

激光诱导荧光探测 LED 红蓝光培育对云雾茶品质影响的研究

陶莎 薛清 王素芹

(江苏海洋大学理学院, 江苏连云港 222005)

摘要: 本文设计并提出一种新型云雾茶 LED 红蓝光人工培育方法, 通过搭建全光纤激光诱导荧光探测系统, 由荧光光谱和反射光谱建立云雾茶叶片中影响茶叶品质的叶绿素、茶氨酸、茶多酚有机物的多元线性回归模型, 实现云雾茶叶片有机物含量的精准探测。通过优化 LED 光源的光量子流密度以及 R/B 配比, 获得云雾茶 LED 红蓝光培育的最佳方案。实验中应用不同的培育方法培育茶树 60 天, 经过激光诱导荧光探测系统进行检测得到不同培育方法下茶叶叶片的荧光参数, 研究结果表明采用 LED 红蓝光 9: 1 配比为最佳培育方案。

关键词: 激光诱导荧光技术; 叶绿素; 荧光光谱

作为江苏三大名茶之一的云台山云雾茶富含茶碱、茶丹宁、维生素, 具有强心清火、收敛利尿、消炎杀菌等功用, 受到众多爱茶人士的喜爱。产地连云港市位于江苏省东北部, 气候环境具备了高山、海雾、土壤和水质等适宜云雾茶生长的自然条件, 使其山地云雾茶品质明显优于平原云雾茶。然而, 云台山山地云雾茶在产业化过程中却面临着以下问题:

1. 基地规模小, 多数茶园分布在山地上, 据统计, 云台山茶园面积仅为 5000 余亩, 影响云雾茶的产业化经营;
2. 茶叶种植及加工设备等基础设施都较为落后, 影响茶叶质量及产量;
3. 云雾茶品质无法保证, 上品云雾茶的产量非常稀少。

为了解决上述问题, 本文设计并提出一种新型的云雾茶 LED 红蓝光人工培育方法, 通过此方法可解决平原云雾茶与山地云雾茶的品质差异, 从而扩大云雾茶种植范围, 促进高品质云雾茶种植的产业化进程。利用激光诱导荧光技术针对不同光量子流密度以及不同 R/B 配比下云雾茶叶片光谱进行分析和研究, 实现对云雾茶叶片中影响茶叶品质的叶绿素、茶氨酸、茶多酚含量的检测,

从而确定最佳培育方案。激光诱导荧光技术是利用植物中的荧光物质受到激光激发后的荧光效应来反演其浓度的生物探测技术, 与传统的电子探针法、质谱法、光谱法及极谱法等生物检测方法相比, 具有快速高效、分析灵敏度高和不需对样品进行预处理等的优点。本文采用全光纤激光诱导荧光检测系统, 可以快速、精确地对茶叶叶片中的叶绿素含量变化规律进行研究。

一、LED 红蓝光培育方法

植物在光合作用过程中吸收光谱的光合色素是叶绿素, 植物叶片中的叶绿素主要包含叶绿素 a 和叶绿素 b, 其吸收光谱如图 1 所示。叶绿素在可见光波段有两个较强烈的吸收带:

1.430~480nm 蓝紫光区域, 该波段光能可延迟植物开花、促进营养器官生长, 约占被吸收的生理辐射光能的 12%;

2.630~660nm 红光区域, 该波段光能有促进植物体内干物质积累的作用, 约占被吸收的生理辐射光能的 85%。而植物对波长为 480~630nm 的黄、绿光辐射吸收很少, 因此植物生长过程中的光能利用率并不高。

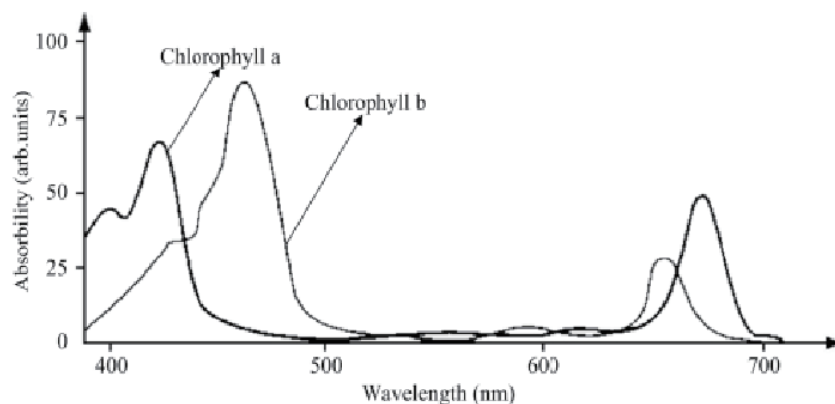


图 1 植物叶绿素吸收光谱示意图

为提高光源在植物生长中的能量利用率，LED 作为单色、节能型光源进行植物栽培已经被多个国家应用于植物工厂的研究。根据植物对光的吸收特性（即植物在 660nm 的红光与 450nm 的蓝光两个波段存在两个光能吸收峰）以及 LED 光源的特点，研究主要集中在使用红蓝两种 LED 栽培植物方面。如 Nhut 等人用不同组合的 LED 与荧光灯相比较对组培香蕉苗的生长状况进行了研究，用 80% 红光 LED + 20% 蓝光与 90% 红光 + 10% 蓝光在不同的光量子流密度（45, 60, 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）照射香蕉苗，试验表明，80% 红光 LED + 20% 蓝光（60 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）的光量子流密度下试管苗的芽和根鲜重明显高于其他两个处理。

目前，还未报道关于植物工厂培育云雾茶苗 LED 光源配比方案的研究。本文提出的研究方案将优化 LED 光源的光量子流密度以及 R/B 配比，获得云雾茶 LED 红蓝光培育的最佳方案，以期实现在人工干预培育方案下获得与山地云雾茶媲美的高品质的平原

云雾茶。

二、云雾茶品质影响因素的研究

云雾茶叶片中叶绿素、茶氨酸、茶多酚含量与茶叶的品质关系密切。茶叶中的叶绿素含量能够显著影响茶汤的颜色，茶多酚能够影响茶叶的色泽、苦味和涩味，而茶氨酸能影响茶叶的鲜爽味。研究茶叶品质与茶叶中有机物含量的关系，能够提高茶叶品质鉴定的准确性和稳定性。传统的鉴定茶叶品质的方法主要有感官评定法和化学分析法，准确率不高，难以达到产业化监测要求，本文提出以激光诱导荧光结合激光反射光谱的方式探测云雾茶叶片中叶绿素、茶氨酸及茶多酚的有机物含量，根据叶片荧光光谱与反射光谱，建立叶片有机物含量的线性回归模型，从而达到提高检测精度的目的。

叶绿素荧光的发射光谱如 2 所示：

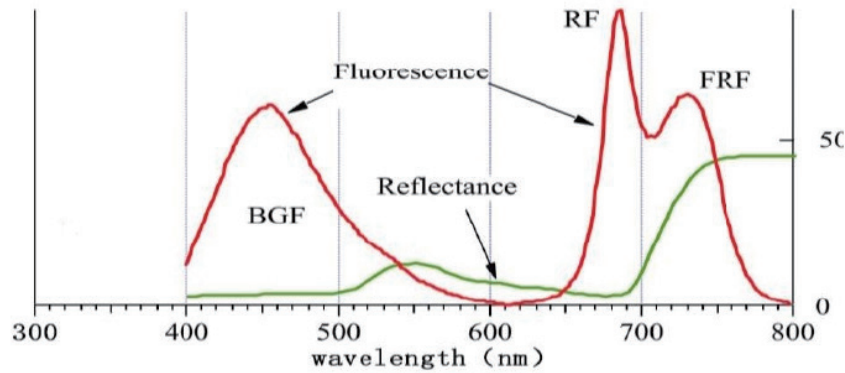


图 2 叶绿素荧光发射光谱

表 1 植物叶绿素 a 的荧光带

荧光发射波段 (nm)	特征值	叶绿素 a 的来源
683 ~ 678	F685	PSII
693 ~ 698	F695	PSII
705 ~ 712	F710	PSII
720 ~ 760	F740	PSI+PSII

近红外波段的叶绿素荧光带如表 1 所示，荧光参数与叶绿素含量具有很好的线性关系，因此建立数学模型：

$$S = a \frac{F_{732}}{F_{685}} + b \quad (1)$$

其中，S 为叶绿素相对值，a、b 为回归系数，可根据激光诱导荧光实验测得的荧光谱线进行线性回归模型的建立。

通过遥感探测方法获得云雾茶叶片的反射光谱，利用最佳指

数因子 (Optimum Index Factor, OIF) 选出估算茶氨酸和茶多酚含量的最佳波段：

$$OIF = \frac{\sum_{i=1}^z S_i}{\sum_{j=1}^z |r_{i,j}|} \quad (2)$$

$$r_{i,j} < r_0 \quad (3)$$

其中：OIF 为最佳指数因子， S_i 为波段的标准差， $r_{i,j}$ 为波段 i 和波段 j 之间的相关系数， r_0 为相关系数阈值。经过调整，将 r_0 的值设为 0.3，此时的 OIF 值最大。这样选出波段组合，就是整体最优的波段组合。既考虑了光谱信息与化学成分之间的相关性，也可以使得波段之间的信息负载量最大，而波段之间的相关性较小。在找出最佳的波段组合之后，利用多元线性回归，得到 2 种有机物含量估算的多元线性回归模型，此模型可通过检测到的云雾茶叶片的反射光谱参数准确地反映叶片中的茶氨酸和茶多酚含量。

三、全光纤激光诱导荧光叶绿素荧光探测系统

本文设计激光诱导荧光叶绿素探测系统装置图如图 3 所示；

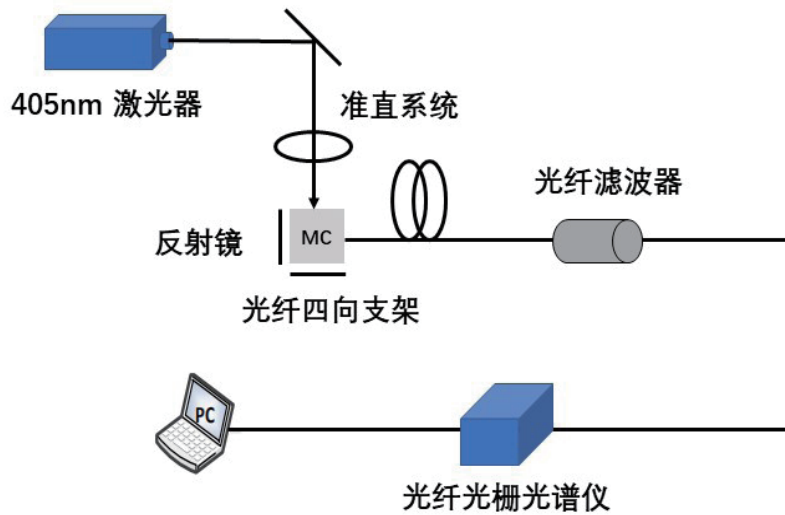


图 3 全光纤激光诱导荧光探测叶绿素荧光系统机构示意图

激光诱导荧光叶绿素探测系统采用正交垂直式光学结构，减小了瑞利散射和拉曼散射所引起的背景噪声。该系统设计中，光源采用长春新产业生产的 405 nm 半导体激光器（MDL-III-405），输出功率 0—500 mw 可调，通过一个准直系统耦合进光纤中，入射光经四向支架（CUV-DHC）照射至中心的样品池中，通过斯托克斯位移发射荧光，四向支架的其中两个方向分别装有两个反射镜，入射激光经其中一个反射镜再次经过样品池与样品充分接触，提高入射光荧光效率；散射荧光经另一个反射镜反射进入荧光采集系统以提高荧光的采集效率。光纤滤波器采用一个长通滤波片

($\lambda > 450\text{nm}$)以消减进入光谱仪的激光散射，提高检测器的信噪比。光谱仪采用 Avantes 公司生产的便携式光纤光栅光谱仪（AvaSpec-ULS2048L），探测波段 360~1000 nm。光谱仪采用 USB 3.0 可以非常方便地连接电脑，实时记录荧光光谱。

四、LED 红蓝光培育方法对云雾茶品质影响的研究

为了更好地对比 LED 红蓝光培育效果对云雾茶品质的影响，本实验选取了 5 种不同的培育方法，分别为：自然养殖、施加复合肥、LED 红蓝光 1：1、LED 红蓝光 6：1、LED 红蓝光 9：1，LED 红蓝光参数如表 2 所示：

表 2 LED 红蓝光源各项参数

参数	红光 (R)	蓝光 (B)
LED 峰值波长	630nm	460nm
电能转换效率 (%)	28	18
有效光量子流密度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$)	256	42
使用灯珠的数量	112 个	36 个
发光不均匀性	<10%	<10%
功率	12w/m	12w/m
电压	DC12V 直流电源	
规格	10mm*10mm*1mm	
亮度	12-14 流明/芯片	

应用不同的培育方法培育茶树 60 天，实验选取成熟的茶叶叶片作为研究对象，经过研磨、稀释、滴定，选取相同浓度的样品

放入样品池经过激光诱导荧光探测系统进行检测，获得的叶绿素荧光特征光谱如图 4 所示，其所对应的特征值以及荧光参数 F_{732} /

F_{685} 如表 3 所示,不同培育方法对应的荧光参数 F_{732}/F_{685} 如图 5 所示。

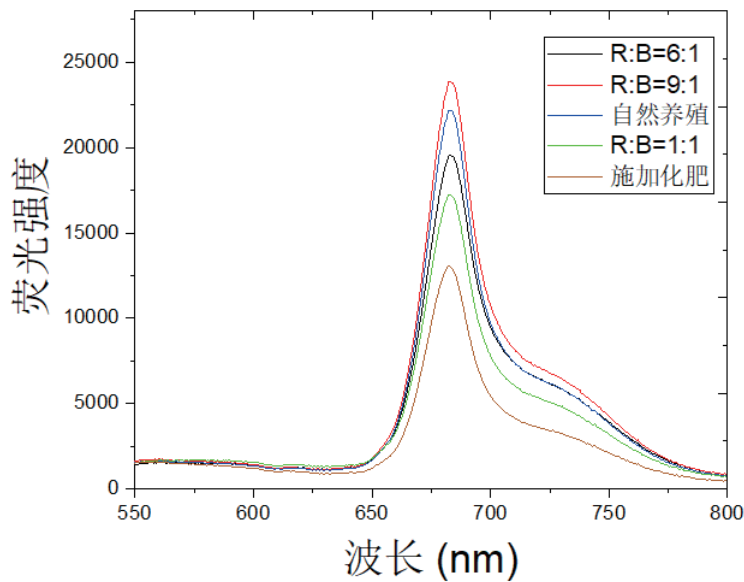


图 4 茶叶叶片叶绿素荧光光谱图

表 3 茶叶叶片荧光谱线特征值及荧光参数

养殖方法	F_{732}	F_{685}	F_{732}/F_{685}
自然养殖	4561	17191	0.2653
施加复合肥	4034	16110	0.2504
R/B=6:1LED	3976	15916	0.2498
R/B=9:1LED	6289	20680	0.3041
R/B=1:1LED	4452	17282	0.2576

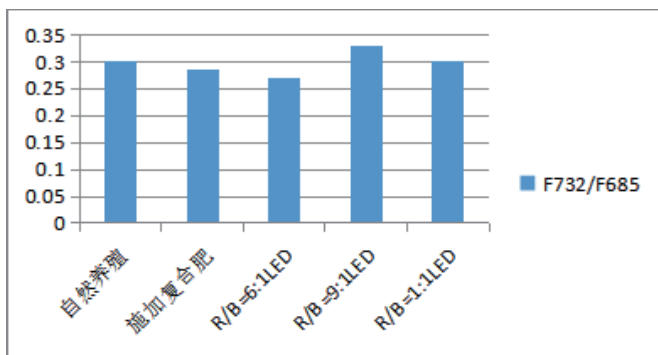


图 5 不同培育方法的荧光参数 F_{732}/F_{685}

由图可知,在相同的实验条件下,不同培育方法对茶叶叶片叶绿素含量的影响是不同的,叶片中的叶绿素含量排序依次是:R/B=9:1 LED 光源照射、自然养殖、R/B=1:1LED 光源照射、施加复合肥、R/B=6:1LED 光源照射。因此,采用 LED 红蓝光 9:1 配比为最佳培育方案。

四、结语

本文设计并提出一种新型的云雾茶 LED 红蓝光人工培育方法,通过搭建全光纤激光诱导荧光探测系统,由荧光光谱和反射光谱建立云雾茶叶片中影响茶叶品质的叶绿素、茶氨酸、茶多酚有机物的多元线性回归模型,实现云雾茶叶片有机物含量的精准探测。通过优化 LED 光源的光量子流密度以及 R/B 配比,获得云雾茶 LED 红蓝光培育的最佳方案。实验中应用不同的培育方法培育茶树 60 天,经过激光诱导荧光探测系统进行检测得到不同培育方法下茶叶叶片的荧光参数,研究表明,采用 LED 红蓝光 9:1 配比为最佳培育方案。该实验结果对本地云雾茶的人工培育具有一定的实践价值和指导意义。

参考文献:

- [1] 郑森松,柳青,王辉.连云港市云雾茶产业发展的探索[J].吉林农业:学术版,2020(7):2.
- [2] 张久勇.连云港山地云雾茶播种技术[J].上海茶叶,2009(3):13-14.
- [3] 郑森松,柳青,王辉.连云港市云雾茶产业发展的探索[J].吉林农业,2010(7):6-7.

基金项目:2020 年江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJB140011)。

作者简介:陶莎(1988—),女,江苏连云港人,博士,讲师,研究方向:光纤激光器,海洋光学遥感。