



引用格式:杨雪鹏,孙建宏,汪芳芳,等. 腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素生成香味物质的研究[J]. 轻工学报,2018,33(1):1-6.

中图分类号:TS41 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.001

文章编号:2096-1553(2018)01-0001-06

腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素 生成香味物质的研究

Study on the generation of aromatic compounds from lycopene degradation by
Bacillus cereus strain L16

杨雪鹏¹,孙建宏^{1,2},汪芳芳¹,金宝义¹,郑坚强¹
YANG Xuepeng¹,SUN Jianhong^{1,2},WANG Fangfang¹,JIN Baoyi¹,
ZHENG Jianqiang¹

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;
2. 山东中烟工业有限责任公司,山东 济南 250014

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
2. China Tobacco Shandong Industrial Co., Ltd., Ji'nan 250014, China

关键词:

番茄红素;腊状芽孢杆菌 L16;降解产物

Key words:

lycopene;
Bacillus cereus strain
L16;
degradation product

摘要:烟叶来源的腊状芽孢杆菌 L16 在番茄红素底物浓度为 300 mg/L 的培养基中,35 °C,150 r/min,pH=7.0 培养至 72 h 时,番茄红素降解量达到最大值 224.4 mg/L. 经 GC-MS 分析,番茄红素经腊状芽孢杆菌 L16 降解得到两种产物,分别为 6-甲基-5-庚烯-2-酮和异辛二烯酮,这两种物质均为烟草特征香气成分.

收稿日期:2017-12-04

基金项目:国家自然科学基金项目(31571778)

作者简介:杨雪鹏(1973—),男,河南省睢县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物催化与转化.

Abstract: Under the culture temperature 35 °C, shaking frequency 150 r/min, culture pH value 7.0 and culture time 72 h, the quantity of lycopene-degrading reached 224.4 mg/L by *Bacillus cereus strain* L16 with 300 mg/L lycopene in the medium. The degradation products analyzed by GC-MS were 6-methyl-5-hepten-2-one and isopropyl ketone, which were the characteristic aromatic components for tobacco.

0 引言

番茄红素(lycopene)又称 ψ -胡萝卜素,属于异戊二烯类化合物,是类胡萝卜素的一种.其化学结构式中含有11个碳碳双键的非环状平面共轭多不饱和脂肪烃,易受光、热和氧影响发生降解^[1-3].在食品体系中,番茄红素的降解方式主要有热氧化降解、化学氧化降解、光氧化降解等.其降解产物也因降解方式不同而各异.番茄红素在食品中形成风味物质主要是通过降解途径.生物法降解是利用酶和微生物来降解番茄红素,与化学法降解相比,生物法降解利用了酶催化的专一性,得到成分相对单一的香味物质,故生物法降解得到的香味物质被认定为天然成分^[4-5].

已有文献报道,与番茄红素结构类似的胡萝卜素和叶黄素可降解生成烟草特征风味物质,如,氧化异佛尔酮、二羟基月桂烯醇、3-羟基- β -紫罗兰酮^[6-7].然而,有关番茄红素的生物降解研究仍鲜见报道.本研究室从烟叶中筛选得到的腊状芽孢杆菌 L16,经培养后能降解番茄红素产生香味物质.鉴于此,本研究拟对腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的动力学过程进行研究,并对其降解产物进行分析鉴定,以期获得天然的烟草特征香味物质提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料:番茄红素,购自上海哈灵生物科技有限公司;无水 Na_2SO_4 (AR),购自天津市凯通化学试剂有限公司;腊状芽孢杆菌(*Bacillus cereus strain*) L16,为本研究室筛选所得;二氯甲烷

(AR),甲醇(GR),均购自天津市凯通化学试剂有限公司.

种子液培养基的配制:蛋白胨 10.0 g,酵母 5.0 g, NaCl 1.0 g,蒸馏水 1 L; pH = 7.0.

液体培养基的配制:酵母膏 3 g,蛋白胨 10 g, NaCl 10 g,葡萄糖 1 g,蒸馏水 1 L; pH 值为 6.5~7.5.

仪器:1260infinity 液相色谱仪,HP6890/5976 气质联用仪,美国安捷伦科技公司产;Hicen FR 高速冷冻离心机,德国英雄仪器公司产;UV-2300 分光光度计,尤尼克(上海)有限公司产;RE-52AA 旋转蒸发仪,郑州凯鹏实验仪器有限公司产;BSD-YF3200 恒温振荡器,上海福玛实验设备有限公司产.

1.2 实验方法

1.2.1 番茄红素标准曲线的绘制方法 以甲醇为溶剂,分别配制 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L 番茄红素标准溶液,经 HPLC 分析后,以峰面积为纵坐标(Y),底物浓度为横坐标(X),绘制标准曲线.

1.2.2 番茄红素降解动力学实验 腊状芽孢杆菌(*Bacillus cereus strain*) L16 能够降解番茄红素生成香味物质.降解动力学实验有助于研究番茄红素底物浓度对降解效率的影响,配制底物浓度分别为 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L,在优化后的培养条件下(35 °C, pH = 7.0, 接种量 1.0%, 150 r/min)培养 72 h,然后将 L16 菌株的斜面保存菌株接种到 5 mL 种子液培养基中, 150 r/min, 35 °C 恒温培养发酵至种子培养液 OD_{600} 值为 2~2.5,得到种子液,置于 4 °C 冰箱

备用.按照表 1 所示,将种子液接种到相应的液体培养基中,150 r/min,35 ℃ 发酵培养.对实验组和对照组分别定时取样,并对样品中番茄红素底物浓度进行检测,对照组一培养基中不含番茄红素,对照组二培养基中不接入种子液.

表 1 番茄红素降解动力学实验设计

Table 1 The design of lycopene degradation kinetics

编号	番茄红素底物浓度/(mg·L ⁻¹)	种子液接种量/%
实验组	300	1.0
对照组一	0	1.0
对照组二	300	0.0

1.2.3 番茄红素的提取与分析^[8-10] 在避光条件下,将发酵液在 4 ℃ 和 6500 r/min 条件下离心 15 min,取上清液加入等体积二氯甲烷,萃取 3 次,合并得番茄红素提取物.在提取物中加入无水 Na₂SO₄ 干燥过夜,真空浓缩,蒸干溶剂后,将固形物溶于 2 mL 甲醇,用滤膜(0.45 μm)过滤,滤液用于 HPLC 分析,并用等体积不接菌培养基作为实验对照.

HPLC 分析条件:色谱柱为 C18 柱(4.6 mm × 250 mm,粒径为 5 μm),柱温为 30 ℃,流动相为 V(甲醇):V(水)=1:99,流速为 0.6 mL/min,检测波长为 460 nm,进样量为 5 μL.

1.2.4 番茄红素降解产物 GC-MS 分析 番茄红素降解产物提取如 1.2.3 所述.在提取物中加入无水 Na₂SO₄ 干燥过夜,真空浓缩至 1 mL,用于 GC-MS 分析^[11-13].

GC-MS 分析条件:色谱柱为 HP-5(30 m × 0.25 mm;0.25 μm);升温程序为初始温度 45 ℃(保持 5 min) $\xrightarrow{\text{升温速率 } 5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 120 ℃(保持 5 min) $\xrightarrow{\text{升温速率 } 4 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 180 ℃(保持 5 min) $\xrightarrow{\text{升温速率 } 3 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 230 ℃ $\xrightarrow{\text{升温速率 } 5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280 ℃(保持 5 min);进样口温度 270 ℃;传输线温度 270 ℃;分流比 1:1;载气 He;流速 1 mL/min.

2 结果与分析

2.1 番茄红素标准曲线的绘制

不同底物浓度的番茄红素标准溶液经 HPLC 的检测结果如图 1 所示.由图 1 可知,番茄红素底物浓度(X)与峰面积(Y)的回归方程为 $Y = 43.135X + 57.84$,相关系数 $R^2 = 0.9976$,表明在 0~500 mg/L 浓度范围内,番茄红素质量浓度与峰面积线性关系良好.

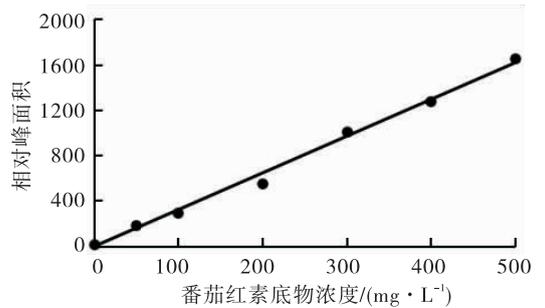


图 1 番茄红素的标准曲线

Fig. 1 The standard curve of lycopene

2.2 番茄红素降解动力学实验结果分析

2.2.1 番茄红素底物浓度对降解效果的影响

番茄红素底物浓度分别为 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L,在 35 ℃,pH 为 7.0,接种量 1.0%,150 r/min 条件下培养 72 h 后,测定培养基中番茄红素底物浓度和菌体浓度,考察底物浓度对番茄红素降解效果的影响.如图 2 所示,当培养基中番茄红素底物浓度低于 500 mg/L 时,番茄红素底物浓度对菌体生长几乎没有影响,而当发酵培养基中番茄红素底物浓度大于 500 mg/L 时,发酵液的细胞浓度显著下降;当发酵培养基中番茄红素底物浓度为 100~300 mg/L,腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的量随着番茄红素底物浓度的增加而增加,而当番茄红素底物浓度为 300 mg/L 时,其降解量达到最大值 224.4 mg/L;当番茄红素底物浓度为 300~500 mg/L 时,随着番茄红素底物浓度增

加,番茄红素降解量基本不变;当番茄红素底物浓度大于 500 mg/L 时,番茄红素降解量则明显下降.其原因可能是高浓度的番茄红素会对微生物具有毒害作用,从而影响细胞生长和番茄红素降解效果.因此,发酵培养基中番茄红素底物浓度以 300 mg/L 为宜.

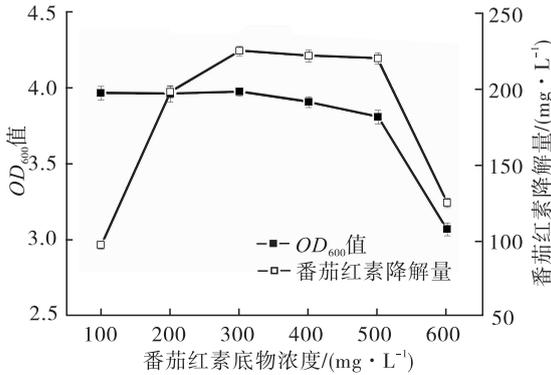


图2 番茄红素底物浓度对菌体细胞生长和番茄红素降解的影响

Fig. 2 Effect of lycopene concentration on the cell growth and lycopene degradation

2.2.2 培养时间对腊状芽孢杆菌 L16 生长的影响 为进一步了解腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的情况和底物浓度对菌体细胞生长的影响,将腊状芽孢杆菌 L16 在 35 °C, pH = 7.0, 150 r/min, 接种量 1.0%, 番茄红素底物浓度 300 mg/L 的培养条件下,每隔 12 h 取样测定培养基中的菌体浓度,实验结果见图 3. 由图 3 可知,在上述培养条件下,腊状芽孢杆菌 L16 在 0 ~ 12 h 为延滞期,12 ~ 72 h 为对数生长期,72 h 后为生长平衡期.

2.2.3 培养时间对腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的影响 将腊状芽孢杆菌 L16 在接种量 1.0%, 35 °C, pH = 7.0, 150 r/min, 番茄红素底物浓度 300 mg/L 的培养条件下,每隔 12 h 取样测定培养基中的番茄红素含量,考察培养时间对腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的影响,实验结果见图 4. 由图 4 可知,培养基中番茄红素底物浓度随着培养时间延长而降低,其降解

率则随着培养时间延长而增大.当培养时间为 72 h 时,番茄红素降解率达到 74.8%,即番茄红素降解量为 224.4 mg/L;当培养时间大于 72 h 时,番茄红素降解量基本维持不变.

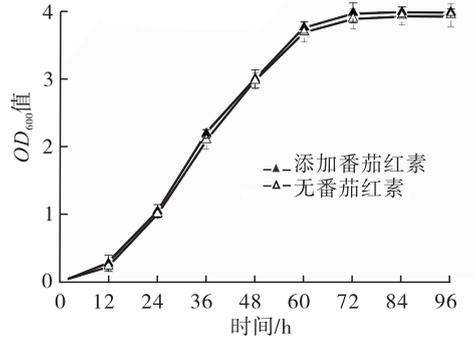


图3 番茄红素底物浓度为 300 mg/L 时腊状芽孢杆菌 L16 的生长曲线

Fig. 3 The growth curve of *Bacillus cereus* strain L16 with 300 mg/L of lycopene in the medium

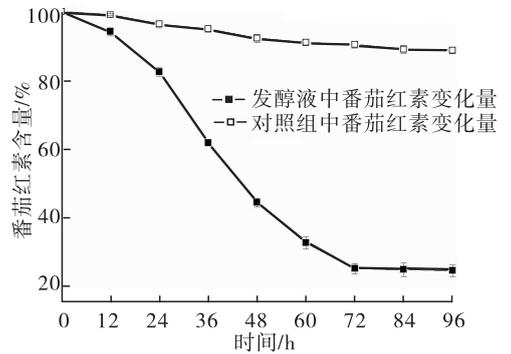
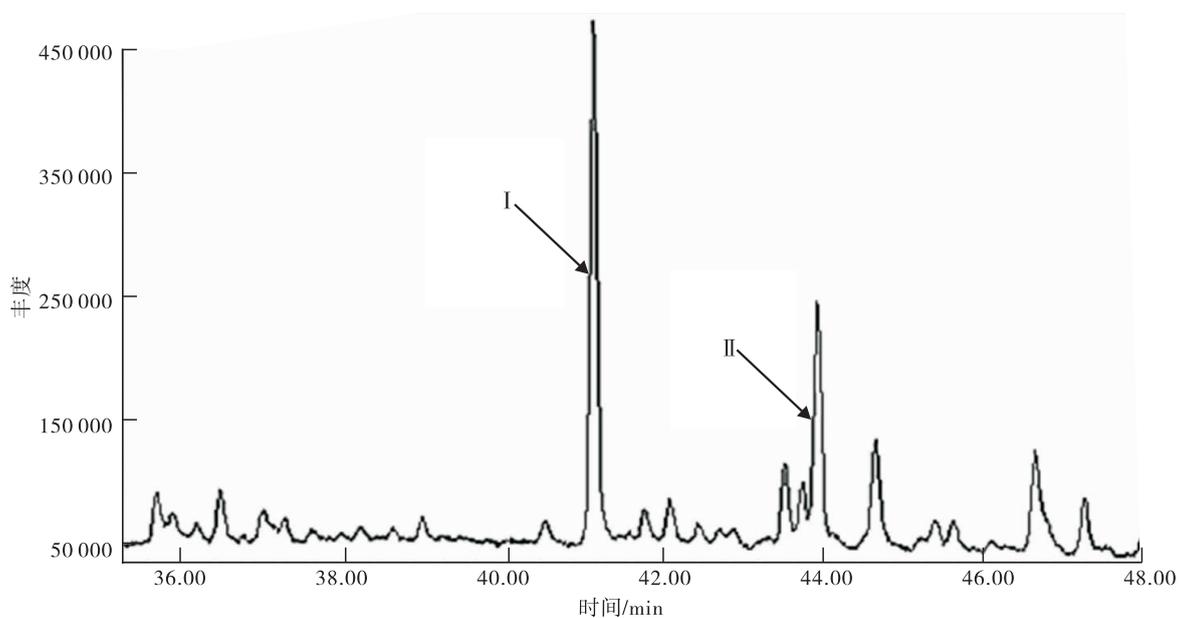


图4 培养时间对腊状芽孢杆菌 L16 降解番茄红素的影响

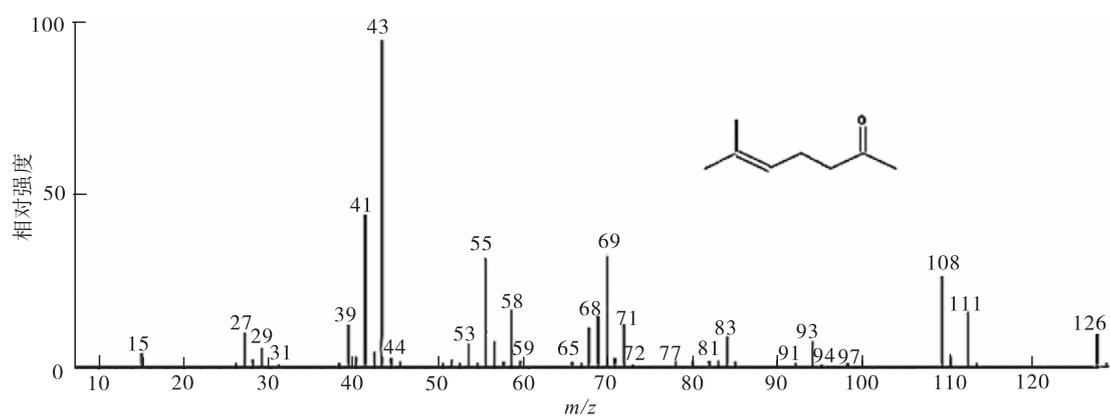
Fig. 4 Effect of culture time of *Bacillus cereus* strain L16 on lycopene degradation

2.3 番茄红素降解产物 GC-MS 分析结果

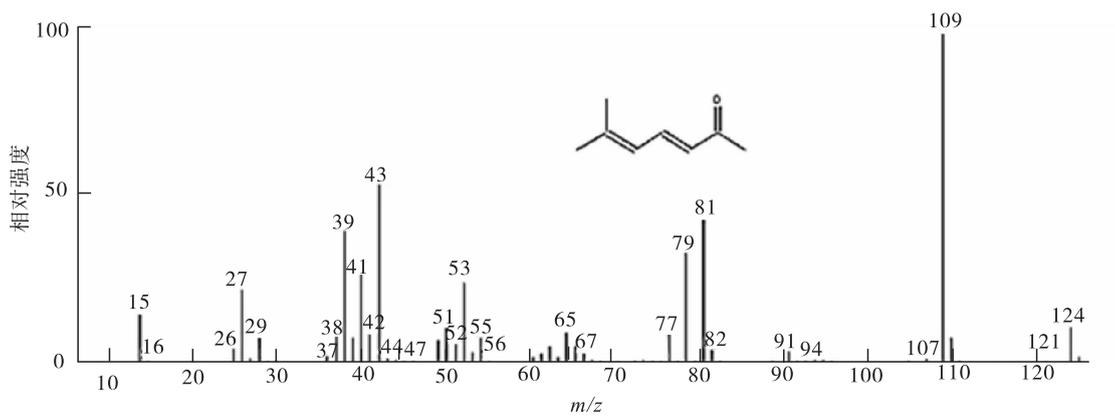
为了确定番茄红素的降解产物,对在 35 °C, pH = 7.0, 150 r/min 发酵 72 h 后所提取的发酵液样品进行 GC-MS 分析,结果见图 5. 由图 5a) 可知,番茄红素经腊状芽孢杆菌 L16 降解后的主要降解产物有两种,选择这两种降解产物,结合图 5b) 和图 5c) 显示的降解产物的离子流信息与质谱数据库提供的质谱图信息,可以



a) 总离子流图



b) 产物 I 离子流图



c) 产物 II 离子流图

图 5 番茄红素降解产物 GC-MS 分析图

Fig. 5 The GC-MS chromatograms of the degradation products for lycopene

初步定性判断产物 I 为 6 - 甲基 - 5 - 庚烯 - 2 - 酮, 产物 II 为异辛二烯酮。

3 结论

本文在从烟叶中筛选到能够降解番茄红素的腊状芽孢杆菌 L16 的基础上, 研究其对番茄红素生物降解的动力学过程并对其降解产物作初步鉴定。结果表明, 腊状芽孢杆菌 L16 在番茄红素底物浓度为 300 mg/L 的培养基中, 经 35 ℃, pH = 7.0, 150 r/min 发酵 72 h 时, 番茄红素的降解量达到最大值 224.4 mg/L。经 GC-MS 分析初步判定其降解产物为 6 - 甲基 - 5 - 庚烯 - 2 - 酮和异辛二烯酮, 这两种物质均为烟草香味物质成分, 且风味阈值较低。本研究为通过天然产物生物转化途径获得天然的烟草香味物质提供了理论依据。

参考文献:

[1] 侯纯明, 张天罡, 庞常健. 番茄红素降解研究 [J]. 沈阳化工大学学报, 2011, 25(1): 18.

[2] NGUYEN M L, SCHWARTZ S J. Lycopene: Chemical and biological properties [J]. Food Technology, 1999, 53(2): 38.

[3] 邱建生, 张彦雄, 刘铁柱. 国内外番茄红素的研究与生产现状 [J]. 中国食品添加剂, 2000(2): 12.

[4] RONEN G, COHEN M, ZAMIR D, et al. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: Expression of the gene for

lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant delta [J]. The Plant Journal, 1999, 17(4): 341.

- [5] G ROSS M D, SNOWDON D A. Plasma antioxidant concentrations in a population of elderly women: Findings from the nun study [J]. Nutrition Research, 1996, 16(11): 1818.
- [6] 古昆, 陈静波, 刘攻, 等. 叶黄素的几类降解反应研究 [J]. 化学研究与应用, 1999, 11(5): 543.
- [7] 刘维涓. β -胡萝卜素降解反应研究进展 [J]. 林产化学与工业, 2008(3): 122.
- [8] 李兵, 赵海燕, 刘伟, 等. 超高效合相色谱/二极管阵列检测器测定螺旋藻保健食品中的类胡萝卜素 [J]. 分析测试学报, 2015, 34(7): 813.
- [9] 杨虹琦, 岳骞, 黎娟, 等. 高效液相色谱法测定烤烟类胡萝卜素 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2006, 32(6): 616.
- [10] 陈冬东, 郗存显, 彭涛, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中的番茄红素 [J]. 食品科学, 2012, 33(20): 206.
- [11] 楼小华, 高川川, 朱文静. GC-MS-MS 法同时测定烟草中 113 种有机磷、有机氯及拟除虫菊酯类农药残留 [J]. 中国烟草科学, 2012(5): 23.
- [12] 刘维涓. 叶黄素催化氧化降解产物的 GC-MS 分析鉴定 [J]. 林产化学与工业, 2009(2): 85.
- [13] 刘金霞, 李元实, 姬小明, 等. 叶黄素氧化降解产物 GC-MS 分析及在卷烟加香中的应用 [J]. 郑州轻工业学院学报, 2011, 26(2): 24.



引用格式:白冰,楚首道,杨靖,等.香紫苏油主成分含量测定及其香气贡献评价[J].轻工学报,2018,33(1):7-12.

中图分类号:TS47 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.002

文章编号:2096-1553(2018)01-0007-06

香紫苏油主成分含量测定及其香气贡献评价

Main components determination and their contribution to odor in clary sage (*Salvia sclarea* L.) oil

白冰¹,楚首道¹,杨靖¹,张改红¹,贾春晓²,毛多斌¹

BAI Bing¹,CHU Shoudao¹,YANG Jing¹,ZHANG Gaihong¹,JIA Chunxiao²,
MAO Duobin¹

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 郑州轻工业学院 材料与化学工程学院,河南 郑州 450001

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. College of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:

香紫苏油;气相色谱-质谱联用;香气阈值;香气活力值

Key words:

clary sage oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); odor threshold value; odor active value

摘要:以苯甲醇为内标物,选用 HP-5MS 毛细管色谱柱,采用 GC-MS 法对香紫苏油中 10 种主要成分进行含量测定,并对其香气阈值和香气活力值进行测定和计算.结果表明:该方法可使样品中各组分很好地分离,线性方程相关系数大于 0.999,加标回收率为 90.6%~97.2%,检出限为 9.5~232.8 ng/L,说明该方法重复性和灵敏度良好;香紫苏油中芳樟醇和乙酸芳樟酯的含量分别为 20.3% 和 42.7%,香气阈值较低且香气活力值远高于其他成分,对香紫苏油香气贡献最大,与嗅香评价结果一致.

收稿日期:2017-04-24

基金项目:中国烟草总公司重点科技项目(110201402033)

作者简介:白冰(1982—),男,河南省许昌市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为烟用香精香料.

通信作者:毛多斌(1962—),男,河南省南阳市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为烟草化学及烟用香精香料.

Abstract: The selected ion monitoring (SIM) was used as the mass spectrum signal acquisition mode. Using HP-5MS capillary column, a method for determination of ten compounds in clary sage (*Salvia sclarea* L.) oil has been developed. Odor threshold values of ten compounds were determined, and odor active values were obtained. The results showed that Benzyl alcohol was used as an internal standard. The samples were separated on a DB-5 capillary column. The selected ion monitoring (SIM) was used as the mass spectrum signal acquisition mode. The components of the sample were well separated in the experimental conditions above, and had good linearity with the correlation coefficients higher than 0.999. The average recoveries were in the range of 90.6% ~ 97.2%. The limits of detection ($S/N \geq 10$) were in the range of 9.5 ~ 232.8 ng/L, which illustrated the good repeatability and sensibility of the method. The compounds in clary sage oil with high odor active value were linalool with the content of 20.3% and linalyl acetate with the content of 42.7%.

0 引言

香紫苏(*Salvia sclarea* L.)为唇形科鼠尾草属多年生草本植物,别名莲座鼠尾草、南欧丹参,原产于法国,后引入我国栽培。香紫苏油为无色至浅黄色澄清液体,由香紫苏的花冠和叶经水蒸气蒸馏得到,具有药草香、清香、茶香、木香气息和葡萄酒、琥珀香气,其主要成分有乙酸芳樟酯、芳樟醇、 α -松油醇等,是日用化学品、食品和卷烟等领域重要的香精香料。除了作为香精使用外,香紫苏油所具有的生理活性如抗菌^[1]、抗真菌^[2]、抗焦虑^[3]等药理作用,也日渐受到重视。

当前国内外对香紫苏油的研究主要集中在两个方面:一方面集中在香紫苏油提取工艺和香紫苏油中主要成分芳樟醇、乙酸芳樟酯的提取工艺上^[4-5],另一方面集中在利用GC-MS法^[6-7]、全二维GC-TOF-MS法^[8]、GC-FTIR法^[9]等研究香紫苏油中的化学成分组成。后者多是在对化学成分的定性研究基础上,再利用峰面积归一化法得到每种成分的相对含量,准确度不高,目前尚未建立准确的定量分析方法。另外,香紫苏油整体香气质和香气量除了取决于其单体成分的含量外,还取决于每一种单体成分的香气阈值,因此,必须通过含量和阈值的高低来综合评判各个组分对其整体香气的贡献^[10]。鉴于此,本研究拟建立对香紫苏油中

主要成分进行定量分析的方法,并对其主要成分的香气阈值进行测定,在此基础上获得各个化合物的香气活力值,确定各个成分对香紫苏油香气的贡献,旨在为香紫苏油在日用化学品、卷烟等产品中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

试剂:香紫苏油,郑州奥利实业有限公司产;D-柠檬烯、芳樟醇、 α -松油醇、橙花醇、乙酸芳樟酯、乙酸橙花酯、石竹烯、橙花叔醇,北京百灵威科技有限公司产;柠檬醛、乙酸香叶酯、苯甲醇,西格玛-奥德里奇公司产;二氯甲烷(CH_2Cl_2),天津凯通试剂公司产。以上试剂均为色谱纯。

仪器:Agilent 7890/5977A气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司产;MS205DU分析天平(感量0.000 01 g),瑞士梅特勒-托利多公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 储备液的制备 分别称取122.1 mg D-柠檬烯、251.5 mg 芳樟醇、462.4 mg α -松油醇、384.1 mg 橙花醇、612.4 mg 乙酸芳樟酯、248.0 mg 乙酸橙花酯、18.6 mg 石竹烯、466.3 mg 橙花叔醇、437.5 mg 柠檬醛、321.4 mg 乙酸香叶酯,配成标准储备液。

分别用移液管准确量取0.01 mL,0.05 mL,

0.10 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 3.00 mL, 5.00 mL, 7.00 mL, 9.00 mL 的标准储备液置于 9 个 10 mL 容量瓶中,用 CH_2Cl_2 溶液定容至 100 mL,摇匀,备用。

用苯甲醇作为内标物,其出峰时间在 10.55 min. 准确称取内标物苯甲醇 112.3 mg 置于 50 mL 容量瓶,用 CH_2Cl_2 稀释至刻度,充分摇匀,配制成 2.246 mg/mL 的苯甲醇内标储备液。

依次量取各个浓度点的标准储备液 0.5 mL,分别加入 0.5 mL 的苯甲醇内标储备液,充分摇匀,过 0.45 μm 有机滤膜,以备 GC-MS 分析。

1.2.2 GC-MS 分析条件的确定 色谱条件:影响气相色谱柱分离效果的主要因素是其固定相和膜厚. 固定相的极性需与待分离组分极性接近,同时应综合考虑待测组分的沸点、载样量、检测器类型等因素来选择适当膜厚的色谱柱. 香紫苏油通过水蒸气蒸馏方法制备,精油中的成分往往是低沸点、易挥发、非极性的成分,因此笔者选择以 5% 苯基-95% 甲基聚硅氧烷为固定相、非极性的 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox 色谱柱 (30 m \times 250 μm \times 0.25 μm),载气为氦气,流速 1.0 mL/min. 升温程序:初始温度 40 $^\circ\text{C}$,保持 0 min,以 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 260 $^\circ\text{C}$,保持 5 min. 进样口温度 280 $^\circ\text{C}$,进样量 1.0 μL ,分流比 70 : 1.

质谱条件:EI 离子源,电离能量 70 eV;传输线温度 280 $^\circ\text{C}$;离子源温度 230 $^\circ\text{C}$;定性分析采集方式为全扫描,定量分析采集方式为选择离子扫描。

1.2.3 香紫苏油成分定性分析 称取香紫苏油 0.165 g,用 CH_2Cl_2 定容至 10 mL;进样前样品用 0.45 μm 有机滤膜过滤,直接进样,按照 1.2.2 的分析方法进行 GC-MS 分析。

1.2.4 香紫苏油成分定量分析 按照 1.2.2

的分析条件,采用内标标准曲线法对香紫苏油中主要成分进行定量分析:称取香紫苏油 165.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加入苯甲醇内标储备液 5 mL,用 CH_2Cl_2 定容至 10 mL,样品溶液经 0.45 μm 有机滤膜过滤后进行检测;实验重复 3 次。

1.2.5 10 种单体成分香气阈值的测定 香气阈值的测定采用嗅辨法(见参考文献[11]并略有改进)。

精密称取单体香料并置于 100 mL 容量瓶中,配制质量浓度为 0.1% 左右的溶液,然后采用定容法按 $1/3^n$ 倍数逐步稀释成不同浓度溶液。

组织评价小组成员 7—11 人按照三角评价法,使用辨香纸进行评价,辨香纸蘸取样品量控制在 2 cm 左右. 评价人员只需分辨出有气味和无气味,按 5% 显著水平所需最少人数判定. 先找出在阈值之上和阈值之下的相邻的两个浓度,初步确定该香味化合物阈值介于两个浓度之间,然后采用黄金分割法从高到低分割浓度,直到高低两个浓度处于一个数量级,取高浓度点作为该香味物质的嗅觉阈值。

1.3 香气活力值的计算

香气活力值计算公式如下:

$$\text{香气活力值} = \frac{\text{香味化合物的含量}}{\text{香味化合物的香气阈值}}$$

2 结果与讨论

2.1 香紫苏油指标性成分定性分析

对香紫苏油成分进行定性分析,共检出 49 种成分,以峰面积归一化法计算,其中 D-柠檬烯、芳樟醇、 α -松油醇、橙花醇、柠檬醛、乙酸芳樟酯、乙酸橙花酯、乙酸香叶酯、石竹烯和橙花叔醇这 10 种成分占香紫苏油总量的 80% 以上. 因此,以这 10 种成分作为香紫苏油的指标性成分进行定量检测. 香紫苏油中主要成分保留时间和选择离子见表 1。

以每个化合物峰面积与内标物峰面积之比为纵坐标,以每个化合物浓度与内标物浓度之比为横坐标,绘制香紫苏油中10种化合物主要成分的标准曲线,其线性方程和相关系数见表2。从表2可以看出,测定的10种化合物主要成分所得到的标准工作曲线的相关系数均大于0.999,线性关系良好。

2.2 重复性实验结果

在相同GC-MS条件下,分别取一定量同一浓度的香紫苏油样品,加入相同量的内标储备液,直接上样,计算3次测定结果的相对标准偏差,结果见表3。由表3可知,10种目标化合物

分成3次测定结果的重复性RSD为0.65%~4.81%,说明实验的重复性良好。

2.3 回收率实验结果

采用标准加入法,将添加标样的样品和未添加标样的样品按1.2.2条件直接进行GC-MS分析,平行做3个样品,取平均值,计算回收率,结果如表3所示。由表3可知,加标回收率为90.6%~97.2%,满足测试要求。

2.4 检出限和定量限计算结果

配制一定浓度的香紫苏油标准品,直接进行GC-MS分析,根据3倍信噪比(S/N)关系推算出检出限LOD(Limit of detection),以10倍信噪比(S/N)计算定量限LOQ(Limit of quantification),计算结果见表3。结果表明,在一定的含量范围内,所测定的这10种化合物浓度与检测器响应值呈明显的线性关系,且其检出限为9.5~232.8 ng/L。远低于香紫苏油中这10种化合物的含量(见表4),说明实验的灵敏度较好。

2.5 香紫苏油中主要成分的含量及其对整体香气贡献的评价

香紫苏油10种主要成分含量、香气阈值和香气活力值如表4所示。从表4可以看出,芳樟醇、乙酸芳樟酯含量分别占香紫苏油的20.3%和42.7%,是香紫苏油的主要成分, α -松油

表1 香紫苏油中10种主要成分
保留时间和选择离子

Table 1 Retention time and selected ion pair of the 10 compounds in clary sage oil

化合物	保留时间/min	选择离子
D-柠檬烯	9.845	68.1, 93.1, 99.1
芳樟醇	12.098	55.1, 71.1, 93.1
α -松油醇	14.792	59.1, 93.1, 121.1
橙花醇	15.809	41.1, 69.1, 93.1
柠檬醛	16.627	41.1, 69.1, 94.1
乙酸芳樟酯	16.383	43.1, 93.1, 121.1
乙酸橙花酯	19.321	41.1, 69.1, 80.1, 93.1
乙酸香叶酯	19.820	43.1, 69.1, 93.1
石竹烯	20.597	69.1, 93.1, 133.1
橙花叔醇	23.680	41.1, 69.1, 93.1, 107.1

表2 香紫苏油10种主要成分的线性方程、相关系数和线性范围

Table 2 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of the 10 compounds in clary sage oil

化合物	线性方程	相关系数	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
D-柠檬烯	$y = 1.767x - 0.13350$	0.9991	0.1221~122.1000
芳樟醇	$y = 2.300x - 0.03629$	0.9994	0.2515~251.5000
α -松油醇	$y = 4.212x - 0.05297$	0.9995	0.4624~462.4000
橙花醇	$y = 5.170x - 0.08862$	0.9990	0.3841~384.1000
柠檬醛	$y = 4.246x - 0.08355$	0.9990	0.4375~437.5000
乙酸芳樟酯	$y = 1.553x - 0.02739$	0.9999	0.6124~612.4000
乙酸橙花酯	$y = 3.735x - 0.06877$	0.9995	0.2480~248.0000
乙酸香叶酯	$y = 5.327x - 0.06007$	0.9993	0.3214~321.4000
石竹烯	$y = 4.159x - 0.04815$	0.9994	0.1857~185.7000
橙花叔醇	$y = 5.051x - 0.09154$	0.9992	0.4663~466.3000

表3 香紫苏油10种主要成分的重复性RSD,回收率,检出限和定量限

Table 3 Repeatability RSD, recovery, limit of detection and limits of quantitation of 10 compounds in clary oil

化合物	重复性 RSD/%	回收率 /%	检出限 /(ng·L ⁻¹)	定量限 /(ng·L ⁻¹)
D-柠檬烯	1.23	91.0	101.7	305.0
芳樟醇	0.65	92.8	232.8	698.3
α-松油醇	2.10	95.6	10.7	32.1
橙花醇	2.47	96.6	26.5	79.6
柠檬醛	3.31	92.2	25.8	77.5
乙酸芳樟酯	0.91	90.9	17.1	8.2
乙酸橙花酯	1.88	96.1	16.4	49.3
乙酸香叶酯	1.16	97.2	22.3	66.8
石竹烯	4.81	94.3	9.5	28.5
橙花叔醇	1.36	90.6	25.0	75.0

表4 香紫苏油10种主要成分含量、香气阈值和香气活力值

Table 4 Content, odor threshold values, and odor active value of 10 compounds in clary oil

化合物	含量 /(mg·g ⁻¹)	香气阈值 /(μg·L ⁻¹)	香气活力值
D-柠檬烯	3.73	9280	4.0 × 10 ²
芳樟醇	203.45	4.12	4.9 × 10 ⁷
α-松油醇	86.83	930	9.3 × 10 ⁴
橙花醇	20.90	331	6.3 × 10 ⁴
柠檬醛	0.33	12 500	2.6 × 10 ¹
乙酸芳樟酯	427.18	36	1.2 × 10 ⁷
乙酸橙花酯	14.32	10 300	1.4 × 10 ³
乙酸香叶酯	11.20	41.2	2.7 × 10 ⁵
石竹烯	4.92	9220	5.3 × 10 ²
橙花叔醇	0.34	336	1.0 × 10 ³

醇、橙花醇等含量较前面二者低一个数量级,而柠檬醛和橙花叔醇含量甚微.主要成分芳樟醇、乙酸芳樟酯的香气阈值分别为4.12 μg/L, 36 μg/L,均远低于其他8种成分,并且由于其含量较高,香气活力值达到了10⁷的数量级,表明二者对香紫苏油的总体香气质量贡献最大;

而柠檬醛含量在香紫苏油中最低,并且香气阈值非常高,导致其香气活力值非常小,对香紫苏油的香气质量的贡献几乎可以忽略不计.实际的嗅香评价显示,香紫苏油的香气主要反映的是芳樟醇和乙酸芳樟酯的香气,这与上述结果是一致的.

3 结论

本文采用GC-MS法同时测定香紫苏油中10种主要成分的相关数据,通过对香紫苏油主要成分含量、香气阈值的测定和主要成分对香紫苏油香气贡献进行研究,得出如下结论.

1)在本文确定的实验条件下,能很好地分离香紫苏油样品中10种主要成分,线性方程相关系数均大于0.999,加标回收率为90.6%~97.2%,检出限为9.5~232.8 ng/L.该方法重复性和灵敏度都较好,可用于香紫苏油成分的含量检测.

2)香紫苏油中主要成分为芳樟醇和乙酸芳樟酯,二者含量分别占香紫苏油的20.3%和42.7%,且二者的香气阈值较低,在香紫苏油中的香气活力值分别为4.9 × 10⁷和1.2 × 10⁷,远高于其他成分,对香紫苏油的香气贡献较大,可以视为香紫苏油的特征香气成分.这一结论与嗅香评价结果一致.

本研究可为香紫苏油在日化和卷烟香精调配中的应用提供理论参考.

参考文献:

- [1] SIENKIEWICZ M, GŁOWACKA A, POZNAŃSKA-KUROWSKA K, et al. The effect of clary sage oil on staphylococci responsible for wound infections [J]. Postępy Dermatologii I Alergologii, 2015, 32(1): 21.
- [2] HRISTOVA Y, GOCHEV V, WANNER J, et al.

- Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Salvia sclarea* L. from Bulgaria against isolates of *Candida* species [J]. *Journal of Bioscience & Biotechnology*, 2013, 2(1):161.
- [3] 胡忆雪, 张楠, 杨森艳, 等. 4种芳香植物精油抗焦虑作用的评价[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2013, 31(4):58.
- [4] 鲁文华, 许松林, 王燕飞. 从香紫苏油中分离提纯芳樟醇和乙酸芳樟酯工艺的研究[J]. *香料香精化妆品*, 2006(5):5.
- [5] 权美平. 唇形科植物精油化学成分分析及提取工艺研究进展[J]. *食品工业*, 2013, 34(10):193.
- [6] 范秉琳, 史政海. 香紫苏油化学成分的GC-MS分析[J]. *阜阳师范学院学报(自然科学版)*, 2004, 21(1):27.
- [7] 马松涛, 赵继飏, 党俊伟, 等. 用GC/MS联用技术分析香紫苏挥发油成分[J]. *河南科学*, 2003, 21(6):725.
- [8] 李智宇, 冒德寿, 徐世娟, 等. 全二维气相色谱-飞行时间质谱分析香紫苏油中的挥发性成分[J]. *香料香精化妆品*, 2011, 12(6):1.
- [9] CAI J B, LIN P, ZHU X L. Comparative analysis of clary sage (*S. sclarea* L.) oil volatiles by GC-FTIR and GC-MS [J]. *Food Chemistry*, 2006, 99:401.
- [10] 毛多斌, 陈欢, 杨靖, 等. 阈值测定在食品特征香气分析中的应用综述[J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2012, 27(4):52.
- [11] 杨靖, 毛多斌, 陈芝飞, 等. GC-MS/O技术测定卷烟烟气中巨豆三烯酮的香气活力值[J]. *中国烟草学报*, 2016, 22(6):11.



引用格式:付瑜锋,胡少东,段鹏,等. 主要杂环胺类化合物研究进展[J]. 轻工学报,2018,33(1):13-25.

中图分类号:TS41⁺1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.003

文章编号:2096-1553(2018)01-0013-13

主要杂环胺类化合物研究进展

Research progress of the major HAAs

付瑜锋,胡少东,段鹏,王宝林,孙志涛,芦昶彤,
田海英,郝辉

FU Yufeng, HU Shaodong, DUAN Kun, WANG Baolin, SUN Zhitao,
LU Changtong, TIAN Haiying, HAO Hui

河南中烟工业有限责任公司 技术中心,河南 郑州 450000

Technology Center, China Tobacco He'nan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

摘要:对业界关于杂环胺的分类及其危害、烟气杂环胺的检测、主要杂环胺代谢产物和杂环胺暴露量监测的研究进展进行了综述,指出:杂环胺具有高致癌和致突变能力,烟气中杂环胺主要有10种,含量较高的为Harman, Norharman, A α C和MeA α C;对烟气中主要杂环胺的研究多集中在A α C和MeA α C,关于它们的代谢途径已经明确,但关于它们代谢产物数量的报道稍有差别;杂环胺暴露量监测主要通过检测分析人体尿液或毛发中的原型杂环胺实现,杂环胺代谢产物可作为暴露标志物用于杂环胺暴露量监测.未来的研究围绕Harman和Norharman的协同诱变作用、杂环胺A α C和MeA α C的代谢产物作为暴露标志物、快速有效地检测生物样本中杂环胺的方法和吸烟与杂环胺暴露的相关性等方面进一步开展,从而减少杂环胺的危害性,为“吸烟与健康”问题的研究提供参考.

关键词:

杂环胺;代谢产物;暴露量监测

Key words:

heterocyclic aromatic amines; metabolites; exposure level monitoring

收稿日期:2016-11-30;修回日期:2017-03-20

基金项目:河南中烟工业有限责任公司重点项目(ZW2014051)

作者简介:付瑜锋(1987—),男,江西省新余市人,河南中烟工业有限责任公司工程师,硕士,主要研究方向为烟草化学和卷烟设计.

通信作者:田海英(1978—),女,河南省南阳市人,河南中烟工业有限责任公司高级工程师,硕士,主要研究方向为烟草和烟气化学成分分析.

Abstract: The classification and hazard of HAAs, the detection of heterocyclic aromatic amines (HAAs) in cigarette smoke, the metabolism research progress of main HAAs and monitoring methods of human exposure were reviewed. It was pointed out that HAAs were highly carcinogenic and mutagenic. There are ten main HAAs in cigarette smoke, and the higher contents are Harman, Norharman, A α C and MeA α C. Studies of major heterocyclic amines in cigarette smoke are mostly focused on A α C and MeA α C. The metabolic pathways of A α C and MeA α C have been clarified, but there is a slight difference in the literature regarding the amount of their metabolites. The exposure monitoring of HAAs is mainly achieved through the detection of prototype HAAs in human urine or hair, metabolites of HAAs can be used as exposure markers for monitoring the exposure of HAAs. Future research will focus on the synergistic mutagenesis of Harman and Norharman, metabolites of A α C and MeA α C as exposure markers, rapid and effective detection method to determine HAAs in biological sample and the correlation between smoking and the exposure of HAAs to further reduce the harmfulness of HAAs and provide references for the study of "smoking and health".

0 引言

杂环胺 HAAs (heterocyclic aromatic amines) 是一类含有 N 杂环的多环芳香族化合物, 由自由氨基酸、肌氨酸、肌酸酐与糖类高温反应产生, 具有致癌、致突变活性^[1-2]。杂环胺广泛存在于煎炸食品^[3-6]、咖啡饮料^[6-7]、酒类^[8]、卷烟烟气^[9-12]、人体体液^[13-14]、河水和大 气^[15-16]中。自从 T. Sugimura 和其同事在 1977 年首次从食物中发现具有致癌活性的杂环胺以来^[5,17], 目前已经有超过 25 种杂环胺类物质被分离鉴定出来^[1-2,4]。人体摄入杂环胺的渠道多种多样, 但主要由食物摄入。卷烟烟气中也含有许多杂环胺, 是人体摄入的杂环胺的重要来源, 吸烟会导致某些杂环胺的暴露量上升, 增加人们的健康风险。杂环胺被摄入人体或动物体之后, 部分经 I 相和 II 相代谢形成解毒产物排出体外, 也有一部分未经代谢直接以原型物的形态排出体外。评估杂环胺的暴露量主要是通过检测生物样本中杂环胺及其代谢物的含量来实现。本文拟综述杂环胺的分类与危害、烟气杂环胺的检测方法、主要杂环胺代谢产物和杂环胺暴露量的监测, 以期“吸烟与健康”问题的研究提供参考。

1 杂环胺的分类与危害

1.1 杂环胺的分类

杂环胺主要产生于食物加热过程中。按照

形成过程, 杂环胺可分为氨基咪唑杂环胺 AIAs (aminoimidazoazaarenes) 和氨基咔啉杂环胺 ACCs (amino-carboline congeners) 两类。AIAs 均含有咪唑环, 为极性杂环胺, 其 α 位置上有一个氨基, 在体内经过代谢后形成 N-羟基化合物, 具有致癌、致突变活性。这类化合物与 IQ 性质类似, 环上的氨基均能耐受 2 mmol/L 的亚硝酸钠的重氮处理, 所以该类化合物又称 IQ 型杂环胺, 主要形成于 100 ~ 300 °C 温度环境, 这类化合物主要是通过美拉德反应产生的, 其主要杂环胺结构如图 1a) 所示。ACCs 又称热解杂环胺, 为非极性杂环胺。该类杂环胺环上的氨基经 2 mmol/L 亚硝酸钠的重氮处理后脱落转变成 C-羟基化合物, 所以又称为非 IQ 型杂环胺, 它们的致癌、致突变活性较 IQ 型杂环胺弱。ACCs 形成温度较高, 一般超过 300 °C^[2], 主要来源于蛋白质和氨基酸的热裂解, 其主要杂环胺结构如图 1b) 所示。

1.2 杂环胺的危害

杂环胺具有很高的致癌和致突变能力, 动物实验研究表明^[1-2,4], 它能诱导啮齿类和灵长类动物的多种器官产生肿瘤, 并能引起哺乳动物的基因突变、染色体畸变和姐妹染色体互换。1993 年, 国际癌症研究机构把 MeIQ, MeIQx, PhIP, A α C, MeA α C, Trp-P-1, Trp-P-2 和 Glu-P-1

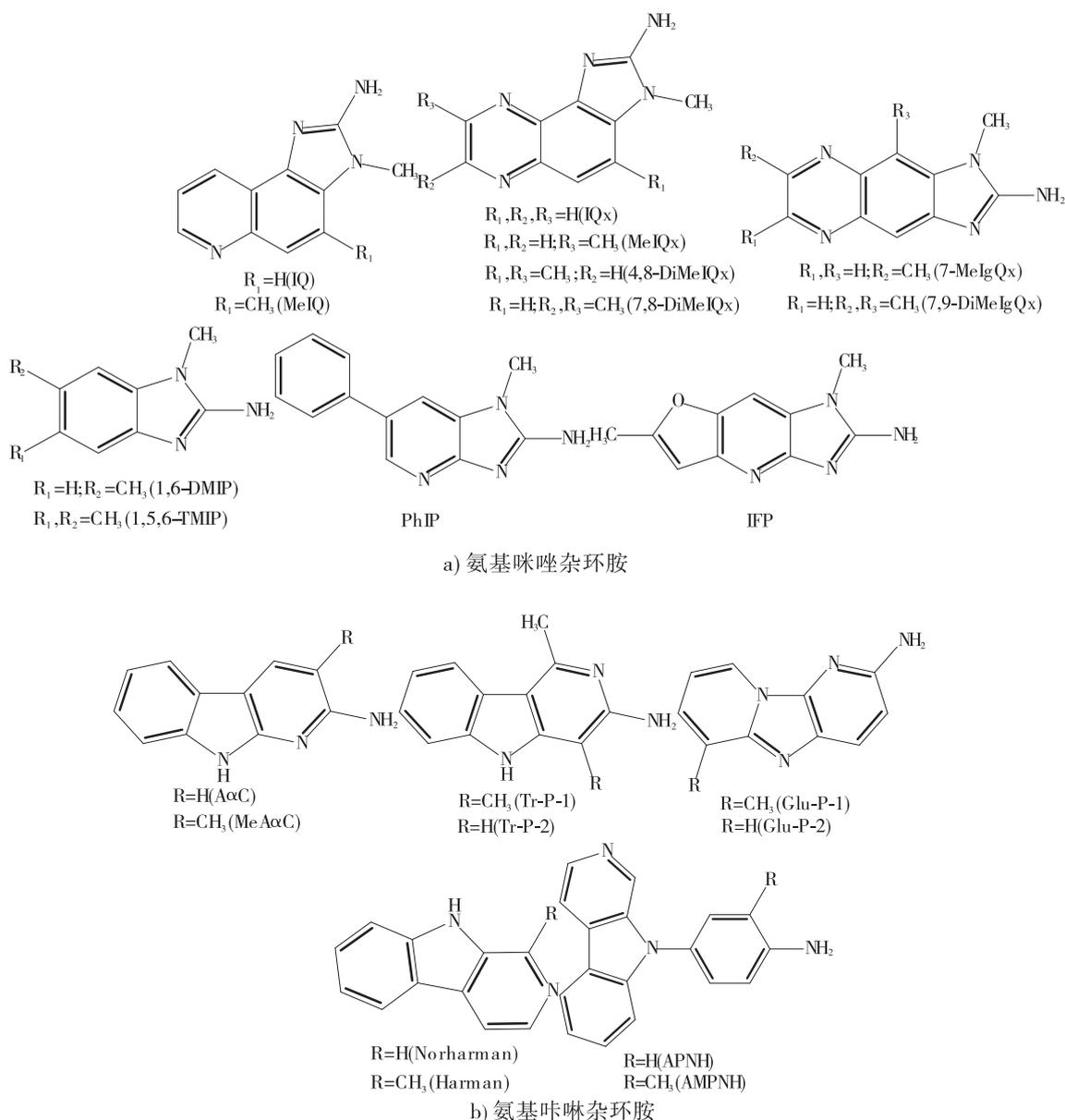


图1 常见杂环胺结构图

Fig.1 Chemical structures of prevalent HAAAs

这8种HAAAs作为2B类致癌物(潜在致癌物),IQ作为2A类致癌物(可疑致癌物)^[18];美国毒理学报告也把杂环胺类化合物列为人类的可能致癌物,建议减少其暴露量^[1-2]。

A α C和MeA α C是人体可疑致癌物.研究表明代谢活化的A α C和MeA α C对沙门氏细菌具有致突变活性^[11].G. Nauwelaers等^[19]用同样剂量的A α C,4-ABP,PhIP,MeIQx和IQ在人体肝细胞中培养,发现A α C与DNA的加合物的

量最多.Harman和Norharman为内生性化合物^[14,20-22],人体每天产生Harman和Norharman的量大约分别为每kg体重20ng和每kg体重50~100ng^[14].Harman和Norharman本身不具有致癌、致突变活性,但它们作为潜在的诱变剂或辅助致突变物会加强其他杂环胺的致癌、致突变能力^[23-26]。

2 卷烟烟气中杂环胺的检测方法

杂环胺类化合物是卷烟烟气中非常重要的

有害成分,主要是在卷烟抽吸过程中由含氮化合物和含氧化合物燃烧、裂解而产生的,在主流烟气中的释放量较高,单位通常为 ng/支. 对卷烟烟气中杂环胺的研究起始于1962年 Jr E. H. Poindexter 等^[27]报道的卷烟烟气中的 Harman 和 Norharman;1980年代, D. Yoshida 等^[28-29]报道卷烟烟气中含有 AaC 和 MeAαC. 1990年, Y. Kanai 等^[30]检测到卷烟烟气中含有 Glu-P-1 和 Glu-P-2;同年, S. Manabe 等^[31]检测到卷烟烟气冷凝物中含有 AαC, MeAαC, Trp-P-1 和 Trp-P-2. 1998年, D. Hoffmann 等^[32-33]将 AaC, MeAαC 等8种杂环胺类化合物列入卷烟烟气有害成分名单. 随着检测技术的发展,目前烟气中检测到的杂环胺主要有 Harman, Norharman, AαC, MeAαC, PhIP, IQ, Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1 和 Glu-P-2 这10种^[1,34-36].

卷烟烟气中杂环胺的测定主要采用剑桥滤片进行捕集^[37],再采用有机溶剂或酸性水溶液萃取滤片^[36],然后采用不同的前处理方法进行富集. 烟气杂环胺的富集纯化主要是用蓝棉^[35]、液液萃取^[36]、固相萃取^[38]和液液萃取串联固相萃取^[11,39]等方法,其中,固相萃取可以避免液液萃取过程中出现的乳化现象,提高萃取率,而且能有效地同时提取复杂样品中的多种杂环胺,是目前比较常用的前处理方法^[35,39]. 文献报道的分析方法主要依托 GC, GC-MS, LC 和 LC-MS 等检测手段;GC 和 GC-MS 需要将样品衍生化,操作较为繁琐,且检测限较低;烟气样品的复杂性,导致 LC 法样品选择性不高且不能同时检测多种化合物;而 LC-MS 以其高选择性和灵敏性越来越多地被应用于多种杂环胺的同时检测^[38-39]. H. Kataoka 等^[35]开发了一种 GC-NPD 检测烟气 AαC, Trp-P-1, IQ, PhIP 和 MeIQ 等6种杂环胺的方法,该方法采用液液萃取和蓝棉吸附再用 DMF-DMA 对杂环胺衍生,最后进行 GC 分析. T. A. Sasaki 等^[36]采用液液萃取、衍生化和 GC-MS-化学源负离子模

式检测卷烟主流烟气中的杂环胺 PhIP, IQ, AαC, MeAαC, Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2. 而 C. J. Smith 等^[12]应用固相萃取-GC-MS 方法分析了卷烟烟气中的 Harman, Norharman, AαC, MeAαC, 该方法无需衍生. G. Zhao 等^[38]采用固相萃取-HPLC-MS/MS 方法分析了卷烟烟气中 AαC, MeAαC, Trp-P-1 和 Trp-P-2 这4种杂环胺. 部分文献报道的烟气中10种杂环胺的释放量和检测方法见表1. 从表1中可以看出,卷烟烟气中的杂环胺以 Harman, Norharman, AαC 和 MeAαC 含量较高,除此以外,近年来常被报道的杂环胺还有 Trp-P-1 和 Trp-P-2,其余鲜见报道. 各篇文献所报道的卷烟烟气中杂环胺的释放量差异较大,这可能是由于受卷烟种类、抽吸方法、处理方法和检测手段等多种因素的影响造成的.

3 主要杂环胺代谢产物的定性分析

杂环胺有两条代谢途径解毒和活化^[1,4,17]: 第一步是被细胞色素 P450 酶催化的羟基化代谢过程,此为 I 相代谢, I 相代谢产物接着被酶催化,经历 II 相代谢,在这个代谢过程中,芳香环羟基化产物和部分环外氨基羟基化产物被葡萄糖醛酸转移酶 (UGTs) 和磺基转移酶 (SULTs) 催化,并与葡萄糖醛酸或磺酸等形成解毒的结合物,最后经尿液或粪便排出体外;另一部分环外氨基羟基化产物被乙酰转移酶 (NATs) 或磺基转移酶 (SULTs) 催化酯化形成活化产物,这些活化产物进一步异裂产生亲电子的芳基氮鎓离子中间物,其易与大分子物质 (如 DNA、蛋白质、多肽等) 形成加合物,产生致癌活性^[1,40].

杂环胺被摄入动物或人体之后,部分经 I 相和 II 相代谢形成解毒产物排出体外,也有一部分未经代谢直接以原型物排出体外^[41-44].

3.1 体内代谢产物

对于杂环胺的体内代谢研究,学者们多采

表1 部分文献报道的卷烟烟气中主要杂环胺的释放量和检测方法

Table 1 The content of heterocyclic aromatic amines in cigarette smoke and detection method in literatures

文献	前处理方法	检测方法	Harman	Norharman	A α C	MeA α C	PhIP	IQ	Trp-P-1	Trp-P-2	Glu-P-1	Glu-P-2
[30]	Liquid-liquid extraction	HPLC	—	—	—	—	—	—	—	—	0.37~0.89	0.25~0.88
[35]	blue cotton/rayon adsorption-liquid liquid extraction	GC-NPD	—	—	19.6~50.0	—	14.8	3.3~6.1	2.7~3.3	—	—	—
[36]	two-step derivatization	GC-NCI/MS	—	—	—	—	0.46~4.65	0.33~2.56	—	—	—	—
[12]	SPE	GC-MS	254~1025	675~2534	29.9~60.4	4.9~10.2	—	—	—	—	—	—
[9]	SPE	HPLC-MS/MS	—	—	25~260	2~37	—	—	0.29~0.48	0.82~1.1	—	—
[10]	solvent extracted	HPLC-MS/MS	630~1800	800~3300	33~95	2.0~6.1	—	—	0.3~1.9	1.2~4.6	—	—
[11]	Liquid-liquid extraction and SPE	GC-MS/MS	—	247~1736	21.2~25.3	1.1~6.36	—	2.1~7.2	—	1.0~4.0	—	1.1~2.0
[38]	SPE	HPLC-MS/MS	—	—	18.1~76.4	1.8~7.5	—	—	1.0~3.46	0.62~4.62	—	—

用肝微粒体作为模型,体内代谢产物主要为羟基化产物^[45-50]. 1982年, T. Niwa等^[45]研究了A α C在小鼠肝微粒体的代谢情况,采用HPLC-UV检测到了5种主要代谢产物,并经鉴定得出N₂羟基代谢产物具有致突变活性的结论. 1996年, H. Raza等^[47]研究了A α C在啮齿动物肝微粒体和人肝微粒体的代谢情况,采用HPLC-UV检测到了6种主要代谢产物,并采用核磁对代谢产物进行了鉴定,发现主要代谢产物为3-OH-A α C和6-OH-A α C. 1998年, H. Frandsen等^[48]采用HPLC-UV, HPLC-MS和核磁研究了MeA α C在PCB诱导过的小鼠肝微粒体的代谢情况,鉴定出MeA α C的3个主要解毒羟基代谢产物和1个具有致癌活性的活化产物. 2002年,他们^[49]通过HPLC-DAD结合质谱技术研究了A α C和MeA α C在人肝微粒体、PCB诱导过的小鼠肝微粒体和正常小鼠肝微粒体的代谢情况发现,A α C的主要代谢产物为3-OH-A α C和6-OH-A α C, MeA α C的主要代谢产物为6-OH-MeA α C, 3-CH₂OH-A α C和7-OH-MeA α C. 2008年, T. Herraiz等^[50]采用HPLC-UV和HPLC-MS研究了Harman和Norharman在细胞色素P450酶和肝微粒体的代谢动力学情况,发

现Harman和Norharman主要的代谢产物是6-OH产物和N₂氧化物,也有少量的3-OH产物.

近年来,出现了利用细胞模型研究杂环胺代谢产物的报道. 2007年, Z. X. Yuan等^[51]研究了A α C在雄性大白鼠动物模型、大白鼠肝细胞和人HepG₂肝细胞的细胞模型的代谢情况,共报道了17种代谢物,其中新发现了N-乙酰A α C, N-葡萄糖醛酸结合物和一个芳环羟基化产物. 2011年, G. Nauwelaers等^[52]研究了PhIP, MeIQx和IQ在人体肝细胞和小鼠肝细胞模型中其代谢产物(DNA加合物)的形成量,通过实验发现,在人体肝细胞中PhIP, MeIQx和IQ与DNA的加合物的量远远高于小鼠肝细胞,这表明用小鼠作为动物模型评价致癌物容易低估很多致癌物质的活性. 2012年, Y. Tang等^[52]利用人体肝细胞模型研究了UGTS酶催化A α C的代谢情况发现,A α C代谢成葡萄糖苷酸加合物. H. Frederiksen等^[53]还报道了用HPLC-MS对口服一定剂量MeA α C和A α C的大白鼠的肝脏、结肠、肾脏和心脏组织中MeA α C和A α C的代谢产物(DNA加合物)进行了定性和定量分析,发现MeA α C和A α C只与2-脱氮鸟苷形成DNA加合物,且肝脏中形成的DNA加合物最多.

3.2 体外代谢产物

现有文献对杂环胺体外代谢研究主要集中在 A α C 和 MeA α C, 研究方法主要是给动物喂食标样, 尔后对其排泄物进行检测. 2004 年, H. Frederiksen 等^[54] 采用 HPLC-MS 结合 UV 对喂食一定剂量 MeA α C 的小鼠 24 h 尿液和粪便进行了检测, 定性定量地分析了小鼠尿液和粪便中的 MeA α C 和其 11 种代谢物, 结果表明, 约有 21% 的 MeA α C 在粪便中, 34% 的 MeA α C 在尿液中, 尿液中未代谢的 MeA α C 约占 3.5%. 同年, 他们^[55] 又报道了采用同样的方法对喂食一定剂量的³H 标记的 A α C 小鼠的 24 h 尿液和粪便进行了检测, 定性定量地分析了 A α C 及其 7 种代谢物, 结果表明, 约有 12% 的 A α C 在粪便中, 32% 的 A α C 在尿液中, 未代谢的 A α C 约占 2.5%.

4 主要杂环胺类化合物暴露量监测

目前, 杂环胺暴露量监测主要是通过检测分析人体尿液或毛发中的原型杂环胺来实现, 杂环胺代谢产物的检测也日益受到关注.

4.1 尿液中原型杂环胺检测

从尿液中分离出杂环胺有许多技术手段^[1], 如溶剂萃取^[13,56]、固相萃取^[57]、极白棉处理尿液后经离子交换柱萃取^[58], 以及分子印迹技术^[43]和免疫亲和技术^[59].

1991 年, H. Ushiyama 等^[58] 报道了采用蓝棉和离子交换柱作前处理, 之后用 HPLC-FLD 检测人体 24 h 尿样中的 Trp-P-1, Trp-P-2, PhIP 和 MeIQx 这 4 种杂环胺, 发现它们的质量浓度范围为 0.03 ~ 1.97 ng/mL. 1995 年, H. Ushiyama 等^[60] 分析了人体尿液中 Harman 和 Norharman 的含量, 采用极白棉、阳离子交换柱等前处理方法, 用 HPLC-FLD 对尿液样品进行分析, Harman 和 Norharman 含量分别为 97.7 ~ 298 ng/mL 和 9.3 ~ 33.5 ng/mL. 1997 年, R.

Reistad 等^[61] 采用液液萃取串联蓝棉吸附前处理方法, 用 GC-MS 检测了尿液中的 PhIP, MeIQx 和 DiMeIQx, 发现样品酸解以后杂环胺的含量明显提高, 最高可以上升 32%. 1999 年, L. C. R. Kidd 等^[62] 采用免疫亲和萃取柱串联 HPLC-ESI-MS, 分析了不同人种尿液中 PhIP 含量的差别, 发现美国白人尿液中 PhIP 含量明显低于其他两个有色人种. 2004 年, S. Sentellas 等^[63] 采用液液萃取、硅藻土萃取和固相萃取的方法分离和富集了 15 种杂环胺类化合物, 采用毛细管电泳质谱进行检测, 但由于方法的检测限较高, 不能用于测定实际尿液样品. 2010 年, H.-J. Cha 等^[64] 采用多重固相微萃取对尿液进行处理, 建立了尿液中的 IQ, MeIQ, MeIQx, PhIP, Glu-P-1, Glu-P-2, A α C 和 MeA α C 的 HPLC-MS/MS 检测方法. 2011 年, De F. Andres 等^[65] 建立了检测尿液中的非极性杂环胺化合物的固相微萃取-毛细管液相色谱荧光检测方法. 2014 年, Y. F. Fu 等^[66] 采用液液萃取串联固相萃取的前处理方法, 用 HPLC-ESI/MS/MS 分析了人体尿液中 15 种杂环胺的含量, 发现吸烟会导致 A α C 含量升高.

4.2 毛发中原型杂环胺检测

人体和动物的毛发也可以作为检测有害物质很好的基质, 毛发中杂环胺的含量能很好地反映杂环胺的暴露水平^[1,13,67-79]. 动物或人体摄入的杂环胺在组织、体液和排泄物中代谢时间较短, 而在毛发中代谢周期较长, 有文献报道在 4 周之后仍然能从毛发中检测到杂环胺的原型物^[1].

1999 年, R. Reistad 等^[70] 采用 GC-MS 检测人头发中的 PhIP, 检测到 12 个样本中 PhIP 的含量为 50 ~ 5000 pg/g. 2000 年, S. Hegstad 等^[71] 建立了一种固相萃取串联 GC-NCI/MS 检测人头发中 PhIP 的方法. 2005 年, M. Kobayashi 等^[72] 报道了一种柱切换的 LC-ESI/MS 在选择

离子扫描模式下检测人头发中 PhIP 的方法. 2009 年, E. E. Bessette 等^[73]报道了采用碱性水解、溶剂萃取和固相萃取分离人体毛发中 HAAs, 再采用 HPLC-ESI/MS/MS 进行检测的方法. 2013 年, H. Kataoka 等^[74]报道了一种在线固相微萃取串联 HPLC-ESI/MS/MS 检测人体头发中 16 种杂环胺含量的方法, 利用该方法对吸烟和非吸烟样本进行检测, 发现吸烟样本中的 IQ, MeIQx, Trp-P-1, PhIP 和 A α C 远高于非吸烟样本, 这 5 种杂环胺可以作为吸烟暴露生物标志物.

4.3 杂环胺代谢产物检测

关于尿液中杂环胺代谢产物的监测研究, 目前仅有 MeIQx 和 PhIP 代谢产物的报道. 2001 年, M. G. Knize 等^[75]报道了一种固相微萃取前处理结合 LC-MS/MS 分析技术检测人体尿液中 PhIP 的 4 种主要代谢物的方法, 分析发现 PhIP 的代谢受个体差异影响较大. 2002 年, H. Frandsena 等^[76]报道了用分子印迹固相萃取法结合 HPLC-UV 检测人体尿液中的 PhIP 代谢物 5-OH-PhIP; 同年, M. G. Knize 等^[77]报道了采用固相微萃取和 LC-MS/MS 技术分析人体尿液中 PhIP 及其 4 种主要代谢物的含量发现, PhIP 代谢有个体差异. 2008 年, H. Frandsen^[43]检测了人体尿液中 5-OH-PhIP, PhIP 和 4-OH-PhIP 的含量, 他们认为 5-OH-PhIP 能很好地反映 PhIP 的暴露量, 可作为其生物标志物. 2009 年, J. M. Fede 等^[78]给出了采用反向离子交换柱对尿液进行前处理, 然后用 HPLC-MS/MS 检测 PhIP 和其代谢物的方法. 2010 年, D. Gu 等^[79]给出了一种改进的 SPE 前处理富集人体尿液中的 MeIQx, PhIP 和它们的代谢物通过 HPLC-MS/MS 进行检测的方法.

对于杂环胺与 DNA 加合物的研究也有少量报道. 2010 年, E. E. Bessette 等^[80]应用 LC-ESI/MS/MSn 检测了人唾液中 PhIP, A α C 和

MeIQx 与 DNA 的加合物, 结果表明吸烟者唾液中 PhIP 与 DNA 的加合物检出比例较高. 2012 年, D. Gu 等^[81]采用 LC-ESI/MS/MSn 技术检测癌乳腺癌患者乳腺组织中的 PhIP 与 DNA 的加合物, 发现其含量水平为每 10^9 个核苷酸中有 3 个加合物.

5 结语与展望

本文对业界关于杂环胺的分类及其危害、烟气杂环胺的检测、主要杂环胺代谢产物和杂环胺暴露量监测等的研究进展进行了综述. 杂环胺作为强致癌和致突变物, 是卷烟烟气 Hoffmann 名单中重要有害成分, 其危害性越来越受到人们的重视.

目前, 文献报道的烟气杂环胺主要有 10 种, 杂环胺含量较高的为 Harman, Norharman, A α C 和 MeA α C 这 4 种, 这主要是因为卷烟燃烧锥的温度较高, 最高时甚至接近 $900\text{ }^{\circ}\text{C}$, 主要产生热解杂环胺即氨基咪唑杂环胺. 因此, 提高卷烟纸透气度、降低卷烟燃烧锥温度是降低烟气中杂环胺类化合物释放量的一条有效途径; 此外, 从杂环胺产生的根源出发, 降低烟叶中氨基酸、糖类和含氮化合物的含量, 也是降低烟气中杂环胺类化合物释放量的一条重要途径. 烹炸肉类食品是产生杂环胺类化合物的重要来源, PhIP, IQ 和 MeIQx 作为肉类食品中含量较高且致突变能力较强的化合物, 人们对这 3 种化合物的代谢研究较深入, 对它们代谢物的类型、代谢途径基本明确, 并已经寻找到相应的生物标志物, 而对于烟气中主要杂环胺的研究主要集中在 A α C 和 MeA α C, 现有文献对它们代谢产物的报道稍有差别, 还有待进一步研究. 作为诱变剂的 Harman 和 Norharman, 其协同诱变作用报道较少, 有待进一步研究.

杂环胺的强致癌活性使人们高度重视对其暴露量的研究, 目前杂环胺暴露量的监测主要

是检测分析人体尿液或毛发中的原型杂环胺,杂环胺代谢产物作为暴露标志物的研究也日益受到关注. 现有文献对杂环胺代谢产物作为暴露标志物的研究仅有关于 MeIQx 和 PhIP 代谢产物的报道,对于烟气中含量较高的 A α C 和 MeA α C 鲜见报道,还有待于进一步研究. 吸烟会导致部分杂环胺暴露量增加,随着“吸烟与健康”问题越来越多地受到公众的关注,吸烟与杂环胺暴露量的相关性正在被进一步地深入研究. 因此,探索快速有效地检测生物样本中杂环胺的方法,研究吸烟与杂环胺暴露量的相关性,将是今后的研究重点.

参考文献:

- [1] TURESKY R J, LE MARCHAND L. Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies: Lessons learned from aromatic amines [J]. *Chem Res Toxicol*, 2011, 24(8): 1169.
- [2] ALAEJOS M S, AFONSO A M. Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011, 10(2): 52.
- [3] FEI X-Q, LI C, YU X-D, et al. Determination of heterocyclic amines by capillary electrophoresis with UV-DAD detection using on-line preconcentration [J]. *Journal of Chromatography B*, 2007, 854(1/2): 224.
- [4] TURESKY R J. Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats [J]. *Toxicol Lett*, 2007, 168(3): 219.
- [5] SUGIMURA T, NAGAO M, KAWACHI T, et al. Mutagens carcinogens in food, with special reference to highly mutagenic pyrolytic products in broiled food [M] // HIATT H, WATON J, WINSTEN J. *Origins of Human Cancer*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1977: 1561 - 1577.
- [6] HERRAIZ T. Relative exposure to beta-carbolines norharman and harman from foods and tobacco smoke [J]. *Food Additives and Contaminants*, 2004, 21(11): 1041.
- [7] HERRAIZ T. Identification and occurrence of the bioactive beta-carbolines norharman and harman in coffee brews [J]. *Food Additives and Contaminants*, 2002, 19(8): 748.
- [8] RICHLING E, DECKER C, HARING D, et al. Analysis of heterocyclic aromatic amines in wine by high-performance liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 791(1/2): 71.
- [9] 王海艳, 赵阁, 谢复炜, 等. HPLC-MS/MS 检测卷烟主、侧流烟气中的杂环胺 [J]. *烟草科技*, 2010(2): 28.
- [10] ZHANG L Q, ASHLEY D L, WATSON C H. Quantitative analysis of six heterocyclic aromatic amines in mainstream cigarette smoke condensate using isotope dilution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Nicotine & Tobacco Research*, 2011, 13(2): 120.
- [11] LIU S, TAYLOR L T, BORGERDING M F, et al. Trace analysis of mutagenic heterocyclic aromatic amines in cigarette smoke condensate and its base fractions via silylation-GC-MS [J]. *Beitraege zur Tabakforschung International*, 2013, 25(5): 550.
- [12] SMITH C J, QIAN X L, ZHA Q M, et al. Analysis of alpha- and beta-carbolines in mainstream smoke of reference cigarettes by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1046(1/2): 211.
- [13] ALEXANDER J, REISTADA R, HEGSTADA S,

- et al. Biomarkers of exposure to heterocyclic amines: Approaches to improve the exposure assessment[J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, (40): 1131.
- [14] PFAU W, SKOG K. Exposure to beta-carbolines norharman and harman [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 802(1): 115.
- [15] 董雪玲, 刘大锰, 高少鹏. 高效液相色谱法测定大气颗粒物中的杂环胺[J]. 分析化学, 2009, 37(10): 1415.
- [16] KATAOKA H, HAYATSU T, HIETSCH G, et al. Identification of mutagenic heterocyclic amines (IQ, Trp-P-1 and A α C) in the water of the Danube River [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2000, 466(1): 27.
- [17] FREDERIKSEN H. Two food-borne heterocyclic amines: Metabolism and DNA adduct formation of amino-a-carbolines [J]. Mol Nutr Food, 2005, 49: 263.
- [18] CANCER I A F O. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [J]. Carcinogenesis, 1993, 56: 599.
- [19] NAUWELAERS G, BESSETTE E E, GU D, et al. DNA adduct formation of 4-aminobiphenyl and heterocyclic aromatic amines in human hepatocytes [J]. Chem Res Toxicol, 2011, 24(6): 913.
- [20] TOTSUKA Y, USHIYAMA H, ISHIHARA J, et al. Quantification of the co-mutagenic beta-carbolines, norharman and harman, in cigarette smoke condensates and cooked foods [J]. Cancer Letters, 1999, 143(2): 139.
- [21] FEKKES D, SCHOUTEN M J, PEPPLINKHUIZEN L, et al. Norharman, a normal body constituent [J]. Lancet, 1992, 339(8791): 506.
- [22] AIRAKSINEN M M, KARI I. Beta-carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. Part I: Occurrence, origin and metabolism [J]. Medical Biology, 1981, 59(1): 21.
- [23] BOEIRA J M, VIANA A F, PICADA J N, et al. Genotoxic and recombinogenic activities of the two β -carboline alkaloids harman and harmine in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2002, 500(1): 39.
- [24] TOTSUKA Y, NISHIGAKI R, SUGIMURA T, et al. The possible involvement of mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines in human cancer [M] // Acrylamide and Other Hazardous Compounds in Heat-Treated Foods. Boca Raton: Woodhead Publisher, 2007: 296 - 327.
- [25] HADA N, TOTSUKA Y, ENYA T, et al. Structures of mutagens produced by the co-mutagen norharman with *o*- and *m*-toluidine isomers [J]. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2001, 493(1/2): 115.
- [26] KAWAMORI T, TOTSUKA Y, UCHIYA N, et al. Carcinogenicity of aminophenyl norharman, a possible novel endogenous mutagen, formed from norharman and aniline, in F344 rats [J]. Carcinogenesis, 2004, 25(10): 1967.
- [27] POINDEXTER Jr E H, CARPENTER R. D. The isolation of harmane and norharman from tobacco and cigarette smoke [J]. Carpenter Phytochemistry, 1962(1): 215.
- [28] YOSHIDA D, MATSUMOTO T. Amino-alpha-carbolines as mutagenic agents in cigarette smoke condensate [J]. Cancer Letters, 1980, 10(2): 141.
- [29] MATSUMOTO T, YOSHIDA D, TOMITA H. Determination of mutagens amino- α -carbolines in grilled foods and cigarette smoke condensate

- [J]. *Cancer Lett*, 1981(12): 105.
- [30] KANAI Y, WADA O, MANABE S. Detection of carcinogenic glutamic acid pyrolysis products in cigarette smoke condensate [J]. *Carcinogenesis*, 1990, 11(6): 1001.
- [31] MANABE S, WADA O, KANAI Y. Simultaneous determination of amino-alpha-carbolines and amino-gamma-carbolines in cigarette smoke condensate by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1990, 529(1): 125.
- [32] HOFFMANN D, HOFFMANN I, EL-BAYOUMY K. The less harmful cigarette: A controversial issue a tribute to Ernst L Wynder [J]. *Chem Res Toxicol*, 2001, 14(7): 767.
- [33] HOFFMAN D, HOFFMAN I. Letter to the editor: "tobacco smoke components" [J]. *Beitr Tabakforsch Int*, 1998, 18(1): 127.
- [34] KAI H, GE Z, FU Y, et al. Screening and identification of the main metabolites of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α C) in liver microsomes and rat urine by using UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1046: 110.
- [35] KATAOKA H, KIJIMA K, MARUO G. Determination of mutagenic heterocyclic amines in combustion smoke samples [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998, 60(1): 60.
- [36] SASAKI T A, WILKINS J M, FOREHAND J B, et al. Analysis of heterocyclic amines in mainstream cigarette smoke using a new NCI GC-MS technique [J]. *Analytical Letters*, 2001, 34(10): 1749.
- [37] ITO N, HASEGAWA R, SANO M, et al. A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) [J]. *Carcinogenesis*, 1991, 12(8): 1503.
- [38] ZHAO G, WANG S, FU Y, et al. Analysis of the heterocyclic aromatic amines in cigarette smoke by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2014, 77(11/12): 813.
- [39] 王海艳. 卷烟烟气中杂环胺类化合物的分析检测 [D]. 郑州: 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 2009.
- [40] EISENBRAND G, TANG W. Food-borne heterocyclic amines. Chemistry, formation, occurrence and biological activities—A literature review [J]. *Toxicology*, 1993, 84(1/3): 1.
- [41] ARMBRECHT H J, LAKSHMI V M, WICKSTRA J, et al. Metabolism of a heterocyclic amine colon carcinogen in young and old rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(4): 633.
- [42] TURESKY R J, GUENGERICH F P, GUILLOUZO A, et al. Metabolism of heterocyclic aromatic amines by human hepatocytes and cytochrome P4501A2 [J]. *Mutat Res*, 2002(506/507): 187.
- [43] FRANDBSEN H. Biomonitoring of urinary metabolites of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) following human consumption of cooked chicken [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(9): 3200.
- [44] KULP K S, KNIZE M G, FOWLER N D, et al. PhIP metabolites in human urine after consumption of well-cooked chicken [J]. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2004, 802(1): 143.
- [45] NIWA T, YAMAZOE Y, KATO R. Metabolic activation of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole by rat-liver microsomes [J]. *Mutat Res*, 1982, 95(2/3): 159.
- [46] FRANDBSEN H, NIELSEN P A, GRIVAS S, et al. Microsomal metabolism of the food muta-

- gen 2-amino-3,4,8-trimethyl-3H-imidazo [4,5-F] quinoxaline to mutagenic metabolites [J]. *Mutagenesis*,1994,9(1): 59.
- [47] RAZA H, KING R S, SQUIRES R B, et al. Metabolism of 2-amino-alpha-carboline—A food-borne heterocyclic amine mutagen and carcinogen by human and rodent liver microsomes and by human cytochrome P4501A2 [J]. *Drug Metabolism and Disposition*,1996,24(4): 395.
- [48] FRANSEN H, DAMKJAER S, GRIVAS S, et al. Microsomal metabolism and activation of the environmental carcinogen 2-amino-3-methyl-9H-pyrido 2,3-b indole [J]. *Mutagenesis*, 1998,13(2): 181.
- [49] FREDERIKSEN H, FRANSEN H. In vitro metabolism of two heterocyclic andnes,2-amino-9H-pyrido 2,3-b indole (A α C) and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido 2,3-b indole (MeA α C) in human and rat hepatic microsomes [J]. *Pharmacology & Toxicology*,2002,90(3): 127.
- [50] HERRAIZ T, GUILLEN H, ARAN V J. Oxidative metabolism of the bioactive and naturally occurring beta-carboline alkaloids, norharman and harman, by human cytochrome P450 enzymes[J]. *Chem Res Toxicol*,2008,21(11): 2172.
- [51] YUAN Z-X, JHA G, MCGREGOR M A, et al. Metabolites of the carcinogen 2-amino-alpha-carboline formed in male Sprague-Dawley rats in vivo and in rat hepatocyte and human Hep G2 cell incubates [J]. *Chem Res Toxicol*,2007,20(3): 497.
- [52] TANG Y, LEMASTER D M, NAUWELAERS G, et al. UDP-glucuronosyltransferase-mediated metabolic activation of the tobacco carcinogen 2-amino-9H-pyrido [2,3-b] indole [J]. *J Biol Chem*,2012,287(18): 14960.
- [53] FREDERIKSEN H, FRANSEN H, PFAU W. Syntheses of DNA adducts of two heterocyclic amines, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido 2,3-b indole (MeA α C) and 2-amino-9H-pyrido 2,3-b indole (A α C) and identification of DNA adducts in organs from rats dosed with MeA alpha C [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(8): 1525.
- [54] FREDERIKSEN H, FRANSEN H. Identification of metabolites in urine and feces from rats dosed with the heterocyclic amine, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido 2,3-b indole (MeA alpha C) [J]. *Drug Metabolism and Disposition*,2004,32(6): 661.
- [55] FREDERIKSEN H, FRANSEN H. Excretion of metabolites in urine and faeces from rats dosed with the heterocyclic amine, 2-amino-9H-pyrido [2,3-b] indole (AalphaC) [J]. *Food Chem-Toxicol*,2004,42(6): 879.
- [56] BOOBIS A R, LYNCH A M, MURRAY S, et al. CYP1A2-catalyzed conversion of dietary heterocyclic amines to their proximate carcinogens is their major route of metabolism in humans [J]. *Cancer Research*,1994,54(1): 89.
- [57] HOLLAND R D, TAYLOR J, SCHOENBACHLER L, et al. Rapid biomonitoring of heterocyclic aromatic amines in human urine by tandem solvent solid phase extraction liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Chem Res Toxicol*,2004,17(8): 1121.
- [58] USHIYAMA H, WAKABAYASHI K, HIROSE M, et al. Presence of carcinogenic heterocyclic amines in urine of healthy volunteers eating normal diet, but not of inpatients receiving parenteral alimentation [J]. *Carcinogenesis*,1991,12(8): 1417.
- [59] STILLWELL W G, KIDD L C R, WISHNOK J S, et al. Urinary excretion of unmetabolized and phase II conjugates of 2-amino-1-methyl-6-phe-

- nylimidazo 4, 5-b pyridine and 2-amino-3, 8-dimethylimidazo 4, 5-f quinoxaline in humans: Relationship to cytochrome P4501A2 and N-acetyltransferase activity [J]. *Cancer Research*, 1997, 57(16): 3457.
- [60] USHIYAMA H, OGURI A, TOTSUKA Y, et al. Norharman and harman in human urine [J]. *Proceedings of the Japan Academy Series B-Physical and Biological Sciences*, 1995, 71(1): 57.
- [61] REISTAD R, ROSSLAND O, LATVA-KALA K, et al. Heterocyclic aromatic amines in human urine following a fried meat meal [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1997, 35(10): 945.
- [62] KIDD L C R, STILLWELL W G, YU M C, et al. Urinary excretion of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo 4, 5-b pyridine (PhIP) in white, African-American, and Asian-American men in Los Angeles County [J]. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 1999, 8(5): 439.
- [63] SENTELLAS S, MOYANO E, PUIGNOU L S, et al. Optimization of a clean-up procedure for the determination of heterocyclic aromatic amines in urine by field-amplified sample injection-capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1032(1/2): 193.
- [64] CHA H-J, KIM N-H, JEONG E-K, et al. Analysis of heterocyclic amines in human urine using multiple solid-phase extraction by liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2010, 31(8): 2322.
- [65] De ANDRES F, ZOUGAGH M, CASTANEDA G, et al. Screening of non-polar heterocyclic amines in urine by microextraction in packed sorbent-fluorimetric detection and confirmation by capillary liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2011, 83(5): 1562.
- [66] FU Y F, ZHAO G, WANG S, et al. Simultaneous determination of fifteen heterocyclic aromatic amines in the urine of smokers and nonsmokers using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1333: 45.
- [67] NAKAHARA Y, TAKAHASHI K, KIKURA R. Hair analysis for drugs of abuse X effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1995, 18(9): 1223.
- [68] DUPONT R L, BAUMGARTNER W A. Drug testing by urine and hair analysis: Complementary features and scientific issues. [J]. *Forensic Science International*, 1995, 70(1/3): 63.
- [69] GRATACOS-CUBARSI M, CASTELLARI M, VALERO A, et al. Hair analysis for veterinary drug monitoring in livestock production [J]. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2006, 834(1/2): 14.
- [70] REISTAD R, NYHOLM S, HAUG L, et al. 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b] pyridine (PhIP) in human hair as biomarker for dietary exposure [J]. *Biomarkers*, 1999, 4(4): 263.
- [71] HEGSTAD S, LUNDANES E, REISTAD R, et al. Determination of the food carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4, 5-b] pyridine (PhIP) in human hair by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2000, 52(7/8): 499.
- [72] KOBAYASHI M, HANAOKA T, HASHIMOTO H, et al. 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo 4, 5-b pyridine (PhIP) level in human hair as biomarkers for dietary grilled/stir-fried meat and fish intake [J]. *Mutation Research-Genetic Toxicol-*

- ogy and Environmental Mutagenesis, 2005, 588 (2): 136.
- [73] BESSETTE E E, YASA I, DUNBAR D, et al. Biomonitoring of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in hair: A validation study [J]. Chem Res Toxicol, 2009, 22(8): 1454.
- [74] KATAOKA H, INOUE T, SAITO K, et al. Analysis of heterocyclic amines in hair by on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2013, 786: 54.
- [75] KNIZE M G, KULP K S, MALFATTI M A, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method of urine analysis for determining human variation in carcinogen metabolism [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 914(1/2): 95.
- [76] FRANDBSEN H, FREDERIKSEN H, ALEXANDER J. 2-amino-1-methyl-6-(5-hydroxy-) phenylimidazo 4,5-b pyridine (5-OH-PhIP), a biomarker for the genotoxic dose of the heterocyclic amine, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo 4,5-b pyridine (PhIP) [J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40(8): 1125.
- [77] KNIZE M G, KULP K S, SALMON C P, et al. Factors affecting human heterocyclic amine intake and the metabolism of PhIP [J]. Mutat Res, 2002 (506/507): 153.
- [78] FEDE J-M, THAKUR A P, GOODERHAM N J, et al. Biomonitoring of 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo 4,5-b pyridine (PhIP) and Its Carcinogenic Metabolites in Urine [J]. Chem Res Toxicol, 2009, 22(6): 1096.
- [79] GU D, MCNAUGHTON L, LEMASTER D, et al. A Comprehensive Approach to the Profiling of the Cooked Meat Carcinogens 2-Amino-3,8-dimethylimidazo 4,5-f quinoxaline, 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo 4,5-b pyridine, and Their Metabolites in Human Urine [J]. Chem Res Toxicol, 2010, 23(4): 788.
- [80] BESSETTE E E, SPIVACK S D, GOODENOUGH A K, et al. Identification of carcinogen DNA adducts in human saliva by linear quadrupole ion trap/multistage tandem mass spectrometry [J]. Chem Res Toxicol, 2010, 23(7): 1234.
- [81] GU D, TURESKY R J, TAO Y, et al. DNA adducts of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine and 4-aminobiphenyl are infrequently detected in human mammary tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Carcinogenesis, 2012, 33(1): 124.



引用格式:胡凯伦,高荣春,杨丰盛,等. 酶解菲律宾蛤仔水煮液制备牛磺酸工艺研究[J]. 轻工学报,2018,33(1):26-33.

中图分类号:TS254.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.004

文章编号:2096-1553(2018)01-0026-08

酶解菲律宾蛤仔水煮液制备牛磺酸工艺研究

Study on the preparation of taurine from cooking liquid of *Ruditapes philippinarum* by enzymatic hydrolysis

胡凯伦¹,高荣春¹,杨丰盛²,刘文转¹,杨静峰¹

HU Kailun¹,GAO Rongchun¹,YANG Fengsheng²,LIU Wenzhuan¹,YANG Jingfeng¹

1. 大连工业大学 食品学院/国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034;

2. 福建省丰盛食品有限公司, 福建 漳浦 363208

1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, China;

2. Fujian Fengsheng Food Co., Ltd., Zhangpu 363208, China

关键词:

菲律宾蛤仔; 水煮液; 牛磺酸; 酶解; 电渗析

Key words:

Ruditapes philippinarum; cooking liquid; taurine; enzymatic hydrolysis; electro dialysis

摘要:研究了酶解菲律宾蛤仔水煮液提取牛磺酸的工艺条件和提高所制备牛磺酸纯度的途径. 结果表明:碱性蛋白酶为最适提取酶;在酶解温度 45 ℃, 酶解时间 3.5 h, 酶解 pH=8.0 的条件下, 牛磺酸纯度为 8.67%, 回收率为 95.80%;酶解产物经电渗析除盐后, 纯度为 21.30%, 回收率为 89.59%;经阳离子树脂交换后, 纯度为 31.18%, 回收率为 83.64%;经乙醇重结晶提纯处理后, 纯度达 97.28%.

收稿日期:2017-11-12

基金项目:福建省海洋经济创新发展区域示范项目(2014FJ17)

作者简介:胡凯伦(1992—),男,辽宁省阜新市人,大连工业大学硕士研究生,主要研究方向为食品资源与综合利用.

通信作者:杨静峰(1979—),男,吉林省四平市人,大连工业大学副教授,博士,主要研究方向为糖化学与糖生物学.

Abstract: This study aim to explored the preparation and purification technologies of taurine from the cooking liquid of *Ruditapes philippinarum* using enzymatic hydrolysis. The results showed that the alkaline protease was the optimum enzyme for extracting taurine. Under the conditions of enzymolysis temperature 45 °C, enzymolysis time 3.5 h and enzymolysis pH = 8.0, the purity and recovery of taurine reached 8.67% and 95.80%, respectively. After removing salt using electrodialysis, the purity and recovery of taurine reached 21.30% and 89.59%, respectively. After elution on cation exchange resin, the purity and recovery of taurine reached 31.18% and 83.64%, respectively. After the ethanol recrystallization, the purity of taurine reached 97.28%.

0 引言

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)又名杂色蛤,俗称沙蚬子,双壳贝类,隶属于帘蛤科,其产地广泛分布于我国的南北海域。《中国渔业统计年鉴 2017》^[1]显示,2016 年我国海水养殖蛤产量达到 4.17×10^6 t,是仅次于牡蛎的第二大贝类养殖品种。对蛤及其加工副产物的深度开发利用有着极其重要的经济价值。在工业加工过程中,蛤肉经过蒸汽熟化后制成产品,而蛤煮汁往往被废弃,蛤煮汁中含有丰富的牛磺酸^[2],对其进行有效地分离提取是蛤加工废弃物综合利用的一个有效途径。如何有效利用该资源成为业界亟待解决的一个问题。

牛磺酸(Taurine),学名 2-氨基乙磺酸,是一种含硫的非蛋白质结构氨基酸,它作为人体必需的氨基酸之一,具有很强的生物活性^[3-4]。牛磺酸具有增加细胞抗氧化、抗自由基损伤与抗病毒侵害的能力^[5-6],还具有增强视力、促进大脑发育、缓解疲劳、降低胆固醇、抑制胆结石、消炎、镇痛、抗肿瘤等活性^[7-9]。目前,制备牛磺酸的主要途径是化学合成法,但该方法存在原料毒性大、工艺操作复杂、环境污染严重等问题^[10]。我国海洋生物资源丰富,如能高效利用海洋产品加工的下脚料,既可以提高海洋资源利用率,又能够减轻环境污染^[11-13]。从蛤煮汁中制备牛磺酸,不使用有机溶剂,完全利用生物和物理方法进行分离纯化,对充分利用蛤加工副产物以减少环境污染具有重要的现实意义。

鉴于此,本文拟在不破坏蛤肉产品形态的

基础上,以蛤加工副产物水煮汁为原料,筛选出能够大幅提高牛磺酸制品回收率的酶,在适宜酶解条件下生产牛磺酸,利用电渗析和阳离子交换树脂技术脱除其杂质,最后采用乙醇结晶与重结晶技术制备出纯度良好的牛磺酸制品,为制备环境友好型牛磺酸提供一种新的途径。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

菲律宾蛤仔,体长为 2.5 ~ 3.0 cm,购自大连市泡崖市场;牛磺酸标准品,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶,酶活力均为 200 000 U,购自南宁庞博生物工程有限公司;乙酰丙酮,购自天津市化学试剂一厂;甲醛,分析纯,购自天津科密欧化学试剂开发中心;无水乙酸钠,购自天津市石英钟厂霸州市化工分厂。

1.2 仪器与设备

CR22G 高速冷冻离心机,日本 HITACHI 公司产;UV-2400 型紫外可见分光光度计,上海析普仪器有限公司产;BS224S 型电子天平,美国戴安公司产;HH-S 型水浴锅,巩义市予华仪器有限责任公司产;DHG-9140 电热鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司产;PHS-3 型精密 pH 计,上海鹏顺科学仪器有限公司产;TRPB3010-I-2 型双极膜电渗析设备,北京廷润膜技术开发有限公司产;SY-2000 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂产;超低温电冰箱(-80 °C),中国海尔集团公司产;HL-2 恒流泵(DT1),上海沪西分析仪器厂产。

1.3 实验方法

1.3.1 标准曲线的绘制方法 将牛磺酸标准品配制为质量浓度 1 mg/mL 的母液, 分别向 1[#]—10[#]试管中加入 0.0 mL, 0.1 mL, 0.2 mL, 0.3 mL, 0.4 mL, 0.5 mL, 0.6 mL, 0.7 mL, 0.8 mL, 0.9 mL, 再用蒸馏水分别补齐至 1.0 mL, 每管各做 3 个平行. 再加入 8 mL 乙酸钠和 1.5 mL 显色剂 (1.2 mL 乙酰丙酮和 0.8 mL 甲醛混合均匀后, 用水定容至 40 mL), 用棉塞封住口, 摇匀, 100 °C 水浴 15 min, 冷却至室温, 400 nm 波长处测定各溶液的吸光度. 以牛磺酸质量浓度/(mg · mL⁻¹) 为横坐标, 以吸光度值/Abs 为纵坐标绘制标准曲线^[14-15].

1.3.2 牛磺酸的粗提 准确称取一定质量蛤体, 按 $m(\text{蛤体}) : V(\text{蒸馏水}) = 1 : 1$ 加入蒸馏水, 100 °C 下煮沸 30 min. 待水煮液冷却至室温, 4000 r/min 离心 15 min, 去除水不溶性杂质, 取上清液待用^[16-17]. 采取酶辅助提取方法, 离心后的水煮液中加入蛋白酶粉末, 加入量为底物蛋白含量的 2.5% (质量分数), 调节溶液至最适 pH 值, 40 °C 水浴 3.5 h. 再置于沸水浴中灭酶 10 min, 冷却, 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 用 6 mol/L 的 HCl 调节上清液 pH 值至 3.0, 即有酸性蛋白沉淀, 离心分离, 取上清液; 再用 6 mol/L NaOH 调节上清液 pH 值至 10.0, 即有碱性蛋白沉淀, 离心分离, 取上清液. 将上滴液稀释 10 倍后, 经减压浓缩、冻干后得牛磺酸样品, 测定其提取量和纯度^[3].

1.3.3 酶解提取牛磺酸单因素试验 酶种类对牛磺酸提取量的影响: 分别取 30 mL 水煮液加入 1[#]—5[#]小烧杯中, 称取适量中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶粉末加入 2[#]—5[#]小烧杯中, 加入量为底物蛋白含量的 2.5% (质量分数), 分别调节溶液 pH 值至各酶最适 pH 值附近, 水浴温度为 40 °C, 水浴时间为 3.5 h. 完成后, 沸水浴中灭酶 10 min, 冷

却, 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 研究酶种类对牛磺酸提取量的影响.

酶解温度对牛磺酸提取量的影响: 将水煮液混匀, 称取适量蛋白酶粉末, 加入量为底物蛋白含量的 2.5% (质量分数), 溶液 pH 值调至 8.0, 水浴时间为 3.5 h. 经灭酶、冷却、离心处理后取上清液, 研究不同酶解温度 (30 ~ 50 °C) 对牛磺酸提取量的影响.

酶解 pH 值对牛磺酸提取量的影响: 将水煮液混匀, 称取适量蛋白酶粉末, 加入量为底物蛋白含量的 2.5% (质量分数), 水浴温度为 40 °C, 水浴时间为 3.5 h. 经灭酶、冷却、离心处理后取上清液, 研究不同酶解 pH 值 (7.0 ~ 11.0) 对牛磺酸提取量的影响.

酶解时间对牛磺酸提取量的影响: 将蛤水煮液混匀, 称取适量蛋白酶粉末, 加入量为底物蛋白含量的 2.5% (质量分数), 将溶液 pH 值调至 9.0, 水浴温度为 40 °C. 经灭酶、冷却、离心处理后取上清液, 研究酶解时间 (3.0 ~ 5.0 h) 对牛磺酸提取量的影响.

1.3.4 正交试验法优化酶解提取牛磺酸工艺参数 在单因素试验的基础上, 选用适宜蛋白酶进行酶解提取牛磺酸, 再以酶解温度/°C, 酶解 pH 值和酶解时间/h 为变量因素, 设计三因素三水平的正交试验 (见表 1), 确定酶解最优工艺参数.

1.3.5 电渗析对酶解提取牛磺酸纯化效果的影响 将酶解后的 5 L 蛤水煮液用盐酸调节 pH = 5 后注入淡室, 将 5 L 质量分数为 0.25% ~

表 1 牛磺酸提取量的正交试验各因素水平表

Table 1 Various factors of orthogonal test in taurine yield

水平	酶解温度 A/°C	酶解 pH 值 B	酶解时间 C/h
1	35	7.0	3.5
2	40	8.0	4.0
3	45	9.0	4.5

1.00%的NaCl溶液注入浓室,将5 L蒸馏水注入极室,电压电流调节旋钮归0.控制浓水室、淡水室流量为400~600 L/h,极水室流量为100~200 L/h.待稳定后,调节电压逐渐至10 V,运行5 min后,继续调节电压至20 V,控制电流在10 A以下.随着脱盐过程的进行,电流逐渐下降,每隔5 min记录电流的大小,直至电流不再变化.待物料脱盐结束后,将旋钮调节到电压/电流为0,再关闭整流器和各水泵^[18].将电渗析后的稀释液经减压浓缩、冻干后获得牛磺酸样品,测定牛磺酸纯度和回收率.

1.3.6 离子交换树脂对酶解提取牛磺酸纯化效果的影响 将酶解和电渗析后的蛤水煮液进行阳离子交换柱纯化处理,阳离子交换树脂质量分别为80 g,120 g,160 g,200 g,上样量为1 mL,将溶液流速设定为5 mL/min,每一管停留时间为2 min,收集100管并对其进行1[#]—100[#]编号.收集完成后,根据溶液吸光度(450 nm)判断试管中流出液浓度大小.检测完成后,将每批次收集的牛磺酸浓度较高的流出液合并进行减压浓缩,冷冻干燥后测定其纯度和回收率.

1.3.7 牛磺酸的结晶与重结晶 在结晶反应中浓缩是一个很重要的因素:当溶液浓度过低时,加入3倍体积质量分数为95%乙醇后不能使牛磺酸达到过饱和状态,因此不易析出;当溶液浓度过高时,加入3倍体积质量分数为95%乙醇后溶液中其他组分物质同样达到过饱和,随牛磺酸一同析出,使得牛磺酸纯度降低.经过实测,最终选定浓缩至原体积的2/5.将酶解和电渗析后的5 L蛤水煮液浓缩至原体积的2/5后,加入3倍体积的质量分数95%的乙醇,4℃下醇沉24 h,吸出上清液,将结晶取出,60℃烘干,得到粗品牛磺酸,测定其含量.取10 g粗品牛磺酸,复溶至相同浓度后,再次加入3倍体积的质量分数为95%的乙醇进行重结晶,在4℃

下醇沉24 h,测量其含量.

1.4 计算方法

$$\text{牛磺酸提取量} = \frac{(A - 0.0592) \times V \times n}{0.819m_f}$$

式中, A 为吸光度, V 为蛤水煮液体积/L, n 为稀释倍数, m_f 为新鲜蛤质量/kg.

$$\text{回收率} = \frac{m_{f_1}}{m_{f_2}} \times 100\%$$

式中, m_{f_1} 为提取后总牛磺酸质量/g, m_{f_2} 为提取前总牛磺酸质量/g.

$$\text{牛磺酸纯度} = \frac{m_{f_1}}{m_{f_2}} \times 100\%$$

式中, m_{f_1} 为物质中牛磺酸质量/g, m_{f_2} 为物质总质量/g.

1.5 统计学分析

每个样本测定3次,结果取平均值,采用SPSS 16.0进行显著性分析,差异在0.01水平被认为有组间显著性差异($P < 0.01$).

2 结果与分析

2.1 牛磺酸标准曲线的绘制结果

根据平均吸光度值绘制牛磺酸标准曲线, $y = 0.819x + 0.0592$, $R^2 = 0.9972$,即拟合度趋于1,吸光度与牛磺酸浓度的线性关系良好,能够用于本实验中牛磺酸的定量分析.

2.2 不同酶解条件对牛磺酸提取效果的影响

2.2.1 酶种类对牛磺酸提取量的影响 酶种类对牛磺酸提取量的影响如图1所示(不同字母表示组间有显著性差异($P < 0.01$)).由图1可知,无添加酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶处理组之间有显著性差异($P < 0.01$).其中,经碱性蛋白酶水解后,样品中牛磺酸含量为3.08 g/kg,与无添加酶组相比提高1.72倍.碱性蛋白酶的活性中心为丝氨酸,而蛤类丝氨酸含量较为丰富.因此,相比其他3种蛋白酶,碱性蛋白酶酶解辅助提取蛤水煮液中牛磺酸的效果最佳.后续实验均选用碱

性蛋白酶进行酶解提取牛磺酸。

2.2.2 酶解温度对牛磺酸提取量的影响

酶解温度对牛磺酸提取量的影响如图 2 所示. 由图 2 可知,随着温度的升高,牛磺酸提取量先逐渐上升,在 40 ℃ 时达到最大值 2.11 g/kg. 当温度超过 40 ℃ 后,随着温度的升高,牛磺酸提取量呈逐步下降的趋势. 这是因为当温度升高到一定程度时,除酶促反应速度随之增加外,酶蛋白变性和失活的速度也迅速增加,直至完全丧失活力,因此,随着温度的进一步升高,牛磺酸提取量迅速下降. 综合考虑,酶解温度选取 35 ℃, 40 ℃, 45 ℃ 作为正交试验的 3 个水平.

2.2.3 酶解 pH 值对牛磺酸提取量的影响

酶解 pH 值对牛磺酸提取量的影响如图 3 所示. 由图 3 可知,随着 pH 值的增加,牛磺酸提取量先逐渐上升,当 pH 值为 9.0 时,牛磺酸提取量达到最高值 2.03 g/kg. 当 pH 值大于 9.0

时,随着 pH 值的逐渐上升,牛磺酸提取量迅速下降,这表明酶活力受 pH 值的影响较为明显. pH 值不仅能够影响酶的构象,还影响底物的解离状态. 当溶液 pH 值呈强碱性时,严重抑制了酶的活性,进而抑制牛磺酸的提取. 综合考虑,酶解 pH 值选取 7.0, 8.0, 9.0 作为正交试验的 3 个水平.

2.2.4 酶解时间对牛磺酸提取量的影响

酶解时间对牛磺酸提取量的影响如图 4 所示. 由图 4 可知,酶解时间低于 4.5 h 时,随着酶解时间的延长,牛磺酸提取量逐渐上升,在 4.5 h 时达到最高值 1.91 g/kg. 综合考虑,酶解时间选取 3.5 h, 4.0 h, 4.5 h 作为正交试验的 3 个水平.

2.3 酶解提取牛磺酸工艺参数的优化

由单因素试验可知,酶解温度、酶解 pH 值、酶解时间对牛磺酸提取量均有不同程度的影响,将其作为正交试验的 3 个因素进行后续分析. 正交试验设计与结果见表 2, 方差分析见表 3.

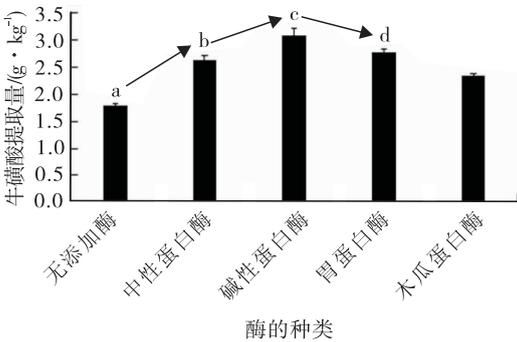


图 1 酶种类对牛磺酸提取量的影响

Fig. 1 Effect of enzyme types on taurine yield

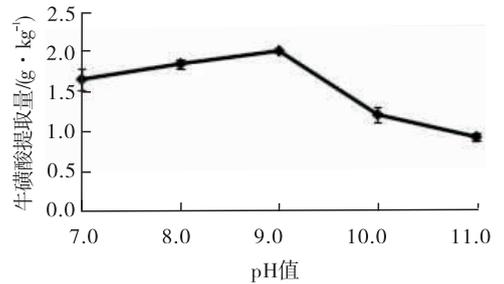


图 3 酶解 pH 值对牛磺酸提取量的影响

Fig. 3 Effect of enzymolysis pH values on taurine yield

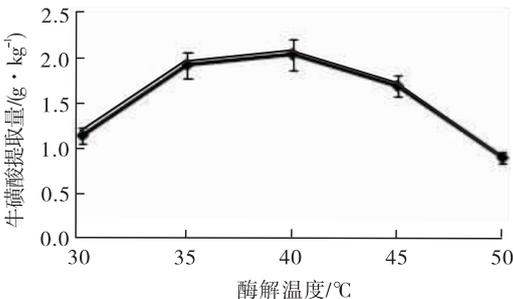


图 2 酶解温度对牛磺酸提取量的影响

Fig. 2 Effect of enzymolysis temperature on taurine yield

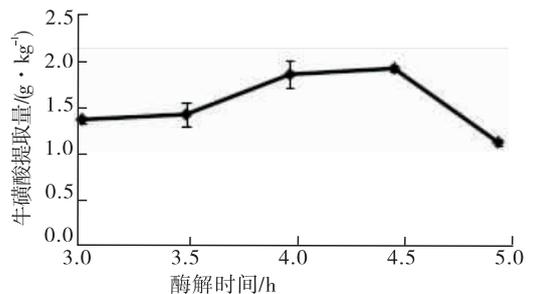


图 4 酶解时间对牛磺酸提取量的影响

Fig. 4 Effect of enzymolysis time on taurine yield

表2 正交试验设计与结果

Table 2 Orthogonal experiment design and result

组号	酶解温度 A	酶解 pH 值 B	酶解时间 C	空列	牛磺酸提取量 / (g · kg ⁻¹)
1	1	1	1	1	1.149
2	1	2	2	2	1.950
3	1	3	3	3	1.032
4	2	1	2	3	2.203
5	2	2	3	1	1.930
6	2	3	1	2	1.656
7	3	1	3	2	2.282
8	3	2	1	3	2.810
9	3	3	2	1	2.262
K_1	4.131	5.634	5.615	5.341	$T = 17.274$
K_2	5.789	6.690	6.415	5.888	
K_3	7.354	4.950	5.244	6.045	$T^2 = 298.39$
R_j	3.223	1.740	1.171	0.704	

表3 方差分析

Table 3 Variance analysis

因素	S	f	均方	F	临界值	显著性
A	1.73	2	0.865	17.3	$F_{0.05}(2,2) = 19.0$	*
B	0.51	2	0.255	5.1	$F_{0.10}(2,2) = 9.0$	
C	0.24	2	0.120	2.4		
误差	0.10	2	0.050			

极差值反映了各因素影响试验指标的主次关系,极差 R_j 越大,该因素变化时对牛磺酸提取率的影响也就越大.由表2可知,3个因素对牛磺酸提取率影响大小依次为:酶解温度 > 酶解 pH 值 > 酶解时间,最佳工艺条件为 $A_3B_2C_1$,即温度 45 ℃,时间 3.5 h, pH = 8.0.由表3可知 $F_A > F_{0.10}(2,2)$,表明因素 A 水平改变对实验结果有较为显著的影响,即从蛤水煮液中提取牛磺酸主要受酶解温度的影响.按最优条件对水煮液进行酶解制备,测得实际酶解产物中牛磺酸纯度为 8.67%,回收率为 95.80%.

2.4 电渗析对酶解提取牛磺酸纯化效果的影响

将酶解后的蛤水煮液经过电渗析处理后,其电流示数随电渗析时间变化的情况如图5所示.在设备运行至 10 min 时,将电压保持在

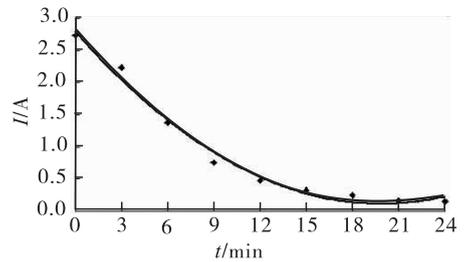


图5 电流示数随电渗析时间变化的情况

Fig. 5 Changes of electric current with electrolysis time

20 V 不再变化,电流示数为 2.73 A,此时开始计时为第 0 min.随着时间的延长,电流不断下降.在第 24 min 时电流降至 0.15 A,且电流示数不再变化.因此,当电压为 20 V,电渗析时间为 24 min 时,样品可达到除盐的目的.经减压浓缩、冻干后测得样品纯度为 21.30%,回收率为 89.59%.在电渗析过程中,由于离子交换膜具有选择透过性,酶解液中的盐类离子在电场的作用下,各自向一定方向移动.淡水室的阴离子透过阴膜进入浓水室,但浓水室内的阴离子不能透过阳膜,故留在浓水室内;阳离子向负极迁移,并通过阳膜进入浓水室,浓水室内的阳离子却不能透过阴膜,故留在浓水室中.因此淡水室中酶解液的盐离子浓度逐渐减小,从而提高了牛磺酸的纯度.

2.5 不同质量的阳离子交换树脂对酶解提取牛磺酸纯化效果的影响

阳离子交换树脂质量对牛磺酸提取量的影响结果见图6.由图6可知,200 g 阳离子交换树脂提取牛磺酸效果最佳.在此条件下,牛磺酸含量为 0.203 mg/g.经进一步计算可得其纯度为 31.18%,回收率为 83.64%.

2.6 牛磺酸的结晶与重结晶纯度

根据 1.3.7 中的方法进行反复乙醇结晶与重结晶能够得到纯度较好的牛磺酸结晶体,经计算测得其结晶纯度为 76.67%,重结晶纯度为 97.28%.

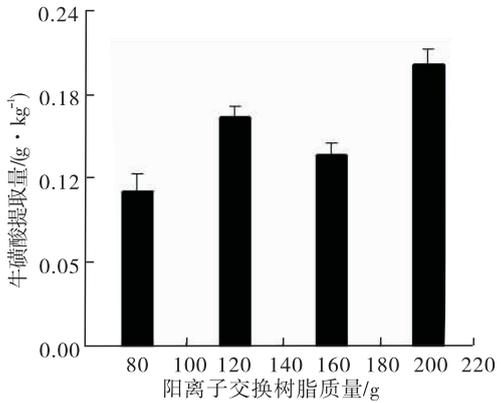


图6 离子交换树脂质量对牛磺酸提取量的影响

Fig. 6 Effect of mass of cation exchange resin on taurine yield

3 结论

以酶辅助提取法从杂色蛤水煮液中提取牛磺酸的过程中,以碱性蛋白酶的酶解效率最优.通过单因素试验与正交试验确定酶解提取牛磺酸最优工艺条件为酶解温度 45 ℃,酶解 pH = 8.0,酶解时间 3.5 h.在该酶解条件下测得牛磺酸样品纯度为 8.67%,回收率为 95.80%;经电渗析脱盐后,样品纯度为 21.30%,回收率为 89.59%;经 200 g 阳离子树脂处理后纯度为 31.18%,回收率为 83.64%;经结晶工艺后纯度达到 76.67%,重结晶后纯度达到 97.28%.本研究在不影响蛤产品生产的前提下,利用副产物蛤水煮液制备天然牛磺酸制品,生产成本低廉,环境友好,可以应用于工业化生产.

参考文献:

[1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2017[M]. 北京:中国农业出版社,2017.

[2] 龚丽芬,陈碧娥,郑志福. 从文蛤提取牛磺酸的工艺[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2003,24(3):300.

[3] 谭乐义,章超桦,薛长湖. 牛磺酸的生物活性及其在海洋生物中的分布[J]. 湛江海洋大学

学报,2000,20(3):75.

[4] 李学梅. 牛磺酸的生理作用[J]. 中国公共卫生,1997,13(7):438.

[5] FRANEONI F, BENNARDINI F, MATTANA A, et al. Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1995, 61(5):1115.

[6] 白小琼,孔德义. 牛磺酸研究进展[J]. 中国食物与营养,2011,17(5):78.

[7] HSU Y W, YEH S M, CHEN Y Y, et al. Protective effects of taurine against alloxan-induced diabetic cataracts and refraction changes in New Zealand white rabbits [J]. Experimental Eye Research, 2012, 103:71.

[8] LIN S, HIRAI S, YAMAGUCHI Y, et al. Taurine improves obesity-induced inflammatory responses and modulates the unbalanced phenotype of adipose tissue macrophages [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2013, 57(12):2155.

[9] HOANG M H, JIA Y, JUN H J, et al. Taurine is a liver X receptor-alpha ligand and activates transcription of key genes in the reverse cholesterol transport without inducing hepatic lipogenesis [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2012, 56(6):900.

[10] NOOR N A, MOHAMMED H S, KHADRAWY Y A, et al. Evaluation of the neuroprotective effect of taurine and green tea extract against oxidative stress induced by pilocarpine during status epilepticus [J]. The Journal of Basic & Applied Zoology, 2015, 72:8.

[11] 周彩荣,梁欢欢,韩雪巍,等. 牛磺酸合成工艺的改进[J]. 化工学报,2015,66(1):171.

[12] SHAO A, HATHCOCK J. Risk assessment for

- the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2008, 50(3):376.
- [13] 何骏. 牛磺酸的工艺路线研究[J]. *浙江化工*, 2001, 32(4):46.
- [14] HUANG C, GUO Y, YUAN J, et al. Dietary taurine impairs intestinal growth and mucosal structure of broiler chickens by increasing toxic bile acid concentrations in the intestine[J]. *Poultry Science*, 2014, 93(6):1475.
- [15] LIU Y, ZHANG Z. Extracted the taurine from the oyster with zymolysis and boiled process[C]// *International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering*. New York:IEEE, 2011:7584.
- [16] 张辉, 管华诗, 赵志强. 长牡蛎中天然牛磺酸的提取[J]. *海洋科学*, 2005, 29(4):1.
- [17] 刘金双, 白利峰, 周颖, 等. 毛蚶中天然牛磺酸的提取及其对果蝇寿命的影响[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(7):182.
- [18] 张建友, 包玉刚, 林龙, 等. 鳀鱼蒸煮液电渗析脱盐技术[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(4):125.

本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国知网、万方数据资源系统、维普网、博看网、超星、中国科技论文在线、中教数据库、91 阅读网等在其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明。



引用格式:李可,刘俊雅,扶磊,等. 动物宰后胴体/肌肉冷却方式研究进展[J]. 轻工学报, 2018,33(1):34-42.

中图分类号:TS251.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.005

文章编号:2096-1553(2018)01-0034-09

动物宰后胴体/肌肉冷却方式研究进展

Research progress on chilling methods of post-mortem carcass for livestock

李可,刘俊雅,扶磊,刘骁,何向丽,栗俊广,张华,白艳红
LI Ke, LIU Junya, FU Lei, LIU Xiao, HE Xiangli, LI Junguang, ZHANG Hua,
BAI Yanhong

郑州轻工业学院 食品与生物工程学院/食品生产与安全河南省协同创新中心/
河南省冷链食品质量安全控制重点实验室,河南 郑州 450001
College of Food and Bioengineering/He'nan Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety/He'nan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:
冷鲜肉;动物胴体;冷却方式;肉品品质

Key words:
chilled fresh meat;
carcass for livestock;
chilling method;
meat quality

摘要:综述了传统冷却方式、喷淋冷却方式、血管注射冷却方式、逐步冷却方式和超快速冷却方式5种常用的动物宰后胴体/肌肉冷却方式研究与应用现状,提出优化宰后胴体/肌肉的冷却方式以降低胴体质量损失、改善肉的嫩度、保证冷鲜肉的品质和降低企业经济成本,仍是该领域的研究热点.开展逐步分段冷却方式和超快速冷却方式对肌肉嫩度影响机制的研究,依据胴体质量和形状,综合考虑不同种类胴体和肌肉纤维类型的差异,对不同冷却方式参数进行调整,并结合应用电刺激、改进包装方式等措施以保证肉品品质与安全,将是该领域未来的发展趋势和主要研究方向.

收稿日期:2017-09-04

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(2016YFD040040304);国家自然科学基金青年科学基金项目(31601492);河南省重大科技专项项目(161100110600,161100110900);河南省高等学校重点科研项目(16A550006);郑州轻工业学院博士科研启动基金项目(2015BSJJ038);郑州轻工业学院校级青年骨干教师培养对象资助计划项目

作者简介:李可(1986—),男,山东省济南市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为肉品加工与质量安全控制.

Abstract: The recent research and application status of chilling methods of post-mortem carcass was summarized, including the conventional chilling, spray chilling, vascular perfusion chilling, stepwise chilling and very fast chilling. Optimizing the chilling methods of post-mortem carcass in order to reduce weight loss of post-mortem carcass, improving the meat tenderness, ensuring meat quality and decreasing economic loss of meat factory have become the research hotspot in this field. Exploring the effect of stepwise chilling and very fast chilling on meat tenderness and potential mechanism, comprehensively considering the differences in carcass types and muscle fibers according to mass and shape of post-mortem carcass, adjusting the parameters of different chilling methods, applying the electrical stimulation and improving the packaging methods to guarantee the meat quality and safety will be the development trend and main research direction in the future.

0 引言

冷鲜肉是我国城乡居民肉类消费的一个重要品类^[1-4],由于动物刚刚屠宰后胴体温度较高,如果不采取措施及时排除胴体内部热量,很难保证肉品的安全和食用品质^[5-6].因此,开展动物宰后胴体/肌肉冷却的相关研究至关重要^[7-8].此外,合理且有效的冷却方式对控制企业经济成本非常重要:一方面,冷却是企业屠宰加工处理中能量消耗最大的环节;另一方面,冷却环节显著影响胴体的质量损失.据 B. Tim 等^[9]保守计算,冷却过程中胴体质量减少带来的经济损失是能耗费用的 17 倍.

动物宰后胴体/肌肉冷却是 HACCP 和 PACCP 体系的关键控制点,也一直是肉品加工行业科技工作者关注的热点之一.已有研究^[10]表明,宰后不恰当的温度变化能够导致肉品食用品质的不可逆损坏.随后, J. W. Savell 等^[11]也综述了胴体各种冷却方式对肉品食用品质的影响.随着近年来畜牧养殖业的迅速发展,以及消费者追求高品质肉品需求的不断增加,关于动物宰后胴体/肌肉冷却方式的研究在国内外又有了新的发展.本文拟对动物宰后胴体/肌肉不同冷却方式的最新研究进展进行综述,以期对动物屠宰加工企业改善冷却系统、提升肉品的食用品质提供理论参考.

1 传统冷却方式

传统冷却方式是指将胴体放置在 0~4℃

(风速 0.2~0.5 m/s,空气相对湿度 90%)的冷却间中,使胴体中心温度达到 0~4℃的冷却过程^[5,7].使用该方式时,通常牛胴体的冷却时间达到 24~48 h,容易造成胴体质量的严重损失.因此,目前屠宰加工企业中胴体冷却参数的制定主要以预防冷收缩的发生为目标.

J. R. Bendall^[12]提出了经典的预防冷收缩规则,即牛胴体的温度在宰后 10 h 内不能降低到 10℃以下. D. J. Troy 等^[13]建议胴体温度在宰后 12 h 内应控制在 12℃以上.有学者研究延迟冷却对胴体/肌肉冷收缩的影响,即将胴体放置于冷却室外或 15~20℃环境一段时间,随后转入 0~4℃常规冷却间,结果表明,延迟冷却能够有效预防肌肉冷收缩的发生,改善肉的嫩度^[14-15].

然而,预防冷收缩的冷却参数仍有很大的局限性,尤其是近几年随着品种选育和饲养条件的改善,饲养业大发展,动物胴体质量逐步增加,北美地区已经较少使用延迟冷却方式.原因是,延迟冷却或僵直期间温度控制不合理容易引起肌肉热收缩,降低肉的保水性和嫩度^[16-18].研究发现,在 15~20℃区间放置的肌肉收缩量最小,可减小肉的硬度的增加量.但长时间放置在 15~20℃下,胴体或热剔骨肉容易出现微生物甚至致病菌的生长繁殖^[19-21].因此,根据胴体重量或热剔骨方式选择合理的冷却程序(温度、湿度、风速),才能保证肉品的安全和食用品质^[22-24].

2 喷淋冷却方式

喷淋冷却方式是将0~4℃冷水通过喷淋设备雾化成细小液滴,喷射在胴体上的过程.在肉类屠宰加工企业中,传统冷却方式易使胴体表面发生蒸发和干燥,造成胴体质量的严重损失,在北美地区胴体质量损失为0.75%~2.00%,而在英国为1.2%~1.7%^[25].为了控制胴体失重,保证肉品安全,喷淋冷却逐渐被广泛应用于北美、欧洲等地的肉屠宰加工流程中^[26-28].

C. S. Prado等^[25]报道了两种冷却方式对牛胴体质量的影响:一种为冷却48 h,风速2.0 m/s,并且在宰后6 h内每间隔10 min喷淋2℃水30 s;另一种为冷却48 h,风速2.0 m/s,并且在宰后12 h内转入10℃冷却,然后再转入0℃冷却,喷淋条件与前者一致.结果发现,经两种方式喷淋冷却后,胴体质量损失分别为-0.28%和0.34%.E. Wiklund等^[28]研究发现喷淋冷却鹿胴体6 h后,胴体质量损失小于0.01 kg,而传统冷却处理的胴体损失为1 kg.同时,喷淋冷却方式对鹿肉的嫩度和保水性没有影响.这与先前报道喷淋传统冷却后牛胴体质量损失比传统冷却低0.19%的结果基本一致^[26].

喷淋冷却胴体的效果主要取决于冷水喷淋的程序(循环次数、时间),在保证降低胴体干耗的同时,应考虑喷淋冷却引起的空气湿度增大对肉品外观、嫩度和微生物增长的影响^[29-30].另外,喷淋冷却过程还应防止胴体质量过度增加,因此有些国家/地区禁止使用喷淋冷却方式^[31].

3 血管注射冷却方式

血管注射冷却方式是在动物放血后利用血管这一传导通道,将预冷水或低浓度冷盐水输

送至深层肌肉内部来达到迅速冷却的目的.血管注射预冷水冷却牛、羊胴体作为一种新的快速冷却方法,能够有效预防由深层肌肉温度较高和pH值下降过快而引起的蛋白质变性及肉品嫩度和保水性的劣化.

B. Tim等^[9]报道了应用血管注射冰浆来加快冷却羊胴体的方法.使用该冷却方式,羊胴体深层肌肉的温度降至20℃所需的时间从以往的2.6 h缩短至1.3 h.Y. Wang等^[32]研究发现,血管注射冷却方式使胴体背最长肌温度降至10℃所需时间从以往的9.9 h缩短到5.5 h.

然而,水的添加对肉的外观和质构特性产生了不利影响.因此,仍需进一步研究,以优化血管注射方式在肉屠宰加工企业的应用.

4 逐步冷却方式

逐步冷却方式又称多段式冷却,是指先将胴体温度快速冷却到10~15℃,然后控制温度恒定一段时间,在此温度下肌肉进入僵直阶段,最后转至0~4℃冷却24 h.目前,已有关于应用逐步冷却方式处理猪胴体的研究报道,认为逐步冷却方式不仅能够改善肉的嫩度并保持良好的保水性,还可以抑制产品表面的微生物生长^[33-34].与牛肉和羊肉不同,宰后早期猪肉在低温下不易发生冷收缩.所以宰后初期快速冷却可降低猪胴体的温度和减缓pH值的下降速率,减少猪的肌肉PSE的发生.多段式冷却方式能够更好地保证猪肉的品质,主要基于以下几个原因:1)在僵直阶段保持适宜的温度既能保证僵直期间肌肉的收缩程度最小,又使宰后肌肉蛋白质水解程度最大^[19];2)良好的宰前管理能有效降低猪肉PSE的发生率^[35];3)糖原酵解的速率在15℃时与4℃时是相同的^[36].然而,S. D. Shackelford等^[37]发现,早期快速冷却对猪背腰肉的嫩度产生负面作用,与其他的研究^[38-39]报道不一致.其原因可能是现

代基因选育的不同品质猪肉影响了冷却速率。因此,应该关注现代饲养加工变化趋势,调整冷却速率,以免猪肉品质下降对企业造成经济损失。另外, M. Therkildsen 等^[40]研究了逐步冷却($-22.8\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3.9 m/s , 52 min ; $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 6 h ; $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2 h)结合盆骨吊挂和成熟处理等方式有效解决有机猪肉品质较差的问题。

R. A. Bowling 等^[41]较早报道了逐步冷却对牛胴体品质的影响。结果发现,与常规冷却($-7\text{ }^{\circ}\text{C}$, 24 h)相比,将牛胴体在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻 5 h ,然后在 $16\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 4 h ,最后在 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 15 h 的冷却,获得了较大的肌节长度、较小的剪切力值和较高的嫩度感观评分,且有效降低了胴体干耗失分,增加了大理石花纹评分。然而,目前鲜有研究多段式冷却方式对牛肉品质的影响的报道,这可能与牛胴体宰后早期超低的冷却温度条件很难在屠宰加工企业实施有关。前期快速冷却速率可以显著降低胴体的水分损失,抑制肉表面微生物的生长,但通常也认为容易导致牛肉发生冷收缩,成熟贮藏也难以改善肉的嫩度。L. Zhu 等^[42]研究发现,应用快速冷却($(-14 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$, 风速 3 m/s , 2 h)的同时必须结合电刺激处理,才可以有效预防冷收缩发生。另外,当胴体在较低温度快速冷却时,由于饲养育肥的牛体重较大、脂肪厚度增加,容易使内外层肌肉之间产生温度差。因此,在进行冷却参数设计时,需进一步关注宰后温度对牛胴体重要部位肌肉嫩度影响的规律。最近, Y. Liu 等^[43]研究设计了黄牛胴体的逐步冷却方法:先快速冷却(温度 $(-11 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$, 风速 0.5 m/s) 2 h ,然后停止冷却(风速 0 m/s)直到宰后 10 h ,保证牛背最长肌在 $12\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下进入尸僵,然后转至 $(1 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ (风速 0.5 m/s)冷却到宰后 48 h 。结果表明,该逐步冷却方式可以有效改善黄牛肉嫩度,缩短成熟时间。僵直前期 $12\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度控制的逐步冷却程序结合盆骨吊挂

技术,既能满足尽可能缩短胴体冷却时间、减少胴体质量损失的要求,也能提供最佳的肉品品质,可在商业化屠宰企业中推广应用^[44]。此外,如何将逐步冷却方式与宰后电刺激、吊挂、成熟处理等方式相结合,以改善各种肉类的品质,也值得进一步探讨。

5 超快速冷却方式

超快速冷却方式是指在宰后 5 h 内,肌肉温度从 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 迅速降低至 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或 $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[45-46]。该冷却方式的特点是将处于僵直前期的肌肉温度降低到冰点附近。欧盟较早地研究并应用超快速冷却方式,以预防肌肉冷收缩的发生,降低微生物生长与胴体干耗,缩短胴体冷却时间并保证肉的嫩度^[45]。

J. L. Aalhus 等^[47]应用超快速冷却($-20\text{ }^{\circ}\text{C}/-35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 风速 2.32 m/s)方式处理加拿大一级牛胴体,冷却时间为 $3\sim 10\text{ h}$ 。结果表明,即使牛胴体温度没有严格达到超快速冷却条件,但与常规冷却相比,该冷却方式足以保证牛肉的嫩度并缩短成熟时间,提高牛肉大理石花纹的评定等级。超快速冷却具有减少冷却时间、增加产品出转率、降低肌肉冷收缩和水分损失等潜在优势,是对经典预防肌肉冷收缩发生准则的挑战。该冷却方式与食用品质保证关键控制点中 pH - 温度 - 时间窗口理论存在不一致性。因为超快速冷却迅速经过肌肉易发生冷收缩的温度区间,使肌肉未发生冷收缩现象,而且能提高肉的食用品质^[48-50]。

J. J. Sheridan 等^[50]研究认为骨骼的牵引和表面的“硬化”(表面迅速冻结和肌肉固定)对肌节收缩起到物理性限制,从而减少僵直过程的肌节收缩。R. L. Joseph^[45]研究报道了超快速冷却使肌肉处在较高的 pH 值和较低温度条件下,使僵直早期肌浆中 Ca^{2+} 浓度增大,进而激活 Calpains 酶并促进蛋白酶降解骨架蛋白,因

此可改善肉的嫩度,同时克服由于过度收缩而增加肌肉硬度的不良影响.然而关于超快速冷却方式介导的物理效应与生物化学酶活性对肉嫩度的贡献度仍需进一步研究.V. M. Moeske等^[51]研究了不同超快速冷却方式(-20/-25℃,3 m/s或3.4% NaCl,-2℃)对牛肉品质的影响,结果发现,超快速冷却增加了肌浆Ca²⁺浓度,肌节发生过度收缩导致牛半键肌肉的嫩度降低,但Ca²⁺浓度增加并未促进Calpains酶活性水平和肌肉骨架蛋白质的降解.

近几年,关于超快速冷却方式对肉嫩度影响及其机制的研究正逐步成为热点.R. Jacob等^[48]研究了不同超快速冷却速率(1.5 h后肌肉温度为2.6℃,5.5 h后肌肉温度至0.7℃,1.5 h后肌肉温度至-1.6℃,5.5 h后肌肉温度至-2.3℃)对羊肉嫩度的影响,结果表明,经过超快速冷却,羊肉温度在宰后1.5 h内必须降至0℃以下才能保证良好的嫩度.A. M. Fernández等^[14]研究发现,超快速冷却(-20℃,3.5 h)能够使羊肉的肌节长度缩短至1.1 μm,远小于常规冷却处理组,但客观测定剪切力值和主观感官评定的嫩度与常规冷却组差异不显著.K. Li等^[52]研究了超快速冷却(-21℃,3 h)对牛肉嫩度的影响,结果表明,宰后1 d的牛肉肌节长度过度缩短,但牛肉的剪切力值与常规冷却(14℃,10 h)无差异;超快速冷却使肌原纤维产生挛缩带并使冰晶破坏肌原纤维,从而改善肉的嫩度.但在成熟贮藏时超快速冷却处理组的成熟速率最低且汁液损失最大.M. P. Neto等^[53]研究了不同冷却方法和热剔骨对牛背最长肌肉的品质影响,结果发现,与常规冷却(0℃,24 h)相比,超快速冷却(-20℃,2 m/s,3.5 h)至肉表面微冻,宰后1 d的牛肉肌节长度并未缩短,各个处理组剪切力值没有差异,但在成熟后期肌节长度缩短至约为1.23 μm.超快速冷却处理抑制了成熟

过程中的嫩化,增加了肉的硬度与汁液损失.通过以上研究发现,超快速冷却对肉成熟过程中嫩度的影响具有不一致性.K. Li等^[52]借助透射电镜观察肌原纤维超微结构,有效解释了肌节虽然过度收缩,但成熟初期并未降低肉嫩度的原因;R. Jacob等^[48]研究发现,超快速冷却(宰后1.5 h后肌肉温度降至-1.6℃)使肌肉表面冷冻,肌肉内能量代谢缓慢耗尽,肌原纤维之间产生的张力使肌原纤维被物理性破坏,从而加快肉的嫩化.但超快速冷却组与常规组的肌钙蛋白-T和Desmin降解并没有差异.该学者认为,肌肉表面冷冻只起到部分物理性限制作用,主要是通过优化超快速冷却肌肉的时间和温度产生了嫩化效果,很可能存在其他嫩化机制.最近,R. D. Warner等^[54]研究发现经超快速冷却的羊肉糖原酵解代谢过程中IMP含量增加,引起肌动蛋白-肌球蛋白交联桥弱化,从而改善了肉的嫩度.A. L. Sikes等^[55]研究发现,超快速冷却对热剔骨牛肉的嫩化主要基于超快速冷却使沿着肌纤维方向的结构改变,并不是由牛肉成熟过程中蛋白质降解速率加快引起的.

尽管以上研究提出了不同的肌肉嫩化机理,但关于超快速冷却嫩化肌肉的机制仍不完全清楚.超快速冷却方式对肌节的收缩、钙激活酶活性、肌原纤维蛋白质降解和糖原酵解代谢的影响是相互关联的:一方面,-2~2℃的区域温度对肌肉代谢具有不确定性,尤其是超快速冷却对宰后早期肌肉糖原酵解速率与程度影响差异较大;另一方面,动物本身存在个体差异,且不同的研究部位、大小、品种、基因和宰前运输状态等也是影响因素,尤其是牛、羊存在胴体大小与质量的差异,肌肉类型和表面冷冻限制能力不同.但超快速冷却方式与传统的预防冷收缩方式规则不同,具有巨大的优势,值得进一步研究.另外,目前超快速冷却方式已经成功应用于热剔骨肌肉和小胴体的冷却,且无需考

考虑胴体的干耗问题,这使其具有广阔的发展前景.

6 结语与展望

本文通过综述宰后动物胴体/肌肉不同冷却方式的研究进展,发现必须快速降低宰后动物胴体/肌肉的温度,才能有效抑制微生物生长、降低胴体干耗,从而保证肉品品质.其中,喷淋冷却方式虽可有效降低胴体质量损失,但是容易引起其他感官问题;逐步冷却方式的温度控制与肌肉间温度平衡是关键,否则过高的温度会导致热收缩发生;超快速冷却方式必须严格控制宰后肌肉的冷却时间和温度,在僵直前期使肌肉温度达到冰点以下,以此来保证肉的嫩度,同时应考虑其对肉品保水性、颜色等的影响.不同的动物胴体/肌肉冷却方式对肉嫩度的影响取决于温度下降速率对僵直过程肌肉收缩和蛋白质降解程度的影响.有效地减少宰后肌肉收缩量,且提高内源蛋白酶活性,是优化屠宰工业冷却温度条件、改善肉嫩度的基础.然而,这同某些研究结果并不一致,例如:Ca²⁺的作用是两方面的,既促进肌节收缩(降低嫩度),又激活蛋白酶(改善嫩度),因而其对肉嫩度的影响效果是模棱两可的.另外,由于现代基因工程与动物生产系统的改善,胴体质量与形状发生巨大变化,必须对不同冷却方式的参数进行调整,综合考虑肉品安全、不同种类胴体和肌肉纤维类型的差异,及时调整冷却程序,并结合应用电刺激、改进包装方式等措施,以保证肉品食用品质.

参考文献:

[1] 周光宏,罗欣,徐幸莲,等.肉品加工学[M].北京:中国农业出版社,2008.

[2] SUN X D, HOLLEY R A. Antimicrobial and antioxidative strategies to reduce pathogens and extend the shelf life of fresh red meats [J].

Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2012, 11(4):340.

[3] ZHOU G H, XU X L, LIU Y. Preservation technologies for fresh meat—A review [J]. Meat Science, 2010, 86(1):119.

[4] COOMBS C E O, HOLMAN B W B, FRIEND M A, et al. Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations—A review [J]. Meat Science, 2017, 125:84.

[5] REID R, FANNING S, WHYTE P, et al. The microbiology of beef carcasses and primals during chilling and commercial storage [J]. Food Microbiology, 2016, 61:50.

[6] YUAN H B K, WARNER R D, ROSENVOLD K. Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality—A review [J]. Animal Production Science, 2014, 54(4):375.

[7] BELLÉS M, ALONSO V, RONCALÉS P, et al. A review of fresh lamb chilling and preservation [J]. Small Ruminant Research, 2017, 146:41.

[8] ZHOU G, ZHANG W, XU X. China's meat industry revolution: Challenges and opportunities for the future [J]. Meat Science, 2012, 92(3):188.

[9] TIM B, IAN R R, CAROLANN W, et al. Vascular perfusion chilling of red meat carcasses—A feasibility study [J]. Meat Science, 2009, 83(4):666.

[10] FERGUSON D M, BRUCE H L, THOMPSON J M, et al. Factors affecting beef palatability—Farmgate to chilled carcass [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2001, 41(7):879.

[11] SAVELL J W, MUELLER S L, BAIRD B E. The chilling of carcasse [J]. Meat Science, 2005, 70(3):449.

[12] BENDALL J R. The influence of rate of chilling

- in the development of rigor and cold-shortening. Pages 3. 1 – 3. 6 in meat chilling—Why and how? [M]. Langford: Meat Research Institute, 1972.
- [13] TROY D J, KERRY J P, JOO S T, et al. Consumer perception and the role of science in the meat industry [J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 214.
- [14] FERNÁNDEZ A M, VIEIRA C. Effect of chilling applied to suckling lamb carcasses on hygienic, physicochemical and sensory meat quality [J]. *Meat Science*, 2012, 92(4): 569.
- [15] 罗欣, 周光宏. 电刺激和延迟冷却对牛肉食用品质的影响 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(1): 188.
- [16] KIM Y, STUART A, NYGAARD G, et al. High pre-rigor temperature limits the ageing potential of beef that is not completely overcome by electrical stimulation and muscle restraining [J]. *Meat Science*, 2012, 91(1): 62.
- [17] WARNER R D, DUNSHEA F R, GUTZKE D, et al. Factors influencing the incidence of high rigor temperature in beef carcasses in Australia [J]. *Animal Production Science*, 2014, 54(4): 363.
- [18] ROSENVOLD K, NORTH M, DEVINE C, et al. The protective effect of electrical stimulation and wrapping on beef tenderness at high pre-rigor, temperatures [J]. *Meat Science*, 2008, 79(2): 299.
- [19] HUFF L E, ZHANG W, LONERGAN S M. Biochemistry of postmortem muscle-lessons on mechanisms of meat tenderization [J]. *Meat Science*, 2010, 86(1): 184.
- [20] LENAHAN M, O'BRIEN S B, KINSELLA K. Assessment of lamb carcass hygiene before and after chilling at five Irish abattoirs [J]. *Food Control*, 2010, 21(3): 313.
- [21] RUBIO B, VIEIRA C, MARTÍNEZ B, et al. Effect of different post mortem temperatures on carcass quality of suckling lamb [J]. *Food Science & Technology International*, 2013, 19(4): 351.
- [22] SALES D C, URBANO S A, BORGES K C, et al. Cheese yield in Brazil: State of the art [J]. *Food Science and Technology*, 2016, 36(4): 563.
- [23] MILIOS K T, DROSINOS E H, ZOIPOULOS P E. Food safety management system validation and verification in meat industry: carcass sampling methods for microbiological hygiene criteria—A review [J]. *Food Control*, 2014, 43(8): 74.
- [24] POPHIWA P, WEBB E C, FRYLINCK L. Meat quality characteristics of two South African goat breeds after applying electrical stimulation or delayed chilling of carcasses [J]. *Small Ruminant Research*, 2016, 145: 107.
- [25] PRADO C S, FELÍCIO P E D. Effects of chilling rate and spray-chilling on weight loss and tenderness in beef strip loin steaks [J]. *Meat Science*, 2010, 86(2): 430.
- [26] KINSELLA K J, SHERIDAN J J, ROWE T A, et al. Impact of a novel spray-chilling system on surface microflora, water activity and weight loss during beef carcass chilling [J]. *Food Microbiology*, 2006, 23(5): 483.
- [27] TITTOR A W, TITTOR M G, BRASHEARS M M, et al. Effects of simulated dry and wet chilling and aging of beef fat and lean tissues on the reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* [J]. *Journal of Food Protection*, 2011, 74(2): 289.
- [28] WIKLUND E, KEMP R M, LEROUX G J, et al. Spray chilling of deer carcasses—Effects on carcass weight, meat moisture content, purge and

- microbiological quality [J]. *Meat Science*, 2010, 86(4):926.
- [29] GREIG J D, WADDELL L, WILHELM B, et al. The efficacy of interventions applied during primary processing on contamination of beef carcasses with *Escherichia coli*: A systematic review-meta-analysis of the published research [J]. *Food Control*, 2012, 27(2):385.
- [30] DE MELLO A S, RINGKOB T P, YEH Y. Effects of long spray-chilling on water pocket development in ribeyes [J]. *Meat Science*, 2017, 129:185.
- [31] SAMPAIO G S L, PFLANZER-JUNIOR S B, ROÇA R D O, et al. Effects of polyethylene film wrap on cooler shrink and the microbial status of beef carcasses [J]. *Meat Science*, 2015, 100:164.
- [32] WANG Y, MCGINNIS D S, SEGADO R R, et al. Vascular infusion of beef carcasses: Effects on chilling efficiency and weight change [J]. *Food Research International*, 1995, 28(4):425.
- [33] ROSENVOLD K, BORUP U, THERKILDSEN M. Stepwise chilling: Tender pork without compromising water-holding capacity [J]. *Journal of Animal Science*, 2010, 88(5):1830.
- [34] ROSENVOLD K, BORUP U. Stepwise chilling adapted to commercial conditions-improving tenderness of pork without compromising water-holding capacity [J]. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 2011, 61(3):121.
- [35] BARBUT S, SOSNICKI A A, LONERGAN S M, et al. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat [J]. *Meat Science*, 2008, 79(1):46.
- [36] KYLÄ-PUHJU M, RUUSUNEN M, PUOLANNE E. Activity of porcine muscle glycogen debranching enzyme in relation to pH and temperature [J]. *Meat Science*, 2005, 69(1):143.
- [37] SHACKELFORD S D, KING D A, WHEELER T L. Chilling rate effects on pork loin tenderness in commercial processing plants [J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(8):2842.
- [38] LIU N, LIU R, HU Y, et al. Influence of rapid chilling on biochemical parameters governing the water-holding capacity of pork longissimus dorsi [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2015, 50(6):1345.
- [39] XU Y, HUANG J C, HUANG M, et al. The effects of different chilling methods on meat quality and calpain activity of pork muscle longissimus dorsi [J]. *Journal of Food Science*, 2012, 77(1):C27.
- [40] THERKILDSEN M, KRISTENSEN L, KYED S, et al. Improving meat quality of organic pork through post mortem handling of carcasses: An innovative approach [J]. *Meat Science*, 2012, 91(2):108.
- [41] BOWLING R A, DUTSON T R, SMITH G C, et al. Effects of cryogenic chilling on beef carcass grade, shrinkage and palatability characteristics [J]. *Meat Science*, 1987, 21(1):67.
- [42] ZHU L, GAO S, LUO X. Rapid chilling has no detrimental effect on the tenderness of low-voltage electrically stimulated *M. longissimus* in Chinese bulls [J]. *Meat Science*, 2011, 88(3):597.
- [43] LIU Y, MAO Y, ZHANG Y, et al. Pre-rigor temperature control of Chinese yellow cattle carcasses to 12 ~ 18 °C during chilling improves beef tenderness [J]. *Meat Science*, 2015, 100:139.
- [44] LIU Y, MAO Y, LIANG R, et al. Effect of suspension method on meat quality and ultrastructure of Chinese yellow cattle under 12 ~ 18 °C pre-rigor temperature controlled chilling [J]. *Meat Science*, 2016, 115:45.

- [45] JOSEPH R L. Very fast chilling of beef and tenderness—A report from an EU concerted action [J]. *Meat Science*, 1996, 43S1(12):217.
- [46] RONCALES P. Very fast chilling of beef: Muscle to meat—An introductory review [J]. *Very Fast Chilling in Beef*, 1998, 2:1.
- [47] AALHUS J L, ROBERTSON W M, MER D, et al. Very fast chilling of beef carcasses [J]. *Canadian Veterinary Journal La Revue Veterinaire Canadienne*, 2002, 82(1):59.
- [48] JACOB R, ROSENVOLD K, NORTH M, et al. Rapid tenderisation of lamb *M. longissimus*, with very fast chilling depends on rapidly achieving sub-zero temperatures [J]. *Meat Science*, 2012, 92(1):16.
- [49] JAIME I, BELTRAN J A, CENA P, et al. Tenderisation of lamb meat: Effect of rapid postmortem temperature drop on muscle conditioning and aging [J]. *Meat Science*, 1992, 32(4):357.
- [50] SHERIDAN J J. The ultra-rapid chilling of lamb carcasses [J]. *Meat Science*, 1990, 28(1):31.
- [51] MOESEKE V M, SDE S, CLAEYS E, et al. Very fast chilling of beef: Effects on meat quality [J]. *Meat Science*, 2001, 59(1):31.
- [52] LI K, ZHANG Y, MAO Y, et al. Effect of very fast chilling and aging time on ultra-structure and meat quality characteristics of Chinese yellow cattle *M. Longissimus lumborum* [J]. *Meat Science*, 2012, 92(4):795.
- [53] NETO M P, BERAQUET N J, CARDOSO S. Effects of chilling methods and hot-boning on quality parameters of *M. longissimus lumborum* from *Bos indicus* Nelore steer [J]. *Meat Science*, 2013, 93(2):201.
- [54] WARNER R D, JACOB R H, ROSENVOLD K, et al. Altered post-mortem metabolism identified in very fast chilled lamb *M. longissimus thoracis et lumborum* using metabolomic analysis [J]. *Meat Science*, 2015, 108:155.
- [55] SIKES A L, JACOB R, D'ARCY B, et al. Very fast chilling modifies the structure of muscle fibres in hot-boned beef loin [J]. *Food Research International*, 2017, 93:75.



引用格式:孙淑敏,周超,吴琼,等.三嗪基共价有机骨架/石墨烯复合材料的合成及其电化学性能研究[J].轻工学报,2018,33(1):43-48.

中图分类号:O631.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.006

文章编号:2096-1553(2018)01-0043-06

三嗪基共价有机骨架/石墨烯复合材料的合成及其电化学性能研究

Study on synthesis and electrochemical performance of triazine-linked covalent organic framework/graphene composite

孙淑敏,周超,吴琼,王培远

SUN Shumin, ZHOU Chao, WU Qiong, WANG Peiyuan

关键词:

三嗪基共价有机骨架;石墨烯;超级电容器;电化学性能

郑州轻工业学院材料与化学工程学院,河南郑州450001
College of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry,
Zhengzhou 450001, China

Key words:

triazine-linked covalent organic framework;
graphene;
supercapacitor;
electrochemical performance

摘要:以对苯二腈、氧化石墨烯(GO)为原料,通过简单离子热的方法合成三嗪基共价有机骨架/石墨烯(CTFs/G)复合材料,并将其用作超级电容器电极材料,通过电化学工作站对其电化学性能进行了分析.结果表明:CTFs/G复合材料具有较好的倍率特性,表现出优良的电化学性能,在0.2 A/g的电流密度下,其比电容可以达到372 F/g,高于CTFs材料的166 F/g,经1000次循环后其比电容仍维持在168 F/g,循环稳定性较好.

收稿日期:2017-09-20

基金项目:国家自然科学基金项目(21301159);河南省教育厅重点项目(15A150083)

作者简介:孙淑敏(1980—),女,河南省封丘县人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为功能材料.

通信作者:王培远(1979—),男,河南省南乐县人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为电化学电极材料.

Abstract: With phthalonitrile, graphene oxide (GO) as raw material, triazine-linked covalent organic framework/graphene composite was synthesized by a simple ion thermal method. As supercapacitor electrode material, the electrochemical performance of the CTFs/G composites was analyzed by electrochemical workstation. The results showed that the CTFs/G composites had good rate capability and excellent electrochemical performance. The composites displayed specific capacitance of 372 F/g at current density of 0.2 A/g, which is much higher than that of pure CTFs (166 F/g). It could be remained at 168 F/g after 1000 cycles, and the cycle stability was good.

0 引言

共价有机骨架 COFs (covalent organic frameworks) 材料是一类通过可逆反应合成的由共价键结合的有机多孔材料,这类材料具有独特的优异性能,且合成方法多样,在气体吸附与分离^[1-2]、光电^[3-5]、催化^[6]、生物分子吸附^[7]等方面有广泛的应用价值。但是,由热力学可逆反应形成 COFs,化学稳定性欠佳,限制了此类物质在某些领域特别是其作为电化学电极材料方面的应用。

最近,一类新型的三嗪基共价有机骨架 (CTFs) 材料引起了人们的关注^[8-10],原因是其本身含有的三嗪骨架赋予了材料较好的热稳定性和耐酸碱性能,具有比传统 COFs 材料更广泛的应用前景。但 CTFs 材料的导电性较低,限制了其作为电化学电极材料的应用。石墨烯因其具有极强的导电性、超大的比表面积等优点在传感器^[11-12]、电池材料^[13-15]和超级电容器电极材料^[15-17]等领域都受到重视。因此,将石墨烯及其衍生物添加到 CTFs 材料中势必会改善其电化学性能。

本文拟以对苯二腈和氧化石墨烯 (GO) 为原料,通过简单离子热的方法合成 CTFs/G 复合材料,并研究其用作超级电容器电极材料的电化学性能,以期合成性能优异的超级电容器电极材料提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂:对苯二腈、无水氯化锌 (ZnCl_2),

均为分析纯,百灵威科技有限公司产;鳞片石墨 (1000 目),南京先丰纳米材料科技有限公司产;无水乙醇(分析纯),天津市风船化学试剂科技有限公司产;四氢呋喃 (THF) (分析纯),天津市光复科技发展有限公司产;泡沫镍(工业品),太原力源锂电科技中心产;聚四氟乙烯 PTFE(工业品),上海阿拉丁生化科技股份有限公司产;科琴黑(工业品),上海翠科化工有限公司产。

主要仪器:D8 Advance 型 X 射线衍射仪 (XRD),Bruker Tensor 27 型傅立叶变换红外光谱仪 (FT-IR),德国 Bruker 产;JSM-6490LV 型扫描电子显微镜,日本电子公司产;CHI660E 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 三嗪基共价有机骨架/石墨烯复合材料的合成 于氩气保护的手套箱内称取 2.72 g ZnCl_2 , 0.256 g 对苯二腈和 0.0512 g GO,研磨均匀后,将其转入一端封闭的玻璃管抽真空,用酒精喷灯熔封,于马弗炉中 400 °C 加热反应 40 h 得到黑色固体,研磨成粉末后于 200 mL 稀盐酸(质量分数 5%)中搅拌洗涤 24 h,过滤,再先后用水和 THF 洗两三次,过滤并于 100 °C 下真空干燥,得到三嗪基共价有机骨架/石墨烯复合材料 CTFs/G。在相同的条件下,不加入 GO 可以得到纯三嗪基 CTFs 材料。

1.2.2 材料的表征 所得产物采用 XRD 和 FT-IR 进行结构表征;采用 SEM 观察样品形貌;使用电化学工作站对材料进行电化学性能测试。

2 结果与讨论

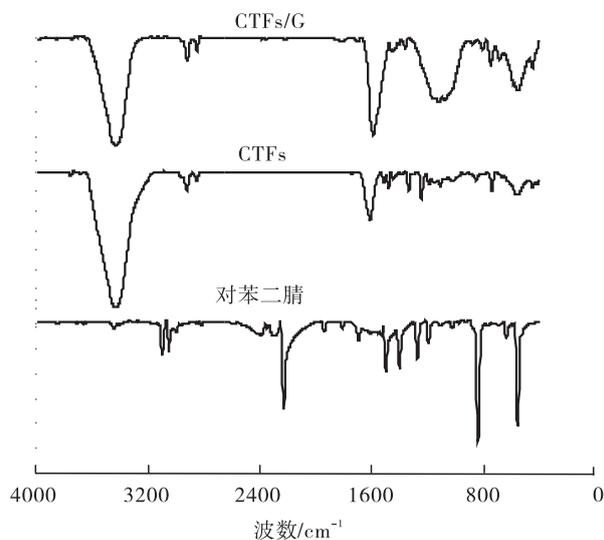
2.1 CTFs/G 复合材料的结构分析

图 1 为材料的 FT-IR 谱图和 XRD 谱图. 由图 1a) 可以看出, 对苯二腈中位于 2226 cm^{-1} 的 $\text{C}\equiv\text{N}$ 键吸收峰在 CTFs 材料和 CTFs/G 复合材料中都彻底消失, 证明原料聚合完全. CTFs/G 复合材料中 2924 cm^{-1} 处的峰为石墨烯和 CTFs 苯环中的 $\text{C}-\text{H}$ 特征峰, 1513 cm^{-1} 和 1344 cm^{-1} 处的特征峰证明了 CTFs 复合材料中三嗪环结构的生成. CTFs/G 复合材料在 1625 cm^{-1} 附近的吸收峰相对于纯 CTFs 材料明显增强, 这应归功于石墨烯中 $\text{C}=\text{C}$ 键的贡献, 并且在 $1000\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 处出现一个宽峰, 这应归功于石墨烯中苯环的 $\text{C}-\text{H}$ 键、少量的 $\text{C}-\text{O}$ 键和 $\text{C}=\text{O}$ 键的贡献. 以上数据表明石墨烯与 CTFs 成功复合.

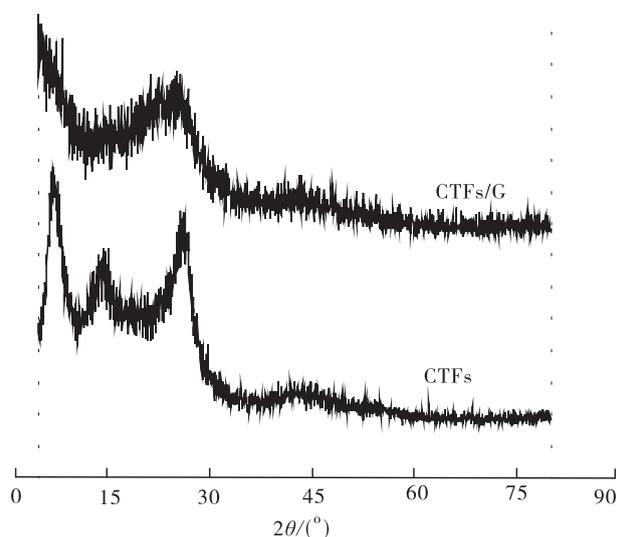
由图 1b) 可以看出, CTFs 材料在 7.1° , 14.4° 和 26.2° 出现了 (100), (110) 和 (001) 晶面衍射峰^[10], 这表明该材料为有序的多孔二维结构, 且存在由三嗪环连接而成的六边形芳香单元. 由于石墨烯也是层状堆积结构, 其在 $2\theta = 26^\circ$ 左右也有一个特征峰, 因而得到的 CTFs/G 复合材料在此处的衍射峰加强, 其他衍射峰相对减弱, 这也证明了 CTFs 材料与石墨烯已成功复合.

2.2 CTFs/G 复合材料的形貌分析

图 2 为 CTFs 材料和 CTFs/G 复合材料的 SEM 图. 由图 2 可以看出, 合成的 CTFs 材料表现出 $100\text{ }\mu\text{m}$ 左右的不规则块状形貌, 表面较为平整, CTFs/G 复合材料较纯 CTFs 材料更蓬松, 结构由 $100\text{ }\mu\text{m}$ 左右的大块状变为较小的碎块状, 这是由石墨烯片层和 CTFs 材料的片层结构相互叠加或者边缘处卷曲造成的, 较小的颗粒和边缘处的卷曲结构将有助于 CTFs/G 复合材料电化学性能的提高.



a) FT-IR谱图



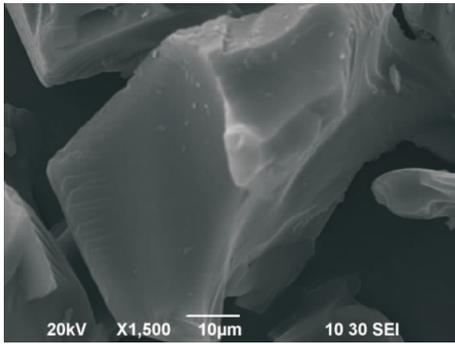
b) XRD谱图

图 1 材料的 FT-IR 谱图和 XRD 谱图

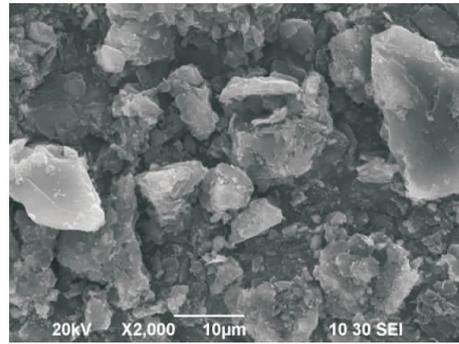
Fig. 1 FT-IR spectra and XRD pattern of the materials

2.3 CTFs/G 复合材料电化学性能考察

图 3 为 CTFs 材料和 CTFs/G 复合材料在 20 mV/s 扫描速度下的循环伏安曲线和 CTFs/G 复合材料在不同扫描速度下的循环伏安曲线. 由图 3a) 可以看出, CTFs 材料和 CTFs/G 复合材料的循环伏安曲线都近似矩形, 这表明两种材料都具有较好的电容性质; 且 CTFs/G 复合材料的循环伏安曲线面积是 CTFs 材料的 2 倍左右, 这说明 CTFs/G 复合材料具有较大的



a) CTFs材料



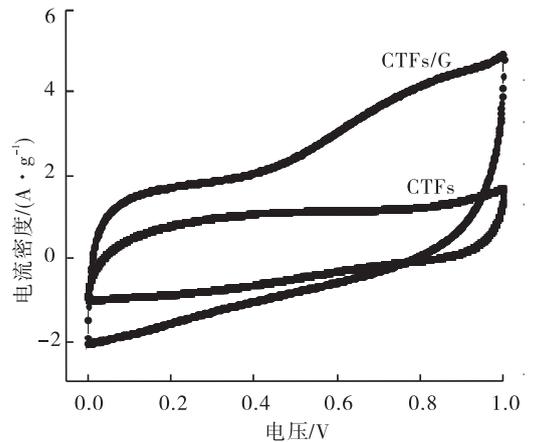
b) CTFs/G复合材料

图2 CTFs材料和CTFs/G复合材料的SEM图

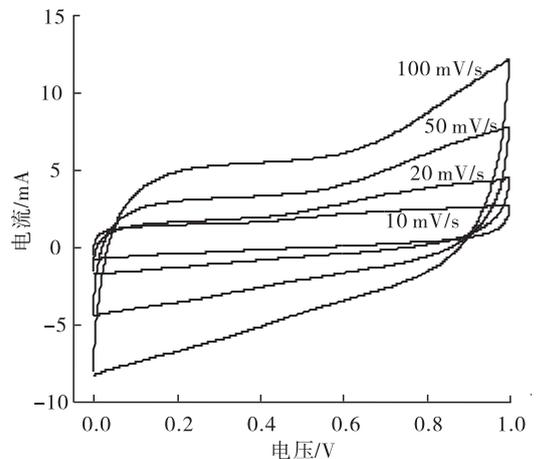
Fig.2 SEM images of CTFs and CTFs/G

比电容. 由图3b)可以看出,在不同的扫描速率下,CTFs/G复合材料的循环伏安曲线几乎保持了相同的形状,且在每次电压逆转时电流都能快速地响应,说明该材料具有优异的电化学电容性质;随着循环伏安扫描速率增加,CTFs/G复合材料循环伏安曲线面积依次增加,这表明该材料具有较好的倍率特性.

为了更好地了解CTFs材料和CTFs/G复合材料作为电极材料的电容性能,笔者对其进行了恒流充放电测试. 图4a)为合成材料在0.2 A/g电流密度下的恒流充放电曲线,从图中显示的数据可以计算出在0.2 A/g电流密度下CTFs材料的比电容为166 F/g,而相同电流密度下CTFs/G复合材料的比电容达372 F/g. 图4b)为CTFs/G复合材料在不同电流密度下的恒流充放电曲线,从中显示的数据可以计算出在0.2 A/g,0.5 A/g,1.0 A/g和2.0 A/g的电流密度下,CTFs/G复合材料的比电容分别为372 F/g,185 F/g,180 F/g和174 F/g,显而易见,其优异的倍率特性来源于其本身的结构和其中石墨烯优良的导电性. 图4c)为合成材料在0.2 A/g电流密度下的循环稳定性曲线,从中可以看出,CTFs/G复合材料在前20次循环比电容明显下降,20次以后至1000次比电容基本没有下降,一直维持在168 F/g左右. 相同



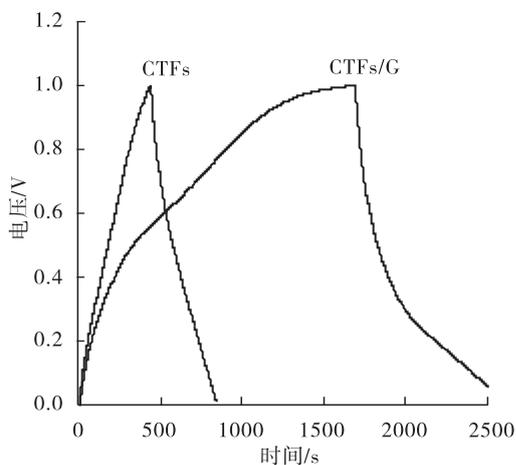
a) CTFs材料和CTFs/G复合材料在20 mV/s扫描速度下的循环伏安曲线



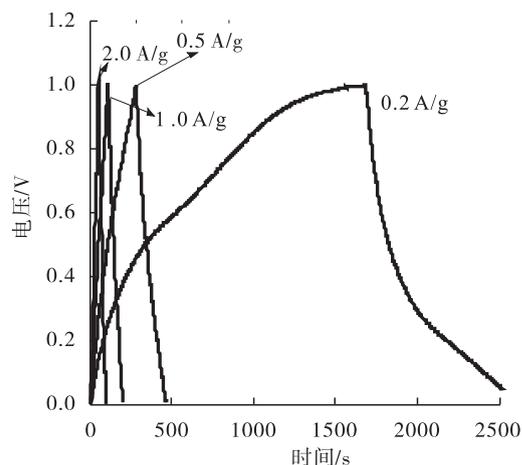
b) CTFs/G复合材料在不同扫描速度下的循环伏安曲线

图3 CTFs材料和CTFs/G复合材料的循环伏安曲线

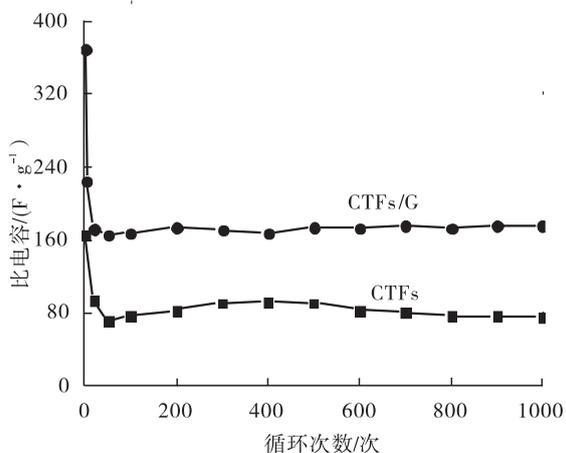
Fig.3 CV curves of CTFs and CTFs/G material



a) CTFs材料和CTFs/G复合材料在0.2 A/g电流密度下的恒流充放电曲线



b) CTFs/G复合材料在不同电流密度下的恒流充放电曲线



c) CTFs材料和CTFs/G复合材料在0.2 A/g电流密度下的循环稳定性曲线

图4 合成材料的恒流充放电曲线和循环稳定性曲线

Fig. 4 Galvanostatic charge/discharge curves of synthesised materials

条件下 CTFs 材料表现了相似的性质,其最终比电容维持在 78 F/g 左右. 这些结果表明,所合成的 CTFs/G 复合材料具有较好的电化学性能,这正是石墨烯对 CTFs 表现出来的良好的电化学性能起到了促进作用.

3 结论

本文通过简单离子热的方法合成 CTFs/G 复合材料,并将其用作超级电容器电极材料. 通过电化学工作站对其电化学性能进行分析发现,在 0.2 A/g 的电流密度下,CTFs/G 复合材料的比电容可达到 372 F/g,高于纯 CTFs 材料的 166 F/g,经 1000 次循环后其比电容仍维持在 168 F/g,表现出较好的倍率特性和循环稳定性. 该研究扩展了 COFs 在电极材料方面的应用,其方法为电极材料的研制提供了成功的范例和很好的参考.

参考文献:

- [1] FURUKAWA H, YAGHI O M. Storage of hydrogen, methane, and carbon dioxide in highly porous covalent organic frameworks for clean energy applications[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(25): 8875.
- [2] LIU Y, WU S, WANG G, et al. Control of porosity of novel carbazole-modified polytriazine frameworks for highly selective separation of CO₂-N₂[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2014, 2(21): 7795.
- [3] PATWARDHAN S, KOCHERZHENKO A A, GROZEMA F C, et al. Delocalization and mobility of charge carriers in covalent organic frameworks[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011, 115(23): 11768.
- [4] WAN S, GANDARA F, ASANO A, et al. Covalent organic frameworks with high charge carrier mobility[J]. *Chemistry of Materials*, 2011, 23

- (18): 4094.
- [5] HUANG N, DING X, KIM J, et al. A photore sponsive smart covalent organic framework [J]. *Angewandte Chemie*, 2015, 127(30): 8828.
- [6] DING S Y, GAO J, WANG Q, et al. Construction of covalent organic framework for catalysis: Pd/COF-LZU1 in Suzuki-Miyaura coupling reaction [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(49): 19816.
- [7] WANG P, KANG M, SUN S, et al. Imine-linked covalent organic framework on surface for biosensor [J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2014, 32(9): 838.
- [8] BHUNIA A, DEY S, BOUS M, et al. High adsorptive properties of covalent triazine-based frameworks (CTFs) for surfactants from aqueous solution [J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(3): 484.
- [9] 孙淑敏, 王培远, 吴琼. 共价有机骨架材料应用研究进展 [J]. *轻工学报*, 2016, 31(3): 21.
- [10] CHAN THAW C E, VILLA A, PRATI L, et al. Triazine-based polymers as nanostructured supports for the liquid-phase oxidation of alcohols [J]. *Chemistry—A European Journal*, 2011, 17(3): 1052.
- [11] NOVOSELOV K, GEIM A K, MOROZOV S, et al. Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene [J]. *Nature*, 2005, 438(7065): 197.
- [12] CAMPOS B B, CONTRERAS-CÁCERES R, BANDOSZ T J, et al. Carbon dots as fluorescent sensor for detection of explosive nitrocompounds [J]. *Carbon*, 2016, 106: 171.
- [13] 李健, 官亦标, 傅凯, 等. 碳纳米管与石墨烯在储能电池中的应用 [J]. *化学进展*, 2014, 26(7): 1233.
- [14] FANG H, ZHAO L, YUE W, et al. Facile and large-scale preparation of sandwich-structured graphene-metal oxide composites as anode materials for Li-ion batteries [J]. *Electrochimica Acta*, 2015, 186: 397.
- [15] GEORGAKILAS V, TIWARI J N, KEMP K C, et al. Noncovalent functionalization of graphene and graphene oxide for energy materials, biosensing, catalytic and biomedical applications [J]. *Chem Rev*, 2016, 116(9): 5464.
- [16] SHAO Y L, EI-KADY M F, WANG L J, et al. Graphene-based materials for flexible supercapacitors [J]. *Chem Soc Rev*, 2015, 44(11): 3639.
- [17] 徐驰, 朱和国. 石墨烯的制备及其在能源方面的应用研究进展 [J]. *材料科学与工程学报*, 2016, 34(2): 326.



引用格式:张肖静,陈涛,傅浩强.土壤中重金属有效态汞的快速检测[J].轻工学报,2018,33(1):49-55.

中图分类号:X703.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.007

文章编号:2096-1553(2018)01-0049-07

土壤中重金属有效态汞的快速检测

Quick detection of heavy metal absorbable mercury in soil

张肖静,陈涛,傅浩强

ZHANG Xiaojing, CHEN Tao, FU Haoqiang

关键词:

土壤重金属污染;
有效态汞;重金属检测;
空心碳球/聚苯胺;电
化学传感器

郑州轻工业学院 材料与化学工程学院/中国轻工业环境污染治理与资源化重点
实验室,河南 郑州 450001

*Key Laboratory of Pollution Treatment and Resource of National Light Industry/College of
Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001,
China*

Key words:

heavy metal pollution in
soil; absorbable
mercury; heavy metal
detection; hollow
carbon nanospheres/
polyaniline;
electrochemical biosensor

摘要:分别采用 DTPA, EDTA 和 HCl 3 种提取剂对土壤中的重金属有效态汞进行提取,选择提取率最高的作为提取剂.另外,制备了空心碳球/聚苯胺复合材料,将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器,并对土壤中的有效态汞进行检测.结果表明,3 种提取剂中, DTPA 对土壤中有有效态汞的提取率最高,为 20% ~ 31%;该化学传感器能够准确、灵敏地检测土壤中的有效态汞含量,与采用原子荧光法的测定结果相比,两个实际样品的相对误差分别为 2.32% 和 2.71%.

收稿日期:2017-09-28

基金项目:国家自然科学基金项目(41701569);科研基地建设——河南省环境污染治理与生态修复协同创新中心项目

作者简介:张肖静(1986—),女,河南省开封市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为环境污染治理新技术.

Abstract: DTPA, EDTA and HCl extractants were used to extract heavy metal absorbable mercury in the soil, by comparison, the highest extraction rate of the extractant DTPA was chosen. Then, the hollow carbon nanospheres/polyaniline composite was prepared. The composite was made into a DNA-modified hollow carbon nanospheres/polyaniline electrochemical sensor and the absorbable mercury in the soil was detected. The results showed that DTPA had the highest extraction rate of absorbable mercury in the soil from 20% to 31%. And the chemical sensor could detect the absorbable mercury content in soil accurately and sensitively. Compared with the results of atomic fluorescence spectrometry, the relative errors between the two actual samples were 2.32% and 2.71%, respectively.

0 引言

土壤是地球生态系统重要的组成部分,近年来快速发展的工业化与城市化加重了土壤中重金属的积累.土壤中的重金属元素通过食物链等途径进入人体,威胁人体健康^[1-2].重金属污染对粮食作物的安全生产构成严重影响. A. Tessier 等^[3]将土壤中重金属的形态分为水溶态、交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机物结合态和残渣态.以水溶态和交换态存在的重金属可被植物直接吸收,被称为生物有效态,是重金属对植物产生危害的主要来源^[4],能够更准确地反映土壤的污染情况及其对人体潜在的危害性.因此,土壤中重金属有效态的提取与检测对评价土壤污染状况和解决土壤重金属污染问题至关重要.

目前,提取土壤中重金属有效态广泛应用的方法是化学试剂提取法.该法操作简单、设备要求低,常用的提取剂有 DTPA, EDTA, HCl 等^[5-8],各种提取剂对不同重金属的提取效率不同.对于土壤中重金属的测定,一般采用原子荧光法、原子吸收法和近年来发展起来的电化学分析法等^[9-10].电化学分析法采用将具有 T—T 键的 DNA 序列负载在某种材料上制成的电化学传感器,与 Hg^{2+} 接触后错配杂交生成 T— Hg^{2+} —T,通过引起电化学信号的改变检测 Hg^{2+} ,具有灵敏度高、检测迅速、可重复利用等优点^[11-12].然而,目前关于利用电化学传感器检测土壤中有效态汞的研究尚未见报道.

鉴于此,本文在多种提取剂中选择提取率较高的提取剂对土壤样品中的有效态汞进行提取,进而制备空心碳球/聚苯胺复合材料,并将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器对土壤中的有效态汞进行测定,以期实现对土壤重金属毒性的快速检测与评价.

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

主要试剂: DTPA, $CaCl_2$, TEA, EDTA, HCl, 均为优级纯,阿拉丁试剂有限公司产;采用上述试剂分别配制 3 种提取剂: DTPA 溶液(0.005 mol/L 的 DTPA, 0.01 mol/L 的 $CaCl_2$ 和 0.1 mol/L 的 TEA 3 种溶液,按体积比 1:1:1 混合之后,调 pH 为 7.3)、EDTA 溶液(0.05 mol/L)和 HCl 溶液(0.1 mol/L);土壤样品,购自中国环境监测局;5'-CCCCCCCCCCC TTCTTTCT-TCCCCTTGTTTGTT-3' DNA 序列^[13],购自 SBS 基因公司;汞标准储备液(100 mg/L),环境保护部标准样品研究所产.

100 nmol/L DNA 溶液的配制:量取 10 μ L 10 000 nmol/L 的 DNA 溶液,加入 990 μ L PBS 缓冲溶液(pH = 7.40)进行稀释,即可得到 100 nmol/L 的 DNA 溶液.于 4 $^{\circ}C$ 下保存.

仪器:AL204 型电子天平,上海精密仪器有限公司产;KQ500 型超声清洗仪,昆山超声仪器有限公司产;X3R 型离心机,美国 Thermo Fisher Scientific 公司产;NC5044 型微波消解仪、

AFS9700 型双道原子荧光光度计,北京科创海光仪器有限公司产;DZKW 型电热恒温水浴锅,上海科析有限公司产;SZCL-2A 型数显智能控温磁力搅拌,巩义市予华仪器有限公司产;CHI660E 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产;JSM-6490LV 型扫描电镜,JEM-2100 型透射电镜,日本电子株式会社产.

1.2 空心碳球/聚苯胺复合材料的制备

空心碳球/聚苯胺复合材料的制备按如下步骤进行.

1)将 3 mL 质量分数为 28% 的氨水加入到 10 mL 超纯水与 70 mL 无水乙醇的混合液中,将混合物搅拌 30 min.

2)在 30 °C 条件下,每隔 10 min 分别向上述混合物中加入 2.8 mL 正硅酸乙酯、0.4 g 间苯二酚和 0.56 mL 甲醛(质量分数 35% ~ 37%),之后将混合液剧烈搅拌 24 h,在 100 °C 水热釜中静态保持 24 h.

3)将水热釜中的液体离心分离,收集上清液于 100 °C 下干燥 8 h,之后在 750 °C 下加热 1 h(流动 N₂ 保护,加热速率 5 °C/min),得到 SiO₂@C 材料,将其置于 0.1 mol/L 的 HF 中浸泡过夜,得到空心碳球.

4)将 80 μL 的苯胺加入到浓度为 2.0 mol/L 的 20 mL HCl 溶液中,在该混合溶液中加入 30 mg 的空心碳球,搅拌 30 min. 加入浓度为 0.1 mol/L 的 10 mL 过硫酸铵溶液,室温下搅拌 12 h.

5)将得到的产品用去离子水和无水乙醇反复清洗、离心,干燥后得到空心碳球/聚苯胺复合材料.

1.3 空心碳球/聚苯胺复合材料溶液的配制

称取制备好的空心碳球/聚苯胺复合材料 0.5 mg 放置于 100 mL 的小烧杯中,加入去离子水 50 mL,超声 30 min 以上,使其分散均匀,即可得到浓度为 10 mg/L 的空心碳球/聚苯胺复合材料溶液.

1.4 结构表征和电化学性能测试

采用红外光谱仪、扫描电子显微镜和透射电子显微镜对空心碳球/聚苯胺复合材料进行表征.通过电化学工作站对提取后的有效态汞进行电化学测试.采用三电极体系进行电化学交流阻抗(EIS)测试:工作电极为金电极,电解液为 5 mmol · L⁻¹ 的 K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆]溶液,测试范围为 1 mHz ~ 1 MHz, EIS 图谱采用 Zview 2 软件进行分析.

1.5 有效态汞的提取与测定

提取步骤:称取干燥的过 20 目筛的标准土样 1 g 置于 50 mL 的塑料离心管中,加入提取剂 25 mL,在 25 °C 条件下振荡 3 h,离心 15 min 后过滤,滤液定容为 100 mL,作为待测样品溶液.每种土壤样品均采用 3 种不同的提取剂分别提取,对于同一种提取剂进行 3 次实验,提取量与提取效率选取 3 次实验的平均值.

本文实验分别采用原子荧光分光光度计和电化学工作站两种方法测定土壤中的有效态汞,并比较两种检测方法的差异性.对于原子荧光法,在对提取土壤中有有效态汞后,量取 5 mL 样品溶液置于 50 mL 的容量瓶中,分别加入 2.5 mL HCl 和 10 mL 硫脲-抗坏血酸,用超纯水定容至刻度后混合均匀,放置 30 min 后按照仪器的使用说明步骤测定样品溶液的浓度.对于电化学方法,在制备出空心碳球/聚苯胺复合材料并检测其形貌特征后,将金电极浸泡在 10 mg/L 的空心碳球/聚苯胺复合材料溶液中,之后在 DNA 溶液里浸泡 3 h 接上 DNA 序列,最后在待测样品溶液中浸泡 2 h,用电化学工作站测定其交流阻抗(EIS),根据电化学信号和标准曲线计算样品溶液的浓度.

2 结果与讨论

2.1 不同提取剂对土壤中有有效态汞提取结果的影响

采用 3 种常用的提取剂,在相同条件下对

4种土壤样品分别进行有效态汞提取,提取结果如表1所示.4个样品分别取自不同的土壤类型(栗钙土 GSS-2,石灰岩土壤 GSS-4,黄土壤 GSS-5,棕漠土 GSS-19),土壤样品中的汞含量也各不相同,因此,实验结果具有较好的代表性和普遍适用性.

由表1可知,3种提取剂对各土壤样品有效态汞的提取效率不同.采用EDTA对4种土壤样品进行提取后,均没有检测到 Hg^{2+} .这可能是因为提取量太低,超出了仪器的检出限.可见,EDTA在本文实验条件下对土壤中的有效态汞没有提取效果.HCl对4种土壤样品仅能够提取出部分有效态汞,虽然提取效果比EDTA稍好,但提取率均低于10%,效果较差.在3种提取剂中,提取效果最好的为DTPA溶液,对于不同的土壤样品其对有效态汞的提取率均高于20%,这在已有的研究成果中是比较高的^[14-16].之前的研究表明^[17],DTPA提取剂是一种较好的替代剂,提取效率较高,能够将大部分的有效态代换下来.

在本文的实验条件下,DTPA的提取率最高,且对4种土壤样品的提取效果相差不大,误差较小.因此,本文采用DTPA作为提取剂提取土壤中的有效态汞,进行后续的测定研究.

2.2 空心碳球/聚苯胺复合材料的结构分析

空心碳球/聚苯胺复合材料的IR谱图如图1所示.由图1可以看出,762 cm^{-1} 处的吸收峰为苯环的特征吸收峰.3442 cm^{-1} 处的吸收峰则表明材料中含有—N—H官能团.在波数为

1135 cm^{-1} 处较强的吸收峰为—C—NH₂的特征吸收峰.此外,在波数为1623 cm^{-1} 处较强的吸收峰则是共轭—C=N—和—C=C—的特征吸收峰.在波数为1485 cm^{-1} 处中等程度的吸收峰为苯基的特征吸收峰.由此可见,在复合材料中聚苯胺含有较多的短线结构,同时也说明其含有较多聚苯胺的端官能团.由图1可知,本文制备的空心碳球/聚苯胺复合材料含有聚苯胺和空心碳球所含的官能团的特征吸收峰.

2.3 空心碳球/聚苯胺复合材料的形貌分析

分别采用SEM和TEM对空心碳球和空心碳球/聚苯胺复合材料的形貌结构进行表征,结果如图2所示.由图2a)—b)可以看出,空心碳球为表面光滑的球状体,在负载聚苯胺之后,表面变得粗糙,且直径明显变大,球体颗粒之间开始黏着.由图2c)—d)可以看出,空心碳球是完好地球状结构,空心,在负载聚苯胺之后,碳球完好地保持了其球状结构,仍然为空心,但表面附着了一圈絮状物质聚苯胺.图2的分析结果说明,制备的材料为空心碳球和聚苯胺的复合体,该材料为空心、球状、表面粗糙且比表面积较大,这有利于与溶液中的 Hg^{2+} 充分接触并吸附,进而使 Hg^{2+} 与材料上负载的DNA序列中的T—T键结合形成T— Hg^{2+} —T,能够灵敏地检测到 Hg^{2+} .

2.4 电化学传感器对土壤中有效态汞的检测结果

为了验证该传感器对有效态汞的检测能

表1 不同提取剂对土壤中有有效态汞的提取结果

Table 1 Extraction results of different extractants for absorbable mercury in soil

土壤样品	汞含量/ ($mg \cdot g^{-1}$)	EDTA		HCl		DTPA	
		提取量/ ($mg \cdot g^{-1}$)	提取率/%	提取量/ ($mg \cdot g^{-1}$)	提取率/%	提取量/ ($mg \cdot g^{-1}$)	提取率/%
GSS-2	0.015	0	0	0.000 5	3.54	0.004 6	30.66
GSS-4	0.590	0	0	0.049 0	1.49	0.170 0	28.81
GSS-5	0.290	0	0	0.016 0	5.72	0.071 0	24.48
GSS-19	0.013	0	0	0.000 4	2.77	0.004 0	30.77

力,分别检测不同浓度的 Hg^{2+} (0.01 ng/L, 0.1 ng/L, 0.5 ng/L, 1 ng/L, 5 ng/L, 10 ng/L) 的交流阻抗值,电化学阻抗谱(EIS)如图3所示。 Hg^{2+} 溶液采用汞标准储备液稀释得到。由图3可以看出,随着 Hg^{2+} 浓度的变大,电阻也随之增大,导电性显著降低。

将不同浓度 Hg^{2+} 溶液的 EIS 结果采用 Zview 解析软件进行处理,得到各种浓度 Hg^{2+}

溶液所对应的 ΔR_{ct} 值,以 Hg^{2+} 浓度的对数值为横坐标, ΔR_{ct} 值为纵坐标作图,并拟合得到标准曲线,如图4所示。拟合之后得到直线方程为 $Y = 259.49X + 537.74$, 方程的 R^2 为 0.99, 说明该直线线性相关性较好。由该方程可求出,该电化学传感器对 Hg^{2+} 的最低检出限为 0.0085 ng/L。因此,以空心碳球/聚苯胺复合材料为载体的电化学传感器具有较好的电化学性能和灵敏性。

得到标准曲线后,对土壤实际样品中的有效态汞进行检测。首先根据 1.5 的步骤采用

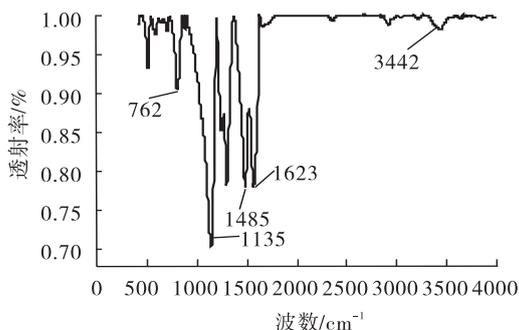


图1 空心碳球/聚苯胺复合材料的 IR 谱图

Fig. 1 IR image of hollow carbon nanospheres/polyaniline composite material

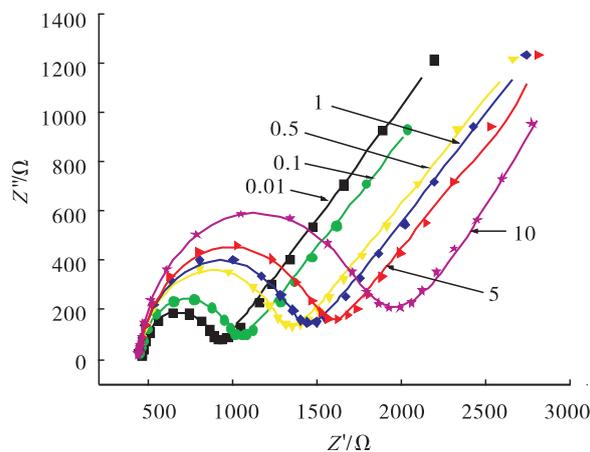
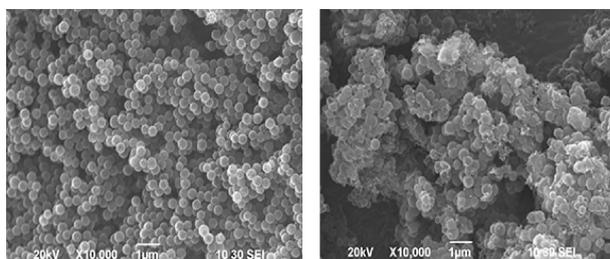


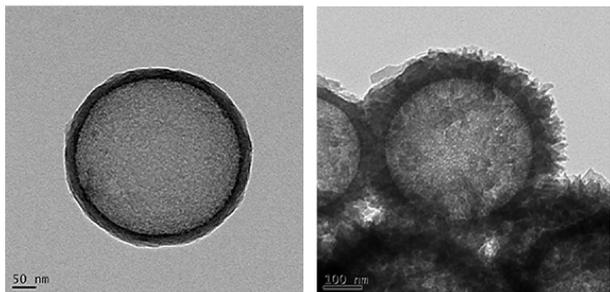
图3 DNA 修饰的空心球/聚苯胺电化学传感器检测不同浓度 Hg^{2+} 的 EIS 图

Fig. 3 EIS images of detection for Hg^{2+} by DNA modified hollow carbon nanospheres/polyaniline electrochemical biosensor



a) 空心碳球的SEM图

b) 复合材料的SEM图



c) 空心碳球的TEM图

d) 复合材料的TEM图

图2 空心碳球和空心碳球/聚苯胺复合材料的 SEM 图和 TEM 图

Fig. 2 SEM and TEM results of hollow carbon nanospheres and hollow carbon nanospheres/polyaniline composite material

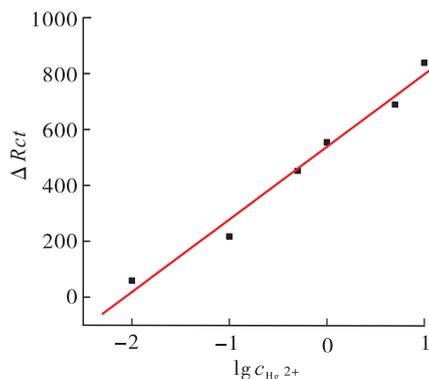


图4 Hg^{2+} 检测的标准曲线

Fig. 4 Standard curve for Hg^{2+} detection

DTPA 提取剂对土壤样品 GSS - 2 和 GSS - 19 中的有效态汞进行提取,得到土壤样品溶液.将样品溶液 GSS - 2 稀释 10 倍,GSS - 19 稀释 5 倍,分别用原子荧光分光光度计和电化学工作站对其进行检测,最后比较两种方法测得的结果.图 5 为用经 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺传感器测定土壤样品中有效态汞的 EIS 图.由图 5 可以看出,金电极具有十分优良的导电性,测量土壤样品中有效态汞后,金电极的电阻增大,导电性显著降低.使用 Zview 软件对两个样品的 EIS 结果进行解析处理,再结合直线方程 $Y = 259.49X + 537.74$,可得出土壤中的有效态汞的浓度为分别为 0.427 0 ng/L 和 2.165 2 ng/L,与采用原子荧光分光光度计测定得到的汞离子的浓度 0.431 0 ng/L 和 2.225 7 ng/L 相比,相对误差分别为 2.32% 和 2.71%.可以看出,采用两种方法对两个实际土壤样品中有效态汞测定得到的浓度差别不是很大,说明该电化学传感器准确性较好.而电化学传感器相比传统方法更加灵敏,能够实现土壤样品中有效态汞的快速检测.

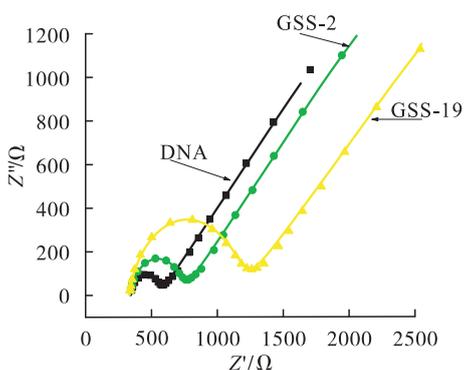


图 5 电化学传感器检测实际样品的 EIS 图
Fig. 5 EIS images of actual samples by the electrochemical biosensor

3 结论

本文首先研究了 3 种提取剂(DTPA, EDTA 和 HCl)对土壤中的重金属有效态汞的提取效

果,另外制备了空心碳球/聚苯胺复合材料,并将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器,利用该传感器对土壤中的重金属有效态汞进行检测,主要结论如下.

1) DTPA 对土壤中有效态汞的提取效率最高,为 20% ~ 31% ;

2) DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器具有较好的电化学性能,可以快速、准确地检测土壤中的有效态汞,与采用原子荧光法的测定结果相比,两个实际样品的相对误差分别为 2.32% 和 2.71% .

本文的研究结果有助于快速检测分析土壤重金属污染的现状和危害,可为土壤污染治理和生态修复提供论指导.

参考文献:

- [1] 张小敏,张秀英,钟太洋,等.中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究[J].环境科学,2014,35(2):692.
- [2] 樊霆,叶文玲,陈海燕,等.农田土壤重金属污染状况及修复技术研究[J].生态环境学报,2013,22(10):1727.
- [3] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals [J]. Analytical Chemistry, 1979, 51(7):844.
- [4] 任丽英,赵敏,董玉良,等.两种铁氧化物对土壤有效态汞的吸附作用研究[J].环境科学学报,2014,34(3):749.
- [5] KIM E J, JEON E K, BAEK K. Role of reducing agent in extraction of arsenic and heavy metals from soils by use of EDTA [J]. Chemosphere, 2016, 152:274.
- [6] MEERS E, SAMSON R, TACK F M G, et al. Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by phaseolus vulgaris [J]. Environmental and

- Experimental Botany,2007,60(3):385.
- [7] SORIANO-DISLA J M, GÓMEZ I, NAVARRO-PEDREÑO J, et al. Evaluation of single chemical extractants for the prediction of heavy metal uptake by barley in soils amended with polluted sewage sludge[J]. Plant and Soil,2010,327(1/2):303.
- [8] BEGUM Z A, RAHMAN I M M, SAWAI H, et al. Effect of extraction variables on the biodegradable chelant-assisted removal of toxic metals from artificially contaminated European reference soils [J]. Water Air Soil Pollution,2013,224:1381.
- [9] WANG M, LIU S, ZHANG Y, et al. Graphene nanostructures with plasma polymerized allylamine biosensor for selective detection of mercury ions [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2014,203:497.
- [10] ZHANG Z, FU X, LI K, et al. One-step fabrication of electrochemical biosensor based on DNA-modified three-dimensional reduced graphene oxide and chitosan nanocomposite for highly sensitive detection of Hg (II) [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2016,225:453.
- [11] TANAKA Y, ODA S, YAMAGUCHI H, et al. ^{15}N - ^{15}N J-Coupling across Hg II: Direct observation of Hg II-mediated T—T basepairs in a DNA duplex [J]. Journal of the American Chemical Society,2007,129:244.
- [12] 刘斯佳,朱静,谭钟扬. 基于胸腺嘧啶-汞离子(II)配位作用的汞离子(II)检测技术的研究进展[J]. 中国农业科技导报,2009,11(S1):13.
- [13] HE L, ZHANG S, WANG M, et al. Facile fabrication of zinc phosphate-based nanocomposites for high-performance electrochemical sensing of Hg (II) [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2016,228:500.
- [14] 荆延德,何振立,杨肖娥. 稻菜轮作制下土壤有效态汞提取剂和提取条件研究[J]. 水土保持通报,2012,32(4):185.
- [15] BARAKA A, HALL P J, HESLOP M J. Preparation and characterization of melamine-formaldehyde-DTPA chelating resin and its use as an adsorbent for heavy metals removal from waste water [J]. Reactive and Functional Polymers,2007,67(7):585.
- [16] PINEDO-HERNÁNDEZ J, MARRUGO-NEGRETE J, DíEZ S. Speciation and bioavailability of mercury in sediments impacted by gold mining in Colombia [J]. Chemosphere,2015,119:1289.
- [17] 甘国娟,刘妍,朱晓龙,等. 3种提取剂对不同类型土壤重金属的提取效果[J]. 中国农学通报,2013,29(2):148.



引用格式:樊凯奇,苏振宁,王书元,等. 基于非共价键作用构筑的白光凝胶研究进展[J]. 轻工学报,2018,33(1):56-71.

中图分类号:O645 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.008

文章编号:2096-1553(2018)01-0056-016

基于非共价键作用构筑的白光凝胶研究进展

Research progress of white light gel construction based on non-covalent bond

樊凯奇¹, 苏振宁¹, 王书元¹, 赵帅¹, 韩光鲁¹, 余述燕¹,
张宝浩², 尹志刚¹, 宋健²

FAN Kaiqi¹, SU Zhenning¹, WANG Shuyuan¹, ZHAO Shuai¹, HAN Guanglu¹,
YU Shuyan¹, ZHANG Baohao², YIN Zhigang¹, SONG Jian²

1. 郑州轻工业学院 材料与化学工程学院, 河南 郑州 450001;

2. 天津大学 化工学院, 天津 300072

1. College of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

关键词:

非共价键; 白光凝胶;
自组装; 能量转移; 发色团

Key words:

non-covalent bond;
white light gel;
self-assembly;
energy transfer;
chromophore

摘要:从白光凝胶形成的作用方式出发,综述了以氢键作用、 $\pi-\pi$ 堆积作用和金属配位作用等非共价作用来构筑白光凝胶的研究现状,指出,基于非共价键作用构筑的白光凝胶可使不同发色团化合物产生动态和可逆的一维组装,自组装形成的聚集体有助于调节供、受体分子间的距离和偶极方向,提高分子间的能量转移效率,获得可调控的白光凝胶发射材料,该白光凝胶具有对外界明显的刺激响应特性和灵活的相转变过程,以及良好的可塑加工性,在显示材料、照明设备等领域有巨大的潜在应用前景.然而,已经获得的白光凝胶体系存在着在强机械力或高温下会被破坏、凝胶强度低、干凝胶的制备周期长等问题,未来应加强凝胶因子结构和供、受体能量转移效率之间的构效关系研究,以促进白光凝胶工业化应用的尽早实现.

收稿日期:2017-11-30

基金项目:国家自然科学基金项目(21276188,21606211);河南省高等学校重点科研项目(16A530010);郑州轻工业学院
科研基金项目(2015XJJZ032);郑州轻工业学院博士基金项目(2014BSJJ061)

作者简介:樊凯奇(1985—),男,山西省运城市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为复合型凝胶软材料.

Abstract: Based on the formation mode of white light gel, the research status of constructing white light gel with non-covalent interactions such as hydrogen bonding, π - π stacking and metal complexing was reviewed. It was pointed out that the non-covalent bonding of white light gel could make different chromophore compounds produce a dynamic and reversible one-dimensional assembly, self-assembly of aggregates could help regulate the distance between donor and acceptor molecules and dipole direction to improve the energy transfer efficiency between molecules to obtain a tunable white light gel material. This white light gel had obvious stimulus response characteristics and flexible phase transition to the outside world as well as good plastic workability, and had great potential applications in the fields of display materials, lighting equipment and the like prospect. However, the existing white light gel system had the problems of being destroyed under strong mechanical or high temperature, low gel strength and long preparation period of the dry gel. In the future, the structure-activity relationship research between the gel factor structure and the donor and acceptor energy transfer efficiency should be strengthened to promote the industrialization application of white gel as soon as possible.

0 引言

白光发射材料因在照明和显示领域具有潜在应用价值而越来越受到业界的关注^[1-3]. 白光由3种原色组成,即红色(R)、绿色(G)和蓝色(B). 为了避免主观色彩感知,国际照明委员会 CIE (commission internationale de L' Eclairage) 将所有颜色表示为两个颜色坐标(x 和 y), 并且规定理想白光颜色坐标为(0.33, 0.33). 另外,也可以通过混合与白光相交的两种互补色来获得白光,若 CIE 坐标越接近(0.33,0.33),得到的白光质量越高^[4].

通常情况下,与无机发光材料相比,有机发光材料具有更大的溶液加工性,可以成为有机发光二极管(OLED)的潜在候选材料^[5-6]. 然而,由于卡莎规则(Kasha's rule)^[7]的存在,单一染料所发出的光几乎不会覆盖整个可见光区域. 因此,在设计白光发射的染料时往往需要此染料分子至少具有两种形式(例如发射互变异构体)以完全覆盖可见光区域. 在这种情况下,互变异构体的发射颜色可通过化学刺激(如 pH 值变化)来调节^[8-9]. 此外,另一种更为简便的制备白光发射材料的方法是通过激发态能量转移作用来实现. 在能量转移过程中,分子首先在光照下由基态跃迁到激发态,激发态电子回到

基态时能量除了以光能和热能的形式释放之外,还有部分能量转移到其他基态分子上,使其发生跃迁. 其中,将转移能量的分子称作供体,将接受能量的分子称作受体,由于能量转移体系中同时存在供体和受体激发态,所以具有两种或两种以上波长的发射光,可通过调节不同颜色光的比例来得到白光发射材料^[10]. 然而,从有机合成的角度来看,以精确的混合比例制备具有不同发色团的化合物是很困难的^[11]. 若将发色体构筑成凝胶因子,其在溶剂中通过非共价键作用形成的超分子凝胶有助于调节不同发色团化合物之间的距离和偶极方向,对快速、高效地制备白光发射材料是有利的. 因此,业界通常利用动态非共价键的特性来调节超分子聚集体中发色团成分的比例,进而调整其光谱特征,获得白光凝胶^[7,10,12-18]. 目前关于白光凝胶的报道还比较少,本文拟从白光凝胶形成的作用方式出发,对基于氢键作用、 π - π 堆积作用和金属配位作用这3种非共价作用来构筑白光凝胶的研究现状进行综述,并对白光凝胶的应用前景进行展望.

1 氢键作用

氢键的基本构成为 $X-H\cdots Y$, 其中 $X-H$ 称为质子供体,而含有孤对电子的 Y 原子称为

质子受体,其键长一般较长,属于典型的非共价键.但是由于其具有高度的取向性和丰富的形成形式,在超分子凝胶化学中起着重要作用,所以基于氢键作用结合的超分子白光凝胶也受到了高度关注.

M. R. Molla 等^[19]报道的基于羧酸连接的萘二酰亚胺(NDI)发色团,已被广泛用作超分子结构单元^[20].在该研究中,制备的化合物1(见图1)能够形成自互补氢键网络,羧酸基团之间氢键的相互作用可通过傅里叶转变红外(FT-IR)光谱测量证实.当化合物1在甲基环己烷与氯仿的混合溶剂中形成凝胶时,其NDI发色团之间形成J-型堆积体,具有非常宽的发射峰($\lambda_{em} = 545 \text{ nm}$, $\Phi = 0.70$),其发射光谱几乎覆盖整个可见光区域,这表明是白光发射.时间相关单光子计数(TCSPC)实验表明,在较长波长处,相当宽的发射峰形状可归因于单分子发射.

借助互补的氢键作用,P. Bairi 等^[21]发现三聚氰胺(M)和喹啉二酮(Q)可构成双组分蓝光水凝胶,三聚氰胺(M)和维生素B2(R)可构成双组分绿光水凝胶(见图2),若将红光发色体罗丹明(RhB)引入混合凝胶体系中,按照 $n(M) : n(Q) : n(R) : n(\text{RhB}) = 100 : 100 : 0.5 : 0.02$ 的摩尔比混合后可制备白光凝胶.在该体系中,凝胶网络将蓝、红、绿3组分发色

体之间的距离缩短,实现各激发态间的能量转移,进而调控其光谱特性得到白光发射,其CIE坐标为(0.31, 0.36).上述通过互补氢键作用形成的白光凝胶,主要是通过凝胶的纤维网络结构来实现发色体间的能量转移过程,但是对凝胶的发光强度、量子产率等性能的改善并不明显.

H. Wang 等^[22]设计合成了含有脲基嘧啶结构的化合物G,其分子间的氢键作用可将氯仿凝胶化(见图3).G中的吡啶鎓盐是典型的供体-受体结构,聚集时能够发出强烈的白光.该研究中,由化合物G所形成的超分子凝胶可在不同激发波长下发出具有不同CIE色度坐标的白光:在波长345 nm处为(0.300 8, 0.326 6),在波长355 nm处为(0.298 3, 0.323 2),在波长365 nm处为(0.304 1, 0.326 2),在波长375 nm处为(0.306 4, 0.325 4),在波长385 nm处为(0.300 5, 0.324 3).该研究主要是通过脲基嘧啶间的氢键作用来构筑凝胶体系,对化合物G的发射光谱影响较大,导致其光谱不稳定,同时也达不到理想白光的CIE坐标.

众所周知,材料的光谱特性(包括最大发射波长、发光强度、光量子产率等)主要依赖于供体与受体之间的距离^[10].当供体与受体距离在1 nm以内,供、受体间的电子云发生重叠,能够产生电子交换,实现供体激发态能量到受体

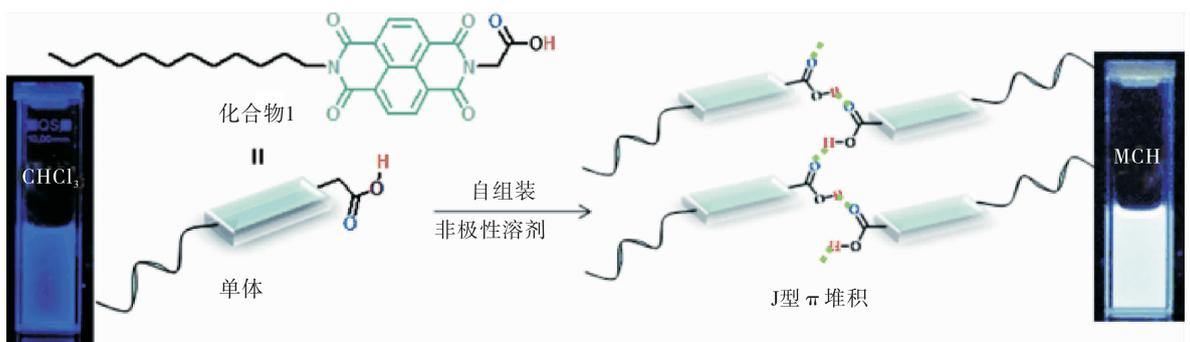
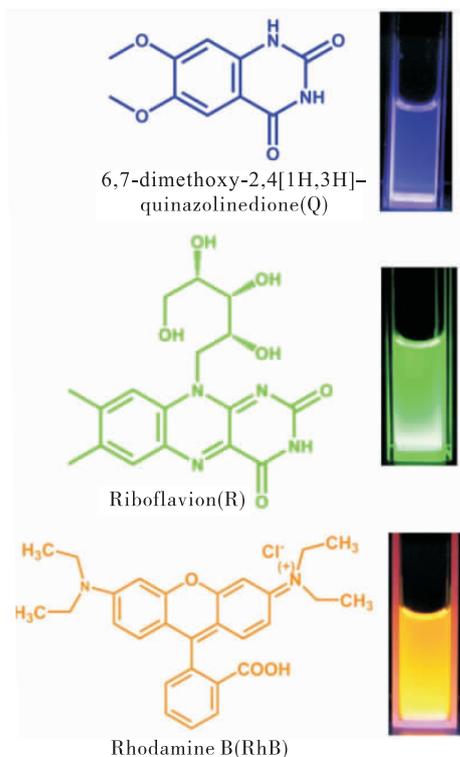
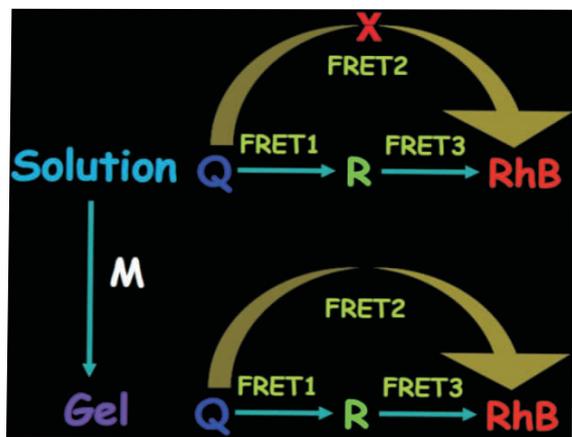


图1 化合物1形成的自互补氢键网络 and 在不同溶剂中形成的凝胶图片^[19]

Fig. 1 The self-complementary hydrogen-bonding network formed by compound 1 and its gel images formed in different solvents^[19]



a)化合物Q,R,RhB的结构式及其各自的溶液态在紫外光照射下(365 nm)的照片

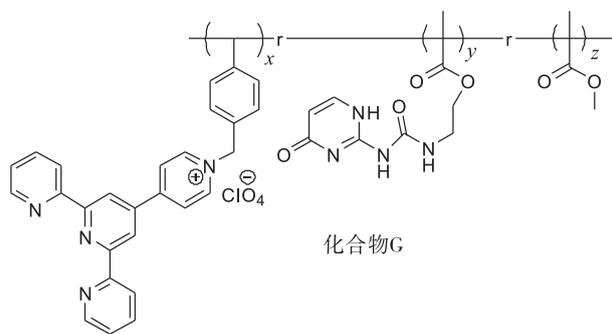


b)各激发态间的能量转移示意图

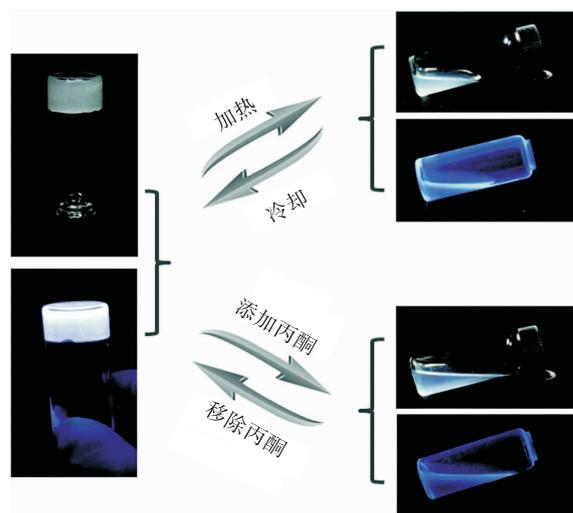
图2 化合物Q,R,RhB的结构式及其各自的溶液态在紫外光照射下(365 nm)的照片,以及各激发态间的能量转移示意图^[21]

Fig.2 The chemical structure of Q,R,RhB and their photographs under UV light irradiation (365 nm) in solution state and schematic diagram of energy transfer between excited states^[21]

基态的转移(即 Dexter 机理)^[23-24]. 当供体与受体的距离在 1 ~ 10 nm 范围内,则会发生



a) 化合物G的结构式



b) 化合物G形成白光凝胶的照片

图3 化合物G的结构及其形成白光凝胶的照片^[22]

Fig.3 Structure of compound G and the photos of the white gel^[22]

Föster 能量转移(远程的共振相互作用):当分子中的电子在 HOMO 轨道与 LUMO 轨道之间跃迁时,会引起另一个分子中电子的共振,使其在 HOMO 与 LUMO 之间跃迁^[24]. 上述研究中利用分子间氢键作用构筑的超分子白光凝胶,主要是借助凝胶的三维网络结构来限制供体和受体的分子扩散,进而间接调节供体与受体之间的距离获得白光发射. 然而氢键作用并不能影响发色团的光谱特性,因此所制备的白光凝胶的发光寿命和光量子产率难以通过氢键作用来调节.

2 $\pi - \pi$ 堆积作用

超分子凝胶的 $\pi - \pi$ 堆积作用能够形成共轭 π 堆积体,有助于分子间电子传输,且其轨道分布相较于单体也会发生明显改变,导致其发射波长发生移动,能够明显改善体系的光谱特性,进而调节白光凝胶的发光强度、发光寿命和光量子产率。

C. Vijayakumar 等^[25]发现具有寡聚(对苯撑乙烯)(OPV)结构的凝胶因子2可以形成 $\pi - \pi$ 聚集体,若向体系中掺杂红光受体化合物3后,可产生白光发射(见图4),CIE坐标为(0.31,0.35)。这种发射是受体的红色发射、单体的蓝色发射和聚集体的绿色发射的组合,而凝胶自组装过程则促进了激子的快速扩散和能量的高效转移,且使凝胶体系中聚集体的发光强度明显高于单体的发光强度。

类似的,B. S. Santhosh 等^[26]利用液态的

OPV物质作为多功能性的发光材料(见图5),其中含有支化脂族烃取代基的化合物4和5在室温下呈现液体,有强烈的蓝色发射。有趣的是,该液体材料可以有效地成为其他发色体如Alq₃(绿色发射体)或红荧烯(橙红色发射体)的悬浮基质。当4(或5)、Alq₃和红荧烯以1:1.65:0.23的摩尔比混合,所形成的凝胶可实现白光发射,CIE坐标为(0.33,0.34)。该体系中绿色和红色发射组分具有低界面电阻,可导致主体基质呈现最有效的能量转移,进而获得纯白光发射。

R. Abbel 等^[27]设计并合成了一系列具有可调发射性能的茈萘凝胶因子(见图6)。将这些具有不同发射颜色的6(蓝),7(绿),8(黄)和9(红)以4.5:0.7:0.2:0.1的摩尔比混合后,可形成白光凝胶。其中,凝胶因子的茈萘结构可以通过自组装形成 $\pi - \pi$ 堆积体,有助于调节凝胶体系的发射性能。

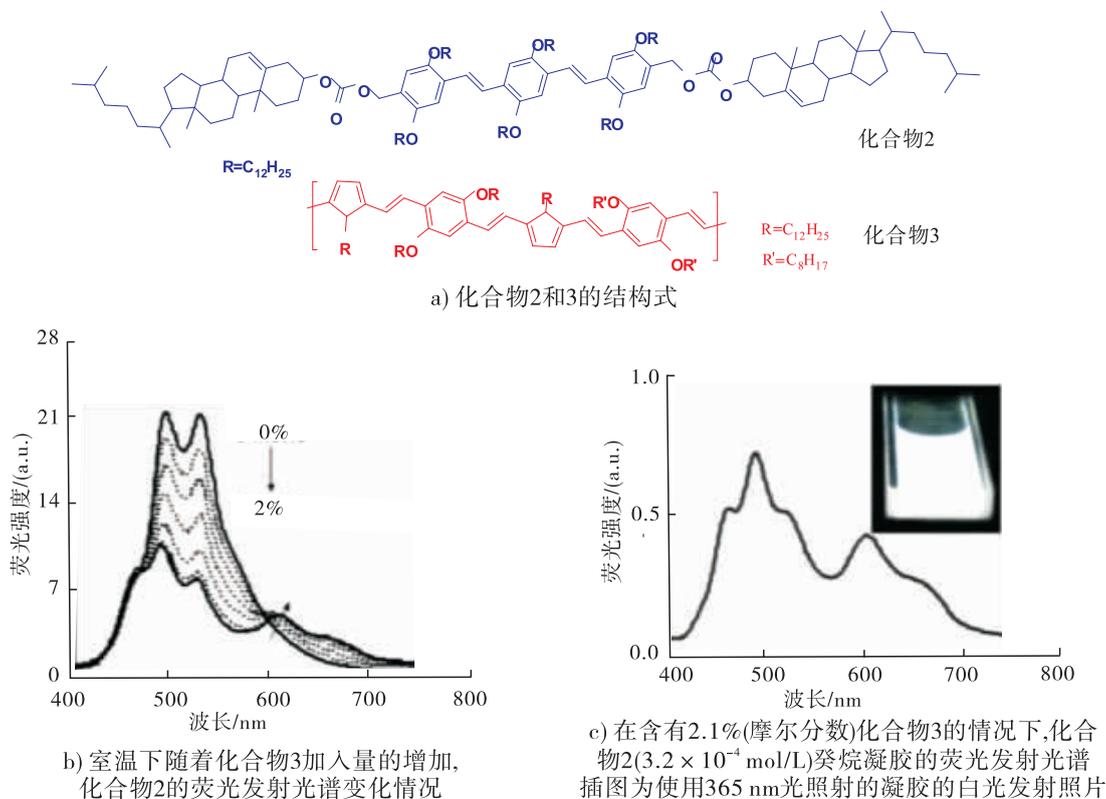


图4 化合物2和3的结构式与化合物2的荧光发射光谱^[25]

Fig. 4 The chemical structures of compound 2 and 3 and the fluorescence emission spectrum of compound 2^[25]

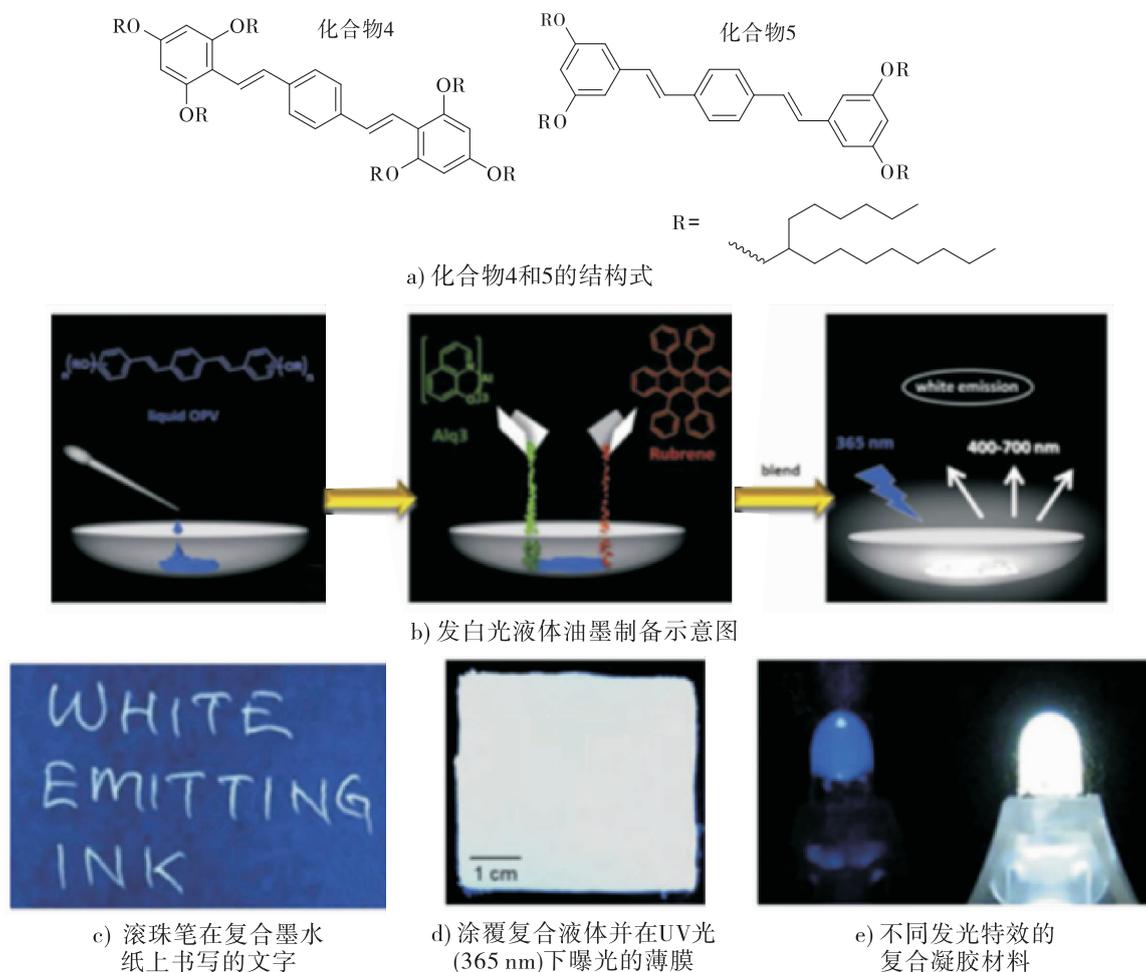


图5 化合物4和5的结构式及其相关应用示意图^[26]

Fig. 5 The chemical structures of compound 4 and 5 and their related application diagram^[26]

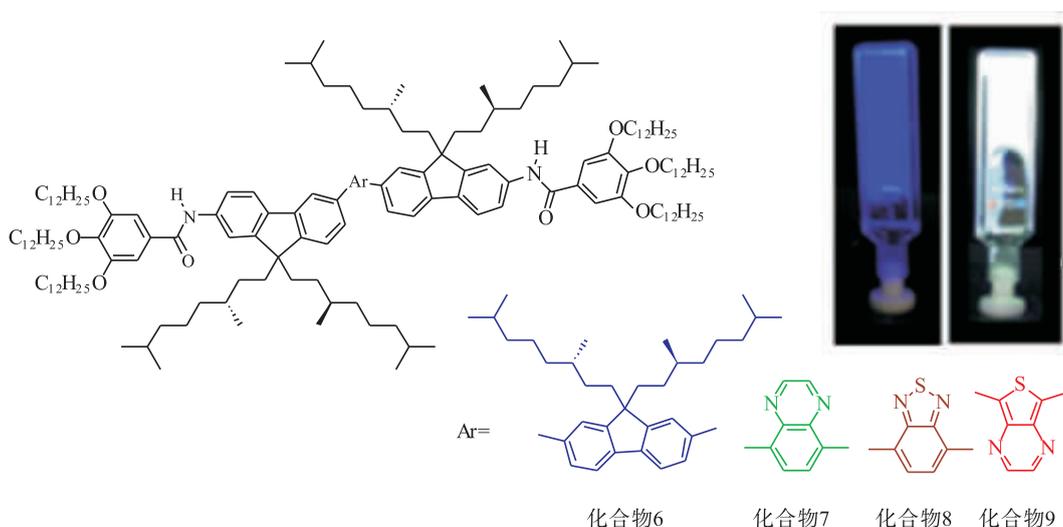


图6 化合物6—9的结构式,化合物6形成的有机凝胶在UV照射(365 nm)下的照片,以及化合物6—9按照 n (化合物6): n (化合物7): n (化合物8): n (化合物9)=4.5:0.7:0.2:0.1的摩尔比所形成的有机凝胶在UV照射(365 nm)下的照片^[27]

Fig. 6 The chemical structures of compound 6—9, photographs under UV illumination (365 nm) of organogels formed by 6, Photograph under UV illumination (365 nm) of organogels formed by the mixture 6—9 (molar ratio $n(6) : n(7) : n(8) : n(9) = 4.5 : 0.7 : 0.2 : 0.1$)^[27]

C. Giansante 等^[28]制备了白光发射凝胶的纳米纤维,并通过共聚焦荧光显微镜进行了表征.他们利用2,3-二(癸氧基)蒽(10)的蓝色发光凝胶作为能够容纳和敏化受体的捕光支架,绿色和红色荧光则是基于并四苯的受体11和12(见图7),为了获得良好的发光量子产率,将受体结构设计得与供体结构类似,通过调整共聚凝胶中的掺杂比率,即可调控从供体到受体的能量转移.当在化合物10中添加0.012当量的化合物11和0.012当量的化合物12时,可形成白光凝胶,CIE坐标为(0.32,0.33).共聚焦荧光显微镜研究表明,化合物10→11和化合物10→12为直接能量转移过程,化合物10→11→12为逐步能量转移过程,化合物10自身能量的激发跳跃过程.显然,这种白光凝胶设计的成功强烈依赖于凝胶纤维网络中分子的高度排序.

P. Malakar 等^[14]利用溶剂诱导蒽羧酸(AnA)和蒽甲醛(AnC)的选择性自组装而产生白光(见图8).AnA单体发射蓝光,AnC的自组装聚集体则发射出绿黄色光,通过掺入橙色发色体罗丹明B可实现纯白光发射,CIE坐标为(0.33,0.33).上述白光发射可同时在水溶液和琼脂水凝胶中实现.

K. V. Rao 等^[29]描述了由胺官能化的有机黏土(AC)和阴离子染料的发光性能.该研究中使用的供体和受体发色团分别是蓝色荧光的四苯甲酸酯(CS)和黄色荧光的磺酰罗丹明G(见图9a)).AC和双功能CS在水中的混合导致超分子组装和凝胶化.在掺杂磺酰罗丹明G时,组装的凝胶显示出白光发射.高度透明的白光凝胶由于其触变性和柔软性而可以涂布在任何物体的表面上(见图9b)).该法制备的膜显示

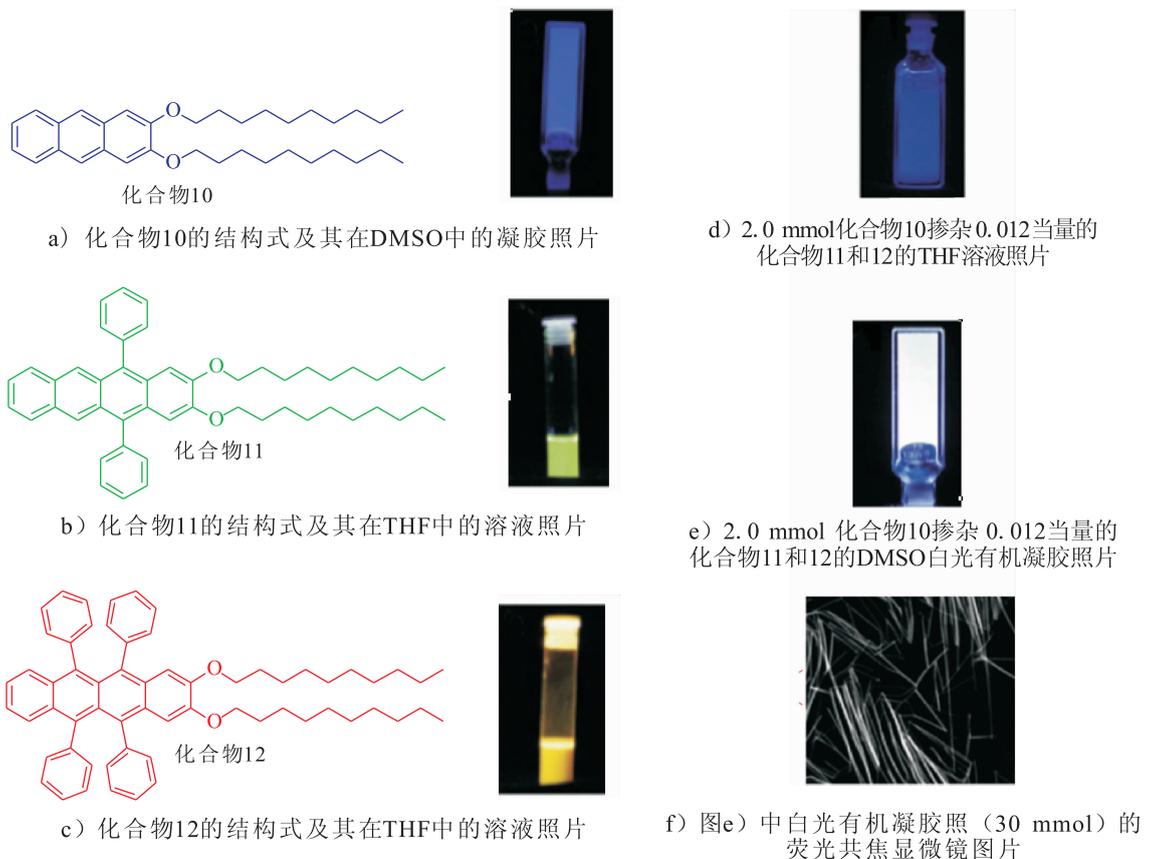
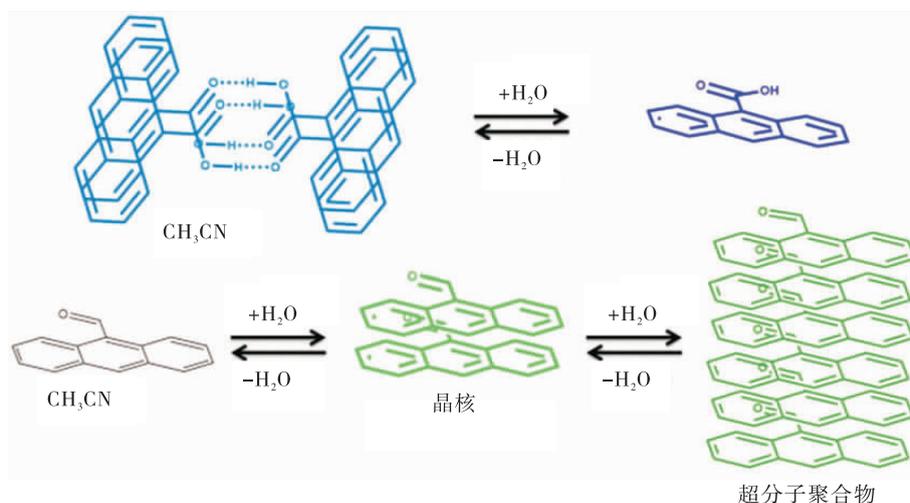


图7 化合物10—12的结构式及其相关图片^[28]

Fig. 7 Chemical structures of compound 10 - 12 and related pictures^[28]

图8 蒽羧酸(AnA)和蒽甲醛(AnC)在水中的自组装过程^[14]Fig. 8 The self-assembly process of anthracene carboxylic acid (AnA) and anthracene formaldehyde (AnC) in water^[14]

纯白色(CIE坐标为(0.33,0.32)),其可加工性和可保持白光的颜色纯度等特性,对未来的应用前景有重要意义。

总之,基于 $\pi-\pi$ 堆积作用构筑的超分子凝胶能够充分实现各发色团的自组装,改变供体与受体间的距离和偶极方向,调控光谱结构,使供、受体间能级更加匹配,进而提高了分子间的能量转移效率,实现白光凝胶发光性能的可控调节。然而,这种以纯有机化合物为供、受体的白光凝胶体系存在着耐久度差、凝胶强度低等弊端。另外, $\pi-\pi$ 堆积体之间的能量转移过程仍然停留在经验阶段,还无法做到用理论预测未来。

3 金属配位作用

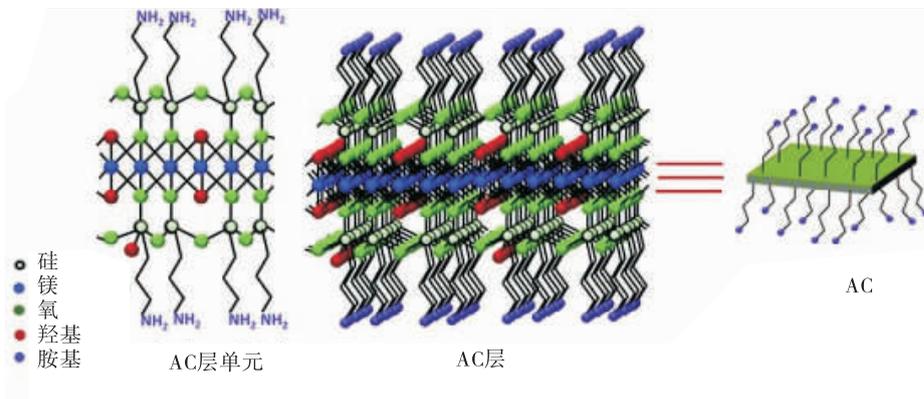
有机金属凝胶主要是通过配体与金属离子之间的动态配位作用形成含有重复单元的配位金属络合物^[30],通常具有刺激响应特性,为制备具有多重刺激响应性的白光凝胶提供了可能^[30-38]。

X. Cao等^[39-40]报道了一种由萘酰亚胺基凝胶因子13(供体)和磷光Ir(III)络合物14a(或14b)组成的白光超分子凝胶(见图10)。复

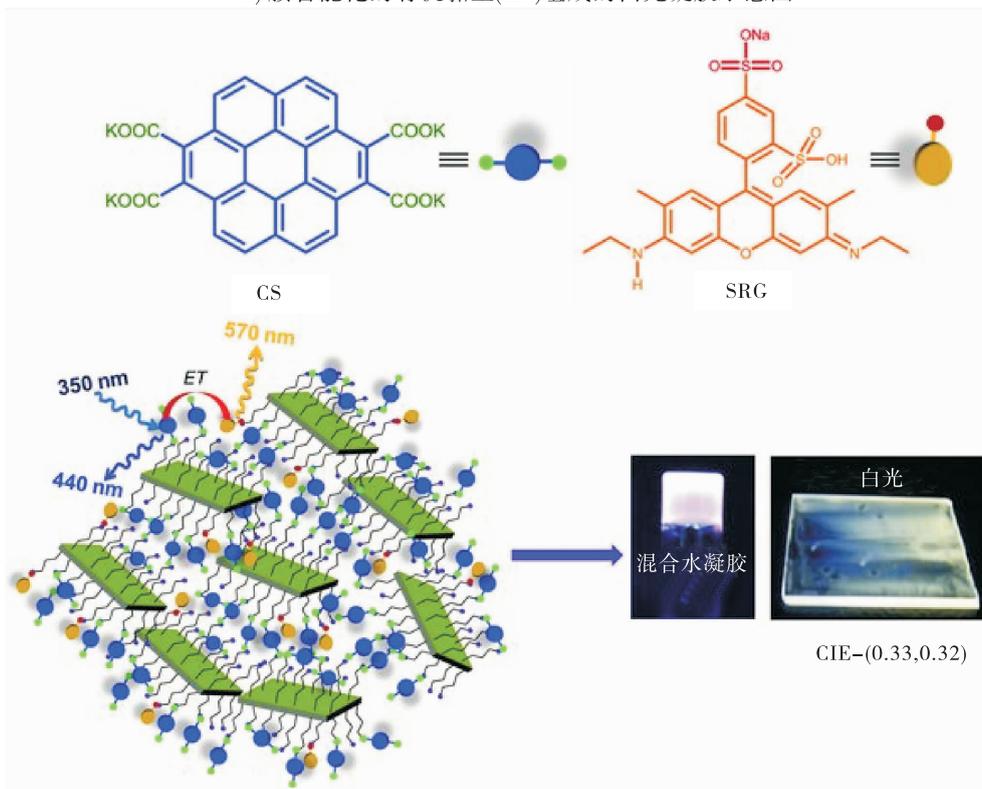
合物14a(或14b)形成的纳米颗粒在供体13的凝胶基质内分散良好。研究表明,白光发射主要取决于蓝色发光的供体13与橙色发光的受体14a(或14b)的摩尔比。另外,作者认为混合凝胶的形态和供体与受体的光学性质是控制能量转移效率的关键因素,他们利用半胱氨酸与Ir(III)复合物的相互作用成功设计了一个白光凝胶传感器。在半胱氨酸的存在下,白光凝胶转变为蓝光凝胶,这可以通过肉眼观测到。

另一方面,利用稀土金属与配体形成的动态金属配位构筑凝胶时,可将稀土金属发光亮度强、量子产率大、激发态寿命长等优良特性引入凝胶体系中,构建具有高纯色度和长时间激发的白光凝胶体系,应用于照明、光子学、光通信、发光探针和传感器等诸多领域。基于这些特征,镧系(Ln³⁺)有机金属凝胶被广泛用于开发白光凝胶,其中,Eu³⁺和Tb³⁺离子是强红、绿色发光的活化剂。因此,通过俘获镧系元素离子(如Eu³⁺和Tb³⁺)来制备色彩可调的白光凝胶,已成为当前研究的热点。

H. Kim等^[41]报道了由镧系络合物15和16组成的白光发射金属凝胶(见图11)。在该凝胶体系中,邻菲咯啉配合物与Tb(III)发生激发态



a) 胺官能化的有机黏土(AC)组成的白光凝胶示意图



b) 阴离子染料(CS和SRG)组成的白光凝胶示意图

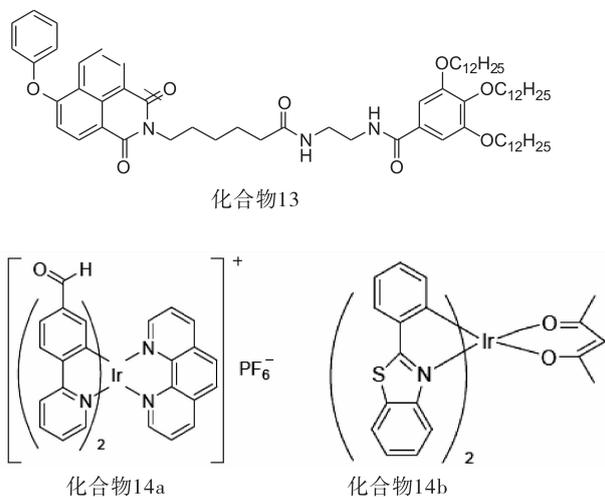
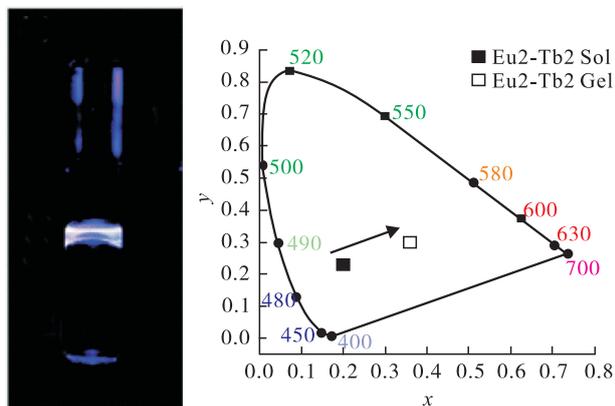
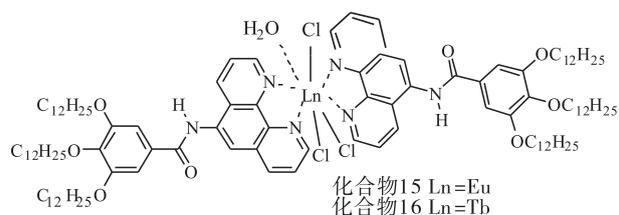
图9 胺官能化的有机黏土(AC)和阴离子染料(CS和SRG)组成的白光凝胶示意图^[29]

Fig.9 Schematic of white light gel formed by amine-functionalized organoclay (AC) and anionic dyes (CS and SRG) ^[29]

能量转移作用,形成绿光凝胶;将调节 Eu(Ⅲ) 替代 Tb(Ⅲ) 后,则形成红光凝胶;当调节 Eu(Ⅲ)与 Tb(Ⅲ) 的质量比为 1 : 19 时,可获得白光凝胶,其 CIE 坐标为(0.36,0.30).

P. Chen 等^[42] 利用三联吡啶衍生物与稀土离子进行复配,成功制备了白光凝胶,该凝胶对外界刺激具有响应特性(见图 12). 在超声刺激

下,该白光凝胶可转变为蓝光溶液;当温度由 -196 ℃ 变化到 60 ℃ 时,该白光凝胶可从绿色转变到红色;当处于酸性或碱性环境下,该白光凝胶会向蓝光变化. 这些刺激响应特性为白光凝胶的加工提供了便利,如可通过气相沉积法得到高强度白光薄膜,但其主体部分为高分子聚合物,分子量过大,发光基团含量较低,荧光

图10 化合物13和14的结构式^[39]Fig. 10 The chemical structures of compound 13 and 14^[39]图11 化合物15和16的结构式及其在365 nm照射下获得的溶胶、凝胶照片和白光凝胶的CIE色坐标^[41]Fig. 11 The chemical structures of compound 15 and 16 and their photographs of the sol and gel taken under 365 nm irradiation, CIE color coordinates of white luminescent gel^[41]

强度不高.

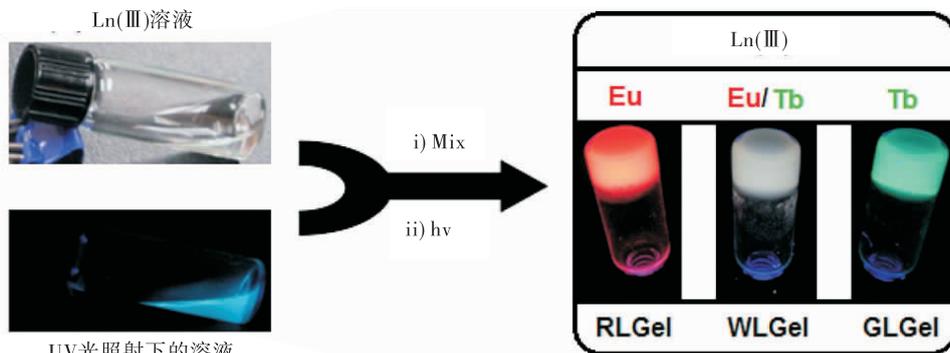
P. Kumar 等^[43]利用葡萄糖核聚(芳基醚)

树枝状分子的自组装来制备凝胶,实现了凝胶纤维中的有机供体(菲、萘、芘)向镧系元素 [Eu(III)和Tb(III)]的能量转移,通过测量凝胶介质中稀土离子的量子产率来计算共振能量转移(RET)的效率(见图13).该研究发现,在溶液介质中供、受体之间没有共振能量转移,但是在凝胶介质中存在有效的共振能量转移.菲-Eu(III)、萘-Eu(III)、芘-Eu(III)的量子产率值分别为11.9%、3.9%、3.6%.同时向凝胶体系中掺入镧系元素Tb(III)和Eu(III),可使凝胶产生白光发射,CIE坐标为(0.33, 0.32).

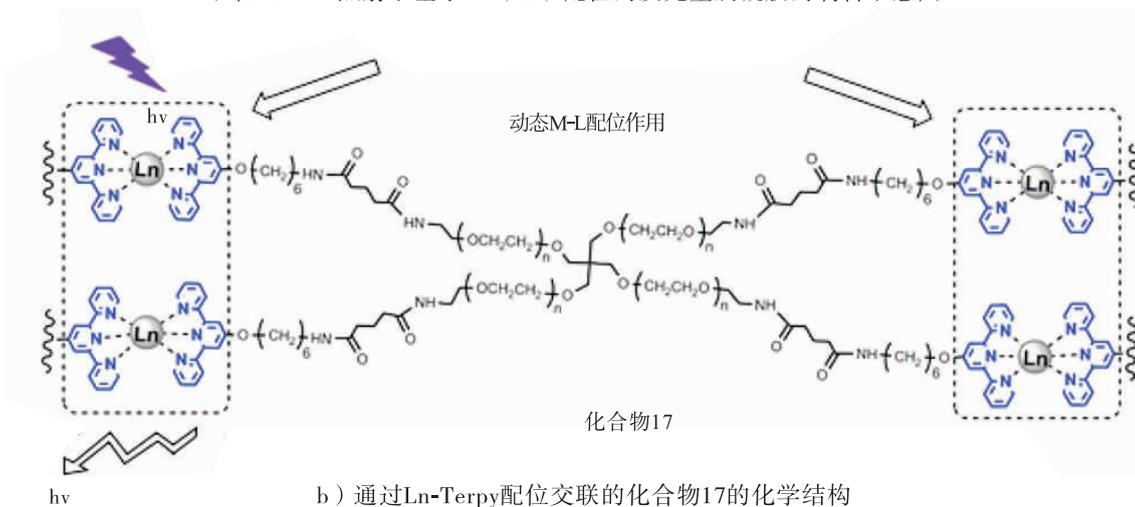
P. Sutar 等^[44]利用发蓝光的9,10-二苯基蒽为核,在其两端连接三联吡啶后得到一种低分子量凝胶因子19,其在体积比 $V(\text{CHCl}_3) : V(\text{THF}) = 2 : 1$ 的混合溶剂中可形成稳定凝胶(见图15).当向体系中加入 Tb^{3+} 和 Eu^{3+} 离子后,凝胶依然保留,同时三联吡啶与稀土离子产生的金属有机配位协同作用,会使得凝胶纤维向高度有序的金属有机聚合物转变.若改变稀土金属的摩尔比,当 $n(\text{Tb}^{3+}) : n(\text{Eu}^{3+}) = 1 : 2$ 时,可制得白光凝胶,CIE坐标为(0.28, 0.34),量子产率为5%.

C. Kim 等^[45]发现三联吡啶类衍生物20在不具有和具有Eu(III)或Tb(III)的情况下都可形成超分子水凝胶,分别显示出蓝光、红光和绿光发射.通过AFM观察,这些凝胶中存在明确的右螺旋纳米纤维(见图15),其螺距长度强烈依赖于镧系离子的浓度.另外,作者还发现超分子凝胶的螺距长度与发光强度之间存在一定的相关性,他们成功开发了一种可兼容水的喷墨打印系统,在A4大小的纸上生成发光超分子凝胶.

在上述金属白光凝胶的研究中发现,其形成机制有两种:一种是在凝胶基质中掺杂金属配合物,按照一定的比例对不同组分的发射光进行复合后获得白光凝胶;另一种是通过缺电



a) 在365 nm 照射下基于Ln (III) 配位的发光金属凝胶的制备示意图



b) 通过Ln-Terpy配位交联的化合物17的化学结构

图 12 在 365 nm 照射下基于 Ln(III) 配位的发光金属凝胶的制备示意图和通过 Ln-Terpy 配位交联的化合物 17 的化学结构^[42]

Fig. 12 Schematic preparation of Ln(III) coordination-based luminescent metallogels under

UV light ($\lambda_{ex} = 365 \text{ nm}$) and chemical structure of compound 17 cross-linked via Ln-Terpy coordination^[42]

子的金属离子与富电子的有机配体的配位原子作用,形成有机金属配合物,通过调节各配合物的组成,调控其发射光谱特征,不仅能够实现白光发射,还能引入新的非共价相互作用,改变凝胶强度. 目前,金属白光凝胶中存在的主要问题是:如何合理调节各组分的比例,以实现理想的白光发射.

4 结语

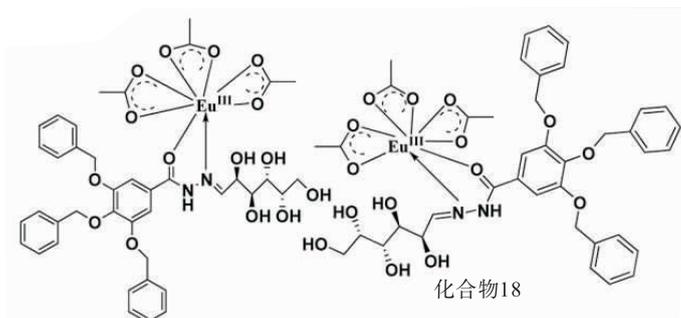
本文综述了业界以氢键作用、 $\pi - \pi$ 堆积作用和金属配位作用等非共价作用来构筑白光凝胶的研究现状,得出目前制备白光发射材料的通用方法是:利用发色物质的自组装能力,对供体与受体间的能量转移过程进行可控的精细

调节,以获得可调控的白光凝胶发射材料. 其所制备的白光凝胶体系相较于其他白光材料,具有非常明显的优势: 1) 由多种非共价键作用力组成,具有对外界明显的刺激响应特性和灵活的相转变过程,能够带来塑性与加工上的便利; 2) 自组装形成的聚集体能够有效调控分子间距离和偶极方向,提高供、受体之间的能量转移效率,从而高效实现白光发射; 3) 凝胶因子的自组装性提供了较为稳定的纤维网络,可以有效减少由溶剂分子间碰撞而造成的能量衰减,进而提高发光效率.

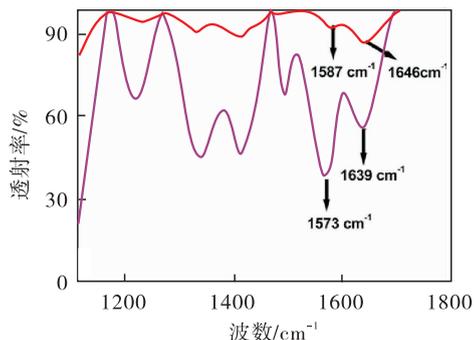
关于白光凝胶的研究目前还处于起步阶段,有关凝胶因子结构和供、受体能量转移效率

之间构效关系的研究还比较少,对组分间的能量转移过程的认识仍然停留在经验阶段,还无

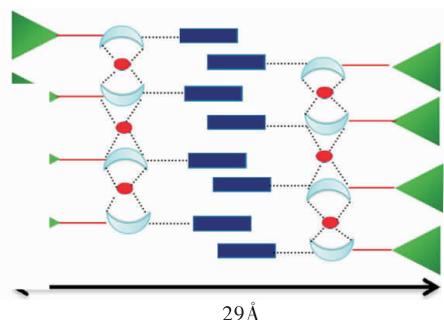
法用理论来准确预测未知. 另外,已经获得的白光凝胶体系存在着在强机械力或高温下会被破



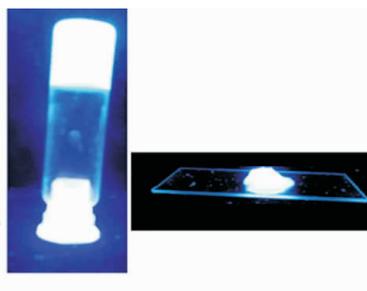
a) 化合物18的结构式



b) 化合物18的FT-IR光谱图



c) 化合物18形成凝胶的自组装模型



d) 化合物18形成的白光凝胶照片

图 13 化合物 18 的结构式及其相关图片^[43]

Fig. 13 The chemical structure of compound 18 and its related pictures^[43]

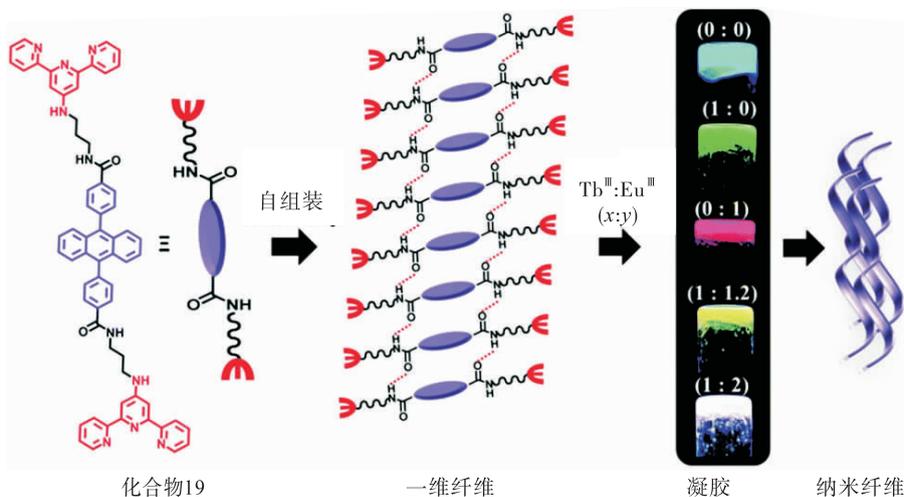
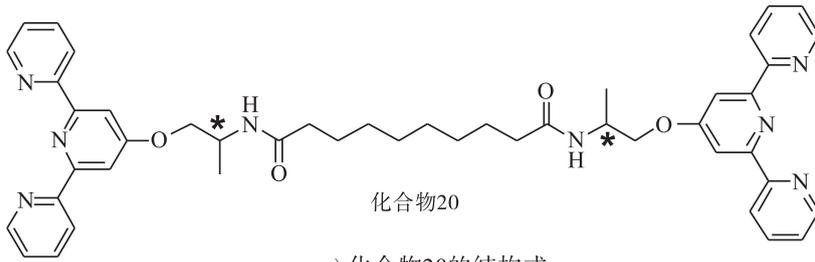


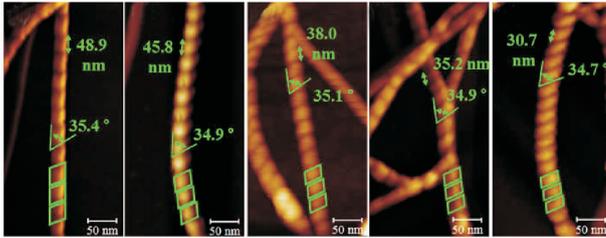
图 14 化合物 19 的结构式及其通过氢键和 $\pi-\pi$ 堆积作用

自组装形成发光凝胶的示意图^[44]

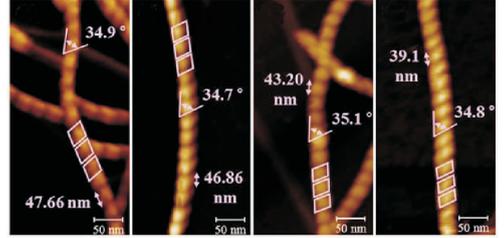
Fig. 14 The structure of compound 19 and schematic diagram of the self-assembly of a luminescent gel by hydrogen bonding and $\pi-\pi$ stacking^[44]



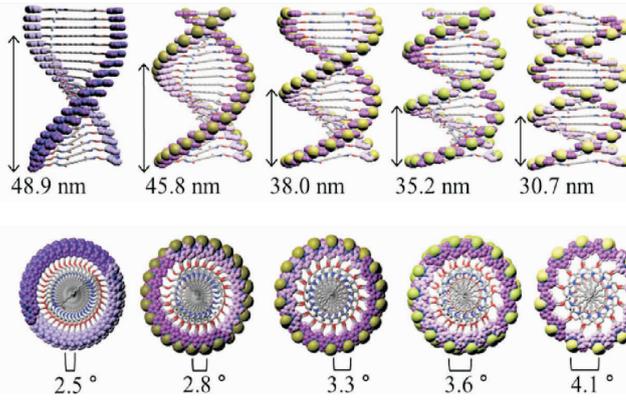
a) 化合物20的结构式



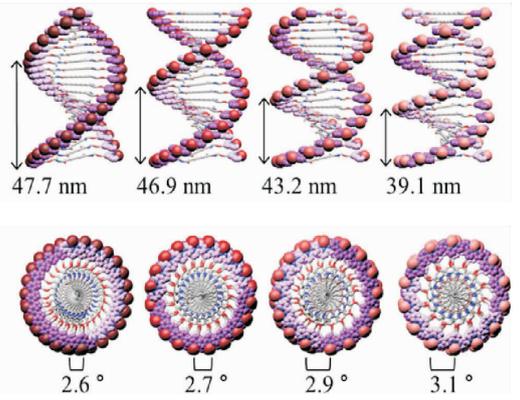
b) 化合物20与不同浓度Tb (III) 制备的凝胶纤维的AFM图



c) 化合物20与不同浓度Eu (III) 制备的凝胶纤维的AFM图



d) 化合物20-Tb (III) 的凝胶纤维内部与外部螺旋结构的3D模型



e) 化合物20-Eu (III) 的凝胶纤维内部与外部螺旋结构的3D模型

图 15 化合物 20 的结构式及其自组装形成手性纤维的螺距图^[45]

Fig. 15 The chemical structure of compound 20 and the pitch values of self-assembled chiral fibers^[45]

坏、凝胶强度低、干凝胶的制备周期长等问题，这使得白光凝胶实现工业化还非常困难。然而一旦解决上述问题，白光凝胶将以其低廉的合成成本，便利的加工工艺，可控的分子组装，在照明设备、显示材料、光学传感、环境监测等领域实现重大突破。

参考文献:

[1] FORREST S R, THOMPSON M E. Introduction: Organic electronics and optoelectronics [J]. Chemical Reviews, 2007, 107 (4) : 923.

[2] XIAO L, CHEN Z, QU B, et al. Recent progres-

ses on materials for electrophosphorescent organic light-emitting devices [J]. Advanced Materials, 2011, 23 (8) : 926.

[3] XIA Z, XU Z, CHEN M, et al. Recent developments in the new inorganic solid-state LED phosphors [J]. Dalton Transactions, 2016, 45 (28) : 11214.

[4] VIJAYAKUMAR C, SUGIYASU K, TAKEUCHI M. Oligofluorene-based electrophoretic nanoparticles in aqueous medium as a donor scaffold for fluorescence resonance energy transfer and white-light emission [J]. Chemical Science,

- 2011,2(2):291.
- [5] GU C, FEI T, LYU Y, et al. Color-stable white electroluminescence based on a cross-linked network film prepared by electrochemical copolymerization [J]. *Advanced Materials*, 2010, 22(24):2702.
- [6] FARINOLA G M, RAGNI R. Electroluminescent materials for white organic light emitting diodes [J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 40(7):3467.
- [7] KUBO Y, NISHIYABU R. White-light emissive materials based on dynamic polymerization in supramolecular chemistry [J]. *Polymer*, 2017, 128:257.
- [8] MUKHERJEE S, THILAGAR P. Organic white-light emitting materials [J]. *Dyes and Pigments*, 2014, 110:2.
- [9] YAMAGUCHI K, MURAI T, GUO J D, et al. Acid-responsive absorption and emission of 5-N-Arylaminothiazoles: Emission of white light from a single fluorescent dye and a Lewis acid [J]. *Chemistryopen*, 2016, 5(5):434.
- [10] YANG H, ZHANG Y, LI Y, et al. New member of luminescent materials—Status and future of white light emitting gel [J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2017, 37(8):1991.
- [11] LEE S Y, YASUDA T, YANG Y S, et al. Luminous butterflies: Efficient exciton harvesting by benzophenone derivatives for full-color delayed fluorescence OLEDs [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2014, 53(25):6402.
- [12] XING P, ZHAO Z, HAO A, et al. Tailoring luminescence color conversion via affinitive coassembly of glutamates appended with pyrene and naphthalene dicarboximide units [J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(6):1246.
- [13] WEI Y, SA R, WU K. A highly stable and white-light-emitting Eu(III) MOF [J]. *Dalton Transactions*, 2016, 45(46):18661.
- [14] MALAKAR P, MODAK D, PRASAD E. Pure white light emission from organic molecules using solvent induced selective self-assembly [J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(23):4309.
- [15] KUNDU A, HARIHARAN P S, PRABAKARAN K, et al. Aggregation induced emission of excited-state intramolecular proton transfer compounds: Nanofabrication mediated white light emitting nanoparticles [J]. *Crystal Growth & Design*, 2016, 16(6):3400.
- [16] JONES C D, STEED J W. Gels with sense: Supramolecular materials that respond to heat, light and sound [J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(23):6546.
- [17] GOGOI M, CHATTOPADHYAY A. White light emission from quantum dot and a UV-visible emitting Pd-complex on its surface [J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(105):103095.
- [18] CHEN L, YAN C, PAN M, et al. Multi-mode white light emission in a Zn(II) coordination polymer from excited-state intramolecular proton transfer (ESIPT) ligands [J]. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2016, (17):2676.
- [19] MOLLA M R, GHOSH S. Hydrogen-bonding-mediated π -aggregation and white-light emission from a remarkably simple, single-component, naphthalenediimide chromophore [J]. *Chemistry: A European Journal*, 2012, 18(5):1290.
- [20] DAS A, GHOSH S. H-bonding directed programmed supramolecular assembly of naphthalene-diimide (NDI) derivatives [J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(42):6860.
- [21] BAIRI P, ROY B, CHAKRABORTY P, et al. Co-assembled white-light-emitting hydrogel of melamine [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(12):5478.

- [22] WANG H, JI X, LI Z, et al. Preparation of a white-light-emitting fluorescent supramolecular polymer gel with a single chromophore and use of the gel to fabricate a protected quick response code [J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2017, 1 (1):167.
- [23] VERHOEVEN J W. On the role of spin correlation in the formation, decay, and detection of long-lived, intramolecular charge-transfer states [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 2006, 7(1):40.
- [24] ZHANG C, ZHAO Y S, YAO J. Organic composite nanomaterials: Energy transfers and tunable luminescent behaviors [J]. *New Journal of Chemistry*, 2011, 35(5):973.
- [25] VIJAYAKUMAR C, PRAVEEN V K, AJAYAGHOSH A. RGB emission through controlled donor self-assembly and modulation of excitation energy transfer: A novel strategy to white-light-emitting organogels [J]. *Advanced Materials*, 2009, 21(20):2059.
- [26] SANTHOSH B S, AIMI J, OZAWA H, et al. Solvent-free luminescent organic liquids [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(14):3391.
- [27] ABBEL R, VAN DER WEEGEN R, PISULA W, et al. Multicolour self-assembled fluorene co-oligomers: from molecules to the solid state via white-light-emitting organogels [J]. *Chemistry: A European Journal*, 2009, 15(38):9737.
- [28] GIANANTE C, RAFFY G, SCHAEFER C, et al. White-light-emitting self-assembled nanofibers and their evidence by microspectroscopy of individual objects [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(2):316.
- [29] RAO K V, DATTA K K R, ESWARAMOORTHY M, et al. Highly pure solid-state white-light emission from solution-processable soft-hybrids [J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(12):1713.
- [30] ZHANG K Y, LIU S, ZHAO Q, et al. Stimuli-responsive metallopolymers [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2016, 319:180.
- [31] SONG X Z, SONG S Y, ZHANG H J. Luminescent Lanthanide Metal-Organic Frameworks [M]// *Lanthanide Metal-organic Frameworks*. Berlin Heidelberg: Springer, 2014: 109.
- [32] TANG Q, LIU S, LIU Y, et al. Color tuning and white light emission via in situ doping of luminescent lanthanide metal-organic frameworks [J]. *Inorganic Chemistry*, 2014, 53(1):289.
- [33] ROY S, KATIYAR A K, MONDAL S P, et al. Multifunctional white-light-emitting metal-organic gels with a sensing ability of nitrobenzene [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(14):11493.
- [34] ZHANG J, SU C Y. Metal-organic gels: from discrete metallogelators to coordination polymers [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2013, 257(7/8):1373.
- [35] TAM A Y Y, YAM V W W. Recent advances in metallogels [J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(4):1540.
- [36] JUNG J H, LEE J H, SILVERMAN J R, et al. Coordination polymer gels with important environmental and biological applications [J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(3):924.
- [37] ZHANG X, BALLEM M A, HU Z J, et al. Nanoscale light-harvesting metal-organic frameworks [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2011, 50(25):5728.
- [38] SCHLUETTER F, WILD A, WINTER A, et al. Synthesis and characterization of new self-assembled metallo-polymers containing electron-withdrawing and electron-donating bis(terpyridine) zinc(II) moieties [J]. *Macromolecules*, 2010, 43(6):2759.

- [39] CAO X, WU Y, LIU K, et al. Iridium complex triggered white-light-emitting gel and its response to cysteine [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(6):2650.
- [40] CAO X, LAN H, LI Z, et al. White light emission from a two-component hybrid gel via an energy transfer process [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2015, 17(48):32297.
- [41] KIM H, CHANG J Y. White light emission from a mixed organogel of lanthanide(III)-containing organogelators [J]. *RSC Advances*, 2013, 3(6):1774.
- [42] CHEN P, LI Q, GRINDY S, et al. White-light-emitting lanthanide metallo gels with tunable luminescence and reversible stimuli-responsive properties [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(36):11590.
- [43] KUMAR P, SOUMYA S, PRASAD E. Enhanced resonance energy transfer and white-light emission from organic fluorophores and lanthanides in dendron-based hybrid hydrogel [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(12):8068.
- [44] SUTAR P, SURESH V M, MAJI T K. Tunable emission in lanthanide coordination polymer gels based on a rationally designed blue emissive gelator [J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(48):9876.
- [45] KIM C, KIM K Y, LEE J H, et al. Chiral supramolecular gels with lanthanide ions: Correlation between luminescence and helical pitch [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(4):3799.



引用格式:甘勇,王凯,贺蕾.带 TTP 权重的多所有者 RFID 标签所有权动态转换协议[J].轻工学报,2018,33(1):72-78.

中图分类号:TP393.04 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.009

文章编号:2096-1553(2018)01-0072-07

带 TTP 权重的多所有者 RFID 标签所有权动态转换协议

RFID tag dynamic ownership transfer protocol of multi-owner with TTP weight

甘勇,王凯,贺蕾

GAN Yong, WANG Kai, HE Lei

关键词:

所有权转换;多所有者;可信第三方;拉格朗日插值多项式算法;秘密共享

郑州轻工业学院 计算机与通信工程学院,河南 郑州 450002

College of Computer and Communication Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China

Key words:

ownership transfer; multi-owner; trusted third party (TTP); Lagrange polynomial interpolation algorithm; secret sharing

摘要:针对目前 RFID 标签所有权转换协议大多数不具备原所有者无关性和存在安全隐私问题的现状,基于拉格朗日多项式插值算法提出了一种带可信第三方(TTP)权重的多所有者 RFID 标签所有权动态转换协议.该协议中,新所有者通过购买的方式,从原所有者那里获得原始子密钥和权重,协议分别通过恢复原始密钥和 TTP 来验证原所有者和新所有者的合法性,并且利用秘密共享方案根据新所有者的权重来分发子密钥.仿真分析结果表明,该协议可明显提高所有权转换的安全性,其计算量和耗时均在可接受的范围之内,适用于低成本标签.

收稿日期:2017-10-25

基金项目:国家自然科学基金项目(61572445);河南省高等学校重点科研基金项目(16A520075)

作者简介:甘勇(1965—),男,湖南省株洲市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为分布式计算机系统、计算机网络、信息安全.

Abstract: As most ownership transfer protocols of RFID tags were subject to no independence of the original owner and security privacy issues, the RFID tags ownership dynamic transfer protocol of multi-owner with trusted third party (TTP) weights was proposed based on Lagrange polynomial interpolation algorithm. In the protocol, the new owner would obtain the original subkey and weight from the original owner in the way of purchasing, the legality of the original owner and the new owner were verified by recovering the original key and TTP, and the subkey was distributed according to the weight of the new owner by using the secrete sharing scheme. The simulation result showed that the protocol significantly improved the security of ownership transfer, and the calculation quantity and time-consuming were within the acceptable scope, which was applicable to the low cost tag.

0 引言

随着物联网技术的飞速发展,RFID(radio frequency identification)作为一种通过电子磁场自动识别目标的技术,在供应链管理、零售、安防和交通等物联网领域得到了广泛的应用,但随之也出现了新的安全和隐私问题^[1].由于 RFID 标签成本低,存储容量和计算能力都非常有限,传统的安全技术不能直接应用在标签上,当所有权转换发生变化时,所有者隐私和 RFID 安全无法得到保证^[2].当涉及多个 RFID 系统协调工作时,不仅要求原所有者把某些共享信息发送给新所有者,同时还要保证新所有者不能得到其机密信息,且原所有者也不可以再继续访问该标签^[3].RFID 系统本身的安全和隐私问题已经制约了其发展.

目前,国内外学者对 RFID 标签所有权转换协议进行了大量研究.文献[4]最早针对标签的所有权转换问题,设计了基于密钥树的假名协议,通过给 RFID 标签提供一个假名来保护用户隐私信息,并基于该协议提出了两种方法来实现标签的所有权转换,但是新所有者无法安全获得标签的控制权,并没有实现所有权的完全转换.文献[5]基于是否带有可信第三方(TTP)提出了两种不同的协议,但这两种协议也仅仅涉及密钥交换,需要结合其他的安全认证协议来实现所有权的转换.文献[6]通过对已经提出的协议和 RFID 系统安全性的分

析,设计了一个可以实现所有权完全转换的双向认证协议,但该方案要求标签具有较高的计算能力.文献[7]中协议通信过程采用轻量级运算,密钥由通信双方协商并动态更新,但该协议不能抵抗去同步化攻击,不具备原所有者无关性.文献[8]提出了一种基于 SQUASH 方案的轻量级所有权转移协议,但该协议中存在不安全的因素,例如不能很好地抵御去同步化攻击.文献[9]论述了文献[8]协议存在的安全漏洞,并提出了改进的轻量级所有权转换协议,弥补了文献[8]协议的安全漏洞缺陷,但仍然存在新的安全漏洞和成本花销问题.文献[10]针对文献[9]中存在的安全漏洞和成本问题,提出了一种基于密钥共享的超轻量级 RFID 标签所有权转换协议,但是该协议并不能有效保护标签信息的后向安全.

以上分析表明,现已存在的所有权转换协议主要存在两个问题:一是不具备原所有者无关性,即原所有者没有完全地将标签的所有权转移给新所有者;二是拥有标签不同份额即权重不同的多个所有者进行 RFID 标签所有权转换时的安全隐私问题,并没有得到完美的解决.鉴于此,本文拟基于拉格朗日多项式插值算法设计一个带 TTP 的多所有者标签所有权动态转换协议,在不同权重的多个所有者之间转换标签的所有权,以期提高所有权转换的安全性.

1 协议描述

1.1 主要思想

不同权重状态下带 TTP 的多所有者标签所有权动态转换协议的核心思想是使用秘密共享门限方案管理密钥,即在 (t, n) 门限秘密共享方案中,密钥分发者首先把密钥分为 n 份,分配给 n 个参与者. 当其他新的实体通过购买方式成为标签新的所有者,并且从原所有者处获得权重和原始子密钥时,必须恢复初始密钥,验证标签和所有者的合法性. 但是,只有当参与恢复密钥的所有者权重之和等于或大于 t 时,才可根据拉格朗日公式获取共享密钥:

$$f(0) = \sum_{i=1}^t y_i \left\{ \prod_{1 \leq j \leq t, i \neq j} \frac{(0 - x_j)}{(x_i - x_j)} \right\}$$

同理,新所有者和标签也必须通过验证. 最后,新密钥将通过秘密共享方案,分成数个子密钥,新所有者将根据其权重,获得相应的子密钥.

1.2 协议初始化

设 $P = \{P_1, P_2, \dots, P_n\}$ 为标签的 n 个原所有者, W_i 是原所有者 P_i 所对应的权重, $Q = \{Q_1, Q_2, \dots, Q_m\}$ 为标签的 m 个新所有者, W_{mi} 表示新所有者 Q_i 的相应权重值(在 m 的边界上), W_{ij} 是新所有者 Q_i 从原所有者 P_i 处购买的权重, TID 是标签的唯一标识, S 表示标签与原所有者通信的原密钥, $S_{ij} (1 \leq j \leq W_i)$ 表示具有不同权重的原所有者的子密钥, S_{new} 表示标签与新所有者通信的新密钥, $S_{mij} (1 \leq j \leq W_{mi})$ 表示具有不同权重的新所有者根据权重得到的不同数量的子密钥, PID 表示原所有者的唯一身份标识, QID 表示新所有者的唯一身份标识, ID_{TTP} 为可信第三方的唯一身份标识, K 代表标签和可信第三方共享的密钥, 而 a, b 为变量 a 和 b 的串联, $a \oplus b$ 为变量 a 和 b 的异或, $H(x)$ 为对变量 x 求其 Hash 值.

1.3 协议执行过程

1.3.1 所有权出售过程 假设标签具有 P_1, P_2, P_3 3 个原所有者,其对应的权重比例分别是 1,2,3,并且新所有者与原所有者之间的通信信道是安全的. 原所有者出售全部权重份额,RFID 标签的所有者将完全改变,具体的出售过程如图 1 所示.

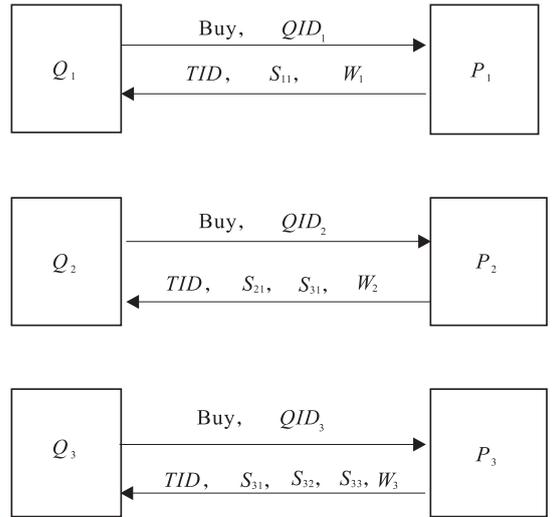


图 1 原所有者所有权出售过程

Fig. 1 The process of purchasing shares from original owners

由图 1 可见,当一个新所有者想从原所有者那里购买权重份额时,新所有者会发送一个购买请求和它自己的身份标识;当原所有者同意出售自己的权重份额时,它将发送标签的唯一身份标识 TID 和自己的子密钥及所占有的权重给新所有者.

1.3.2 原所有者认证过程 当 RFID 标签的原所有者完全改变时,需要及时更新密钥. 因此,原所有者首先需要通过恢复原密钥 S 来完成与标签的相互认证,以防止来自攻击者的假冒攻击,使原所有者与标签之间的正常通信被破坏. 具体的认证过程如图 2 所示,其主要步骤如下.

步骤 1 原所有者 P_1 向标签 Tag 发送所有

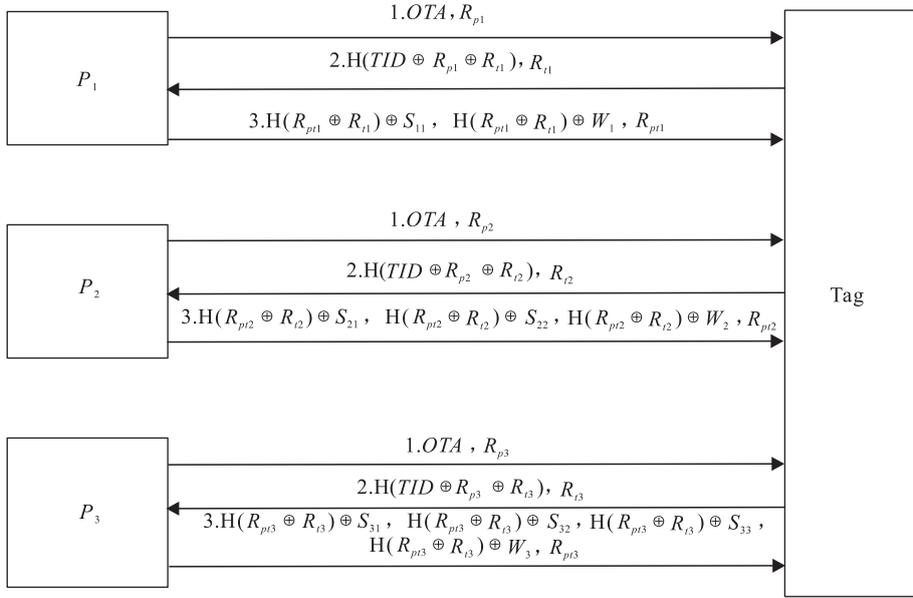


图 2 原所有者和标签认证过程

Fig. 2 The process of mutual authentication between the old owner and the tag

权转换许可 *OTA*, 并生成随机数 R_{p1} , 将 R_{p1} 和 *OTA* 同时发送给标签。

步骤 2 标签从 P_1 接收到 *OTA* 之后, 它将生成随机数 R_{i1} 并且计算 $M = H(TID \oplus R_{p1} \oplus R_{i1})$, 将 M 和 R_{i1} 同时发送给原所有者 P_1 。

步骤 3 当所有者 P_1 接收到来自标签的消息时, 使用存储在后端数据库中的 TID' , R_{i1} 和 R_{p1} 来计算结果。如果有 $H(TID' \oplus R_{p1} \oplus R_{i1}) = M$, 则标签通过认证, 然后后端数据库生成随机数 R_{pi1} , 所有者 P_1 将向标签发送 $H(R_{pi1} \oplus R_{i1}) \oplus S_{11}$, $H(R_{pi1} \oplus R_{i1}) \oplus W_1$ 和 R_{pi1} 给标签 Tag。

步骤 4 标签 Tag 收到原所有者发送的消息后, 判断参与恢复密钥的原所有者权重之和是否大于或等于要求的阈值, 若满足, 标签根据拉格朗日算法恢复密钥 S' , 此时用标签的原密钥 S 与拉格朗日算法恢复的密钥 S' 进行比较, 若存在 $S = S'$, 则说明原所有者合法, 此时标签与原所有者之间完成了双向验证, 且恢复了标签的原密钥 S 。

原所有者标签的认证过程类似, 仅以 P_1 为例进行阐述。

1.3.3 所有权转换过程 当标签的多个原所有者出售其权重给其他多个新实体时, 该新实体就成为 RFID 标签新的所有者。不仅原所有者需要与标签完成双向认证, 新所有者也需要与标签完成双向认证以防攻击者攻击。此时需要在 TTP 的参与下进行双向认证过程, 以防止有攻击者伪装成合法的新所有者向标签发送信息, 并确保实现原所有者无关性。当多个新所有者认证合法时, 标签将更新密钥, 并把该密钥分割成多份, 根据新所有者的权重分发新的子密钥。具体所有权转换流程如图 3 所示, 以 Q_1 为例进行阐述, 其主要步骤如下。

步骤 1 新所有者 Q_1 向标签发送所有权转换申请 *OTR*, 并生成随机数 R_{q1} 同时发送给标签。

步骤 2 当标签接收到来自 Q_1 的请求消息后, 它将产生一个随机数 R_{ni1} , 并计算 $M = H(TID \oplus R_{q1} \oplus R_{ni1})$, 将 M 和 R_{ni1} 同时发送给新所有者 Q_1 。

步骤 3 新所有者 Q_1 接收到标签发来的消息后, 计算 $M' = H(TID \oplus R_{q1} \oplus R_{ni1})$ 。如果

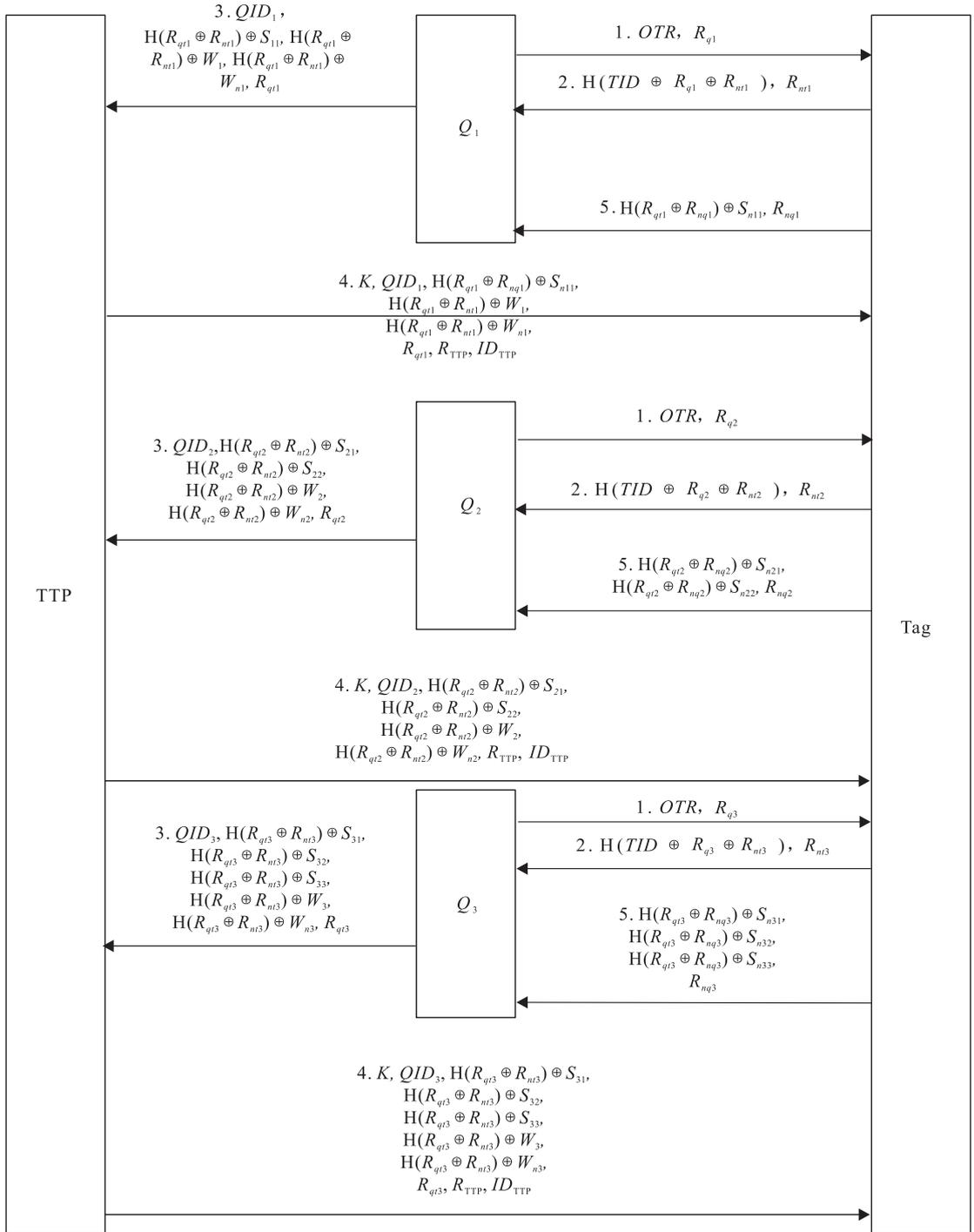


图3 所有权转换过程

Fig. 3 The process of RFID tag ownership transfer

存在 $M' = M$, 则说明标签是合法的, 并通过该认证; 然后后端数据库生成随机数 R_{q1} , 新所有者 Q_1 将把 $QID_1, H(R_{q1} \oplus R_{n1}) \oplus S_{11}, H(R_{q1} \oplus R_{n1}) \oplus W_1, H(R_{q1} \oplus R_{n1}) \oplus W_{n1}$ 和 R_{q1} 发送给 TTP.

步骤4 TTP 接收到新所有者 Q_1 的通信消息后, 核查该消息的正确性: 若不正确, 则认为新所有者没有获得对标签的控制所有权, 协议停止; 若正确, 则认为新所有者获得了对标签的控制所有权, 原所有者同意将控制所有权转

交给新所有者. TTP 生成随机数 R_{TTP} , 并发送 $K, QID_1, H(R_{qt1} \oplus R_{nt1}) \oplus S_{11}, H(R_{qt1} \oplus R_{nt1}) \oplus W_1, H(R_{qt1} \oplus R_{nt1}) \oplus W_{n1}, R_{qt1}, R_{TTP}$ 和 ID_{TTP} 给标签.

步骤 5 当标签收到 TTP 发来的通讯信息后, 检查这个信息是否新鲜且正确: 如果不正确, 则停止协议; 如果正确, 则认为新所有者获得了原所有者对标签的所有权, 标签将先更新密钥 S_{new} , 再将该密钥根据权重值分割成新的子密钥 $S_{n11}, S_{n21}, S_{n22}, S_{n31}, S_{n32}$ 和 S_{n33} , 然后生成随机数 R_{nq1}, R_{nq2} 和 R_{nq3} , 再分别通过 Hash 函数加密的子密钥发送给多个新的所有者.

2 协议安全性分析

RFID 标签存在的安全和隐私问题, 是其尚未被广泛应用的主要原因之一. 在所有权转换过程中, 需要满足以下要求: 1) 原所有者不可以继续操作标签, 以保护标签所有权转换后新所有者的安全隐私, 即具备原所有者无关性; 2) 当新所有者获得标签的所有权后, 不能查看以前的数据, 以保护原所有者的安全隐私, 即保护标签信息的前向安全; 3) 确保在所有权转换过程中能够抵抗假冒攻击、重放攻击、跟踪攻击等. 笔者将从上述几个方面分析和验证本文协议.

2.1 前后向安全

当有新实体成为新所有者时, 该协议能及时地更新标签密钥, 以确保原所有者不能对标签进行任何操作, 即具备了原所有者无关性, 新所有者获得标签的所有信息以实现 RFID 标签所有权的完全转换; 确保新所有者知道标签的部分子密钥, 而不知道原所有者与标签的通信密钥, 不能获得标签之前的所有信息. 总之, 该方案同时保证了前向和后向安全性.

2.2 假冒攻击

如果有攻击者伪装成合法的新所有者向标

签发送消息时, 标签需验证发送者的身份, 由于新所有者的身份标识 QID 是唯一的, 所以攻击者的攻击无效. 这表明该协议对于假冒攻击是安全可靠的.

2.3 重放攻击

当标签收到原所有者发送的 OTA 和 R_{p1} 认证消息后, 就会对该消息进行响应. 攻击者也能获得该消息, 然后重复地将消息发送给合法的原所有者以进行重放攻击. 但是由于原所有者发送的通信消息和标签每次的响应消息都会生成不同的随机数, 因此重复发送相同的消息不能通过认证. 这表明该协议可以抵抗重放攻击.

2.4 跟踪攻击

当伪装成合法的新所有者的攻击者向标签发送 OTR 和 R_{qt} 时, 它将从标签处获得响应信息, 然后通过分析该信息以跟踪标签. 但是标签与所有者之间的每次认证会话通信中, 都将生成新的随机数 R_{nt1} , 并且 Hash 函数是单向的, 因此攻击者无法区分该响应信息来自于哪个标签区域. 这表明该协议可以抵抗跟踪攻击, 具有不可跟踪性.

3 协议计算性能分析

在 CPU 为 3.60 GHz, 存储器为 4 GB 的 Linux 系统环境中, 获取标签在执行本文协议和现有的其他同类协议时所消耗的时间并进行比较, 结果如图 4 所示. 从图 4 可以看出, 与其他同类协议相比, 本文所提出的所有权转移协议中标签的计算耗时较短, 适用于低成本标签.

4 结语

本文基于拉格朗日多项式插值算法, 提出了带有 TTP 权重的多所有者 RFID 标签所有权转换协议. 该协议通过原所有者与标签之间的双向认证、在可信第三方参与下的新所有者与标签之间的双向认证, 保证原所有者与新所有

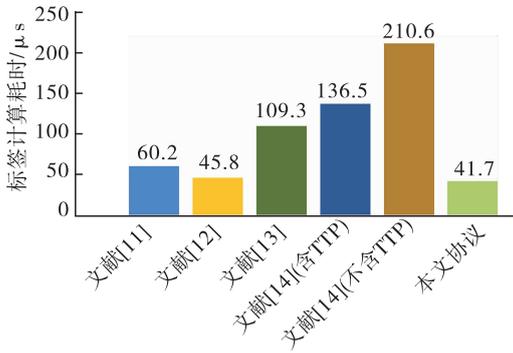


图4 本文协议与同类协议的标签计算耗时对比

Fig.4 Comparison of computation time cost by tag among the proposed protocol and the similar protocols

者的合法性;之后标签更新密钥,再将新密钥分割成多份子密钥,新所有者根据获得的权重值得到相应数量的子密钥份数.对该协议进行安全性分析和仿真实验性能分析,结果表明该协议能抵抗转换过程中的多种攻击,同时标签耗时较短,适用于低成本标签.

参考文献:

- [1] 张帆,孙璇,马建峰,等. 供应链环境下通用可组合安全的RFID通信协议[J]. 计算机学报, 2008,31(10):1754.
- [2] 周永彬,冯登国. RFID安全协议的设计和分折[J]. 计算机学报,2006,29(4):581.
- [3] 邵婧,陈越,常振华. RFID标签所有权转换模式及协议设计[J]. 计算机工程,2009,15:143.
- [4] MOLNAR D, SOPPERA A, WAGNER D. A scalable, delegatable pseudonym protocol enabling ownership transfer of RFID tags[J]. Lecture Notes in Computer Science, 2005, 3897(2):276.
- [5] SAITO J, IMAMOTO K, SAKURAI K. Reassignment scheme of an RFID tag's key for owner transfer[C]// Embedded and Ubiquitous Computing—EUC 2005 Workshops. Heidelberg: Springer, 2005:1303.
- [6] LIM C H, KWON T. Strong and robust RFID authentication enabling perfect ownership transfer [C] // Information and Communications Security. Heidelberg: Springer, 2006:1.
- [7] 甘勇,李天豹,许允倩. 轻量级RFID标签所有权匿名安全转换协议的研究[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2015,30(2):52.
- [8] 金永明,孙惠平,关志,等. RFID标签所有权转移协议研究[J]. 计算机研究与发展, 2011, 48(8):1400.
- [9] 沈金伟,凌捷. 一种改进的超轻量级RFID所有权转移协议[J]. 计算机科学, 2014, 41(12):125.
- [10] 苏庆,李倩,张俊源,等. 基于共享密钥的超轻量RFID标签所有权转移协议[J/OL]. 计算机工程与应用:1-6. [2017-02-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2127.TP.20170227.1544.042.html>.
- [11] YOON E J, YOO K Y. Two security problems of RFID security method with ownership transfer [C] // 2008 IFIP International Conference on Network and Parallel Computing. Piscataway: IEEE, 2008:68.
- [12] JAPPINEN P, HAMALAINEN H. Enhanced RFID security method with ownership transfer [C] // 2008 International Conference on Computational Intelligence and Security. Piscataway: IEEE, 2008,2:382.
- [13] ZHOU W, YOON E J, PIRAMUTHU S. Varying levels of RFID tag ownership in supply chains [C] // On the Move to Meaningful Internet Systems: OTM 2011 Workshops. Heidelberg: Springer, 2011:228.
- [14] KAPOOR G, PIRAMUTHU S. Single RFID tag ownership transfer protocols[J]. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part C: Applications and Reviews, 2012,42(2):164.



引用格式: 裘国永, 李丽, 李良福, 等. 基于自适应亮度高程模型的路面阴影消除算法研究[J]. 轻工学报, 2018, 33(1): 79-87.

中图分类号: TP391.4 文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.010

文章编号: 2096-1553(2018)01-0079-09

基于自适应亮度高程模型的路面阴影消除算法研究

Research on road shadow removal algorithm based on adaptive brightness elevation model

裘国永, 李丽, 李良福, 马卫飞

QIU Guoyong, LI Li, LI Liangfu, MA Weifei

陕西师范大学 计算机科学学院, 陕西 西安 710119

School of Computer Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China

关键词:

自适应亮度高程模型; 阴影消除; 最大熵阈值分割; 亮度补偿

Key words:

adaptive brightness elevation model;
shadow removal;
maximum entropy threshold segmentation;
luminance compensation

摘要: 针对亮度高程模型的阴影消除算法 GSR 的关键参数需要手动设置、亮度等高区域的划分和亮度补偿方法也都存在严重缺陷的问题, 提出一种基于自适应亮度高程模型的路面阴影消除算法 SGRSR: 首先, 采用形态学膨胀运算和高斯平滑滤波消除路面裂缝和路面纹理对后续阴影区域划分的影响; 然后, 利用最大熵阈值分割求解出高斯平滑后路面影像阴影区域和非阴影区域的划分阈值, 以此实现划分阈值的自适应确定; 最后, 基于改进的亮度等高区域划分模型和亮度补偿方法, 实现路面阴影的消除. 实验结果表明, 与 GSR 算法相比, 本算法不仅能够对路面阴影影像进行自动的阴影消除, 而且在阴影消除后, 路面影像的亮度过渡更加自然.

收稿日期: 2017-08-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(61573232)

作者简介: 裘国永(1964—), 男, 浙江省绍兴市人, 陕西师范大学副教授, 主要研究方向为智能信息处理、信息教育技术.

Abstract: For the problems of brightness elevation model shadow removal algorithm GSR, such as the manual setting of key parameters and the defect in the division of the equal brightness regions and the luminance compensation method, an road shadow removal algorithm SGRSR based on the adaptive brightness elevation model was proposed. Firstly, the influence of pavement crack and pavement texture for the division of the shadow region was eliminated by using morphological dilate operation and Gaussian smoothing filter. Secondly, the maximum entropy threshold segmentation algorithm was used to calculate the partition threshold value of the shaded area and the non-shaded area of the image after Gaussian smoothing. By this way, the threshold was determined automatically. Finally, the pavement shadow was eliminated by using the improvement of the equal brightness region partition model and the luminance compensation method. Experimental results showed that the SGRSA algorithm could eliminate the shadow of the pavement image automatically and had the more natural transition in the brightness of the pavement image compared with the GSR algorithm.

0 引言

中国公路交通正处于高速发展时期,随着公路里程的增加和人们对于行车安全性、舒适性要求的不断提高,高效的路面裂缝检测方法已经成为业界研究的重点^[1]。但是,路旁的建筑物、树木、灯杆等干扰物,常常会在路面上形成阴影^[2],这给路面裂缝的检测和特征的提取带来巨大的挑战。因此,在路面裂缝检测与特征提取之前,对路面上的阴影进行消除,对于道路的养护和管理至关重要。

为了消除影像中的阴影,国内外业界进行了广泛而深入的研究。H. Li 等^[3]在分析航空影像中阴影特点的基础上,提出了一种遥感航空影像自适应非局部正则化阴影消除方法;T. P. Wu 等^[4-5]采用人工标记和贝叶斯网络方法研究了复杂场景下阴影提取的问题;E. Arbel 等^[6]假设半影区域的亮度分布为一个弧形的曲面,然后通过曲面拟合的方法实现彩色影像中半影区域纹理的恢复;F. Liu 等^[7]基于原始影像,构建了一个没有阴影并且纹理一致的梯度区域,并且以此为模板消除影像中的阴影;A. Mohan 等^[8]开发了一款阴影消除的编辑软件,通过人工指定阴影区域的边界,设置亮度补偿的强度,进而实现影像中阴影的消除;G. D. Finlayson 等^[9-11]假设阴影区与非阴影区过渡边界

的梯度为零,以此为基础进行阴影的消除;W. Zhang 等^[12]利用双边缘成像的方法对交通影像中的阴影消除进行了研究;R. Ramamoorthi 等^[13-14]基于傅里叶理论对投射阴影进行了研究;N. Salamati 等^[15]基于概率阴影图对消除真实影像中的阴影进行了研究。但是,上述这些阴影消除算法并没有完全解决阴影消除后,阴影区域和非阴影区域纹理对比度不一致、阴影区域和非阴影区域亮度过渡不自然、对阴影不能自动进行消除的问题。加之,路面阴影具有半影区巨大、形状极不规则的特点,如果直接使用上述阴影消除算法,则路面阴影消除的效果很差。

针对路面阴影的特点,邹勤等^[2,16]提出了一种基于亮度高程模型的阴影消除算法 GSR,有效地解决了阴影区域和非阴影区域难以界定、阴影区域路面裂缝和路面纹理对比度不强的问题。但是,GSR 算法中的关键参数需要根据经验值进行手动设置,并且 GSR 算法中的亮度等高区域的划分模型和亮度补偿方法存在比较严重的缺陷。鉴于此,本文拟提出一种基于自适应亮度高程模型的路面阴影消除算法,简称 SGRSR 算法,以期解决 GSR 算法存在的问题,使路面阴影消除更真实自然。

1 GSR 算法

在自然环境中,由于太阳光的照射,路旁的

建筑物、树木和路灯等干扰物常常会在路面上形成阴影.同时,由于物体本身对于太阳光线也会发生反射、漫反射等物理现象,因此,路旁的这些干扰物在路面上形成的阴影具有半影区巨大、形状极不规则的特点,所以对阴影区域的准确界定十分困难;另一方面,由于在同一幅路面阴影影像中,各像素点的亮度值都是在同一时间内采集得到的,这就使得阴影区域路面裂缝和路面纹理的对比度弱于非阴影区域路面裂缝和路面纹理的对比度.这些细节都会增加路面阴影消除的难度.路面阴影的特点如图1所示.

GSR算法的步骤大致可以分为以下4步.

步骤1 形态闭合运算(*mmClose*).采用形态学闭合运算对原始路面影像进行处理,去掉路面的裂缝,消除裂缝对后续阴影区域划分的影响.

步骤2 高斯平滑(*gauSmooth*).对上一步所得结果进行二维高斯平滑,其目的是将路面纹理进行平滑处理,消除路面纹理对后续阴影区域划分的影响.

步骤3 亮度等高区域划分(*geoLevel*).首先计算 $N-1$ 个阈值, $0 \leq K_1 \leq K_2 \leq \dots \leq K_{N-1} \leq 255$, 用于将上一步得到的影像划分为不同的亮度等高区域 $\{G_i | i = 1, \dots, L, \dots, N\}$, 使区域 G_i 包含亮度值 $I \in (K_i - 1, K_i]$ 的所有像素, 其中 $K_0 = -1, K_N = 255$; 为了使亮度等高区域划分算法具有普遍适用性, 各个亮度等高区域的像素

数量保持一致; 选取 L 个较低的亮度等级 $S = \{S_i = G_i | i = 1, 2, \dots, L\}$ 作为阴影区域, 而较高的 $N-L$ 个亮度等级 $B = \{G_i | I = L+1, L+2, \dots, N\}$ 作为非阴影区域, 其中 L 取经验值 $(7/8) \times N$.

步骤4 具有纹理均衡的亮度补偿(*illum-Comp*).在原始路面影像中, 对每一等级的阴影区域 S_i 进行亮度补偿, 所对应的的亮度补偿公式为

$$I'_{i,j} = \begin{cases} \alpha \times I_{i,j} + \lambda & (i,j) \in S \\ I_{i,j} & (i,j) \in B \end{cases} \quad (1)$$

其中, $\alpha = D_B/D_S$, D_B 和 D_S 分别表示非阴影区域和阴影区域像素亮度值的标准方差; $\lambda = I'_B - \alpha \times I'_S$, I'_B 和 I'_S 分别表示非阴影区域和阴影区域像素亮度的平均值.

2 SGRSR 算法

2.1 SGRSR 算法对 GSR 算法的改进

2.1.1 对形态学闭合运算的改进 三通道的路面影像在经过灰度化之后, 就转换成了单通道的灰度影像. 在路面裂缝的灰度影像中, 路面裂缝的灰度等级较低, 并且大多数时候与黑色比较接近. 因此, 使用形态学中的膨胀运算就可以消除路面裂缝. 当然, 使用形态学闭合运算也可以达到消除路面裂缝的目的, 但是, 形态学闭合运算是先进行膨胀运算, 再进行腐蚀运算, 不



图1 路面阴影的特点

Fig. 1 The characters of the pavement shadow

仅增加了算法的时间复杂度,还使阴影区域和非阴影区域交界处的灰度强度变化更加剧烈,这将会导致在阴影消除后的路面影像中,阴影区域和非阴影区域的亮度出现过渡不自然的现象.基于以上分析,SGRSR 算法将 GSR 算法中的形态学闭合运算改进为形态学膨胀运算.

2.1.2 对阴影区域和非阴影区域划分阈值的改进 由 GSR 算法中的步骤 3 可知,GSR 算法中阴影区域和非阴影区域的划分阈值 L 需要根据经验进行手动设置,显然这是不合理的.尤其是针对海量的路面影像进行阴影消除时,将会显得十分不科学.针对这一问题,本文对高斯平滑后的路面阴影影像进行了深入的分析(见图 2).在图 2b)高斯平滑后的路面影像中取 3 条剖面线 Sec. 1, Sec. 2 和 Sec. 3,图 2c)—e)分别为这 3 条剖面线的亮度分布直方图,从中可以看出,在阴影区域与非阴影区域的交界区域,灰度的亮度值出现剧烈的变化. SGRSR 算法对阴影区域和非阴影区域的划分阈值进行了改进,具体做法是对高斯平滑后的路面影像进行最大

熵阈值分割,求解出这一阈值分割过程中的分割阈值,并且将此阈值作为阴影区域和非阴影区域的划分阈值,从而实现划分阈值的自适应确定.图 2f)为高斯平滑后的路面阴影影像进行最大熵阈值分割后的结果.

2.1.3 对亮度等高区域划分模型的改进

GSR 算法将每一个亮度等高区域内的像素点数目设为 n_g ,并且使各个亮度等高区域内的像素点数量保持一致.但是,仔细推导亮度等高区域划分算法可知,该算法并不能保证各个亮度等高区域内的像素点数量大体一致,阴影消除后的路面影像出现亮度过渡极其不自然的问题. SGRSR 算法对 GSR 中亮度等高区域划分算法进行了改进,具体的做法是将原算法中每一灰度等级遍历一次影像之后才将此灰度等级内的像素点数量与 n_g 进行比较,改为在每一灰度等级中遍历图像的一行之后就立刻将此灰度等级内的像素点数量与 n_g 进行比较,改进之后的亮度等高区域划分算法如下.

输入:高斯平滑之后的路面阴影影像 img_s ,

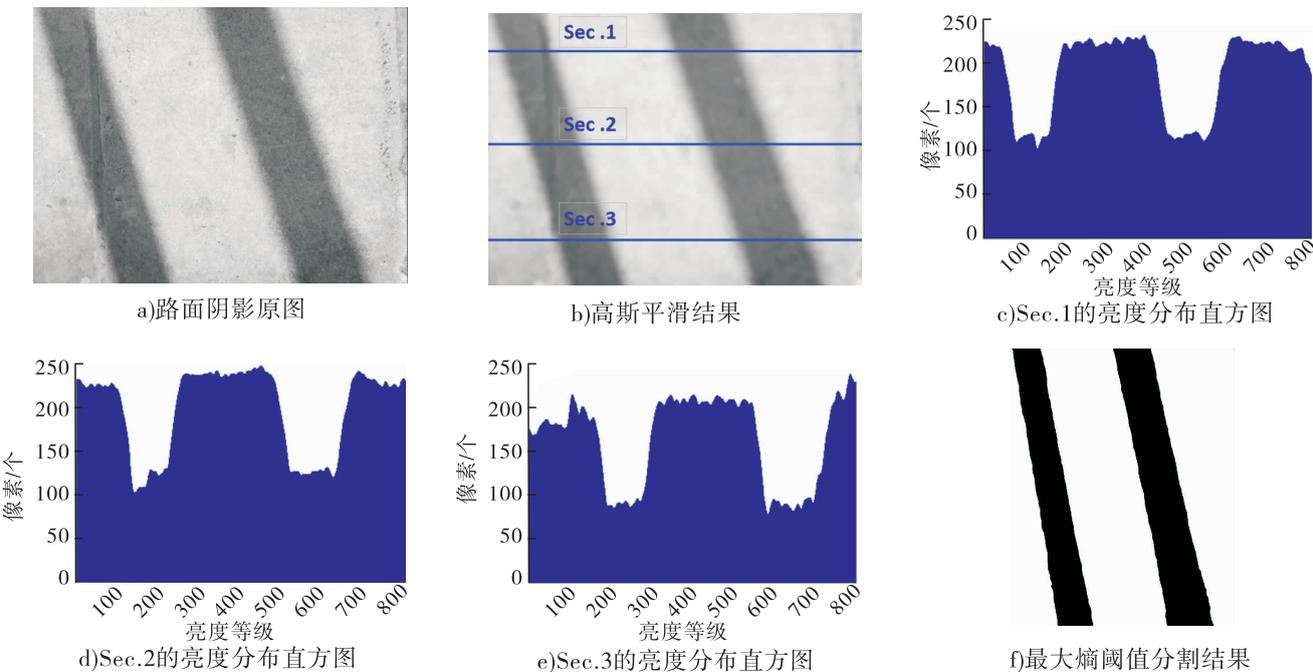


图 2 高斯平滑后的路面阴影影像分析

Fig. 2 The analysis of the pavement image after Gauss smoothing

亮度等高区域的数目 $N = 256$;

输出:亮度等高区域 $\{G_i | i = 1, \dots, L, \dots, N\}$

procedure *geoLevel*

$$n_g = \frac{\text{Width}(img_s) * \text{Height}(img_s)}{N}, i = 1,$$

$sum = 0$;

for $k = 0$ to 255

for $h = 0$ to $\text{Height}(img_s)$

for $w = 0$ to $\text{Width}(img_s)$

P_k 获取像素亮度值为 k 的所有

像素;

将 P_k 加入 G_i ;

$sum = sum + \text{Number_of_Pixel}(P_k)$;

end for

if $sum \geq n_g$ then $i = i + 1, sum = 0$;

end if

end for

end for

$N = i$

End procedure

2.1.4 对亮度补偿公式的改进 由亮度补偿公式①可知,GSR 算法中的亮度补偿只针对阴影区域进行,但公式①并不能十分精确地计算出阴影区域中每一个像素点的亮度与该像素点在太阳光线相同强度照射下的亮度差值,因此,在进行路面阴影消除的时候,如果仅仅只对阴影区域的像素点进行亮度补偿,有可能会出现在阴影消除后的路面影像阴影区域和非阴影区域亮度过渡不自然的问题.SGRSR 算法对 GSR 算法中的亮度补偿公式进行了改进,改进之后的亮度补偿公式为

$$I'_{i,j} = \alpha \times I_{i,j} + \lambda \quad (2)$$

其中, $I_{i,j}$ 为路面影像中每一像素点的亮度值。

通过参数 α 的引入,亮度补偿公式①可以将阴影区域的方差提升到非阴影区域的水平。由于影像像素方差的大小通常反映了影像对比

度的强弱,因此,亮度补偿公式①可以使阴影消除后的路面影像的纹理细节保持一致。但深入研究后发现,当 D_s 趋于无穷小时,也就是当影像中阴影区域的对比度极其微弱的时候,关键参数 α 的值将会趋于无穷大,从而使得亮度补偿公式①失效.SGRSR 算法对 α 的计算方式进行了改进,改进之后的计算公式为

$$\alpha = \begin{cases} \frac{D_B}{D_S} & D_s \geq 1 \\ D_B & D_s < 1 \end{cases}$$

2.2 SGRSR 算法步骤

通过对 GSR 算法缺陷的分析与改进,提出了 SGRSR 算法,其步骤如下。

步骤 1 影像的灰度化运算(*grayImg*)。将采集到的 RGB 路面阴影影像通过影像的灰度化运算,转换为灰度影像,为阴影消除算法的后续处理做好准备。

步骤 2 形态学膨胀运算(*mmDilate*)。采用形态学中的膨胀运算对原始路面影像的灰度影像进行处理,去除路面影像中的路面裂缝。因为在灰度影像中,路面裂缝的灰度与阴影区域的灰度比较接近,形态学膨胀运算可消除路面裂缝对于后续路面阴影区域和非阴影区域划分的影响。

步骤 3 高斯平滑(*gauSmooth*)。对上一步经过形态学膨胀运算所得的结果进行二维高斯平滑,消除路面纹理对于后续阴影区域划分的影响。

步骤 4 最大熵阈值分割(*metSegment*)。对上一步经过高斯平滑的路面影像进行最大熵阈值分割,求解出阴影区域和非阴影区域分割过程中的阈值,并且将此阈值记为 *metS*。本步操作的目的有两点:一是实现阴影区域和非阴影区域划分阈值的自适应确定,而不必再基于经验值进行手动设置;二是确定路面影像中阴影区域和非阴影区域的位置。

步骤5 求解非阴影区域的关键参数 D_B 和 I'_B (*brightParameter*). 根据上一步确定的路面非阴影区域,求解出非阴影区域的关键参数 D_B 和 I'_B ,目的是为后续全影像亮度补偿做准备.

步骤6 改进亮度等高区域划分模型 (*ige-oLevel*). 根据改进的亮度等高区域划分算法,将经过高斯平滑的路面影像划分为 N 个不同的亮度等高区域 $\{G_i | i = 1, \dots, L, \dots, N\}$,使区域 G_i 包含亮度值 $I \in (K_i - 1, K_i]$ 的所有像素,其中 $K_0 = -1, K_N = 255$.

步骤7 全影像亮度补偿 (*allillumComp*). 在原始路面影像的灰度影像中,根据上一步划分的亮度等高区域,首先计算出每一亮度等高区域像素亮度的方差 D'_s 和像素亮度的平均值 I'_s ;然后,计算出每一亮度等高区域的 α 值;最后,再根据亮度补偿公式②对全影像进行亮度补偿.

3 SGRSR 算法验证

为了验证本文提出的 SGRSR 算法的有效性,设计了4组对比实验,用于对 SGRSR 算法中的关键步骤进行分析,结果如表1和图3—图6所示. 本文算法的程序是基于 VC, OpenCv 和 Matlab 开发的,程序的运行环境为 Windows 10, CPU 为 3.3 GHz, 内存为 8 G.

1) 第1组实验:测试 SGRSR 算法对于 GSR 算法中形态学闭合运算的改进情况. 实验的结果如表1和图3所示.

表1 SGRSR 膨胀运算与 GSR 闭合运算进行路面裂缝消除的性能对比

Table 1 The performance comparison of eliminating pavement cracks using *mmDilate* and *mmClose*

路面阴影影像	影像分辨率/像素	GSR 算法的处理时间/ms	SGRSR 算法的处理时间/ms	性能提高率/%
图 3a)	856 × 612	10.767 10	5.539 85	49.86
图 3f)	1632 × 1224	4.594 39	2.422 10	47.28

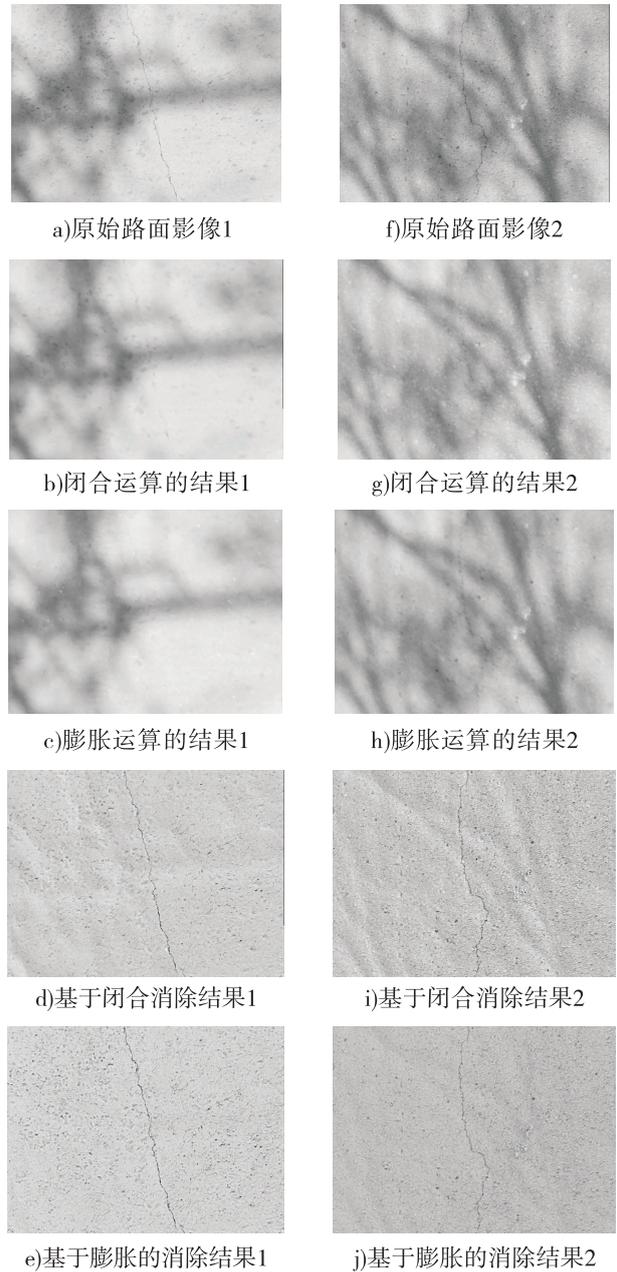


图3 SGRSR 膨胀运算与 GSR 闭合运算对于路面裂缝消除及阴影消除结果的对比

Fig. 3 The result comparison of eliminating pavement cracks and removing shadow using *mmDilate* and *mmClose*

由表1和图3可知,SGRSR 算法中的形态学膨胀运算同样可以达到 GSR 算法形态学闭合运算消除路面裂缝的目的,还能更好地实现路面阴影的消除,并且在算法性能上大大优于 GSR 中的形态学闭合运算.

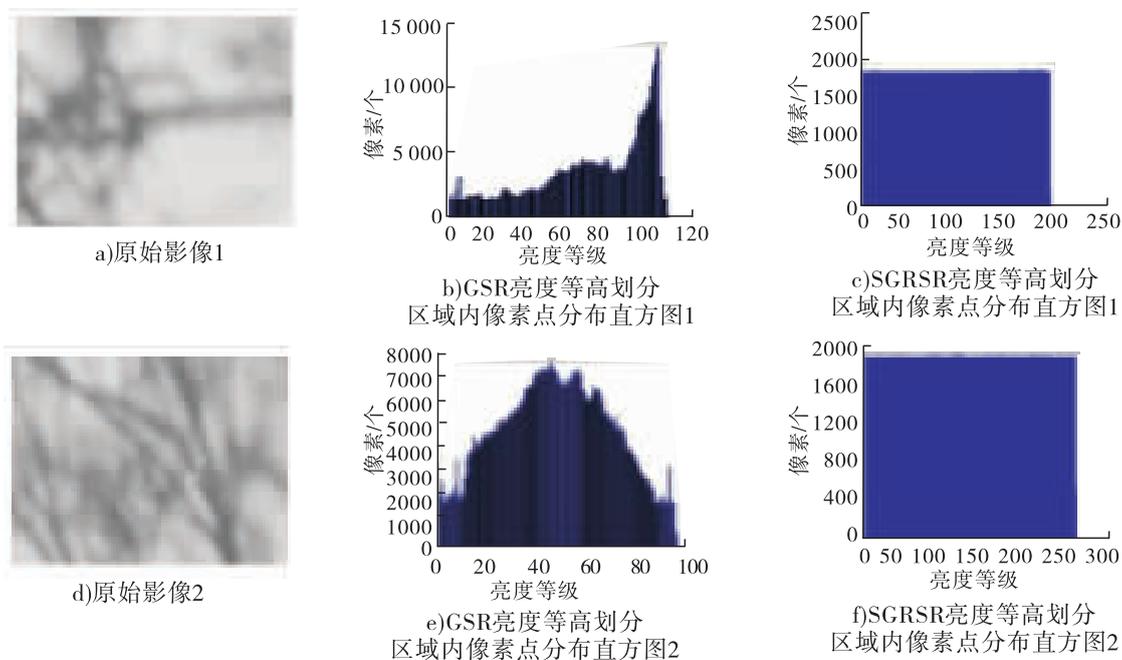


图 4 GSR 算法和 SGRSR 算法亮度等高区域划分模型的对比

Fig. 4 The comparison of the classification of luminance levels using GSR and SGRSR

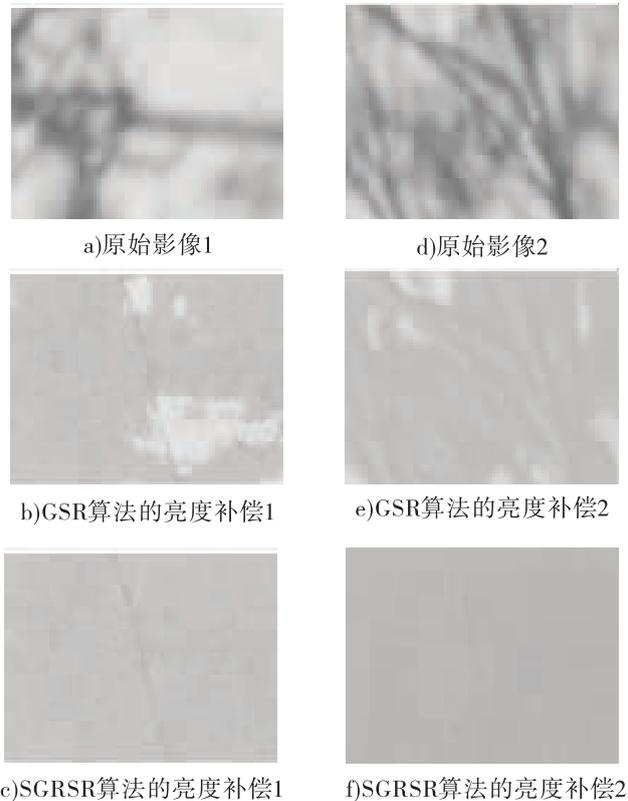


图 5 GSR 算法和 SGRSR 算法亮度补偿效果的对比

Fig. 5 The result comparison of luminance compensation using GSR and SGRSR

2) 第 2 组实验:测试 SGRSR 算法对于 GSR 算法中亮度等高区域划分模型的改进情况. 实验结果如图 4 所示. 由图 4 可见, SGRSR 算法中改进的划分模型可以使得各个亮度等高区域内的像素点数量基本保持一致, 这有利于增强 SGRSR 算法对其他阴影消除的适用性, 并且会使阴影消除后的路面影像的亮度过渡更加自然.

3) 第 3 组实验:测试 SGRSR 算法对于 GSR 算法中亮度补偿公式的改进情况. 实验结果如图 5 所示. 由图 5 可见, 基于 GSR 算法中的亮度补偿公式进行阴影消除后, 路面影像会出现亮度分布不均匀的问题, 而基于 SGRSR 算法改进之后的亮度补偿公式, 则可以很好地弥补这一缺陷.

4) 第 4 组实验:测试 SGRSR 算法和 GSR 算法的路面阴影消除能力. 实验结果如图 6 所示. 由图 6 可见, 基于 GSR 算法对路面阴影进行消除, 路面影像阴影区域和非阴影区域亮度过渡不自然, 而且路面影像整体亮度分布不均匀; 而本文所提出的 SGRSR 算法不仅不存在以

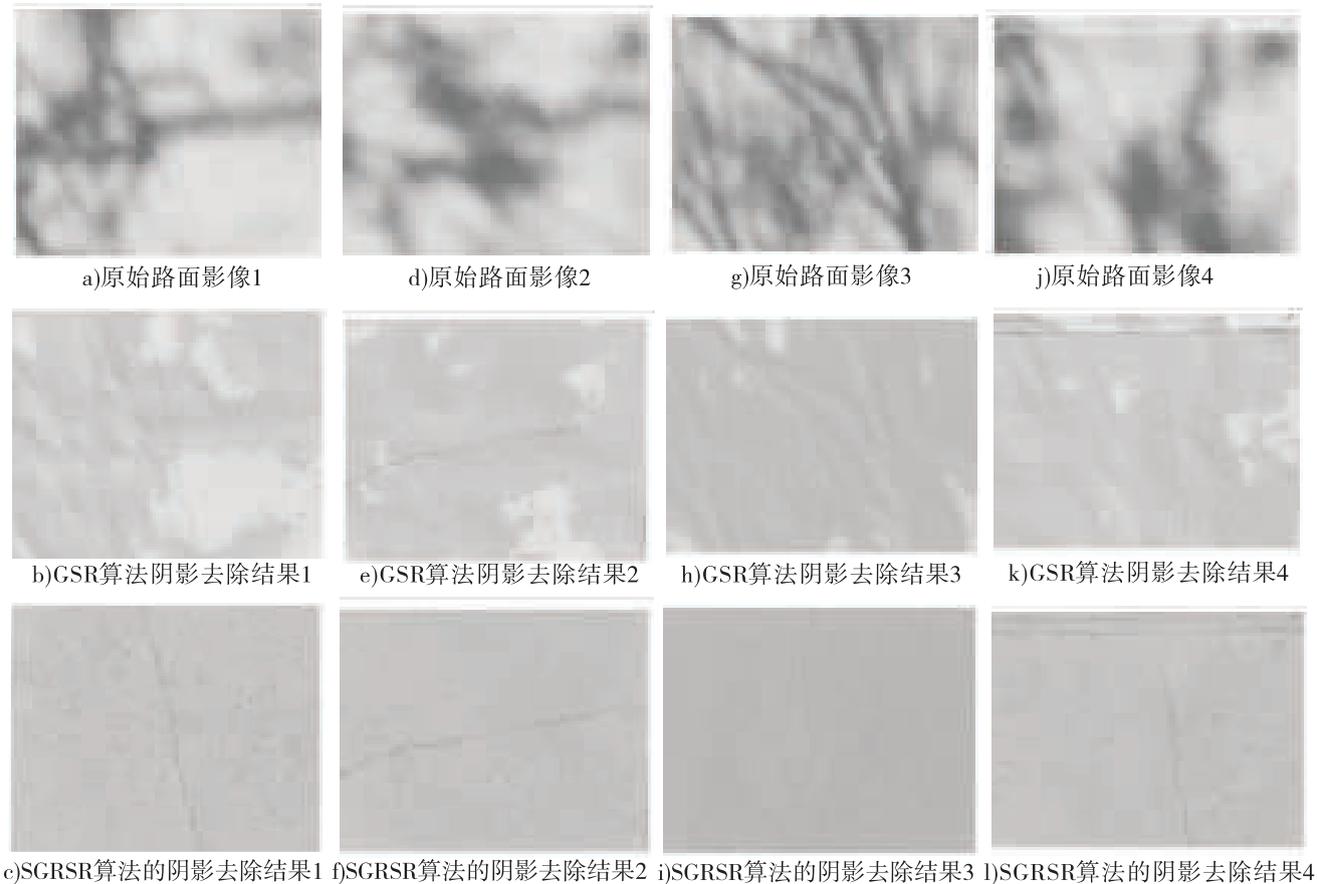


图6 GSR算法和SGRSR算法阴影去除效果的对比

Fig. 6 The comparison of result of removing shadow using GSR and SGRSR

上问题,而且还能增强路面纹理和路面裂缝的对比度,明显优于GSR算法,可以满足实际工程中路面阴影消除的需求。

4 结语

针对亮度高程模型的阴影消除算法GSR中的关键参数需要手动设置、亮度等高区域划分模型和亮度补偿公式的缺陷,本文在改进GSR算法的基础上提出了SGRSR算法.实验结果表明,该算法不仅有效地解决了GSR算法存在的问题,而且还在一定程度上增强了路面纹理和路面裂缝的对比度,达到了消除路面阴影的目的.未来进一步研究的重点是在不断增强SGRSR算法路面阴影消除能力的情况下,基于CUDA,OpenMP,SSE等策略对算法作进一步优化,提高算法的处理速度,使其在实际的工程应

用中表现出更好的性能。

参考文献:

[1] 彭博,蒋阳升,韩世凡,等.路面裂缝图像自动识别算法综述[J].公路交通科技,2014,31(7):19.

[2] 邹勤.低信噪比路面裂缝增强与提取方法研究[D].武汉:武汉大学,2012.

[3] LI H,ZHANG L,SHEN H. An adaptive nonlocal regularized shadow removal method for aerial remote sensing images [J]. IEEE Transactions on Geoscience & Remote Sensing, 2014, 52(1):106.

[4] WU T P,TANG C K,BROWN M S,et al. Natural shadow matting [J]. ACM Transactions on Graphics,2007,26(2):8.

- [5] WU T P, TANG C K. A bayesian approach for shadow extraction from a single image [C] // Tenth IEEE International Conference on Computer Vision. Piscataway: IEEE, 2005: 480 – 487.
- [6] ARBEL E, HEL-OR H. Texture-preserving shadow removal in color images containing curved surfaces [C] // 2007 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. Piscataway: IEEE, 2007: 1 – 8.
- [7] LIU F, GLEICHER M. Texture-consistent shadow removal [C] // 10th European Conference on Computer Vision. Heidelberg: Springer, 2008: 437 – 450.
- [8] MOHAN A, TUMBLIN J, CHOUDHURY P. Editing soft shadows in a digital photograph [J]. Computer Graphics & Applications IEEE, 2007, 27(2): 23.
- [9] FINLAYSON G D, DREW M S, LU C. Intrinsic images by entropy minimization [M] // European Conference on Computer Vision-ECCV 2004. Heidelberg: Springer, 2004: 582 – 595.
- [10] FINLAYSON G D, HORDLEY S D, LU C, et al. On the removal of shadows from images [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, 2006, 28(1): 59.
- [11] FINLAYSON G D, HORDLEY S D, DREW M S. Removing Shadows from Images [C] // European Conference on Computer Vision. Heidelberg: Springer, 2002: 823 – 836.
- [12] ZHANG W, ZHANG G, WANG Y, et al. An investigation into shadow removal from traffic images [J]. Transportation Research Record Journal of the Transportation Research Board, 2007, 2000(1): 70.
- [13] RAMAMOORTHY R, KOUDELKA M, BELHUMEUR P. A fourier theory for cast shadows [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, 2005, 27(2): 288.
- [14] RAMAMOORTHY R, KOUDELKA M, BELHUMEUR P. A fourier theory for cast shadows [C] // European Conference on Computer Vision. Heidelberg: Springer, 2004: 146 – 162.
- [15] SALAMATI N, GERMAIN A, SIISSTRUNK S. Removing shadows from images using color and near-infrared [C] // IEEE International Conference on Image Processing. Piscataway: IEEE, 2011: 1713 – 1716.
- [16] ZOU Q, CAO Y, LI Q, et al. Crack Tree: Automatic crack detection from pavement images [J]. Pattern Recognition Letters, 2012, 33(3): 227.



引用格式:杨浩杰,刘刚. 基于优化 FCM 算法的法医学人体损伤面积测算技术研究[J]. 轻工学报,2018,33(1):88-95.

中图分类号:D631.15 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.011

文章编号:2096-1553(2018)01-0088-08

基于优化 FCM 算法的 法医学人体损伤面积测算技术研究

Research of human body injury area measurement

technology in forensic medicine based on the optimization of FCM algorithm

杨浩杰¹, 刘刚²

YANG Haojie¹, LIU Gang²

关键词:

人体损伤面积; 图像分割; 模糊 C 均值; 人工鱼群算法; 超像素

Key words:

human body injury area; image segmentation; fuzzy C-means; artificial fish swarm algorithm (AFSA); superpixel

1. 铁道警察学院 实验和网络信息中心, 河南 郑州 450053;

2. 河南省招生办公室, 河南 郑州 450046

1. *Experiment and Network Information Center, Railway Police College, Zhengzhou 450053, China;*

2. *Higher Education Admission Office of He'nan Province, Zhengzhou 450046, China*

摘要:针对传统法医学人体损伤面积测算方法耗时长、聚类效果不佳等缺陷,提出一种基于优化模糊 C 均值(FCM)算法的图像分割 SLIC-AFSA-FCM 算法,以便准确而又方便地测量法医学人体损伤面积. 该算法采用超像素技术缩小待处理图像的像素样本规模;使用多子群并行人工鱼群算法(MSSP_AFSA)对像素样本集进行预处理,计算最佳图像分割初始聚类中心;利用 FCM 算法进行图像分割聚类划分. 验证实验结果表明,改进后的算法对人体损伤图像分割的速度和面积测算精度较 K-means 算法和 FCM 算法均有很大提升.

收稿日期:2017-05-27

基金项目:河南省科技攻关计划项目(132102210065);河南省高等学校重点科研项目(17B520033)

作者简介:杨浩杰(1975—),男,河南省汝州市人,铁道警察学院讲师、高级工程师,硕士,主要研究方向为软件工程与智能算法.

Abstract: In view of the defects of traditional forensic human body injury area measurement method such as long time consuming and poor clustering effect and so on, an image segmentation algorithm named SLIC-AFSA-FCM was proposed based on the optimized fuzzy C-means (FCM) algorithm to measure the forensic human body injury area. The algorithm used super-pixel technology to reduce the pixel sample size of the image to be processed, preprocessed the pixel sample set using a multi-subgroup parallel artificial fish swarm algorithm (MSSP_AFSA) to calculate the optimal image segmentation initial cluster center, and used the FCM algorithm to perform image segmentation of cluster classification. The experimental results showed that the improved algorithm could greatly improve the speed and area estimation accuracy of human body injury images compared with K-means and FCM algorithms.

0 引言

人体损伤指人体体表遭受的烧烫伤、车祸外伤、挫伤等体表伤。在公安法医人体伤残等级鉴定工作中,人体损伤面积大小是影响案件鉴定结果的关键因素。目前,法医行业对人体损伤面积的计算大多采用人工测算方法,即首先把损伤区域图片剪裁后粘贴在坐标纸上,然后统计坐标纸中的网格数量,以此来近似估算损伤区域面积。这种方法较为复杂,同时由于人体体表损伤具有形态不规则的特点,损伤区域边缘位置是否算作统计范围一般由法医决定,不同鉴定人的测量结果往往不同,不利于法庭的证据出示,因而不能有效保障法医鉴定工作的公正性。

国内针对不规则人体损伤面积测算技术的研究起步较早,1996年起,沈渭忠等^[1-2]先后研发了人体损伤面积测算软件,但因操作复杂且必须使用专门设备,故普及率较低。随着计算机医学图像处理技术的飞速发展,利用图像分割^[3]技术进行损伤面积测算得到认真研究和广泛应用。贺向前等^[4]利用K-均值聚类分割算法分割出损伤区域,然后使用区域生长法计算损伤面积,其测算结果相对坐标纸上计算网格数的方法有一定程度的改进。韩胜等^[5]利用基于区域分割的多种图像分割方法对原始图像进行分割处理,对标记出的不规则损伤区域使用逐点扫描的方法得到误差小于0.5%的实际面

积,但其研究仅限于 Matlab 平台的验证,距离实际应用尚有一定距离。利用图像分割技术计算人体损伤面积的关键在于图像分割算法的性能和准确率。随着数码影像设备性能的增强,案件现场摄取图像的分辨率不断提高,图像所包含的像素数目巨大,从而大大增加了图像分割算法的运行时间,降低了其运行效率,也增大了图像分割的难度。因此,如何降低图像分割算法的运算量成为图像分割中的一大难题^[6]。

模糊C均值FCM(fuzzy C-means)算法是一种基于迭代优化的模糊聚类算法,它由C均值聚类得到聚类中心的次最优解,再进行模糊聚类得到图像的最优聚类分割,具有良好的局部收敛性。其图像分割过程完全自动化,可以很好地处理噪声、部分体积影响和图像模糊等问题,非常适合人体损伤图像的分割。但是对于清晰度较高的图片,聚类计算过程将耗费大量的时间和空间资源。此外,由于算法对初值非常敏感,极易因为初始聚类中心不佳而陷入局部极值,这在很大程度上制约了FCM算法在医学图像分割领域的深入应用。鉴于此,本文拟提出一种基于优化FCM算法的图像分割SLIC-AFSA-FCM算法。该算法以FCM算法为核心,利用笔者改进的多子群并行人工鱼群算法(MSSP_AFSA)^[7]为其计算出最佳初始聚类中心,同时使用超像素技术缩小图像像素样本集规模,以提升法医学人体损伤面积测算的准确性和效率。

1 优化 FCM 图像分割算法

1.1 超像素分割算法

超像素是图像中的一个小区域,由一系列位置相邻且颜色、亮度、纹理等特征相似的像素点组成.超像素在强化图像局部一致性的同时,保留了图像原始边界信息,其分割出的原子区域还包含了形状、边界轮廓信息、区域灰度直方图等单个像素所不具备的图像特征.与单像素处理技术相比,其算法复杂度较低,因此被广泛地应用于图像分割及计算机视觉领域等^[8-10].

超像素分割方法主要有 turbo pixel, N-cuts, watershed, SLIC, superpixel^[11] 等.其中 SLIC (simple linear iterative clustering) 算法实现较为简单,待分割超像素的数量可以预先人为设定,并且能够分割彩色图像和灰度图像,可以生成结构紧凑、近似均匀的超像素,在运算速度、物体轮廓保持、超像素形状方面能达到人们期望的分割效果.基于以上优点,本文采用 SLIC 算法进行超像素计算.

1.2 多子群并行人工鱼群算法 (MSSP_AFSA)

为优化 FCM 算法的初始聚类中心,本文引入群体智能算法中的人工鱼群算法 AFSA (artificial fish swarm algorithm). AFSA 具有全局最优性和并行运算快速性,并且对初值不敏感,因此可以使用该算法对图像进行初始优化,根据预定的聚类数目得到最优聚类中心,将其作为 FCM 算法的初始聚类中心进行图像分割处理,进而得到最优的图像分割结果.在实际使用中,

传统 AFSA 算法在面对由大量图像像素组成的样本集,人工鱼个体进行寻优操作时,各种行为的迭代寻优及大量的适应度计算评价会导致算法的运行速度极其缓慢,无法满足实时计算的要求.

MSSP_AFSA 的优化策略是对鱼群行为进行优化、动态调整视野、改进步长计算方法和全局行为模式等.改进的 MSSP_AFSA 使用并行技术,把整个鱼群划分为多个子群,每个子群分配在不同的处理机上并发执行,子群根据相同的全局优化信息执行改进的鱼群行为,从而实现“子群自治、全局寻优”和有效提高寻优速度、精度的目的,使其更加适合大规模数据寻优应用场合.本文采用改进后的 MSSP_AFSA,并针对大分辨率图像分割像素样本集过大、影响算法运行效率的问题,使用超像素分割算法生成小数量的超像素样本,替代原始像素样本,以提高传统 FCM 算法对人体损伤图像的分割速度与质量.

1.3 算法流程

优化 FCM 图像分割算法流程如图 1 所示.

2 算法实现中的关键技术

2.1 彩色图像的灰度处理

对于 24 位彩色图像,其包含的每个像素用 3 个字节表示,每个字节对应 R(红),G(绿)和 B(蓝)3 个分量的亮度.当 R,G,B 分量不同时,表现为彩色图像,当 R,G,B 分量相同时,表现为灰度图像,其中灰度值的转换采用如下公式:

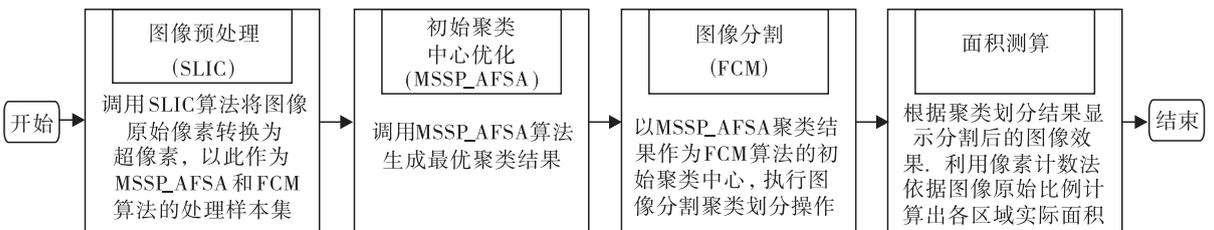


图 1 优化 FCM 图像分割算法流程

Fig. 1 Optimized FCM image segmentation algorithm flow

$$\begin{aligned} Gray(i, j) = & 0.299 \times R(i, j) + \\ & 0.587 \times G(i, j) + 0.114 \times B(i, j) \end{aligned}$$

变换后的灰度图像仍然用 24 位图像表示。

本文进行图像分割时,为加快处理速度、缩小样本集规模并降低算法的复杂度,运用上面的公式将彩色图像转换为灰度图像,以此作为图像分割的初始样本集。

2.2 超像素样本集转换

原始图片转换为灰度图像后,其包含的像素数量仍然非常庞大,为保证在不影响分割质量的前提下进一步缩小样本集规模,SLIC-AFSA-FCM 算法调用 SLIC 算法生成少量的超像素。首先设定要生成的超像素数目,然后将像素由 RGB 空间转换到 LAB 空间,通过计算,生成预定数目的超像素,最后将生成的超像素复原回 RGB 空间,作为待处理样本交给 AFSA 进行聚类计算。

2.3 AFSA 的聚类编码规则

利用 AFSA 解决聚类问题,将每条人工鱼作为一个可行解组成鱼群(解集),解集分为以聚类结果为解和以聚类中心集合为解两种。本文以聚类中心集合作为对应解,每条人工鱼表示为所有聚类中心的向量,人工鱼的每个位置状态表示为 1 个随机像素点。人工鱼的目标函数

定义为误差平方和 $\frac{1}{J_c}$,且

$$J_c = \sum_{i=1}^c \sum_{k=1}^n \|v_i - x_k\|^2$$

其中, c 为聚类中心的个数, v_i 为聚类中心, x_k 为聚类对象。 J_c 值最小的聚类方法为最佳聚类方法。

2.4 图像分割结果的显示技术

图像的灰度像素经过聚类分析后,得到与原始彩色像素一一对应的分类结果,需要根据分类结果对原始图像按像素类别进行色彩描绘,从而使图像各个分类区域呈现不同色彩。本文对 RGB 色彩空间各类别颜色的计算方法如

下:将各类别像素的 RGB 通量累加后与总数量相除得到平均值,将该平均值作为该类像素的 RGB 值显示。

2.5 图像相对比例面积计算方法

随着数码相机硬件和摄影技术的不断发展,很多数码图像都不再是按照 1:1 比例拍摄的,其实际面积计算必须参照某个标尺坐标才有意义,不加参照比例的图像面积称作相对比例面积,其计算公式为

$$\begin{aligned} Area_{total} = & (Width/Dip_x) \times \\ & 2.54 \times (Height/Dip_y) \times 2.54 \end{aligned}$$

其中, $Width$ 和 $Height$ 分别为图像水平和垂直方向的像素数量, Dip_x 和 Dip_y 分别为图像水平和垂直方向的分辨率。

在对原始图像进行聚类分割处理后,分割出的各类区域面积可由该类别像素总数量占图像总像素数量的比例换算得出,公式如下:

$$Area_i = \frac{Pixel_i}{Pixel_{total}} \times Area_{total}$$

其中, $Area_i$ 为分割出的某类像素区域面积, $Pixel_i$ 为该类别像素总数量, $Pixel_{total}$ 为图像总像素数量, $Area_{total}$ 为图像相对比例面积。

2.6 图像分类实际面积测算方法

本文借助研发的软件和 PhotoShop 工具,对分割出的各类图像区域进行实际面积的测算,具体步骤如下。

步骤 1 由软件系统根据 2.5 中公式对原始图像进行计算,得到图像相对比例面积/cm²。

步骤 2 利用 PhotoShop 的套索工具,选择人体损伤原始图像的损伤区域(粗略选择)并将背景区域填充为黑色后保存,作为待处理图像。

步骤 3 将待处理图像利用软件系统进行聚类分割,聚类数目根据人体损伤区域面积测算工作的实际要求,一般设置为两类或三类。软件系统自动计算出各类分割区域的相对比例

面积.

步骤 4 利用 PhotoShop 的标尺工具,在人体损伤原始图像中测量出图像标尺标记的 1 cm 实际长度,并根据此长度画出一个正方形区域,此区域面积即为标准 1 cm² 代表的图像相对比例面积.选择此正方形区域,并将背景区域填充为黑色后保存,图像为单位面积比例图像.

步骤 5 利用软件系统将单位面积比例图像进行聚类分割,聚类数目设置为两类.软件系统自动计算出单位面积比例区域的相对比例面积.

步骤 6 使用步骤 3 中的损伤区域相对比例面积整除步骤 5 中的单位面积相对比例面积,即可得出损伤区域的实际面积.

2.7 人体损伤面积测算流程

人体损伤面积测算流程如图 2 所示.

3 实验数据与分析

本文提出的改进算法 SLIC-AFSA-FCM 的性能验证采用通用数据和图像数据两种方式:通用数据验证选择 Iris 数据集作为样本,分别使用传统 FCM 算法、KFCM 算法、人工鱼群与 FCM 的混合算法(AFSA-FCM)、人工鱼群与 KFCM 的混合算法(AFSA-KFCM)进行测试;图像数据验证采用 Lenna 图像和人体损伤图像作为样本,分别使用传统 FCM 算法、K-means 算法、SLIC-AFSA-FCM 算法进行测试,同时以本文研发的法医学人体损伤面积测算系统软件 V 1.0 为测试平台,对分割图像各类区域面积进行测算,并与法医工作中的手工测算结果进行对比分析.实验硬件环境为: I7 - 4770 八核处理器,8 G 内存,2 G 显存.

3.1 通用数据实验分析

Iris 数据集的聚类结果比较见表 1.

从表 1 可以看出,Iris 数据集的特性使得

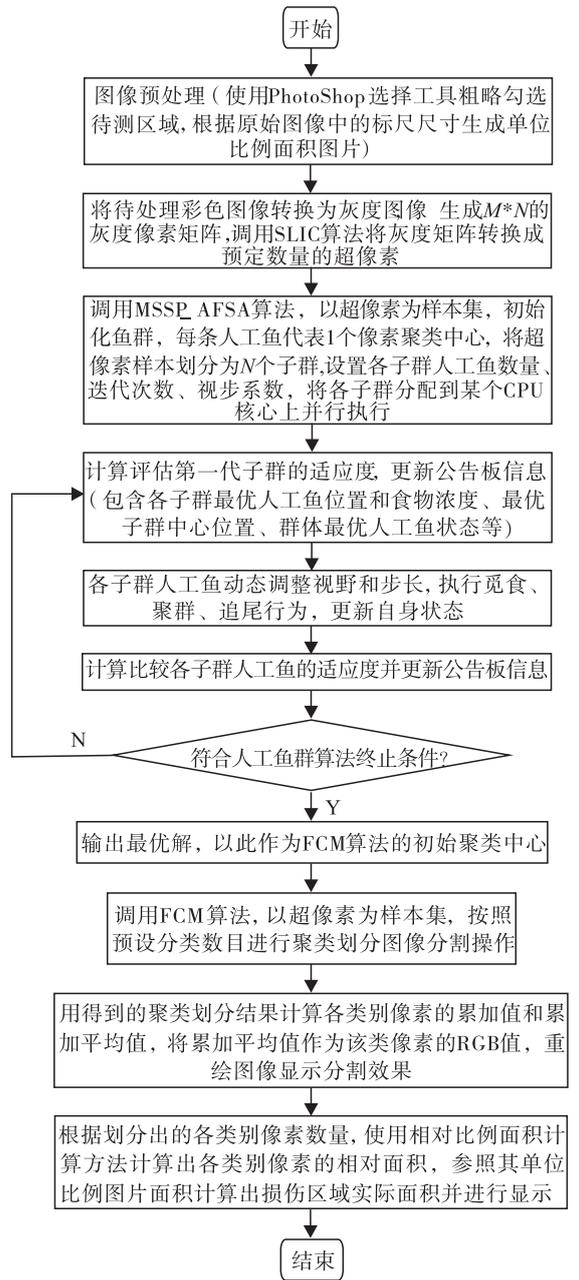


图 2 人体损伤面积测算流程

Fig. 2 The measurement process of human body injury area

表 1 Iris 数据集的聚类结果比较

Table 1 Iris data set of clustering results

算法	Sctota 类误分数	Versicolor 类误分数	Virginica 类误分数	误分总数	准确率/%
FCM	0	3	12	15	90.00
KFCM	0	4	9	13	91.33
AFSA-FCM	0	2	9	11	92.67
AFSA-KFCM	0	4	8	12	92.00

Setota 类与其他两类能够很好地分离,未出现误分个数.KFCM 较 FCM 对数据的聚类更为准确.AFSA-FCM 和 AFSA-KFCM 由于人工鱼群良好的全局搜索功能,使得误分数进一步降低,得到了较好的聚类效果.

3.2 图像数据实验分析

实验分别对 Lenna 图像、人体小臂损伤图

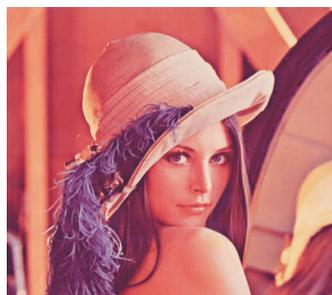
像各进行 10 次实验,各算法参数设置见表 2,算法 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM 图像分割平均最优效果对比见图 3 和图 4,各算法执行时间见表 3.

从表 3 可以看出,作为硬聚类分割方法,K-means 算法对图像的分割用时较少,但分割后的区域边缘较粗糙,整体分割质量不高;模糊聚

表 2 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM 算法参数设置表

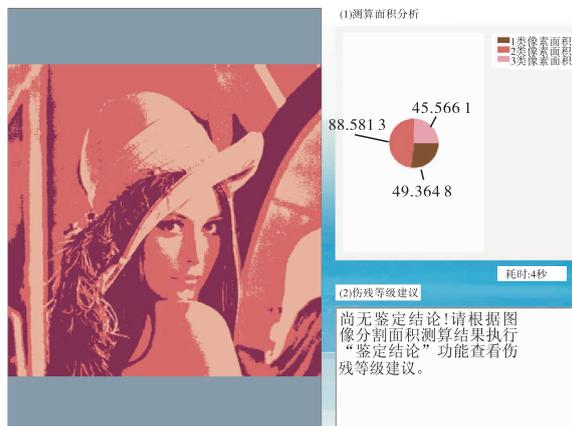
Table 2 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM algorithm parameter

算法	参数	说明
K-means	聚类类别数 $c = 3$	
FCM	聚类类别数 $c = 3$,允许的最小误差 $\epsilon = 10^{-6}$,模糊加权指数 $m = 2$,最大迭代次数 100	
SLIC-AFSA-FCM	超像素数目为 20,人工鱼数量为 5,并行执行数量 $N = 8$ (使用八核处理器),迭代次数为 2,视野 $Visual = 2.5$,步长 $step = 0.7$,拥挤因子 $\delta = 0.2$,觅食尝试次数 $Try_number = 2$,距离采用欧氏距离	FCM 部分参数同算法 2



a) Lenna 原图

分辨率512 像素 × 512 像素,容量768 KB



b) K-means算法分割效果图



c) FCM算法分割效果图



d) SLIC-AFSA-FCM算法分割效果图

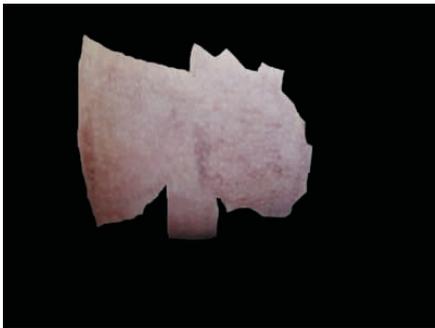
图 3 Lenna 原图和算法 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM 的分割效果图

Fig. 3 The original image of Lenna and segmentation effect of K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM algorithms



原始尺寸4000像素×3000像素,容量813.2KB,实验用尺寸400像素×300像素,容量47.8KB

a) 人体小臂损伤图像原图



b) 人体小臂损伤图像区域选择图



c) K-means算法分割效果图



d) FCM算法分割效果图



e) SLIC-AFSA-FCM算法分割效果图

图4 人体小臂损伤图像原图、人体小臂损伤图像区域选择图和算法 K-means, FCM, SLIC-AFSA-FCM 的分割效果图

Fig. 4 The original image of human body injury of forearm, the human body injury of forearm choice figure image area and segmentation effect of K-means, FCM, SLIC-AFSA-FCM algorithms

类 FCM 算法的分割质量较 K-means 算法有了很大提高,但算法执行时间较长,分割结果不太稳定,特别是针对实验中经过预处理的人体损伤图像,聚类数目设置不合理,导致无法分割出

理想结果;SLIC-AFSA-FCM 算法在 FCM 算法的基础上引入了人工鱼群算法,采用 SLIC 超像素计算方法简化了人工鱼群算法的样本集规模,并使用并行技术进一步提升了人工鱼群算

表3 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM
算法执行时间对比

Table 3 Execution time contrast of K-means,FCM,
SLIC-AFSA-FCM algorithms

算法	Lenna 图像	人体损伤图像
K-means	3	2
FCM	113	3
SLIC-AFSA-FCM	77	38

法的执行效率,因此分割时间大幅降低,图像分割结果比传统FCM算法更加稳定,分割区域的边缘划分粒度更细,更接近预期分割要求。

以上实验数据对比表明,SLIC-AFSA-FCM算法是一种比较理想的新型图像分割方法,更适合法医学人体损伤图像分割处理与面积测算工作。

3.3 人体损伤区域面积准确性对比

对图3a)中的损伤区域进行10次手工测算并取平均值,得出实际面积值为126.82 cm²,各算法分别进行10次图像分割的平均面积测算,结果见表4。

表4 K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM
算法面积测算结果与准确率

Table 4 Area measurement results and accuracy of
K-means,FCM,SLIC-AFSA-FCM algorithm

算法	面积测算结果/cm ²	准确率/%
K-means	135.28	93.75
FCM	0	0
SLIC-AFSA-FCM	129.11	98.23

从表4可以看出,因分割质量不佳,K-means算法的面积测算结果距离实际值偏差较大,FCM算法在人体损伤图像聚类数目设置为2的情况下,10次分割均无法得到正确的分割结果,SLIC-AFSA-FCM算法的面积测算结果比较接近实际值。

4 结语

本文提出一种基于优化FCM算法的图像分割SLIC-AFSA-FCM算法,以测量法医学人体损伤面积。采用的样本集超像素处理、人工鱼群算法并行执行、优化FCM算法初始聚类中心的

做法,可有效提升人体损伤图像的分割质量,算法处理时间能够满足实时处理要求,是一种适用的图像分割处理技术,在普通图像、人体损伤图像分割处理与面积测算工作中具有很好的应用前景。

参考文献:

- [1] 沈渭忠. 用电子计算机图像处理方法测定人体体表损伤面积[J]. 法医学杂志,1996,12(2):74.
- [2] 于晓军,樊瑜波,张立于,等. 人体体表损伤面积法医学鉴定软件开发及应用[J]. 法医学杂志,2000,16(4):201.
- [3] GONZALEZ R C, WOODS R E, DDINS S L. 数字图像处理[M]. 北京:电子工业出版社,2007.
- [4] 贺向前,邓世雄,甘平,等. 基于K-均值和区域生长算法医损伤面积[J]. 重庆医科大学学报,2009,34(5):597.
- [5] 韩胜,甘平,淮贤,等. 基于多种图像分割方法的法医损伤面积计算[J]. 激光杂志,2011,32(4):20.
- [6] 韩斌. 基于内容的超像素合并及其在图像分割中的应用[D]. 上海:上海交通大学,2013.
- [7] 杨浩杰,杨省伟. 多子群并行人工鱼群算法的改进研究[J]. 河南城建学院学报,2015,24(4):62.
- [8] HOIEM D, EFROS A A, HEBERT M. Automatic photo pop-up[J]. ACM Transactions on Graphics (TOG),2005,24(3):577.
- [9] LI Y, SUN J, TANG C K, et al. Lazy snapping [J]. ACM Transactions on Graphics (TOG), 2004,23(3):303.
- [10] HE X M, ZEMEL R S, RAY D. Learning and incorporating top-down cues in imagesegmentation [C] // Computer Vision-ECCV 2006. Heidelberg:Springer,2006:338.
- [11] ACHANTA R, SHAJI A, SMITH K, et al. SLIC superpixels compared to state-of-the-art superpixel methods[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2012, 34(11):2274.



引用格式:王贞涛,夏磊,张永辉,等.多毛细管静电雾化模式实验研究[J].轻工学报,2018,33(1):96-103.

中图分类号:TK018 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.012

文章编号:2096-1553(2018)01-0096-08

多毛细管静电雾化模式实验研究

Experimental study on electro-spraying modes from multi-capillary

王贞涛^{1,2},夏磊²,张永辉²,钱怡松¹,顾利定¹,邱乾胜¹
WANG Zhentao^{1,2}, XIA Lei², ZHANG Yonghui², QIAN Yisong¹, GU Liding¹,
QIU Qiansheng¹

1. 洁华控股股份有限公司 博士后科研工作站,浙江 海宁 314419;

2. 江苏大学 能源与动力工程学院,江苏 镇江 212013

1. *Postdoctoral Scientific Research Workstation, Jiehua Holdings Co., Ltd., Haining 314419, China;*

2. *School of Energy and Power Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China*

关键词:

多毛细管;静电雾化模式;无量纲流量 α ;静电 Bond 数 β

Key words:

multi-capillary;
electro-spraying mode;
non-dimensional flow α ;
electric Bond number β

摘要:采用高速数码摄像技术,通过图像对比与分析,获得了无水乙醇的一些多毛细管静电雾化模式,依据无量纲流量 α 和静电 Bond 数 β 对这些模式进行分类,结果表明:与单毛细管静电雾化模式相似,在多毛细管静电雾化模式出现了滴状、纺锤、射流及多股射流等雾化模式,并随着电压与流量的增加依次出现转变;同时由于毛细管、射流之间的库仑力作用,两股射流呈现对称向外倾斜分布。随着静电 Bond 数值的增大,两种多毛细管出现纺锤和脉动射流模式的重复频率增多,且两种模式的摆动幅度随之减小,当静电 Bond 数值增大到某一值时,纺锤模式将会转变为脉动射流模式;当静电 Bond 数值继续增大时,两种多毛细管均产生多股射流模式,且其射流数目随着静电 Bond 数值的增加而有所增多。

收稿日期:2016-11-25;收稿日期:2017-08-30

基金项目:国家自然科学基金项目(51106064);江苏大学青年基金扶持计划项目(FCJJ2015001);江苏大学青年骨干教师培养工程项目;江苏省高校优势学科建设工程项目

作者简介:王贞涛(1978—),男,山东省齐河县人,江苏大学副教授,洁华控股股份有限公司在读博士后,主要研究方向为静电雾化理论和应用研究。

Abstract: High speed digital camera was used to record electrohydrodynamics spraying modes of multi-capillary with ethanol. The spraying modes of multi-capillary were obtained by analyzing the pictures, and the effect of operating parameters on electro-spraying modes was discussed. The spraying modes with two configurations were classified by the dimensionless parameter flow (α) and electric Bond number (β). The experimental results indicated that similar to spraying mode of mono-capillary, dripping, spindle, jet and multi-jet modes could be observed in spraying mode of multi-capillary. The modes could transits from one mode to another with varying applied voltage and flow rate. The two jets from double-capillary showed symmetrical skewed distribution due to Coulomb repulsive forces between them. Although there are different configurations for two kinds of capillaries, the spindle and pulsated jet modes could be observed. For these two modes, the frequency of spindle and pulsated jet ejected from the capillary would also increased and the swing range of the spindle and jet would reduce with an increase in electric Bond number. The transition from spindle to pulsated jet mode would be observed at a critical electric Bond number. With electric Bond number further increased, the multi-jet mode would be observed for two configurations. The number of jet increased with an increase in electrical Bond number.

0 引言

液体以一定的流量从毛细管中流出,在不同的电压与流量下,毛细管口处的液滴会破碎成不同形态,最终表现为不同形式的雾化模式.毛细管静电雾化具有雾滴粒径细小、尺度均匀、空间弥散广等优点,因此被广泛应用于材料薄膜制备、纳米级材料粒子制备、喷墨打印、质谱分析和空间推进技术等方面^[1-3].自从1915年J. Zeleny对毛细管静电雾化现象进行开创性研究后,近百年来众多学者对单毛细管静电雾化现象进行了理论、实验与应用等研究,获得了滴状、纺锤状、锥射流、多股射流等多种典型的雾化模式^[4-5].然而对多毛细管静电雾化现象的研究起步较晚,至今仍在探索阶段.2005年,R. Bocanegra等^[6]通过在微孔阵列的平板上进行多喷嘴静电雾化实验,测量了液体流量与电流的关系,以及雾化产生的雾滴粒径分布,得出微孔阵列产生的雾化效果与单个导管所产生的雾化效果相似的结论.2006年,W. Deng等^[7]通过其设计的多管道静电雾化装置对多管道雾化模式进行了研究,得到静电雾化过程中电流与流量的关系,以及雾化产生液滴粒径的分布,并将该装置成功应用于半导体制造工艺和微纳制造

工艺.同年,L. F. Velasquez-Garcia等^[8]通过对空间推进器的电喷雾喷嘴进行平面阵列和线性阵列的研究,得出发动机的电流流量特性与降阶模型一致的结论,为空间推进器的设计改进与发展提供了有力的依据.2007年,B. Q. T. Sia等^[9]对阵列电喷雾发生器的干扰效应进行了分析与实验研究,提出了一种用于预测发射极间距工作电压的静电干扰模型,该模型的结果能够很好地与实验数据相吻合^[9].2008年,H. Oh等^[10]对双喷嘴电喷雾沉积与毛细管萃取基板进行研究,发现液滴的尺寸分布并不会受提取基板电压的影响,但是喷雾进程会受到提取基板电压的影响,较小的颗粒沉积在密集的外部区域,较大的颗粒沉积在核心区域.2010年,刘明明等^[11]利用传统的金属毛细管搭建了多喷嘴静电雾化实验装置,获得了乙醇在单、多管道条件下锥-射流模式的重要关系,即稳定喷洒的起始电压与电流-流量的关系.2011年,陈效鹏等^[12-13]对多毛细管电雾化装置进行了研究,根据单排管道电雾化现象及相应静电场的数值结果,分析了多管道下电场强度分布对雾化稳定性的影响,得到了比较稳定的多管道雾化射流.2012年,王清华等^[14]对无水乙醇分别在单根、线性单排及双排毛细管条件下的雾化

模式进行比较,获得了在稳定的锥-射流模式下喷洒的重要关系,即在稳定的锥-射流喷洒模式下,雾化的起始电压、电流、粒径与流量的关系,并且得出单根、单排管道、双排管道3种情况下起始电压、回滞电压、电流、粒径与流量之间关系的规律.

多毛细管静电雾化过程影响因素很多,内在关系复杂,尽管已有丰富的研究成果,但对多毛细管静电雾化现象,特别是多毛细管静电雾化模式及其影响因素仍需进一步探讨.本文以无水乙醇作为雾化介质,通过改变电压与流量,获得不同毛细管布置下的雾化过程,并通过高速数码显微摄像机记录多毛细管静电雾化模式,探讨流量、电压等运行参数对多毛细管静电雾化模式的影响,对不同雾化模式产生范围进行对比分析,以推进多毛细管静电雾化技术在微尺度燃烧、功能材料薄膜的制备、空间推进技术,以及农业药剂喷洒防治病虫害等工农业生产中的应用.

1 实验装置与参数

本研究所采用的实验装置如图1所示,以无水乙醇作为雾化介质,配置20 mL注射器,储液管为除去活塞芯的5.0 mL注射器,储液管前端装有金属毛细管,无水乙醇由注射泵通过液

体输送管及储液管以一定速度最终被推进到金属毛细管中,注射器的工作流量控制在0.05 ~ 1.00 mL/min之间.实验所用到的高压静电由负高压静电发生器提供,高压静电发生器的电压控制在0.0 ~ 15.0 kV之间,其负极与金属毛细管连接,作为静电雾化的负极.金属毛细管的下方是直径为150 mm的铜制金属圆板,铜板作为零极通过导线与大地相连接,电极连接处使用绝缘胶布粘合,防止漏电,以保证实验电压的准确性,两极板间距为20.0 mm.通过MotionProTMX4puls高速数码相机获得金属毛细管静电雾化的图像,高速数码摄像机的采集率为105 f/s,配合型号为NAVITAR12X的显微变焦镜头进行微距拍摄,LED提供实验光源.捕获的图像在电脑上通过高速数码相机专用软件进行分析,以获得清晰、准确的雾化模式.实验选取型号为24G的两个毛细管喷嘴(内径0.30 mm,外径0.55 mm,长度为13.00 mm),两毛细管轴线之间的距离为2 mm,无水乙醇的参数如表1所示.

2 实验研究

2.1 双毛细管静电雾化模式实验

通过高速数码摄像机记录液滴滴落与射流

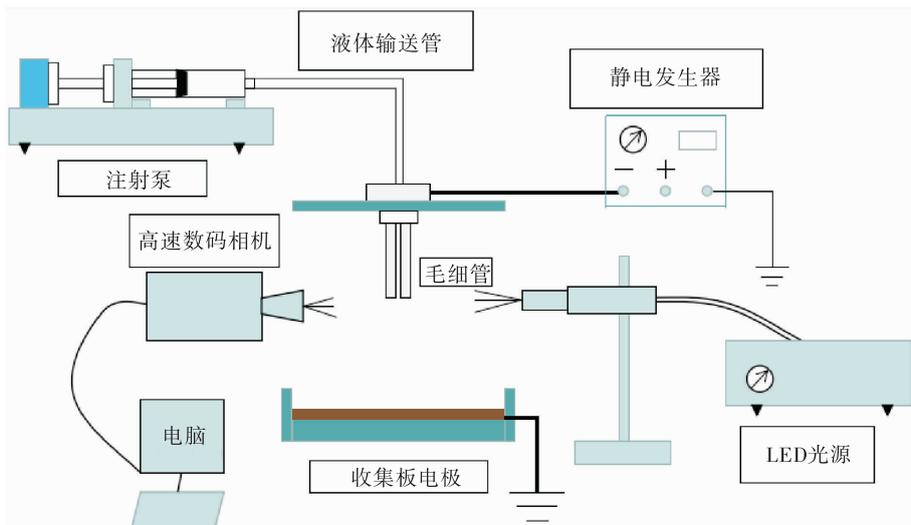


图1 电动流体力学雾化实验装置图

Fig.1 Experiment device for electrohydrodynamics

表1 无水乙醇的物理参数

Table1 The physical parameters of absolute ethyl alcohol

液体	密度 $\rho / (\text{kg} \cdot \text{m}^{-3})$	表面张力 $\sigma / (\text{N} \cdot \text{m}^{-1})$	介电常数 ε	电导率 $K / (\text{S} \cdot \text{m}^{-1})$	黏度 $\nu / (\text{Pa} \cdot \text{s})$
无水乙醇	791.0	0.022	24	0.50×10^{-4}	1.64×10^{-3}

雾化过程的图像,通过大量图片的对比分析可知,双毛细管呈现出滴状、纺锤状、脉动射流、锥射流和多股射流等雾化模式,但是在所采用的实验参数内没有观察到旋转模式和摆动射流模式. 鉴于影响毛细管静电雾化模式的因素很多,本文采用无量纲流量 α 和静电 Bond 数 β 对无水乙醇存在的雾化模式进行详细划分^[15]. α 和 β 的定义式分别为

$$\alpha = \frac{\rho K Q}{\gamma \varepsilon \varepsilon_0} \quad \beta = \frac{\sqrt{\varepsilon_0} V}{\sqrt{\gamma d}}$$

其中, ρ 为液体密度, K 为电导率, Q 为液体流量, γ 为液体表面张力, ε 为液体的相对介电常数, ε_0 为真空介电常数, V 为电压, d 为毛细管内径.

双毛细管静电雾化模式对应的流量和电压范围如图2所示. 在实验所采用的流量范围内,均能够观察到滴状模式、纺锤模式和锥-射流模式,当无量纲流量 $\alpha \leq 42.3$ 时,可以观察到脉动锥-射流和稳定的多股射流.

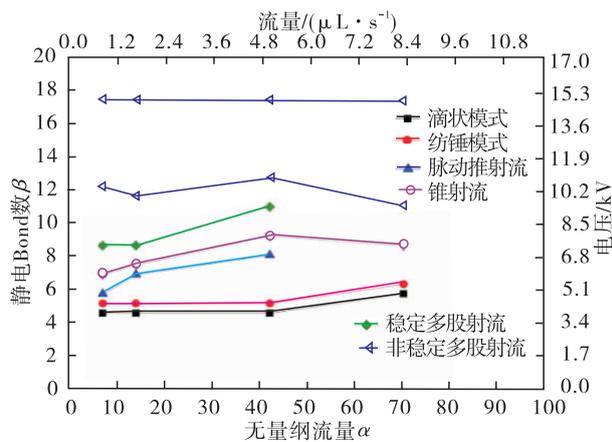
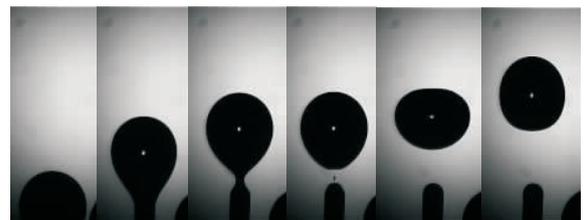


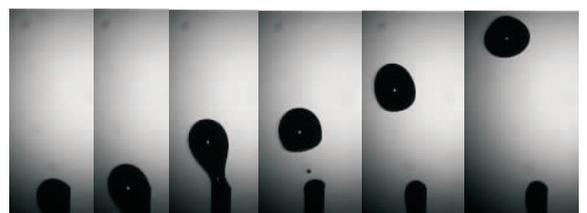
图2 双毛细管雾化模式的电压与流量范围

Fig.2 Voltage and flow range of dual capillary spraying model

2.1.1 滴状模式 在较低电压下,液体从毛细管中逐渐流出,由于集肤效应的作用,液体会贴着毛细管外壁向上运动一定距离. 随着流量的增加,毛细管末端的液体体积逐渐增大,液滴在毛细管末端会形成半球形的弯月面. 由于液体流量较低,大约经过 1 ~ 2 s 后,毛细管末端的液滴脱离毛细管滴落. 双毛细管在发生静电雾化时所形成的空间电场具有对称性,因此雾化所形成的液滴也具有对称性. 选取双毛细管的左侧金属毛细管进行图像处理与分析,可得到滴状模式(见图3a)). 该过程主要是由于液滴受到的重力、静电力和表面张力作用的结果. 在实验过程中,双毛细管产生液滴呈现交替滴落现象. 当缓慢增加电压后,会明显观察到双毛细管产生的大液滴在滴落过程中出现相互排斥的现象,这是由于两个大液滴带有同种电荷,产生了库伦排斥力. 同样选取双毛细管的左侧金属毛细管进行图像处理与分析,可得到倾斜滴状



a) 滴状模式 (0.1 mL/min, 电压 2.0 kV)



b) 倾斜滴状模式 (0.1 mL/min, 电压 3.5 kV)

图3 双毛细管滴状模式形态演化过程

Fig.3 Evolution of dripping mode of double-capillary

模式(见图3b)). 相比较低电压,此时液滴表面电荷密度较大,两液滴之间的库仑力表现更加明显,随着电压的增加,两毛细管产生的液滴在脱离毛细管口后均会产生一个副液滴.

2.1.2 纺锤模式与脉动射流模式 无水乙醇在双毛细管下的纺锤雾化模式和脉动射流模式与单毛细管雾化模式相似:当静电 Bond 数 β 增大时,纺锤与锥射流脉动产生的频率会增大,形成纺锤模式与脉动射流模式时,两液滴之间夹角会减小;当静电 Bond 数 β 增大到某一值时,纺锤模式会转变为脉动射流模式;当无量纲流量 α 增大时,形成的纺锤模式与脉动射流模式中的两液滴之间夹角会减小. 不同工作流量和电压下的双毛细管纺锤模式与脉动射流模式如图4所示. 单毛细管与双毛细管的不同之处在于:双毛细管形成的纺锤与脉动射流之间由于库仑力的作用,液滴在滴落过程中向外倾斜,每个射流均与毛细管轴线形成一定的夹角.

2.1.3 锥射流模式 在双毛细管的静电雾化中观察到了锥射流模式,与单毛细管中锥射流模式的不同主要表现为:在双毛细管中形成的液锥与射流偏离毛细管轴线向外倾斜,两液锥之间形成一定的夹角,呈现为八字状(见图5). 由图5可以看出,随着电压与流量的增加,锥射流模式会逐渐由纺锤模式或脉动射流转变而来. 当流量较低时,射流破碎方式为轴向破裂机制;当流量和电压较高时,射流破碎方式则为扭曲破裂机制,这与单毛细管锥射流模式的破碎规律基本相同.

2.1.4 多股射流模式 无水乙醇在双毛细管下产生的多股射流模式如图6所示. 与单毛细管多股射流模式相比较,两者最显著的差异表现为:在多股射流模式下,双毛细管管口相近处无射流产生,由管口相近处到管口相远处射流的数目逐渐增多,在两管口最远处两侧的射流数目最多,当静电 Bond 数 β 较大时,在两毛细

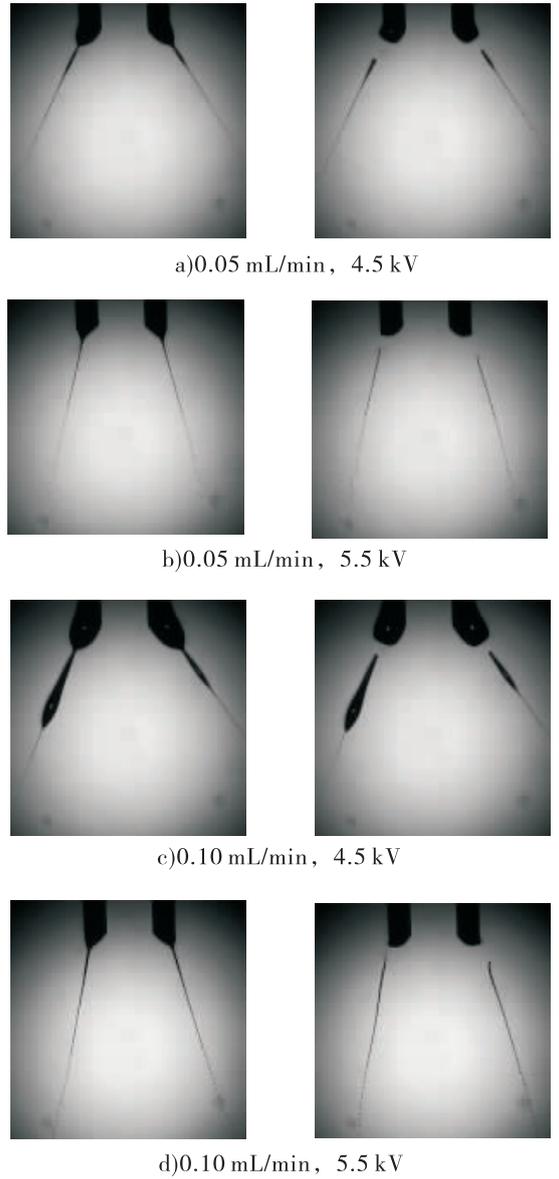


图4 不同工作流量和电压下的双毛细管纺锤模式与脉动射流模式

Fig.4 Spindle and pulsated-jet modes of double-capillary at different working flow and voltage

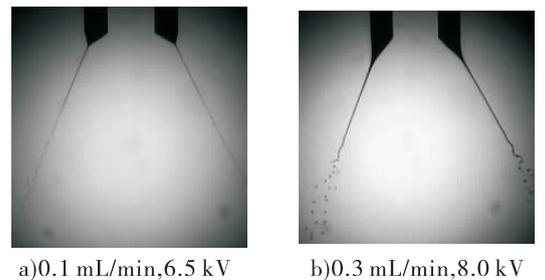


图5 双毛细管锥射流模式

Fig.5 Cone-jet mode of double-capillary

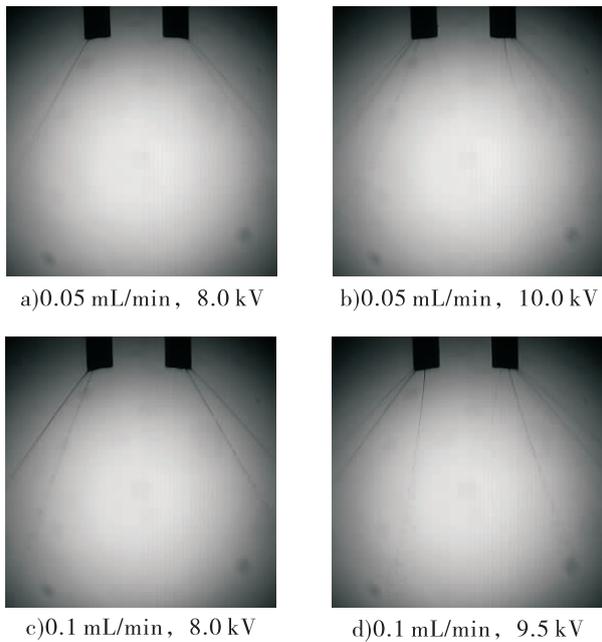


图6 双毛细管多股射流模式

Fig.6 Multi-jet mode of double-capillary

管口距离相近的两侧同样也会产生射流. 由于金属毛细管的加工程度不同及两射流之间的相互作用等因素的影响,在相同电压与流量下,两毛细管最远处两侧产生的射流数目会有所不同. 当静电 Bond 数 β 增大时,在毛细管口处的射流数目会有所增加,此时弯月面的体积会显著减小,呈现为倾斜的平面,毛细管外侧边缘出现微小的突起,射流由此产生;当流量增大时,射流与毛细管轴的夹角会增大.

2.2 三毛细管静电雾化模式实验

为探究毛细管的空间分布对雾化模式的影响,实验选择正三角形分布的金属毛细管. 流量

分别选取为 $3 \mu\text{L/s}$, $6 \mu\text{L/s}$ 和 $15 \mu\text{L/s}$, 电压范围为 $0.0 \sim 15.0 \text{ kV}$, 每 0.5 kV 记录一次. 毛细管为正三角形分布时,每支毛细管雾化模式的起始电压都相同,雾化时产生的形态差异较小,可得到雾化模式为滴状、纺锤、脉动射流、锥射流和多股射流等雾化模式,如图7所示. 由于毛细管形成电场的空间部分,使毛细管喷嘴处在液锥、射流、纺锤等雾化模式下都会沿正三角形的中心线向外倾斜.

2.2.1 滴状模式 在实验的流量范围内,当电压较低时,附着在毛细管外壁面液体会随着时间的推移逐渐增多,由于集肤效应,液体会贴着毛细管外壁向上运动一定距离,随着流量的进一步增加,毛细管口会被无水乙醇包围,弯月面呈现半球状,最终在3个毛细管上分别形成1个大液滴,在重力的作用下,脱离毛细管(见图7a)). 该过程与单毛细管滴状模式相同. 在流量为 $3 \mu\text{L/s}$, 电压小于 3.0 kV 时,3个毛细管产生的液滴呈现直线下降状态;当电压为 3.0 kV 时,3个毛细管产生的液滴在毛细管口处由于库仑力的作用产生排斥力,3个液滴分别向外倾斜,与毛细管轴线呈现一定的夹角,随着附着在毛细管上液滴体积的增大,排斥现象会更加明显. 这是因为在毛细管内及其外壁的液滴带有相同的电荷,因此相邻液滴之间由于库仑力的作用产生排斥现象,液滴体积的增大使得液滴所带电荷量也增多,因此相互排斥力也会增加. 当电压增加到某一值时,3个毛细管

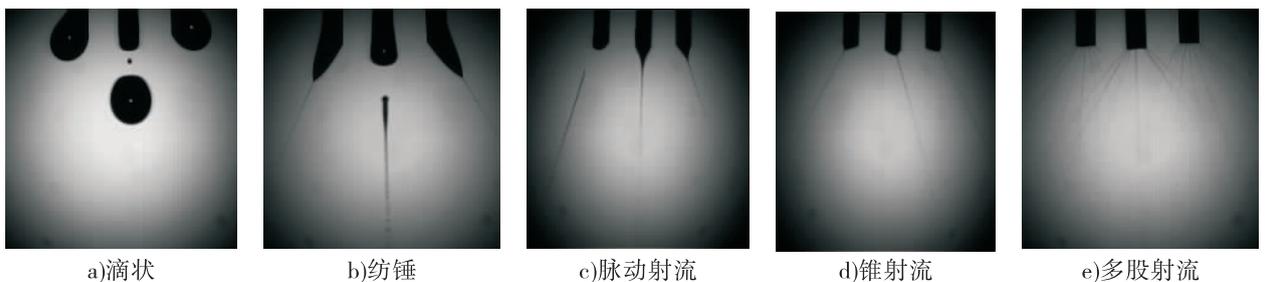


图7 三毛细管雾化模式

Fig.7 The spraying modes of three-capillary

产生的主液滴在脱离毛细管口后均会产生一个副液滴,副液滴的运动轨迹受到毛细管电场及主液滴电场的影响,其运动过程较为复杂,在较低的电压下,小液滴容易被弯月面所吸收,而在较高电压下,小液滴会沿毛细管垂直方向射出。

2.2.2 纺锤与脉动射流模式 随着电压的增加,在三角形分布的毛细管喷嘴末端产生纺锤模式,其形态与单毛细管、双毛细管产生的纺锤模式基本相似.不同之处在于双毛细管的分布是在同一平面内两个纺锤形液滴与轴线呈现一定的夹角,而在三毛细管中液滴沿着等边三角形的中心线向外倾斜,如图7b)一c)所示.当静电 Bond 数 β 增大时,纺锤模式产生的频率也会增大,而形成纺锤模式的3个液滴之间的夹角会减小;当静电 Bond 数 β 增大到某一值时,纺锤模式会转变为脉动射流模式;当无量纲流量 α 增大时,3个液滴之间夹角会减小.相比与双毛细管,正三角形分布时产生的纺锤模式会更加稳定,主要原因是三毛细管产生的空间电场较双毛细管产生的空间电场更加稳定,因此液滴更容易达到平衡.纺锤模式在电压稍微增加后,容易转变为脉动射流模式,并在与脉动射流模式出现共存过程.在脉动射流模式下液滴的状态与单毛细管下得到的脉动射流模式并无显著差异,主要不同之处在于:三毛细管产生的射流都相对于各自的毛细管轴线形成一定的夹角,并且液滴整体绕着三角形轴线定周期地来回摆动.这是因为液滴脱落使得液柱上的电荷量减少,导致空间电场分布不均匀,带电量多的液滴有向场强弱的方向倾斜的趋势,在倾斜过程中,又有液滴从液柱上脱落,该过程周期往复地循环着.随着电压的增加,脉动射流模式将逐渐过渡到锥射流模式。

2.2.3 锥射流与多股射流模式 正三角分布的三毛细管出现的锥射流模式中液锥与射流偏离毛细管轴线向外倾斜,呈现3个八字状,如图

7d)一e)所示.当流量较低时,射流破碎方式为轴向破裂机制;当流量和电压较高时,射流破碎方式则为扭曲破裂机制,这与单毛细管形成锥射流模式的规律基本相同.多股射流模式中每个毛细管在远离其他两个毛细管的管口处形成多股射流,而在毛细管形成的内侧空间及邻近区域没有射流产生.这是由于此时金属毛细管上的电压比较高,液滴带相同电荷所产生的库伦排斥力也比较大,因此射流被排斥在每个毛细管外侧边缘.在多股射流模式下,由于毛细管电场与射流形成电场之间的相互作用,在相同电压与流量下,产生射流的数目会有所不同.当静电 Bond 数 β 增大时,射流数目会有所增加。

3 结论

通过高速数码相机对毛细管静电雾化现象进行观察,获得了多毛细管静电雾化的多种模式,并以此为基础,结合静电 Bond 数 β 和无量纲参数流量 α 对多毛细管静电雾化模式进行了分类和分析,获得了不同雾化模式对应的流量与电压范围,主要结论如下。

1) 双毛细管静电雾化模式存在滴状、纺锤、脉动射流、锥射流和多股射流雾化模式,毛细管的雾化模式与单毛细管的雾化模式基本相似.在双毛细管周围产生的电场以及带电射流或雾滴产生电场的共同作用下,每个毛细管末端的弯月面、液锥、射流及破碎的液滴与毛细管轴线呈现一定的角度,两条射流呈现八字状。

2) 正三角分布的三毛细管静电雾化过程,由于空间的对称性,产生的滴状、纺锤、脉动射流、锥射流及多股射流雾化模式更加稳定.同时任意两毛细管的弯液面、液锥、射流和雾化液滴构成的雾化形态呈现八字状,并且沿着等边三角形的中心线向外倾斜。

3) 在两种多毛细管静电雾化系统中,随着静电 Bond 数值的增大,纺锤和脉动射流模式的

重复频率增多,两种模式的摆动幅度均会减小,且容易从纺锤模式转变为脉动射流模式;当静电 Bond 数值继续增大到某一数值时,两种多毛细管均产生多股射流模式,其射流数目随着静电 Bond 数值的增大而增加。

参考文献:

- [1] 王贞涛,毛惠敏,罗惕乾. 锥-射流模式下毛细管静电雾化流场的 PIV 测量[J]. 农业机械学报,2010,8(41):62.
- [2] JAWOREK A, SOBCZYK A T. Electro spraying route to nanotechnology: an overview[J]. Journal of Electrostatics,2008,66(3-4):197.
- [3] FILLMORE G L, BUEHNER W L, WEST D L. Drop charging and deflection in an electrostatic ink jet Printer[J]. IBM Journal of Research and Development,1977,21(1):37.
- [4] ZELENY J. On the conditions of instability of liquid drops with applications to the electrical discharge from liquid point[J]. Pro Camb Phil Soc,1915,18:71.
- [5] ZELENY J. Instability of electrified liquid surfaces[J]. Phys Rev,1917,10(1):1.
- [6] BOCANEGRA R, GALAN D, MARQUEZ M, et al. Multiple electro spray emitted from an array of holes[J]. Journal of Aerosol Science,2005,36(12):1387.
- [7] DENG W, KLEMIC J F, LI X, et al. Increase of electro spray throughput using multiplexed micro-fabricated sources for the scalable generation of monodisperse droplets[J]. Journal of Aerosol Science,2006,37(6):696.
- [8] VELASQUEZ-GARCIA L F, AKINWANDE A I. A micro-fabricated linear array of electrospray emitters for thruster applications[J]. Microelectromech Syst,2006,15(5):1260.
- [9] SIA B Q T, BYUNA D, LEE S. Experimental and theoretical study of a cone-jet for an electro-spray microthruster considering the interference effect in an array of nozzles[J]. Journal of Aerosol Science,2007,38(9):924.
- [10] OH H, KIM K, KIM S. Characterization of deposition patterns produced by twin-nozzle electro-spray[J]. Journal of Aerosol Science,2008,39(9):801.
- [11] 刘明明,陈效鹏,徐晓建. 多毛细管电雾化喷洒模式及稳定喷洒特征研究[J]. 力学学报,2010,42(3):567.
- [12] 陈效鹏,董绍彤,程久生,等. 电雾化装置及雾化模型研究[J]. 实验力学,2000,15(1):97.
- [13] 陈效鹏,王清华. 多毛细管稳定喷洒电雾化特征研究(一)——实验设备设计及粒径测量方法[J]. 实验力学,2011,26(6):692.
- [14] 王清华,陈效鹏,赵梦华. 多毛细管稳定喷洒电雾化特征研究(二)——电压、电流、粒径与流量的关系[J]. 实验力学,2012,27(1):102.
- [15] FERNANDEZ DE LA MORA, LOSCERTALES I G. The current emitted by highly conducting Taylor cones[J]. Journal of Fluid Mechanics,1994,260:155.



引用格式:何国亮,马玉飞. Mikhailov-Shabat-Sokolov 方程的精确解[J]. 轻工学报,2018,33(1):104-108.

中图分类号:O175 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.1.013

文章编号:2096-1553(2018)01-0104-05

Mikhailov-Shabat-Sokolov 方程的精确解

Exact solutions to the Mikhailov-Shabat-Sokolov equation

何国亮,马玉飞

HE Guoliang, MA Yufei

关键词:

$\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法;精确解;
MSS 方程

郑州轻工业学院 数学与信息科学学院,河南 郑州 450002
College of Mathematics and Information Science, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China

Key words:

$\left(\frac{G'}{G}\right)$ expansion

method; exact solution;
MSS equation

摘要:利用 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法求得了著名的 Mikhailov-Shabat-Sokolov (MSS) 方程的双曲函数解、三角函数解和有理函数解3种形式精确行波解;特别地,当参数取特殊值时,双曲函数解可以转化成孤立波解.

收稿日期:2017-02-09

基金项目:国家自然科学基金项目(11501526);郑州轻工业学院博士科研基金项目(2013BSJJ051)

作者简介:何国亮(1983—),男,河南省郑州市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为可积动力系统.

Abstract: The exact travelling wave solutions of the famous Mikhailov-Shabat-Sokolov (MSS) equation, which contained three kinds of forms, such as the solution of hyperbolic functions, the solution of trigonometric functions and the solution of rational functions, were obtained by using the $\left(\frac{G'}{G}\right)$ expansion method. Especially when the parameters were taken as special values, the solution of the hyperbolic functions could be transformed into the soliton wave solutions.

0 引言

对非线性发展方程解的研究是其广泛应用的基础,求解非线性发展方程的精确解一直是数学、物理等领域的一项重要研究课题.在众多种行之有效的方法中, M. L. Wang 等^[1]提出的 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法是一种简单易行的寻找非线性演化方程精确行波解的方法.该方法一经提出便引起了国内外的广泛关注,随后众多学者用该方法得到了许多 1+1 维孤子方程的行波解,并将其推广到 2+1 维等高维及耦合情形,对该方法进行扩展和发展,使其可以解决更多类型非线性发展方程的精确解求解问题^[2-4].

在非线性方程中,耦合方程包含一大类重要的方程,比如耦合非线性 Schrodinger 方程、耦合 Sasa-Satsuma 方程等,这些方程在物理等领域都有重要应用.而 Mikhailov-Shabat-Sokolov (MSS) 方程最初是由 Mikhailov, Shabat 和 Sokolov 在用对称方法研究可积方程的分类时提出的,目前只见到一些对该方程的代数几何解的研究^[6].由于非线性发展方程(组)求解的困难,至今尚未看到普遍适用的求解非线性发展方程(组)的方法.因此,不断发展原有的方法和继续寻找一些新的方法来得到精确解,仍是一项十分重要的研究工作.鉴于此,本文拟利用 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法求得 MSS 方程的精确行波解,以期丰富该方程的解系,为其应用奠定基础.

1 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法求 MSS 方程的精确解

采用 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法求解 MSS 方程^[5]

$$p_t = p_{xx} - 2qq_x \quad (1)$$

$$q_t = -q_{xx} + 2pp_x \quad (2)$$

对上述方程作线性变换

$$u = p + q \quad v = \frac{1}{2}(1 - i\sqrt{3})p + \frac{1}{2}(1 + i\sqrt{3})q$$

可得如下耦合微分方程^[6]

$$u_t = u_{xx} + 2uu_x - 2(uv)_x - 6v_{xx} \quad (3)$$

$$v_t = -v_{xx} + 2vv_x - 2(uv)_x - 2u_{xx} \quad (4)$$

这样,当求得了 MSS 方程的精确解之后,通过上述变换也可以得到方程③④的精确解.

假设行波变量为

$$p(x, t) = p(\xi) \quad q(x, t) = q(\xi)$$

$$\xi = x - Vt$$

由此将方程①②变为关于 $p = p(\xi)$, $q = q(\xi)$ 的常微分方程

$$-Vp' - p'' + 2qq' = 0$$

$$-Vq' + qq'' - 2pp' = 0$$

将上式关于 ξ 积分一次,可得

$$C_1 - Vp - p' + q^2 = 0 \quad (5)$$

$$C_2 - Vq + q' - p^2 = 0 \quad (6)$$

其中 C_1, C_2 是两个待定积分常数.

假设常微分方程⑤⑥的解可以用关于 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 的多项式表示为

$$p(\xi) = \sum_{i=-m}^m \alpha_i \left(\frac{G'}{G}\right)^i \quad (7)$$

$$q(\xi) = \sum_{j=-n}^n \beta_j \left(\frac{G'}{G}\right)^j \quad (8)$$

其中 $G = G(\xi)$ 满足二阶线性常微分方程

$$G''(\xi) + \lambda G'(\xi) + \mu G(\xi) = 0 \quad (9)$$

通过⑨可以得到

$$\left(\frac{G'}{G}\right)' = \frac{GG'' - (G')^2}{G^2} = -\mu - \lambda\left(\frac{G'}{G}\right) - \left(\frac{G'}{G}\right)^2 \quad (10)$$

由⑦—⑩可得

$$\begin{cases} p' = -m\alpha_m\left(\frac{G'}{G}\right)^{m+1} + \dots \\ p^2 = \alpha_m^2\left(\frac{G'}{G}\right)^{2m} + \dots \\ q' = -n\beta_n\left(\frac{G'}{G}\right)^{n+1} + \dots \\ q^2 = \beta_n^2\left(\frac{G'}{G}\right)^{2n} + \dots \end{cases} \quad (11)$$

基于⑪,考虑方程⑤中 p' 和 q^2 之间和方程⑥中 q' 和 p^2 之间的齐次平衡,需要 $m+1=2n$; $n+1=2m \Rightarrow n=1, m=1$,从而可以将⑦⑧写为

$$\begin{cases} p(\xi) = \alpha_1\left(\frac{G'}{G}\right) + \alpha_0 + \alpha_{-1}\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} & \alpha_1 \neq 0 \\ q(\xi) = \beta_1\left(\frac{G'}{G}\right) + \beta_0 + \beta_{-1}\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} & \beta_1 \neq 0 \end{cases} \quad (12)$$

且 $\alpha_1, \alpha_0, \beta_1, \beta_0, \beta_{-1}, \alpha_{-1}$ 为常数.由上式可计算得到

$$\begin{cases} p^2(\xi) = \alpha_1^2\left(\frac{G'}{G}\right)^2 + 2\alpha_1\alpha_0\left(\frac{G'}{G}\right) + \alpha_0^2 + 2\alpha_1\alpha_{-1} + 2\alpha_{-1}\alpha_0\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} + \alpha_{-1}^2\left(\frac{G'}{G}\right)^{-2} \\ q^2(\xi) = \beta_1^2\left(\frac{G'}{G}\right)^2 + 2\beta_1\beta_0\left(\frac{G'}{G}\right) + \beta_0^2 + 2\beta_1\beta_{-1} + 2\beta_{-1}\beta_0\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} + \beta_{-1}^2\left(\frac{G'}{G}\right)^{-2} \\ p'(\xi) = -\alpha_1\left(\frac{G'}{G}\right)^2 - \alpha_1\lambda\left(\frac{G'}{G}\right) - \alpha_1\mu + \alpha_{-1} + \alpha_{-1}\lambda\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} + \alpha_{-1}\mu\left(\frac{G'}{G}\right)^{-2} \\ q'(\xi) = -\beta_1\left(\frac{G'}{G}\right)^2 - \beta_1\lambda\left(\frac{G'}{G}\right) - \beta_1\mu + \beta_{-1} + \beta_{-1}\lambda\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} + \beta_{-1}\mu\left(\frac{G'}{G}\right)^{-2} \end{cases} \quad (13)$$

将⑬式代入方程⑤⑥,同时合并 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 的所有同次幂项,这样方程⑤⑥的左端就转化为一

个关于 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 的多项式.令这个多项式的各项系数为0,则得到关于 $\alpha_1, \alpha_0, \alpha_{-1}, \beta_1, \beta_0, \beta_{-1}, V, \mu, \lambda, C_1$ 和 C_2 的联立代数方程组为

$$\begin{cases} -2: -\alpha_{-1}\mu + \beta_{-1}^2 = 0 \\ -1: -V\alpha_{-1} - \alpha_{-1}\lambda + 2\beta_{-1}\beta_0 = 0 \\ 0: C_1 - V\alpha_0 + \alpha_1\mu + \beta_0^2 - \alpha_{-1} + 2\beta_1\beta_{-1} = 0 \\ 1: -V\alpha_1 + \alpha_1\lambda + 2\beta_1\beta_0 = 0 \\ 2: \alpha_1 + \beta_1^2 = 0 \\ -2: \beta_{-1}\mu - \alpha_{-1}^2 = 0 \\ -1: -V\beta_{-1} + \beta_{-1}\lambda - 2\alpha_{-1}\alpha_0 = 0 \\ 0: C_2 - V\beta_0 - \beta_1\mu - \alpha_0^2 + \beta_{-1} - 2\alpha_1\alpha_{-1} = 0 \\ 1: -V\beta_1 - \beta_1\lambda - 2\alpha_1\alpha_0 = 0 \\ 2: -\beta_1 - \alpha_1^2 = 0 \end{cases}$$

求解以上代数方程可得两组解,即

第一组解:

$$\begin{aligned} \alpha_1 &= -1 & \beta_1 &= -1 & \alpha_{-1} &= 0 & \beta_{-1} &= 0 \\ V &= 2\beta_0 + \lambda & C_1 &= -3\beta_0^2 - 3\lambda\beta_0 - \lambda^2 - 2\mu \\ \alpha_0 &= -\beta_0 - \lambda & C_2 &= 3\beta_0^2 + 3\lambda\beta_0 + \lambda^2 + 2\mu \end{aligned}$$

其中, μ, λ 和 β_0 是任意常数.

第二组解:

$$\begin{aligned} \alpha_1 &= -1 & \beta_1 &= -1 & \alpha_{-1} &= \mu & \beta_{-1} &= \mu \\ \lambda &= 0 & V &= 2\beta_0 & \alpha_0 &= -\beta_0 \\ C_1 &= -3\beta_0^2 + 4\mu & C_2 &= 3\beta_0^2 - 4\mu \end{aligned}$$

其中, μ 和 β_0 是任意常数.

1.1 求解第一组解

将第一组解中的相关数据代入⑫可以得到

$$\begin{cases} p(\xi) = -\left(\frac{G'}{G}\right) - \beta_0 - \lambda \\ q(\xi) = -\left(\frac{G'}{G}\right) + \beta_0 \end{cases} \quad (14)$$

其中 $\xi = x - (2\beta_0 + \lambda)t$.

将方程⑨的通解代入⑭中,可以得到MSS方程①②的如下3种类型的行波解.

其一,当 $\lambda^2 - 4\mu > 0$ 时,方程⑨的通解为^[7]

$$G(\xi) = A_1 e^{-\frac{\lambda + \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2}\xi} + A_2 e^{-\frac{\lambda - \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2}\xi}$$

将其代入 ⑭ 可得双曲函数解

$$p_1(\xi) = -\frac{\lambda}{2} - \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2}.$$

$$\frac{B_1 \sinh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2} + B_2 \cosh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2}}{B_2 \sinh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2} + B_1 \cosh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2}} - \beta_0$$

$$q_1(\xi) = \frac{\lambda}{2} - \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2}. \quad (15)$$

$$\frac{B_1 \sinh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2} + B_2 \cosh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2}}{B_2 \sinh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2} + B_1 \cosh \frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi}{2}} + \beta_0$$

其中, $\xi = x - (2\beta_0 + \lambda)t$, $B_1 = A_1 + A_2$ 和 $B_2 = A_1 - A_2$ 都是任意常数.

特别地,当 $B_1 > 0, B_1^2 > B_2^2$ 时,上述解可以约化为孤子解

$$p_1(\xi) =$$

$$-\frac{\lambda}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu} \tanh\left(\frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi + \xi_0\right) - \beta_0$$

$$q_1(\xi) =$$

$$\frac{\lambda}{2} - \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu} \tanh\left(\frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi + \xi_0\right) + \beta_0$$

其中, $\xi_0 = \tanh^{-1} \frac{B_2}{B_1}$.

如果 $B_1 \neq 0, B_2 = 0$,那么 ⑮ 还可以写为

$$p_1(\xi) =$$

$$-\frac{\lambda}{2} - \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu} \tanh \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi - \beta_0$$

$$q_1(\xi) = \frac{\lambda}{2} - \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu} \tanh \frac{1}{2} \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\xi + \beta_0$$

其二,当 $\lambda^2 - 4\mu < 0$ 时,方程 ⑨ 的通解为

$$G(\xi) = e^{-\frac{\lambda}{2}\xi} \left(A_1 \cos \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}}{2}\xi + A_2 \sin \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}}{2}\xi \right)$$

将该式代入 ⑭ 可得三角函数解

$$p_2(\xi) = -\frac{\lambda}{2} - \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}}{2}.$$

$$\frac{-A_1 \sin \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2} + A_2 \cos \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2}}{A_1 \sin \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2} + A_2 \cos \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2}} - \beta_0$$

$$q_2(\xi) = \frac{\lambda}{2} - \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}}{2}.$$

$$\frac{-A_1 \sin \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2} + A_2 \cos \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2}}{A_1 \sin \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2} + A_2 \cos \frac{\sqrt{4\mu - \lambda^2}\xi}{2}} + \beta_0$$

其中, $\xi = x - (2\beta_0 + \lambda)t$, A_1 和 A_2 是任意常数.

其三,当 $\lambda^2 - 4\mu = 0$ 时,方程 ⑨ 的通解为

$$G(\xi) = (A_1 + A_2\xi)e^{-\frac{\lambda}{2}\xi}$$

将该式代入 ⑭ 可得有理解

$$\begin{cases} p_3(\xi) = -\frac{\lambda}{2} - \frac{A_2}{A_2\xi + A_1} - \beta_0 \\ q_3(\xi) = \frac{\lambda}{2} - \frac{A_2}{A_2\xi + A_1} + \beta_0 \end{cases}$$

其中, $\xi = x - (2\beta_0 + \lambda)t$, A_1 和 A_2 是任意常数.

1.2 求解第二组解

将第二组解中的相关数据代入 ⑫ 可得

$$\begin{cases} p(\xi) = -\left(\frac{G'}{G}\right) - \beta_0 + \mu\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} \\ q(\xi) = -\left(\frac{G'}{G}\right) + \beta_0 + \mu\left(\frac{G'}{G}\right)^{-1} \end{cases} \quad (16)$$

其中, $\xi = x - 2\beta_0 t$.

由于 $\lambda = 0$,所以方程 ⑨ 变为

$$G'' + \mu G = 0 \quad (17)$$

将方程 ⑰ 的通解代入 ⑯ 中,得到 MSS 方程 ①② 的另外 3 种类型的行波解.

其一,当 $\mu < 0$ 时,有

$$G(\xi) = A_1 e^{\sqrt{-\mu}\xi} + A_2 e^{-\sqrt{-\mu}\xi}$$

此时方程 ①② 的双曲函数解为

$$p_4(\xi) = -\sqrt{-\mu}.$$

$$\frac{B_1 \sinh \sqrt{-\mu}\xi + B_2 \cosh \sqrt{-\mu}\xi}{B_2 \sinh \sqrt{-\mu}\xi + B_1 \cosh \sqrt{-\mu}\xi} - \beta_0 - \sqrt{-\mu}.$$

$$\frac{B_2 \sinh \sqrt{-\mu}\xi + B_1 \cosh \sqrt{-\mu}\xi}{B_1 \sinh \sqrt{-\mu}\xi + B_2 \cosh \sqrt{-\mu}\xi}$$

$$q_4(\xi) = -\sqrt{-\mu} \cdot$$

$$\frac{B_1 \sinh \sqrt{-\mu} \xi + B_2 \cosh \sqrt{-\mu} \xi}{B_2 \sinh \sqrt{-\mu} \xi + B_1 \cosh \sqrt{-\mu} \xi} + \beta_0 - \sqrt{-\mu} \cdot$$

$$\frac{B_2 \sinh \sqrt{-\mu} \xi + B_1 \cosh \sqrt{-\mu} \xi}{B_1 \sinh \sqrt{-\mu} \xi + B_2 \cosh \sqrt{-\mu} \xi}$$

其中, $\xi = x - 2\beta_0 t$, $B_1 = A_1 + A_2$ 和 $B_2 = A_1 - A_2$ 是任意常数.

特别地, 当 $B_1 > 0, B_1^2 > B_2^2$ 时, 上述方程的解可以约化为

$$p_4(\xi) = -\sqrt{-\mu} \tanh(\sqrt{-\mu} \xi + \xi_0) - \beta_0 - \sqrt{-\mu} \coth(\sqrt{-\mu} \xi + \xi_0)$$

$$q_4(\xi) = -\sqrt{-\mu} \tanh(\sqrt{-\mu} \xi + \xi_0) + \beta_0 - \sqrt{-\mu} \coth(\sqrt{-\mu} \xi + \xi_0)$$

其中, $\xi_0 = \tanh^{-1} \frac{B_2}{B_1}$.

其二, 当 $\mu > 0$ 时, 有

$$G(\xi) = A_1 \cos \sqrt{\mu} \xi + A_2 \sin \sqrt{\mu} \xi$$

由此可得 MSS 方程的三角函数解为

$$p_5(\xi) = -\frac{\sqrt{\mu}(-A_1 \sin \sqrt{\mu} \xi + A_2 \cos \sqrt{\mu} \xi)}{A_1 \cos \sqrt{\mu} \xi + A_2 \sin \sqrt{\mu} \xi} - \beta_0 +$$

$$\frac{\sqrt{\mu}(A_1 \cos \sqrt{\mu} \xi + A_2 \sin \sqrt{\mu} \xi)}{-A_1 \sin \sqrt{\mu} \xi + A_2 \cos \sqrt{\mu} \xi}$$

$$q_5(\xi) = -\frac{\sqrt{\mu}(-A_1 \sin \sqrt{\mu} \xi + A_2 \cos \sqrt{\mu} \xi)}{A_1 \cos \sqrt{\mu} \xi + A_2 \sin \sqrt{\mu} \xi} + \beta_0 +$$

$$\frac{\sqrt{\mu}(A_1 \cos \sqrt{\mu} \xi + A_2 \sin \sqrt{\mu} \xi)}{-A_1 \sin \sqrt{\mu} \xi + A_2 \cos \sqrt{\mu} \xi}$$

其中, $\xi = x - 2\beta_0 t$, A_1 和 A_2 是任意常数.

其三, 当 $\mu = 0$ 时, 有

$$G(\xi) = A_1 + A_2 \xi$$

将该通解代入 ①② 可得

$$p_6(\xi) = -\frac{A_2}{A_1 + A_2 \xi} - \beta_0$$

$$q_6(\xi) = -\frac{A_2}{A_1 + A_2 \xi} + \beta_0$$

其中, $\xi = x - 2\beta_0 t$, A_1 和 A_2 是任意常数.

2 结论

本文利用 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法求解了 MSS 方程, 得到了该方程的双由函数解. 三角函数解和有理函数解 3 种类型的精确行波解, 大大丰富了该方程的解系, 为该方程的应用及其他性质的研究提供了依据.

参考文献:

[1] WANG M L, LI X Z, ZHANG J L. The $\left(\frac{G'}{G}\right)$ -expansion method and travelling wave solutions of nonlinear evolution equations in mathematical physics [J]. Physics Letter A, 2008, 372(4): 417.

[2] 李叶庭. $\left(\frac{G'}{G+G'}\right)$ 展开法在非线性发展方程求解中的应用 [D]. 呼和浩特: 内蒙古工业大学, 2014.

[3] 高华. Exp_函数法和 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法在非线性发展方程求解中的应用 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2010.

[4] 韩园媛. 扩展的 $\left(\frac{G'}{G}\right)$ 展开法及其应用 [D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2013.

[5] MILHAILOV A V, SHABAT A B, SOKOLOV V V. The symmetry approach to classification of integrable equations [M] // What is integrability? Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1991: 115 - 184.

[6] HE G L, GENG X G, WU L H. The application of trigonal curve to the Mikhailov-Shabat-Sokolov flows [J]. Zeitschrift für Angewandte Mathematik und Physik, 2016, 67: 1.

[7] 王高雄, 周之铭, 朱思铭. 常微分方程 [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.