

茶多酚中咖啡因的近红外光谱分析

芦永军¹, 陈华才^{1,2}, 吕进², 陈星旦¹

- 1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130022
- 2. 中国计量学院, 浙江 杭州 310018

摘要 采用近红外光谱分析技术对茶多酚中咖啡因进行了光谱及定量分析, 原始光谱表明咖啡因在近红外波段有着很强且较为明显的吸收峰。通过对样品的漫反射原始吸光度光谱进行导数、散射校正及相关分析更清晰地给出了咖啡因在近红外光谱波段的光谱特性, 为建立快速稳健的定标模型创造了条件。该技术能够解析出咖啡因中各主要基团在近红外波段的吸收特性, 结合定标过程定量快速检测咖啡因在茶多酚中的含量, 定标分析结果显示在很大的浓度范围内有很好的线性相关性, 定标标准差 SEC 为 0.49%, 相关系数(r)为 0.993, 证实了近红外光谱分析技术作为一种新的快速分析茶多酚中咖啡因含量手段的可行性及优越性。

主题词 茶多酚; 咖啡因; 近红外光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2005)08-1243-03

引言

茶多酚(Tea polyphenol)是从茶叶中分离提取出的一类多酚类化合物复合体, 其主要成分是儿茶素和少量的咖啡因, 咖啡因在茶多酚中含量的高低决定着茶多酚不同的应用范围。对于医药保健方面, 咖啡因的含量要低于 1%^[1], 在其他应用方面茶多酚中咖啡因的含量又有着特殊的要求。目前用于监测茶多酚中咖啡因的常用方法有高效液相色谱法(HPLC)^[2], 红外、紫外分光光度计法^[3], 超临界流体色谱法^[4]等。以上分析方法均属于化学分析法, 需要对样品进行化学预处理, 容易带来化学污染, 虽然能够给出较高的分析精度, 但分析时间较长, 无法满足生产过程在线监控的要求。近红外光谱分析技术^[5]具有分析速度快、无化学污染、无需复杂的样品制备过程、仪器成本较低等特点, 特别适合于生产过程在线成分定量分析, 便于建立快速的质量认证体系。本文采用近红外光谱分析技术用于茶多酚中咖啡因(化学结构式见图 1)的快速定量分析, 通过对咖啡因的近红外光

吸收在近红外波段的倍频和合频吸收峰位, 通过与统计相关光谱进行对照比较分析发现, 经过散射校正后得到的相关光谱与样品原始吸收光谱之间有着更加准确的对应关系, 这对于研制针对于定量分析咖啡因的近红外分析仪器具有很高的参考价值。通过建立样品近红外光谱特性与化学成分特性的定标模型分析表明, 该分析方法能够快速给出较为精确的分析结果。因此, 本文的工作是很有意义的, 近年来, 从对样品中杂质含量的分析研究来看, 近红外光谱方法是很有效的, 例如可参阅文献[6, 7]。

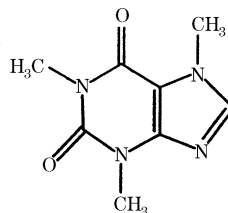


Fig. 1 The chemical structure of caffeine

谱进行解析, 找到了其主要基团 $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}$, $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{N}-\text{R}$, $\text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{H}$, $\text{C}=\text{NH}$ 的中红外基团

1 实验

实验仪器: Thermo Nicolet FT-NIR 光谱仪以及配套的 TQ Analyst V6 化学计量分析软件。

实验样品: 具有一定咖啡因含量梯度的茶多酚粉末样品 46 份, 高纯度咖啡因样品 4 份, 成分浓度范围为 0.29%~86.47%, 从中选取具有代表性的 42 个样品作为定标集, 8 个

收稿日期: 2004-01-16, 修订日期: 2004-05-08

基金项目: 浙江省自然科学基金(202081)和长春光学精密机械与物理研究所青年创新基金资助

作者简介: 芦永军, 1976 年生, 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所博士研究生

样品作为预测集, 咖啡因的化学值由标准的 HPLC 法测定。

茶多酚光谱数据: 茶多酚的近红外光谱是在 Thermo Nicolet FT-NIR 仪器上测定。测量方式为漫反射式, 数据采集分辨率为 32 cm^{-1} , 扫描平均次数为 30 次。

2 分析与讨论

咖啡因主要官能团在近红外区的倍频吸收位置波数, 是其对应的中红外能量较高的基频吸收位置波数的整数倍, 合频和差频吸收位置波数则分别对应于不同官能团基频吸收位置波数之和或差, 但由于各基团化学组成环境及内部结构的不同而有所偏移。在中红外波段各官能团和基团都有各自的特征吸收谱线, 吸收峰相互分离且较为尖锐, 易于判别, 而在近红外波段(波数为 $12\ 500\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$)倍频、合频和差频吸收峰较宽且相互重叠, 所以很难直接解析其对应的吸收峰位置。通过对近红外光谱进行导数处理来提高光谱分辨率, 可以找到各官能团所对应的吸收峰位置。然而导数光谱对于光谱中的噪声也极为敏感, 导数阶数越高噪声影响越显著, 所以要求用于采集原始光谱数据的光谱仪具有很高的信噪比。图 2 给出了咖啡因含量很高的茶多酚的近红外光谱及其二阶导数光谱, 二阶导数光谱中的极小值对应于原始光谱的吸收峰位置, 通过与近红外经验吸收光谱^[7]相对照, 找出了咖啡因中主要官能团的吸收位置(见图 2 注释)。咖啡因各主要官能团的近红外光谱吸收都是由于 CH, OH, NH 等基本化学键的倍频和合频吸收引起的。

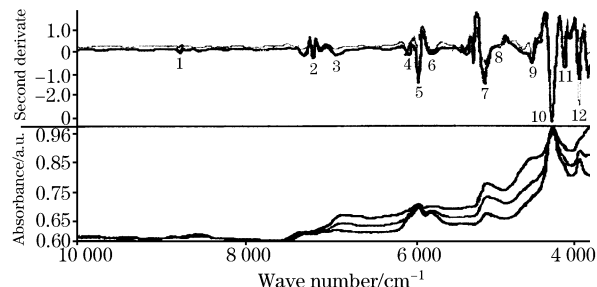


Fig. 2 The original spectra (below) and second derivative spectra (above) of caffeine

- 1, $8\ 681\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动, 二级倍频;
- 2, $7\ 353\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动二级倍频+CH 的弯曲振动, 合频;
- 3, $6\ 993\text{ cm}^{-1}$, NH 的伸缩振动, 一级倍频;
- 4, $6\ 173\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动, 一级倍频;
- 5, $6\ 024\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动, 一级倍频;
- 6, $5\ 900\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动, 一级倍频;
- 7, $5\ 208\text{ cm}^{-1}$, C=O 伸缩振动, 二级倍频;
- 8, $5\ 128\text{ cm}^{-1}$, C=O 伸缩振动, 二级倍频;
- 9, $4\ 690\text{ cm}^{-1}$, NH 的伸缩振动+ C=O 伸缩振动, 合频;
- 10, $4\ 440\text{ cm}^{-1}$, OH 的伸缩振动+OH 的弯曲振动, 合频;
- 11, $4\ 305\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动+CH 的弯曲振动, 合频;
- 12, $4\ 063\text{ cm}^{-1}$, CH 的伸缩振动+CC 的弯曲振动, 合频

茶多酚中的主要成分儿茶素也有较为复杂的化学结构,

其中酚类化合物中 OH 有很强的近红外吸收, 如图 3 所示, 由于儿茶素和咖啡因化学结构上的不同导致了其近红外光谱特征的明显差异, 图中箭头所示为这两种主要成分的显著差别之处。由于各主要成分的近红外吸收之间有着相互的干扰, 所以必须针对茶多酚中咖啡因的光谱吸收特性来确定定标波长, 在选取最大相关吸收波长的同时, 兼顾此波长处各主要成分的吸收特性来避免成分光谱之间的相互干扰。

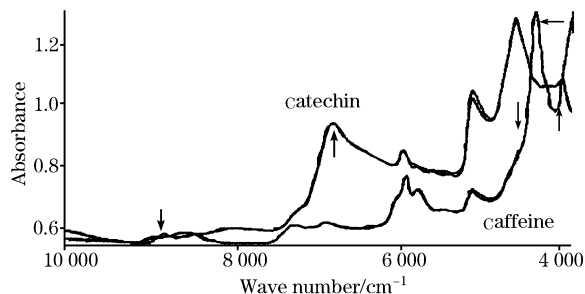


Fig. 3 The original spectra of caffeine and total catechin of tea polyphenol

通过将咖啡因近红外光谱中每一个波长点数据与所有咖啡因样品的化学浓度数据进行一元线性回归, 得到咖啡因光谱特性与化学浓度特性之间的单波长相关系数, 将各个波长点处对应的相关系数与波长点进行绘图得到与原始近红外光谱对应的相关光谱图(如图 4 所示)。从相关光谱图(下)与原始近红外光谱(中)之间的对照可以看出, 相关光谱在箭头处给出了不合理的结果, 其中吸光度很低的区域 1 给出了较高的相关系数, 而区域 2 和 3 为两个咖啡因的主要吸收区域却给出了极低的相关系数。究其原因主要是单个波长点进行线性回归得到的相关系数易受到样品颗粒度或装填密度等物理因素所导致的散射影响。样品的散射影响随波长的增加而增大, 随成分吸光度值的减小而增大, 这就充分说明了直接采用相关光谱确定样品中主要成分近红外光谱特性与化学浓度特性之间相关性的不可靠性。基于此, 将茶多酚中咖啡因的原始光谱进行多元散射校正, 对校正后的光谱的各个波长数据点分别对样品的化学浓度特性进行线性回归得到散射校正

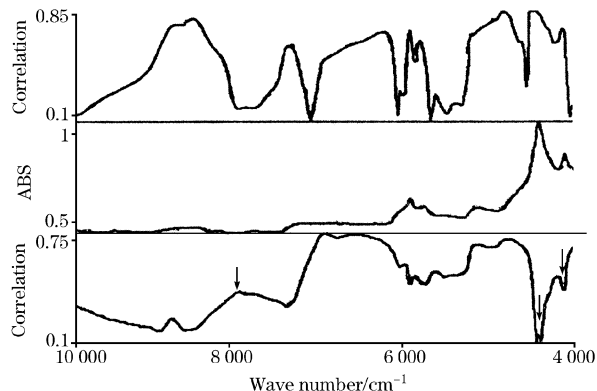


Fig. 4 The original spectrum (midst) and the corresponding correlation plot (below) and correlation plot under MSC (top)

(ABS: Absorbance)

相关光谱(见图 4)。由于对原始光谱进行散射校正后得到的光谱最大程度上反映了样品的光谱吸收特性随成分化学浓度变化的趋势,所以在原始光谱的预处理中经常会用到,同时实验结果表明,散射校正相关光谱图与样品原始光谱特性之间保持着很强的一致性,能准确地提供样品近红外光谱吸收特性与化学浓度特性之间相关性的信息。依据相关光谱显示的信息,选定 $6\ 150\sim 6\ 950\ \text{cm}^{-1}$ ($1\ 440\sim 1\ 630\ \text{nm}$) 相关波段为定标波长段与咖啡因的化学浓度进行偏最小二乘回归

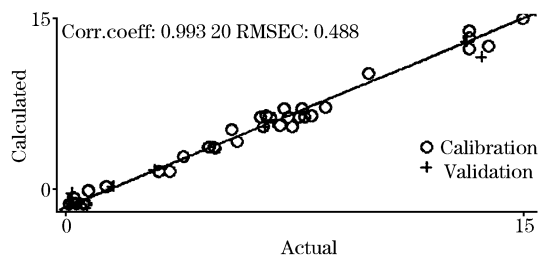


Fig. 5 The scatter plot of calibration of tea polyphenol

分析,得到了很好的定标结果,定标标准差 SEC 为 0.49% , 相关系数(r)为 0.993 , 定标结果散点图如图 5 所示。

3 结 论

通过对茶多酚中咖啡因的近红外光谱进行二阶导数光谱分析并结合咖啡因中各主要基团在近红外波段的经验吸收相比照,找到了其倍频及合频吸收所对应的峰位。对咖啡因的近红外光谱特性与化学浓度在各个波长处进行相关分析,得到的相关光谱与散射校正光谱相对比发现,咖啡因在 $7\ 354$, $4\ 444$, $4\ 124\ \text{cm}^{-1}$ 处的 3 个强吸收峰在对应的相关光谱中给出了较高的相关系数。但这 3 个波长处的相关峰的展宽及强度又有所差异,这对起始最优定标波长选择提供了依据,展宽较宽且相关较高的吸收峰是最佳的定标波长选择区域。选取 $6\ 150\sim 6\ 950\ \text{nm}$ 波长范围内的光谱数据点作为定标波长,结合偏最小二乘回归方法得到了很高的定标精度。

参 考 文 献

- [1] YUAN Hua, et al(袁 华, 等). Hubei Chemical Industry(湖北化工), 2000, (3): 17.
- [2] GUAN Cong-xin, HUI Rui-hua, HOU Dong-yan, WANG Lei(关崇新, 回瑞华, 侯冬岩, 王 蕾). Journal of Anshan Teachers College (鞍山师范学院学报), 2001, (3): 45.
- [3] A You-mei, LÁ Shuang-xi, JIA Lu, PAN Cheng-xue, ZHANG Hong-ling(阿有梅, 吕双喜, 贾 陆, 潘成学, 张红岭). Journal of Henan Medical University(河南医科大学学报), 2001, 36(1): 80.
- [4] GUO Ya-dong(郭亚东). Chinese Journal of Chromatography(色谱), 2002, 20(1): 75.
- [5] Williams, Karl Norris. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries(Second Edition). Minnesota(USA): American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, 2001.
- [6] GU Xiao-yu, WANG Yan, XU Ke-xin, et al(谷筱玉, 汪 曛, 徐可欣, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(2): 155.
- [7] LU Yong-jun, QU Yan-ling, PIAO Ren-guan, et al(芦永军, 曲艳玲, 朴仁官, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(2): 158.
- [8] Osborne B G, et al. Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis. An Imprint of Pearson Education (Second Edition), 1993, 28.

Near Infrared Determination of the Content of Caffeine in Tea Polyphenol

LU Yong-jun¹, CHEN Hua-cai^{1, 2}, LÁ Jin², CHEN Xing-dan¹

1. State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China

2. China Institute of Metrology, Hangzhou 310018, China

Abstract In the present paper the caffeine in the tea polyphenol was analysed spectrally and quantitatively by using near infrared spectroscopy. From the original absorbance of caffeine in the tea polyphenol an obvious and strong peak can be viewed. By using second derivative, MSC(multiple scatter correction) and correlation analysis the spectral characteristics of caffeine in the near infrared region can be seen very clearly, thus the robust calibration model can be set up easily. The result obtained shows that through this technique the absorptive characteristic of those primary fundamentals of caffeine can be looked through easily, meanwhile, calibration test was performed to quantitatively measure the weight percent of caffeine in the tea polyphenol, and fine precision of the result was obtained in a comparatively very large range of concentration. The SEC(standard error of calibration) is 0.49% , and the correlation coefficient r is 0.993 . The result shows that NIR is feasible and superior in analyzing the content of caffeine in tea polyphenol.

Keywords Tea polyphenol; Caffeine; NIR

(Received Jan. 16, 2004; accepted May 8, 2004)