

文章编号: 0258-7025(2008)05-0685-05

三维荧光光谱技术及平行因子分析法在 绿茶分析及种类鉴别中的应用

刘海龙 吴希军 田广军

(燕山大学电气工程学院, 河北 秦皇岛 066004)

摘要 提出了一种绿茶成分分析和种类鉴别的新方法。利用 FS920 荧光光谱仪测量得到国内生产的 26 个绿茶样品的三维荧光光谱矩阵(EEMs),建立了不同种类绿茶在特定范围内(激发波长为 300~550 nm,发射波长为 310~750 nm)的三维荧光光谱图和等高线光谱图。采用平行因子分析法(PARAFAC)计算得到绿茶的 3 因子激发-发射光谱轮廓图和样品因子投影得分图。通过因子光谱特征分析确定绿茶的三种主要成分(茶多酚、黄酮醇及叶绿素);通过三维荧光光谱图和等高线光谱图的图谱特征和样品因子投影得分图的分析,证实三维荧光光谱技术和平行因子分析法对绿茶进行成分分析和种类鉴别,是一种高效、精确的方法。

关键词 光谱学;三维荧光光谱;平行因子分析法;绿茶

中图分类号 O 657.3 文献标识码 A

Three-Dimensional Fluorescence Spectroscopy Combined with Parallel Factor Analysis as a Complementary Technique for Green Tea Characterization

Liu Hailong Wu Xijun Tian Guangjun

(Electrical Engineering College of Yan Shan University, Qinhuangdao, Hebei 066004, China)

Abstract This paper proposes a new method for analyzing and characterizing green teas. The excitation-emission fluorescence matrixes (EEMs) of twenty-six types of green teas were measured with FS920 fluorescence spectrometer. The three-dimensional (3D) spectra and contour maps were obtained by measuring the emission spectra in the range from 310 nm to 750 nm, and excitation wavelengths from 300 nm to 550 nm. The excitation and emission profiles of three factors were plotted from parallel factor analysis (PARAFAC) model. The spectra characters of three main components (tea polyphenols, flavonol, chlorophyll) in green teas were ascertained. Different green teas can be characterized and distinguished with the sample projection plots of the PARAFAC model. The results demonstrate the capability of the combination of 3D fluorescence spectra technology and three-factor PARAFAC model for characterizing, differentiating and analyzing green teas.

Key words spectroscopy; three-dimensional fluorescence spectroscopy; parallel factor analysis; green tea

1 引言

绿茶的主要成分包括茶多酚,类黄酮,茶碱,栝精,维生素 E,维生素 B₁,水杨酸盐,多聚糖,氨基酸,香叶醇,丹宁酸,叶绿素等^[1]。绿茶的分析技术主要有色谱技术、质谱法、红外光谱技术和原子吸收光谱技术等^[2,3]。但是这些方法具有耗时及需要预处理等缺点,使得在线测量和分析较为困难。而荧光光谱技术具有速度快、取样量少、非破坏性、灵敏度高、重现性好等优点,已经发展成为一种十分重要

而且有效的光谱化学分析手段,并广泛应用于食品安全检测^[4~7]。

本文通过建立 26 个绿茶样品的三维荧光光谱图,验证利用三维荧光光谱和等高线荧光光谱图进行绿茶种类鉴别的可能性。并应用三维数据分析方法(平行因子法(PARAFAC))分解测量得到的三维荧光光谱数据,建立绿茶的激发-发射光谱和绿茶主要成分之间的关系。同时利用平行因子模型建立绿茶的样品因子得分图来进行绿茶的种类鉴别。

收稿日期:2007-02-02;收到修改稿日期:2007-11-08

基金项目:国家自然科学基金(20577038)资助项目。

作者简介:刘海龙(1979—),男,讲师,研究方向为荧光检测技术和光信息储存技术。E-mail:fenghang05@126.com

三维荧光光谱技术与平行因子法相结合应用于绿茶分析,可以建立绿茶的光谱指纹特征;有助于解决测量光谱的激发发射光谱重叠问题,消除激发峰2次倍频对最大发射峰位的影响;并可以精确地比较和鉴别绿茶中主要成分,对于绿茶的出口和克服绿色壁垒问题有着重要意义。

2 实验材料及数据处理

从市场购买国内生产的绿茶26个样品,用天平称取每个样品10g分别放入26个烧杯。用100 mL,100 °C的蒸馏水浸泡30 min,冷却至13 °C,用作26个测量样品。

三维荧光光谱数据用FS920荧光光谱仪测量得到。激发波长范围从300~550 nm,步长为10 nm;发射波长范围为310~750 nm,扫描步长为2 nm。每个样品都得到一个221×26的荧光数据矩阵。总的数据矩阵为26×221×26。

平行因子分析法,是基于三线分解理论采用交替最小二乘算法实现的一种数学模型。广泛应用于三维和高维数据的分析及应用。用来分解 N 维数据到 N 个负载矩阵中。

测量得到的绿茶荧光光谱数据矩阵(EEMs)是一个 $I \times J \times K$ 的矩阵。其中 I 为样品数目, J, K 分别为样品的发射波长和激发波长数目。利用平行因子法分解模型,如图1所示。将其分解为得分矩阵 A ,负载矩阵 B 和 C 。分解模型可表示为

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk},$$

$$i = 1, \dots, I, j = 1, \dots, J, k = 1, \dots, K \quad (1)$$

式中 x_{ijk} 为第 i 个样品,发射波长 j ,激发波长 k 处的荧光强度值; F 为负载矩阵列数,代表因子数; e_{ijk} 为残差元素,表示变量不能被模型解释的大小; a_{if}, b_{jf}, c_{kf} 分别为负载矩阵 A, B, C 中的元素。算法的具体步骤为^[8]:

- 1) 确定体系的因子数 F ;
- 2) 初始化矩阵 B, C ;

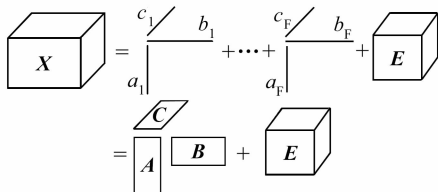


图1 平行因子法模型分解示意图

Fig. 1 Graphical representation of PARAFAC decomposition

- 3) 计算负载矩阵 A

$$Z_1 = A | \otimes | B$$

$$A = XZ_1(Z_1^T Z_1)^+ \quad (2)$$

- 4) 计算负载矩阵 B

$$Z_2 = (C | \otimes | A)$$

$$B = XZ_2(Z_2^T Z_2)^+ \quad (3)$$

- 5) 计算负载矩阵 C

$$Z_3 = (B | \otimes | A)$$

$$C = XZ_3(Z_3^T Z_3)^+ \quad (4)$$

- 6) 重复3)~5)步,至算法收敛,即最小损失函

$$\text{数 } f_{\text{SSR}} = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K e_{ijk}^2 < 1 \times 10^{-6}.$$

3 结果及讨论

3.1 绿茶的三维荧光光谱

图2给出了26个样品中碧螺春、黄山毛峰、铁观音(观音王)、龙相4种著名绿茶在激发波长为300~550 nm,发射波长为310~750 nm范围内的三维荧光光谱和等高线光谱图。等高线光谱图可以清楚地表达不同种类绿茶荧光光谱强度尖峰的激发、发射波长的准确位置和相对强度的大小。可以看出绿茶的荧光光谱有3个强度较大的尖峰,它们的激发/发射波段分别位于365~390 nm/450~470 nm,480~500 nm/510~520 nm,410~430 nm/670~680 nm,2个强度较弱的尖峰,它们的激发/发射波段分别位于440~460 nm/510~520 nm,450~470 nm/660~670 nm。光谱图在一定程度上存在重叠现象。

茶多酚的最佳激发/发射波长为494/515 nm^[9],所以480~500 nm/510~520 nm范围内的尖峰为茶多酚的光谱指纹特征。黄酮醇最佳激发波长为352~382 nm^[10],因此365~390 nm/450~470 nm范围内的强度尖峰表征类黄酮类物质黄酮醇的荧光光谱指纹特征。其余波段光谱特征可归功于绿茶中的叶绿素的作用。

不同种类的绿茶的三维荧光光谱差别较大,主要体现在3个强度尖峰形状和相对强度大小的不同。产生这种荧光光谱图差异的主要原因为4种绿茶生长环境和采摘时机及制作工艺的差别,其中采制的碧螺春嫩叶中含有丰富的氨基酸和茶多酚。所以从图中可以得到其代表茶多酚特性的尖峰(480~500 nm/510~520 nm)强度最大,碧螺春干叶的含水率较低只有7%,在炒制过程中叶绿素遭到大量破坏,所以代表叶绿素特征的尖峰强度较小。由于

铁观音没有经过杀青制作工艺,故其叶绿素特征比其他品种绿茶较为显著,而在其做青过程中,叶中的多酚类物质在酶的作用下缓慢氧化,故其茶多酚特征尖峰较小。样品中同种绿茶呈现类似的荧光光谱,当然产地的不同在其峰值相对荧光强度和形状

方面稍有差别。可以建立绿茶种类的三维荧光光谱数据库,利用三维荧光光谱的峰值的相对强度的大小、尖峰形状及峰值附近某个区域内的荧光强度统计参数来区分不同种类和地区的绿茶。

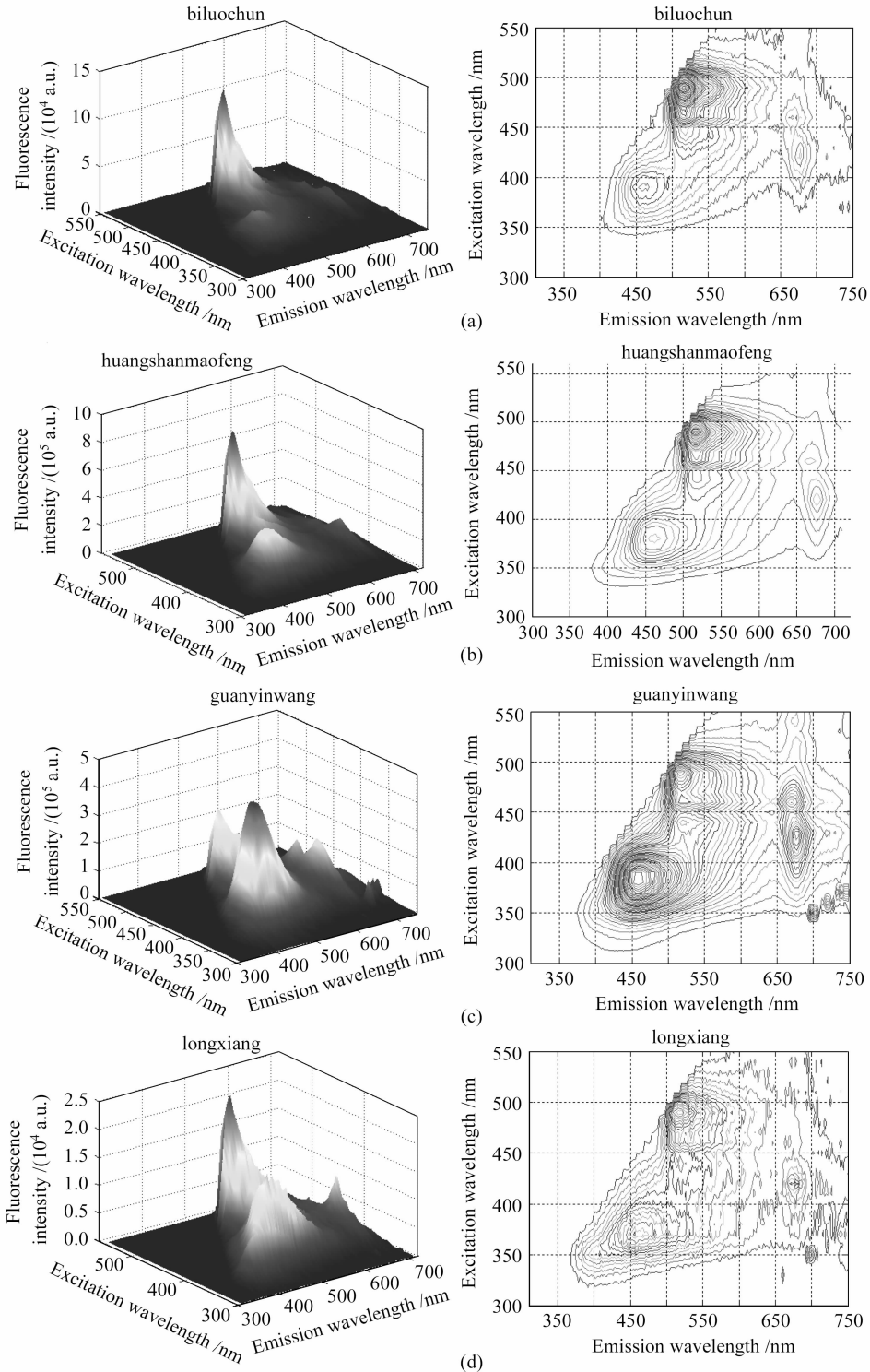


图 2 4 种茶叶的三维荧光光谱和等高线荧光光谱图

Fig. 2 3D fluorescence spectrum and contour maps fluorescence spectrum of various green teas

3.2 平行因子分析结果

采用平行因子分析法直接分析测量得到 $26 \times 221 \times 26$ 维的数据矩阵。计算得到与绿茶荧光光谱数据矩阵因子数相关的中心连续系数分布图如图 3 所示。图中的圆点表示 0 元素,圆环表示非 0 元素,如果因子数选得合适,超对角中元素(圆环)接近 1,非 0 元素(圆点)越接近 0。中心连续系数越接近 100%说明采用该因子数的平行因子模型来分析实验数据的准确性越好,如果系数小于 50%说明这个因子模型不适合。从图中可以看出因子数为 3 时,中心连续系数为 93.6299%,说明绿茶三维荧光数据矩阵用 3 因子平行因子模型分析准确性很高。

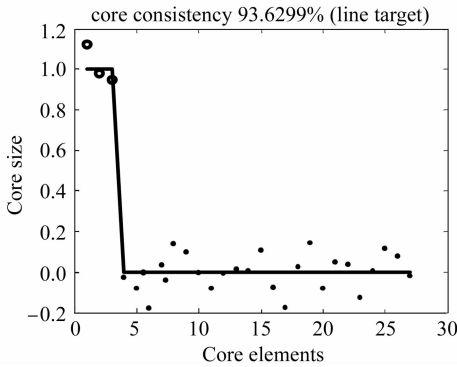


图 3 3 因子平行因子模型中心连续图
Fig. 3 Core consistency plot of three-factor PARAFAC model

利用平行因子模型得到 26 个绿茶样品的 3 因子激发、发射光谱轮廓图如图 4 所示。图中因子 1 的激发/发射波长为 380/458 nm,因子 2 的最佳激发发射波长为 490/516 nm,因子 3 的最佳激发波长有 2 个分别为 430 nm, 460 nm; 最佳发射波长有 508 nm 和 678 nm。因子 1 的特征可以归功于绿茶中类黄酮类物质,其中黄酮醇最佳激发波长为 352~382 nm,所以因子 1 表征绿茶中黄酮醇类物质的相关荧光光谱特征。比较可以得知因子 2 的激发发射光谱和茶多酚的激发发射光谱非常接近,茶多酚的最佳激发/发射波长为 494/515 nm,所以因子 2 表征的是绿茶中茶多酚的荧光光谱。而因子 3 和叶绿素 a 的激发发射谱非常类似,说明绿茶中的叶绿素 a 可以用因子 3 来表征。其中因子 3 还有一个发射波长为 540 nm,这是由于绿茶中微量元素硒的影响所致。图 2 中三维荧光光谱激发发射波长在 480~500 nm/510~520 nm 范围内荧光峰值的主要作用成分为茶多酚,在 365~390 nm/450~470 nm 范围内荧光峰值的主要作用成分为黄酮醇。其余 3 个波段内的荧光峰值则主要归功于茶叶中的叶绿素作

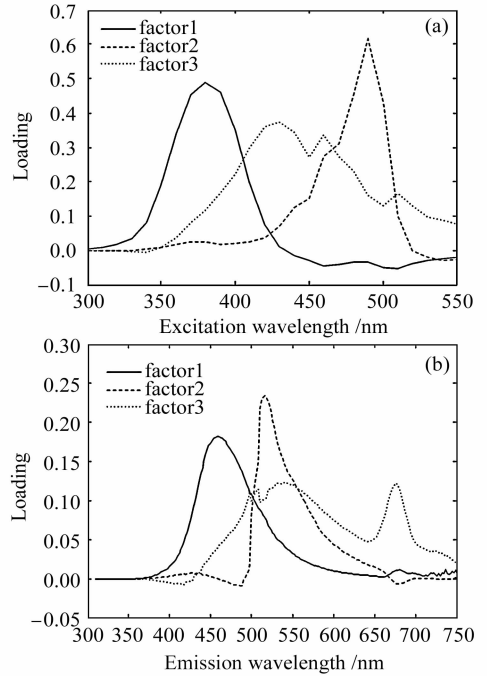


图 4 3 因子的激发(a)和发射(b)光谱轮廓图
Fig. 4 Excitation (a) and emission (b) profiles of three factors obtained from PARAFAC model

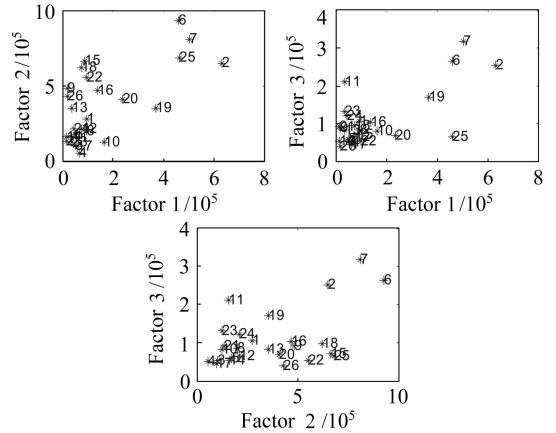


图 5 样品的因子投影图
Fig. 5 Sample projection plots of PARAFAC 用。

图 5 为 26 个样品在 3 个因子上的投影得分图。从图中可以看出不同类型的绿茶在不同因子上得分不同。样品 2 是观音王,其在 3 个因子上得分都比较高,以因子 1 的得分最高,反映了铁观音表征黄酮醇的荧光峰值最高。样品 13 是碧螺春。比较样品 2 和样品 13 可以得知不同种类绿茶的因子得分有明显区别。同种类型绿茶的因子得分会出现聚集现象,在 3 幅子图中都可以明显看出。21 和 14 都是六安瓜片的两个样品,发现两个样品在 3 个因子上投影得分几乎相同。可以利用不同种类绿茶的因子

投影得分不同来分析其三维荧光光谱中峰值强度相对值的大小;可以根据不同种类样品因子得分的不同,同种类绿茶样品得分因子分布图聚集特点,来区分不同种类的绿茶。

4 结 论

建立了不同种类绿茶的三维荧光光谱和等高线荧光光谱图,可以利用不同种类绿茶三维荧光光谱特征的不同来进行种类区别。利用 3 因子平行因子模型分析了绿茶的三维荧光光谱数据,验证了 3 个因子的平行因子分析法分析绿茶数据的准确性;得到了绿茶中主要成分茶多酚、类黄酮类物质和叶绿素 a 的荧光分辨轮廓;并分析了不同样品在 3 因子上的投影得分图的特点。说明可以利用因子得分图来进行绿茶主要成分分析和种类区分。利用三维荧光光谱技术和平行因子分析方法进行了绿茶分析和种类区分,为绿茶分析技术提供了一种新方法。

参 考 文 献

- Du Juyu, Bai Lan, Bai Baozhang. The main chemical compositions of tea [J]. *Agriculture & Technology*, 2003, **23**(1):53~54
杜继煜,白 岚,白宝璋. 茶叶的主要化学成分[J]. *农业与技术*, 2003, **23**(1):53~54
- Wipawee Pongsuwan, Eiichiro Fukusaki, Takeshi Bamaba *et al.*. Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, **55**(2):231~236
- H. Schulz, U. H. Engelhardt, A. Wegen *et al.*. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to the simultaneous prediction of alkaloids and phenolic substances in green tea leaves [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, **47**(12):5064~5067
- Gale M. Strasburg, Richard D. Ludescher. Theory and applications of fluorescence spectroscopy in food research [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1995, **6**(3):69~75
- Wang Zhongdong, Wu Jinling, Li Dongming *et al.*. Fiber-optic measurement system for pesticides residua based on fluorescence mechanism [J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(7):1003~1008
王忠东,武金玲,李东明等. 基于荧光机制的光纤农药残留测量系统[J]. *中国激光*, 2006, **33**(7):1003~1008
- Lu Lu, Su Rongguo, Hu Xupeng *et al.*. Chlorophyll fluorescence excitation spectra by Gaussian decomposition [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(8):1115~1119
卢 璐,苏荣国,胡序朋等. 高斯分解法研究浮游植物荧光激发光谱[J]. *中国激光*, 2007, **34**(8):1115~1119
- Dai Songhui, Li Ping, Yang Xiaozhan *et al.*. Fluorescence spectra of lycopene in different solvents [J]. *Acta Optica Sinica*, 2006, **26**(1):141~146
戴松晖,李 萍,杨晓占等. 不同溶剂中番茄红素的荧光光谱及其特性研究[J]. *光学学报*, 2006, **26**(1):141~146
- Rasmus Bro. PARAFAC. Tutorial and application [J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory System*, 1997, **38**:149~171
- Zhang Lixia, Jia Ming, Xia Wenjuan *et al.*. Studies on the green fluorescence of tea polyphenols [J]. *Journal of Tea Science*, 2004, **24**(4):288~294
张丽霞,贾 明,夏文娟等. 茶多酚绿色荧光特性研究[J]. *茶叶科学*, 2004, **24**(4):288~294
- Cui Hongbin. Researching and Applying the Active property of Isoflavone in soybean [M]. Beijing: Science Press, 2005. 20~150
崔洪斌. 大豆异黄酮活性研究与应用[M]. 北京:科学出版社, 2005. 20~150