

张水花,史俊友,李艳丽. 云南普洱茶茶褐素的理化性质[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):335-337.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.104

云南普洱茶茶褐素的理化性质

张水花,史俊友,李艳丽

(曲靖师范学院化学与化工学院,云南曲靖 655011)

摘要:为研究茶褐素的理化性质,用 pH 值分级法将云南普洱茶中的茶褐素分为酸性不同的 6 个组分,并对每个组分进行 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(简称 DPPH)自由基清除率、多糖含量、红外光谱的定性、定量分析,以从结构、组成、抗氧化活性方面对不同组分茶褐素进行对比研究。结果表明:不同酸性的茶褐素组分在结构组成上具有一定的相似性,都含有多羟基酚类物质、多糖、羰基类等化合物;随着茶褐素酸性的增强,DPPH 自由基清除率降低;茶褐素 pH 值 > 2.00 时,多糖含量相差不大。

关键词:云南;茶褐素;提取;普洱茶;开发利用;DPPH;多糖;红外光谱

中图分类号: TQ917;TS272.5⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0335-03

普洱茶别称滇青茶,属于黑茶类,是以云南大叶种晒青茶为原料,经后发酵工艺加工而成的散茶或紧压茶,属双发酵茶。普洱茶中的茶褐素是一类从普洱熟茶中提取的纯天然混合物,是普洱茶具有滋味醇厚、汤色红褐、较高的化学生活活性的物质基础,因此茶褐素含量高低是评价普洱茶品质的重要指标^[1-4]。近年来,随着普洱茶改善人体的综合代谢、抑降血糖、血脂、血压、尿酸等功能与作用越来越得到人们的认可^[5-10],普洱茶及其中茶褐素的研究也备受研究者青睐。

尽管国内外科研工作者对茶褐素做了大量的研究,但是由于它们是组成复杂、组分不清楚的混合物,科学界到目前为止还难以确定其具体结构,这对研究其构、效关系带来很多困难,也给其生产、应用,特别是在医药、功能保健食品领域的应用带来了一定困难。因此,深入研究茶褐素的化学组成,阐明其结构特点是普洱茶进一步开发研究的基础性工作。本研究依据茶褐素的化学特性,采用分级法将茶褐素混和物分离成不同酸性的组分,并对各组分进行红外光谱特性、抗氧化性、多糖含量的测定与研究,以期普洱茶提取优质天然茶褐素与普洱茶的进一步开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与仪器

试验材料为普洱散茶,产于云南思茅,购自曲靖农贸市场,粉碎后过 80 目筛备用。

无水乙醇、正丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、葡聚糖、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(简称 DPPH)均为分析纯;实验室用水为蒸馏水。

主要仪器为 N-1100 型旋转蒸发仪、UV-1800 型紫外-可见分光光度计、SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵低温冷却液循环泵、TDL-5-A 低速台式离心机、PHS-3C 精密 pH 计、US 670 型傅立叶变换红外光谱仪。

收稿日期:2015-11-03

基金项目:云南省教育厅研究基金(编号:2013Y014)。

作者简介:张水花(1980—),女,云南曲靖人,硕士,副教授,研究方向为天然产物化学及保健食品。E-mail:z_shh@163.com。

1.2 茶褐素的提取与分级

按照相关文献中的方法提取茶褐素^[1]。制备流程:普洱茶(粉碎)→无水乙醇浸泡→过滤→茶渣用热蒸馏水浸泡→离心抽滤→滤液减压浓缩→二氯甲烷萃取 2 次→乙酸乙酯萃取 3 次→正丁醇萃取 4 次→水相减压浓缩→加无水乙醇后抽滤→收集沉淀→干燥→茶褐素。

分级:将制取得到的茶褐素溶解在蒸馏水中,用稀盐酸将茶褐素水溶液的沉降酸度(pH 值)由高到底依次调节为 ≥ 5.01、4.01~5.00、3.01~4.00、2.01~3.00、1.01~2.00、≤ 1.00,得到 6 个相对酸性不同的茶褐素组分,依次命名为 TB1、TB2、TB3、TB4、TB5、TB6。

1.3 抗氧化性测定

取 2.00 mL 待测溶液、2.00 mL DPPH 自由基溶液(2.0×10^{-4} mol/L),加入具塞试管中,混匀 30 min 后置于比色皿中,在 517 nm 处测其吸光度,记为 $D_{517\text{ nm}(i)}$ 。同时测定 2.00 mL DPPH 自由基溶液和 2.00 mL 无水乙醇混合后的吸光度,记为 $D_{517\text{ nm}(o)}$;测定 2.00 mL 相同试样溶液 + 2.00 mL 无水乙醇混合后的吸光度,记为 $D_{517\text{ nm}(j)}$ 。抗氧化性能用清除率来表示,清除率越大,表示抗氧化性能越强。清除率计算公式: $\text{DPPH 清除率} = \{1 - [D_{517\text{ nm}(j)} - D_{517\text{ nm}(i)}] / D_{517\text{ nm}(o)}\} \times 100\%$ 。

1.4 多糖测定

采用蒽酮-硫酸法,以葡聚糖为标准品。

1.5 茶褐素红外光谱分析

将茶褐素经 KBr 压片,用傅立叶变换红外光谱仪扫描分析,扫描波数范围为 400~4 000 cm^{-1} 。

2 结果与分析

2.1 DPPH 自由基清除率的测定

现代生物学理论认为,自由基是导致人体衰老、死亡及产生疾病的主要原因之一,是因为自由基会引起生物细胞氧化性损伤,损害脱氧核糖核酸、胶原蛋白,破坏组织细胞,使老年斑等衰老体征出现。此外,自由基也容易诱发癌症、老年痴呆、心血管等疾病。目前,体外检测抗氧化剂清除自由基方法中以 DPPH 自由基为常见的对象。抗氧化性能可用清除率来

表示,清除率越大,抗氧化性能越强。由表 1 可见,茶褐素对 DPPH 自由基清除率与茶褐素的酸性有关,随着酸度的增加,清除率降低,说明抗氧化性也降低。

表 1 不同茶褐素组分的 DPPH 自由基清除率	
组分	清除率(%)
TB1	79.70
TB2	76.49
TB3	75.77
TB4	73.60
TB5	61.67
TB6	47.37

2.2 多糖含量的测定

茶褐素中的多糖是重要组分之一,多糖含量与种类直接影响茶褐素的化学、生理活性^[11-12]。由表 2 可知:TB1、TB3、TB4 组分多糖含量相差不大,TB4 组分含量略高,含量最低的为 TB6 组分。

2.3 红外光谱结果

从各组分的红外光谱图(图 1 至图 6)可以看出,不同条件下得到的茶褐素在基频区显示出一些相似的红外光谱特

征:在 3 400 cm⁻¹ 附近有强而宽 X—H(X 为 O,H)缔合吸收峰(v_{X-H});2 900 cm⁻¹ 处为脂肪 C—H 伸缩振动吸收(v_{C-H});1 640~1 620 cm⁻¹ 处为 C=O 的伸缩振动峰,可能掩盖一定数量的酰胺键($v_{O=C-N}$)的特征吸收峰,结合 1 540~1 520 cm⁻¹ 处的吸收峰可以判断,该处可能还包含芳环骨架振动引起吸收。但仔细对照分析发现,各组分在指纹区的吸收差别较大,尤其是 TB6 组分与其他 5 个组分的差别十分明显。红外光谱分析说明,不同组分的茶褐素在组成结构上有一定的相似性,茶褐素为多羟基酚类物质,并含有羧基,还可能含有多糖,但不同官能团片段在连接方式及顺序上不一样,更确切的基团情况尚须进一步做其他相关分析来确定。

表 2 不同茶褐素组分中多糖含量测定结果	
组分	多糖含量(mg/g)
TB1	22.88
TB2	21.88
TB3	22.93
TB4	23.50
TB5	17.29
TB6	11.01

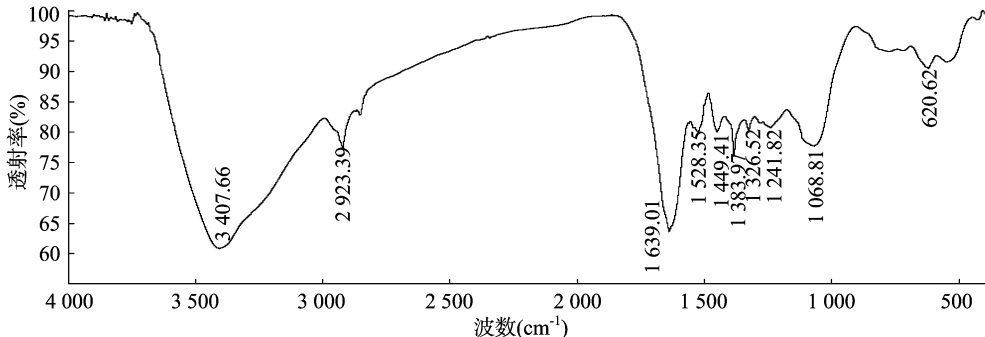


图1 TB1 茶褐素的红外光谱结果

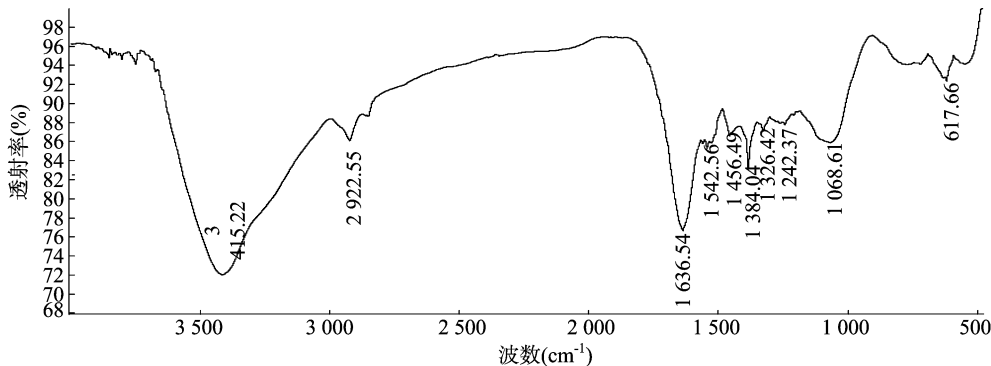


图2 TB2 茶褐素的红外光谱结果

3 结论

本研究表明,不同组分的茶褐素在结构组成上具有一定的相似性,都含有羟基、羰基、多糖类物质。茶褐素对 DPPH 自由基清除率与茶褐素的酸性有关,随着酸度的增加,对 DPPH 自由基清除率降低。沉降酸度(pH 值) > 2.00 的茶褐素组分多糖含量相差不大,酸性最强的茶褐素中多糖含量最低。

参考文献:

[1]秦 谊,龚加顺,张惠芬,等. 普洱茶茶褐素提取工艺及理化性质

的初步研究[J]. 林产化学与工业,2009,29(5):95-98.
[2]龚加顺,周红杰,张新富,等. 云南晒青绿毛茶的微生物固态发酵及成分变化研究[J]. 茶叶科学,2005,25(4):300-306.
[3]龚淑英,周树红. 普洱茶贮藏过程中主要化学成分含量及感官品质变化的研究[J]. 茶叶科学,2002,22(1):51-56.
[4]王秋萍,龚加顺. “紫娟”普洱茶茶褐素对高脂饮食大鼠生长发育的影响[J]. 茶叶科学,2012,32(1):87-94.
[5]梁名志. 漫谈古今神奇普洱茶药效[J]. 云南茶叶,1996,1(2):7-10.
[6]揭国良,何普明,丁仁凤. 普洱茶抗氧化特性的初步研究[J]. 茶

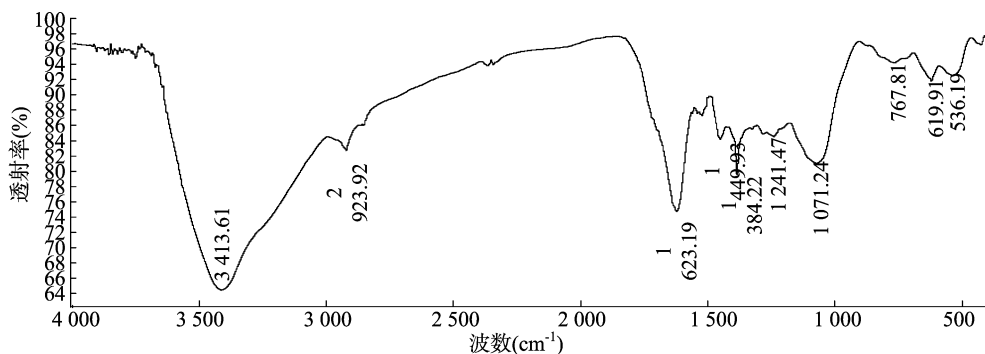


图3 TB3 茶褐素的红外光谱结果

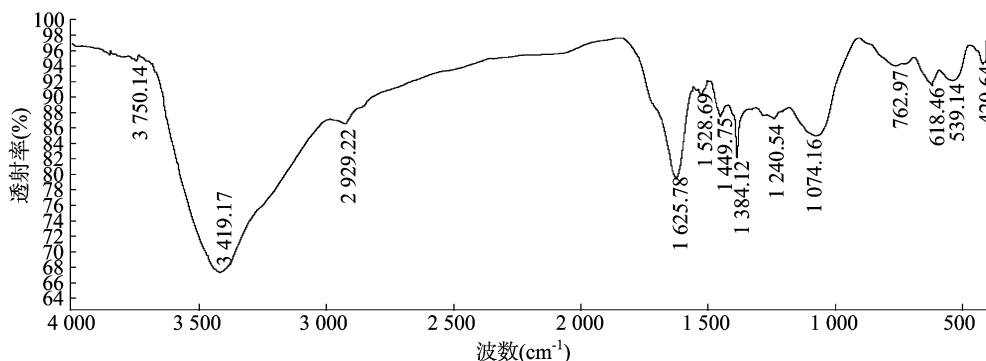


图4 TB4 茶褐素的红外光谱结果

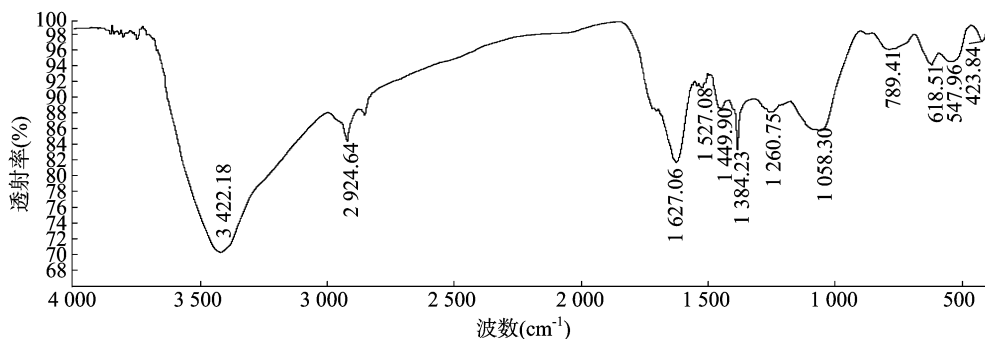


图5 TB5 茶褐素的红外光谱结果

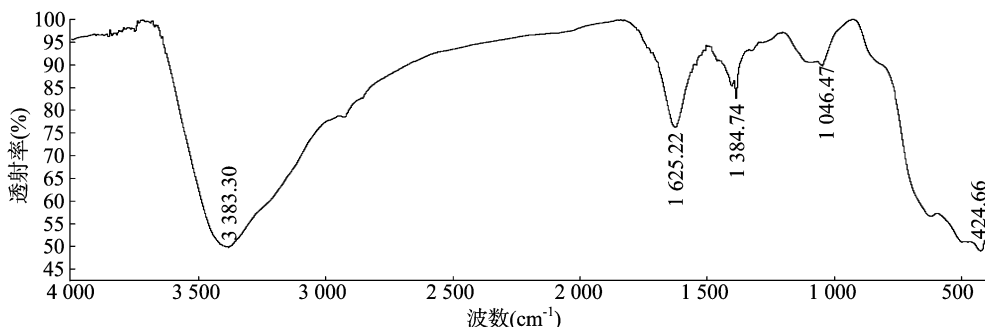


图6 TB6 茶褐素的红外光谱结果

叶,2005,31(3):162-165.

[7] 龚加顺,陈文品,周红杰,等. 云南普洱茶特征成分的功能与毒理学评价[J]. 茶叶科学,2007,27(3):201-210.

[8] Collier P D, Bryee T, Mallows R, et al. The theaflavins of black tea [J]. Tetrahedron, 1973, 29(1):125-142.

[9] Haslam E. Thoughts on the arubigins [J]. Phytochemistry, 2003, 64(1):61-73.

[10] McDowell I, Taylor S, Cay C. The phenolic pigment composition of black tea liquors - Part I: Predicting quality [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 69(4):467-474.

[11] 聂少平, 谢明勇, 罗 珍. 茶叶多糖的抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5):549-552.

[12] 聂少平, 谢明勇, 罗 珍. 用清除有机自由基 DPPH 法评价茶叶多糖的抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2006, 27(3):34-36.

徐洁, 杨杰, 孙静涛, 等. 基于高光谱技术的哈密瓜表面农药残留判别分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(12): 338–340.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.105

基于高光谱技术的哈密瓜表面农药残留判别分析

徐洁, 杨杰, 孙静涛, 叶晋涛, 蒋伟, 黄成伟, 马本学

(石河子大学机械电气工程学院, 新疆石河子 832000)

摘要:以新疆特色水果哈密瓜为研究对象,应用高光谱技术对水果表面农药残留种类进行分析。配制 0.1 mg/kg 20% 氰戊菊酯乳油和 0.03 mg/kg 40% 辛硫磷乳油农药溶液样本,按 100 μ L 滴定量滴在哈密瓜表面,然后分别在紫外灯和卤素灯环境下,采集 450 ~ 1 000 nm 范围内的哈密瓜光谱图像数据信息,提取感兴趣区域(region of interest,简称 ROI)的光谱数据。结果表明,在卤素灯光源条件下采用贝叶斯判别法,农残样本的准确率为 100%,利用高光谱技术能够准确判别出哈密瓜表面农药残留的种类。

关键词:哈密瓜;高光谱技术;无损检测;判别分析法;农药残留

中图分类号: TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0338-03

近年来,随着人们生活水平的提高,消费者对食品安全问题的关注度也越来越高。根据 GB/T23398—2009《地理标志产品——哈密瓜》^[1],化学农药残留是评判哈密瓜等级的重要指标之一,农药残留的主要来源是哈密瓜病虫害的防治及农药的喷施。近几年气候异常增多,哈密瓜病虫害种类越来越多,在广泛使用不同种类农药的情况下,由农药残留引发的食品安全问题接踵而至。因此,农药残留检测能够为实施食品安全计划提供重要技术支撑,同时对保障消费者健康也具有重要意义。

高光谱技术作为一种新兴技术,在农产品品质检测方面应用广泛。国内外学者将光谱技术应用于农药残留检测领域。薛龙等应用高光谱技术检测脐橙表面农药残留,结果表明,高光谱技术对检测浓度较高的农药残留效果非常明显^[2]。索少增等证明了高光谱技术结合人工神经网络检测梨表面农药残留是可行的^[3]。刘民法等应用高光谱技术判别灵武长枣表面农药残留种类,准确率最高为 100%^[4-5]。魏晓晖等应用表面增强拉曼光谱、近红外光谱、荧光激发等方法对食品中的农药残留进行了研究^[6-8]。孙俊等研究的基于自适应提升算法的支持向量机算法能较准确地鉴别桑叶农药残留^[9]。本研究以新疆特色瓜果哈密瓜为研究对象,采用高光谱成像技术结合距离判别法和贝叶斯判别法检测哈密瓜表面农药残留种类。

1 材料与方法

1.1 试验材料

60 个欣源 6 号哈密瓜样本,均从新疆五家渠农 6 师 103 团选购。

收稿日期:2015-10-29

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2015BAD19B03)。

作者简介:徐洁(1991—),女,新疆阜康人,硕士,主要从事农业装备自动控制与智能检测技术研究。E-mail:18703083963@163.com。

通信作者:马本学,博士,教授,主要从事农产品智能化检测与分级装备研究。E-mail:mbx_shz@163.com。

1.2 样本处理

为使试验结果更加精确,首先在选择的哈密瓜样本中除去表面有明显伤痕的样本,然后对哈密瓜表面进行清洁擦拭,依次编号。根据 GB14868—1994《食品中辛硫磷最大残留限量标准》^[10]和 GB14928.5—1994《食品中氰戊菊酯最大残留限量标准》^[11],分别配制浓度为 0.03 mg/kg 的 40% 辛硫磷样本溶液和浓度为 0.1 mg/kg 的 20% 氰戊菊酯样本溶液,并用移液枪将农药样本溶液滴在洁净的哈密瓜表面,滴定量为 100 μ L/个。

1.3 试验装置

试验所用的高光谱成像系统主要包括线阵 CCD 摄像机(hamamatsu)、光谱仪(imspectorV10e)、物镜、电控平移台、150 W 光纤卤素灯、ML-3500 系列超高强度紫外灯及计算机。采集光谱时,测量试验系统环境温度为 24 $^{\circ}$ C,湿度为 50% ~ 55%。经多次试验调整和参量优化,设置光谱采集波段范围为 400 ~ 1 000 nm,光谱分辨率为 2.8 nm,紫外灯曝光时间为 52 ms,卤素灯曝光时间为 11 ms,物距为 300 mm,图像采集速度为 1.15 mm/s。

1.4 图像数据采集

高光谱图像是一系列光波波长的光学图像。光谱范围可以在紫外(200 ~ 400 nm)、可见光(400 ~ 760 nm)、近红外(760 ~ 2 560 nm)以及波长大于 2 560 nm 的区域。高光谱图像数据也被称为图像块,结构如图 1 所示,其中 x 、 y 二维是图像像素坐标信息, λ 是第 3 维波长信息。由图 1 还可见,原始光谱既有特定波长下的图像信息,又有特定像素下的光谱信息。值得注意的是,在图像采集过程中,为避免噪音及暗电流造成的图像失真,需要在采集前将仪器预热 30 min,并进行黑白校正。

2 结果与分析

2.1 感兴趣区域光谱信息的提取

分别将含有辛硫磷、氰戊菊酯的农残样本放在卤素灯、紫外灯环境中,采集光谱数据。创建大小为 50 \times 50 像素的矩形块,提取感兴趣区域的光谱数据。由于 450 nm 以下的波段被

噪声干扰较大,故选取 450 ~ 1 000 nm 波段范围进行光谱数据分析。在紫外灯、卤素灯照射下,无农药光谱曲线分别如图

2-a、图 2-b 所示;含有辛硫磷的光谱曲线如图 2-c、图 2-d 所示;图 2-e、图 2-f 为含有氰戊菊酯的光谱曲线。

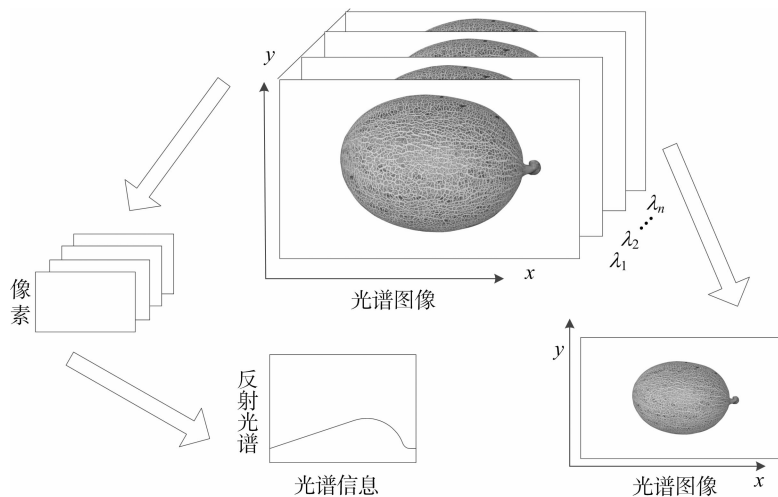


图1 高光谱图像数据块

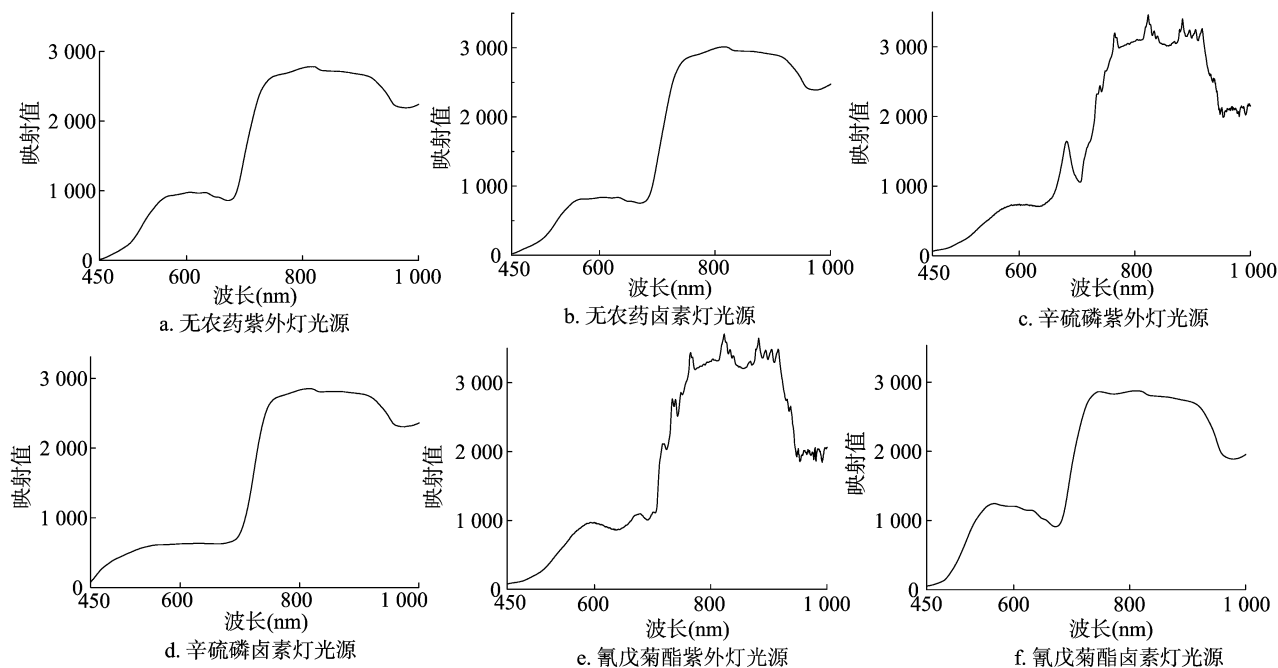


图2 光谱曲线

2.2 光谱数据预处理

由于摄像头中暗电流的存在以及哈密瓜表面的不平整,光照度分布较弱波段下的图像噪声影响较大,因此,必须对图像进行预处理,以提高判断的准确率。本研究对试验数据进行 smooth 函数平滑处理,该方法能较好地滤除噪声。图 3-a 为紫外灯光源下平滑处理后的光谱曲线,图 3-b 为卤素灯光源下平滑处理后的光谱曲线。由图 3-a 可以看出,在波长 535.875 47 ~ 690.910 99 nm 和 747.513 581 ~ 932.386 126 nm 2 个波段范围内,3 条光谱曲线差异较大,因此,在紫外灯照射条件下,选择 535 ~ 690 nm 和 747 ~ 932 nm 为特征波段。同理,根据图 3-b 在卤素灯照射条件下的光谱曲线,选取特征波段为 507.816 092 ~ 679.177 64 nm。

2.3 农药残留样本判别分析

2.3.1 不同光源下农残样本的距离判别分析

在不同光源照射下,分别选取 30 个辛硫磷、氰戊菊酯和无农药样本,共 90 个样本,其中 15 个为预测集,根据样本在感兴趣区域 (ROI) 的特征波长,建立距离判别分析模型,以 classify 为函数支持,判别函数类型为 Quadratic。在紫外灯环境下,农残样本准确率为 94.67% (图 4);在卤素灯环境下,农残样本判别准确率为 89.33% (图 5)。

2.3.2 不同光源下农残样本的贝叶斯判别分析

在不同光源照射下,分别选取 30 个辛硫磷、氰戊菊酯和无农药样本,共 90 个样本,其中 15 个为预测集,根据样本在 ROI 区域的特征波长,建立贝叶斯判别分析模型。在紫外灯环境下,农残样本判断准确率为 86.67% (图 6);在卤素灯环境下,农残样本判断准确率为 100.00% (图 7)。

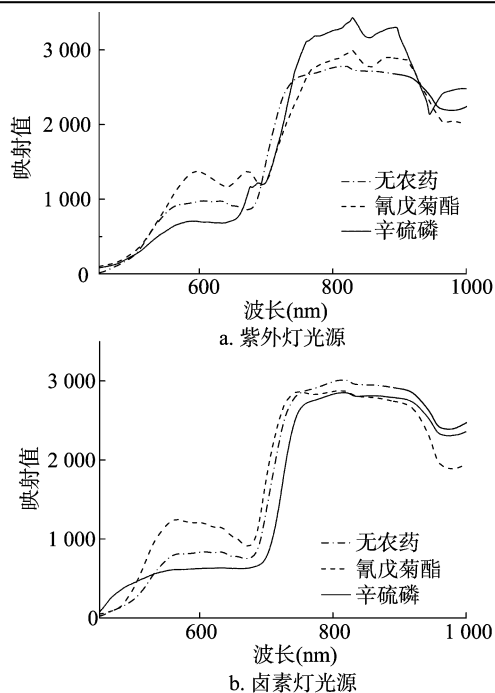


图3 平滑处理后的光谱曲线

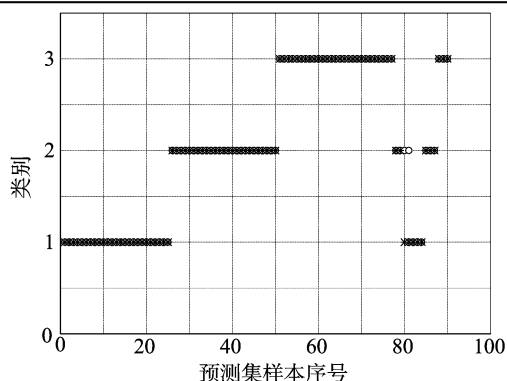


图6 紫外灯环境下农残样本感兴趣区域贝叶斯判别分类结果

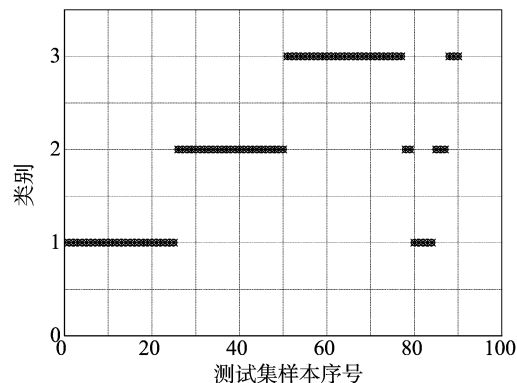
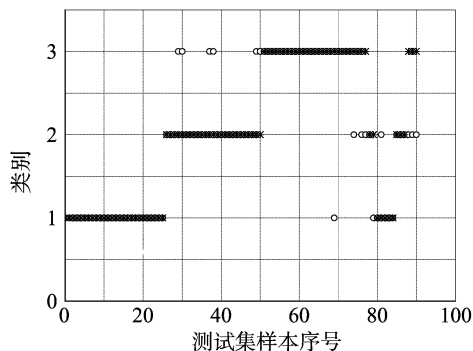


图7 卤素灯环境下农残样本感兴趣区域贝叶斯判别分类结果



。预测集；* 实测集；类别1—无农药；类别2—氰戊菊酯；类别3—辛硫磷。下图同

图4 紫外灯环境下农残样本感兴趣区域距离判别分类结果

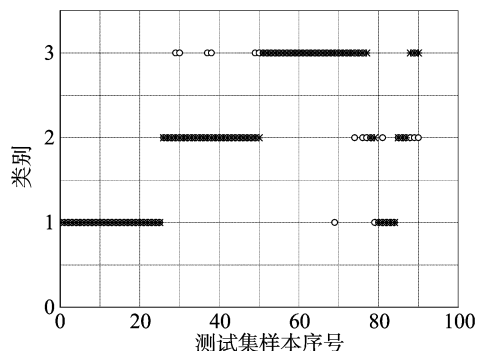


图5 卤素灯环境下农残样本感兴趣区域距离判别分类结果

3 结论与讨论

本研究采用高光谱技术以及在紫外灯、卤素灯不同光照环境下,采用不同的判别法对哈密瓜表面农药残留种类进行判别。农残样本在紫外灯光源环境下,采用距离判别法判断的准确率为94.67%,采用贝叶斯判别法判别的准确率为

86.67%。农残样本在线卤素灯光源环境下采用距离判别法判别的准确率为89.33%,采用贝叶斯判别法判别的准确率为100.00%。结果表明,高光谱成像技术结合距离判别法与贝叶斯判别法可用于对农药残留种类进行判别。

参考文献:

- [1] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会. 地理标志产品——哈密瓜 GB/T 23398—2009[S/OL]. 北京:中国标准出版社,2009:1—8. <http://www.docin.com/p-548143019.html>.
- [2] 薛龙,黎静,刘木华. 基于高光谱图像技术的水果表面农药残留检测试验研究[J]. 光学学报,2008,28(12):2277—2280.
- [3] 索少增,刘翠玲,吴静珠,等. 高光谱图像技术检测梨表面农药残留试验研究[J]. 食品科学技术学报,2011,29(6):73—77.
- [4] 刘民法,张令标,何建国,等. 基于高光谱成像技术的长枣表面农药残留无损检测[J]. 食品与机械,2014,30(5):87—92.
- [5] 张令标. 基于高光谱成像技术的红枣表面农药残留无损检测的研究[D]. 银川:宁夏大学,2014.
- [6] 魏晓晖,衣淑娟,秦雯. 基于拉曼光谱的苹果表皮残留敌百虫的检测[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2015,27(2):100—103.
- [7] Yang C C, Kim M S, Millner P. Development of multispectral imaging algorithm for detection of frass on mature red tomatoes[J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 93(3):1—8.
- [8] 雷鹏,吕少波,李野,等. 多光谱荧光图像技术检测农药残留[J]. 发光学报,2014,35(6):748—753.
- [9] 孙俊,张梅霞,毛罕平,等. 基于高光谱图像的桑叶农药残留鉴别研究[J]. 农业机械学报,2015,46(6):251—256.
- [10] GB14868—1994 食品中辛硫磷最大残留限量标准[S].
- [11] GB14928.5—1994 食品中氰戊菊酯最大残留限量标准[S].