

茶粉均质性的红外光谱相似度评价研究

伍贤学^{1,2}, 李明², 李亮星², 邓秀娟¹, 马宪英³, 李亚莉¹, 周红杰^{1*}

1. 云南农业大学龙润普洱茶学院, 云南 昆明 650201
2. 玉溪师范学院化学生物与环境学院, 云南 玉溪 653100
3. 昆明易武鸿庆茶业有限责任公司, 云南 昆明 650000

摘要 非均质固态样品的充分均质化前处理是取得可靠分析结果的前提, 这对于单次测试取样量约 1 mg 的红外光谱(KBr)分析而言尤为重要。通过对不同茶类、粒径茶粉的多角度红外光谱相似度评价, 揭示茶粉粒径与均质化程度的关系并用于指导茶叶的均质化粉碎, 确保采集的红外光谱能准确反映茶粉的化学组成信息。选取普洱茶(Raw-PE)、普洱熟茶(Ripened-PE)、滇红茶(YNBT)三类茶制成的 A, B, C 和 D 四种不同粒径茶样, 以透射法(KBr)及衰减全反射法(ATR)分别平行五次采集茶样的红外光谱(FTIR), 利用夹角余弦值(r)对所得红外光谱开展相似度评价研究, 考察粉碎粒径、光谱采集方式、茶叶类别等因素对 r 值的影响。不同茶类光谱相似度评价结果显示, 基于普洱茶所得的 r 值明显高于普洱熟茶和滇红茶, 不同粒径滇红茶的 r 值波动幅度高达 18%。不同光谱采集方式评价结果显示, 基于 ATR 谱所得的 r 值更为集中, 而基于 KBr 谱的结果则更分散。不同粒径茶粉评价结果显示, 粒径越小, 所得的 r 值越高, 250 目以上的茶样对应的 r 值通常大于 0.999。ATR 谱具有更好的重现性, 而 KBr 谱则具有更强的差异识别能力, 后者更适于组成高度相似的样本间的差异分析。茶粉的均质性不仅与粉碎粒径密切相关, 还可能与茶样本本身的基质相关, 但均可以通过缩小粉碎粒径提高均质性。一般而言, 60 目以下的粉碎粒径难以满足红外光谱分析方法对茶叶均质性的要求。120 目以上的茶粉粒径可让平行 KBr 谱间 $r > 0.995$, 但若基于 ATR 谱进行分析, 最好将茶样粉碎至 250 目以上。

关键词 茶叶; 粉碎粒径; 红外光谱; 相关系数; 均质性

中图分类号: O657.33 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)05-1417-07

引言

红外光谱法是一种经典的有机结构分析手段, 近年来越来越广泛的用于生物医药、石油化工、农业食品等诸多混合物分析领域, 具有直接、简单、快速、低碳等优点^[1]。研究表明, 指纹性和可解析性是混合物红外光谱的两个基本属性。近十多年来, 孙素琴等在中药、食品等复杂体系的红外光谱分析领域进行了系统研究并取得一系列成果, 奠定了混合物红外光谱分析的理论基础^[2-3]。

准确的信号是定性和定量分析的基础, 是实现分析结果准确可靠的前提^[4]。非均质样品的均质化处理不足可能严重影响分析结果的可靠性, 特别是对于单次取样量低至毫克甚至微克的固态样品红外光谱分析更是如此。茶叶和其他很多

复杂固体样品一样, 属于典型的非均质样品。粉碎是茶叶分析的常规前处理环节, 我国国家标准(GB/T 8303)也对茶样预处理过程中的粉碎环节进行了相应规定。但不论是茶叶水浸出物、茶多酚、游离氨基酸、总生物碱等常规理化分析, 还是茶叶中儿茶素、茶氨酸、咖啡因或香气成分分析, 单次分析的取样量(或预处理取样量)通常都在 1 000 mg 以上, 而茶粉的红外光谱(KBr)测试单次取样量约 1 mg 甚至更低。因此, 直接利用常规成分测定所需的茶样粉末进行红外光谱测试, 所得光谱可能无法准确反映茶样的整体信息, 以此为基础的红外光谱分析可能存在较大的误判风险。非均质样品的红外光谱分析中的这一问题尚未引起足够重视, 从诸多文献的红外光谱图上可以看出较为普遍的存在样品量过载、基线倾斜、信噪比偏低等不太注重红外光谱质量的现象^[5-8]。迄今为止亦鲜见红外光谱分析对样品均质化程度要求的有关报

收稿日期: 2020-12-19, 修订日期: 2021-02-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560483), 云南省教育厅科研基金项目(2019J0736)资助

作者简介: 伍贤学, 1974 年生, 玉溪师范学院副教授, 云南农业大学龙润普洱茶学院博士研究生

e-mail: xxw@yxnu.edu.cn

* 通讯作者 e-mail: 1051195348@qq.com

道。本课题组近年来一直从事茶叶等复杂样品红外光谱相关研究^[9-10]。研究发现,弄清高质量红外光谱对茶粉均质化程度的要求对于茶叶的红外光谱深入研究十分必要。得益于光谱软件技术及化学计量学方法的发展成果,利用红外光谱相关系数(r)可以方便地对光谱相似度进行评价^[1]。

云南是世界茶树原产地中心地带。具有独特的云南大叶种茶树资源优势,拥有普洱茶、普洱熟茶、滇红茶等特色鲜明的茶叶品种。三类茶叶产品均由云南大叶种茶树幼嫩芽叶经不同工艺加工而成,三类茶可以分别归为不发酵茶、后发酵茶和全发酵茶,茶叶化学组成存在显著差异。

为此,以三类滇产茶为实验材料,通过红外光谱相似度评价茶叶粉碎粒径对红外光谱质量的影响,优化茶叶均质化粉碎条件,以便于尽可能少的光谱采集次数获取可靠的红外光谱分析信号,为基于茶叶红外光谱分析的相关研究打下坚实的基础。预期研究成果可为茶叶的红外光谱研究过程中的样品均质化前处理实验提供科学指导,也可为其他非均质固态样品的红外光谱分析提供参考。

1 实验部分

1.1 样品处理

选取普洱茶(Raw-PE)、普洱熟茶(Ripened-PE)、滇红茶(YNBT)三类茶样作为研究对象,所有茶样均由昆明易武鸿庆号茶叶有限公司提供。

各取茶样 100 g,除尘后盛于烘样铝盒中于 60 °C 的烘箱中干燥 4 hrs。取出冷至室温后,匀堆取出 10 g 用多功能粉碎机(国产)粉碎 2 min,茶粉依次过 60, 120 和 250 目不锈钢分样组筛,制得 A(60 目以下)、B(60~120 目)、C(120~250 目)及 D(250 目以上)四种不同粒径范围的茶粉,分装收集编号后于干燥器中保存备红外光谱测试用。

1.2 仪器参数及方法

PE Frontier 型傅里叶变换红外光谱仪(Perkins-Elmer);通用金刚石单点衰减全反射红外光谱附件(UATR);氘代硫酸三甘氨酸酯(DTGS)检测器;KBr 法光谱扫描范围:4 000~400 cm^{-1} ;ATR 法光谱扫描范围:4 000~650 cm^{-1} ;光谱分辨率为 4 cm^{-1} ,累计扫描 16 次,扫描时自动扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰;每个茶样平行测试五次;原始红外光谱依次执行 T-A 转换、基线校正、归一化等标准化处理后用于光谱相似度评价。光谱采集及处理利用 PE 公司红外光谱专业软件(Spectrum 10.4)完成;光谱相似度评价采用 PE 红外光谱软件自带 Compare 软件完成,优选光谱评价范围为 1 800~700 cm^{-1} 。

透射法(KBr)红外光谱测定:取茶样粉末约 1 mg 与约 100 mg 溴化钾晶(光谱纯,自贡三川公司)混合研磨均匀后放入压片模具,8 吨压力下保持 2 min,随后将样品片用样品夹固定后放入样品仓进行测试。

ATR 法红外光谱测定方法:取少许茶粉置于金刚石 UATR 平台,压力杆保持在同一压力条件下测试。

2 结果与讨论

2.1 全体茶样间的红外光谱相似度评价

为从总体上了解不同茶类、粒径茶样之间的相关性,以普洱生茶 250 目以上粒径样品的第五次平行 KBr 光谱为参比,对 3 类茶样、4 种粒径各 5 个平行样共 60 个 KBr 谱的 1 800~700 cm^{-1} 波数段进行相似度评价,相关系数(r)均以夹角余弦值计算,即

$$r_{ij} = r_{ji} = \frac{\sum_{k=1}^n \omega_k x_{ik} x_{jk}}{\sqrt{\sum_{k=1}^n \omega_k x_{ik}^2 \sum_{k=1}^n \omega_k x_{jk}^2}}$$

其中,每个红外光谱(光谱矩阵 x 的一行)被视为由 n 个可变坐标产生的 n 维空间中的向量,两个光谱之间的相似性由两个向量之间夹角的余弦定义; ω_k 为扣除水蒸气和二氧化碳的吸收干扰的噪声权重因子。评价结果见表 1。

首先,从表 1 可见,以 Raw-PE<250-5 的 KBr 谱为参比,普洱生茶的相关系数范围为 1.000 0~0.993 2,滇红茶与普洱熟茶相应的相关系数范围分别为 0.930 0~0.756 3 和 0.644 7~0.562 9,3 类茶的相关系数范围存在显著差异,容易通过相似度评价进行区分,20 条滇红茶光谱中与参比光谱相关性最好的为 YNDH 250-2($r=0.930 0$),普洱熟茶的为 Ripened-PE 120-5($r=0.644 7$)。对 20 条类内光谱对应的相关系数变化幅度进行考察,发现除了普洱生茶的变化幅度小于 1% 之外,普洱熟茶的达到 8%,滇红茶的更是超过 17%。该结果说明粉碎粒径对不同茶类均质性影响明显不同,这可能与三个茶样的加工原料老嫩程度不同有关。

2.2 不同粒径、茶类及光谱采集方式的红外光谱差异分析

图 1 给出了 3 类滇产茶的 4 种粒径茶粉共 60 条 KBr 谱重叠图,图 2 是相应的 ATR 谱重叠图。所有红外光谱均按实验方法所述进行标准化处理并选取 1 800~700 cm^{-1} 波数范围进行相似度评价,不同谱线用不同颜色、线型标记,标记详情见图注。从图 1 可以看出,三类茶样呈现出明显不同的红外光谱吸收特征,吸收峰差异在 3 500~3 000 和 1 600~1 000 cm^{-1} 范围内表现得最为明显,普洱生茶的吸收峰相对最强、普洱熟茶的吸收峰相对最弱。还可看出,不同茶类间的谱线趋于分离,而同类茶间的谱线则更趋于聚拢重叠,3 类茶中滇红茶光谱表现相对较差。图 2 中三类茶呈现出与图 1 类似吸收特征,但在 1 600~1 000 cm^{-1} 范围内光谱的类间差异更加突出、类内差异相对更小。此外,2 000 cm^{-1} 附近为 ATR 谱普遍存在的噪音峰,对光谱标准化处理具有一定不利影响。

光谱差异反映了茶样组成差异,可通过重叠光谱图中的谱线重叠程度直观表现,这些直观的视觉差异可以通过光谱间的欧式距离、夹角余弦值、皮尔森线性相关系数等进行量化表达。上述结果表明,3 类茶样的均质化程度受粉碎粒径影响并不一致,普洱生茶的均质性最好,滇红茶的均质性最差,该评价结果与前文的结果一致。

表 1 不同茶类、粒径茶样的红外光谱(KBr)相似度评价结果

Table 1 Similarity evaluation results of different tea samples based on FTIR (KBr) spectra

| 序号 | 样品名称 | 相关系数 <i>r</i> | 序号 (续) | 样品名称 | 相关系数 <i>r</i> | 序号 (续) | 样品名称 | 相关系数 <i>r</i> |
|----|--------------|------------------|-----------|------------|------------------|-----------|-----------------|------------------|
| 1 | Raw-PE<250-5 | 1.000 0 | 21 | YNDH 250-2 | 0.930 0 | 41 | Ripeds-PE 120-5 | 0.644 7 |
| 2 | Raw-PE<250-2 | 0.999 7 | 22 | YNDH 250-3 | 0.929 9 | 42 | Ripeds-PE 120-2 | 0.643 1 |
| 3 | Raw-PE<250-3 | 0.999 6 | 23 | YNDH 250-4 | 0.929 5 | 43 | Ripeds-PE 120-3 | 0.642 9 |
| 4 | Raw-PE<250-4 | 0.999 5 | 24 | YNDH 250-1 | 0.927 0 | 44 | Ripeds-PE 120-4 | 0.637 0 |
| 5 | Raw-PE 120-3 | 0.999 3 | 25 | YNDH 250-5 | 0.927 0 | 45 | Ripeds-PE 120-1 | 0.630 5 |
| 6 | Raw-PE<250-1 | 0.999 3 | 26 | YNDH<250-2 | 0.918 8 | 46 | Ripeds-PE 60-5 | 0.606 7 |
| 7 | Raw-PE 250-1 | 0.999 2 | 27 | YNDH<250-1 | 0.918 7 | 47 | Ripeds-PE 60-1 | 0.605 6 |
| 8 | Raw-PE 250-5 | 0.999 1 | 28 | YNDH<250-3 | 0.918 5 | 48 | Ripeds-PE 60-3 | 0.605 2 |
| 9 | Raw-PE 250-4 | 0.999 1 | 29 | YNDH<250-5 | 0.917 5 | 49 | Ripeds-PE 250-3 | 0.600 5 |
| 10 | Raw-PE 250-2 | 0.998 3 | 30 | YNDH<250-4 | 0.917 4 | 50 | Ripeds-PE 250-5 | 0.594 7 |
| 11 | Raw-PE 120-2 | 0.998 2 | 31 | YNDH 120-3 | 0.898 8 | 51 | Ripeds-PE<250-1 | 0.593 8 |
| 12 | Raw-PE 120-4 | 0.998 1 | 32 | YNDH 120-5 | 0.894 0 | 52 | Ripeds-PE 60-4 | 0.593 8 |
| 13 | Raw-PE 250-3 | 0.997 6 | 33 | YNDH 120-1 | 0.886 4 | 53 | Ripeds-PE<250-3 | 0.590 7 |
| 14 | Raw-PE 120-5 | 0.996 9 | 34 | YNDH 120-4 | 0.883 7 | 54 | Ripeds-PE 250-2 | 0.587 7 |
| 15 | Raw-PE 60-3 | 0.996 4 | 35 | YNDH 120-2 | 0.879 0 | 55 | Ripeds-PE<250-4 | 0.579 9 |
| 16 | Raw-PE 60-1 | 0.995 9 | 36 | YNDH 60-3 | 0.792 3 | 56 | Ripeds-PE 250-4 | 0.579 8 |
| 17 | Raw-PE 60-5 | 0.995 4 | 37 | YNDH 60-5 | 0.786 8 | 57 | Ripeds-PE 60-2 | 0.579 0 |
| 18 | Raw-PE 120-1 | 0.995 0 | 38 | YNDH 60-1 | 0.770 1 | 58 | Ripeds-PE<250-5 | 0.577 6 |
| 19 | Raw-PE 60-4 | 0.994 1 | 39 | YNDH 60-4 | 0.767 0 | 59 | Ripeds-PE 250-1 | 0.570 9 |
| 20 | Raw-PE 60-2 | 0.993 2 | 40 | YNDH 60-2 | 0.756 3 | 60 | Ripeds-PE<250-2 | 0.562 9 |

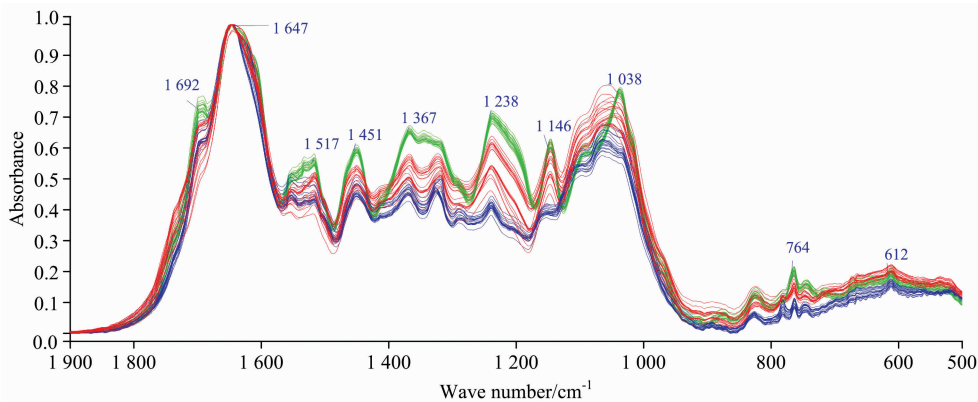


图 1 溴化钾法红外光谱重叠图(1 900~500 cm⁻¹)

绿色: 普洱生茶; 红色: 滇红茶; 蓝色: 普洱熟茶

Fig. 1 Stacked plot of FTIR (KBr) spectra (1 900~500 cm⁻¹)

green; Raw-PE; red; YNBT; blue; Ripeds-PE

2.3 基于平行光谱的相似度评价结果与分析

为简便起见,均以第五次平行光谱为参照开展红外光谱的相似度评价研究。表 2 和表 3 分别给出了 KBr 法和 ATR 法的平行红外光谱相似度评价结果。同时,表中还给出了同粒径、不同茶类样品光谱的相关系数平均值($\bar{r}_{\text{同粒径}}$)和同类茶、不同粒径样品光谱相关系数平均值($\bar{r}_{\text{同茶类}}$),以便从更多角度评价不同因素对红外光谱质量的影响。

就表 2、表 3 的平行光谱相似度评价结果而言,3 类茶均表现出粒径更小的平行光谱具有更高的一致性,250 目以上的 *r* 值基本都在 0.999 以上,表明粒径小的具有更好的均质性。比较 3 类茶不同粒径茶样光谱相关系数平均值($\bar{r}_{\text{同茶类}}$)可

见,基于 KBr 谱的评价最高的是普洱生茶的 0.999 4,最低的是滇红茶的 0.997 0,而相应的 ATR 谱结果普洱生茶仍然最高(0.999 6),远远高于普洱熟茶(0.998 1)和滇红茶(0.997 9)。两种光谱采集方式评价结果均说明普洱生茶的均质性更佳。类似地,从不同粒径的角度比较,两种光谱采集方式评价结果均表明,250 目以上的 $\bar{r}_{\text{同粒径}}$ 最大,60 目以下的则最小。

上述结果表明,粒径、茶类及光谱采集方式均可能影响光谱相似度评价结果。均质性与茶类相关,本研究中普洱生茶比滇红茶、普洱熟茶表现出更好的均质性;均质性与茶粉粒径成负相关,粒径越小,均质性越高;就两种光谱采集方

式比较结果而言, KBr 谱比 ATR 谱表现出更强的差异区分能力, 可能更适合用于组成类似样本间的差异分析。

2.4 基于同类茶 20 个光谱间的相似度评价结果与分析

前文平行光谱评价结果表明茶样的均质性与茶粉粒径呈负相关, 250 目以上茶样的均质性最好。故以 250 目以上茶

样光谱为参比对来自于同类茶、不同粒径的 20 个光谱进行相似度评价, 并以下划线标记出与参比相似度较低的 r 值 (<0.99)。表 4、表 5 分别为基于 KBr 谱和 ATR 谱的评价结果, 表中还分别给出了同粒径、同茶类以及同一光谱采集方式的 r 均值。

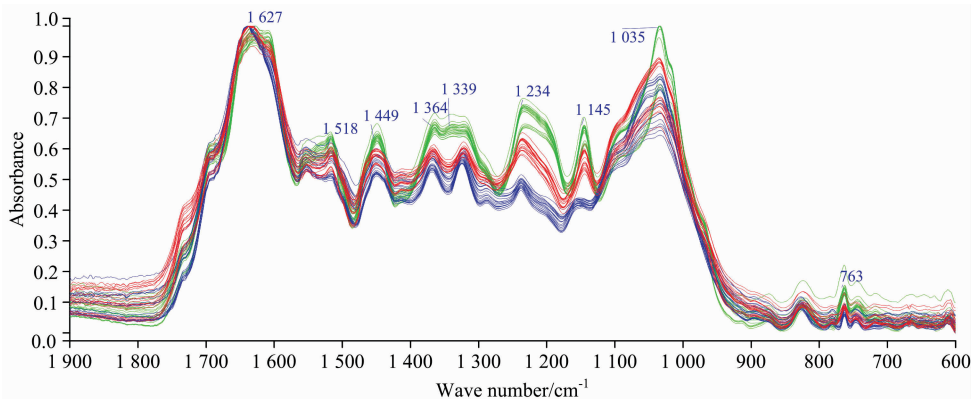


图 2 衰减全反射红外光谱重叠图(1 900~600 cm⁻¹)

绿色: 普洱生茶; 红色: 滇红茶; 蓝色: 普洱熟茶

Fig. 2 Stacked plot of ATR-FTIR spectra (1 900~600 cm⁻¹)

green: Raw-PE; red: YNBT; blue: Riped-PE

表 2 KBr 法的平行红外光谱相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation based on parallel FTIR (KBr) spectra

| | <60 目 | r | 60~120 目 | r | 120~250 目 | r | >250 目 | r | $\bar{r}_{\text{同茶类}}$ |
|------------------------|-------|---------|----------|---------|-----------|---------|--------|---------|------------------------|
| 普洱熟茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.998 4 |
| | A-4 | 0.999 0 | B-4 | 0.998 4 | C-4 | 0.998 6 | D-4 | 0.999 6 | |
| | A-3 | 0.996 4 | B-3 | 0.997 0 | C-3 | 0.998 8 | D-3 | 0.999 3 | |
| | A-2 | 0.996 2 | B-2 | 0.999 3 | C-2 | 0.998 9 | D-2 | 0.999 1 | |
| | A-1 | 0.997 9 | B-1 | 0.997 2 | C-1 | 0.996 4 | D-1 | 0.997 4 | |
| 滇红茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.997 4 |
| | A-4 | 0.996 4 | B-4 | 0.999 0 | C-4 | 0.997 2 | D-4 | 0.999 8 | |
| | A-3 | 0.994 7 | B-3 | 0.998 2 | C-3 | 0.992 3 | D-3 | 0.999 6 | |
| | A-2 | 0.991 1 | B-2 | 0.997 6 | C-2 | 0.993 6 | D-2 | 0.998 6 | |
| | A-1 | 0.994 2 | B-1 | 0.998 4 | C-1 | 0.998 5 | D-1 | 0.999 5 | |
| 普洱生茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.999 4 |
| | A-4 | 0.999 3 | B-4 | 0.999 8 | C-4 | 0.999 7 | D-4 | 0.999 5 | |
| | A-3 | 0.998 1 | B-3 | 0.998 2 | C-3 | 0.999 2 | D-3 | 0.999 6 | |
| | A-2 | 0.997 7 | B-2 | 0.999 7 | C-2 | 0.999 4 | D-2 | 0.999 7 | |
| | A-1 | 0.999 4 | B-1 | 0.999 6 | C-1 | 0.999 3 | D-1 | 0.999 3 | |
| $\bar{r}_{\text{同粒径}}$ | | 0.997 4 | | 0.998 7 | | 0.998 1 | | 0.999 4 | 0.998 4 |

注: 表格右下角的粗体字标记数据为 60 个 r 值的平均值(下同)

Note: the bold data in the lower-right corner is the average of 60 r values (the same below)

从表 4、表 5 可以看出, 普洱熟茶、滇红茶及普洱生茶 20 个 KBr 谱的 r 值中低于 0.990 0 的分别有 10, 10 及 0 个, 而相应的 ATR 谱结果分别为 6, 13 及 4 个。值得注意的是, 43 个低于 0.990 0 的 r 值中, 除了 3 个源于滇红茶 120 目以上样品的 ATR 谱之外, 其余 40 个全部源于 120 目以下的茶样。基于 KBr 谱的同类茶比较, ($r_{\text{Raw-PE}}$ (0.997 7)) > ($r_{\text{Riped-PE}}$ (0.980 2)) > (r_{YNDH} (0.970 9)), 相应的 ATR 谱结果为 ($r_{\text{Raw-PE}}$ (0.992 3)) > ($r_{\text{Riped-PE}}$ (0.991 8)) > (r_{YNDH} (0.987 6))。基于 KBr 谱的同粒径比较结果为 (r_{D} (0.999 4)) > (r_{C} (0.996 7)) > (r_{B}

(0.983 6)) > (r_{A} (0.952 0)), 相应的 ATR 谱结果为 (r_{D} (0.999 2)) > (r_{C} (0.992 8)) > (r_{B} (0.988 8)) > (r_{A} (0.981 6))。此外, 60 个 KBr 谱 r 均值为 0.991 6, 低于相应的 ATR 谱均值 0.993 3。

该评价结果进一步表明普洱生茶相对于另外两种茶样具有更好的均质性。更重要的是, 结果表明粉碎粒径大小可能严重影响茶粉的均质化程度, 利用粉碎均质化程度不足(120 目以下)的茶粉红外光谱分析茶叶化学组成可能导致光谱不

能真实反映样本化学组成信息。两种光谱采集方式结果对比分析表明, KBr 谱对样品间的组成差异反映更为灵敏, 更适合组成高度相似的同类样本间的差异识别与分析。

3 结 论

对 3 类滇产茶样的不同粒径茶粉进行 KBr 法和 ATR 法

红外光谱的一系列相似度评价研究。不同茶类对比表明, 普洱生茶茶样比普洱熟茶和滇红茶茶样的均质化程度更高, 这可能与加工普洱熟茶、滇红茶的茶菁原料比普洱生茶原料稍显粗老、茶梗木质化程度稍高有关。不同光谱采集方式研究结果表明, 虽然 ATR 平行光谱表现出更好的重现性, 但 KBr 谱明显具有相对更好的样品间差异识别能力, 更适合用于茶叶产品这样的组成高度相似的同类样本间的差异识别与

表 3 ATR 法平行红外光谱的相似度评价结果

Table 3 Results of similarity evaluation based on parallel ATR-FTIR spectra

| | <60 目 | <i>r</i> | 60~120 目 | <i>r</i> | 120~250 目 | <i>r</i> | >250 目 | <i>r</i> | $\bar{r}_{\text{同茶类}}$ |
|------------------------|-------|----------|----------|----------|-----------|----------|--------|----------|------------------------|
| 普洱熟茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.998 1 |
| | A-4 | 0.995 5 | B-4 | 0.998 6 | C-4 | 0.999 6 | D-4 | 0.999 8 | |
| | A-3 | 0.992 9 | B-3 | 0.999 5 | C-3 | 0.999 7 | D-3 | 0.999 5 | |
| | A-2 | 0.990 3 | B-2 | 0.999 6 | C-2 | 0.998 9 | D-2 | 0.999 5 | |
| | A-1 | 0.996 0 | B-1 | 0.994 4 | C-1 | 0.999 6 | D-1 | 0.998 6 | |
| 滇红茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.997 9 |
| | A-4 | 0.995 5 | B-4 | 0.999 4 | C-4 | 0.999 3 | D-4 | 0.998 9 | |
| | A-3 | 0.996 7 | B-3 | 0.999 4 | C-3 | 0.999 8 | D-3 | 0.999 9 | |
| | A-2 | 0.996 4 | B-2 | 0.999 3 | C-2 | 0.999 8 | D-2 | 0.999 9 | |
| | A-1 | 0.982 6 | B-1 | 0.997 6 | C-1 | 0.997 4 | D-1 | 0.9958 | |
| 普洱生茶 | A-5 | 1.000 0 | B-5 | 1.000 0 | C-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.999 6 |
| | A-4 | 0.999 3 | B-4 | 0.999 6 | C-4 | 0.999 9 | D-4 | 1.000 0 | |
| | A-3 | 0.999 0 | B-3 | 0.999 9 | C-3 | 0.999 9 | D-3 | 0.999 0 | |
| | A-2 | 0.999 3 | B-2 | 0.999 9 | C-2 | 0.999 9 | D-2 | 1.000 0 | |
| | A-1 | 0.998 8 | B-1 | 0.998 5 | C-1 | 0.999 5 | D-1 | 0.999 2 | |
| $\bar{r}_{\text{同粒径}}$ | | 0.994 6 | | 0.998 8 | | 0.999 4 | | 0.999 2 | 0.998 0 |

表 4 同类茶、不同粒径的 20 个 KBr 谱的相似度评价结果

Table 4 Similarity evaluation of the same kind of tea samples with different particle sizes based on 20 IR spectra (KBr)

| 粒径范围 | 普洱熟茶 | <i>r</i> | 滇红茶 | <i>r</i> | 普洱生茶 | <i>r</i> | $\bar{r}_{\text{同粒径}}$ |
|------------------------|------|----------------|-----|----------------|------|----------|------------------------|
| 250 目以上 | D-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.999 4 |
| | D-4 | 0.999 6 | D-4 | 0.999 8 | D-4 | 0.999 5 | |
| | D-3 | 0.999 3 | D-3 | 0.999 6 | D-3 | 0.999 6 | |
| | D-2 | 0.999 1 | D-2 | 0.998 6 | D-2 | 0.999 7 | |
| | D-1 | 0.997 4 | D-1 | 0.999 5 | D-1 | 0.999 3 | |
| 120~250 目 | C-5 | 0.996 7 | C-5 | 0.995 6 | C-5 | 0.999 1 | 0.996 7 |
| | C-4 | 0.996 6 | C-4 | 0.997 2 | C-4 | 0.999 1 | |
| | C-3 | 0.996 6 | C-3 | 0.992 7 | C-3 | 0.997 6 | |
| | C-2 | 0.994 6 | C-2 | 0.994 4 | C-2 | 0.998 3 | |
| | C-1 | 0.996 7 | C-1 | 0.995 6 | C-1 | 0.999 2 | |
| 60~120 目 | B-5 | <u>0.980 0</u> | B-5 | <u>0.978 7</u> | B-5 | 0.996 9 | 0.983 6 |
| | B-4 | <u>0.976 6</u> | B-4 | <u>0.974 5</u> | B-4 | 0.998 1 | |
| | B-3 | <u>0.976 6</u> | B-3 | <u>0.979 7</u> | B-3 | 0.999 3 | |
| | B-2 | <u>0.978 5</u> | B-2 | <u>0.972 4</u> | B-2 | 0.998 2 | |
| | B-1 | <u>0.974 3</u> | B-1 | <u>0.974 5</u> | B-1 | 0.995 0 | |
| 60 目以下 | A-5 | 0.949 8 | A-5 | 0.922 8 | A-5 | 0.995 4 | 0.952 0 |
| | A-4 | 0.949 6 | A-4 | 0.910 4 | A-4 | 0.994 1 | |
| | A-3 | 0.944 7 | A-3 | 0.918 1 | A-3 | 0.996 4 | |
| | A-2 | 0.945 4 | A-2 | 0.897 1 | A-2 | 0.993 2 | |
| | A-1 | 0.951 0 | A-1 | 0.916 0 | A-1 | 0.995 9 | |
| $\bar{r}_{\text{同茶类}}$ | | 0.980 2 | | 0.970 9 | | 0.997 7 | 0.982 9 |

注: 下划线标记数据为低于 0.990 0 的 *r* 值(下同)

Note: the data with underlines are the *r* values less than 0.990 0 (the same below)

表 5 同类茶不同粒径的 20 个 ATR 谱的相似度评价结果

Table 5 Similarity evaluation of the tea samples with same type but different particle sizes based on 20 ATR-FTIR spectra

| 粒径范围 | 普洱熟茶 | r | 滇红茶 | r | 普洱生茶 | r | \bar{r} 同粒径 |
|---------------|------|---------|-----|---------|------|---------|----------------|
| 250 目以上 | D-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | D-5 | 1.000 0 | 0.999 2 |
| | D-4 | 0.999 8 | D-4 | 0.998 9 | D-4 | 1.000 0 | |
| | D-3 | 0.999 5 | D-3 | 0.999 9 | D-3 | 0.999 0 | |
| | D-2 | 0.999 5 | D-2 | 0.999 9 | D-2 | 1.000 0 | |
| | D-1 | 0.998 6 | D-1 | 0.995 8 | D-1 | 0.999 2 | |
| 120~250 目 | C-5 | 0.996 6 | C-5 | 0.990 7 | C-5 | 0.993 6 | 0.992 8 |
| | C-4 | 0.997 0 | C-4 | 0.988 6 | C-4 | 0.993 5 | |
| | C-3 | 0.996 1 | C-3 | 0.989 9 | C-3 | 0.993 8 | |
| | C-2 | 0.994 2 | C-2 | 0.991 3 | C-2 | 0.993 2 | |
| | C-1 | 0.995 4 | C-1 | 0.985 9 | C-1 | 0.992 9 | |
| 60~120 目 | B-5 | 0.991 0 | B-5 | 0.980 9 | B-5 | 0.994 9 | 0.988 8 |
| | B-4 | 0.991 1 | B-4 | 0.981 6 | B-4 | 0.994 9 | |
| | B-3 | 0.990 1 | B-3 | 0.979 5 | B-3 | 0.994 3 | |
| | B-2 | 0.990 9 | B-2 | 0.981 2 | B-2 | 0.995 2 | |
| | B-1 | 0.988 8 | B-1 | 0.982 9 | B-1 | 0.994 7 | |
| 60 目以下 | A-5 | 0.984 4 | A-5 | 0.986 3 | A-5 | 0.982 4 | 0.981 6 |
| | A-4 | 0.982 8 | A-4 | 0.983 1 | A-4 | 0.982 2 | |
| | A-3 | 0.976 4 | A-3 | 0.984 8 | A-3 | 0.979 5 | |
| | A-2 | 0.982 0 | A-2 | 0.981 1 | A-2 | 0.983 4 | |
| | A-1 | 0.981 1 | A-1 | 0.970 0 | A-1 | 0.983 8 | |
| \bar{r} 同茶类 | | 0.991 8 | | 0.987 6 | | 0.992 3 | 0.990 6 |

分析。对不同粒径茶粉的研究结果表明,茶粉的均质化程度与茶粉粒径密切相关,粒径越小,均质化程度越高。非均质样品的充分均质化前处理是取得可靠分析结果的基本保障,这对于单次测试取样量低至 1 mg 的红外光谱(KBr)分析而言尤为如此。一般而言,120 目以上的茶粉粒径可让 KBr 谱达到 $r > 0.995$,但若基于 ATR 谱进行分析,最好将茶样粉

碎至 250 目以上。

值得指出的是,虽然样品的均质化程度和样品间的组成差异可以方便地通过红外光谱相似度进行量化评价,但对于具体分析样本而言,研究确定可靠的相似度评价阈值非常重要,简单利用相似度评价结果可能存在潜在的误判风险。

References

- [1] SUN Su-qin, ZHOU Qun, CHEN Jian-bo(孙素琴,周群,陈建波). ATC 009 Infrared Spectral Analysis Technology(ATC 009 红外光谱分析技术). Beijing: Standard Press of China, China Quality and Standards Publishing & Media Co. Ltd. (北京:中国标准出版社,中国质检出版社), 2013.
- [2] Sun Suqin, Chen Jianbo, Zhou Qun, et al. Planta Medica, 2010, 76: 1987.
- [3] SUN Su-qin, ZHOU Qun, CHEN Jian-bo(孙素琴,周群,陈建波). Infrared Spectroscopy for Complex Mixtures: Application in Food and Traditional Chinese Medicine(复杂混合物的红外光谱学:在食品和中药分析中的应用). Beijing: Chemical Industry Press(北京:化学工业出版社), 2011.
- [4] WANG Qiu-quan, ZHANG Xin-rong, ZHUANG Qian-kun(王秋泉,张新荣,庄乾坤). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2005, 33(3): 2651.
- [5] Wu Xiaohong, Zhu Jin, Wu Bin, et al. Computers and Electronics in Agriculture, 2018, 147(4): 64.
- [6] Cai Jianxiang, Wang Yuanfeng, Xi Xiongang, et al. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 78(7): 439.
- [7] Xu Lu, Deng Dehua, Cai Chenbo. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(19): 10461.
- [8] WU Quan-jin, DONG Qing-hua, SUN Wei-jiang(吴全金,董青华,孙威江). Journal of Tea Science(茶叶科学), 2014, 34(1): 63.
- [9] Wu Xianxue, Xu Changhua, Li Ming, et al. Journal of Molecular Structure, 2014, 1069(7): 133.
- [10] MA Jing, WU Xian-xue, TAI Xi, et al(马晶,伍贤学,台希,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2014, 34(10): 2833.

Study on the Homogeneity of Tea Powder by Infrared Spectral Similarity Evaluation

WU Xian-xue^{1, 2}, LI Ming², LI Liang-xing², DENG Xiu-juan¹, MA Xian-ying³, LI Ya-li¹, ZHOU Hong-jie^{1*}

1. College of Longrun Pu-erh Tea, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

2. College of Chemistry, Biology and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China

3. Kunming YiwuHongqing Tea Industry Co. Ltd., Kunming 650000, China

Abstract Sufficient homogenization pretreatment of heterogeneous solid samples is the prerequisite for obtaining reliable analysis results, which is particularly important for infrared spectrum (IR, KBr) analysis with just about 1 mg needed in a single test. Through the multi-angle infrared spectral similarity evaluation of tea samples including different tea types and particle sizes, the relationship between particle size and the degree of homogenization was revealed and used to guide the tea pulverization to ensure that the followed IR spectra could accurately reflect the chemical composition information of tea powder. Three kinds of Yunnan tea production, including Raw Pu-erh tea (Raw-PE), DianHong (YNBT), Riped Pu-erh tea (Riped-PE), were selected to be prepared into four tea samples with different particle sizes respectively. The IR (KBr) and attenuated total reflection method (ATR-IR) spectra of the prepared tea powder were collected 5 times in parallel. The similarity evaluations by $\text{Cosine}(i)$ of the infrared spectra obtained were carried out to investigate the influence of pulverized particle size, spectral collection method, tea type and other factors on the spectral correlation coefficient (r). The spectral similarity evaluation results based on different tea types showed that the r value from Raw-PE was significantly higher than that of Riped-PE and YNDH. The r values from the tea powder of YNDH with different meshes fluctuated by up to 18%. The results from different spectral test mode showed that the r values based on ATR spectra were more concentrated, while the results based on KBr spectra were dispersed. The results based on tea powder with different particle sizes showed that the smaller the particle size was, the higher the r value was. Moreover, the r value from tea samples with more than 250 mesh was usually a good result over 0.999. The results show that the r values based on ATR spectra showed good reproducibility and the results from KBr spectra displayed stronger difference recognition ability. The latter is more suitable for the comparative analysis of the composition differences between highly similar samples. The homogeneity of tea powder is closely related to the pulverized particle size and related to the substrate of the tea sample itself. Whatever it can be improved by reducing the pulverized particle size. Generally, the particle size of tea powder less than 60 mesh is difficult to meet the infrared spectroscopy analysis's homogeneity requirements. An r value over 0.995 based on IR spectra (KBr) of tea powder above 120 mesh could be given, but for the ATR spectra, the tea sample needs to be shredded by more than 250 mesh to give the same evaluation result.

Keywords Tea; Particle size; Infrared spectrum; Coefficient of correlation; Homogeneity

(Received Dec. 19, 2020; accepted Feb. 19, 2021)

* Corresponding author