

## 黄柏饮片光谱成像指纹图谱的研究

赵 静<sup>1,2</sup>, 马 骥<sup>3\*</sup>, 庞其昌<sup>2</sup>, 刘传明<sup>3</sup>, 孟庆霞<sup>2</sup>, 张万祥<sup>2</sup>, 林富斌<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学理学院, 广东 广州 510640; 2. 暨南大学 光电工程系, 广东 广州 510630;

3. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515)

**摘要:**目的 建立黄柏饮片的光谱成像指纹图谱,为其质量控制提供新的方法。方法 应用电可控液晶滤光光谱成像装置,测定 10 种不同市售来源的黄柏饮片,光谱分辨率为 5 nm,光谱覆盖范围为 480~680 nm,空间分辨率为 4 000 × 4 000。从成像光谱立方体中提取特征光谱,构建其指纹图谱;采用标准欧氏距离等聚类分析方法解析其指纹图谱。结果 黄柏饮片的光谱成像指纹图谱用于其品种和质量的鉴定,结果与性状、显微及理化鉴定结果相吻合。结论 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:**黄柏;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

文章编号:0253-2670(2010)03-0384-03

### Spectral imaging fingerprint of Cortex *Phellodendri Chinensis* pieces

ZHAO Jing<sup>1,2</sup>, MA Ji<sup>3</sup>, PANG Qi-chang<sup>2</sup>, LIU Chuan-ming<sup>3</sup>, MENG Qing-xia<sup>2</sup>,  
ZHANG Wan-xiang<sup>2</sup>, LIN Fu-bin<sup>2</sup>

(1. College of Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China; 2. Department of Optoelectronic Engineering, Jinan University, Guangzhou 510630, China; 3. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract : Objective** The spectral imaging method was used to establish the fingerprint for the pieces of *Cortex Phellodendri Chinensis*, which was a potential method and would be applied to quality control of Chinese materia medica (CMM). **Methods** Ten samples came from different drug stores were tested by the liquid crystal tunable filter apparatus. The spectral resolution was 5 nm, the spectral range was from 480 to 680 nm, and the spatial resolution was 4 000 × 4 000. The characteristic spectra obtained from the imaging spectrometer cubes were used to construct the fingerprint of *Cortex Phellodendri Chinensis*; the cluster analysis methods, such as standard Euclidean distance, were used to analyze the fingerprint. **Results** The identification results by the spectral imaging fingerprint accorded well with the result by the traditional biology and chemistry analysis method. **Conclusion** The spectral imaging analysis method can be used to construct the fingerprint and evaluate the quality of CMM. The testing course is convenient, quick, and noninvasive.

**Key words :** *Cortex Phellodendri Chinensis*; spectral imaging analysis; construction of fingerprint

黄柏为常用传统中药,味苦,性寒,清热燥湿,泻火解表,退虚热。来源系芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid 和黄檗 *P. amurense* Rupr. 的干燥树皮。前者习称“川黄柏”,主产四川、贵州等省区;后者习称“关黄柏”,主产东北。黄柏含多种生物碱,主要成分包括小檗碱、药根碱、木兰碱、黄柏碱、黄柏酮、黄柏内酯等。有关黄柏药材的有效成分测定、指纹图谱及道地性等方面的研究已有不少报

道<sup>[1-4]</sup>,但有关其饮片质量控制方面的探讨鲜有报道。为了全面控制黄柏饮片的质量,更好地保证临床用药的有效性和安全性,本实验应用光谱成像分析技术对黄柏及其伪品木蝴蝶 *Oroxylum indicum* (Linn.) Bentham ex Kurz 树皮<sup>[5]</sup>,黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels 树皮和 10 种不同市售来源的黄柏饮片,分别进行了检测,以标准欧氏距离等聚类分析方法构建其光谱成像指纹图谱,并作出比较分析,

收稿日期:2009-05-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(60908038);广东省科技计划项目重大专项资助(2004A10507001)

作者简介:赵 静(1976—),女,山西太原人,讲师,博士,主要从事光谱成像技术在生物检测方面的应用研究。

Tel: (020)85280324 E-mail: editzhj@gmail.com

\*通讯作者 马 骥 Tel: (020)61640470 E-mail: majilx@yahoo.com.cn

以期为黄柏饮片的质量控制提供新的有效方法。

### 1 仪器与材料

中药检测光谱成像装置,核心器件包括紫外光源及其干涉滤光片、Varispec 液晶电可控滤光器、镜头组、低照度面阵 CMOS、视频采集卡、计算机等,由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<sup>[6]</sup>。

所有样品经南方医科大学中医药学院刘传明副教授依据《中国药典》2005 年版一部黄柏项下药材性状鉴定、显微鉴定及理化鉴定等方法进行鉴定,并以药材经验鉴别判断质量等级,所有实验由南方医科大学中医药学院马骥教授复核,见表 1。

表 1 黄柏饮片的来源及采集时间

Table 1 Resource and collecting time of Cortex Phellodendri Chinensis

编号	来源	品种	采集时间
1	兰州安泰堂	关黄柏	2007-05-05
2	甘肃永新药业	关黄柏	2007-10-06
3	甘肃方民药业	关黄柏	2007-10-06
4	甘肃大药房	川黄柏	2007-10-07
5	广州同仁堂	川黄柏	2007-10-08
6	浙江慈溪胡国锐门诊	关黄柏	2008-10-19
7	上海南京路雷允上	关黄柏	2008-10-18
8	杭州胡庆余堂	川黄柏	2008-10-20
9	杭州同仁堂	关黄柏	2008-10-20
10	杭州方回春堂	川黄柏	2008-10-20

盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200609)、川黄柏对照药材(批号 121510-200702)、关黄柏对照药材(批号 120937-200506)均由中国药品生物制品检定所提供。

### 2 方法与结果

2.1 试验条件:实验采用单通道、连续光谱扫描方式工作。使用干涉滤光片将出射光中心波长控制为 254 nm。设置液晶滤光器的光谱扫描范围为 480 ~ 680 nm,每 5 nm 一帧。成像镜头聚焦在饮片表面;CMOS 接收器的曝光时间为 500 ms,与光谱扫描时间同步进行光谱图像采集。最后每个样品可得到一个由 41 幅光谱图像组成的光谱立方体。

2.2 检测方法:依次将对照药材和各黄柏饮片供试品放置在载物台的衬底上进行检测。在获得光谱立方体后,采用高通滤波器进行噪声去除,进而对整个样品统计平均获得特征光谱<sup>[7]</sup>。

#### 2.3 方法学考察

2.3.1 稳定性试验:取同一供试品(即由中国药品生物制品检定所提供的川黄柏对照药材和关黄柏对照药材),每 24 h 进样 1 次,连续测定 5 次,对比特征光谱曲线。5 条曲线峰形的相似度(用其协方差量度)

均大于 0.95。其特征峰位不变,各特征峰光强波动的不确定度小于等于测量值的 1.07%。表明供试品在本方法的检测特征中具有较好的稳定性。

2.3.2 精密性试验:取同一供试品,重复测定 5 次,对比特征光谱曲线。5 条曲线峰形的相似度(用其协方差量度)均大于 0.95。其特征峰位不变,各特征峰光强波动的不确定度小于等于测量值的 1.07%,表明仪器精密性良好。

2.3.3 重现性试验:取同一批供试品 5 份,进行检测,对比特征光谱曲线。5 条曲线峰形的相似度(用其协方差量度)均大于 0.95。其特征峰位不变,各特征峰光强波动的不确定度小于等于测量值的 1.07%。表明本方法的重现性良好。

2.4 试验结果:川黄柏、关黄柏对照药材和黄皮树皮的特征光谱见图 1。可以看出,川黄柏和关黄柏的特征光谱在 545、555、590 nm 具有波峰,在 585 nm 具有显著的波谷,在 480 ~ 680 nm 的检测波段具有相同的变化趋势。黄皮树皮的特征光谱在 520 nm 具有波峰,在 550 ~ 680 nm 光强单调递减。木蝴蝶树皮在可见光波段没有荧光效应。3 者的特征光谱区别显著。

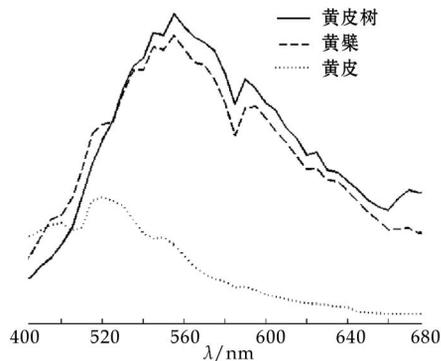


图 1 川黄柏、关黄柏、黄皮树皮的特征光谱曲线

Fig. 1 Character spectra of Cortex Phellodendri Chinensis, Cortex Pheodendri Amurensis, and dry bark of C. lansium

2.5 不同市售来源黄柏饮片及黄柏对照药材的特征光谱见图 2。其中曲线 11 和曲线 12 分别代表川黄柏和关黄柏对照药材。从波形看,10 种不同市售来源黄柏饮片与川黄柏和关黄柏对照药材的特征光谱具有共性:在 545、555、590 nm 具有波峰,在 585 nm 具有显著的波谷,在 480 ~ 680 nm 的检测波段具有相同的变化趋势。提取特征光谱中的特征峰 545、555、590 nm 高度和光谱曲线下的面积作为分类依据,以对照药材的特征作为 A 级标准,对 10 种黄柏饮片进行质量等级分类,分类结果见表 2。

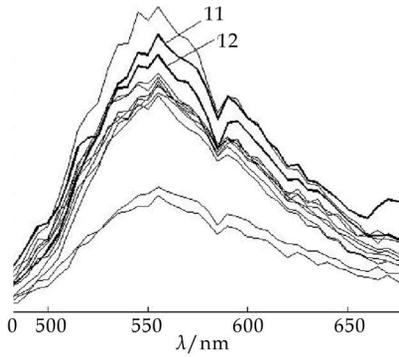


图 2 不同市售来源黄柏饮片的特征光谱

Fig. 2 Character spectra of Cortex Phellodendri Chinensis from different markets

表 2 黄柏饮片的质量等级

Table 2 Quality identification of Cortex Phellodendri Chinensis

质量等级	样品编号
A	3
B	2, 5, 6, 7, 8, 9, 10
C	1, 4

作为对照实验,依据《中国药典》2005 年版一部黄柏项下的检测方法对 10 种不同市售来源黄柏饮片做性状、显微及理化鉴定<sup>[8]</sup>,其结果与光谱成像检测结果相吻合。

归一化川黄柏、关黄柏对照药材和 10 种不同市售来源黄柏饮片的特征光谱,以 480 ~ 550 nm 波段区间的归一化特征光谱作为基源特性的表征,对其进行聚类分析,结果见图 3。

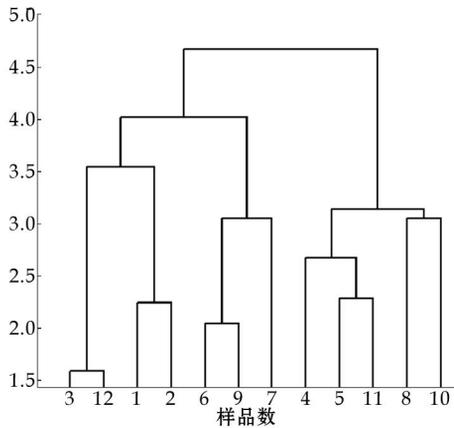


图 3 黄柏饮片的聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis of Cortex Phellodendri Chinensis pieces

其中编号 11、12 分别代表川黄柏和关黄柏的对照药材。设  $L$  为聚类距离,当  $L = 1.59$  时,样品 3 与关黄柏对照药材首先聚合;样品 1 与样品 2 在  $L = 2.24$  处聚合;样品 6 与样品 9 先在  $L = 2.04$  处

聚合,然后再与样品 7 在  $L = 3.05$  处归为一组;之后,上述 3 组样品在分类距离  $L = 4.01$  处聚合为一类。即样品 1、2、3、6、7、9 与对照药材关黄柏具有更接近的基源分类距离,与其聚合在一个类群中。样品 5 与川黄柏对照药材在  $L = 2.29$  处首先聚合,再与样品 4 在  $L = 2.27$  处归为一组;样品 8 与样品 10 在  $L = 3.05$  处聚合,之后,上述 2 组样品在分类距离  $L = 3.14$  处聚合为一类。即样品 4、5、8、10 与川黄柏对照药材具有更接近的基源分类距离,与其聚合在一个类群中。当分类距离  $L = 4.67$  时,12 个供试品聚合为一类。

作为对照实验,依据《中国药典》2005 年版一部对 10 种不同市售来源黄柏饮片做性状和显微鉴定,结果显示 4、5、8、10 号样品为川黄柏,1、2、3、6、7、9 号样品为关黄柏。

### 3 讨论

实验数据源为荧光多光谱图像。经实验验证在 254 nm 光源激发下,荧光多光谱图像含有的特征信息量最大。精确配准的多光谱图像具有 5 nm 的光谱分辨率和每像素约 0.14 mm 的空间尺度。

光谱成像技术是 20 世纪 70 年代末首先在美国发展起来的,现已在遥测遥感、地质勘探、刑侦分析等领域得到广泛应用。由于光谱成像技术可以同时得到被测物光谱维和空间维的丰富信息,近年来它的应用越来越受到生物医学、精细农业、食品等许多学科的重视。

用光谱成像技术构建的黄柏指纹图谱完全符合中药指纹图谱应当具备的特征性、专属性、稳定性、模糊性、重现性和有效性,所有数据均可量化。检测方法准确、快速、无损。不同形态的中药及不同的药用部位均可检测;同一样品可反复检测。

### 参考文献:

- [1] 董玉琼,何晓红,钟国跃. 黄柏质量研究现状与问题探讨[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 22(3): 58-60.
- [2] 杨宏,王天志,常艳波,等. 川黄柏的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国天然药物, 2006, 4(5): 360-362.
- [3] 丁晴,徐德然. HPLC 法同时测定黄柏中盐酸药根碱、盐酸巴马汀及盐酸小檗碱的含量[J]. 西北植物学报, 2004, 24(11): 2143-2145.
- [4] 方清茂,曹浩,舒光明. 川黄柏中盐酸小檗碱的含量及其道地性研究[J]. 华西药学杂志, 2004, 19(4): 275-276.
- [5] 马学敏,王力生,赵巍,等. RP-HPLC 法测定黄柏中黄柏内酯[J]. 中草药, 2006, 37(2): 279-280.
- [6] 曾云瑾. 黄柏及其伪品木蝴蝶树皮的鉴别[J]. 海峡药学, 2006, 18(5): 110-111.
- [7] 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, 37(4): 758-761.
- [8] 中国药典[S]. 一部. 2005.