6 号样品

为西洋参饮片, 5 号样品为西洋参伪品生晒参。

2.3.3 质量判定

提取本文表 1 中编号 7—12 的 6 种西洋参饮片的特征光谱曲线(同一时间采自广州清平药材市场不同摊位), 与西洋参对照品的特征光谱曲线相比较, 6 种不同市售来源西洋参饮片与西洋参对照药材的特征光谱具有共性: 在 495 和 525 nm 处具有双峰结构, 在 405~495 nm 的波段区间具有相同的递增变化趋势, 在 525~680 nm 的波段区间具有相同的递减变化趋势。以特征光谱曲线下的面积作为检品质量的分类依据, 以西洋参对照药材作为 A 级标准, 计算各检品与对照药材的欧氏距离, 并采用模糊分类的方法对 6 种西洋参饮片进行质量等级分类, 分类结果见表 3。实验结果表明, 六种西洋参饮片虽然均属正品, 但在质量方面存在明显差异。

Table 3 Results of quality identification

样品编号	7	8	9	10	11	12
质量等级	B	C	A	A	B	C

作为对照实验, 依据 2005 版药典对 6 种不同市售来源西洋参饮片做性状、显微及理化鉴定, 其结果与西洋参饮片的荧光光谱成像检测结果相吻合。

3 小结与讨论

(1) 实验连续采集了西洋参饮片的荧光光谱图像构成光谱立方体, 其中每一帧图像均精确配准, 其光谱分辨率为 5 nm, 每个像素的物空间尺度约 0.14 mm。结果表明, 西洋参饮片的荧光多光谱图像含有丰富的特征信息用以鉴别其真伪和质量。

(2) 实验获取了西洋参、人参、白芷和桔梗的荧光光谱图像数据, 分别提取了它们的特征光谱曲线。结果显示, 西洋参在 495 和 525 nm 处有双峰结构, 人参在 525 nm 的峰值明显高于 495 nm 处, 而白芷和桔梗的荧光峰都只有一个, 分别在 530 和 555 nm 处。另外, 白芷、桔梗的特征光谱曲线下面积明显小于西洋参和人参。采用数学解析方法可正确区分西洋参饮片及其伪品, 可实现西洋参饮片的质量评级。

(3) 就上述四种中药饮片的鉴别而言, 白芷最易区分, 不仅有伞形科植物特殊的挥发油气味, 而且, 断面有粉性, 皮部有油点。桔梗饮片虽然宏观性状的区别上不及白芷显著, 但粉末特征中有桔梗科植物所特有的菊糖, 乳汁管等构造, 显微鉴别也可以解决问题。因而, 近年来在市场上以白芷或桔梗冒充西洋参的案例已很少见到。目前市场上最常见是以生晒参充西洋参(因西洋参在销量和价格方面均大大超过人参)。西洋参与人参(生晒参)为同科同属植物, 亲缘关系相近, 形态构造相似, 在性状鉴别方面只有经验丰富的专业人员才能作出正确判断。使用光谱成像分析技术可以达到快速、无损鉴别的目的, 而且也有助于中药饮片鉴定中类似难题的解决。

References

- [1] XIE Zong-wan(谢宗万). Discussion of Varieties of Traditional Chinese Medicine(中药材品种论述, 上册). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press(上海: 上海科学技术出版社), 1999. 60.
- [2] Wei Guang Maa, Masanori Mizutania, Karl Egil Malterudc, et al. *Phytochemistry*, 1999, 52(6): 1133.
- [3] Wang Xiaomin, Takeo Sakuma, Ebenezer Asafu-Adjaye. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(8): 1579.
- [4] MA Xiao-qiong, WANG Long-xing, XU Qing(马小琼, 王龙星, 徐青). *Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报)*, 2004, 25(2): 238.
- [5] XUE Yan, WEN Li(薛燕, 闻莉). *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志)*, 2009, 29(1): 79.
- [6] Zhang Kun, Wang Xiao, Ding Lan. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2008, 24(6): 707.
- [7] Sritularak Boonchoo, Morinaga Osamu, Yuan Chun-Su. *Journal of Natural Medicines*, 2009, 63(3): 360.
- [8] Gowen A A, O'Donnell C P, Cullen P J. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, 18(12): 590.
- [9] Masry G E, Wang N, Sayed A E. *Food Science and Technology*, 2008, 41(2): 337.
- [10] ZHAO Jing, PANG Qi-chang, MA Ji(赵静, 庞其昌, 马骥). *Acta Photonica Sinica(光子学报)*, 2008, 37(4): 758.
- [11] State Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China(中华人民共和国卫生部药典委员会编). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典, Vol. 1)*. Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005.
- [12] LIU Jian-ming, TANG Xiao-bo, XIONG Li-xin(刘建明, 汤小波, 熊立新). *Jiangxi Journal of Traditional Chinese Medicine(江西中医药)*, 2009, 40(7): 61.
- [13] YU Qing, LI Tie-ming(余青, 李铁铭). *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine(辽宁中医药大学学报)*, 2009, 11(2): 154.
- [14] SONG Qin-xin, FENG Fang, ZHANG Xin-yue(宋沁馨, 冯芳, 张心悦). *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志)*, 2009, 29(1): 1.

In Vivo Identification of Radix Panacis Quinquefolii by Spectral Imaging Technology

ZHAO Jing¹, PANG Qi-chang², MA Ji^{3*}, LIU Chuan-ming³, 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 Radix Panacis quinquefolii pieces coming from different drug stores were tested by crystal liquid spectral imaging instrument, and a new method for quality control was presented. The spectral resolution is 5 nm, the spectral range is from 405 to 680 nm, and the spatial resolution is 50 lp · mm⁻¹. The characteristic spectrum from spectral cube was used to construct the fingerprint of Radix Panacis quinquefolii, and the fingerprint was analyzed by principal method to identify the counterfeit and to evaluate the quality. The result is fully consistent with biological character and chemical analysis result. So the technology is suitable for fingerprint construction and quality evaluation of traditional Chinese medicine. The whole testing process is noninvasive, fast and convenient.

Keywords Radix Panacis quinquefolii; Pieces; Nondestructive testing; Spectral imaging analysis; Construction of fingerprint

(Received Jan. 8, 2010; accepted Apr. 12, 2010)

* Corresponding author