

香精掺假普洱茶的近红外光谱检测

王淑贤¹, 肖航², 杨振发², 姜明顺², 隋青美², 冯德军^{1*}

¹ 山东大学信息科学与工程学院, 山东 青岛 266237;

² 山东大学控制科学与工程学院, 山东 济南 250061

摘要 建立一种能够快速、定量检测掺假普洱茶中香豆素、香兰素、乙基麦芽酚三种常见香精的方法。利用傅里叶变换近红外光谱技术结合偏最小二乘法对香精掺假普洱茶进行定量分析。分别建立三种掺假香精成分的定量分析模型, 并对比基于不同预处理方法和未经光谱预处理的定量分析模型的预测能力。结果表明: 结合不同光谱预处理方法实现的针对香豆素、香兰素和乙基麦芽酚三种香精的预测均方根误差分别为 0.1461, 0.1678, 0.1800, 预测决定系数分别为 0.7989, 0.7350, 0.6938, 三种香精的检测限为 0.2 mg/g。近红外光谱技术结合偏最小二乘定量分析方法可以实现掺假普洱茶中三种香精成分的快速检测分析。

关键词 光谱学; 近红外光谱技术; 香精; 普洱茶; 偏最小二乘

中图分类号 O657.33

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP57.233005

Detection of Flavor Adulterated Pu'er Tea by Near-Infrared Spectroscopy

Wang Shuxian¹, Xiao Hang², Yang Zhenfa², Jiang Mingshun², Sui Qingmei², Feng Dejun^{1*}

¹ School of Information Science and Engineering, Shandong University, Qingdao, Shandong 266237, China;

² School of Control Science and Engineering, Shandong University,

Jinan, Shandong 250061, China

Abstract In this work, a quick and quantitative detection method for three common flavors, i. e., coumarin, vanillin, and ethyl maltol, in flavor adulterated Pu'er tea is established. The Fourier transform near-infrared spectroscopy combined with the partial least squares method is used to quantitatively analyze the flavor adulterated Pu'er tea. The quantitative analysis models for three adulterated flavor components are established, and the predictive capabilities of the quantitative analysis models built with different pre-processing methods and without spectral pre-processing are compared. The results show that the predicted root mean square errors of the three flavors of coumarin, vanillin, and ethyl maltol by combining different spectral pre-processing methods are 0.1461, 0.1678, and 0.1800, respectively, and the prediction determination coefficients are 0.7989, 0.7350, and 0.6938, respectively. The detection limit of three flavors is 0.2 mg/g. The near-infrared spectroscopy combined with the partial least squares quantitative analysis can achieve rapid detection and analysis of the three flavors in adulterated Pu'er tea.

Key words spectroscopy; near-infrared spectroscopy; flavors; Pu'er tea; partial least squares

OCIS codes 300.6340; 120.4290

1 引言

中国具有悠久的茶叶种植历史, 是世界上茶叶生产大国和消费大国, 茶文化源远流长。普洱茶是我国云南省特有的茶品, 主要产自于云南省的西双版纳、临沧、普洱等地区, 具有独特的滋味和香气^[1]。

普洱茶不仅承载着悠久的“茶马古道”历史文化, 而且是我国茶产业的关键组成部分。研究表明, 普洱茶具有降脂^[2]、抗菌、抗病毒和通便作用^[3], 受到了人们的大力追捧, 获得了较大的市场空间。

近年来, 食品质量和食品安全问题频发, 茶叶农药残留^[4]、掺假、劣质茶冒充高档茶、陈茶冒充新茶

收稿日期: 2020-03-02; 修回日期: 2020-05-14; 录用日期: 2020-05-20

基金项目: 国家自然科学基金(61377043)、山东大学跨学科人才培养项目(2018JCG06)

* E-mail: dejunfeng@sdu.edu.cn

问题也时有出现^[5-6]。高品质普洱茶的价格比市场上其他大多数茶叶都要高,造成一些不法商家向普洱茶中非法添加香精,以增加普洱茶的香气,这严重违反了《食品添加剂使用标准》(GB 2760-2014)中有关茶叶生产过程中严禁使用任何食品添加剂和任何非食品原料的规定。因此,普洱茶香精掺假检测对普洱茶市场的监管有重要作用。

常用的香精香料检测方法有气相色谱-质谱法^[7-8]、气相色谱法^[9]和气相色谱-串联质谱法^[10-11]等。目前关于茶叶掺假香精成分检测的研究较少,王玉娇等^[10]结合气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)方法实现了对茶叶中6种禁用香精成分的检测。以上对茶叶中香精的检测方法操作复杂,耗时较长,并会引入其他化学试剂,因此,需要发展一种简便、快速的测量茶叶中掺假香精的方法。

傅里叶变换近红外光谱(NIRS)检测技术是近年来应用较广泛的检测方法,它是一种快速无损的检测手段,具有分析成本低、检测速度快且无损的优点,广泛应用于对物质的定性、定量分析检测中^[12-15]。近红外光谱主要包括C-H、N-H、O-H等含氢基团的倍频和合频吸收带,这些含氢基团具有较强的吸收,具有独特的光谱特性^[16]。本文利用近红外光谱技术结合偏最小二乘法对普洱茶中违法添加的三种常见香精成分(香豆素、香兰素、乙基麦芽酚)进行定量分析,并对比了经过多元散射校正、求导等多种光谱预处理后模型的预测精度,找到最佳预处理方法,实现香精

表1 香精掺假浓度和样品数量

Table 1 Flavor adulteration concentration and sample number

| Number of samples | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 20 |
|---|--------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Flavor adulteration concentration / (mg · g ⁻¹) | Coumarin | 0 | 0.2 | 0.6 | 0.4 | 0.2 | 0.4 | 0.8 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| | Vanillin | 0 | 0.4 | 0.2 | 0.6 | 0.4 | 0.8 | 0.2 | 0.8 | 1.0 | 0.6 |
| | Ethyl maltol | 0 | 0.6 | 0.4 | 0.2 | 0.8 | 0.2 | 0.4 | 1.0 | 0.6 | 0.8 |

采用傅里叶变换近红外光谱仪(MB3600, ABB,加拿大)采集样品的光谱,扫描波数范围为4000~10000 cm⁻¹,扫描分辨率为4 cm⁻¹,扫描次数为32次。近红外光谱仪以1.928 cm⁻¹的间隔采集光谱数据,每条样品光谱中共有3112个数据变量。利用聚四氟乙烯(PTFE, MOD. SKG8613G, ABB,加拿大)采集背景光谱,将采集的光谱扣除背景光谱才能得到样品的光谱信息。

实验中将采集的样品光谱数据分成校正集和测试集两部分,相同香精掺假浓度的普洱茶样品按照7:3划分校正集和测试集。校正集中包含纯普洱茶样品14份,其他各种掺假浓度的普洱茶样品各7

份,校正集共包含77份样品。测试集中包含纯普洱茶样品6份,其他各种掺假浓度的普洱茶样品3份,测试集共包含33份样品。

2 材料和方法

2.1 材料与仪器

实验中的茶叶样品为产自云南省白莺山的普洱茶,三种香精分别是香豆素(广州市锦源化学有限公司)、香兰素和乙基麦芽酚(河南万邦实业有限公司)。

实验采用配备高灵敏度InGaAs检测器、漫反射探头和固体样品测试套件的傅里叶近红外光谱仪(MB3600, ABB,加拿大)实现近红外光谱测量。近红外光谱数据的采集通过Horizon MB软件(3.4.0.3版)实现,该软件具有设置扫描次数、分辨率和存储光谱数据的功能。利用高精度电子秤(长协电子有限公司,精度为0.0001 g)进行样品及香精的称取。利用研磨机(万科仪器有限公司,25000 r/min)对茶叶进行粉碎。

2.2 实验方法

将三种香精分别按照一定的比例同时掺入普洱茶中,将每5 g茶叶制成一个样品,将样品放入研磨机中充分研磨并过60目筛,最后放入样品瓶中等待光谱检测。将相同香精掺假浓度(质量分数)的样品作为一组,准备9组不同掺假浓度的样品,每组样品有10份,因此共准备香精掺假普洱茶样品90份和纯普洱茶样品20份。表1为制得的纯普洱茶和掺假普洱茶样品的数量。

份,校正集共包含77份样品。测试集中包含纯普洱茶样品6份,其他各种掺假浓度的普洱茶样品3份,测试集共包含33份样品。

光谱预处理能够减小样品光谱采集过程中产生的基线变化、光散射、样品颗粒度不均匀等的影响,提高模型的精确度^[17]。本文采用多元散射校正(MSC)、一阶导数(1st Der)、二阶导数(2nd Der)、MSC+1st Der和MSC+2nd Der进行光谱预处理,并比较了不同预处理方法得到的光谱和未经光谱预处理时的光谱。

本文采用偏最小二乘(PLS)法分别建立了香豆素、香兰素和乙基麦芽酚三种掺假香精的预测模型,

采用多种预处理方法进行光谱预处理,并对比了不同预处理方法和未经光谱预处理时建立的模型的精确度。用于定量分析模型的评价指标分别为校正集决定系数(R_c^2)、校正集均方根误差(RMSEC)、测试集决定系数(R_p^2)、测试集均方根误差(RMSEP)。

3 结果与讨论

3.1 样品的近红外光谱

图1为所有样品(共110份样品,包括90份香精掺假普洱茶样品和20份纯普洱茶样品)的原始近红外光谱图。香精掺假普洱茶和纯普洱茶样品的近红外光谱在外形上相似,由于样品中香精掺假浓度较小,仅通过肉眼无法识别出样品吸光度和掺假浓度之间的相关关系,无法直接通过原始光谱对掺假浓度进行区分,因此需要借助化学计量学方法对近红外光谱进行进一步的处理。

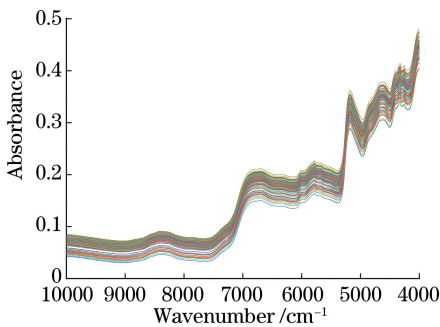


图1 普洱茶样品的原始近红外光谱图

Fig. 1 Original near-infrared spectra of Pu'er tea samples

图2为三种香精成分和纯普洱茶的近红外光谱图。三种香精成分与纯普洱茶的近红外光谱在吸收峰位置和吸收峰强度上都具有较大的差异,这些差异为以下的定量分析提供了很多有用的信息。普洱茶的近红外光谱中,9540 cm^{-1} 附近主要为茶多酚的吸收峰位置,6700 cm^{-1} 附近主要为游离氨基酸和蛋白质的吸收峰位置,5780 cm^{-1} 附近主要为儿茶素和生物碱的吸收峰位置,5155 cm^{-1} 附近为水的吸收峰位置,4650 cm^{-1} 附近主要为游离氨基酸和蛋白质的吸收峰位置,4330 cm^{-1} 附近主要为茶多酚和咖啡碱的吸收峰位置。香豆素的近红外光谱有两个比较明显的吸收峰,8850 cm^{-1} 附近主要为 $\text{HC}=\text{CH}$ 结构中 $\text{C}-\text{H}$ 键的二级倍频吸收,6015 cm^{-1} 附近主要为 $\text{C}-\text{H}$ 键的一级倍频吸收。香兰素近红外光谱在8410 cm^{-1} 附近主要为甲基 CH_3 中 $\text{C}-\text{H}$ 键的二级倍频吸收峰,羟基 $-\text{OH}$ 的吸收峰位置主要在6680 cm^{-1} 附近,苯环的吸收峰

位置在6320 cm^{-1} 附近。乙基麦芽酚在4825 cm^{-1} 附近的吸收峰对应亚甲基 CH_2 中 $\text{C}-\text{H}$ 键的一级倍频吸收。不同掺假浓度香精的近红外光谱中出现特定的吸收峰强度和位置,结合化学计量学分析方法可实现香精掺假浓度的预测。

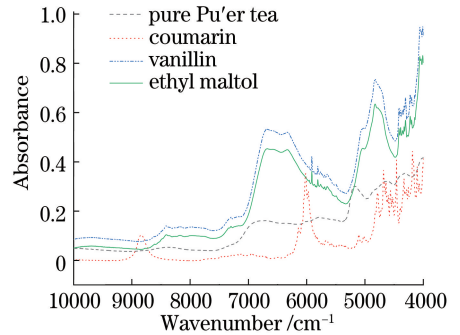


图2 三种香精和纯普洱茶近红外光谱图

Fig. 2 Near-infrared spectra of three flavors and pure Pu'er tea

3.2 不同预处理方法下 PLS 分析结果

对110份普洱茶样品的近红外光谱进行预处理后,分别针对三种香精成分建立了PLS定量分析模型,随机选取77份样品作为校正集样品,33份样品作为测试集样品,建立定量分析模型。建模结果如表2所示,由表可知,通过不同光谱预处理方法均可以提高PLS定量分析模型的预测能力和精确度,通过2nd Der、MSC预处理后可以分别获得三种香精成分的最高预测精确度。

在三种掺假香精成分的PLS定量分析模型中,对香豆素进行2nd Der预处理后,得到的测试集的决定系数 $R_p^2=0.7989$,RMSEP为0.1461;对香兰素进行MSC预处理,得到的测试集的决定系数 $R_p^2=0.7350$,RMSEP为0.1678;对乙基麦芽酚经过MSC预处理后,得到的测试集的决定系数 $R_p^2=0.6938$,RMSEP为0.1800(表2,其中PCs表示主成分数)。

图3为采用不同预处理方法得到的具有最高预测精度的测试集拟合曲线,图3(a)为对香豆素进行2nd Der预处理后所建立的PLS定量分析模型中测试集的拟合曲线,图3(b)、(c)分别为对香兰素和乙基麦芽酚进行MSC预处理后所建立的PLS定量分析模型中测试集的拟合曲线。图中实线为测试集样品的真实值(1:1曲线),虚线为测试集的预测值的拟合曲线,两曲线的夹角越小,表示预测值越精确,模型的预测精度越高。由图可知,香豆素的测试集拟合曲线的拟合程度最好,预测精度最高。

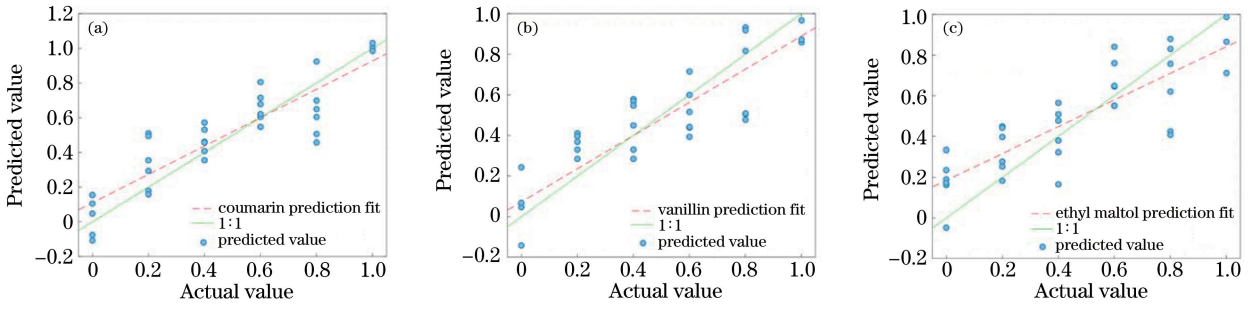


图3 三种香精的测试集拟合曲线。(a)香豆素;(b)香兰素;(c)乙基麦芽酚

Fig. 3 Fitting curves of test sets of three flavors. (a) Coumarin; (b) vanillin; (c) ethyl maltol

表2 不同预处理方法下 PLS 的处理结果

Table 2 PLS processing results with different preprocessing methods

| Flavor | Preprocessing method | PCs | R_c^2 | RMSEC | R_p^2 | RMSEP |
|--------------|-------------------------|-----|---------|--------|---------|--------|
| Coumarin | Original method | 5 | 0.5645 | 0.2119 | 0.5138 | 0.2363 |
| | MSC | 7 | 0.7129 | 0.1729 | 0.7048 | 0.1878 |
| | 1 st Der | 4 | 0.7180 | 0.1700 | 0.7973 | 0.1529 |
| | 2 nd Der | 6 | 0.7733 | 0.1729 | 0.7989 | 0.1461 |
| | MSC+1 st Der | 4 | 0.7136 | 0.1713 | 0.7912 | 0.1562 |
| | MSC+2 nd Der | 6 | 0.7661 | 0.1555 | 0.7989 | 0.1466 |
| Vanillin | Original method | 5 | 0.6715 | 0.1835 | 0.6759 | 0.1823 |
| | MSC | 7 | 0.6749 | 0.1839 | 0.7350 | 0.1678 |
| | 1 st Der | 3 | 0.6807 | 0.1808 | 0.6839 | 0.1816 |
| | 2 nd Der | 3 | 0.6728 | 0.1831 | 0.6678 | 0.1851 |
| | MSC+1 st Der | 3 | 0.6795 | 0.1812 | 0.6858 | 0.1809 |
| | MSC+2 nd Der | 3 | 0.6740 | 0.1827 | 0.6680 | 0.1848 |
| Ethyl maltol | Original method | 5 | 0.5522 | 0.2145 | 0.5353 | 0.2229 |
| | MSC | 8 | 0.6287 | 0.1976 | 0.6938 | 0.1800 |
| | 1 st Der | 4 | 0.6414 | 0.1922 | 0.6926 | 0.1778 |
| | 2 nd Der | 3 | 0.6221 | 0.1968 | 0.6748 | 0.1825 |
| | MSC+1 st Der | 3 | 0.6278 | 0.1953 | 0.6528 | 0.1887 |
| | MSC+2 nd Der | 3 | 0.6196 | 0.1975 | 0.6718 | 0.1834 |

为了考察本实验的重复性,在同等条件下对香精掺假普洱茶样品进行5次独立光谱检测以获得光谱数据,基于2nd Der预处理建立香豆素定量分析模型,基于MSC预处理分别建立香兰素和乙基麦芽酚定量分析模型,利用模型的 R_p^2 对香精掺假普洱茶样品的重复性进行评估。图4为香豆素、香兰素和乙基麦芽酚三种香精的 R_p^2 ,且三种香精在5次重复测量下的测试集决定系数相对标准偏差(RSD)分别为1.5%,2.2%,2.7%,这表明本实验具有良好的重复性。

实验中,将掺假香精按照0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/g的掺假浓度掺入普洱茶中,利用近红外光谱技术结合PLS方法建立香精掺假普洱茶的定量分析模型,该模型具有较高的预测精确度,且实验具有良好的重复性,可实现香精掺假普洱茶的

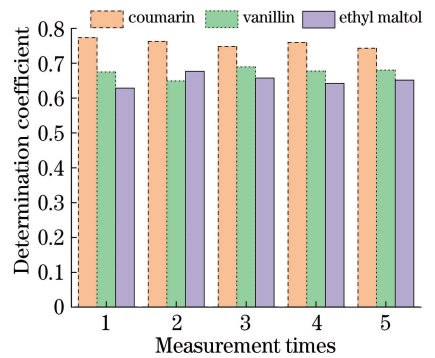


图4 对三种香精进行5次重复测量下得到的测试集的决定系数

Fig. 4 Determination coefficients of test set obtained by five repeated measurements for three flavors

定量检测。按照同样的方法配制掺假浓度为0.1 mg/g的掺假普洱茶样品并进行PLS定量分

析,模型对三种香精的预测精度较低,无法实现对掺假香精的精确预测。因此,三种掺假香精的检测限为 0.2 mg/g,当然,该检测限数值也部分受限于所使用的实验仪器的精度。

4 结 论

近红外光谱技术结合 PLS 定量分析方法可以实现对普洱茶中三种常见掺假香精的定量分析,采用不同的光谱预处理方法对光谱进行优化。研究发现不同的光谱预处理方法均可提高掺假普洱茶定量分析模型的预测能力。PLS 结合 2nd Der 实现了香豆素的 R_p^2 、RMSEP 分别为 0.7989 和 0.1461,PLS 结合 MSC 实现了香兰素的 R_p^2 、RMSEP 分别为 0.7350 和 0.1678,PLS 结合 MSC 实现了乙基麦芽酚的 R_p^2 、RMSEP 分别为 0.6938 和 0.1800。该方法的检测成本较低、操作简单、检测速度快,为市场上普洱茶的质量监管提供了技术支撑,有望成为有效控制普洱茶的香精掺假的手段之一,具有一定的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Zhang H D, Li G R, Li R C, et al. Determination of tea polyphenols content in Pu'er tea using near-infrared spectroscopy combined with extreme learning machine and GA-PLS algorithm [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2013, 50(4): 043001.
张海东,李贵荣,李若诚,等.近红外光谱结合极限学习机和 GA-PLS 算法检测普洱茶茶多酚含量[J].*激光与光电子学进展*, 2013, 50(4): 043001.
- [2] Jiang C K, Zeng Z, Huang Y H, et al. Chemical compositions of Pu'er tea fermented by Eurotium Cristatum and their lipid-lowering activity[J]. *LWT*, 2018, 98: 204-211.
- [3] Hsieh S K, Xu J R, Lin N H, et al. Antibacterial and laxative activities of strictinin isolated from Pu'er tea (*Camellia sinensis*) [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2016, 24(4): 722-729.
- [4] Hu X, Wu R M, Zhu X Y, et al. Fast detection of chlorpyrifos residues in tea via surface-enhanced Raman spectroscopy combined with two-dimensional correlation spectroscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(7): 0730001.
胡潇,吴瑞梅,朱晓宇,等.表面增强拉曼光谱结合二维相关谱快速检测茶叶中的毒死蜱残留[J].*光学学报*, 2019, 39(7): 0730001.
- [5] Rao G F, Huang L, He X W, et al. Comparison of

tea variety discriminating models based on laser induced breakdown spectroscopy [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2018, 55(2): 023002.

饶刚福,黄林,何秀文,等.基于激光诱导击穿光谱的茶叶品种识别模型对比[J].*激光与光电子学进展*, 2018, 55(2): 023002.

- [6] Xu X J, Wang X S, Li A Z, et al. Fast classification of tea varieties based on laser-induced breakdown spectroscopy [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2019, 46(3): 0311003.
徐向君,王宪双,李昂泽,等.基于激光诱导击穿光谱的茶叶品种快速分类[J].*中国激光*, 2019, 46(3): 0311003.
- [7] Peng J F, Wei M L, Hu Y W, et al. Simultaneous determination of maltol, ethyl maltol, vanillin, and ethyl vanillin in foods by isotope dilution headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Analytical Methods*, 2019, 12(8): 1725-1735.
- [8] Tan L R, Cheng M, Lin W B. Determination of trans-2-hexenal, α -hexylcinnamaldehyde and coumarin in peppermint flavor by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2018, 9(15): 4119-4124.
谭丽容,程敏,林伟斌.气相色谱-质谱法检测薄荷香精中的限用物质反-2-己烯醛、 α -己基肉桂醛、香豆素的研究[J].*食品安全质量检测学报*, 2018, 9(15): 4119-4124.
- [9] Lin Z P, Xu S M, Lin C, et al. Determination of levulinic acid in 6 kinds of foods by gas chromatography [J]. *The Food Industry*, 2018, 39(11): 295-297.
林泽鹏,许少美,林晨,等.气相色谱法测定 6 大类食品中乙酰丙酸的含量[J].*食品工业*, 2018, 39(11): 295-297.
- [10] Wang Y J, Liu T, Deng Y M, et al. Rapid determination of six banned fragrance components in tea by QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(7): 766-772.
王玉娇,刘通,邓亚美,等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法快速检测茶叶中 6 种禁用香精成分[J].*色谱*, 2019, 37(7): 766-772.
- [11] Li C Y, Li Z G, Zhou S Y, et al. GC-MS/MS determination of safrole in essence and perfume with HS-SPME [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B (Chemical Analysis)*, 2013, 49(2): 216-218, 221.

- 李长于, 李祖光, 周示玉, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-串联质谱法测定香精香料中黄樟素[J]. 理化检验-化学分册, 2013, 49(2): 216-218, 221.
- [12] Soto-Barajas M C, Zabalgogezcoa I, González-Martin I, et al. Qualitative and quantitative analysis of endophyte alkaloids in perennial ryegrass using near-infrared spectroscopy[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(14): 5028-5036.
- [13] Lê L M M, Eveleigh L, Hasnaoui I, et al. Rapid discrimination and determination of antibiotics drugs in plastic syringes using near infrared spectroscopy with chemometric analysis: application to amoxicillin and penicillin [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 138: 249-255.
- [14] Liu Y D, Zhang Y, Xu H, et al. Detection of sugar content of pomegranates from different producing areas based on near-infrared spectroscopy [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(1): 013002.
- 刘燕德, 张雨, 徐海, 等. 基于近红外光谱检测不同产地石榴的糖度[J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(1): 013002.
- [15] Kong Q Q, Ding X Q, Gong H L. Application of improved random forest pruning algorithm in tobacco origin identification of near infrared spectrum [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2018, 55(1): 013006.
- 孔清清, 丁香乾, 宫会丽. 改进的修剪随机森林算法在烟叶近红外光谱产地识别中的应用研究[J]. 激光与光电子学进展, 2018, 55(1): 013006.
- [16] Yan Y L. Foundation and application of near infrared spectroscopy [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005.
- 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [17] Shawky E, Selim D A. NIR spectroscopy-multivariate analysis for discrimination and bioactive compounds prediction of different citrus species peels [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 219: 1-7.