

УДК 543.421

ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДЛЕННЯ МЕТАЛІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ІЗ ЧОРНИХ ТА ЗЕЛЕНИХ ЧАЇВ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДІВ ГОЛОВНИХ КОМПОНЕНТ ТА КЛАСТЕРНОГО АНАЛІЗУ

М.В. Іщенко, кандидат хімічних наук

П.О. Таратайко, студент

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

В. М. Іщенко, кандидат хімічних наук

О.І. Кроніковський, кандидат хімічних наук

Національний університет харчових технологій

Р.С. Бойко, кандидат хімічних наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Досліджено вилучення металів із деяких класичних та трав'яних чаїв, присутніх на вітчизняному ринку. Аналіз проводився методом полуменевої атомно-абсорбційної спектроскопії. Показано, що хемометрична обробка даних, зокрема, метод головних компонент та кластерний аналіз дають принципову можливість розділити чаї за ціновою категорією.

Вступ. Класичні чорні та зелені чаї, а також і трав'яні, є найдавнішими і на сьогодні найбільш споживаними напоями після води. Хімічний склад чаю залежить від місця вирощування чайного куща (стану ґрунту, ґрунтових вод, атмосфери, використаних добрив, пестицидів тощо) і змінюється під час усіх етапів його обробки, зберігання та заварювання [1, 2]. Чаї з різних регіонів вирощування, різних типів і сортів відрізняються за хімічним складом та впливом на організм людини. Чаї містять десятки груп хімічних речовин. З розчинних речовин найбільш важливими є поліфенольні сполуки, ефірні масла, алкалоїди, амінокислоти, пігменти та вітаміни. У перерахунку на суху масу, 15–30% чаю являє собою складну суміш більш ніж трьох десятків поліфенольних сполук, у т. ч. таніну і катехінів [1].

Крім перерахованих шести найважливіших груп речовин, велике значення для споживача чаю мають мінеральні речовини (4–7% у перерахунку на суху масу), до складу яких входять такі хімічні елементи: К, Na, Ca, Mg, Mn, Zn, Fe, Cu, F, P [3]. Деякі мікроелементи, що містяться в класичних і трав'яних чаях, виявляють лікувальні або профілактичні властивості, у зв'язку з чим важливо знати вміст макро- і мікроелементів у водних екстрактах чаю, споживаних людиною. Ці ж компоненти, але в більших кількостях, можуть бути токсичними, тому оцінка їх вмісту є важливою при використанні трав'яних чаїв для довгострокової терапії або у випадках індивідуального підвищеного споживання класичних чаїв [3, 4]. Таким чином, визначення вмісту макро- і мікроелементів у водних екстрактах чаю є важливою



частиною процесу контролю якості, забезпечення чистоти, безпеки та ефективності цих рослинних продуктів.

Найбільш універсальним і прицезійним методом для визначення металічних елементів у харчових продуктах є метод атомно-абсорбційної спектроскопії [5]. До основних переваг цього методу відносять: селективність, простоту пробопідготовки, експресність, низьку вартість аналізу.

При мультиелементному аналізі великої кількості об'єктів отримують великі масиви експериментальних даних. У разі обробки результатів за однією змінною, доцільно використовувати методи описової статистики або дисперсійний аналіз [6]. Основним недоліком використання цих способів обробки даних є неповнота опису об'єкту. Крім того, ці способи обробки даних не дають можливість розглядати масив даних у цілому. В той же час хемометричні способи обробки даних як, наприклад, метод головних компонент та кластерний аналіз, дають можливість знайти в масиві даних приховані структури та більш повно інтерпретувати результати [7–9]. Раніше ці методи застосовувались для ідентифікації регіону походження та вивчення розподілу елементів у чаю залежно від сорту [10, 11]. У цих дослідженнях визначався загальний вміст елементів у перерахунку на суху речовину. Проте для споживача більш важливо знати, яка кількість елемента переходить у розчин при заварюванні чаю. Наразі в науковій літературі відсутня така характеристика присутніх на вітчизняному ринку сортів чаю.

Мета цієї роботи – визначити концентрацію металів, що перейшли у розчин при заварюванні чаїв та продемонструвати можливість використання хемометричних методів при обробці результатів аналізу.

Матеріали і методика досліджень. Нітратну кислоту, кваліфікації «х.ч.» використовували без додаткової очистки. Дистильовану воду додатково очищали перегонкою в кварцовому посуді. Розчини Калію, Кальцію, Купруму, Магнію, Мангану, Феруму та Цинку для калібрування атомно-абсорбційного спектрометра готували розбавленням відповідних стандартних зразків ГСО РМ (Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України) згідно інструкцій виробника.

У роботі використовували атомно-абсорбційний спектрометр AASIN (Carl-Zeiss Jena, Німеччина), обладнаний пальником для полум'я ацетилен-повітря та комплектом спектральних ламп. Умови атомно-абсорбційного визначення металів наведено у табл. 1.

Для аналізу використовували 12 зразків чаю, різних за способом обробки (зелені, чорні, білі), формою фасування (байхові та пакетовані), ціною категорією, а також один зразок чаю мате та один зразок трав'яного чаю (м'ята).

До наважки сухих чайних листків 2,00 г додавали 200 мл дистильованої води ($t = 90\text{--}100^\circ\text{C}$) та витримували впродовж 10 хв. Відфільтровували водний екстракт чаю від чайних листків та охолоджували розчин. Для визначення Cu, Fe та Zn екстракт концентрували у п'ять разів упаруванням роз-

Таблиця 1. Умови атомно-абсорбційного визначення металів у полум'ї ацетилен-повітря

Метал	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Zn
Довжина хвилі, нм	422,7	327,4	248,3	766,5	282,5	279,5	213,9
Спектральна щілина, нм	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	0,5
Діапазон калібрування, мг/л	0,5-10	0,2-2	0,5-5	0,5-10	0,2-2	0,2-2	0,2-12

чинів. Визначення К, Са, Mg та Mn проводили без концентрування, за потреби проводили розбавлення розчинів. Межа виявлення та межа кількісного визначення елементів становили 0,010 та 0,040 мг/л відповідно. Правильність аналізу перевіряли методом «введено-знайдено». Відносна невизначеність результатів аналізу не перевищувала 15%.

Результати досліджень. Заварюванням зелених та чорних чаїв протягом 3, 10 та 30 хв встановлено, що оптимальний час складає 10 хв, оскільки надалі концентра-

ція виділених у напої металів практично не змінюється.

Вміст металів у зразках чаїв наведено у табл. 2. Кожен результат аналізу являє собою середнє значення з двох незалежних паралельних визначень. В останньому рядку таблиці для порівняння наведено гранично допустимі концентрації (ГДК) металів у воді [12], де видно, що їх вміст (крім Mn) у водних екстрактах різних сортів чаю не перевищує ГДК для питних вод. Вміст Mn перевищує ГДК для питних вод для усіх досліджених сортів чаю, окрім

Таблиця 2. Результати визначення металів у різних сортах чаю

Сорт чаю	Концентрація, мг/л						
	К	Са	Mg	Cu*	Zn	Fe	Mn
1.«Зелені завитки» (зелений, байховий)**	95	1,4	9,2	27	0,22	0,061	3,1
2.«Huleys» (зелений, пакетований)	48	7,0	5,7	45	0,10	0,045	2,7
3.«Greenfield» (зелений, пакетований)	67	1,6	8,8	16	0,17	0,089	2,8
4.«Принцеса Ява» (зелений, пакетований)	66	1,5	6,5	31	0,25	0,18	2,3
5.«Чорний елітний» (чорний, байховий)**	56	0,76	3,2	10	0,091	0,065	0,81
6.«Прекрасний Цейлон» (чорний, байховий)	82	1,5	6,1	25	0,13	0,21	1,2
7.«Високогірний цейлонський» (чорний, байховий)	80	1,0	5,1	15	0,10	0,21	0,84
8.«Huleys» (чорний, пакетований)	92	2,4	8,7	25	0,13	0,15	1,2
9.«Greenfield» (чорний, пакетований)	109	2,1	11	23	0,16	0,12	2,8
10.«Lipton» (чорний, пакетований)	85	2,1	9,6	36	0,17	0,060	4,5
11.«Принцеса Нурі» (чорний, пакетований)	87	1,9	11	52	0,14	0,10	2,7
12.«Білі сльози дракона» (білий, байховий)**	51	5,2	2,8	12	0,15	0,032	0,78
13.Мате (трав'яний)	73	19	31	54	0,40	0,65	5,9
14.М'ята (трав'яний)	86	17	10	26	0,044	0,064	0,10
ГДК	-	100	50	100	1	0,3	0,1

* - мкг/л

** - Елітні чаї з вищої цінової категорії.



трав'яного м'ятного. Оскільки Mn не відноситься до токсикантів, даний факт не є «тривожною ознакою», крім того, чай є одним з основних джерел Mn для організму людини [13]. Найвищим вмістом усіх металів характеризується трав'яний чай мате, в якому, наприклад, концентрація Mn складає 60 ГДК для питної води, а Fe – 2 ГДК. Здебільшого екстракти зелених чаїв характеризуються вищою концентрацією металів ніж білих та чорних. Вміст металів в екстрактах байхових чаїв з недорогої цінової категорії вищі ніж в китайських байхових елітних. Екстракти пакетованих чаїв характеризуються вищими від байхових концентраціями металів, що може бути пов'язане з більшим подрібненням чайного листка в пакетиках.

Однією з проблем інтерпретації багатомірних даних є великий обсяг досліджених змінних, який значно ускладнює можливість побачити приховані взаємозв'язки та закономірності між об'єктами. Тому метою багатьох методів багатомірного аналізу є скорочення кількості змінних. Метод головних компонент (МГК) – техніка скорочення кількості змінних у випадку, коли присутня кореляція між даними [7, 14]. Основною метою МГК є

заміна вихідного опису зразків за допомогою p змінних новим набором змінних (головними компонентами), які не корельовані між собою (ортогональні). Ідея методу головних компонент – знайти головні компоненти $z_1, z_2 \dots z_p$, що є лінійними комбінаціями вихідних змінних, які описують кожен зразок $x_1, \dots x_n$.

Цим способом отримують p нових змінних, але без скорочення обсягу даних. Головні компоненти обирають так, що на першу головну компоненту z_1 припадає більша частина відмінностей між об'єктами, на другу z_2 – друга за величиною частина відмінностей і т. д. [7]. У результаті кількість змінних, що несуть корисну інформацію про відмінності між об'єктами, стає значно меншою ніж початкових змінних. Координати об'єктів у просторі нових змінних називають рахунками, детальний аналіз графіків рахунків для найбільш значущих компонент дає можливість проводити класифікацію об'єктів.

Обробка даних проводилась методом аналізу головних компонент у середовищі програмного продукту Minitab 16 (Minitab Inc). Згідно рекомендацій [15], з метою нівелювання масштабного фактору проводилось логарифмічне перетворення

Таблиця 3. Результати аналізу коваріаційної матриці

Головна компонента	ГК1	ГК2	ГК3	ГК4	ГК5	ГК6	ГК7
Відсоток варіативності, що описується компонентою	44,3	33,1	14,2	4,9	2,3	0,9	0,3
Кумулятивний відсоток варіативності	44,3	77,4	91,7	96,5	98,8	99,7	100

Таблиця 4. Матриця навантажень

Змінні	ГК1	ГК2	ГК3	ГК4	ГК5	ГК6	ГК7
K	0,046	-0,003	0,147	0,386	-0,358	0,233	-0,803
Ca	0,115	0,869	-0,284	-0,311	-0,019	-0,090	-0,216
Mg	0,348	0,259	0,158	0,460	-0,568	-0,164	0,475
Cu	0,290	0,197	-0,108	0,548	0,642	0,383	0,084
Zn	0,353	-0,099	-0,057	-0,410	-0,269	0,772	0,157
Fe	0,387	0,092	0,826	-0,260	0,251	-0,134	-0,103
Mn	0,711	-0,348	-0,418	-0,079	0,040	-0,387	-0,203

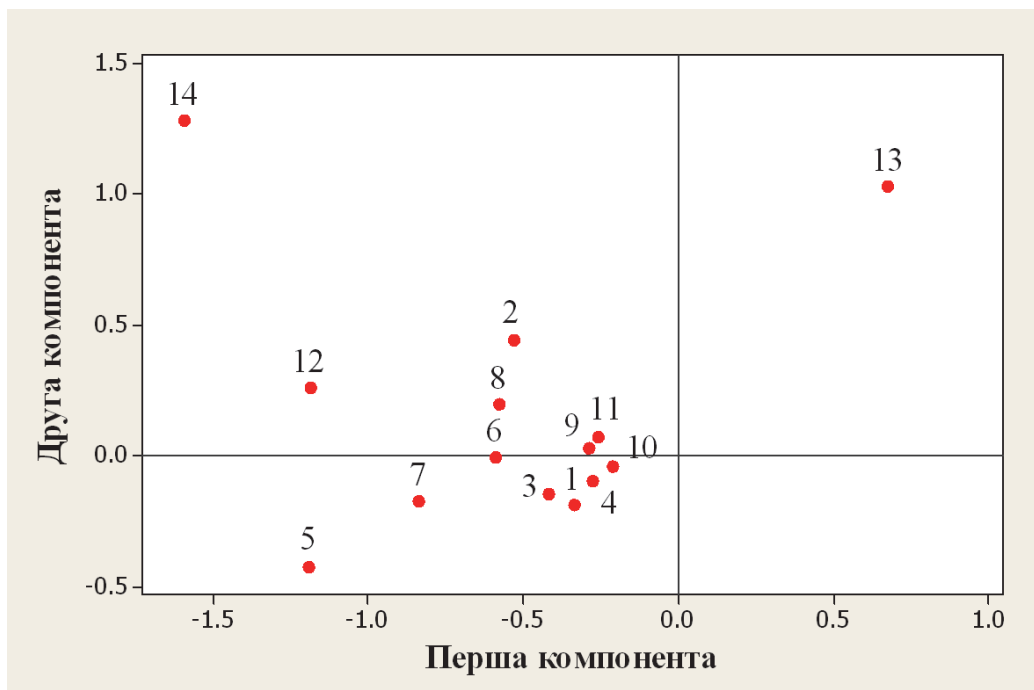


Рис. 1. Графік рахунків для двох перших компонент (нумерація сортів згідно табл. 2)

вихідних даних. У табл. 3 наведено відсоток варіативності у загальному масиві даних, що описується головними компонентами, а у табл. 4 – матрицю навантажень для знайдених головних компонент.

З табл. 3 видно, що сумарно перші три головні компоненти пояснюють більше 90% усіх відмінностей між об'єктами: перша компонента відповідає за 44,3% відмінностей у вилученні металів у розчин з різних сортів чаю, друга – за 33,1%, третя компонента – за 14,2% відмінностей. Аналіз матриць навантажень вказує, що найбільший внесок у першу компоненту роблять Mn, Zn та Fe, у другу – Ca та Mg, в третю – Fe. З огляду на одержані результати аналізу головних компонент, при наступній потребі класифікувати об'єкти дослідження, доцільно проводити визначення та подальшу обробку даних з урахуванням тільки зазначених металів (Mn, Zn, Fe, Ca, Mg).

На рис. 1 наведено графік рахунків для перших двох компонент. Видно, що дані утворюють певні структури. Найбільш чітко сформовано групи трав'яних чаїв (мате та м'ята) та група класичних чорних та зелених чаїв.

Кластерний аналіз є поширеним способом хемометричного аналізу даних [14]. Цей метод включає визначення зв'язків між об'єктами без використання апріорної інформації про ці зв'язки; він відносить до одного класу об'єкти, які знаходяться близько один до одного в просторі n змінних.

Метод кластерного аналізу було застосовано повторно виключно до класичних чорних та зелених чаїв. Обчислення проводили у середовищі програмного продукту Minitab 16. Для кластерного аналізу відбирались тільки ті змінні (концентрації елементів), на значущість яких вказав МГК, тобто Mn, Zn, Fe. Дендрограму кластерного

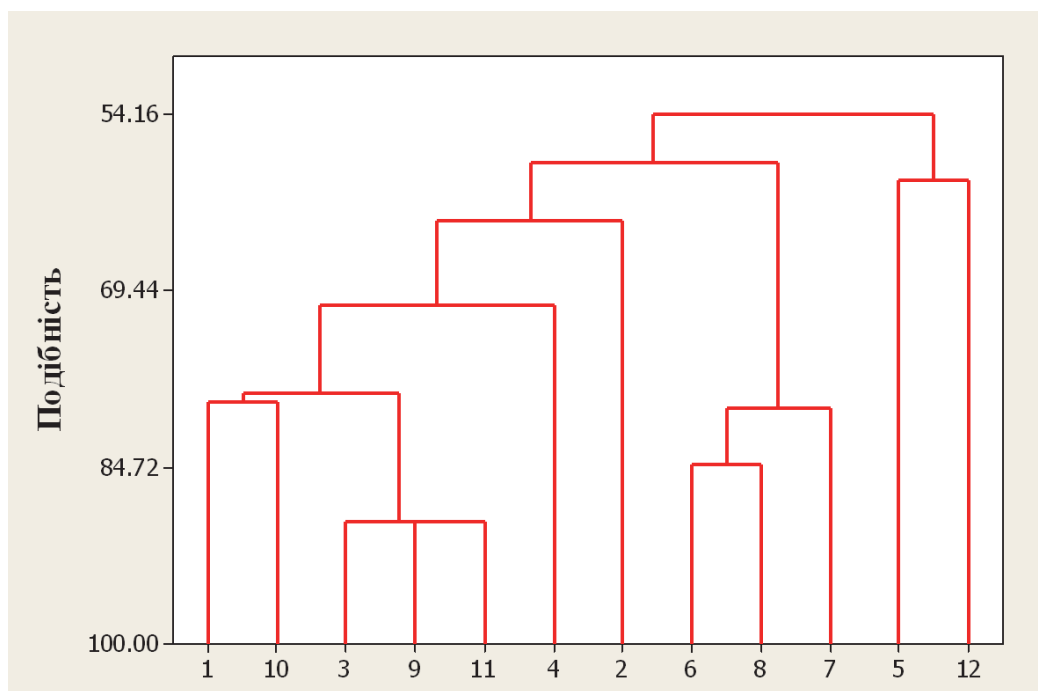


Рис. 2. Дендрограма кластерного аналізу класичних чорних та зелених чаїв (нумерація сортів згідно табл. 2)

аналізу наведено на рис. 2. Видно, що китайські елітні чаї з дорогої цінової категорії групуються разом, окрім чаю «Зелені завитки», який групується разом з пакетованими чорними чаями. Окремі групи утворюють зелені чаї та переважна більшість байхових чорних чаїв з недорогої цінової категорії.

Висновки

У приготованих за класичним рецептом напоях чаїв кількість виділених металів, за винятком Mn, не перевищує ГДК для питної води.

Трав'яні чаї суттєво відрізняються від класичних: мате характеризується найвищим вмістом металів у водних екстрактах, а м'ятний – найнижчим.

Основними елементами, які впливають на віднесення чаїв до різних груп є Zn, Fe, Mn, Ca і Mg. За кількістю виділених металів кластерний аналіз розподіляє зелені, чорні, пакетовані, байхові з недорогої цінової категорії та елітні байхові чаї з дорогої цінової категорії в різні групи.

Література

1. Harbowy M.E., Douglas B.A. Tea Chemistry // Critical Reviews in Plant Sciences. – 1997. – **16**. – P. 415–480.
2. Liang Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions / Yuerong Liang, Jianliang Lu, Lingyun Zhang et al. // Food Chemistry. – 2003. – **80**. – P. 283–290.
3. Preedy V. R. Tea in Health and Disease Prevention 2012 Academic Press ISBN: 978-0-12-384937-3
4. Chacko S.M., Kuttan P.T., Nishigaki R.I. Beneficial effects of green tea: A literature review. // Chinese Medicine. – 2010. – **5**. – P. 13–21.

5. Хавезов И., Цалев Д. Атомно-абсорбционный анализ / Под ред. С.З. Яковлевой. – Л.: Химия, 1983. – 144 с.
6. Sofuoglu S. C., Kavcar P. An exposure and risk assessment for fluoride and trace metals in black tea // J. of Hazardous Materials. – 2008. – **158**. – P. 392–400.
7. Эсбенсен К. Анализ многомерных данных. Избранные главы: Пер. с англ. С.В. Кучерявского / Под ред. О.Е. Родионовой. – Черноголовка: Изд-во ИПХФ РАН, 2005. – 160 с.
8. Особенности идентификации географического происхождения овощей и фруктов с помощью хемометрических и статистических методов / Пушкарева Я.Н., Следзевская А.Б., Семибратова П.В. и др. // Методы и объекты химического анализа. – 2012. – **7**, №4. – С. 184–191.
9. Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics / Cozzolino D., Cynkar W., Shah N., Smith P. // Anal. Bioanal. Chem. – 2011. – **401**. – P. 1475-1454
10. Kara D. Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis // Food Chemistry – 2009. – **114**. – P. 347–354.
11. Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea / Marcosa A., Fishera A., Reab G., Hill S.J. // J. of Analytical Atomic Spectrometry. – 1998. – **13**. – P. 521–525.
12. Беспаятнов Г.П., Кротов Ю.А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. – Л.: Химия, 1985. – 528 с.
13. Karak T., Bhagat R.M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: a review // Food Research International. – 2010. – **43**. – P. 2234–2252.
14. Шараф М.А., Иллиман Д.Л., Ковальски Б.Р. Хемометрика: Пер. с англ. – Л.: Химия, 1989. – 272с.
15. Mike J. Adams Chemometrics in Analytical Spectroscopy (2nd Edition) 2004 (c) The Royal Society of Chemistry ISBN 0-85404-595-3.

АННОТАЦІЯ

*Іщенко Н.В., Таратайко П.О., Іщенко В. Н., Кроніковський О.І., Бойко Р.С. Исследование выделения металлических элементов из черных и зеленых чаев с использованием методов главных компонент и кластерного анализа // Биоресурсы и природопользование. – 2015. – **7**, № 1–2. – С. 54–60.*

В работе исследовано выделение металлов из некоторых классических и травяных чаев, которые представлены на отечественном рынке. Анализ проводился методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Показано, что хемометрическая обработка данных, в частности, метод главных компонент и кластерный анализ позволяют разделить чаи по ценовой категории.

SUMMARY

*M. Ischenko, P. Taratayko, V. Ischenko, O. Kronikovskiy, R. Boiko. Study of release of metallic elements from black and green teas using principal component analysis and cluster analysis // Biological Resources and Nature Management. – 2015. – **7**, № 1–2. – P. 54–60.*

In this work, infusion of metals from some classic and herbal teas that are present on the local market was evaluated. Analysis was performed by flame atomic absorption spectroscopy. It is shown that chemometric data processing, including the principal component analysis and cluster analysis provide an opportunity to classify tea by price range.