

基于近红外光谱的不同发酵类型茶叶判别

张 龙^{1,2}, 潘家荣^{2,*}, 朱 诚^{1,2,*}

(1. 中国计量学院生命科学院, 浙江 杭州 310018;

2. 浙江大学生命科学院, 植物生理学与生物化学国家重点实验室, 浙江 杭州 310058)

摘 要: 应用近红外光谱分析技术结合化学计量学方法对不同发酵程度茶叶进行判别分析。原始近红外光谱数据经不同光谱数据预处理方法以消除噪音, 降噪后的光谱进行主成分特征提取, 再将主成分得分进行判别分析。结果表明: 标准正态变换结合去趋势转化对不同发酵程度的茶叶分类效果最好, 其原始分类正确率为100.0%, 交叉验证正确分类率为94.4%。此外, 茶叶各组分基团的近红外吸收在判别分析中的贡献率分析表明, 茶叶组分中C=O伸缩振动的合频, 甲基C—H键的合频和C—H键的伸缩振动以及氨基酸肽键羰基C=O键伸缩振动的二级倍频在判别分析中起主要作用。

关键词: 近红外光谱; 茶叶; 光谱预处理; 判别分析; 贡献率

Discrimination of Different Types of Fermented Tea by Near Infrared Spectroscopy

ZHANG Long^{1,2}, PAN Jia-Rong^{2,*}, ZHU Cheng^{1,2,*}

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 2. State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Near infrared spectroscopy and chemometrics were combined for discriminating non-fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea. The original spectra were de-noised by different spectral pretreatment methods, and then principal components extraction from the de-noised spectra was performed for discrimination analysis. Results showed that the best spectral pretreatment method for classification was standard normal transformation coupled with detrended transformation. The original and cross validation correct classification rates were 100% and 94.4%, respectively. In addition, analysis of the contribution rate of near infrared absorption of bonds in different components of tea to the classification demonstrated that the combined stretching vibration of C=O and methyl C—H bands, the stretching vibration of C—H, and the second overtone vibration of C=O band stretch in amino acids or protein played a very key role in the classification of tea.

Key words: near infrared spectroscopy; tea; spectral pretreatment; discrimination analysis; contribution

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)20-0149-04

传统食品鉴别多利主要包括感官评定法和化学方法。感官评定的结果受外部环境和人为因素的影响很大, 结果的客观性差; 化学方法能够准确地鉴别食品种类, 但是其昂贵的费用以及繁琐的步骤使它不能广泛的应用到食品快速鉴别上。近红外光谱(near infrared spectra, NIR)分析技术具有方便、快捷、低成本、无污染等优点, 在农产品无损检测中得到广泛的应用, 如商品玉米品种、咖啡品种快速鉴别、茶油真伪鉴别^[1-4]。近红外检测技术已被广泛应用于茶叶快速无损检测^[5-6]: 对茉莉花茶、苦丁茶、龙井和铁观音等茶叶种类的判别^[7]; 对发酵茶叶品种、产地以及生产季等进行鉴别的定性分析^[8]; 对茶叶中水分、茶多酚、咖啡碱和儿茶素含量进行

预测的定量分析等^[9-10]。茶叶各组分近红外吸收光谱信息复杂, 在定性定量分析已成功应用, 但是各组分对判别和预测的贡献率, 具体是哪一波长的近红外吸收在其中起决定性作用都是未知, 因此在判别基础上进一步解析各组分在其中的作用, 将使研究更有意义。

有机物近红外光谱主要是反映其含氢基团(—OH、—CH、—NH、—SH、—PH)的伸缩、振动、弯曲等引起的倍频、差频和合频等, 其在近红外光谱区有吸收是近红外光谱分析的基础^[11-13]。茶叶按发酵类型主要包括不发酵的绿茶、半发酵的乌龙茶以及发酵的黑茶和红茶。茶叶组分复杂, 主要是蛋白质、氨基酸、还原糖、多糖、纤维素、半纤维素、淀粉、果胶、咖啡碱、茶多

收稿日期: 2011-08-19

基金项目: 浙江省重点科技创新团队项目(2010R50028); “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAK02A18)

作者简介: 张龙(1986—), 男, 博士研究生, 研究方向为农产品产地溯源。E-mail: 10907017@zju.edu.cn

*通信作者: 朱诚(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为植物环境生物学与农产品安全。E-mail: pzhch@cjlz.edu.cn

潘家荣(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品安全。E-mail: panjr@263.net

酚等,不同种类茶叶各组分含量复杂且不同,所以通过对茶叶的近红外光谱分析可以鉴定茶叶种类。

化学计量学在处理多元数据方面的能力很强大,因此化学计量分析与红外光谱数据分析结合,使红外光谱数据分析变得极为方便。在近红外光谱测试过程中,由于其吸收特点及仪器背景噪声等的影响,消除光谱冗余信息和噪音的预处理方法极其重要。本实验采取多种光谱与处理方式对冗余信息以及噪音消除,寻找非发酵茶,半发酵茶和发酵茶的最佳分类结果^[14]。此外,本实验利用主成分分析(principal component analysis, PCA)不同主成分光谱载荷图和典则判别分析(canonical discriminant analysis, CDA)中标准典则判别函数主成份系数构建不同波数对判别分析的贡献图,探讨了近红外光谱对茶叶的判别分析的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

本实验中收集全国各地37种非发酵茶是绿茶,8种半发酵茶包括铁观音、武夷山岩茶和凤凰单枞茶,9种发酵茶包括普洱茶和红茶。称取茶叶20g,首先在粉碎机中粉碎,然后过140目筛,得到粒径小于1 μm 茶叶粉末。

Tensor 37傅里叶变换红外光谱仪 德国布鲁克光学仪器公司。

1.2 样品处理

采用傅里叶变换红外光谱仪,附漫反射镀金积分球、硫化铅(PbS)检测器进行近红外光谱检测。光谱扫描波数为12000~4000 cm^{-1} ,扫描分辨率4 cm^{-1} ,扫描次数为64次。

茶叶粉末按四分法随机称取5g,置于光谱仪积分球上的旋转样品杯中,在室温25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下扫描,获得茶叶近红外光谱图。每个样品取3次采集的平均值作为该样本的原始光谱,存入计算机待用。

1.3 数据处理

红外光谱预处理和光谱主成分分析利用Unscrambler X化学计量学软件;利用SPSS 16.0统计分析软件进行判别分析;采用Matlab V7.0进行光谱及波数载荷矩阵线性操作。

2 结果与分析

2.1 近红外光谱降噪处理、主成分提取以及主成分得分线性判别分析

茶叶样品近红外光谱中高波数9000~12000 cm^{-1} 之间噪音较大,茶叶样品的近红外光谱信息主要集中在4000~9000 cm^{-1} 之间,因此利用4000~9000 cm^{-1} 光谱进行不同发酵程度茶叶分析(图1)。

本实验中,首先用Unscrambler X 软件进行光谱数据

预处理。实验中利用以下九种光谱预处理方法:一阶导数九点平滑(1D9S)、二阶导数九点平滑(2D9S)、九点平滑一阶导数九点平滑(9S1D9S)、九点平滑二阶导数九点平滑(9S2D9S)、多元散射校正(multiple scatter correction, MSC)、矢量归一化(unit vector normalization, UVN)、标准归一化(standard normal variate, SNV)、去趋势化(detrending, Detr)、标准归一化结合去趋势化(SNV+DT, SDT)。它们预处理原理如下:采用9点平滑窗口、Savitzky-Golay平滑法对光谱数据预处理,降低原始光谱数据中的噪音然后分别进行一阶求导和二阶求导消除基线漂移和弯曲,分辨重叠峰,提高灵敏度和分辨率^[15-16];矢量归一化(UVN)处理,消除光程变化对光谱产生的影响;多元散射校正处理(multiplicative signal correction, MSC)剔除各样品间由于散射影响所导致的基线变化^[17-18]。SNV消除散射和微粒大小引起的多元干涉,而Detr消除基线漂移和线性弯曲^[19]。降分辨率(deresolving, Der)预处理完光谱进行主成分分析,提取主成分以及各主成分载荷。

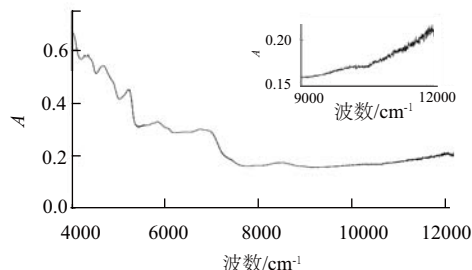


图1 茶叶粉末原始光谱图

Fig. 1 Original NIR spectrum of tea powder

前10个主成分(principal component, PC)累积贡献率都达到了98%,包括了主要光谱信息。通过对前10个主成分得分进行判别分析,得到对不同茶叶的原始以及交叉验证分类结果。由表1可知,2D9S预处理光谱的判别能力最小,甚至小于原始光谱,表明在本实验中,二阶求导掩盖了表征不同茶叶特征的光谱信息;而原始光谱(Null)的原始和交叉验证分类正确率分别为94.4%和88.9%。降解分辨率(deresolving, Der)预处理光谱的判别结果与原始光谱相同,表明Der预处理没有增加红外光谱的判别能力;实验中除2D9S和Der预处理外,其他预处理都能提高光谱的判别能力,其中,MSC和SDT原始分类结果最优达到100%,由于MSC和SDT原始分类结果,所以需要进一步分析不同茶叶组中心距离,进而判别他们对茶叶的分离能力的影响。

为比较MSC和SDT预处理方式对不同茶叶的判别能力,不同光谱预处理后各类茶叶组间距离计算结果如表2所示。SDT分类结果中非发酵茶和半发酵茶、发酵茶和半发酵茶、非发酵和发酵茶间的距离最大分别是5.79、6.74、7.12,因此SDT分类效果明显优于MSC,故最终确立SDT为不同发酵程度茶叶光谱预处理方法。

表1 不同光谱预处理对茶叶种类判别结果的影响

Table 1 Effect of spectral pretreatments on tea classification by canonical discrimination analysis

光谱预处理方式	Null	UVN	Der	2D9S	1D9S	9S2D9S	9S1D9S	MSC	SNV	Detr	SDT
原始分类	94.4	98.1	94.4	88.9	98.1	98.1	96.3	100	98.1	96.3	100
交叉验证分类	88.9	96.3	88.9	83.3	96.3	92.6	94.4	94.4	96.3	94.4	94.4

表2 SDT和MSC不同预处理光谱茶叶分类中心距离比较

Table 2 Comparison of central distances of classified groups between SDT and MSC pre-treated spectra

光谱预处理方式	非发酵茶 和半发酵茶	半发酵茶 和发酵茶	非发酵茶 和发酵茶
SDT	5.79	6.74	7.12
MSC	5.65	6.62	7.04

2.2 SDT预处理获得3类茶叶典则判别结果

表3 茶叶类型典则判别结果

Table 3 Results obtained for tea classification by stepwise canonical discrimination analysis

分类		预测组/%			总分类结果
		非发酵茶	半发酵茶	发酵茶	
原始分类	非发酵茶	100.0	0.0	0.0	100.0
	半发酵茶	0	100.0	0.0	100.0
	发酵茶	0.0	0.0	100.0	100.0
交叉验证 分类	非发酵茶	97.3	2.7	0.0	100.0
	半发酵茶	12.5	87.5	0.0	100.0
	发酵茶	11.1	0.0	88.9	100.0

注：交叉验证中，每个案例的判别是通过除了本案例的所有其他案例产生的函数进行判别分析；原始分类正确率是100.0%；交叉验证正确分类率94.4%。

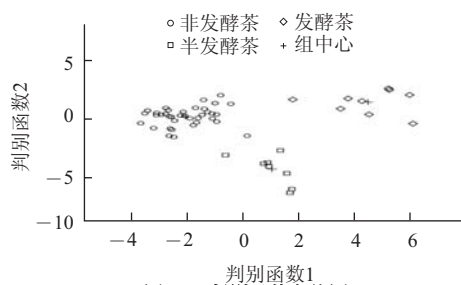


图2 判别函数交绘图

Fig.2 Cross plot of two discrimination functions obtained from canonical discrimination analysis

通过以上分析，与其他预处理方法相比，SDT预处理后不同种类茶叶分辨效果最好。表3是经过SDT预处理的茶叶样品典则判别结果，由表3可知，在原始分类结果中非发酵茶、半发酵茶和发酵茶被完全分开；在交叉验证分类结果中，非发酵茶正确率是97.3%，半发酵茶正确率是87.5%，发酵茶正确率是88.9%；2.7%的非发酵茶被预测到半发酵茶中，12.5%的半发酵茶被预测到非发酵茶中，11.1%的发酵茶被预测到半发酵茶中。图2显示判别函数交绘图，非发酵茶、半发酵茶和发酵茶被分到不同

组别中。

2.3 不同波数红外光谱反射率对判别分析的贡献率

表4 不同主成分标准典则判别函数系数和

Table 4 The sum of coefficients in canonical discrimination analysis for different principal components

主成份	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC9	PC10
函数系数和	1.706	1.743	1.463	0.717	0.72	1.267	0.545	0.501	1.695

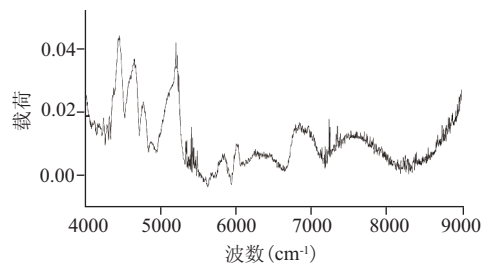


图3 判别函数波数载荷图

Fig.3 Sum loading spectrum based on principal components in discrimination analysis

由判别分析中标准典则判别函数系数得到不同主成分的函数系数绝对值的和(表4)，由表4可知，第8个主成分没有参与判别分析。以此作为主成分分析光谱载荷权重，将不同主成分波数载荷加权相加即为判别函数波数载荷图(图3)，此即波数对判别分析的贡献率。由图3可知，判别函数在不同波数的载荷不同，其中，4000~4800cm⁻¹为合频吸收区，4800~7200cm⁻¹为倍频及部分基团的3倍频吸收区^[20]。5207、4672、4458cm⁻¹载荷最大。5207cm⁻¹是茶叶中氨基酸肽键羰基C=O键伸缩振动的二级倍频，4672cm⁻¹是C-H键的伸缩振动或C=O伸缩振动的合频，4458cm⁻¹是化合物甲基C-H键的合频。因为每个近红外谱带可能反应的是若干个不同基频的倍频和合频谱带的组合，因此没有锐峰和基线分离的谱峰，而是大量重叠谱峰和肩峰。通过主成分分析结合判别分析分辨不同茶叶分类的依据。即通过构建判别函数波长载荷图选择适合的波段。

本实验通过不同光谱预处理对原始光谱进行消噪处理，提取光谱主成份对复杂的光谱降维处理，然后用主成分进行判别分析，把不同发酵程度茶叶进行分离。SDT预处理效果最好，原始分类结果正确率是100%，交叉验证分类结果正确率是94.4%。因此，近红外光谱可以低廉、快速、有效地预测茶叶种类。为进一步分析近红外光谱用

于茶叶鉴别的原理,首先获得主成分分析得到不同主成分对光谱的不同载荷以及利用提取的主成份进行典则判别分析得到构建判别函数的系数,然后所得主成份构建函数的系数绝对值的和作为权值与不同主成分光谱载荷相即得到光谱对构建判别分析的权重。即寻找最佳分类方法的波数载荷。为近红外光谱技术在茶叶分类分析提供判别基础。前人利用近红外光谱对茶叶做了大量研究^[5-9],主要是依据近红外进行定量和定性分析。然而在定量分析中没有解释茶叶组分近红外吸收在判别中的贡献率,在定性分析中也没有揭示茶叶组分近红外吸收与所预测物质组分的直接关系。本研究基于主成分分析和典则判别分析,不仅对不同发酵类型茶叶进行分类,同时获取了茶叶各组分近红外吸收在判别分析中的贡献。拓展了对近红外光谱技术在茶叶的判别中的认识。

3 结 论

本研究通过应用不同近红外光谱预处理技术对原始光谱降噪,然后结合典则判别分析将非发酵茶、半发酵茶和发酵茶分开;通过构建判别函数波数载荷图得到不同基团在典则判别分析中的贡献,为近红外判别提供基础理论依据。

参考文献:

- [1] 郭婷婷,王守觉,王红武.实用化商品玉米籽粒的近红外光谱品种判别方法研究[J].光谱学与光谱分析,2010,30(9):2372-2376.
- [2] 鄢文锦,王红武,陈绍江.基于近红外光谱的商品玉米品种快速鉴别方法[J].光谱学与光谱分析,2010,30(5):1248-1251.
- [3] ESTEBAN-DÍEZ I, GONZÁLEZ-SÁIZ J M, PIZARRO C. An evaluation of orthogonal signal correction methods for the characterisation of arabica and robusta coffee varieties by NIRS[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 514(1): 57-67.
- [4] 张菊华,朱向荣,李高阳.近红外光谱法结合化学计量学方法用于茶油真伪鉴别分析[J].分析化学,2011(5):748-752.
- [5] 赵杰文,陈全胜,张海东.近红外光谱分析技术在茶叶鉴别中的应用研究[J].光谱学与光谱分析,2006,26(9):1601-1604.
- [6] HE Yong, LI Xiaoli, DENG Xunfei. Discrimination of varieties of tea using near infrared spectroscopy by principal component analysis and BP model[J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 79(4): 1238-1242.
- [7] 牛智有,林新.茶叶定性和定量近红外光谱分析方法研究[J].光谱学与光谱分析,2009,29(9):2417-2420.
- [8] 周健,成浩,贺巍,等.基于近红外的PLS量化模型鉴定西湖龙井真伪的研究[J].光谱学与光谱分析,2009,29(5):1251-1254.
- [9] LIU S L, TSAI Y S, OU A S M. Classifying the variety, production area and season of Taiwan partially fermented tea by near infrared spectroscopy[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 18(1): 34-43.
- [10] CHEN Q S, ZHAO J W, CHAITEN S P, et al. Simultaneous analysis of main catechins contents in green tea (*Camellia sinensis* (L.)) by Fourier transform near infrared reflectance (FT-NIR) spectroscopy[J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(4): 1272-1277.
- [11] BURNS D A, CIURCZAK E W. Handbook of near-infrared analysis[M]. 3rd ed. CRC Press, 2008: 15-16.
- [12] 吴瑾光.近红外傅立叶变换红外光谱技术及应用:上[M].北京:科学技术文献出版社,1994:251.
- [13] WILLIAMS P, NORRIS K. Near infrared technology in the agricultural and food industries[M]. 2nd ed. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemist, 2001: 296.
- [14] 严衍禄,赵龙莲.近红外光谱分析基础与应用[M].北京:中国轻工业出版社,2005:146.
- [15] WANG Xiaoli, ZHOU Guomin. Study on pretreatment algorithm of near infrared spectroscopy[J]. *Computer and Computing Technologies in Agriculture IV IFIP Advances in Information and Communication Technology*, 2011, 345: 623-632.
- [16] LIU L, PHILIP Y, SAXTON B A M, et al. Pretreatment of near infrared spectral data in fast biomass analysis[J]. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2010, 18(5): 317-331.
- [17] 王硕,徐可欣.牛奶成分近红外光谱数据的预处理研究[J].红外,2006,27(11):27-30.
- [18] FERNÁNDEZ-CABANÁS V M, GARRIDO-VARO A, PÉREZ-MARÍN D, et al. Evaluation of pretreatment strategies for near-infrared spectroscopy calibration development of unground and ground compound feeding stuffs[J]. *Appl Spectrosc*, 2006, 60: 17-23.
- [19] BARNES R J, DHANOA M S, LISTER S J. Standard normal variate transformation and detrending of near-infrared diffuse reflectance spectra[J]. *Appl Spectrosc*, 1989, 43: 772-777.
- [20] CEN H Y, HE Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, 18(2): 72-83.