

文章编号: 1001-3806(2008)05-0490-03

共振喇曼光谱法检测人体皮肤中类胡萝卜素

南楠^{1,2}, 邵永红³, 姜耀亮^{*}, 檀慧明¹

(1. 中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所, 长春 130033; 2 中国科学院 研究生院, 北京 100039; 3 深圳大学 光电工程学院, 深圳 518060)

摘要: 类胡萝卜素作为一种强抗氧化剂在人体的抗氧化防御系统中起着重要作用, 它在人体中的含量可以用来表征人体的健康状况。为了研究人体中的类胡萝卜素含量, 采用了共振喇曼光谱法检测人体皮肤中的类胡萝卜素。经过反复实验得到了实验参量的最佳选择。例如选择测量部位为拇指内侧, 入射波长 473nm, 入射光强度 20mW, 曝光时间 5s。同时通过甘油匹配的方法增加了探测到的喇曼信号的强度。利用拟合差分算法有效去除了荧光背景噪声。最终获得了明显的人体皮肤中类胡萝卜素的喇曼光谱。结果表明, 用共振喇曼光谱法检测人体皮肤中类胡萝卜素是一种行之有效的办法。

关键词: 医用光学与生物技术; 喇曼光谱; 类胡萝卜素; 人体皮肤

中图分类号: R318.51 **文献标识码:** A

Study of carotenoid in human skin by means of resonance Raman detection

NAN Nan^{1,2}, SHAO Yong-hong³, JIANG Yao-liang^{*}, TAN Huiming¹

(1. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China; 2 Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3 Optics Engineering College, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract Carotenoid molecules are powerful antioxidants that play an important role throughout the human body. The level of carotenoid in human body can be used to reflect the human's health condition. Experiments were carried to detect the carotenoid in human. After tests repeatedly, suitable experimental parameters were determined. That is to say, the best location to perform the measurement is thumb, laser's wavelength is 473nm, intensity of laser is 20mW and exposure time is 5s. At last obvious resonance Raman spectra of carotenoid in human skin was obtained after the fluorescence background was fitted and subtracted from the original spectra by means of fitted differential algorithm. Experimental results prove that resonance Raman spectra is applicable for carotenoid detection in human.

Key words medical optics and biotechnology; Raman spectra; carotenoid; human skin

引 言

类胡萝卜素包括 α 、 β 胡萝卜素、番茄红素、脂色素及玉米黄质等。在人体的抗氧化防御系统中扮演重要的角色。类胡萝卜素不但具有眼保健、皮肤保健和心血管保健等功能, 还能够预防和治疗癌症。它在人体中的含量与患某些癌症的危险性明显相关^[1]。因此, 机体中类胡萝卜素含量的测试有极其重要的意义。

传统的检测方法是高压液体色层分析法。它耗时又昂贵, 不适宜临床推广。现在生物医学中使用的另一种方法是喇曼光谱法。它测量准确、简单迅速, 可以立即得出结果; 并且这是一种非侵入式的方法, 安全

卫生, 不会给被测者带来任何痛苦与伤害, 十分适合临床推广。2001 年, 美国盐湖城犹他大学的 GELLER-MANN 等人进行了一系列将喇曼光谱法应用于皮肤类胡萝卜素检测的临床研究, 并发明了一种小型便携式生物光子扫描仪^[2,3]。我国在这方面的研究相对落后一些, 2006 年, LI 和 GUO 等人分别从医学角度使用上述仪器进行了类胡萝卜素重要性的临床研究^[4,5]。作者用这种方法对探测人体类胡萝卜素进行了实验研究, 经过反复实验获得了最佳实验参量, 并通过甘油匹配、拟合差分算法等处理方法最终获得了清晰的人体类胡萝卜素喇曼光谱。

1 原 理

当一束光射入介质后, 除了被介质吸收外, 部分光穿过介质或被介质反射, 另外还有一小部分光被散射。散射光是由光子与介质中的粒子、准粒子发生碰撞产

作者简介: 南楠 (1982-), 女, 硕士研究生, 主要从事全固体激光器方面的研究。

* 通讯联系人。E-mail: jiang_yao-liang@163.com

收稿日期: 2007-6-13 收到修改稿日期: 2007-11-14

生的。散射光频率不发生变化的称为瑞利散射, 散射光频率产生变化的称为喇曼散射。喇曼散射中频率的变化叫频移, 每种物质的喇曼频移都是其特有的, 可以用来鉴别物质。喇曼散射光的强度非常弱, 不易被检测到, 但是, 当激发光的频率处于该物质的吸收谱带以内时, 由于电子跃迁和分子振动的耦合, 使某些喇曼散射线的强度增加了 10^2 倍 ~ 10^3 倍, 这个效应被称为共振喇曼散射。

类胡萝卜素的喇曼频移谱见图 1, 峰值分别为由 C-CH₃ 引起的 1008cm^{-1} , 由 C-C 引起的 1159cm^{-1} 和由 C=C 引起的 1524cm^{-1} ^[6]。在 473nm 激光激发下, 对应的光谱分别为 496 681nm, 500 434nm 和 509 745nm。

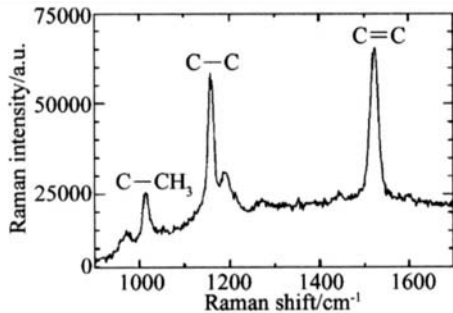


Fig 1 Resonance Raman spectra of carotenoid

2 实验装置与结果

2.1 实验装置

实验装置如图 2 所示。激光器 (波长 473nm, 功率

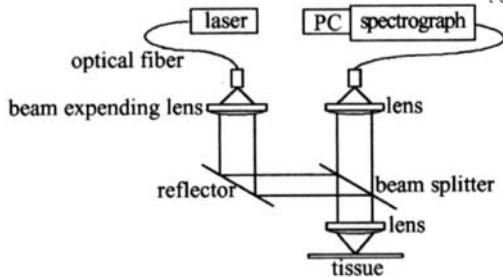


Fig 2 Schematic of the experimental setup for the carotenoid Raman detector

0mW ~ 100mW 连续可调) 发出的 473nm 蓝光通过光纤 (芯径 400 μm) 耦合输出, 输出的光通过透镜 ($f=8\text{mm}$) 扩束成平行光, 经过反射镜 (与水平位置 45° 放置) 反射到同样 45° 放置的分束镜 (镀 45° 角入射 473nm 高反膜, 相当于消瑞利滤光片) 上, 再次被反射后, 由透镜 ($f=39\text{mm}$) 聚焦到被测物质上并激发出瑞利散射光和类胡萝卜素的共振喇曼散射光。散射光再被透镜收集变成平行光传输, 经过分束镜时过滤掉 473nm 的瑞利散射光, 令其它波长的光通过。因为与瑞利散射的强度相比, 即使是共振喇曼散射信号的强度也弱很多, 如果不滤掉瑞利散射光, 它将会使光谱仪中的 CCD 饱和, 对喇曼信号的测量带来严重影响。透

过的喇曼光经过透镜 ($f=20\text{mm}$) 耦合到光纤中, 再传输到光谱仪 (ocean optics USB2000), 被光谱仪分光后, 将信号传到计算机观察光谱图。实验中注意到了左右两侧光路的隔离, 不使杂散光通过光纤传到光谱仪中影响喇曼信号。而且, 在实验过程中, 整个实验仪器需要遮光处理, 以免环境中背景光太强影响信号。另外上面提到的生物光子扫描仪中使用的光源是 488nm 氩离子激光器^[7]。使用全固体激光器, 它相比氩离子激光器体积小效率高、可靠性好、价格便宜。

2.2 实验结果与分析

实验中先用胡萝卜进行测试, 胡萝卜中类胡萝卜素的浓度比人体皮肤中的浓度高得多, 因此喇曼信号的强度也会强得多。图 3 就是实验中测得的胡萝卜的类胡萝卜素喇曼光谱。在图中底部非常宽的背景来自

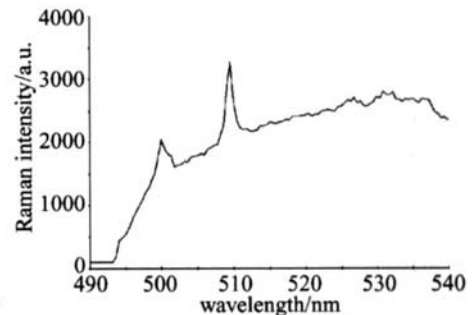


Fig 3 Raman spectra of carotenoid in carrot

于胡萝卜组织发出的荧光, 背景上两个明显的分别位于 500 434nm 和 509 745nm 的峰则是类胡萝卜素激发出的喇曼峰。荧光与喇曼光是相伴而生的无法消除。图 4 是利用软件对原始信号进行拟合差分算法后, 去掉荧光背景得出的类胡萝卜素的喇曼光谱。

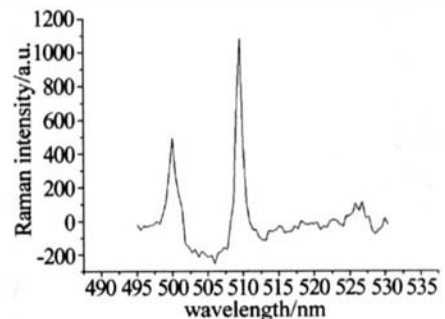


Fig 4 Raman spectra for carrot after the background is subtracted

在胡萝卜的类胡萝卜素共振喇曼谱测试得到了极为清晰的结果后, 进一步对手皮肤进行测试。测试过程中发现喇曼信号很小, 不十分明显, 于是进行了两方面的改进。其一, 人手皮肤上的喇曼信号比胡萝卜中的小很多, 以致背景噪声不能再忽略。由图 5 可以看到在广阔的荧光背景上有小小的尖峰, 但是由于噪声比较严重 509 745nm 处的尖峰并不明显。因此单独采集了噪声信号, 在原有信号中减去噪声信号, 再减

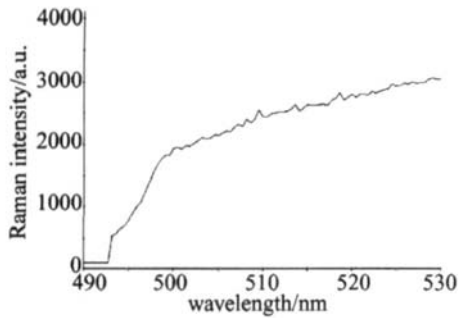


Fig 5 Raman spectra of carotenoid in human skin

去来自于人体皮肤的荧光信号,就得到了清晰的509.745nm处的喇曼峰。如图6所示可知,509.745nm处非常突出的喇曼峰。其二,考虑到测量部位是拇指,

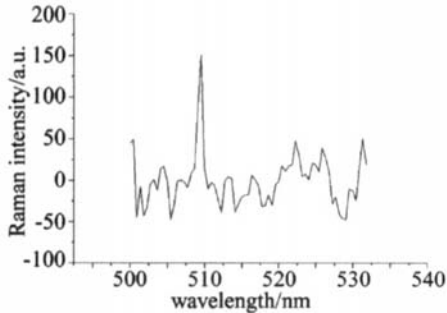


Fig 6 Raman spectra for human skin after the background is subtracted (with glycerin)

表面凹凸不平,向各处散射很严重,实验中先用酒精擦拭拇指去掉拇指上的杂质,再涂上一层与皮肤折射率相近的甘油,相当于使皮肤平整化,既减少了入射光在皮肤表面的损失,又增加了喇曼散射光的收集。另外,甘油的吸收光谱在412nm处,发射光谱在450nm处,不会影响到待测喇曼信号的谱线。图6(涂抹甘油)中喇曼信号峰值可达到151(相对强度),而图7(未涂

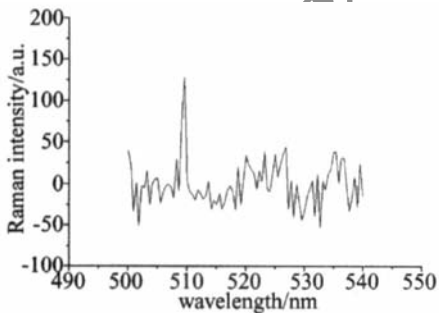


Fig 7 Raman spectra for human skin after the background is subtracted (without glycerin)

甘油)中喇曼信号的峰值只有128(相对强度),由此可见涂甘油可获得更高的喇曼峰值。

实验中对入射光强度与曝光时间的选择是一对矛盾。人体中的类胡萝卜素含量很少,喇曼信号的强度非常弱,提高被测物质上的光功率密度可以使被激发出的喇曼光强度增加,但是功率密度受到激光安全标

准(ANSI Z136.1)的限制不能太高。同时因为荧光猝灭现象的存在,即荧光随着时间增加逐渐变小,而喇曼信号不变。随着曝光时间的增加,喇曼信号强度的增量要大于荧光强度的增量,从而可以使喇曼信号的相对强度变大。所以,增大入射光强度和延长曝光时间都可以使喇曼信号的强度增大。但是光谱仪中CCD探测器所能探测的最大强度是一定的,即CCD接收到的光强与时间的乘积是一个定值,所以入射光强度与曝光时间的选择是相互制约的。当入射光强度增大时,喇曼信号的强度会增大,同样荧光强度也会增大,为了不使CCD饱和就需要相应地缩短曝光时间。反之入射光强度小时可以适当延长曝光时间。采用功率20mW的激光经反复实验,被测物质上的光斑大小约为 1mm^2 ,皮肤表面上的功率密度约为 $2\text{W}/\text{cm}^2$,符合激光安全标准。曝光时间定为5s,这使得整个测量过程可以在1min之内完成。

3 结论

对用共振喇曼光谱法检测人体皮肤中的类胡萝卜素进行了实验研究。通过反复实验确定了对入射光强度、测量部位、曝光时间等的选择,并通过甘油匹配、拟合差分算法等处理方法最终获得了清晰的人体类胡萝卜素喇曼光谱,完成了对人体皮肤中类胡萝卜素喇曼光谱的定性测量。如果能够增大光谱仪中CCD的最大测量强度,进一步优化光功率密度与曝光时间的选择,将会得到更好的结果。

参 考 文 献

- [1] LI Ch L, BIS X, JIA Sh, *et al*. The new function of carotenoids and clinical appraisal [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine 2006, 18(6): 285-288 (in Chinese).
- [2] GELLERMANN W, BERNSTEIN P S, McCLANE R W. Method and apparatus for non invasive measurement of carotenoids and related chemical substances in biological tissue USA, 6205354B1 [P]. 2001-03-20.
- [3] ERMAKOV IV, SHARIFZADEH M, ERMAKOVA M, *et al*. Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissue [J]. Journal of Biomedical Optics 2005, 10(6): 064028.
- [4] LI Ch L, BIS X, POOLE S, *et al*. Using biophotonic scanner inspect the content of carotenoid in human body [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacy 2006, 15(2): 124-125 (in Chinese).
- [5] GUO H W, HUANG L, HUANG Zh Y, *et al*. Detection of skin carotenoids with resonance Raman spectroscopy [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine 2006, 23(3): 204-206 (in Chinese).
- [6] HATA T R, SCHOLZ T A, ERMAKOV IV, *et al*. Non-Invasive Raman spectroscopic detection of carotenoids in human skin [J]. The Journal of Investigative Dermatology, 2000, 115(3): 441-448.
- [7] ERMAKOV IV, ERMAKOVA M R, McCLANE R W, *et al*. Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissues [J]. Opt Lett 2001, 26(15): 1179-1181.