



引用格式:孟君,聂钰红,王培. 十香菜中微量元素含量研究[J]. 轻工学报,2017,32(2):1-6.

中图分类号:TS203.7 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.001

文章编号:2096-1553(2017)02-0001-06

十香菜中微量元素含量研究

Study on contents of the trace elements in ten coriander

孟君,聂钰红,王培

MENG Jun, NIE Yu-hong, WANG Pei

郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

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

关键词:

十香菜;微量元素;富集能力;火焰原子吸收法

Key words:

ten coriander; trace element; accumulation ability; flame atomic absorption spectrophotometry

摘要:以 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ 为消解体系,采用湿法消解,通过火焰原子吸收法测定两种不同生长环境下十香菜中 K, Ca, Mg, Fe, Cu, Pb 元素的含量. 结果表明:两种十香菜都含有丰富的人体必需元素 K, Ca, Mg, Fe, 还含有一定量的重金属元素 Cu, Pb, 但样本生长环境不同,各元素含量有一定的差异;同一生长环境下,十香菜的茎、叶中相同元素含量也有一定的差别,除 Mg 外,其他 5 种元素在叶中的含量均高于在茎中的含量. 加标回收实验结果表明,Fe 和 Cu 元素加标回收率为 84% ~ 107%,精密度为 0.5% ~ 1.3%,说明本实验方法准确,结果可靠.

收稿日期:2016-07-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31271854)

作者简介:孟君(1971—),女,河南省商丘市人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为食品分析.

Abstract: The contents of K, Ca, Mg, Fe, Cu and Pb in ten coriander samples from two kinds of different growing regions was evaluated in $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ digestive system by using wet digestion and flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS). The results showed that two kinds of ten coriander samples contained high contents of K, Ca, Mg and Fe of human requirements, as well as a certain amount of heavy metal elements Cu and Pb. But the element contents of ten coriander samples from different growing regions had the certain differences. The certain differences in element contents were also observed between the leaves and stems of ten coriander in the same growing region, in addition to Mg, the content of other five elements in the leaves were higher than that of stem, standard addition recovery experiment showed that the average recovery 84% ~ 107% and the relative standard deviation 0.5% ~ 1.3% of Fe and Cu elements. The experimental method was accurate and the results were reliable.

0 引言

十香菜是留兰香的一种,属唇形科薄荷属多年生草本植物,又称绿薄荷.自然分布在黄河以南、淮河流域,主要产于河南省驻马店、南阳等地^[1-2].十香菜香味独特,既有荆芥的麻爽,又有薄荷的清凉,嫩枝和叶片可用于鲜菜调味,也可用于主菜配饰.在过去,十香菜是民间的一种调味菜,现在已成为高档餐厅的美味.十香菜富含精油等多种有机物活性成分^[4-5],可应用于食品、日化等领域,叶、茎或全草也可供药用^[6-7].众所周知,微量元素与人体健康关系密切,摄入过量或不足都会不同程度地造成人体生理的异常甚至引发疾病.随着工业化的发展,食品重金属污染问题日益严峻^[8].在人民生活水平和健康意识不断提高的情况下,无污染的绿色食品越来越受到消费者的青睐.目前,关于十香菜中微量元素的研究鲜见报道.本研究拟对不同生长环境下十香菜中6种微量元素的含量进行比较分析,探讨其中微量元素的富集、迁移与环境条件的内在关系,旨在为河南特产十香菜的开发利用提供理论参考.

1 材料与方法

1.1 材料与设备

主要材料:河南大叶品种的十香菜,购自郑州市菜市场,样品A产地为郑州,样品B产地

为驻马店.

主要试剂:硝酸、次氯酸,均为分析纯,烟台市双双化工有限公司产;氯化镧(10 g/L)(分析纯),上海山浦化工有限公司产;氯化铯(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司产;Cu, Fe, Pb, Mg, Ca, K元素的标准储备液(1 g/L),国家标准物质研究中心产.

主要设备:DHG-9145A电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司产;CP214电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司产;AA240FS原子吸收光谱仪,美国瓦里安公司产.

1.2 方法

1.2.1 样品处理 将十香菜样品A和B的叶子与梗脉分开,用去离子水清洗干净,于120℃烘箱中烘干.将烘干样品用粉碎机打碎成粉末,过60目筛,准确称量两种样品叶子粉末和梗脉粉末各0.4 g(精确到0.000 1 g).将称量的样品放入50 mL小烧杯中,依次加入10 mL HNO_3 和2 mL HClO_4 ,用保鲜膜封住烧杯口,放置在通风橱中过夜.

在通风橱中,将经过夜处理的上述样品放在电炉上低温加热,使样品中的有机物与消解体系中的氧化性酸充分反应,提高消解效率^[9].消解过程中冒出大量棕黄色的烟,继续加热并不断振荡小烧杯,直至烧杯中冒出白色的烟.待烧杯中消解液的颜色逐渐变淡,直至无色,继续

加热至消解液近干(2~3 mL),冷却至室温.分别用适量的去离子水润洗烧杯2—3次,并将润洗液转移至50 mL容量瓶中定容,同时做试剂空白,放置于4℃冰箱中,待测.

1.2.2 火焰原子吸收仪工作条件 原子吸收光谱法具有操作简便、测定速度快、重现性好、准确度高、精密度好等优点,在食品检验和环保监测等领域已成为对金属元素进行检测分析的有效手段之一^[10].火焰原子吸收仪工作条件:空气流量均为 $13.50\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,乙炔流量均为 $2.00\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,其他条件见表1.

表1 火焰原子吸收仪工作条件

Table 1 Working conditions of flame atomic absorption spectrometer

元素	波长/nm	电流/mA	狭缝/nm	扣背景
Fe	248.3	10.0	0.2	开
Cu	324.8	2.0	0.5	关
Pb	217.0	10.0	0.2	开
Ca	422.7	3.0	0.5	关
Mg	285.2	2.0	0.2	开
K	766.5	2.0	1.0	关

1.2.3 6种金属元素标准工作溶液的配制

1) Fe, Cu 和 Pb 标准工作溶液的配制:分别准确量取 Fe, Cu 和 Pb 国家标准储备液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,用质量分数 1% 的 HNO_3 溶液定容配制成含上述元素各 100 mg/L 的标准工作液.再依次准确吸取不同体积的标准工作液,配制 Fe, Cu 和 Pb 标准系列工作液,见表 2.

2) Ca 和 Mg 标准工作溶液的配制:准确量取 Ca 和 Mg 国家标准储备液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,用质量分数 1% 的 HNO_3 溶液定容配制成含 Ca 和 Mg 各 100 mg/L 的标准工作液.依次准确吸取不同体积的标准工作液,再分别加入一定浓度的氯化镧溶液,使得标准系列工作液中氯化镧含量为 10%,最后用质量分数 1% 的 HNO_3 溶液定容至 100 mL,配制成 Ca 和 Mg 标准系列工作液,见表 2.

3) K 标准工作溶液的配制:准确量取 K 国家标准储备液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,用质量分数 1% 的 HNO_3 溶液定容配制成含 K 100 mg/L 的标准工作液.再依次准确吸取不同体积的 K 标准工作液,分别向其中加入 50 mL 2 g/L 的氯化铯溶液,并用质量分数 1% 的 HNO_3 溶液定容至 100 mL,配制成 K 标准系列工作液,见表 2.

表2 6种元素标准工作溶液浓度

Table 2 Standard working solution

序号	concentration of six elements					
	Fe	Cu	Pb	Ca	Mg	K
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	2.00	0.20	1.00	0.20	1.00	0.40
3	4.00	0.40	2.00	0.40	2.00	0.80
4	6.00	0.60	3.00	0.60	3.00	1.20
5	8.00	0.80	4.00	0.80	4.00	1.60
6	10.00	1.20	5.00	1.00	5.00	2.00

1.2.4 元素含量的测定

1) 标准液工作曲线的制作.

在仪器最佳工作条件下,将各元素标准工作溶液按浓度从低到高的顺序依次进样,绘制出标准液工作曲线,回归方程与相关系数见表 3.

2) 样品测定.

待各元素标准液工作曲线绘制完成后,在相同的测定条件下,依次测定处理好的样品溶液,获得各元素相应的吸光度值,根据标准液工

表3 各个元素的回归方程与相关系数

Table 3 Regression equation and correlation coefficient of each element

元素	标准液工作曲线回归方程	相关系数 R
Fe	$C = A / (-0.24989 \times A^2 + 0.04541 \times A + 0.11328)$	1.0000
Cu	$C = A / (-0.09454 \times A^2 - 0.05124 \times A + 0.24609)$	0.9999
Pb	$C = A / (-0.15923 \times A^2 + 0.01112 \times A + 0.04965)$	1.0000
Ca	$C = A / (1.33337 \times A^2 - 0.69905 \times A + 0.25258)$	0.9983
Mg	$C = A / (1.14142 \times A^2 + 0.82063 \times A + 0.77558)$	0.9991
K	$C = A / (-2.80547 \times A^2 + 0.89586 \times A + 0.87263)$	0.9993

注:A表示溶液的平均吸光度,C表示溶液浓度.

作曲曲线计算出样品溶液中各元素的浓度。

Fe, Cu, Pb 含量用火焰原子吸收法进行样品测定。

Ca 和 Mg 含量的测定:取原样品液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,再加入氯化镧溶液,使样品溶液中镧的浓度与标准工作溶液中基本一致,然后用去离子水定容。用稀释 100 倍的样品液进样,测定 Ca 和 Mg 含量,最后换算成样品中的实际含量。

K 含量的测定:取原样品液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,再加入氯化铯溶液,使样品溶液中铯的浓度与标准工作溶液中基本一致,然后用去离子水定容。用稀释 100 倍的样品液进样,测定 K 含量,最后换算成样品中的实际含量。

3) Ca, Mg 和 K 元素测定时的干扰因素与消除措施。

在空气-乙炔火焰中,测定 Ca 和 Mg 元素时有干扰产生,这种干扰可通过在溶液中加入释放剂(10 g/L 的镧)来消除。

在空气-乙炔火焰中,K 会被部分离子化,可以通过加入硝酸铯或氯化铯,使铯的最终浓度达到 1000 mg/L 来抑制 K 离子化。

以上元素测量时的化学干扰,通过配置样品溶液与标准工作溶液中相同的镧和铯浓度,可以得到很好的消除。

1.2.5 统计方法 测定结果采用 SPSS 软件进行处理,统计结果为 3 次平行测定的平均值。

2 结果与讨论

2.1 两种十香菜样品中 6 种元素含量的比较分析

采用火焰原子吸收法,在表 1 所示各元素最佳测定条件下,测定样品中 6 种元素的含量,结果见图 1。从图 1 可以看出,生长环境不同的两种十香菜样品中,6 种元素的总含量差异明显。其中, K, Ca, Mg 是生物体生命活动所必需

的元素,也属于生物体内的大量元素,在十香菜样品中含量较多。但对于 K 元素而言,新鲜十香菜经烘干后样品 A 的 K 含量约是干十香菜样品 B 中 K 含量的 8 倍。由此得出,老叶中的 K 含量较新鲜叶中 K 含量明显降低,这可能与十香菜种植环境和收割时间有关。参与循环的 K 元素在植物体内能被多次利用,大多分布于生长点和嫩叶等代谢较旺盛的部分,缺少 K 元素的情况多发生在老叶部位。植株开花结实时,元素 K 由营养体(茎、叶)运往花和果实(生殖器官);植物落叶时,元素 K 由叶运往茎干或根部。Ca, Fe 在不同十香菜样品中的含量相差不大。Mg, Cu 在不同十香菜样品中的含量有一定的差别,样品 B 中 Mg 含量约为样品 A 中含量的 1.8 倍,样品 B 中 Cu 含量约为样品 A 中含量的 1.6 倍。两样品 Pb 含量约为 16 mg/kg,远远超过了 < 0.2 mg/kg 的中国蔬菜国家标准^[1]。Cu 和 Pb 是重金属元素,特别是 Pb,可通过食物链在人体内富集,危害身体健康,值得引起注意。

2.2 两种十香菜样品不同部位 6 种元素含量的比较分析

两种十香菜样品叶、茎中 K, Ca, Mg 元素的含量如图 2 所示。从图 2 可以看出,样品 A 叶

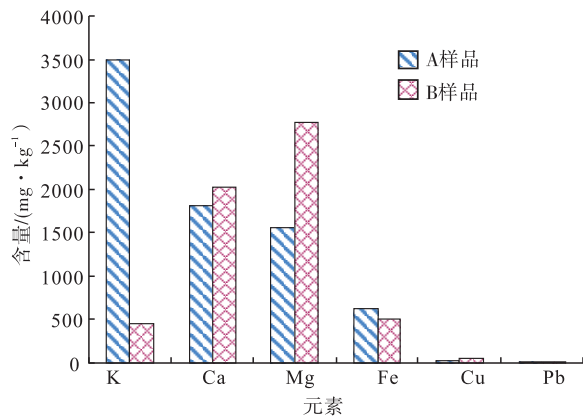


图 1 两种十香菜样品中 6 种元素含量
Fig. 1 Contents of six elements in two ten coriander samples

(A_1)中的 K, Ca, Mg 含量均高于其在茎(A_2)中的含量,其中 A_1 中 K 和 Mg 的含量约为 A_2 的 2 倍. 样品 B 叶(B_1)和茎(B_2)中 K 和 Ca 含量相差不大,但 B_2 中 Mg 含量明显高于 B_1 .

两种十香菜样品叶、茎中 Fe 元素的含量如图 3 所示. 从图 3 可以看出,两种十香菜样品叶中(A_1, B_1) Fe 含量均高于茎中(A_2, B_2)含量,其中, B_1 中 Fe 含量约为 B_2 中含量的 2.5 倍.

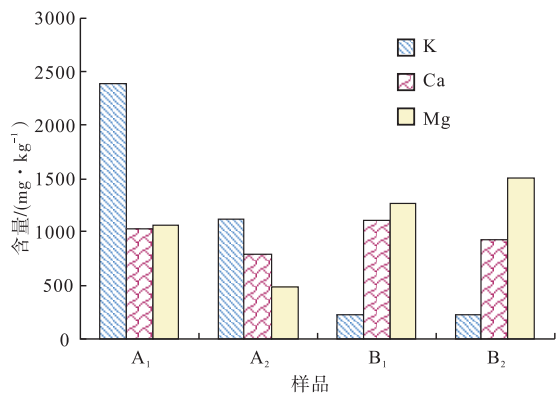


图 2 两种十香菜样品叶和茎中 K, Ca, Mg 含量

Fig. 2 The K, Ca and Mg contents in the leaves and stems of two ten coriander samples

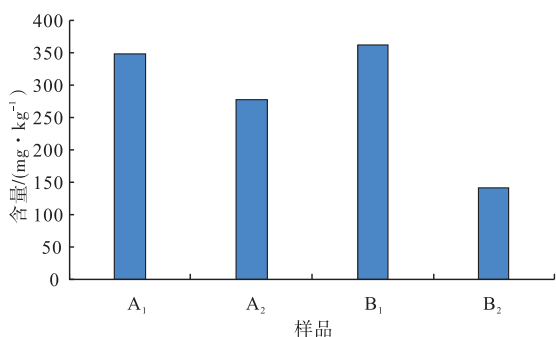


图 3 两种十香菜样品叶和茎中 Fe 含量

Fig. 3 The Fe content in the leaves and stems of two ten coriander samples

两种十香菜样品叶、茎中 Cu, Pb 含量如图 4 所示. 从图 4 可以看到,两种十香菜样品叶(A_1, B_1)和茎(A_2, B_2)中 Cu 含量差别不大,但两种样品叶中(A_1, B_1)Pb 含量均明显高于茎中(A_2, B_2)的含量,且远远超过国家规定的蔬菜中 Pb 含量的标准,说明两地十香菜的种植环境

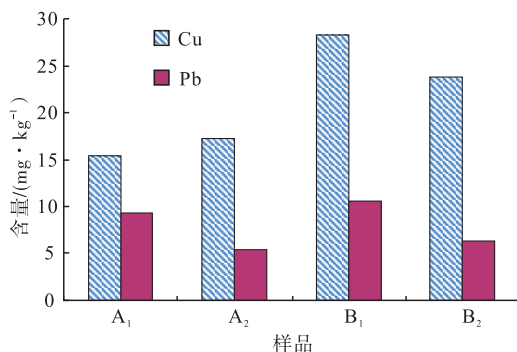


图 4 两种十香菜样品叶和茎中 Pb, Cu 含量

Fig. 4 The Pb and Cu contents in the leaves and stems of two ten coriander samples

已受到一定程度的 Pb 重金属离子污染,应当引起注意.

2.3 加标回收实验与精密度计算

加标回收率的测定是实验室常用的确定准确度的方法^[12]. 本实验选取 Fe 和 Cu 含量的测定进行加标回收实验,以不同部位的十香菜样品为实验对象,根据加标回收率 $P = (\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值}) / \text{加标量} \times 100\%$ ^[13] 的计算公式,计算测定结果的加标回收率,结果见表 4.

从表 4 可知,Fe 的加标回收率为 87% ~ 103%,精密度为 0.5% ~ 1.0%;Cu 的加标回收率为 84% ~ 107%,精密度为 0.5% ~ 1.3%. 结果表明,Fe 和 Cu 的加标回收率较高,本实验方法准确,结果可靠.

3 结论

本文以 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ 为消解液体系,采用湿法消解,通过火焰原子吸收法测定不同生长环境下十香菜中的 K, Ca, Mg, Fe, Cu, Pb 含量,结果表明: 1) 两种不同生长条件下的十香菜中都含有丰富的人体必需元素 K, Ca, Mg, Fe,但同时检测到一定量的重金属元素 Cu 和 Pb; 生长环境不同,十香菜样品中元素的含量不同,十香菜样品 A 中 K 含量约是样品 B 中含量的 8 倍,

表4 样品中 Fe 和 Cu 加标回收率与精密度

Table 4 The standard addition recovery rate and precision of Fe and Cu in samples

元素	十香菜 样品	加标前样品 浓度/(mg·L ⁻¹)	样品体积 /mL	加标浓度 /(mg·L ⁻¹)	加标体积 /mL	加标后样品 浓度/(mg·L ⁻¹)	回收率 /%	精密度 /%
Fe	A ₁	2.992	5	20	1	5.687	96	1.0
	A ₂	2.418	5	20	1	5.258	97	0.8
	B ₁	3.171	5	20	1	6.087	103	0.5
	B ₂	1.374	5	10	1	2.587	87	0.7
Cu	A ₁	0.141	5	1	1	0.282	99	0.7
	A ₂	0.156	5	1	1	0.284	93	0.5
	B ₁	0.232	5	1.5	1	0.403	84	1.3
	B ₂	0.205	5	1.5	1	0.438	107	1.1

但 Mg 和 Cu 含量却明显低于样品 B。2) 即使处于同种生长环境下, 十香菜不同部位的各种元素的富集也不同, 十香菜样品中除 Mg 元素外, 其他 5 种元素在叶中的含量均比在茎中的含量要高。由此可知, 植物的叶子是微量元素富集的主要部位。实验结果也警示我们, 两种环境下生长的十香菜样品, 在茎、叶中的 Pb 含量, 都远远超过了国家标准 ($<0.2 \text{ mg/kg}$), 这说明两种十香菜的种植环境都受到了重金属 Pb 一定程度的污染, 且叶是重金属主要的富集区, 这一点应当引起人们注意。

对 Fe 和 Cu 含量的测定进行加标回收实验, 加标回收率为 84% ~ 107%, 精密度为 0.5% ~ 1.3%, 进一步验证了实验结果的准确性。本文对十香菜中相关元素的来源、含量和十香菜对这些元素富集能力的研究结论, 为十香菜的合理食用、药用提供了一定的参考, 同时对人们研究、开发、利用其他蔬菜, 考察生长环境对蔬菜中微量元素的影响, 也有借鉴意义。

参考文献:

[1] 杨雨华, 宗建伟, 杨风岭. 河南十香菜种质资源调查及利用研究[J]. 中国园艺文摘, 2014(5):169.

[2] 张晓伟, 李培睿, 吴贺森, 等. 十香菜抗氧化物质提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国调

味品, 2016, 41(4):70.

- [4] 王立斌, 马永纯, 班伟. 水蒸气蒸馏法提取薄荷中挥发油[J]. 通化师范学院学报, 2005, 26(6):56.
- [5] 安秋荣, 郭志峰. 用 GC-MS 法分析春、秋季薄荷油成分[J]. 分析测试学报, 2000, 19(5):64.
- [6] 张晓伟, 李青雨, 王德国, 等. 留兰香挥发油的薄层分离及抗菌活性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(17):10263.
- [7] 张晓伟, 李青雨, 王德国, 等. 留兰香精油的抗菌活性研究[J]. 食品科技, 2011, 36(4):227.
- [8] 孟君, 苏彩娜. 郑州市环境中重金属 Pb, Cd 的污染分析[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2013, 28(4):52.
- [9] 寇志华, 丁新民, 瑚亚奇. 奶粉中锌、铁、钙的火焰原子吸收测定法[J]. 职业与健康, 2007, 23(9):707.
- [10] 薛国庆, 刘青, 韩晓梅, 等. 火焰原子吸收法测定栽培柴胡中 6 种金属元素含量的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(6):1173.
- [11] 中国国家标准化管理委员会. 食品中铅的测定: GB/T 5009. 12—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [12] 吴树宏, 周春华. 加标回收率计算方法的探讨[J]. 甘肃环境研究与监测, 2000, 13(3):179.
- [13] 王海兵, 王海青. 水环境检测中加标回收率计算方法探讨[J]. 治淮, 2010(12):57.



引用格式:郭桂义,杨转,王乔健,等.速溶茶粉制作工艺研究[J].轻工学报,2017,32(2):7-12.

中图分类号:TS272 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.002

文章编号:2096-1553(2017)02-0007-06

速溶茶粉制作工艺研究

Study on preparation technology of instant tea powder

郭桂义¹,杨转²,王乔健²,莫海珍³

GUO Gui-yi¹, YANG Zhuan², WANG Qiao-jian², MO Hai-zhen³

1. 信阳农林学院 茶学院,河南 信阳 464000;

2. 河南科技学院 园艺园林学院,河南 新乡 453003;

3. 河南科技学院 食品学院,河南 新乡 453003

1. Department of Tea Science, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, China;

2. School of Horticulture and Landscape Architecture, He'nan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

3. School of Food Science, He'nan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China

关键词:

速溶茶粉;浸提;冷冻干燥;喷雾干燥;氨基酸

Key words:

instant tea powder; extraction; freeze drying; spray drying; amino acid

摘要:以普洱、金骏眉、铁观音3种茶叶为材料,通过90℃下常规浸提30 min和120℃下加压热浸提30 min后,分别经冷冻干燥和喷雾干燥制作速溶茶粉,再利用氨基酸自动分析仪分别测定其氨基酸组成和含量,最后进行感官评定,以确定最佳制作工艺。实验结果表明:120℃加压热浸提并冷冻干燥条件下,速溶茶粉具有较高的得率,且游离氨基酸含量较高。感官评价结果表明,冷冻干燥茶样的香气较喷雾干燥茶样浓郁,溶解性更好,滋味更加醇厚,且汤色也更容易让人接受。

收稿日期:2016-05-10

基金项目:河南省科技攻关项目(122102310308);河南省高校科技创新团队支持计划项目(16IRTSTHN007)

作者简介:郭桂义(1963—),男,河南省辉县人,信阳农林学院教授,主要研究方向为茶学教育。

通信作者:莫海珍(1972—),女,河南省洛阳市人,河南科技学院教授,博士,主要研究方向为食品质量与安全。

Abstract: To obtain different instant tea, three tea leaves (Pu'er tea, Gold Junmei tea and Tie Guanyin tea) were extracted by conventional (90 °C, 30 min) and pressurized (120 °C, 30 min) methods and dried in freezing and spraying condition. The amino acid composition and content were determined by the automatic amino acid analyzer, and the sensory evaluation was conducted. The yield and the content of free amino acids in instant tea powder was higher under the conditions of 120 °C pressurized hot extraction and freeze drying. The sensory evaluation showed freeze drying tea sample was more aromatic, better soluble, more mellow in taste, and its soup color was also easier to accept than spray drying tea sample.

0 引言

速溶茶是以茶叶为原料,经浸提过滤、浓缩、干燥等工序制成粉末,可以直接冲泡饮用的方便固体饮料^[1-2]。其中,浸提是速溶茶生产的重要环节,浸提条件不仅影响成品的色、香、味等品质,还影响成品得率^[3]。速溶茶基本保持了茶叶原有的色、香、味,且具有营养、方便、卫生、高雅等优点,深受国内外消费者的喜爱^[4]。

茶叶中游离氨基酸总量是影响茶味品质的主要因素,其组成不同,茶叶呈现的口感特点也不尽相同^[5-6]。其中,茶氨酸是茶叶中独有的一种氨基酸^[7]。此外,茶叶中还含有谷氨酸、天冬氨酸、精氨酸、赖氨酸等^[8]。茶叶中的氨基酸大多具有鲜、爽、甜等特点,部分氨基酸略带酸味。因此,茶叶中氨基酸含量较高,茶的口感就会表现出鲜、爽、甜等特点。

目前茶叶精深加工行业现状存在诸多问题,如饮用不方便、常温水浸提率低、干燥工艺氨基酸损失严重等。本研究拟选择3种茶叶,以水作为浸提溶剂,比较不同浸提和干燥方法对茶叶中氨基酸组成和含量的影响,以感官鉴定和游离氨基酸的组分为参考指标,研究速溶茶制作工艺的最佳方案,以期高氨基酸速溶茶的制作提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

主要材料:2009 陈年普洱老茶头,产地为云南勐海县;金骏眉,产地为福建武夷山;铁观音,

产地为安溪县龙涓乡。

主要仪器:HVE-50型全自动高压灭菌器,南京途威商贸有限公司产;M510型氨基酸分析仪,美国密理博公司产;1260型高效液相色谱,美国Agilent公司产;Alpha 1-4型冷冻干燥机,德国Christ公司产;SHA-BA型恒温水浴锅,常州菲普实验仪器厂产;MRDP-5型离心式喷雾干燥机,江苏常熟干燥设备厂产。

1.2 工艺与方法

1.2.1 工艺设计 样品预处理:用倾斜式高速万能粉碎机粉碎适量茶叶,过80目筛。

1) 浸提处理

①常温浸提:称取10.00g粉碎后的茶叶置于锥形瓶中,加入250mL沸水,水浴浸提30min(温度90℃)。

②加压浸提:称取10.00g粉碎后的茶叶置于锥形瓶中,加入250mL沸水,浸提30min(温度120℃,压力0.1MPa)。

2) 离心净化

冷却后,离心提纯(转速为8000r/min),取上清液。

3) 干燥处理

①冷冻干燥:取上清液置于冷冻干燥机中冻干成粉。

②喷雾干燥:取上清液置于喷雾干燥器中干燥成粉。其中,进风温度为220℃,出风温度为95℃,蠕动泵的进料速度(蠕动泵转速)为25r/min。

1.2.2 速溶茶粉得率的测定

得率 = (制得的茶粉质量 / 原料质量) × 100%

1.2.3 游离氨基酸含量的测定 吸取 2 mL 上述滤液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,采用离子交换色谱-茚三酮柱后衍生法,用氨基酸自动分析仪测定其游离氨基酸含量. 色谱条件:标准分析柱(4.6 mm \times 60.0 mm, 3 μm);反应柱温度 55.0 $^{\circ}\text{C}$;反应器温度 138.0 $^{\circ}\text{C}$;缓冲液流速 0.40 mL/min;茚三酮溶液流速 0.35 mL/min;自动进样体积 10 μL .

1.2.4 茶氨酸含量测定 采用高效液相色谱法,吸取 2 mL 上述滤液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进样. 色谱柱: Eclipse XDB - C18 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相: A 相为体积分数 0.05% 的三氟乙酸溶液, B 相为甲醇;流速 0.80 mL/min;紫外检测波长 210 nm;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量体积 10 μL .

1.2.5 感官鉴定 将制得的速溶茶粉,按料液比 1:50 (w/v),用 80 $^{\circ}\text{C}$ 水冲泡后,根据 GB/T 31740.1—2015《茶制品 第 1 部分: 固态速溶茶》^[1]对速溶茶汤的色泽、滋味、香气、溶解性等品质特点进行感官评定,评分标准见表 1. 每个处理重复 3 次,采用百分制的方式,取平均值为最终得分^[9].

2 结果与讨论

2.1 不同加工工艺下速溶茶粉得率

速溶茶粉在不同加工工艺下的得率见表 2.

表 1 速溶茶感官评定评分标准

Table 1 The rating criteria for sensory evaluation of instant tea

评价因子	评分标准		
滋味	浓郁醇厚 20—30	甜醇 10—20	平和 1—10
香气	馥郁持久 20—30	浓香回甘 15—20	淡香 1—15
色泽	透明鲜亮 15—20	色泽较亮 10—15	暗淡无光 1—10
溶解性	迅速溶解 15—20	缓慢溶解 10—15	较慢,需搅拌 1—10

表 2 速溶茶粉在不同工艺条件下的得率

Table 2 Yield of instant tea powder in different processing conditions

	processing conditions			%
茶粉	工艺 1	工艺 2	工艺 3	工艺 4
普洱	12.03	14.83	8.421	10.86
铁观音	14.36	16.52	6.94	8.26
金骏眉	13.05	16.31	7.31	9.14

其中,工艺 1:90 $^{\circ}\text{C}$ 常规水浸提并冷冻干燥;工艺 2:120 $^{\circ}\text{C}$ 加压热浸提并冷冻干燥;工艺 3:90 $^{\circ}\text{C}$ 常规水浸提并喷雾干燥;工艺 4:120 $^{\circ}\text{C}$ 加压热浸提并喷雾干燥. 由表 2 可知,不同茶样经不同加工工艺所得的速溶茶粉得率有明显差异,但均以 120 $^{\circ}\text{C}$ 加压热浸提并冷冻干燥处理得率最高,最高达 16.52%. 而喷雾干燥处理由于喷雾过程中茶粉损失较为严重,其得率远低于冷冻干燥处理.

2.2 不同工艺条件下茶样游离氨基酸组成和含量分析

3 种茶样在不同工艺条件下游离氨基酸组成和含量分析结果见表 3—表 5. 由表 3—表 5 可知,同样干燥条件下,除甘氨酸、天冬氨酸之外含量较多的几种氨基酸,包括茶氨酸、谷氨酸、精氨酸和缬氨酸,120 $^{\circ}\text{C}$ 加压热浸提处理比 90 $^{\circ}\text{C}$ 常规水浸提所得氨基酸含量明显提高,说明采用加压热浸提工艺提取的茶样具有更好的浸提效果.

同样浸提条件下,除谷氨酸、天冬氨酸之外含量较多的几种氨基酸,包括茶氨酸、甘氨酸、精氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸,冷冻干燥处理所得氨基酸含量明显高于喷雾干燥处理,说明冷冻干燥工艺能够较好地保持速溶茶的营养和滋味成分.

总的来说,3 种茶样的游离氨基酸含量均呈现如下规律:工艺 2 > 工艺 1 > 工艺 4 > 工艺 3. 由此可知,工艺 2 具有较好的浸提效果,能较好地保留茶样中的游离氨基酸.

表3 普洱茶在不同工艺条件下的
游离氨基酸组成和含量

Table 3 Free amino acid composition
and content of Pu'er tea under
different processing conditions %

氨基酸	工艺1	工艺2	工艺3	工艺4
茶氨酸	1.462	1.538	1.072	1.167
天冬氨酸	9.430×10^{-1}	8.398×10^{-1}	9.476×10^{-1}	6.953×10^{-1}
谷氨酸	8.391×10^{-1}	9.945×10^{-1}	8.661×10^{-1}	5.568×10^{-1}
丝氨酸	3.130×10^{-1}	3.195×10^{-1}	2.126×10^{-1}	2.387×10^{-1}
组氨酸	1.490×10^{-1}	1.583×10^{-1}	1.038×10^{-1}	1.489×10^{-1}
甘氨酸	6.800×10^{-1}	6.985×10^{-1}	4.889×10^{-1}	6.804×10^{-1}
苏氨酸	3.120×10^{-1}	3.146×10^{-1}	2.049×10^{-1}	3.116×10^{-1}
精氨酸	5.810×10^{-1}	5.828×10^{-1}	4.888×10^{-1}	5.844×10^{-1}
丙氨酸	3.970×10^{-1}	4.111×10^{-1}	2.606×10^{-1}	3.973×10^{-1}
酪氨酸	2.260×10^{-1}	2.268×10^{-1}	1.516×10^{-1}	2.258×10^{-1}
半胱氨酸	4.010×10^{-2}	3.929×10^{-2}	3.852×10^{-3}	4.005×10^{-2}
缬氨酸	5.420×10^{-1}	5.437×10^{-1}	3.548×10^{-1}	5.491×10^{-1}
蛋氨酸	1.760×10^{-1}	1.651×10^{-1}	1.081×10^{-1}	1.765×10^{-1}
苯丙氨酸	2.410×10^{-1}	3.145×10^{-1}	2.184×10^{-1}	2.411×10^{-1}
异亮氨酸	2.990×10^{-1}	3.096×10^{-1}	1.890×10^{-1}	2.994×10^{-1}
亮氨酸	4.120×10^{-1}	4.289×10^{-1}	2.374×10^{-1}	4.123×10^{-1}
赖氨酸	2.860×10^{-1}	2.981×10^{-1}	1.946×10^{-1}	2.855×10^{-1}
脯氨酸	5.120×10^{-1}	5.314×10^{-1}	3.600×10^{-1}	5.121×10^{-1}
总量	7.482	8.004	5.597	6.053

工艺2条件下不同茶样主要氨基酸含量的比较结果如图1所示.由图1可以看出,在最佳浸提和干燥条件下,不同茶样主要氨基酸组成中,缬氨酸和天冬氨酸含量比较少且差别不是很大,而茶氨酸、谷氨酸和精氨酸含量差距比较明显:铁观音中茶氨酸含量 > 普洱中茶氨酸含量 > 金骏眉中茶氨酸含量;普洱中谷氨酸含量 > 铁观音中谷氨酸含量 > 金骏眉中谷氨酸含量;铁观音中精氨酸含量 > 金骏眉中精氨酸含量 > 普洱中精氨酸含量.这说明在该工艺条件下,茶氨酸、谷氨酸和精氨酸含量可能与茶叶品种有关.

从3种茶样的游离氨基酸含量来看,各茶

表4 金骏眉茶在不同工艺条件下的
游离氨基酸组成和含量

Table 4 Free amino acid composition and
content of Gold Junmei tea under different
processing conditions %

氨基酸	工艺1	工艺2	工艺3	工艺4
茶氨酸	1.234	1.352	0.711	0.803
天冬氨酸	6.934×10^{-1}	7.431×10^{-1}	7.401×10^{-1}	8.480×10^{-1}
谷氨酸	6.265×10^{-1}	7.739×10^{-1}	5.732×10^{-1}	7.374×10^{-1}
丝氨酸	3.576×10^{-1}	3.990×10^{-1}	1.492×10^{-1}	1.662×10^{-1}
组氨酸	9.449×10^{-2}	9.231×10^{-2}	4.475×10^{-2}	5.173×10^{-2}
甘氨酸	7.063×10^{-1}	5.768×10^{-1}	3.372×10^{-1}	3.655×10^{-1}
苏氨酸	1.857×10^{-1}	2.447×10^{-1}	1.180×10^{-1}	1.465×10^{-1}
精氨酸	7.270×10^{-1}	7.780×10^{-1}	4.337×10^{-1}	4.740×10^{-1}
丙氨酸	3.144×10^{-1}	3.060×10^{-1}	3.654×10^{-1}	3.789×10^{-1}
酪氨酸	1.450×10^{-1}	1.431×10^{-1}	1.224×10^{-1}	1.289×10^{-1}
半胱氨酸	5.219×10^{-2}	5.279×10^{-2}	2.815×10^{-2}	2.318×10^{-2}
缬氨酸	5.996×10^{-1}	6.102×10^{-1}	2.179×10^{-1}	2.610×10^{-1}
蛋氨酸	5.051×10^{-2}	1.010×10^{-1}	1.829×10^{-2}	4.862×10^{-2}
苯丙氨酸	4.247×10^{-1}	3.481×10^{-1}	1.836×10^{-1}	1.963×10^{-1}
异亮氨酸	2.846×10^{-1}	2.881×10^{-1}	7.637×10^{-2}	9.797×10^{-2}
亮氨酸	3.219×10^{-1}	3.206×10^{-1}	1.051×10^{-1}	1.475×10^{-1}
赖氨酸	2.717×10^{-1}	2.818×10^{-1}	1.095×10^{-1}	1.490×10^{-1}
脯氨酸	5.493×10^{-1}	3.511×10^{-1}	1.661×10^{-1}	2.135×10^{-1}
总量	7.639	7.662	5.000	5.390

样均以茶氨酸的含量最高.茶氨酸,即N-乙基-1-L-谷氨酰胺,是茶叶中特有的氨基酸和重要活性成分之一,一般茶叶中茶氨酸的含量占干重的1%~2%,某些名特优茶中其含量可超过2%^[7].国内外大量研究表明,茶氨酸具有抗肿瘤、保护神经系统、降血压、调节情绪、提高认知能力等作用^[10-12].3种速溶茶在不同加工工艺条件下茶氨酸的含量见图2.由图2可以看出,不同工艺条件下,茶氨酸占游离氨基酸总量的15%~22%,顺序依次为:工艺2 > 工艺1 > 工艺4 > 工艺3;普洱和金骏眉茶样在不同加工工艺条件下茶氨酸含量差异不大,铁观音中茶氨酸含量在不同处理下差异较大,工艺2条件下茶氨酸含量最高(22%).由此可见,工艺2能较好地保留茶氨酸的含量.

表5 铁观音茶在不同工艺条件下
游离氨基酸组成和含量

Table 5 Free amino acid composition and
content of Tie Guanyin tea under different
processing conditions %

氨基酸	工艺1	工艺2	工艺3	工艺4
茶氨酸	1.601	1.789	1.015	1.018
天冬氨酸	8.462×10^{-1}	7.398×10^{-1}	8.640×10^{-1}	8.710×10^{-1}
谷氨酸	6.308×10^{-1}	8.905×10^{-1}	8.734×10^{-1}	9.733×10^{-1}
丝氨酸	2.588×10^{-1}	2.479×10^{-1}	1.385×10^{-1}	1.296×10^{-1}
组氨酸	6.885×10^{-2}	6.347×10^{-2}	3.997×10^{-2}	4.082×10^{-2}
甘氨酸	6.473×10^{-1}	5.381×10^{-1}	2.945×10^{-1}	2.498×10^{-1}
苏氨酸	1.919×10^{-1}	1.792×10^{-1}	1.122×10^{-1}	8.764×10^{-2}
精氨酸	6.368×10^{-1}	1.025	4.840×10^{-1}	4.896×10^{-1}
丙氨酸	2.845×10^{-1}	2.921×10^{-1}	2.061×10^{-1}	1.839×10^{-1}
酪氨酸	2.586×10^{-1}	3.212×10^{-1}	8.031×10^{-2}	7.622×10^{-2}
半胱氨酸	3.614×10^{-2}	3.811×10^{-2}	2.195×10^{-2}	4.373×10^{-2}
缬氨酸	4.177×10^{-1}	5.027×10^{-1}	1.942×10^{-1}	1.511×10^{-1}
蛋氨酸	8.840×10^{-2}	4.070×10^{-2}	3.829×10^{-2}	2.164×10^{-2}
苯丙氨酸	4.180×10^{-1}	4.372×10^{-1}	1.749×10^{-1}	1.800×10^{-1}
异亮氨酸	2.335×10^{-1}	2.323×10^{-1}	7.928×10^{-2}	6.057×10^{-2}
亮氨酸	2.865×10^{-1}	2.792×10^{-1}	1.257×10^{-1}	8.219×10^{-2}
赖氨酸	2.358×10^{-1}	2.228×10^{-1}	1.183×10^{-1}	7.569×10^{-2}
脯氨酸	4.762×10^{-1}	3.726×10^{-1}	1.571×10^{-1}	8.776×10^{-2}
总量	7.384	7.980	4.939	4.762

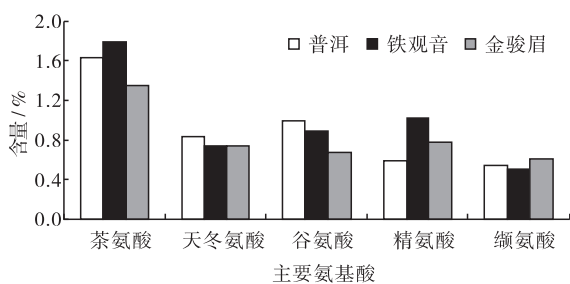


图1 工艺2条件下3种
速溶茶样主要氨基酸含量

Fig. 1 Main amino acid content in three types of
instant tea under the second condition

作为饮料,“好茶”最基本的标准应该是“好喝”.茶氨酸和游离氨基酸的含量与茶的风味呈正相关,也就是说,茶氨酸和游离氨基酸含量高的茶,其风味也更好.

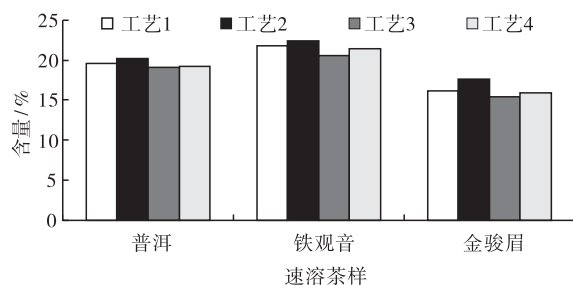


图2 3种速溶茶在不同工艺条件下茶氨酸的含量

Fig. 2 Theanine content three types of instant
tea in different processing conditions

2.3 感官鉴定

速溶茶的感官鉴定分析结果见表6.由表6可知,3种不同茶样呈现的整体规律是:采用工艺2制得的速溶茶得分最高,高达83分;采用工艺3的速溶茶得分最低,为71分.由此可见,由于个人偏好的不同和加工工艺的差别,不同茶样中茶汤的色、香、味存在明显差异.

干燥是速溶茶加工工艺的一道重要工序,对速溶茶的品质起着决定性的作用.在喷雾干燥过程中,茶提取液的受热温度高,风味物质可能会有较大损失.而冷冻干燥在低温条件下进

表6 速溶茶的感官鉴定分析(平均得分)

Table 6 Analysis of sensory evaluation

		in instant tea(average score)					分
茶样	加工工艺	滋味	香气	色泽	溶解性	总分	
金骏眉	工艺1	26	22	13	18	79	
	工艺2	25	21	16	20	82	
	工艺3	23	24	12	12	71	
	工艺4	27	29	17	14	87	
普洱	工艺1	22	20	14	16	72	
	工艺2	24	24	16	18	82	
	工艺3	21	25	15	11	72	
	工艺4	23	27	17	17	84	
铁观音	工艺1	28	22	13	15	78	
	工艺2	26	23	15	19	83	
	工艺3	24	23	12	14	73	
	工艺4	21	26	17	15	79	

行,速溶茶风味物质不会因加热而有所改变,能较好地保持原有品质,是目前生产高品质速溶茶的最佳干燥工艺^[13-14].这与本研究中冷冻干燥工艺更有利于速溶茶粉的加工结果一致.但冷冻干燥的成本比较高,故一般大型生产企业基于效益考虑,仍选择喷雾干燥方式生产速溶茶粉.

3 结论

本文以普洱、金骏眉和铁观音3种茶叶为对象,比较不同浸提和干燥方法对茶叶中氨基酸组成和含量的影响,并对不同加工工艺下制得的速溶茶粉进行感官评定,得到如下结论.

1) 采用120℃加压热浸提并冷冻干燥工艺提取的速溶茶粉具有较高的得率和较好的浸提效果,游离氨基酸含量较高.

2) 感官评价结果表明,冷冻干燥茶样的香气较喷雾干燥茶样浓郁,溶解性更好,滋味更加醇厚,且汤色也更容易让人接受.

今后的研究除了考虑生产速溶茶的最佳工艺外,还应当通过添加酶来提高速溶茶中氨基酸含量与感官品质^[15-16].此外,在加工工艺优化方面,除避免香气损失外,还需进行回收香气、增香保香和转溶等工艺处理,以提高速溶茶的香气,避免其冷却后“先冷后浑”现象的发生.

参考文献:

- [1] 中国国家标准化管理委员会. 茶制品 第1部分: 固态速溶茶: GB/T 31740.1—2015 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [2] 庄学东. 速溶茶浸提工艺的探讨[J]. 茶叶科学技术, 1999(2): 15.
- [3] 何佳宁, 黄亚辉. 不同浸提过程对GABA速溶红茶生化成分的影响[J]. 广东茶业, 2016(1): 16.
- [4] 谢芬. 茶饮料的生产现状与发展趋势[J]. 茶叶科学技术, 2005(2): 4.
- [5] 吕海鹏, 张悦, 杨停, 等. 普洱茶滋味品质化学成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 178.
- [6] 龚自明, 王雪萍, 高士伟, 等. 湖北名优绿茶氨基酸组分分析[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(21): 4419.
- [7] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [8] 刘兴勇, 师江, 邵金良, 等. 普洱茶晒青样游离氨基酸和色泽差异研究[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 46.
- [9] 王忠华, 吴月燕, 张燕忠. 不同加工工艺制成桑叶茶的感观品质及营养活性成分分析[J]. 蚕业科学, 2011, 37(2): 272.
- [10] 韩小溪, 薛桥丽, 杨华松, 等. 普洱茶提取物对金黄色葡萄球菌的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2014, 29(1): 34.
- [11] PARNELL H, OWEN G N, RYCROFT J A. Combined effects of L-theanine and caffeine on cognition and mood [J]. Appetite, 2006, 47(2): 273.
- [12] 石亚亚, 贾尚智, 闵彩云. 茶氨酸保健功能研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(1): 52.
- [13] 李影. 速溶茶生产工艺对其产品风味的影响[J]. 饮料工业, 1999(2): 15.
- [14] 李贲, 赵文芳, 马忠华, 等. 不同浸提、干燥方式对GABA速溶红茶中GABA含量的影响[J]. 中国农学通报, 2015(9): 261.
- [15] 尚楠. 高氨基酸速溶茶加工工艺研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [16] 董春红, 李振兴, 赵绍伟, 等. 基于高分辨质谱-相依成分分析的怀菊花泡饮过程分析[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2013, 28(2): 49.



引用格式:申瑞玲,杨溢,董吉林.燕麦脱皮加工工艺研究[J].轻工学报,2017,32(2):13-19.

中图分类号:TS212 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.003

文章编号:2096-1553(2017)02-0013-07

燕麦脱皮加工工艺研究

Study on the dehulling processing technology of oat

申瑞玲,杨溢,董吉林

SHEN Rui-ling, YANG Yi, DONG Ji-lin

郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

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

关键词:

燕麦;脱皮工艺;方差分析

Key words:

oat; dehulling technology; variance analysis

摘要:使用精米机对燕麦进行不同时长的脱皮,分别收集不同脱皮时长的燕麦麸和籽粒,借助荧光显微镜观察经脱皮处理后燕麦籽粒糊粉层的保留程度;采用单因素试验和正交试验研究工艺参数对燕麦脱皮效果的影响,并分别对影响脱皮率、白度、碎米率的各因素进行方差分析.结果表明,当脱皮率为9.82%时,燕麦籽粒糊粉层保留较好.以脱皮率9.82%作为参照,得出最优脱皮工艺参数为:水分含量9%,润麦时长180 min,60[#]砂轮摩擦,摩擦时长20 s.在此工艺条件下生产的燕麦粉白度较高,口感较好,色泽均一,出米率高.

收稿日期:2016-12-21

基金项目:公益性行业(农业)科研专项项目(201303069);河南省农业科技攻关项目(152102110103)

作者简介:申瑞玲(1967—),女,山西省灵石县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为谷物加工与营养.

Abstract: Oat was dehulled at different levels by using polishing machine. The oat bran and grain after dehulling of different time-periods were then collected. The aleurone layer residual of oat grain was evaluated by using fluorescence microscopy. The influence of the technology parameters on oat dehulling effect was analyzed by using single factor and orthogonal experiments. Then, the variance analysis of dehulling rate, whiteness and broken rate for oat was further performed. The results showed that the aleurone layer of oat grain retained well under the dehulling rate of 9.82%. Based on the above dehulling rate, the optimal dehulling process was as follows: moisture content 9%, tempering time 180 min, grinding wheel 60[#] and friction time 20 s. Under the technological conditions, oat flour produced with higher white degree, better taste, uniform colour and lustre, and higher milled rice rate.

0 引言

燕麦是一种富含蛋白质、脂肪、膳食纤维和微量营养素的重要谷物。燕麦中的蛋白质含量是谷物中最高的,多在16%左右^[1]。1997年,美国食品和药品管理局(FDA)发表声明称:燕麦中的 β -葡聚糖具有防治心血管疾病、降低胆固醇等功效,燕麦食品可以不经审批即进行功效宣传。燕麦为唯一获此殊荣的谷物^[2]。近年来,国内外对燕麦的消费量不断增加,其副产品燕麦米成为继燕麦片之后的又一燕麦主流产品。燕麦米生产中最关键的工艺步骤就是脱皮。已有研究表明,对谷物进行适当的脱皮处理不仅可以有效减少表皮中残留的微生物、重金属等有害物质的含量,还可以去除麸皮中的植酸,改善口感^[3-4]。目前,燕麦米的加工大多沿用大米的脱皮工艺。许阳^[5]使用佐竹碾米机对燕麦籽粒进行脱皮处理,工艺简单、节约成本,便于自动化生产,得到的燕麦米色泽白、口感好。杨才等^[6]报道了经清杂、去石、打毛、去莽、除壳、蒸煮和烘干的裸燕麦米加工方法,但这种方法脱皮程度低,虽然保留了大部分的营养物质,但色泽暗淡、口感较差。为了追求更好的色泽和口感,目前市场上的燕麦米脱皮程度加深,燕麦皮层特别是糊粉层中营养物质损失较大。D. C. Douglas等^[7]研究发现,燕麦抛光时间越长,皮层中蛋白质、 β -葡聚糖和灰分的含量越低。R. Wang等^[8]对燕麦进行从外向内的逐层脱皮研

究,结果表明,当燕麦脱皮率为6%左右时,皮层中蛋白质含量最高,而淀粉含量也随着脱皮程度加深逐步升高。基于上述研究,本文拟对燕麦脱皮工艺进行深入研究,以期最大限度地保留燕麦米营养成分,提升产品的色泽和口感。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

主要材料:燕麦,产自河北张家口;OCT冰冻包埋剂,美国SAKURA公司产。

主要仪器:101型电热恒温烘箱,北京科伟永兴仪器有限公司产;GI54DS高压蒸汽灭菌锅,厦门致微仪器有限公司产;JMNJ-3精米机,台州市新恩精密粮仪有限公司产;CM1850UV冰冻切片仪,德国徕卡公司产;Axio Observer A1倒置荧光显微镜,德国蔡司公司产;WSB-X型智能白度测定仪,杭州大成光电仪器有限公司产。

1.2 方法

1.2.1 燕麦的脱皮工艺流程

燕麦→清理筛选→高压蒸汽灭酶→加水润麦→摩擦脱皮→籽皮分离→燕麦米

1.2.2 燕麦脱皮率对籽粒糊粉层保留程度的影响

1)样品处理。将燕麦经过清理筛选并进行灭酶后,称取100 g燕麦经短时间润麦后,使用精米机(30[#]砂轮)进行不同时间的摩擦脱皮,分别收集脱皮时间5 s,10 s,15 s,20 s,25 s和30 s

的燕麦麸和燕麦米,计算不同脱皮时长下的脱皮率.

$$\text{脱皮率} = \text{麸皮质量} / \text{样品原始质量} \times 100\%$$

2) 脱皮时长对燕麦籽粒糊粉层保留程度的影响. 酚类物质具有自发荧光特性,而燕麦籽粒糊粉层细胞富含酚类物质,因此可以借助荧光显微镜观察燕麦籽粒糊粉层的保留程度^[9]. 用包埋剂将经过不同程度脱皮的燕麦籽粒低温固定,再使用冷冻切片将其切成约 12 μm 的薄片. 使用荧光显微镜,在 358 nm 激发光下观察不同脱皮时长燕麦籽粒糊粉层的保留情况.

1.2.3 润麦条件和摩擦条件对燕麦脱皮效果的影响

1) 单因素试验. 在上述实验基础上,对燕麦高压瞬时蒸制 15 s 后,分别考察润麦水分、润麦时间、脱皮机砂轮粗糙度和砂轮摩擦时间对燕麦脱皮效果的影响. 脱皮效果评价指标包括脱皮率、碎米率和白度. 计算脱皮处理后燕麦的脱皮率和碎米率. 将经脱皮处理的燕麦米制粉,燕麦粉白度的测定参照 GB/T 22427.6—2008 进行.

2) 正交试验. 在上述单因素试验的基础上,将润麦水分(A)、润麦时长(B)、砂轮粗糙度(C)和摩擦时长(D)作为试验因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,以脱皮过程中脱皮率、碎米率和脱皮后燕麦米的粉制品之白度为指标确定燕麦脱皮的最佳工艺参数.

1.3 统计方法

测定结果采用 SPSS 软件进行处理,显著性水平为 $P < 0.05$.

2 结果与分析

2.1 燕麦脱皮率对籽粒糊粉层保留程度的影响

2.1.1 脱皮时长与脱皮率的关系 表 1 为燕麦脱皮时长与脱皮率的关系. 从表 1 可知,随着脱皮时间的延长,燕麦脱皮率逐渐增加. 当脱皮时长为 30 s 时,脱皮率达到 27.22%,此时燕麦

中的胚乳组分也有很大一部分被摩擦掉并混入到皮层组分中.

表 1 燕麦脱皮时长与脱皮率的关系

Table 1 The relationship between dehulling time-periods and dehulling rate of oat

实验序号	脱皮时长/s	脱皮率/%
1	5	2.51
2	10	5.74
3	15	9.82
4	20	14.53
5	25	20.63
6	30	27.22

2.1.2 燕麦籽粒糊粉层保留程度 燕麦皮层主要由外果皮、种皮、糊粉层、亚糊粉层组成. 用荧光显微镜观察时,绿色荧光部分与皮层(尤其是糊粉层)中的多酚类物质有关,主要是阿魏酸^[10]. 研究表明,燕麦籽粒糊粉层和亚糊粉层中的蛋白质含量较高,多酚类物质比较集中, β -葡聚糖也主要存在于此皮层组分中^[11]. 因此,糊粉层和亚糊粉层作为燕麦中最具营养的部分,应该在脱皮过程中被留在籽粒中以富集籽粒的营养. 图 1 为不同脱皮时长对燕麦籽粒皮层结构的影响. 由图 1 可以看出,随着脱皮时间的延长,燕麦籽粒外果皮、中间层、糊粉层、亚糊粉层依次被去除. 脱皮 30 s 以上燕麦的胚乳破碎、淀粉溢出、碎米率急剧上升. 而经过 15 s 脱皮之后,燕麦中富含营养物质的糊粉层依然有较多的保留,此时对应的脱皮率为 9.82%,可以作为适宜的脱皮率.

2.2 燕麦脱皮条件优化

2.2.1 单因素试验分析 脱皮前对燕麦进行润麦能够增强麸皮的韧性和脱皮效果,有利于皮层、胚乳的分离^[9]. 润麦水分、润麦时长、砂轮粗糙度和摩擦时长对籽粒脱皮效果的影响结果见图 2. 由图 2 可知,润麦水分为 11% 时,燕麦籽粒、白度和碎米率均处于较好的水平,脱皮率接近最佳. 润麦 180 min 后进行脱皮,相比其他

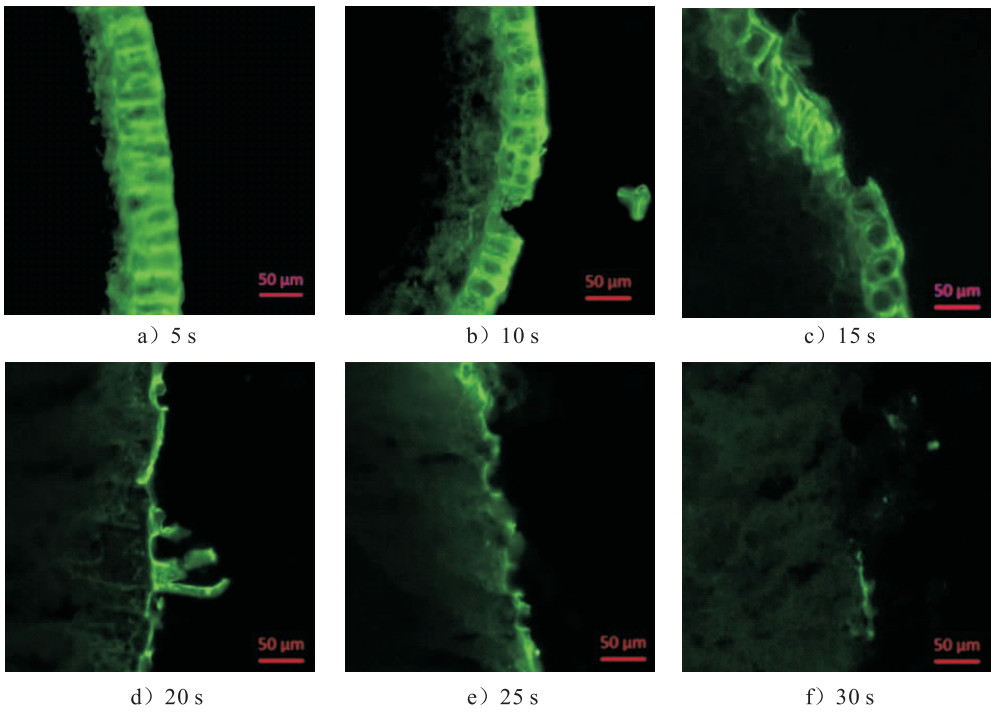


图1 不同脱皮时长对燕麦籽粒皮层结构的影响

Fig.1 Effect of different dehulling time-periods on the cortical structure of oat

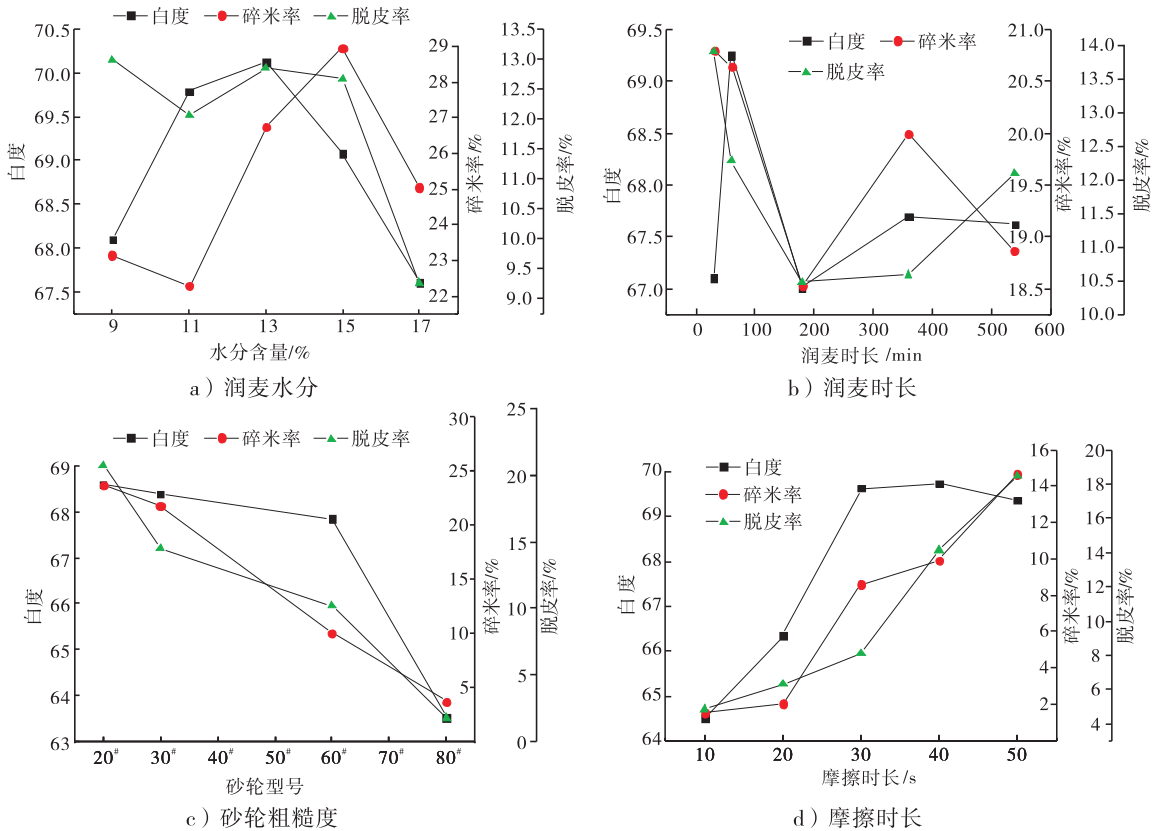


图2 润麦水分、润麦时长、砂轮粗糙度和摩擦时长对燕麦籽粒脱皮率的影响

Fig.2 Effect of tempering moisture, tempering time-period, grinding wheel roughness and friction time on dehusking rate of oat

润麦时长,脱皮燕麦米的粉制品白度、碎米率、脱皮率均处于较好水平. 在其他条件不变的情况下,砂轮粗糙度与脱皮率成正比,20[#]砂轮粗糙度最大,其对应的脱皮率也最高,而选择60[#]砂轮进行试验,脱皮后燕麦米的粉制品白度较高,碎米率相对较低,且脱皮率接近适宜脱皮率. 此外,摩擦时长也是影响脱皮效果的重要因素之一,摩擦时间越长燕麦的脱皮程度越高,脱皮30 s的燕麦米的粉制品白度和脱皮率均为良好水平,碎米率也在可接受范围内.

2.2.2 正交试验与方差分析 在上述单因素试验结果的基础上,针对各因素选择适当的水平进行正交试验,以优化燕麦脱皮的关键工艺参数. 正交试验的因素水平见表2,正交试验结果见表3. 由表3可知,影响脱皮后燕麦粉白度的因素依次为:砂轮型号 > 润麦水分 > 脱皮时长 > 润麦时长,较优方案为:A₁B₂C₁D₃,即润麦水分9%,润麦时长180 min,砂轮型号30[#],脱皮时长40 s;影响脱皮过程碎米率的因素依次为:砂轮型号 > 脱皮时长 > 润麦水分 > 润麦时长,较优方案为:A₂B₃C₃D₁,即润麦水分9%,润麦时长360 min,砂轮型号80[#],脱皮时长20 s;影响脱皮率的因素依次为:砂轮型号 > 脱皮时长 > 润麦水分 > 润麦时长,较优方案为:A₁B₃C₂D₂,即润麦水分9%,润麦时长360 min,砂轮型号60[#],脱皮时长30 s. 由此可见,对于不同的评价指标,各因素的影响能力是不同的. 为了进一步确定对脱皮效果影响最大的因素,需

表3 燕麦脱皮工艺的正交试验结果

Table 3 The results of orthogonal test for oat dehulling process

试验号	因素				试验结果		
	A/%	B/min	C	D/s	白度	碎米率/%	脱皮率/%
1	9	60	30 [#]	20	68.1	20.64	16.59
2	9	180	60 [#]	30	66.9	7.61	9.57
3	9	360	80 [#]	40	65.3	1.78	0.45
4	11	60	60 [#]	40	67.3	18.70	25.86
5	11	180	80 [#]	20	64.9	0.78	0.28
6	11	360	30 [#]	30	67.6	25.96	25.63
7	13	60	80 [#]	30	63.2	1.00	0.32
8	13	180	30 [#]	40	68.2	30.69	29.08
9	13	360	60 [#]	20	65.5	4.86	6.14
白度	k ₁	66.77	66.20	67.97	66.17		
	k ₂	66.60	66.67	66.57	65.90		
	k ₃	65.63	66.13	64.47	66.93		
碎米率	k ₁	10.01	13.43	25.76	8.76		
	k ₂	15.15	13.03	10.39	11.52		
	k ₃	12.18	10.87	1.19	17.06		
脱皮率	k ₁	8.93	14.26	23.77	7.67		
	k ₂	17.25	13.04	13.92	11.90		
	k ₃	11.84	10.74	0.35	18.46		

要对试验结果进行方差分析.

2.2.3 正交试验的方差分析结果 表4为燕麦粉白度的方差分析结果. 由表4可知,砂轮粗糙度的F值=36.726 > F_{0.05}(2,2) = 19,可见砂轮粗糙度对脱皮后燕麦粉的白度影响显著;润麦水分、润麦时长、摩擦时长的F值均小于F_{0.05}(2,2),故润麦水分、润麦时长、摩擦时长对其影响不显著.

表4 燕麦粉白度的方差分析

Table 4 The variance analysis of oat flour whiteness

方差来源	离差平方和	自由度	均方值	F	显著性
A	2.25	2	1.13	4.432	
B	0.51	2	0.26	1.000	
C	18.62	2	9.31	36.726	P < 0.05
D	1.73	2	0.87	3.406	
误差(e)	0.51	2			
总和(T)	23.62	10			

注:F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99.

表2 燕麦脱皮工艺的正交试验因素水平表

Table 2 The factors and levels of orthogonal test for oat dehulling process

水平因素	A/%	B/min	C	D/s
1	11	60	30 [#]	20
2	13	180	60 [#]	40
3	15	360	80 [#]	60

对脱皮过程中碎米率的方差分析结果见表5,由表5可知,砂轮型号(砂轮粗糙度) F 值 = $80.92 > F_{0.05}(2,2) = 19$,故砂轮粗糙度对脱皮过程中碎米率的影响显著,润麦水分,润麦时长,摩擦时长的 F 值均小于 $F_{0.05}(2,2)$,故润麦水分、润麦时长、摩擦时长对其影响不显著。

表6为燕麦脱皮率的方差分析结果.由表6可知,砂轮粗糙度的 F 值 = $43.357 > F_{0.05}(2,2) = 19$,可见砂轮的粗糙度对脱皮率的影响显著;润麦水分、润麦时长、摩擦时长的 F 值均小于 $F_{0.05}(2,2)$,故润麦水分、润麦时长、摩擦时长对其影响不显著。

由表4—表6结果可知,砂轮粗糙度对燕麦脱皮率、碎米率和脱皮后燕麦粉白度的影响均显著.对于碎米率来讲,脱皮过程中碎米越少越好,因此选择80[#]砂轮;对于燕麦粉白度来讲,白度越高越好,因此选择30[#]砂轮;对于脱皮率

表5 燕麦碎米率的方差分析

Table 5 The variance analysis of oat broken rate

方差来源	离差平方和	自由度	均方值	F	显著性
A	40.09	2	20.05	3.51	
B	11.42	2	5.71	1.00	
C	923.99	2	462.00	80.92	$P < 0.05$
D	107.38	2	53.69	9.40	
误差(e)	11.42	2			
总和(T)	1 082.88	10			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$.

表6 燕麦脱皮率的方差分析

Table 6 The variance analysis of oat dehulling rate

方差来源	离差平方和	自由度	均方值	F	显著性
A	107.108	2	53.554	5.599	
B	19.13	2	9.565	1.000	
C	829.417	2	414.709	43.357	$P < 0.05$
D	177.466	2	88.733	9.277	
误差(e)	19.13	2			
总和(T)	1 152.251	10			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$.

来讲,脱皮率过高糊粉层被去除,营养降低,脱皮率过低皮层中的重金属等有害物质仍然有较多残留,因此越接近最佳脱皮率越好.综合脱皮率、碎米率和白度3个指标,最终选择60[#]砂轮用于燕麦脱皮,这种砂轮粗糙度适宜,能够很好地将燕麦的表皮摩擦掉,同时保留较高的营养成分,减少燕麦的破碎.润麦水分对于3个指标的影响不大,是次要因素,均取9%的水分含量即可.摩擦时长对碎米率的影响较大,对燕麦粉白度的影响相对较小,摩擦时长选择20 s,此时的脱皮率比较接近适宜脱皮率.润麦时长对于脱皮率、碎米率和白度的影响均为最小,结合单因素试验结果,选择180 min为宜。

3 结论

本文对燕麦的脱皮工艺进行了深入研究,使用精米机对燕麦进行不同程度的脱皮,借助荧光显微镜观察不同脱皮时长处理的燕麦其籽粒糊粉层的保留程度,并分析两者之间关系;采用单因素试验和正交试验研究润麦水分、润麦时长、砂轮粗糙度、摩擦时长对脱皮率、白度、碎米率的影响,优化燕麦脱皮过程中的关键工艺参数,并分别对影响脱皮率、白度、碎米率的各因素进行方差分析,得到如下结论。

1)脱皮率为9.82%时对应的燕麦籽粒糊粉层保留较好,以此脱皮率为参照生产出来的燕麦米营养价值较高;

2)最优的脱皮工艺参数为:水分含量9%,润麦时长180 min,60[#]砂轮摩擦,摩擦时长20 s.在此工艺条件下生产的燕麦粉白度较高,色泽均一,口感较好,出米率高。

本文的研究结果可为生产中最大限度地保留燕麦米营养成分、提升产品的色泽和口感提供理论依据。

参考文献:

- [1] 路长喜,周素梅,王岸娜. 燕麦的营养与加工[J]. 粮油加工,2008(1):89.
- [2] 禹代林. 21世纪的作物名星——燕麦[J]. 西藏农业科技,2002,24(3):12.
- [3] LACA A, MOUSIA Z, DIAZ M, et al. Distribution of microbial contamination within cereal grains[J]. Journal of Food Engineering,2006,72(4):332.
- [4] 董吉林,李林,张文杰,等. 谷物脱皮加工技术的研究现状[J]. 粮食与饲料工业,2014(11):1.
- [5] 许阳. 燕麦米产品研发及其减肥降脂作用的动物评价[D]. 西安:西北农林科技大学,2012.
- [6] 杨才,席文字,罗勇庆. 国产裸燕麦米加工工艺流程与方法[J]. 粮食与油脂,2005(1):38.
- [7] DOEHLERT D C, MOORE W R. Composition of oat bran and flour prepared by three different mechanisms of dry milling[J]. Cereal Chemistry,1997,74(4):403.
- [8] WANG R, KOUTINAS A A, CAMPBELL G M. Effect of pearling on dry processing of oats[J]. Journal of Food Engineering,2007,82(3):369.
- [9] 胡新中,魏益民,任长忠. 燕麦品质与加工[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [10] 董吉林,申瑞玲. 裸燕麦麸皮的营养组成分析及 β -葡聚糖的提取[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2005,25(1):70.
- [11] 于磊,王晓曦,王修法. 小麦调质处理及其对制粉特性和小麦粉品质的影响[J]. 粮食与饲料工业,2007(10):4.



引用格式:王建中,尹红娜. 小麦谷朊粉改性新技术综述[J]. 轻工学报,2017,32(2):20 - 25.

中图分类号:TS211 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.004

文章编号:2096-1553(2017)02-0020-06

小麦谷朊粉改性新技术综述

Research progress of modification new technologies for wheat gluten

王建中¹,尹红娜^{2,3}

WANG Jian-zhong¹, YIN Hong-na^{2,3}

1. 河南省食品工业科学研究所有限公司,河南 郑州 450003;

2. 河南省食品安全质量控制工程技术研究中心,河南 郑州 450002;

3. 河南省商业科学研究所有限责任公司,河南 郑州 450002

1. He'nan Food Industry Sciences Research Institute Co., Ltd., Zhengzhou 450003, China;

2. He'nan Food Quality and Safety Control Engineering Research Center, Zhengzhou 450002, China;

3. He'nan Commerce Science Institute Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China

关键词:

小麦谷朊粉; 改性技术; 植物蛋白

Key words:

wheat gluten; modification technology; plant protein

摘要:小麦谷朊粉是一种营养丰富、来源广泛的植物性蛋白,然而其结构特性限制了小麦谷朊粉的广泛应用. 改性使小麦谷朊粉溶解性、乳化性、起泡性得到较大改善,可拓宽其应用范围. 基于对物理改性、化学改性和酶法改性3种小麦谷朊粉改性技术的综述,指出单一的改性方法存在一定的局限性,而复合改性将是小麦谷朊粉改性更有效的方法.

收稿日期:2017-01-05

基金项目:河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300410045)

作者简介:王建中(1963—),男,河北省赞皇县人,河南省食品工业科学研究所有限公司高级工程师,主要研究方向为食品基础工艺和开发应用.

Abstract: Wheat gluten was a nutritious and abundant plant protein. However, its molecular structure prevented the wide application of wheat gluten. The solubility, emulsibility and foaming properties of modified wheat gluten were much improved, which greatly expanded its application in food. The recent research progress of three kinds of modification technologies for wheat gluten was reviewed, including physical, chemical and enzymatic methods. Based on the above, it is suggested that the combined modification technologies of wheat gluten could be more effective due to the limitations of single modification technology.

0 引言

小麦是我国主要的农作物,产量仅次于水稻,因此,小麦的深加工和综合利用对国民经济发展和社会稳定具有非常重要的作用^[1]. 谷朊粉和淀粉是小麦深加工的两类典型产品. 在工业生产中,将面团中的蛋白与淀粉分离,即生成小麦谷朊粉和小麦淀粉^[2],小麦谷朊粉是生产小麦淀粉的副产物^[3].

谷朊粉(又称谷朊蛋白、面筋蛋白),最初在1728年由意大利人 Beccari 从小麦面粉中洗出^[4]. 小麦谷朊粉蛋白质含量很高,一般在80%左右^[5],主要组成为麦醇溶蛋白(约占45%)和麦谷蛋白(约占55%)^[6]. 小麦谷朊粉氨基酸种类齐全,包含17种主要氨基酸(约占77%),其中亮氨酸、赖氨酸、苏氨酸等7种为人体必需氨基酸,约占20%^[7]. 因此,小麦谷朊粉是一种营养丰富、来源广泛的植物蛋白.

疏水性氨基酸在小麦谷朊粉整个结构中所占比重较大(如谷氨酸占29.2%,脯氨酸占9.78%),这一结构特性使得谷朊粉蛋白分子内疏水作用区域较大,在实际应用中难以满足食品或非食品工业加工的需要. 因此,为了拓宽小麦谷朊粉的应用范围,满足实际生产中多样化的需求,对其进行改性处理显得尤为重要. 对小麦谷朊粉的改性主要是改变其溶解性、乳化性、起泡性等,改性后的小麦谷朊粉在可食用包装膜、面或面制品、烘焙制品、肉制品、调味品中都有广泛的应用,可大大提高谷朊粉的附加值. 本文拟对物理法、化学法和酶法3种谷朊粉改性

处理方法^[8]的研究现状进行综述,为深入研究如何拓宽小麦谷朊粉的应用前景提供参考.

1 谷朊粉的改性技术

1.1 物理法改性

物理法主要是通过热处理、超声波、挤压和高频电场等作用对小麦谷朊粉进行改性处理,属于定向改性,具有费用低、时间短、对产品影响小、无毒副作用等优点^[8]. 目前有关物理改性的报道较少,主要有湿热处理法、超声波处理法、光量子法、挤压法和动态高压微射流技术.

1.1.1 湿热处理法 小麦谷朊粉的湿热处理改性方法是在一定水分含量和酸性条件下,对小麦谷朊粉进行加热处理,从而改变其乳化性能的方法. 通过热处理,可使水分子渗透到谷朊粉蛋白质分子内部,引起其构象的变化,使分子的立体结构伸展,有利于谷朊粉蛋白质分子和水分子的运动与相互作用,使其乳化性能得到提高^[9]. 许慧^[10]研究了海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、果胶、明胶和瓜尔胶等胶体对小麦谷朊粉特性的影响,结果表明,在湿热条件下,胶体使小麦谷朊粉分子中的二硫键减少,蛋白质分子间的聚合度降低,表面活性增大,从而使小麦谷朊粉的溶解性、乳化性、起泡性等得到一定的改善. 赵冬艳等^[11]研究了湿热处理法对小麦谷朊粉的改性作用,结果表明,影响谷朊粉乳化性的因素依次是:pH值、小麦谷朊粉质量分数、温度和时间;湿热处理提高小麦谷朊粉乳化性的最佳条件为:pH值4.0,小麦谷朊粉质量分数9.0%,加热时间20 min,温度100℃,在此条件下,小麦谷朊粉的乳化性和乳化稳定性均达到

100%,且改性后的溶解度从7.8%提高到48.4%.

1.1.2 超声波处理法 超声波处理法的作用机理主要是在体系中产生机械作用和空化作用^[12-13],具有操作简单、过程易控制、作用时间短等优点,因此在食品工业中的应用受到广泛关注^[14]. 汤虎^[15]利用超声波技术处理小麦面筋蛋白,使其溶解性、乳化性和起泡性得到了明显改善. 黄达伟等^[16]研究了超声波技术改变小麦面筋蛋白的功能性质,结果表明:相同超声波处理条件下,小麦面筋蛋白的氮溶指数、持水性能、持油性能随着超声波处理时间的增加而增加,处理时间为20 min的氮溶指数、持水性和持油性达到较大值,超声作用后面筋蛋白的起泡性和乳化性也得到一定的改善. E. Marcuzzo等^[17]研究发现,经超声波处理12 min后,面筋蛋白基薄膜的接触角变小,表明超声波降低了面筋蛋白的疏水性. 还有报道^[18-19]认为超声波处理可使蛋白的亲水性能显著提高.

1.1.3 其他物理改性法 光量子法:光量子是电磁辐射产生的量子,具备波的性质,如折射、干涉、衍射等;还具有粒子性,表现为它在与其他物质相互作用时,只能传递量子化的能量,而不能传递任意数值的能量. 目前光量子主要应用于农业、食品工业和生物医学领域,而对光量子应用于蛋白质改性的研究还鲜见报道^[20]. 王维君等^[21]系统研究了光量子对小麦面筋蛋白功能性质和结构的影响,结果表明,光量子应用于面筋蛋白改性,能够有效抑制面筋蛋白持油性的升高,延缓贮藏过程中面筋蛋白的溶解度、持水性、起泡性、泡沫稳定性和乳化性的下降趋势,很大程度上改善了面筋蛋白的功能性质. 此项研究也为探究保鲜小麦面筋蛋白在食品工业中的应用奠定了基础.

挤压法:组织化植物蛋白是植物组织蛋白经挤压后得到的,复水后具有肉类的纤维结构

和咀嚼感,是一种理想的肉类替代品^[22]. 小麦谷朊粉是一种营养丰富、来源广泛的植物性蛋白,经挤压改性后,将是一种市场前景广阔的产品. 马宁等^[23]深入研究了挤压组织化对小麦面筋蛋白结构的影响及其机理,结果表明,挤压组织化能够诱导小麦面筋蛋白结构中的二硫键和酰胺键发生变化,从而改善其溶解性和乳化性.

动态高压微射流技术:动态高压微射流技术是一种新兴的高压均质技术,与传统的高压均质技术相比,该技术处理压力更高、流体速度更快、碰撞能力更大、产品颗粒更细,被认为是食品加工中极具潜力和发展前途的一种物理改性手段^[24]. 而利用动态高压微射流技术对小麦面筋蛋白改性鲜有文献报道. 刘国琴等^[25]的研究结果表明,微射流处理可以提高小麦面筋蛋白的溶解度、乳化性、起泡性;当蛋白浓度为4% (w/v),压力为80 MPa时,小麦面筋蛋白的溶解度最大;当蛋白浓度为4% (w/v),压力为100 MPa时,小麦面筋蛋白的泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性最高.

1.2 化学法改性

化学法改性是蛋白质改性常用的方法,主要包括脱酰胺法、酰化法、糖基化法等.

1.2.1 脱酰胺法 小麦谷朊粉的结构组成中酰胺基团含量较多,而羧酸基团、酚基基团、碱基基团、巯基基团等较少. 因此,对小麦谷朊粉进行的化学改性主要是通过脱酰胺基来实现的. 脱酰胺可在弱酸碱的条件下进行. 目前利用盐酸、柠檬酸和琥珀酸进行脱酰胺处理的研究都已见报道. 张德欣^[26]利用盐酸处理改良小麦谷朊粉的功能性质,结果表明,当谷朊粉浓度为8% (w/v), $m(\text{盐酸}):m(\text{谷朊粉})$ 为3.5:100,反应温度为65℃时,盐酸处理对小麦谷朊粉的溶解度、乳化性及其稳定性、起泡性及其稳定性均有显著的改善. 胡庆玲等^[27]也对小麦谷朊粉盐酸脱酰胺工艺进行了研究. 廖兰等^[28-29]

用琥珀酸和柠檬酸对小麦面筋蛋白进行了改性研究,结果显示,琥珀酸和柠檬酸对小麦面筋蛋白的脱酰胺作用具有较高的特异性。

1.2.2 酰化法 酰化法改性的原理是给氨基接上酰基基团,使蛋白质等电点降低,从而使蛋白质在弱酸溶液、中性溶液和碱性溶液中的溶解度增加。常见的酰化试剂有乙酸酐和琥珀酸酐。费国源等^[30-31]分别研究了小麦谷朊粉的琥珀酰化和乙酰化改性;姜绍通等^[32]也研究了小麦面筋蛋白的琥珀酰化改性。以上研究结果显示,小麦面筋蛋白经酰化改性后,功能性均显著提高,但两种改性对小麦面筋蛋白功能性的提高程度有所差别,琥珀酰化改性明显优于乙酰化改性,而在相同反应条件下,小麦面筋蛋白乙酰化改性程度要高于琥珀酰化改性程度。

1.2.3 磷酸化法 磷酸化法改性是在蛋白质分子中引入磷酸根基团,增加蛋白质体系的电负性,提高蛋白质分子之间的静电斥力,使其在食品体系中更易分散,从而提高蛋白质的溶解度。此外,负电荷的引入也可大大降低溶液的表面张力,使其更易形成乳状液滴,同时增加液滴之间的斥力,使其更容易分散。所以,经过磷酸改性的小麦谷朊粉的乳化性和乳化稳定性均有明显的改善^[33]。然而,有关磷酸化改性小麦谷朊粉的报道较少。李瑜等^[34-35]采用三聚磷酸钠对小麦谷朊粉进行磷酸化改性,结果表明, $m(\text{三聚磷酸钠}) : m(\text{小麦面筋蛋白})$ 为3:10,反应时间为0.5 h,反应温度为20 ℃,反应pH值为9.5时,所制备的磷酸化小麦谷朊粉功能特性得到显著改善,其乳化性、溶解性、起泡性及其稳定性均有极大的提高。

1.2.4 糖基化法 蛋白质糖基化的基本原理为美拉德反应,即蛋白质分子侧链中的自由氨基和还原糖分子中还原末端的羰基发生的羰氨反应。该反应由蛋白质和还原糖在加热条件下自发进行,不需要加入任何其他化学试剂,因此

是一种相对理想的化学改性方式。糖基化改性法能够有效改善蛋白质的溶解性、乳化性、起泡性、凝胶性、热稳定性等功能性质^[36-37]。糖基化改性法是近几年来研究较多的一种蛋白质改性方法,李江河^[38]以谷朊粉为蛋白原料,研究了分别以果糖、葡萄糖、麦芽糖、葡聚糖为糖基供体时,反应时间、温度和谷朊粉与糖的配比对谷朊粉的溶解度、乳化性、起泡性的影响,并确定了最佳反应条件。王亚平等^[39]研究了小麦面筋蛋白与麦芽糖在一定条件下通过美拉德反应生成的复合物的乳化性能,并通过正交试验确定了最佳反应条件,在pH=8, $m(\text{小麦面筋蛋白}) : m(\text{麦芽糖})$ 为3:1,小麦面筋蛋白浓度为10% (w/v)、反应时间为3 d时,改性后的小麦面筋蛋白乳化性最好。

1.3 酶法改性

小麦谷朊粉的酶法改性是指在酶的作用下,谷朊粉蛋白分子发生水解,其分子量减小、空间结构改变,生成多肽分子或更小分子的氨基酸,从而改善谷朊粉的功能性^[40]。蛋白质酶法水解时间短,容易控制产物分子量大小。常用的水解蛋白质的酶有碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、复合蛋白酶、风味蛋白酶、嗜热蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等^[41]。有关小麦谷朊蛋白酶法改性的报道较多,孟丹阳等^[7]研究了小麦面筋蛋白酶解过程中功能性质的变化规律,结果发现,在酶底比相同的情况下,与中性蛋白酶、风味蛋白酶相比,碱性蛋白酶对小麦蛋白的酶解率最高。王凯强等^[41]研究了小麦面筋蛋白经胰蛋白酶限制性酶解和谷氨酰胺转氨酶交联后其流变特性和热特性的变化。结果表明,适当的胰蛋白酶限制性酶解有利于谷氨酰胺转氨酶对小麦面筋蛋白的交联作用,使用80 U/g的胰蛋白酶限制性酶解和谷氨酰胺转氨酶交联复合改性效果最为显著。

2 结论与展望

小麦谷朊粉的物理、化学和酶法改性技术各有其优缺点. 其中,物理改性费用低,无毒副作用,对产品的营养影响较小,但改性效果不明显;化学改性能有效改善蛋白质功能性和营养性,但可能会产生毒副作用,如碱处理小麦谷朊粉,由于其蛋白质分子中的氨基酸发生了消旋作用,使必需氨基酸的L-对映体减少、消化率降低,并产生有毒的D-氨基酸,从而使得谷朊粉蛋白的营养价值大大降低;酶法改性效率也比较高,且所用酶的浓度较小,专一性强,条件温和,能耗很低,但酶制剂成本较高. 因此,单一的小麦谷朊改性方法会存在各种各样的问题,而复合改性,如物理法和酶法结合、糖基化法(化学法)和酶法结合、多种酶法结合等,则可取长补短,使改性后的谷朊粉具有更广阔的应用前景.

参考文献:

- [1] 王玲. 中国小麦消费结构分析及深加工发展展望[J]. 农业展望,2014(11):75.
- [2] 李明菲,郑学玲,卞科,等. 添加外源戊聚糖酶对小麦淀粉与谷朊粉分离效果的影响[J]. 粮食与油脂,2015(11):25.
- [3] PIETER B, MERZ M, KRANZ B, et al. Optimization of an enzymatic wheat gluten hydrolysis process in an enzyme membrane reactor using a design of experiment approach [J]. *European Food Research and Technology*, 2016, 242(10):1.
- [4] BAILEY C H. A translation of beccarias lecture concerning grain [J]. *Cereal Chemistry*, 1941(18):555.
- [5] QIU C Y, SUN W Z, ZHAO Q Z, et al. Emulsifying and surface properties of citric acid deamidated wheat gliadin [J]. *Journal of Cereal Science*, 2013, 58(1):68.
- [6] 邓敏,时雨,怀宇. 小麦谷朊蛋白的特性与应用研究综述[J]. *中国粮油学报*, 2009, 24(12):146.
- [7] 孟丹阳,赵伟,杨瑞金,等. 小麦面筋蛋白酶解过程中功能性质的变化规律研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(5):115.
- [8] 吕立志,范喜梅. 小麦面筋蛋白乳化性改性研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(32):18597.
- [9] DENG L, WANG Z, YANG S, et al. Improvement of functional properties of wheat gluten using acid protease from *aspergillus usamii*[J]. *Plos One*, 2016, 11(7):e0160101.
- [10] 许慧. 湿热条件下胶体改性对谷朊粉特性的影响研究[D]. 上海:上海海洋大学,2011.
- [11] 赵冬艳,王金水,刘宇宸. 湿热处理提高谷朊粉乳化性的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2003(4):45.
- [12] JAMBRAK A R, HERCEG Z, ŠUBARIC D, et al. Ultrasound effect on physical properties of corn starch [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79(1):91.
- [13] 毕爽,马文君,李杨,等. 脉冲电场-超声波作用对黑豆球蛋白功能性质的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(9):7.
- [14] CHEN L, CHEN J, REN J, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(6):2600.
- [15] 汤虎. 超声波及琥珀酰化法改性小麦面筋蛋白的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2008.
- [16] 黄达伟,马宁,杜喜坤. 超声对小麦面筋蛋白功能性质的影响[J]. *食品与发酵科技*, 2014, 50(3):42.
- [17] MARCUZZO E, PERESSINI D, DEBEAUFORT F, et al. Effect of ultrasound treatment on properties of gluten-based film [J]. *Innovative Food*

- Science and Emerging Technologies, 2010, 11 (3):451.
- [18] GRETA K, VESNA L, ANETREŽEK J, et al. Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 87(1):64.
- [19] 李国强, 李晓明. 超声波改性对谷朊粉性质的影响[J]. 中国果菜, 2014(6):28.
- [20] 王维君, 满迎迎, 王昌禄, 等. 光量子辐照对淀粉回生影响的初步研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(14):4.
- [21] 王维君, 车宇翔, 刘秀丽, 等. 光量子对小麦面筋蛋白功能特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(15):6.
- [22] ASGAR M A, FAZILAH A, HUDA N, et al. Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010, 9(5):513.
- [23] 马宁, 朱科学, 郭晓娜, 等. 挤压组织化对小麦面筋蛋白结构影响的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(1):60.
- [24] 余莉. 动态高压微射流技术对牛血清白蛋白糖基理化性质和结构的影响[D]. 南昌:江西师范大学, 2015.
- [25] 刘国琴, 阎乃珺, 陈璐瑶. 动态高压微射流对小麦面筋蛋白功能性质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(5):936.
- [26] 张德欣. 盐酸处理对谷朊粉理化性质改良的研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(2):23.
- [27] 胡庆玲, 尹文颖, 赵谋明, 等. 小麦面筋蛋白盐酸脱酰胺工艺优化及其酶解敏感性[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(4):7.
- [28] 廖兰, 韩跃雪, 李章发, 等. 脱酰胺作用对降解小麦面筋蛋白特性的研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(1):21.
- [29] 廖兰, 赵谋明, 王芹, 等. 柠檬酸对小麦面筋蛋白的脱酰胺作用[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2011, 32(1):16.
- [30] 费国源. 琥珀酰化和蛋白酶改性处理对小麦面筋蛋白性质的影响[D]. 杭州:浙江工业大学, 2009.
- [31] 张红印, 朱加进, 郑晓冬, 等. 小麦面筋蛋白琥珀酰化改性研究[J]. 中国农业科学, 2003, 36(3):313.
- [32] 姜绍通, 唐文婷, 潘丽军, 等. 小麦面筋蛋白琥珀酰化修饰研究[J]. 食品科学, 2005, 26(12):40.
- [33] 刘丽莉, 向敏, 康怀彬, 等. 鸡蛋清蛋白磷酸化改性及功能性的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(6):154.
- [34] 李瑜, 王兰, 尹春明, 等. 小麦面筋蛋白的磷酸化改性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2002, 23(2):49.
- [35] 李瑜, 尹春明. 化学磷酸化改性小麦面筋蛋白[J]. 食品工业科技, 2002, 23(5):19.
- [36] 周菲菲, 肖更生, 唐道邦, 等. 食品加工中蛋白质的糖基化改性[J]. 食品工业科技, 2013, 34(21):390.
- [37] ZHANG B, CHI Y J, LI B. Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between β -conglycinin and maltodextrin and on the emulsifying properties of conjugates [J]. European Food Research and Technology, 2014, 238(1):129.
- [38] 李江河. 小麦面筋蛋白糖基化改性的研究[D]. 郑州:河南工业大学, 2015.
- [39] 王亚平, 刘进玺, 王金水. 麦芽糖-小麦面筋蛋白 Maillard 反应产物乳化性研究[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(5):29.
- [40] 何文猛. 谷朊粉改性及其在冰淇淋中的应用研究[D]. 无锡:江南大学, 2014.
- [41] 王凯强, 黎敏, 罗水忠, 等. 酶法复合改性对小麦面筋蛋白性质和结构的影响[J]. 现代食品科技, 2016(3):177.



引用格式:梁国斌,翟良创,汪斌,等. 固定化卤醇脱卤酶的制备及催化合成 ATS-5 的稳定性考察[J]. 轻工学报,2017,32(2):26-32.

中图分类号:Q814.2 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.005

文章编号:2096-1553(2017)02-0026-07

固定化卤醇脱卤酶的制备及催化合成 ATS-5 的稳定性考察

Preparation of immobilized halohydrin dehalogenase and the stability testing of catalytic synthesis ATS-5

梁国斌,翟良创,汪斌,姚佳,周全法

LIANG Guo-bin, ZHAI Liang-chuang, WANG Bin, YAO Jia, ZHOU Quan-fa

江苏理工学院 化学与环境工程学院,江苏 常州 213001

School of Chemical and Environmental Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China

关键词:

(R)-4-氰基-3-羟基丁酸乙酯;固定化;卤醇脱卤酶;催化稳定性

Key words:

(R)-4-cyano-3-hydroxybutyric acid ethyl; immobilization; halohydrin dehalogenase; catalytic stability

摘要:研究了海藻酸钠固定化卤醇脱卤酶(HHDH)的制备条件,确定其最佳工艺条件为:海藻酸钠浓度 3.5%,HHDH 给酶量 2.4×10^4 U/mL,戊二醛浓度 1.00%,氯化钙浓度 1.5% 和固化时间 2 h. 在此条件下,HHDH 包埋率为 52.1%,活力回收率为 75.2%. 固定化HHDH 间歇催化合成(R)-4-氰基-3-羟基丁酸乙酯(ATS-5),经 5 批次反应后,相对活力为 51.2%;固定化HHDH 连续催化合成 ATS-5,在 10 d 后底物转化率为 90.6%,ATS-5 精馏提纯收率为 98.2%,纯度达到 99.3%,光学纯度达到 99.1%. 固定化 HHDH 在 4 °C 下储存 80 d 后无明显酶活力损失.

收稿日期:2016-06-07

基金项目:江苏省产学研联合创新基金项目(BY2015028-04)

作者简介:梁国斌(1975—),男,陕西省安康市人,江苏理工学院副教授,主要研究方向为环境生物技术.

Abstract: The immobilization conditions of halohydrin dehalogenase (HHDH) by the sodium alginate were studied. The optimum conditions of immobilization process were as follows: sodium alginate concentration 3.5%, HHDH enzymatic amount 2.4×10^4 U/mL, glutaraldehyde concentration 1.00%, calcium chloride solution concentration 1.5% and immobilization time 2 h. Under the optimum immobilization conditions, the encapsulation efficiency of HHDH was 52.1%, the activity recovery of HHDH was 75.2%. After five batches of intermittent catalytic synthesis of (R)-4-cyano-3-hydroxybutyric acid ethyl (ATS-5), the residual activity of immobilized HHDH was 51.2%. After the continuous catalytic synthesis of ATS-5 for 10 d, the substrate conversion efficiency was 90.6%, the distillation purification yield of ATS-5 was 98.2%, the purity and optical purity of ATS-5 were 99.3% and 99.1%, respectively. No obvious activity loss was obtained for immobilized HHDH after 80 d storage at 4 °C.

0 引言

阿伐他汀(Atorvastatin)是一种全新的他汀类降血脂药物^[1-2],其商品名为立普妥(Lipitor),是一种新型3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A(HMGCoA)还原酶抑制剂。作为全合成的他汀类药物之一,阿伐他汀合成路线很多,其中较为经典的合成方法有Paal-Knorr法、不对称还原羰基法、消旋体苯乙胺拆分法、选择性醇醛缩合法等^[3-5]。与其他方法相比,Paal-Knorr法工艺简单,反应条件温和,成本较低,品质可控,且产率较高,是目前阿伐他汀原料药合成的主要路线。在Paal-Knorr合成工艺路线中,(R)-4-氰基-3-羟基丁酸乙酯(ATS-5)是一种重要的中间体。因此,研究高收率、高光学纯度ATS-5的制备方法是该工艺路线的关键。

为了提高ATS-5的收率,特别是其光学纯度,酶法制备工艺得到了广泛的研究。常用的酶主要有卤醇脱卤酶、脂肪酶、腈水解酶和羰基还原酶^[6-11]。其中,脂肪酶催化获得的ATS-5光学纯度较高,但是理论收率最高只有50%,限制了其工业应用^[6]。腈水解酶可催化3-羟基-3-甲基戊二腈对称生成ATS-5,然而当底物浓度较高时,会对酶产生底物抑制作用,因而限制了其规模化生产^[7]。羰基还原酶在辅酶NADH存在的情况下,可以催化2-甲基-4-氯-3-氧化

丁烷酸生成ATS-5,然而昂贵的辅酶NADH的添加提高了生产成本,导致其工业应用前景受到限制^[8]。与这3种酶相比,卤醇脱卤酶(HHDH)具有一定优势^[9-11],在不需要任何辅酶的情况下,HHDH催化底物(S)-4-氯-3-羟基丁酸乙酯(ATS-4)脱去卤元素,成了环氧化合物,环氧化合物受到氰基进攻,转化为ATS-5。其反应式如图1所示。该反应在水溶液中进行,由于反应后HHDH难以从反应体系中完全去除,造成后续提纯工艺困难,降低了ATS-5的收率和光学纯度。因此,为了简化分离纯化工艺,同时回收HHDH,需对HHDH进行固定化研究。

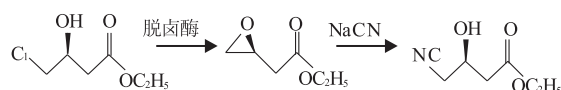


图1 脱卤酶催化合成ATS-5反应式

Fig. 1 Synthesis of ATS-5 catalyzed by dehalogenase

固定化酶具有容易分离、反应过程可以连续操作、重复利用等优点。常用的固定化方法有吸附法、包埋法、交联法和共价法^[12]。其中,吸附法酶活力回收率高,但是酶容易从载体上脱落,重复利用性差。交联法和共价法利用化学方法对酶进行固定,酶活力损失大。包埋法是将酶包埋在高分子凝胶或包裹在半透性高分子膜中,操作简单,对酶活性影响较小,制作的固定

化酶球的强度较高。鉴于此,本文拟对包埋法固定 HHDH 进行研究,并对固定化 HHDH 催化合成 ATS-5 的稳定性进行评价,以期为高收率、高光学纯度 ATS-5 的工业化制备提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

主要试剂:海藻酸钠,无水氯化钙,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司产;NaCN,化学纯,河北诚信有限责任公司产;戊二醛水溶液(质量分数 25%),南京化学试剂股份有限公司产;(S)-4-氯-3-羟基丁酸乙酯(Tris,纯度 $\geq 98.0\%$),江苏万年长药业有限公司产;HHDH (1.2×10^6 U/mL),安琪酵母股份有限公司产。

主要仪器:9790 气相色谱仪,P1030 型数显自动旋光仪,浙江温岭福立分析仪器有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 HHDH 酶活力的测定 30 °C 恒温条件下,在含有 5 mmol/L 底物(2-溴乙醇)的 50 mmol/L Tris/SO₄ 缓冲液(pH = 8.0)中,每 min 降解底物生成 1 μ mol 溴离子的酶量定义为 1 个单位,即 1 U。

1.2.2 蛋白含量的测定 酶蛋白含量采用考马斯亮蓝染色法^[13]测定。

1.2.3 固定化 HHDH 的制备 海藻酸钠溶液和 HHDH 酶液混合均匀,缓慢滴入戊二醛溶液,将混合液置于 30 °C 恒温水浴锅中交联,并不断搅拌;将海藻酸钠与酶的混合液逐滴注入氯化钙溶液中,立即形成凝珠小球,常温下固化后过滤得固定化 HHDH。

1.2.4 固定化 HHDH 催化合成 ATS-5 在 0.2 mol/L 氰化钠水溶液(pH = 8.0)中,加入一定量的底物 ATS-4,提升反应温度,加入固定化 HHDH(或者酶液),并用氰化钠水溶液控制反应体系,使其 pH 为 6.5 ~ 7.5。每隔一段时间

取样分析 ATS-4 和 ATS-5 的含量,至反应结束。

1.2.5 ATS-5 纯度与光学纯度分析 1) 利用气相色谱仪进行纯度分析,载气为氮气,检测器为氢火焰离子化检测器,色谱柱为毛细管色谱柱,柱温 240 °C。

2) 利用数显自动旋光仪进行光学纯度分析。

1.3 计算方法

1.3.1 固定化 HHDH 包埋率的计算

包埋率 =

$$\frac{\text{固定化前酶液蛋白含量} - \text{固定化后氯化钙溶液蛋白含量}}{\text{固定化前酶液蛋白含量}} \times 100\%$$

1.3.2 固定化 HHDH 活力回收率的计算

活力回收率 =

$$\frac{\text{固定化酶活力}}{\text{固定化前游离酶活力} - \text{固定化后溶液游离酶活力}} \times 100\%$$

1.3.3 固定化 HHDH 相对活力的计算

相对活力 =

$$\frac{\text{不同批次固定化酶催化底物转化率为 90\% 所需时间}}{\text{批次反应中固定化酶第 1 次催化底物转化率为 90\% 所需时间}} \times 100\%$$

其中,底物转化率根据气相色谱底物 ATS-4 峰面积计算得到。

1.3.4 ATS-5 光学纯度的计算

$$\text{光学纯度} = \frac{\text{产物比旋光率}}{\text{参考文献比旋光率}} \times 100\%$$

其中,参照文献[14],ATS-5 比旋光率为 $[a]_D^{25} = -31.3 (c = 1.0, \text{CHCl}_3)$ 。

2 固定化 HHDH 制备条件的确定

2.1 海藻酸钠浓度对固定化 HHDH 过程的影响

在 HHDH 酶液(给酶量为 2.4×10^4 U/mL) 40 mL,戊二醛溶液(1.00%, w/v) 2 mL,氯化钙溶液(2%, w/v) 100 mL,固定化时间 1 h 条件下,分别加入 40 mL 不同浓度的海藻酸钠溶液

制成固定化HHDH,通过测定HHDH包埋率和活力回收率,考察海藻酸钠浓度对固定化HHDH过程的影响,结果如图2所示.由图2可知,HHDH包埋率随着海藻酸钠浓度的增加而增大,当海藻酸钠浓度为3.5%时,HHDH包埋率达到52.1%;但随着海藻酸钠浓度进一步提高,HHDH包埋率有所下降,当海藻酸钠浓度为4.5%时,HHDH包埋率仅有42.7%.其原因可能是过高的海藻酸钠浓度导致固定化酶结构紧密,酶蛋白被挤出小球,造成其包埋率下降.此外,从图2也可以看出,随着海藻酸钠浓度增加,固定化HHDH活力回收率下降,这也可能是较高浓度的海藻酸钠造成固定化酶结构比较紧密,内扩散阻力增加,造成酶活力回收率下降.

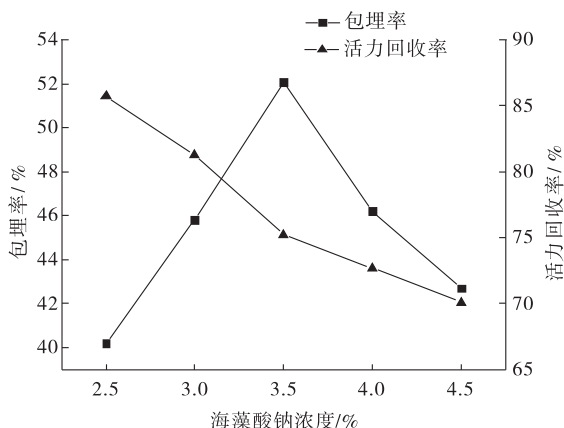


图2 海藻酸钠浓度对HHDH包埋率和固定化后HHDH活力回收率的影响

Fig. 2 Effect of sodium alginate concentration on HHDH encapsulation efficiency and activity recovery of immobilized HHDH

2.2 给酶量对固定化HHDH过程的影响

在海藻酸钠溶液(3.5%, w/v) 40 mL, 戊二醛溶液(1.0%, w/v) 2 mL, 分别与40 mL给酶量为 8×10^3 U/mL, 1.6×10^4 U/mL, 2.4×10^4 U/mL, 3.2×10^4 U/mL和 4.0×10^4 U/mL的酶液混合, 再将混合物滴加到氯化钙溶液(2%, w/v)中, 固化时间1 h, HHDH包埋率和活力回收率如图3所示. 由图3可知, HHDH包

埋率随着给酶量的增加而减少, 而活力回收率则随着给酶量的增加而增大. 在给酶量达到 2.4×10^4 U/mL时, HHDH包埋率下降速度加快而活力回收率增速变缓. 原因可能是: 海藻酸钠的活性基团是一定的, 在其结合位点未饱和之前, 伴随着给酶量的增大, 固定化HHDH活力也增大; 当结合位点饱和后, 给酶量继续增加也无法固定到载体上, 活性基团会保持游离状态而被损失掉. 因此, 适宜的给酶量为 2.4×10^4 U/mL, 对应的活力回收率为75.2%.

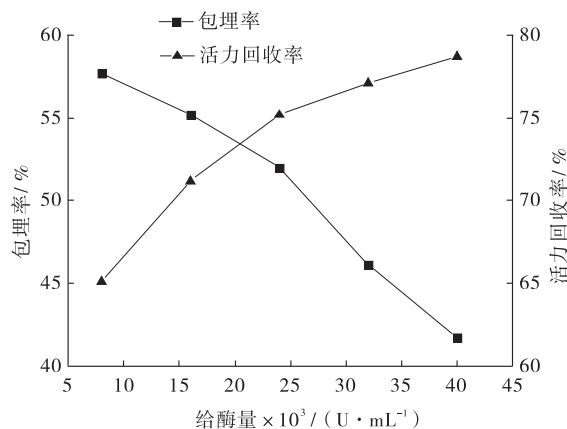


图3 给酶量对HHDH包埋率和固定化后HHDH活力回收率的影响

Fig. 3 Effect of enzyme amount on HHDH encapsulation efficiency and activity recovery of immobilized HHDH

2.3 戊二醛浓度对固定化HHDH过程的影响

在海藻酸钠溶液(3.5%, w/v) 40 mL, 给酶量(2.4×10^4 U/mL) 40 mL, 氯化钙溶液(2%, w/v) 100 mL, 固定化时间1 h条件下, 在海藻酸钠与酶液的混合液中加入2 mL浓度分别为0.50%, 0.75%, 1.00%, 1.25%和1.50%的戊二醛溶液, 进行交联制备固定化酶, 结果如图4所示. 由图4可知, 用较低浓度戊二醛溶液交联时, 其HHDH活力回收率较高. 当戊二醛浓度超过1.00%时, HHDH活力回收率明显下降. 戊二醛是双向交联剂, 一方面使海藻酸钠分子交联, 另一方面使HHDH交联在载体

上,同时戊二醛又会导致酶蛋白变性. 当戊二醛浓度过低时,海藻酸钠与酶交联度过小,导致 HHDH 活力回收率、强度和稳定性偏低. 当戊二醛浓度过高时,海藻酸钠载体交联程度过大,以致形成过于紧密的网络结构,不仅限制了底物的扩散,也影响了反应产物的扩散,酶活性随之下降;同时,酶蛋白遇到高浓度的戊二醛会发生过度交联,使酶活性中心改变,最终导致酶失活.

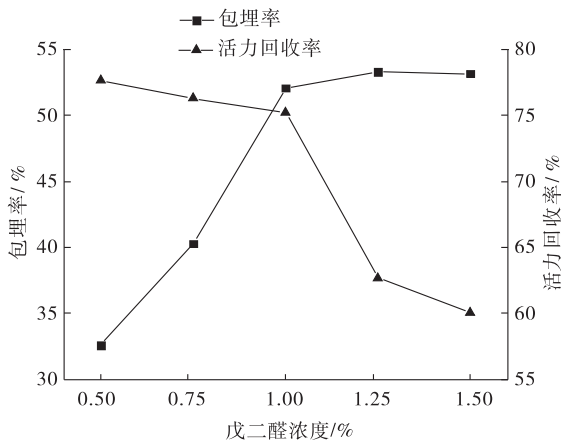


图4 戊二醛浓度对 HHDH 包埋率和固定化后 HHDH 活力回收率的影响

Fig. 4 Effect of glutaraldehyde concentration on HHDH encapsulation efficiency and activity recovery of immobilized HHDH

2.4 氯化钙浓度对固定化 HHDH 过程的影响

在海藻酸钠溶液(3.5%, w/v) 40 mL, 给酶量 2.4×10^4 U/mL 的酶液 40 mL, 戊二醛溶液(1.00%, w/v) 2 mL, 固定化时间 1 h 条件下, 用 100 mL 浓度分别为 0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0% 和 4.0% 的氯化钙对海藻酸钠与酶的混合液进行包埋制备凝胶小球, 结果如图 5 所示. 由图 5 可知, 当氯化钙浓度增加到 1.5% 时, HHDH 包埋率达到最大值 52.1%; 而当氯化钙浓度进一步增加到 2.0% 时, HHDH 包埋率降低到 40.1%. 原因可能是氯化钙浓度对凝胶形成的机械强度有重要影响: 当氯化钙浓度过低时, 氯

化钙与海藻酸钠反应形成的海藻酸钙凝胶网状孔径较大, 截留住酶较少; 当氯化钙浓度过高时, 凝胶网状孔径过小, 高分子联结紧密, 会影响反应时底物的扩散.

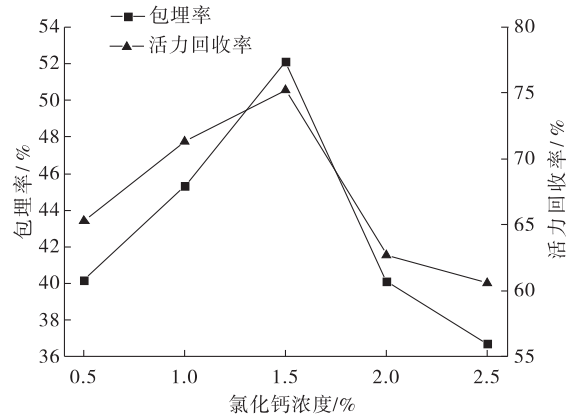


图5 氯化钙浓度对 HHDH 包埋率和固定化后 HHDH 活力回收率的影响

Fig. 5 Effect of CaCl₂ concentration on HHDH encapsulation efficiency and activity recovery of immobilized HHDH

2.5 固定化时间对固定化 HHDH 过程的影响

在以上优化条件下, 分别固定化 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h 和 4 h, 测定 HHDH 包埋率和活力回收率, 结果如图 6 所示. 由图 6 可知, 当固定化时间为 2 h 时, HHDH 包埋率最高; 随着时间的延长, HHDH 包埋率不断降低. 海藻酸钠与氯化钙形成凝胶的过程是钙离子通过海藻酸钠胶囊由外向内置换钠离子而形成海藻酸钙, 这一过程需要一定的时间: 若固定化时间过短, 包埋程度不够, 会影响固定效果; 但固定化时间过长, 也会导致凝胶结构过于紧密, 影响酶促反应时的反应速率, 固定化 HHDH 活力下降.

综上所述, 在海藻酸钠浓度 3.5%, 给酶量 2.4×10^4 U/mL, 戊二醛浓度 1.00%, 氯化钙浓度 1.5%, 固定化时间 2 h 条件下, 固定化 HHDH 包埋率达到最大值 52.1%, 活力回收率

为75.2%.

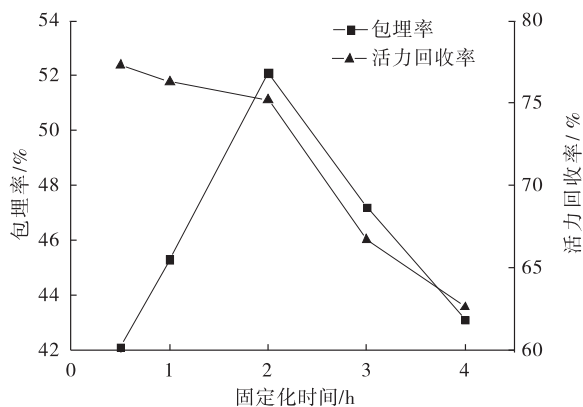


图6 固定化时间对HHDH包埋率和固定化后HHDH活力回收率的影响

Fig. 6 Effect of immobilization time on HHDH encapsulation efficiency and activity recovery of immobilized HHDH

3 固定化HHDH催化合成ATS-5的稳定性与贮存稳定性

3.1 间歇催化反应的稳定性

在500 mL 0.2 mol/L 氰化钠水溶液(pH = 8.0)中,加入0.2 mol底物ATS-4,提升反应温度至50 °C,加入固定化HHDH 5×10^4 U/mL,在反应过程用氰化钠水溶液控制反应体系,使pH = 6.8,当转化率达到90%后,弃去转化液,滤干固定化HHDH,第一批次反应结束.将回收的固定化HHDH进行第二批次实验,当反应转化率达到90%时结束反应,以此类推,考察固定化HHDH的操作稳定性,结果见图7.由图7可知,固定化HHDH有较好的操作稳定性.在整个反应过程中,相对酶活呈现下降趋势,但整体上相对酶活较高,5批次反应后,固定化HHDH仍保留51.2%的相对活力,并且结构完整,未见有破碎和膨胀.

3.2 连续催化反应的稳定性

将固定化HHDH置于填充柱内,通过蠕动泵连续添加ATS-4和0.1 mol/L的氰化钠水

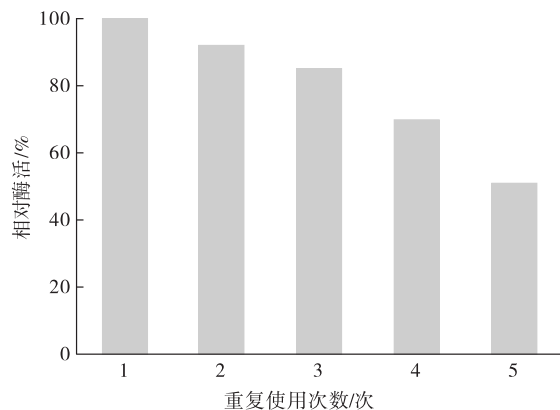


图7 固定化HHDH操作稳定性

Fig. 7 Operational stability of immobilized HHDH

溶液,控制ATS-4流速使转化率在90%以上,控制氰化钠水溶液流速使填充柱内pH为6.5~7.5,ATS-4经柱内固定化HHDH转化成ATS-5.填充柱内的固定化HHDH连续使用10 d后,底物ATS-4转化率仍高达90.6%,产品ATS-5精馏提纯收率为98.2%,纯度为99.3%,光学纯度达到99.1%.因此,固定化HHDH具有较好的连续反应的稳定性.

3.3 贮存稳定性

将固定化HHDH置于4 °C冰箱保存80 d后取出,其外形完整,弹性良好.取出2 g贮存后的固定化HHDH加入50 mL蔗糖溶液中,置三角瓶中于振荡器上进行转化反应,测定结果见表1.由表1可知,相对活力和机械强度经80 d贮存后,均基本保持不变.

表1 固定化HHDH的贮存稳定性

Table 1 Storage stability of immobilized HHDH

批次	外观	相对活力/%	
		储存前	储存后
1	外观完整,无破碎	100	100
2	外观完整,无破碎	100	98
3	外观完整,无破碎	100	97

4 结论

本文对包埋法固定HHDH进行了研究,并

对固定化 HHDH 制备 ATS-5 稳定性进行了评析,得到固定化过程的最佳工艺条件:海藻酸钠浓度 3.5%,HHDH 给酶量 2.4×10^4 U/mL,戊二醛浓度 1.00%,氯化钙浓度 1.5% 和固定化时间 2 h. 在此条件下,HHDH 包埋率为 52.1%,活力回收率为 75.2%. 将固定化 HHDH 应用于 ATS-5 催化合成,5 批次后相对活力为 51.2%;应用于连续催化合成 ATS-5,10 d 后底物转化率为 90.6%,ATS-5 精馏提纯收率为 98.2%,纯度达到 99.3%,光学纯度达到 99.1%. 固定化 HHDH 在 4 °C 下储存 80 d 后无明显酶活力损失. 这表明,工业生产中可利用固定化 HHDH 高效生产 ATS-5.

参考文献:

- [1] 江红,吴永健. 阿托伐他汀治疗新进展[J]. 心血管病学进展,2004(5):335.
- [2] 丁洪,吴林森,陈永乐. 四种半合成及全合成他汀类药物的研究与开发[J]. 药学进展,1999(2):65.
- [3] KUMAR Y, KUMAR SMD, SATHYANARAYANA S. Process for the production of atorvastatin calcium in amorphous form;20090216029[P]. 2009-08-27.
- [4] 杨宽,余丽丽,姚琳,等. 调血脂药物阿伐他汀的合成路线[J]. 化工科技,2013(4):71.
- [5] MOTHANA B, BOYD R J. A density functional theory study of the mechanism of the Paal-Knorr pyrrole synthesis [J]. Journal of Molecular Structure Theo Chem,2007,811(1-3):97.
- [6] 金勇,吴坚平,徐刚,等. 有机相酶催化氨解反应拆分制备(R)-4-氯-3-羟基丁酸乙酯[J]. 有机化学,2006(10):1384.
- [7] 钟萍,孙志浩. 生物催化不对称还原方法生产(S)-4-氯-3-羟基丁酸乙酯[J]. 过程工程学报,2005(6):665.
- [8] LEE H W, KIM Y M, YOO C L, et al. An efficient method for the large-scale synthesis of atorvastatin calcium[J]. Biomolecules & Therapeutics,2008,16(1):28.
- [9] DESANTIS G, WONG K, FARWELL B, et al. Creation of a productive, highly enantioselective nitrilase through gene site saturation mutagenesis (GSSM) [J]. Journal of the American Chemical Society,2003,125(38):11476.
- [10] WANG L J, LI C X, NI Y, et al. Highly efficient synthesis of chiral alcohols with a novel NADH-dependent reductase from Streptomyces coelicolor [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(14):7023.
- [11] 何玉财,陶志成,张丹平,等. (R)-4-氯-3-羟基丁酸乙酯及其衍生物的生物合成方法:104988085[P]. 2015-10-21.
- [12] 曹林秋. 载体固定化酶:原理、应用和设计[M]. 北京:化学工业出版社,2008.
- [13] OGINO C, NEGI Y, MATSUMIYA T, et al. Purification, characterization and sequence determination of phospholipase D secreted by streptococcus cinnamomeum [J]. Journal of Biochemistry,1999,125(2):263.
- [14] WANG G J, HOLLINGSWORTH R I. Synthetic routes to l-carnitine and l-gamma-amino-beta-hydroxybutyric acid from (S)-3-hydroxybutyrolactone by functional group priority switching [J]. Tetrahedron Asymmetr, 1999, 10(10):1895.



引用格式:刘伟,蔡英丽,何培新.粗柄羊肚菌转录组的 SSR 分布和序列特征分析[J].轻工学报,2017,32(2):33-39.

中图分类号:Q75;S567.3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.006

文章编号:2096-1553(2017)02-0033-07

粗柄羊肚菌转录组的 SSR 分布和序列特征分析

Distribution and sequence characteristics of SSR
in transcriptome of *Morchella crassipes*

刘伟^{1,2},蔡英丽²,何培新¹

LIU Wei^{1,2}, CAI Ying-li², HE Pei-xin¹

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 华中农业大学 应用真菌研究所,湖北 武汉 430071

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

2. Institute of Applied Mycology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430071, China

关键词:
简单重复序列;粗柄
羊肚菌;遗传标记;转
录组测序

Key words:
simple sequence repeat
(SSR); *Morchella*
crassipes; genetic
marker; transcriptome
sequencing

摘要:基于第二代转录组测序技术,对采集自河南省新郑市的粗柄羊肚菌 (*Morchella crassipes*) M10 菌株进行了深度转录组测序,分析了全转录组简单重复序列 SSR (simple sequence repeat) 分布和序列特征. 结果表明: 1) 总计检测到 13 044 个 SSR 位点,分布在 8851 条 Trinity genes 中,SSR 在转录组序列中的平均密度为 2067.77 bp/个,远高于其他真菌,其中 2858 条 Trinity genes 中包含超过 1 个 SSR 位点,复合型 SSR 位点 1925 个. 2) 单碱基重复基元最多,为 8600 个,其中 A/T 重复类型远高于 C/G 重复类型,与多数大型真菌相同;其次是三碱基重复基元,为 2497 个,其中 ACC/GGT, AGC/CTG 和 AGG/CCT 重复类型占 60% 以上,且明显以 GC 的高频概率出现,在 SSR 分子标记或其他重复序列多态性标记的开发上,可优选富含 GC 的 SSR 设计引物.

收稿日期:2016-12-19

基金项目:河南省科技创新杰出青年项目(134100510017)

作者简介:刘伟(1984—),男,河南省镇平县人,华中农业大学助理研究员,主要研究方向为蕈菌遗传育种.

通信作者:何培新(1970—),男,河南省民权县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物工程.

Abstract: The transcriptome of *Morchella crassipes* M10 collected from Xinzheng of He'nan Province was sequenced by the next generation sequencing technology, and distribution characteristic of simple sequence repeats (SSR) were analyzed. The results showed that: 1) A total of 13 044 SSR sites were detected, which was distributed in 8851 Trinity genes, about 2858 Trinity genes had more than one SSR loci and the number of compound formation SSR loci was 1925. The average density of SSR loci was 2067.77 bp/piece in the transcriptome sequence of *Morchella crassipes*, which was much higher than that of other fungi. 2) The number of single base repeat motif was 8600, the largest one, among which the number of A/T repeat types was higher than C/G repeat types and the same as most macro-fungi; the number of tri-nucleotide (TGC) repeat motif was 2497, among which ACC/GGT, AGC/CTG and AGG/CCT accounted for 60% and obviously appeared with GC high probability. In the development of SSR molecular marker or other repeat polymorphic marker, SSR abundant with GC could be chosen as the best primers.

0 引言

简单重复序列 SSR (simple sequence repeat) 是一类由 1—6 个碱基组成的基本串联重复核苷酸序列, 也称为微卫星序列^[1]. SSR 广泛分布于真核生物基因组中. SSR 分子标记是基于重复序列两侧特定的保守序列设计引物, 来扩增检测重复序列长短差异的 DNA 分子标记. SSR 标记因其多态性高、重复性好、共显性、分布均匀、覆盖面广等优点, 广泛应用于生物遗传图谱绘制、遗传多样性分析、品种鉴定、基因定位和分子标记辅助育种等方面^[2]. SSR 标记按来源可分为基因组 SSR (genomic SSR, gSSR) 和表达序列标签 SSR (expressed sequence tag SSR, EST-SSR). 与 gSSR 相比, EST-SSR 源于基因的转录区域, 其多态性可能直接与基因的功能相关, 因此应用范围更广, 通用性更高^[3]. 基于转录组数据开发 SSR 标记在作物方面应用较多^[4]; 关于大型真菌, 仅对糙皮侧耳 (*Pleurotus ostreatus*)、灵芝 (*Ganoderma lucidum*)、黑木耳 (*Auricularia auricula*)、毛木耳 (*A. polytricha*)、茯苓 (*Poria cocos*) 等有所研究^[5-8].

新一代高通量测序技术的成熟和测序成本的急剧下降, 为开发功能基因的 SSR 标记创造了条件. 羊肚菌 (*Morchella* spp.) 是一类珍稀、名贵的食药兼用真菌, 具有较高的营养和保健

价值. 近年来, 梯棱羊肚菌 (*Morchella importuna*) 等黑色羊肚菌支系品种的人工种植在我国发展较快^[9]. 然而, 由于基础研究薄弱, 粗柄羊肚菌 (*Morchella crassipes*) 等黄色羊肚菌支系的种类至今没能成功驯化栽培. 分子标记开发是作物遗传育种的基本手段. 开发的羊肚菌分子标记主要集中于 RAPD, RFLP, AFLP, SCAR, SNP 等^[10-14], 关于羊肚菌 SSR 标记开发的研究鲜见报道. 鉴于此, 本研究拟基于粗柄羊肚菌的深度转录组 De Novo 组装数据, 分析全转录组的 SSR 分布和序列特征, 以期开发羊肚菌 SSR 分子标记提供数据支持, 为粗柄羊肚菌遗传育种研究和人工驯化栽培奠定基础.

1 材料与方法

1.1 供试菌株

野生粗柄羊肚菌标本, 采集自河南省新郑市, 通过组织分离获得供试菌株, 编号 M10. 标本的鉴定通过形态特征结合 rDNA 序列分析完成^[15]. M10 菌株保存储藏于郑州轻工业学院发酵工程研究室.

1.2 RNA 提取和质量控制

M10 菌株在 CYM 完全培养基 (葡萄糖 20 g, 蛋白胨 2 g, 酵母粉 2 g, 硫酸镁 0.5 g, 磷酸氢二钾 1 g, 磷酸二氢钾 0.46 g, 去离子水 1000 mL, pH 自然) 中于 25 °C 下静置培养 10 d,

过滤收集干净的菌丝体,置 -80°C 下保存或直接使用. RNA 提取采用 STE 法^[16],简要步骤如下:取 0.5 g 左右菌丝体迅速用液氮研磨至粉状,装入预冷的 1.5 mL 离心管中,加 STE 裂解液裂解后,采用 PCA 液($V(\text{苯酚}):V(\text{氯仿}):V(\text{异戊醇})=25:24:1$)除去蛋白. 获得的总 RNA 用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳和 Agilent 2100 生物分析仪进行 RNA 完整性检测,采用 Nanodrop 8000 测定 RNA 溶液的浓度.

1.3 转录组测序

按照 Illumina RNA 建库试剂盒的说明进行文库制备. 本实验共计构建两个插入片段长度为 500 bp 的文库,通过 Illumina Nextseq 500 和 Miseq 测序平台(中国科学院水生生物研究所公共技术服务中心基因组信息平台)分别进行 PE 151 和 PE 175 链特异性双末端测序.

1.4 转录组 De Novo 拼接

首先对测序得到的原始数据进行去接头和初步过滤,得初始数据;再通过 FastQC 和 NGSQC Toolkit_v2.3.3 对获得的初始数据进行质量评价和控制,去除低质量的记录;使用 Trimmomatic-0.33 去除记录两端低质量碱基;最后使用 Trinity(v2.1.1)进行转录组 De Novo 从头组装.

1.5 SSR 搜索分析

使用 MISA 软件(<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/misa.html>)对转录组 Trinity gene 进行 SSR 位点搜索. 设置单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸和六核苷酸最少重复次数分别为 10,6,5,5,5,5. 其两个复合 SSR 位点间最大间隔碱基数为 100 bp. 将生成的文本文件导入 Excel 中,统计分析 SSR 的基本信息并作图.

2 结果与分析

2.1 粗柄羊肚菌转录组的 De Novo 组装

从粗柄羊肚菌培养菌丝体抽提 RNA,经生

物分析仪检测, RIN (RNA integrity number) 值 ≥ 6.5 ,浓度超过 $100\text{ ng}/\mu\text{L}$,达到 RNA 测序建库标准,即转入建库和测序步骤. RNA 测序在 Illumina 测序平台上进行,分别完成 PE 151 和 PE 175 的链特异性双末端测序. 对测序获得的原始数据进行去接头、低质量记录、低质量碱基的去除和截断之后,共计获得高质量测序数据 7.6 G(包括 PE 151 4.2 G 和 PE 175 3.4 G),测序深度大于 150 倍(按基因组大小评估,粗柄羊肚菌的基因组预估在 50 M 左右).

使用 Trinity(v2.1.1)转录组组装软件,对粗柄羊肚菌的转录组进行 De Novo 从头组装,共计获得 43 925 条转录本,非冗余 Trinity genes 34 972 条,Contig N50 1219 bp,Contig 平均长度 770.13 bp,Contig 中值长度 440 bp,非冗余转录组碱基总长度 26 932 985 bp,转录组 GC 百分比为 48.29%. 最短的 Trinity gene 长度为 224 bp,最长的 Trinity gene 长度为 11 778 bp,67.06% 的 Trinity genes 长度小于 1000 bp,28.05% 的 Trinity genes 长度为 1000~3000 bp(见表 1).

2.2 粗柄羊肚菌转录组 SSR 的分布特征

用 MISA 生物信息学软件,对粗柄羊肚菌的转录组进行 SSR 特征分析. 在 34 972 条非冗余的 Trinity genes 中,总计搜索到 13 044 个 SSR 位点,分布在 8851 条 Trinity genes 中,转录组 SSR 出现的频率为 25.59%;SSR 在转录组序列中的平均密度为 2 067.77 bp/个,其中 2858 条 Trinity genes 中包含超过 1 个 SSR 位点;复合型 SSR 位点 1925 个,占总 SSR 总数的 14.8%. 粗柄羊肚菌转录组中存在着各种 SSR 基元类型,不同碱基数量的 SSR 基元差异很大,其中,单碱基的重复个数最多,为 8600 个,占总 SSR 位点数量的 65.93%;其次是三碱基重复 2497 个,占比 19.14%;双碱基重复 1526 个,占比 11.70%;最后为四碱基、五碱基和六碱基重复,分别为 286 个、78 个和 57 个.

表1 粗柄羊肚菌转录组 De Novo 组装结果和转录组 SSR 分布特征信息

Table 1 Results of Trinity De Novo assembly and distribution characteristics of SSR in transcriptome of *Morchella crassipes*

转录组 De Novo 组装信息	数值	转录组 SSR 分布特征信息	数值
全转录本数量/条	43 925	总 SSR 位点数量/个	13 044
非冗余的 Trinity genes/条	34 972	包含 SSR 位点的 Trinity genes/条	8851
Contig N50/bp	1219	转录组 SSR 出现的频率/%	25.59
Contig 中值长度/bp	440	包含超过 1 个 SSR 位点的转录组数量/条	2858
Contig 平均长度/bp	770.13	多位点 SSR 发生的频率/%	8.26
非冗余转录组碱基总长度/bp	26 932 985	发生复合型 SSR 的转录组数量/条	1925
转录组 GC 百分比/%	48.29	复合型 SSR 发生的频率/%	5.56
最短的 Trinity genes 长度/bp	224	单核苷酸重复 SSR 数量/条	8600
最长的 Trinity genes 长度/bp	11 778	双核苷酸重复 SSR 数量/条	1526
长度 ≤ 1000 bp 的核苷酸/条	29 456	三核苷酸重复 SSR 数量/条	2497
长度 1000 ~ 2000 bp 的核苷酸/条	8451	四核苷酸重复 SSR 数量/条	286
长度 2000 ~ 3000 bp 的核苷酸/条	3870	五核苷酸重复 SSR 数量/条	78
长度 ≥ 3000 bp 的核苷酸/条	2148	六核苷酸重复 SSR 数量/条	57

2.3 粗柄羊肚菌转录组 SSR 的重复序列类型

图 1 为粗柄羊肚菌 SSR 基元特征和频率分布图,结合表 1 和图 1 可知,13 044 个转录组位点从属于 307 种碱基重复类型,其中单核苷酸至六核苷酸的重复类型分别有 4 种、12 种、60 种、118 种、60 种和 53 种.单碱基 T 的重复次数最多(3595 次),占单碱基重复的 42%;其次是单碱基 A 的重复(3481 次),占单碱基重复数量的 40%.双碱基重复中,CG/GC 重复的 SSR 位点最少,总计 31 个;AG/CT 和 AC/GT 重复类型最多,分别为 658 个和 506 个,分别占总双碱基重复类型的 43% 和 33%.三碱基 SSR 重复序列中,ACC/GGT、AGC/CTG 和 AGG/CCT 是数量最多的 SSR 基元,分别有 540 个、513 个和 455 个,总计占三碱基重复类型的 60% 以上;其次是 CCG/CGG 和 AAG/CTT 三碱基重复.41 种四碱基的 SSR 重复类型中,AAAAG/CTTTT 和 AAAAC/GTTTT 的数量较多,分别为 10 个和 6 个.五碱基重复的 SSR 中,AACAGC/CTGTTG 出现的频率最高,有 7 次.剩余的四碱基、五碱基和六碱基重复类型中,数量均比较平均,均在 1—4 个之间.

2.4 粗柄羊肚菌转录组 SSR 序列重复次数和序列长度特点

粗柄羊肚菌 6 种 SSR 重复基元的频率分布规律见图 2.由图 2 可知,6 种碱基类型的 SSR 重复基元中,重复次数越低,SSR 的频率越高.单碱基重复 10 次的 SSR 数量最多,占单碱基 SSR 总量的 36.24%,其次是 11 次的单碱基重复;单碱基(A)_n 重复的数量最高达 79 次,然后是 75 次和 71 次,远高于其他单碱基的重复长度.双碱基重复 6 次的 SSR 有 688 个,占双碱基 SSR 数量的 45.08%;双碱基(TG)_n 和(TC)_n 最高重复次数分别为 23 次和 22 次,序列长度分别达 46 bp 和 44 bp.三碱基(TGC)_n 重复次数最高达 25 次,序列长度达 75 bp;其次是五碱基的(TGGAT)_n,总计重复 14 次,序列长度达 70 bp.

3 结论与讨论

本研究按照通用的 SSR 基元特征参数,对粗柄羊肚菌的全转录组进行了 SSR 分布和序列特征分析,共计在 34 972 条非冗余的 Trinity genes 中搜索得到 13 044 个 SSR 位点,平均 2 067.77 bp 长度的转录序列包含 1 个 SSR 位点,

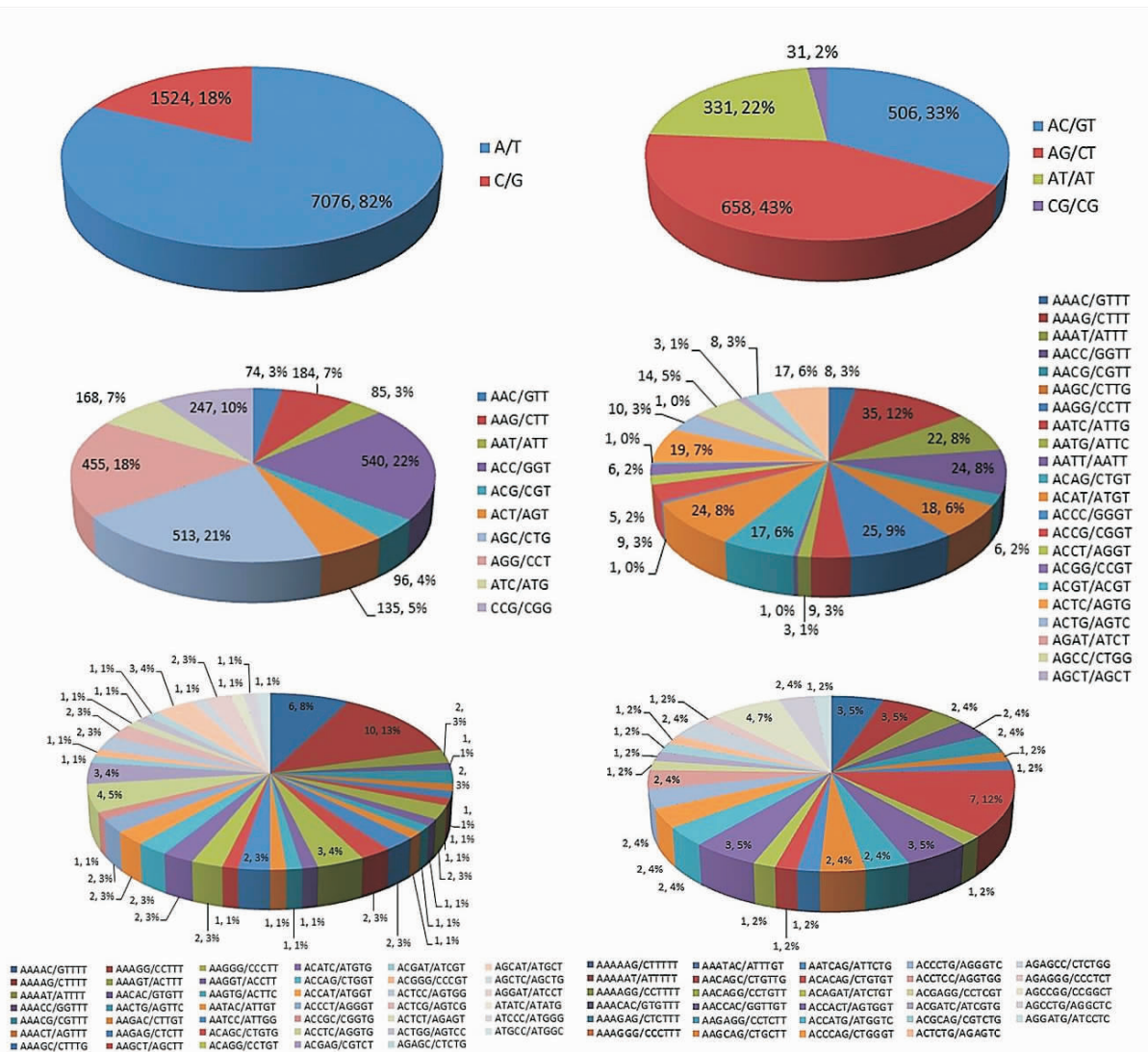


图 1 粗柄羊肚菌 SSR 基元特征和频率分布

Fig.1 Motif characteristic and frequency distribution of SSR of *Morchella crassipes*

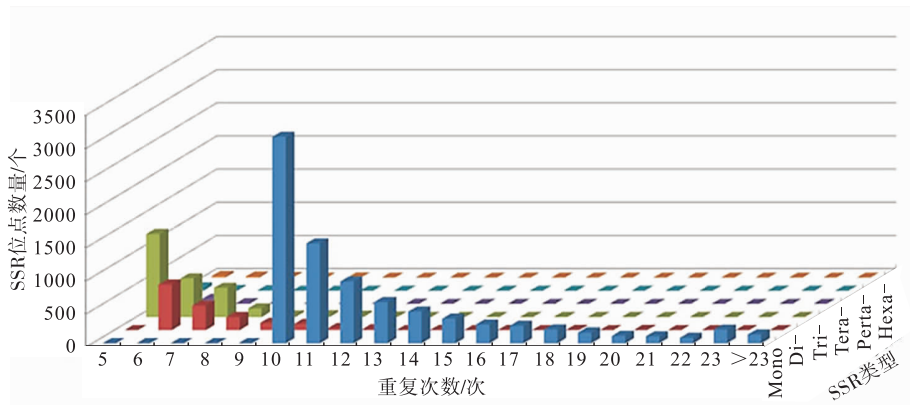


图 2 粗柄羊肚菌 6 种 SSR 重复基元的频率分布规律

Fig.2 Law of frequency distribution of six SSR repeat motifs of *Morchella crassipes*

远高于每百万碱基转录组序列含有毛木耳 78 个和黑木耳 90 个的 SSR 序列密度^[7],也高于茯苓的每百万碱基转录组序列包含 58.78 个 SSR 序列的平均密度^[8].与植物相比,SSR 位点出现的频率高于洋葱(*Allium cepa*)的 14.1 kb/个^[17]和党参(*Codonopsis pilosula*)的 4.52 kb/个^[18],略低于刺梨(*Rosa roxburghii*)的 1.68 kb/个^[19].粗柄羊肚菌转录组 SSR 的密度也高于灵芝、灰盖鬼伞(*Coprinopsis cinerea*)、裂褶菌(*Schizophyllum commune*)、干朽菌(*Serpula lacrymans*)、双色蜡磨(*Laccaria bicolor*)、黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)和绵腐卧孔菌(*Postia placenta*)基因组中的 SSR 密度^[6].这表明,粗柄羊肚菌的 SSR 分布频率较高,有助于后续相关分子标记的开发.

对粗柄羊肚菌转录组 SSR 基元序列特征分析发现,在单碱基重复基元中,A/T 重复远高于 C/G 重复序列类型,这与大多数的大型真菌相同,而与毛木耳和裂褶菌中 C/G 重复多于 A/T 重复类型相反^[7,20];三碱基重复基元是除单碱基重复之外最多的重复类型,尤其以 ACC/GGT,AGC/CTG 和 AGG/CCT 居多,占三碱基重复总量的 60% 以上,明显以 GC 的高频概率出现,表明富含 GC 的 SSR 在粗柄羊肚菌中占优势,类似于黑木耳和毛木耳的转录组 SSR 类型^[7].在 SSR 分子标记或其他重复序列多态性如 ISSR(inter-simple sequence repeat)标记的开发上,应优选富含 GC 的 SSR 设计引物.

粗柄羊肚菌转录组的 SSR 分布和序列特征分析,有助于后续开发羊肚菌 SSR 分子标记,为深入开展种质资源分析、遗传连锁图谱构建、系统发育分析和分子标记辅助育种等研究工作提供理论和技术支持.

参考文献:

- [1] KALIA R K, RAI M K, KALIA S, et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants [J]. *Euphytica*, 2011, 177 (3): 309.
- [2] POWELL W, MACHRAY G C, PROVAN J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. *Trends in Plant Science*, 1996, 1 (7): 215.
- [3] 李炎林, 杨星星, 张家银, 等. 南方红豆杉转录组 SSR 挖掘及分子标记的研究 [J]. *园艺学报*, 2014, 41 (4): 735.
- [4] 王燕龙, 姜言生, 曲志才, 等. SSR 分子标记在作物种质资源鉴定中的应用 [J]. *山东农业科学*, 2012, 44 (10): 11.
- [5] QU J, HUANG C, ZHANG J. Genome-wide functional analysis of SSR for an edible mushroom *Pleurotus ostreatus* [J]. *Gene*, 2016, 575: 524.
- [6] QIAN J, XU H, SONG J, et al. Genome-wide analysis of simple sequence repeats in the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Gene*, 2013, 512 (2): 331.
- [7] 周雁, 范秀芝, 陈连福, 等. SSR 在黑木耳和毛木耳转录组中的分布和序列特征 [J]. *菌物学报*, 2014, 33 (2): 280.
- [8] 何海, 郭继云, 马毅平, 等. 茯苓转录组 SSR 序列特征及其基因功能分析 [J]. *中草药*, 2015, 46 (23): 3558.
- [9] 何培新, 刘伟, 蔡英丽, 等. 我国人工栽培和野生黑色羊肚菌的菌种鉴定及系统发育分析 [J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2015, 30 (3/4): 26.
- [10] DALGLEISH H J, JACOBSON K M. A first assessment of genetic variation among *Morchella esculenta* (Morel) populations [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96 (4): 396.
- [11] SINGH S K, KAMAL S, TIWARI M, et al. Arbitrary primer based RAPD—A useful genetic marker for species identification in morels [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2004, 13 (1): 7.

- [12] BUNYARD B A, NICHOLSON M S, ROYSE D J. A systematic assessment of *Morchella* using RFLP analysis of the 28S ribosomal RNA gene [J]. *Mycologia*, 1994, 88(6):762.
- [13] BUSCOT F, WIPF D, DI BATTISTA C, et al. DNA polymorphism in morels: PCR/RFLP analysis of the ribosomal DNA spacers and microsatellite-primed PCR [J]. *Mycological Research*, 1996, 100(1):63.
- [14] PAGLIACCIA D, DOUHAN G W, DOUHAN L A, et al. Development of molecular markers and preliminary investigation of the population structure and mating system in one lineage of black morel (*Morchella elata*) in the Pacific Northwestern USA [J]. *Mycologia*, 2011, 103(5):969.
- [15] 何培新, 刘伟. 粗柄羊肚菌分子鉴定及羊肚菌属真菌系统发育分析[J]. *江苏农业学报*, 2010, 26(2):395.
- [16] 税丕容, 郑晓冰, 林俊芳, 等. 简便高质量的食用菌总 RNA 提取方法[J]. *食用菌学报*, 2008, 15(1):32.
- [17] 李满堂, 张仕林, 邓鹏, 等. 洋葱转录组 SSR 信息分析及其多态性研究[J]. *园艺学报*, 2015, 42(6):1103.
- [18] 王东, 曹玲亚, 高建平. 党参转录组中 SSR 位点信息分析[J]. *中草药*, 2014, 45(16):2390.
- [19] 鄢秀芹, 鲁敏, 安华明. 刺梨转录组 SSR 信息分析及其分子标记开发[J]. *园艺学报*, 2015, 42(2):341.
- [20] LI R, ZHU H, RUAN J, et al. De novo assembly of human genomes with massively parallel short read sequencing [J]. *Genome Research*, 2010, 20(2):265.



引用格式:姜利英,刘帅,张培,等. 基于核酸适体传感器的黄曲霉毒素 B1 检测研究进展 [J]. 轻工学报,2017,32(2):40-47.

中图分类号:TP212.3;Q524 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.007

文章编号:2096-1553(2017)02-0040-08

基于核酸适体传感器的黄曲霉毒素 B1 检测研究进展

Research progress of aflatoxin B1 detection based on nucleic acid aptasensor

姜利英,刘帅,张培,任林娇,闫艳霞,郑晓婉,陈青华,
姜素霞

JIANG Li-ying, LIU Shuai, ZHANG Pei, REN Lin-jiao, YAN Yan-xia,
ZHENG Xiao-wan, CHEN Qing-hua, JIANG Su-xia

郑州轻工业学院 电气信息工程学院, 河南 郑州 450002

College of Electric Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou
450002, China

关键词:

黄曲霉毒素 B1; 核酸
适体传感器; 血糖仪;
样品预处理

Key words:

aflatoxin B1; nucleic
acid aptasensor;
glucose meter;
sample pretreatment

摘要:食物中存在毒性和致癌性较强的黄曲霉毒素 B1 (AFB1), 目前常规的检测方法有薄层色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法和免疫分析法, 但都存在一定局限性. 基于核酸适体传感器的 AFB1 检测研究取得了一定成果, 基于电化核酸适体传感器、光学核酸适体传感器和 PCR 核酸适体传感器的 3 种新型检测技术各有利弊, 将血糖仪作为检测仪器、与核酸适体传感器相结合检测 AFB1 的思路有待实验验证. 未来基于生物识别元件和磁性材料的磁亲和固相萃取法与核酸适体传感器相结合进行 AFB1 检测, 有望获得突破.

收稿日期:2016-09-01

基金项目:国家自然科学基金项目(61002007);河南省科技创新人才计划项目(124100510001)

作者简介:姜利英(1981—),女,河南省鄆城市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物传感器及检测微系统.

Abstract: There is a high toxicity and carcinogenicity of aflatoxin B1 (AFB1) in food. Current detection of aflatoxin B1 is performed by a variety of methods including thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, liquid chromatography-tandem mass spectrometry and immunoassay, but they all have some limitations. AFB1 detection research had obtained certain achievements based on nucleic acid aptasensor. The three new detection technology based on the electrochemical nucleic acid aptasensor, optical nucleic acid aptasensor and PCR nucleic acid aptasensor had advantages and disadvantages. A new idea in which glucose meter was used as a detection instrument and combined with nucleic acid aptasensor for AFB1 qualitative analysis were to be experimental veried. Combining nucleic acid aptasensor with magnetic nanoparticle united with bio-recognition elements as the adsorbent for solid phase extraction (SPE) was expected to be a breakthrough in the future.

0 引言

1993年,黄曲霉毒素 AFT (Aflatoxin) 被世界卫生组织的癌症研究机构划定为一类致癌物。目前已鉴定分离出 AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1, AFM2, AFP1, AFQ1 和 AFH1 等 10 多种黄曲霉毒素,它们都是二氢呋喃氧杂萜邻酮的衍生物,但具体结构不同,毒性大小也有差异,其中黄曲霉毒素 B1 (Aflatoxin B1, AFB1) 的毒性和致癌性最强^[1-3]。AFB1 主要对肝脏产生毒害,可导致肝癌、食道癌等严重疾病。AFB1 的强毒性、高致癌性和存在的广泛性,对人类健康和牲畜安全造成了严重的威胁。包括我国在内的许多国家和组织对其在食物中的检出限制定了控制标准和检测方法^[4]。如我国现行标准中对小麦、大麦等谷物的 AFB1 限量为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 而欧盟更加严格地限定为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。为达到对 AFB1 检测的低检出限和高选择性要求,在实际检测中往往需要注意样品预处理问题^[5]和检测方法的合理选择。

随着科学技术的进步,尤其是核酸适体^[6-8]的发现,核酸适体传感器这一新型检测技术吸引了越来越多的科研人员关注。

核酸适体是一段寡聚核苷酸,能够特异性结合蛋白质或其他小分子物质,具有低成本、高稳定性、易修饰、易合成、不需要活体动物或细胞、可重复利用等许多优点。因此,利用核酸适体与靶物质的高效特异性结合来代替免疫分析

方法中抗原-抗体的特异性结合,进而制备核酸适体传感器来检测靶物质,具有重要的研究价值与广阔的研究前景。起初,核酸适体传感器主要集中于对赭曲霉毒素 A (OTA) 和伏马菌素 B1 (FB1) 的检测,这是由于针对其他毒素的可利用适体有限。2010 年加拿大的 Neventures 生物科技有限公司取得了针对 AFB1 和玉米烯酮的核酸适体专利^[9],开启了 AFB1 核酸适体传感器的研究热潮。本文拟对不同核酸适体传感器检测 AFB1 的原理和检测结果进行探讨,以为为进一步研究提供参考。

1 AFB1 的常规检测方法

研究人员基于 AFB1 的物理、化学、光学和生物等特性,利用色谱、质谱、荧光分析、免疫分析等检测分析技术研究出不同的 AFB1 检测分析方法。可分离定量检测 AFB1 的方法主要有薄层色谱法 TLC^[10-12] (thin layer chromatography)、高效液相色谱法 HPLC^[13-15] (high performance liquid chromatography)、液相色谱-串联质谱法 LC-MS^[16-18] (liquid chromatography-tandem mass spectrometry) 和免疫分析方法。

薄层色谱法是将 AFB1 从样品中提取、净化后,在薄层板上展开,用紫外灯照射,根据 AFB1 发出的荧光强度检测其含量。该方法设备成本低、操作简单、易于推广,但是样品的预处理较繁琐,且在薄层板上展开时容易受到杂质干扰,测量精确度较低,耗费时间较长。

高效液相色谱法采用高压系统将 AFB1 缓冲液等液体流动相泵入装有固定相的色谱柱,在柱内分离出待测组分,然后使用荧光检测器进行检测与分析.由于采用色谱柱分离,该方法具有较高的精确度,而且可以实现对多种黄曲霉毒素的同时检测,有利于提高检测效率.但该方法需使用高压系统等设备,对操作人员的技术水平要求较高.

液相色谱-串联质谱法综合了液相色谱的高效分离和质谱的精确测量的优点,可进行更为可靠的 AFB1 定性和定量测量.与高效液相色谱法相比,液相色谱-串联质谱法同样具有同时对多个目标进行定性和定量检测的功能,精确度和灵敏度更高,并且不需要进行衍生等复杂处理.但是该方法设备昂贵,需要专业的操作技能,不易推广.

免疫分析方法包括酶联免疫法(ELISA)^[19-21]、免疫层析法(ICA)^[22-23]、放射免疫法(RIA)^[24-25]、免疫荧光法^[26].这类检测方法检测 AFB1 普遍具有特异性强、样品预处理简单、检测周期短等优点.近年来一些用于 AFB1 检测的商用试剂盒和试剂纸的出现,使得检测更加方便快捷.但是 AFB1 的抗体制备比

较繁琐且成本高,抗体的运输与贮存也有较苛刻的条件要求,因而一定程度上限制了该类免疫分析方法的应用与发展.

2 基于核酸适体传感器的 AFB1 检测

核酸适体传感器主要由识别元件和换能器组成,其传感原理如图 1 所示.传感器以核酸适体作为识别元件,分析物被核酸适体识别并发生高特异性和强亲和力结合,引起核酸适体空间构象的变化,进而产生一系列物理、化学、光学等变化,相应的换能器将变化信息转变成可定量处理的标准电信号,再经过放大并输出,最终检测出待测物浓度.

根据换能器的不同转换原理,目前检测 AFB1 的核酸适体传感器主要分为 3 种,即电化学核酸适体传感器、光学核酸适体传感器和 PCR 核酸适体传感器.

2.1 电化学核酸适体传感器

电化学核酸适体传感器的构造与检测过程主要包括 4 步,即适体固定→适体与目标结合→将电化学信息变化转为可测信号→可测信号的放大显示.研究者针对这 4 步提出了各种策略和方法来构建新型的电化学适体传感器^[27],

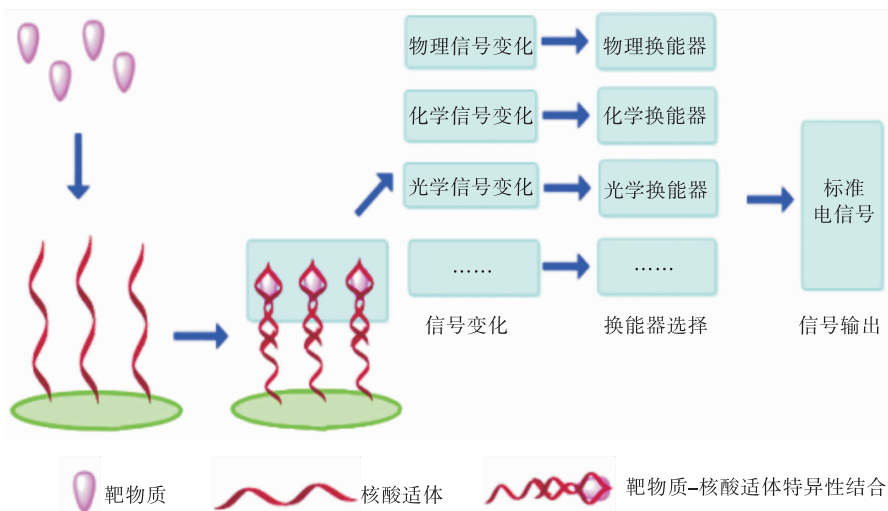


图 1 核酸适体传感器的传感示意图

Fig. 1 Schematic of sensor principle based on nucleic acid aptasensor

以提高检测的灵敏度和特异性. G. Evtugyn 等^[28] 针对适体固定过程,用电聚合的中性红和环芳烃修饰玻碳电极, DNA 适体通过共价作用力固定在环芳烃上,构造出一种新型电化学适体传感器来检测 AFB1. 针对适体识别目标后导致的电化学信号变化,一方面采用循环伏安法(CV)测量阴极探针峰值电流的减少,另一方面采用电化学阻抗谱法(EIS)测量电子转移电阻的增加. 两种检测方法的线性范围分别为 $0.1 \sim 100 \text{ nmol/L}$ 与 $0.05 \sim 100 \text{ nmol/L}$,检出限分别为 0.1 nmol/L 与 0.05 nmol/L . Y. Seok 等^[29] 针对适体的固定,构建了一种新型的采用比色法检测 AFB1 的核酸适体传感器. 其中 DNA 适体与 DNA 型酶裂开的两条 DNA 单链结合,构成 G 四联体. 该四联体在氯化铁血红素存在的条件下可以起到过氧化物酶的催化作用,并且催化作用有显色反应. 当 AFB1 出现并与适体竞争结合时,该 G 四联体裂开,失去催化作用,无显色反应. 此传感器的检测范围为 $0.1 \sim 10^4 \text{ ng/mL}$,肉眼的检出限为 0.1 ng/mL ,吸收光谱法的检出限为 0.054 ng/mL . 通过肉眼便可观察到颜色变化,使用该传感器的使用更加简单和方便. G. Castillo 等^[30] 针对适体与目标的结合过程,将树枝状聚酰胺高分子(PAMAM)固定在修饰有半胱氨酸(Cys)的金电极上来构造新型传感器. Cys-PAMAM 层与 Cys 层、巯基十一酸(MUA)层和 MUA-PAMAM 层等其他固定层相比,更适合用来产生灵敏的可再生信号. 采用 CV 法和 EIS 法测试的线性范围为 $0.4 \sim 10 \text{ nmol/L}$,检出限为 0.4 nmol/L . W. L. Zheng 等^[31] 针对电化学信号的放大过程,采用了两重信号放大策略来提高检测的灵敏度,达到对痕量 AFB1 的检测:一重放大用端粒酶来延长固定在纳米金表面的 ssDNA 探针,使信号响应范围相应扩大;二重放大用核酸外切酶 III 来水解适体识别 AFB1 后形成的 dsDNA 末端,使结合

的 AFB1 分离,重新进入识别 - 敏感系统,进行信号放大. 用 CV 法进行检测,该传感器的线性范围为 $0.6 \times 10^{-4} \sim 100 \text{ pg/mL}$,检出限为 $0.6 \times 10^{-4} \text{ pg/mL}$.

电化学核酸适体传感器使用的电化学换能器具有诸多优点,如快速和可靠的响应,与常规测量装置有较好的兼容性,小型化现场应用和低测量成本等,近年来吸引了越来越多的关注. 研究人员针对其检测过程的 4 个主要步骤,不断进行结构和方法创新来构建新型电化学适体传感器,成为当前研究的热点.

笔者课题组针对一般检测设备较昂贵这一现象,构思了一种利用血糖仪检测 AFB1 的电化学核酸适体传感器,并将在下一步进行实验验证. 血糖仪的使用不仅可以大幅降低检测成本,而且便于进行现场检测. 该传感器的设计与检测原理如图 2 所示:待检测的 AFB1 加入 96 微孔板后,被固定在微孔板上的 AFB1 抗体为抗原 - 抗体的特异性结合所捕获,再加入修饰有蔗糖酶的 AFB1 适体;适体与 AFB1 通过适体与靶物质间的强亲和力结合,充分反应后,冲洗

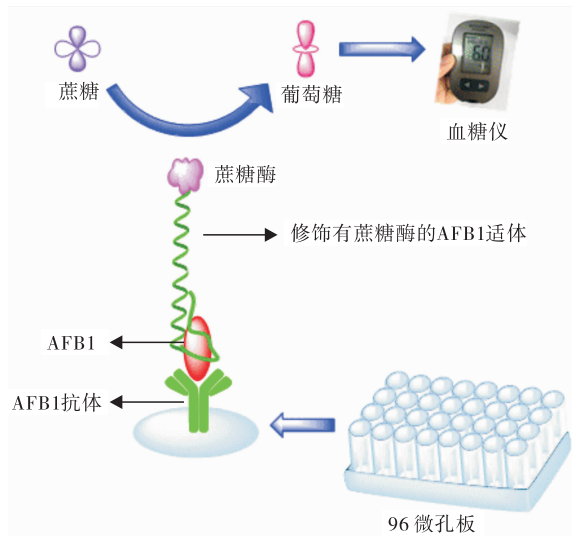


图 2 利用血糖仪检测 AFB1 的电化学核酸适体传感器设计

Fig. 2 The design of AFB1 electrochemical nucleic acid aptasensor based on the detection of glucometer

掉未结合的适体,再加入适量蔗糖;蔗糖被适体上修饰的蔗糖酶水解为葡萄糖,建立起葡萄糖与待测 AFB1 浓度之间的线性关系,并通过血糖仪检测葡萄糖浓度来间接检测 AFB1 浓度。

2.2 光学核酸适体传感器

光学核酸适体传感器通过换能器先将适体与目标物的特异性结合转换为荧光信号的变化,再通过荧光信号的变化强度来计算 AFB1 的浓度. 光学核酸适体传感器中较常见的是构建荧光淬灭系统来进行荧光变化测量,从而测量 AFB1 的浓度. B. Wang 等^[32] 基于纳米金和荧光掺氮碳量子点 (N. C-dots) 的荧光淬灭系统,构建了一种新型的光学核酸适体传感器:带电的 N. C-dots 通过静电作用力组装在核酸适体与纳米金的耦合物上,量子点的荧光被纳米金高效淬灭;当 AFB1 加入分析溶液时,其与适体的竞争性结合将导致量子点脱离纳米金,荧光恢复,荧光增加的强度与加入的 AFB1 浓度呈正相关. 此传感器检测的线性范围为 5 pg/mL ~ 2 ng/mL,检出限为 5 pg/mL. Z. S. Lu 等^[33] 则采用基于氧化石墨烯和 CdTe 量子点的荧光淬灭系统来检测 AFB1:将 AFB1 核酸适体通过配体变换反应连接到 CdTe 量子点表面,量子点的荧光可以被氧化石墨烯高效淬灭,加入 AFB1 后其荧光恢复,而荧光强度反映 AFB1 的浓度. 在磷酸盐缓冲液和花生油中做实验评估,结果表明该传感器具有很好的选择性和较宽的动态响应,在缓冲液体系中检测范围为 3.2 nmol/L ~ 320 μ mol/L,检出限为 1 nmol/L;在油溶液中检测范围为 1.6 nmol/L ~ 160 μ mol/L,检出限为 1.4 nmol/L.

采用荧光淬灭系统的光学核酸适体传感器在检测中往往需要使用荧光光谱仪等较昂贵的设备,且需要专业人员操作. W. B. Shima 等^[34] 针对在人类疾病诊断、环境危害和食物样品中对霉菌毒素的现场检测要求,研究了一种简单、

快速、便捷的量油尺分析方法,用来现场检测 AFB1 的浓度,全部检测过程可在 30 min 内完成. 该分析方法基于修饰有生物素的 AFB1 适体对目标物和修饰有 cy-5 的互补 DNA 探针的竞争结合作用,将亲和素和 cy-5 的抗体作为捕获剂固定在硝酸纤维素膜的检测线和对照线上来构造分析平台:没有 AFB1 加入时,对照线和检测线都发光;加入 AFB1 后,对照线仍发光但检测线不发光,以此达到快速检测 AFB1 的目的. 在最优条件下,此方法对缓冲液中 AFB1 的检测范围为 0.1 ~ 10 ng/mL,检出限为 0.1 ng/mL;对玉米样品中 AFB1 的检测范围为 0.3 ~ 10 ng/mL,检出限为 0.3 ng/mL. 对已知 AFB1 浓度的样品进行验证实验,结果表明:该方法获得的结果与 ELISA 测得的结果具有很好的 consistency.

光学核酸适体传感器凭借操作简单和高灵敏度等特点,在化学和生物医学研究领域得到广泛应用. 近年来,石墨烯因其优良的化学惰性、便于修饰和抗光漂白等特性被广泛关注^[35],表明研究基于石墨烯及其衍生物的荧光适体传感器具有巨大的潜力.

2.3 PCR 核酸适体传感器

实时荧光定量核酸扩增技术 (RT-qPCR) 是在聚合酶链式反应 (PCR) 体系中加入 Taqman 和 SYBR Green 等荧光基团,利用荧光信号累积实时监测整个 PCR 扩增反应中每个循环扩增产物量的变化,通过扩增产物的荧光信号达到设定的阈值时所经过的扩增循环次数 (C_t 值) 和标准曲线的分析对起始模板进行定量检测,起始模板数量的对数值与 C_t 值呈线性关系. RT-qPCR 技术的应用使得传感器的灵敏度明显提高,并以其操作简单和检测时间短而得到研究人员的关注. 研究人员最初应用该技术对代谢产生 AFT 的菌落数量进行检测. A. Rodríguez 等^[36] 采用 RT-qPCR 技术,分别利用

Taqman 荧光探针和 SYBR Green 荧光染料作为荧光定量试剂来跟踪与 AFB1 合成有关的 O-甲基转移酶基因. 两种方法中该基因的复制数量与 Ct 值都呈现良好的线性关系,在花生、调味品和腊肠中的检测范围为 1 ~ 4 log CFU/g,检出限为 1 log CFU/g. R. E. Levin^[37] 对使用 RT-qPCR 技术检测代谢产生 AFB1 霉菌的多种方法进行了综述. 为了进一步直接检测食物中 AFB1 的含量, D. Babu 等^[38] 结合免疫磁珠和 RT-qPCR 技术构造了新型传感器检测 AFB1, 并使得样品的检出限由 10 ng/mL 降低到 0.1 ng/mL. 为进一步提高传感器灵敏度, X. D. Guo 等^[39] 利用 RT-qPCR 技术,用适体作识别探针,其互补单链 DNA 作为 PCR 扩增的模板来产生信号,对被测信号进行有效放大. 在没有 AFB1 出现时, AFB1 适体的互补单链 DNA 通过碱基互补配对结合在固定于 PCR 管中的适体上;加入 AFB1 后, AFB1 与适体的竞争性结合使得互补的单链 DNA 脱离并进行扩增,进而使阈值循环数增加,变化量与加入的 AFB1 浓度呈正相关. 在最优条件下,其检测范围为 $5 \times 10^{-5} \sim 5$ ng/mL,检出限为 25 fg/mL. 该超灵敏的检测技术在对霉菌毒素进行高通量筛选和定量检测方面具有良好的应用前景.

RT-qPCR 技术的使用使得核酸适体传感器的灵敏度得到很大提高,受到人们越来越多的青睐. 它不仅可以实现多通道检测,而且随着检测速度和便携式发展潜力的提高,在疾病诊断和环境监测等领域的现场检测方面也将发挥更大的作用.

3 结论与展望

近年来,食品安全问题一直都是人们关注的焦点,而核酸适体传感器凭借其诸多优点在生物、医疗、环境与食品检测中的应用越来越广泛,本文对用于检测严重威胁人类健康安全的

AFB1 的 3 类核酸适体传感器进行了综述. 目前,核酸适体传感器检测 AFB1 的研究工作取得了一定的成果,但还有诸多问题有待解决,如免疫亲和柱等经典的样品预处理方法操作繁琐、费时、重现性差,已成为分析检测的瓶颈之一. 针对该问题,研究人员建立了基于生物识别元件和磁性材料的磁亲和固相萃取法^[40-41],使用表面修饰有抗体或核酸适体的磁亲和固相萃取吸附剂来提高样品预处理精度. 采用该萃取法进行样品预处理,并结合核酸适体传感器进行 AFB1 检测,有望成为 AFB1 样品预处理方法的一种新突破.

参考文献:

- [1] HOVE M, VAN P C, NJUMBEE E, et al. Review on the natural co-occurrence of AFB1 and FB1 in maize and the combined toxicity of AFB1 and FB1[J]. Food Control, 2016, 59: 675.
- [2] POAPOLATHEP S, IMSILP K, MACHII K, et al. The effects of curcumin on aflatoxin B1-induced toxicity in rats[J]. Biocontrol Science, 2015, 20(3): 171.
- [3] AIKO V, PRASAD E, MEHTA A. Decomposition and detoxification of aflatoxin B1 by lactic acid[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(6): 1959.
- [4] LIU J, SUN L H, ZHANG G C, et al. Aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in feed ingredients and complete feed from central China[J]. Food Additives and Contaminants, 2016, 9(2): 91.
- [5] ZHANG Q, RAN C C, CHEN D, et al. Determination of aflatoxin B1, B2, G1, G2 in Ben Lan granules by HPLC-FLD after multi-pretreatment clean-up[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(19): 3780.
- [6] NEZLIN R. Use of aptamers in immunoassays[J].

- Molecular Immunology, 2016, 70:149.
- [7] DARMOSTUK M, RIMPELOVA S, GBELCOVA H, et al. Current approaches in SELEX: An update to aptamer selection technology [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6):1141.
- [8] LATIL S M, COLLETTE C H, GUILLIER L, et al. Duplex RT-qPCR for the detection of hepatitis E virus in water, using a process control [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 157(2):167.
- [9] LE L C, CRUZ-AGUADO J A, PENNER G A. DNA ligands for aflatoxin and zearalenone: 201001292 [P]. 2011-02-24.
- [10] WANKHEDE S B, MAHAJAN A, CHITLANGE S. A simple TLC-densitometric method for the estimation of labetalol hydrochloride in tablets [J]. Journal of Planar Chromatography-Modern TLC, 2012, 25(2):145.
- [11] HOELTZ M, WELKE J E, NOLL I B, et al. Photometric procedure for quantitative analysis of aflatoxin B1 in peanuts by thin-layer chromatography using charge coupled device detector [J]. Química Nova, 2010, 33(1):43.
- [12] CASTRO L D, VARGAS E A. Determining aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in maize using florisil clean up with thin layer chromatography and visual and densitometric quantification [J]. Ciências Tecnologia de Alimentos, 2001, 21(1):115.
- [13] HEPSAG F, GOLGE O, KABAK B. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method [J]. Food Control, 2014, 38:75.
- [14] SADEGH M, SANI A M, GHIASVAND R. Determination of aflatoxin B1 in animal feed in Mashhad, Iran [J]. Bio Technology, 2013, 7(9):334.
- [15] LI W G, XU K L, XIAO R, et al. Development of an HPLC-based method for the detection of aflatoxins in Pu-erh Tea [J]. International Journal of Food Properties, 2015, 18(4):842.
- [16] HAN Z, ZHAO Z Y, SONG S Q, et al. Establishment of an isotope dilution LC-MS/MS method revealing kinetics and distribution of cooccurring mycotoxins in rats [J]. Analytical Methods, 2012, 4(11):3708.
- [17] 康绍英, 周兴旺, 张继红, 等. 液相色谱-串联质谱法同时检测食品中的4种黄曲霉毒素 [J]. 食品与机械, 2013, 29(2):77.
- [18] ESHELLI M, HARVEY L, EDRADE E R, et al. Metabolomics of the bio-degradation process of aflatoxin B1 by actinomycetes at an initial pH of 6.0 [J]. Toxins, 2015, 7(2):439.
- [19] AGHAIE A, AASKOV J, CHINIKAR S, et al. Frequency of west Nile virus infection in iranian blood donors [J]. Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion, 2016, 32(3):343.
- [20] GROSSMANN K, ROBER N, HIEMANN R, et al. Simultaneous detection of celiac disease-specific IgA antibodies and total IgA [J]. Autoimmunity Highlights, 2016, 7(1):2.
- [21] LIU J W, LU C C, LIU B H, et al. Development of novel monoclonal antibodies-based ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic strip for aflatoxin B1 detection [J]. Food Control, 2016, 59:700.
- [22] REN M L, XU H Y, HUANG X L, et al. Immunochromatographic assay for ultrasensitive detection of aflatoxin B1 in maize by highly luminescent quantum dot beads [J]. ACS Applied Materials and Interfaces, 2014, 6(16):14215.
- [23] LI X, LI P W, ZHANG Q, et al. Multi-component immunochromatographic assay for simultaneous detection of aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone in agro-food [J]. Biosens Bioel-

- electron,2013,49:426.
- [24] HUM G, LEE J, TAYLOR S D et al. Cyclic five-membered phosphinate esters as transition state analogues for obtaining phosphohydrolase antibodies [J]. Canadian Journal of Chemistry, 2000,78(5):642.
- [25] WU Z J, ZHANG Y X. Radioimmunoassay of antiarrhythmic peptide and its application [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology, 2003,23(1):44.
- [26] ZHANG B Y, SONG H X, CHEN T, et al. A microfluidic platform for multi-antigen immunofluorescence assays [J]. Applied Mechanics and Materials, 2012,108(1):200.
- [27] 姜利英,陈青华,王云龙,等. 用于检测小分子靶标的电流型适配体传感器进展研究 [J]. 郑州轻工业学院学报, 2011,26(2):56.
- [28] EVTUGYN G, PORFIREVA A, STEPANOVA V, et al. Electrochemical aptasensor based on polycarboxylic macrocycle modified with neutral red for aflatoxin B1 detection [J]. Electroanalysis, 2014,26(10):2100.
- [29] SEOK Y, BYUN J Y, SHIM W B, et al. A structure-switchable aptasensor for aflatoxin B1 detection based on assembly of an aptamer/split DNAzyme [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 886:182.
- [30] CASTILLO G, SPINELLA K, POTURNAYOVÁ A, et al. Detection of aflatoxin B1 by aptamer-based biosensor using PAMAM dendrimers as immobilization platform [J]. Food Control, 2015, 52:9.
- [31] ZHENG W L, TENG J, CHENG L, et al. Heteroenzyme-based two-round signal amplification strategy for trace detection of aflatoxin B1 using an electrochemical aptasensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016,80:574.
- [32] WANG B, CHEN Y, WU Y, et al. Aptamer induced assembly of fluorescent nitrogen-doped carbon dots on gold nanoparticles for sensitive detection of AFB1 [J]. Biosens Bioelectron, 2015,78:23.
- [33] LU Z S, CHEN X J, WANG Y, et al. Aptamer based fluorescence recovery assay for aflatoxin B1 using a quencher system composed of quantum dots and graphene oxide [J]. Microchimica Acta, 2015,182(3):571.
- [34] SHIMA W B, KIMA M J, MUNA H, et al. An aptamer-based dipstick assay for the rapid and simple detection of aflatoxin B1 [J]. Biosens Bioelectron, 2014,62:288.
- [35] 姜利英,肖小楠,周鹏磊,等. 基于氧化石墨烯荧光适配体传感器的胰岛素检测 [J]. 分析化学, 2016,44(2):310.
- [36] RODRÍGUEZ A, RODRIGUEZ M, LUQUE M, et al. Real-time PCR assays for detection and quantification of aflatoxin-producing molds in foods [J]. Food Microbiol, 2012,31(1):89.
- [37] LEVIN R E. PCR detection of aflatoxin producing fungi and its limitations [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012,156(1):1.
- [38] BABU D, MURIANA P M. Sensitive quantification of aflatoxin B1 in animal feeds, corn feed grain, and yellow corn meal using immunomagnetic bead-based recovery and real-time immunoquantitative-PCR [J]. Toxins, 2014,16(12):3223.
- [39] GUO X D, WEN F, ZHENG N, et al. Development of an ultrasensitive aptasensor for the detection of aflatoxin B1 [J]. Biosens Bioelectron, 2014,56:340.
- [40] 颜小飞,汪懋华,温新华,等. 免疫磁分离技术结合阻抗测量法快速检测禽流感病毒 [J]. 分析化学, 2013,41(6):817.
- [41] WU X M, HU J, ZHU B H, et al. Aptamer-targeted magnetic nanospheres as a solid-phase extraction sorbent for determination of ochratoxin A in food samples [J]. Journal of Chromatography A, 2011,1218(41):7341.



引用格式:许春平,王充,李萌姗,等.不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分的主成分分析[J].轻工学报,2017,32(2):48-57.

中图分类号:TS41 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.008

文章编号:2096-1553(2017)02-0048-10

不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分的主成分分析

The principal component analysis on volatile components of flue-cured tobacco bud extract from different producing areas

许春平¹,王充¹,李萌姗¹,马扩彦²,曲利利¹,冉盼盼¹,
孟丹丹¹,吴彦³

XU Chun-ping¹,WANG Chong¹,LI Meng-shan¹,MA Kuo-yan²,QU Li-li¹,
RAN Pan-pan¹,MENG Dan-dan¹,WU Yan³

- 1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;
- 2. 重庆中烟工业有限责任公司 技术研发中心,重庆 400060;
- 3. 广西中烟工业有限责任公司 技术中心,广西南宁 530001

- 1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
- 2. Technical Development Center, China Tobacco Chongqing Industrial Co., Ltd., Chongqing 400060, China;
- 3. Technical Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China

摘要:采用超声水提法制备6种不同产地的烤烟花蕾浸膏,并添加进卷烟进行感官评吸,从中选取2种评吸感觉较好和1种评吸感觉较差的浸膏,采用溶剂萃取法提取其挥发性成分进行GC-MS分析和主成分分析.感官评吸结果表明,6种不同产地的烤烟花蕾浸膏对卷烟加香效果的优劣顺序为:云南文山>重庆奉节>贵州兴义>云南昭通>对样品>广西河池>湖南邵阳,其中添加了云南文山和重庆奉节烤烟花蕾浸膏的卷烟内在品质比对样品有明显提升.对云南文山、重庆奉节和湖南邵阳烤烟花蕾浸膏分别进行GC-MS分析,结果表明,其挥发性成分、种类和含量均存在较大差异.主成分分析表明,不同挥发性成分对3种浸膏的影响力不同,对3种浸膏的主成分综合得分进行排序,可得云南文山>重庆奉节>湖南邵阳,该结果与感官评吸结果一致.

关键词:
烤烟花蕾浸膏;感官评吸;挥发性成分

Key words:
flue-cured tobacco bud extract; sensory evaluation; volatile component

收稿日期:2016-02-15

基金项目:国家自然科学基金联合基金项目(U1604176)

作者简介:许春平(1977—),男,河南省焦作市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为烟草工程与生物催化.

通信作者:吴彦(1972—),男,北京市人,广西中烟工业有限责任公司副研究员,博士,主要研究方向为天然植物在烟草中的应用.

Abstract: Six flue-cured tobacco bud extract samples from different areas were prepared by ultrasonic water extraction method for sensory evaluation. The volatile components from three extract samples including two better and one worse according to sensory evaluation were selected to extract by solvent extraction method and analyzed by GC-MS and principal components analysis. The sensory evaluation results showed that the cigarette flavoring effect order of six different areas of flue-cured tobacco bud extract was: Wenshan, Yunnan > Fengjie, Chongqing > Xingyi, Guizhou > Zhaotong, Yunnan > control > Hechi, Guangxi > Shaoyang, Hunan. The internal quality of cigarette that added the extract samples from Wenshan, Yunnan and Fengjie, Chongqing were improved significantly, compared with the control. The extract samples from Wenshan, Yunnan, Fengjie, Chongqing and Shaoyang, Hunan were analyzed by GC-MS. The results showed that the volatile components, types and content of extract samples from different areas were quite different. Principal components analysis showed that the influence of extract samples from three different origins were different. The order according to score of the principal component of three extract samples was: Wenshan, Yunnan > Fengjie, Chongqing > Shaoyang, Hunan, which was coincident with the results of sensory quality.

0 引言

烟草打顶抹杈可以促进根系和叶片的生长,减少养分的消耗,同时减轻病虫害。因此,烟草在种植中除留种烟株外,都必须在适当时期对其打顶,即将花蕾及其以下叶片摘除^[1]。烟草打顶所弃的花蕾含有丰富的香气成分,是天然植物香源之一,经提取可作为极好的烟草香精香料^[2]。康武成^[3]采用多步多温逆流萃取法制备“三膏”(即白肋烟花蕾浸膏、烤烟花蕾浸膏和白肋烟浸膏),并将其应用于薄片、膨胀梗丝、混合型和烤烟型卷烟中,发现其可以增加烟气浓度,提高卷烟香味,改善吃味,减轻梗丝木质气息,对改善膨胀梗丝和薄片的色泽也有一定的效果。许春平等^[4]以白肋烟花蕾为原料,利用美拉德反应制备烟用香料,分析其挥发性成分,并对添加该香料的卷烟进行感官评价,结果表明卷烟的香气质有改善,略有花香,甜润感和细腻感增加,余味舒适。同时,许春平等^[5]对超声水提法制备烟草花蕾浸膏的工艺进行了优化,使烟草花蕾浸膏的制备产率提高,并且能够改善卷烟的香味。但迄今为止,未见有人对不同地区烤烟花蕾浸膏进行系统性对比分析。鉴于此,本文以不同产地的云烟 87 烤烟花蕾为原

料,通过超声水提法制备花蕾浸膏,并对其进行感官评价、GC-MS 分析和主成分分析,旨在考察不同产地的烟草花蕾浸膏的品质,为烟草花蕾浸膏的有效利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 花蕾样品 2014 年的贵州兴义、重庆奉节、云南文山、云南昭通、湖南邵阳、广西河池烤烟花蕾,烟草品种均为云烟 87。

1.1.2 试剂 无水硫酸钠、乙酸苯乙酯、二氯甲烷、无水乙醇,天津市富宇精细化工有限公司产;硫酸,开封市芳晶化学试剂有限公司产。以上试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器 RE100-Pro 旋转蒸发仪,大龙兴创实验仪器(北京)有限公司产;Q-100A3 旗箭粉碎机,上海冰都电器有限公司产;DPX-9082B-1 恒温培养箱,上海福玛实验设备有限公司产;PL203 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;6890/5973 气相色谱仪/质谱仪,安捷伦科技有限公司产。

1.2 原料的预处理

1.2.1 烤烟花蕾的处理 将收集得到的不同产地的云烟 87 烤烟花蕾置于 45 ℃ 烘箱中烘

干,粉碎,过 60 目筛,置于 4 ℃ 冰箱中,标记,备用.

1.2.2 烤烟花蕾浸膏的制备 称取一定量的烤烟花蕾粉末,放入锥形瓶中.按照 1 : 12 (w/v) 的料液比,加一定质量的蒸馏水,混合均匀后,置于超声清洗机中,辅助萃取 2 h,离心,取上清液.将上清液再次过滤,取滤液.滤液用 1 mol/L 的稀硫酸调节至 $pH = 3$,酸化 90 min 后再次离心,取上清液.将上清液减压蒸馏,浓缩至原体积的 1/3,然后向所得浓缩物中加入 5 倍体积的无水乙醇,静置 12 h,离心,取上清液.继续将上清液减压蒸馏至膏状,即为烤烟花蕾浸膏^[5].

1.2.3 烤烟花蕾浸膏含水率的计算 称取一定量的烤烟花蕾浸膏放入小烧杯中,称量,记为 m_1 ,然后将烧杯置于烘箱中,于 120 ℃ 下烘干 6 h,放入干燥器内冷却.待完全冷却后称重,然后再放入干燥器,2 h 后称重.若 3 次称重质量均无变化,记为 m_2 ,计算烤烟花蕾浸膏的含水率.

$$\text{花蕾浸膏含水率} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

1.2.4 GC-MS 样品的制备 采用溶剂萃取法萃取烟用浸膏中的挥发性成分^[6-7].称取 1 g 烤烟花蕾浸膏放入烧杯中,加入 50 mL 二氯甲烷,密封,置于磁力搅拌器常温搅拌 10 min,混合均匀后置于 125 mL 分液漏斗中静置 2 h,取下层萃取液加入 1 mL 浓度为 0.376 5 mg/mL 的乙酸苯乙酯溶液.将萃取液用无水硫酸钠干燥后,常温浓缩至 1 mL,过 0.22 μm 滤膜后转移至气相色谱瓶中,4 ℃ 下冷藏备用.

1.3 试验方法

1.3.1 感官评价 每个试验组称取 0.03 g 花蕾浸膏,加入 2 mL 无水乙醇稀释,均匀喷洒在某系列卷烟的 30 g 烟丝上(即 $m(\text{花蕾浸膏}) : m(\text{烟丝}) = 0.1 : 100$),进行加香^[4].按照每支烟总重(0.80 ± 0.01) g 的标准卷制样品,依据

国标要求,在温度(22 ± 2) ℃,相对湿度(60 ± 5)% 的恒温恒湿箱中平衡 24 h. 取仅喷洒乙醇的烟丝作为对照组.聘请广西中烟评吸小组进行感官评吸,评吸小组共 14 人.参照《卷烟 第四部分:感官技术要求》(GB 5606.4—2005)对卷烟样品进行感官评价分析^[8].

1.3.2 挥发性成分分析 色谱条件:HP-5MS 色谱柱($60 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm i. d} \times 0.25 \mu\text{m d. f.}$);载气为高纯氦气,进样口温度为 280 ℃,流速为 3 mL/min,分流比为 10 : 1.升温程序:起始温度 50 ℃ 保持 2 min,以 8 ℃/min 升至 200 ℃,再以 2 ℃/min 升至 280 ℃ 保持 10 min.质谱条件:接口温度 270 ℃,离子源温度 230 ℃,四极杆温度 150 ℃,离子化方式 EI,电子能量 70 eV,质量扫描范围 35 ~ 550 m/z .运用计算机检索并与 Nist11 谱库的标准质谱图对照,结合有关文献^[9],确认挥发性物质的各种化学成分,采用内标法确定主要挥发性物质的含量.

挥发性物质的含量 =

$$\frac{\text{按发性物质峰面积} \times \text{内标质量} \times 1000}{\text{内标峰面积} \times \text{花蕾浸膏的质量} \times (1 - \text{含水率})}$$

1.3.3 主成分分析 采用 IBM SPSS Statistics 21 软件对挥发性物质主成分进行分析^[10-13],根据相关系数列出相关矩阵,计算各主成分的系数及综合得分,并进行排序.根据每个产地烤烟花蕾浸膏有关成分的含量标准化值与特征根、特征向量,计算出各主成分值,并以此作出散点图.

2 结果与分析

2.1 不同产地烤烟花蕾浸膏感官品质分析

不同产地烤烟花蕾浸膏的感官评吸结果见表 1.由表 1 可以看出,添加不同产地烤烟花蕾浸膏的烟丝与对照组相比,光泽无变化,而香气、协调性、杂气、刺激性和余味均有不同程度的变化.采用 1[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与 0[#]对照组相比,香气质提高,杂气和刺激性降

低,卷烟香气更加丰富,烟气细腻.采用2[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与0[#]相比,香气质、谐调性提升明显,增加了云南文山烟香韵,烟气细腻柔和,降低了杂气和刺激性,尤其余味中甜润感增加明显,舒适干净.采用3[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与0[#]相比,香气质提升明显,增加了奉节烟焦甜香韵,烟气细腻柔和,杂气和刺激性降低,余味甜润感增加,舒适干净.采用4[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与0[#]相比,烤烟花蕾浸膏能够起到增香的作用,香气质稍有上升,刺激性稍有降低,稍有甜润感.采用5[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与0[#]相比,烤烟花蕾浸膏能够增浓烟气,香气质稍下降,杂气、刺激性增加,甜感下降.采用6[#]浸膏对空白烟丝进行加香,与

表1 不同产地烤烟花蕾浸膏的感官评吸结果

Table 1 The sensory evaluation result of flue-cured tobacco bud extract from different producing areas

编号	样品名称	光泽	香气	谐调性	杂气	刺激性	余味	平均得分
0 [#]	对照	5	28.0	5.0	10.0	17.0	22.0	87.0
1 [#]	贵州兴义	5	28.3	5.0	10.1	17.1	22.0	87.5
2 [#]	云南文山	5	28.7	5.1	10.2	17.4	22.2	88.6
3 [#]	重庆奉节	5	28.5	5.1	10.2	17.4	22.1	88.3
4 [#]	云南昭通	5	28.1	5.0	10.0	17.1	22.0	87.2
5 [#]	湖南邵阳	5	27.9	5.0	9.8	16.9	21.5	86.1
6 [#]	广西河池	5	27.9	5.0	9.9	17.0	21.8	86.6

表2 3种不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分和含量

Table 2 The volatile components and their contents of flue-cured tobacco bud extract from three different producing areas

序号	类别	化合物名称	重庆奉节	云南文山	湖南邵阳
1		2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮	0.65	0.72	10.54
2	酮类	α -紫罗兰酮	4.70	6.58	6.48
3		麦芽酚(2-甲基-3-羟基-4-吡喃酮)	—	—	11.93
		合计	5.35	7.30	28.95
4		肉桂烯	3.65	5.43	2.62
5	烯类	β -律草烯	8.01	9.83	—
6		(2Z,4E)-3,7,11-三甲基10,2,4-十二碳三烯	3.05	3.94	—

0[#]相比,香气质稍有下降,杂气稍有增加,略带花香等外加气息.综合评吸结果表明,6种不同产地烤烟花蕾浸膏对卷烟加香的效果优劣排序为:云南文山>重庆奉节>贵州兴义>云南昭通>对照>广西河池>湖南邵阳.添加了云南文山和重庆奉节烤烟花蕾浸膏的样品其内在品质比对照样品有明显提升,不仅使烟气细腻柔和,降低了杂气和刺激性,而且赋予了卷烟额外的花香,并具有独特地域特征的香韵(云南文山烟香韵和重庆奉节烟焦甜香韵).添加湖南邵阳烤烟花蕾浸膏的样品香气质稍下降,杂气、刺激性增加,口感较差.

2.2 GC-MS 分析结果

选取2种评吸感觉较好和1种评吸感觉较差的浸膏,即云南文山、重庆奉节和湖南邵阳的烤烟花蕾浸膏,进行GC-MS和主成分分析,考察其对卷烟加香产生影响的主要香味成分,结果见表2.

由表2可以看出,3种产地烤烟花蕾浸膏中,共检出挥发性成分44种,包括酮类3种、烯类5种、醛类1种、醇类5种、酯类7种、酸类6种、萜类4种、杂环类和其他13种.在相同的分析条件下,不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分和含量存在较大差异.重庆奉节烤烟花蕾浸膏的挥发性成分有34种,其中酮类2种、烯类3种、

续表 2

序号	类别	化合物名称	重庆奉节	云南文山	湖南邵阳
7		2-丙基-2-庚烯	—	4.06	—
8		α -法呢烯	—	—	1.08
	合计		14.72	23.26	3.69
9	醛类	α -2,6,6-四甲基-1-环己烯-1-丁醛	—	3.81	—
	合计		0.00	3.81	0.00
10		2,3-丁二醇	37.00	28.17	—
11		苯甲醇	0.46	1.18	0.30
12	醇类	苯乙醇	0.50	0.68	0.16
13		对羟基苯乙醇	1.51	2.22	3.31
14		1-(1-环己烯基)-乙醇	5.70	4.70	4.43
	合计		45.18	36.94	8.20
15		琥珀酸单乙酯	4.27	3.17	—
16		邻苯二甲酸二异丁酯	0.61	2.22	2.24
17	酯类	3,3,5-三甲基环己醇水杨酸酯	0.99	1.98	—
18		己二酸二辛酯	2.91	33.47	62.21
19		维生素 A 乙酸酯	7.18	4.78	—
20		邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	1.61	14.23	—
21		丁二酸单乙酯	—	2.92	—
	合计		17.58	62.77	64.45
22		2-甲基庚酸	1.85	1.77	—
23		苯乙酸	1.87	2.65	3.43
24	酸类	1-烯丙基环丙基甲酸	4.39	8.02	1.66
25		DL-苹果酸	0.40	4.24	6.19
26		肉豆蔻酸	0.40	0.50	1.93
27		硬脂酸	0.52	3.63	12.42
	合计		9.42	20.81	25.63
28		β -4,8,13-杜法三烯-1,3-二醇	4.79	4.03	10.75
29	萜类	视黄醛	1.34	2.35	4.12
30		反式石竹烯	3.95	6.88	9.14
31		香树烯	1.61	3.20	2.51
	合计		11.69	16.64	26.52
32		2,3-二氢苯并呋喃	0.39	0.50	1.59
33		噻吩	0.36	1.36	—
34		萹荝亭	1.56	14.20	3.92
35		棕榈酰胺	1.83	2.23	2.29
36	杂环类和其他	2,6-二氯苯磺酰氯	8.06	8.45	—
37		2,5-二氯硝基苯	3.74	—	—
38		3,5-二氯苯磺酰氯	5.45	—	2.70
39		乙基麦芽酚	7.09	12.63	—
40		二十烷	—	3.40	—
41		油酸酰胺	—	12.25	11.21
42		2,4-二氯硝基苯	—	8.73	—
43		2-甲氧基对苯二酚	—	—	0.12
44		1-甲基-2-苯基吡啶	—	—	0.03
	合计		28.48	63.75	21.85
	总计		132.41	235.10	179.30

醇类 5 种、酯类 6 种、酸类 6 种、萜类 4 种、杂环类和其他 8 种. 云南文山烤烟花蕾浸膏的挥发性成分有 38 种,其中酮类 2 种、烯类 4 种、醛类 1 种、醇类 5 种、酯类 7 种、酸类 6 种、萜类 4 种、杂环类和其他 9 种. 湖南邵阳烤烟花蕾浸膏的挥发性成分有 27 种,其中包括酮类 3 种、烯类 2 种、醇类 4 种、酯类 2 种、酸类 5 种、萜类 4 种、杂环类和其他 7 种. 重庆奉节和湖南邵阳的烤烟花蕾浸膏中均无醛类检出. 从表 2 还可以看出,不同产地烤烟花蕾浸膏中含有自己独特的挥发性成分:重庆奉节烤烟花蕾浸膏含有的特有挥发性成分有 2,5 - 二氯硝基苯;云南文山烤烟花蕾浸膏含有的特有挥发性成分共 5 种,有 2 - 丙基 - 2 - 庚烯、 α - 2,6,6 - 四甲基 - 1 - 环己烯 - 1 - 丁醛、丁二酸单乙酯、二十烷、2,4 - 二氯硝基苯;湖南邵阳烤烟花蕾浸膏含有

的特有挥发性成分有 4 种,包括麦芽酚(2 - 甲基 - 3 - 羟基 - 4 - 吡喃酮)、 α - 法呢烯、2 - 甲氧基对苯二酚、1 - 甲基 - 2 - 苯基吡啶.

2.3 主成分分析

利用 IBM SPSS Statistics 21 软件因子分析模块中的降维分析,对 3 种不同产地烤烟花蕾浸膏的 44 种挥发性成分分别进行主成分分析,得到主成分载荷矩阵表(见表 3)、特征值和贡献率(见表 4).

从表 3 可以看出,2,3 - 丁二醇、2 - 甲基庚酸、琥珀酸单乙酯、2,3 - 二氢苯并呋喃、苯乙酸、DL - 苹果酸、对羟基苯乙醇、肉豆蔻酸、邻苯二甲酸二异丁酯、硬脂酸、2 - 羟基 - 4 - 甲氧基二苯甲酮、棕榈酰胺、1 - (1 - 环己烯基) - 乙醇、 α - 紫罗兰酮、视黄醛、 β - 4,8,13 - 杜法三烯 - 1,3 - 二醇、 β - 律草烯、2,6 - 二氯苯磺

表 3 主成分载荷矩阵表

Table 3 Principal components load matrix

编号	指标	旋转前		旋转后	
		主成分 1	主成分 2	主成分 1	主成分 2
1	2,3 - 丁二醇	0.962	-0.273	-0.973	0.232
2	肉桂烯	0.809	0.588	-0.419	0.908
3	2 - 甲基庚酸	0.997	-0.081	-0.909	0.416
4	苯甲醇	0.673	0.739	-0.227	0.974
5	苯乙醇	0.960	0.281	-0.701	0.714
6	琥珀酸单乙酯	0.956	-0.292	-0.977	0.212
7	2,3 - 二氢苯并呋喃	-0.992	0.129	0.928	-0.371
8	噻吩	0.735	0.679	-0.310	0.951
9	苯乙酸	-0.840	0.542	0.998	0.063
10	DL - 苹果酸	-0.728	0.685	0.970	0.242
11	对羟基苯乙醇	-0.903	0.430	0.998	-0.065
12	肉豆蔻酸	-0.994	0.105	0.919	-0.394
13	邻苯二甲酸二异丁酯	-0.469	0.883	0.841	0.542
14	3,3,5 - 三甲基环己醇水杨酸酯	0.889	0.458	-0.552	0.834
15	硬脂酸	-0.955	0.296	0.978	-0.208
16	莨菪亭	0.383	0.924	0.117	0.993
17	2 - 羟基 - 4 - 甲氧基二苯甲酮	-0.999	0.052	0.897	-0.443
18	1 - 烯丙基环丙基甲酸	0.847	0.531	-0.480	0.877
19	香树烯	-0.032	0.999	0.516	0.857
20	棕榈酰胺	-0.561	0.827	0.894	0.448
21	1 - (1 - 环己烯基) - 乙醇	0.629	-0.778	-0.928	-0.372

续表 3

编号	指标	旋转前		旋转后	
		主成分 1	主成分 2	主成分 1	主成分 2
22	α -紫罗兰酮	-0.417	0.909	0.808	0.590
23	视黄醛	-0.916	0.402	0.995	-0.096
24	β -4,8,13-杜法三烯-1,3-二醇	-0.998	-0.058	0.843	-0.538
25	β -律草烯	0.992	0.128	-0.803	0.596
26	2,6-二氯苯磺酰氯	1.000	-0.005	-0.875	0.484
27	(2Z,4E)-3,7,11-三甲基 10,2,4-十二碳三烯	0.985	0.170	-0.777	0.630
28	反式石竹烯	-0.800	0.600	0.991	0.134
29	2,5-二氯硝基苯	0.460	-0.888	-0.835	-0.550
30	己二酸二辛酯	-0.833	0.554	0.997	0.077
31	3,5-二氯苯磺酰氯	-0.040	-0.999	-0.453	-0.892
32	维生素 A 乙酸酯	0.929	-0.371	-0.992	0.129
33	乙基麦芽酚	0.918	0.396	-0.608	0.794
34	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	0.624	0.782	-0.162	0.987
35	丁二酸单乙酯	0.539	0.842	-0.059	0.998
36	2-丙基-2-庚烯	0.539	0.842	-0.059	0.998
37	二十烷	0.539	0.842	-0.059	0.998
38	油酸酰胺	-0.390	0.921	0.790	0.613
39	α -2,6,6-四甲基-1-环己烯-1-丁醛	0.539	0.842	-0.059	0.998
40	2,4-二氯硝基苯	0.539	0.842	-0.059	0.998
41	α -法呢烯	-0.999	0.046	0.894	-0.448
42	麦芽酚(2-甲基-3-羟基-4-吡喃酮)	-0.999	0.046	0.894	-0.448
43	2-甲氧基对苯二酚	-0.999	0.046	0.894	-0.448
44	1-甲基-2-苯基吡啶	-0.999	0.046	0.894	-0.448

注:提取特征值大于 1 的为主成分.旋转法为具有 Kaiser 标准化的正交旋转法,旋转在 3 次迭代后获得收敛的检验值.

表 4 2 种主成分的特征值和贡献率

Table 4 Eigenvalue and contribution rate of two principal components

主成分	旋转前			旋转后		
	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	28.413	63.140	63.140	25.594	56.876	56.876
2	16.587	36.860	100.000	19.406	43.124	100.000

酰氯、反式石竹烯、己二酸二辛酯、2,5-二氯硝基苯、维生素 A 乙酸酯、 α -法呢烯、麦芽酚(2-甲基-3-羟基-4-吡喃酮)、2-甲氧基对苯二酚、1-甲基-2-苯基吡啶在主成分 1 有较高载荷(|载荷| > 0.8),说明主成分 1 主要反映上述 26 种指标的信息.肉桂烯、苯甲醇、噻吩、3,3,5-三甲基环己醇水杨酸酯、莨菪亭、1-烯丙基环丙基甲酸、香树烯、3,5-二氯苯磺酰氯、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、丁二酸单乙酯、2-丙基-2-庚烯、二十烷、 α -2,6,6-四甲基-1-环己烯-1-丁醛、2,4-二氯硝基

苯在主成分 2 中有较高载荷(|载荷| > 0.8),说明主成分 2 主要反映上述 14 种指标的信息.

由表 4 可知,主成分 1 与主成分 2 的累积贡献率达到 100.000%,因此,44 种挥发性成分,可以用主成分 1 和主成分 2 进行主成分分析.

根据 SPSS 计算因子得分、主成分得分和表 4 的数据,按下式进行计算,得出不同产地烤烟花蕾浸膏的综合得分,并进行排序^[14],结果见表 5.

$$Y = \frac{\text{旋转后主成分1特征值}}{\text{旋转后主成分1特征值} + \text{旋转后主成分2特征值}} \times \frac{\text{旋转后主成分1得分} + \frac{\text{旋转后主成分2特征值}}{\text{旋转后主成分1特征值} + \text{旋转后主成分2特征值}} \times \text{旋转后主成分2得分}}$$

由表5可以看出,重庆奉节、云南文山和湖南邵阳烤烟花蕾浸膏的主成分综合得分分别为-2.07, 1.99和-2.59。按照综合得分进行排序,可得云南文山>重庆奉节>湖南邵阳。该结果与2.1中卷烟品质感官评吸的结果一致,说

表5 3种不同地区烤烟花蕾浸膏挥发性主成分得分

Table 5 The scores of volatile principal components of flue-cured tobacco bud extract from three different producing areas 分

地区	因子1	因子2	主成分1	主成分2	综合Y
重庆奉节	-0.56	-0.24	-2.85	-1.04	-2.07
云南文山	-0.07	1.15	-0.35	5.08	1.99
湖南邵阳	0.23	-1.72	1.18	-7.56	-2.59

明感官评吸结果可靠。从表5还能够看出,主成分1对重庆奉节香味的感官评吸影响较大,而主成分2对湖南邵阳的影响较大。结合感官评价结果可知,主成分1中某些化学组分与卷烟吸食品质呈负相关。

根据表2中各个产地烤烟花蕾浸膏的挥发性成分的含量、表3中各个香味成分的载荷矩阵和表4中2种主成分的特征值,可以计算出3种产地烤烟花蕾浸膏所含的44种挥发性成分的主成分值,以主成分1为横坐标,主成分2为纵坐标作散点图见图1。

结合表5和图1可以看出:影响重庆奉节烤烟花蕾浸膏的挥发性成分主要集中在第二和第三象限,包括2,5-二氯硝基苯、1-(1-环己烯基)-乙醇、维生素A乙酸酯、2,3-丁二醇、琥珀酸单乙酯和2,6-二氯苯磺酰氯。其中2,5-二氯硝基苯为重庆奉节烤烟花蕾浸膏独有的挥发性成分,含量为3.74 mg/g。这些物质中

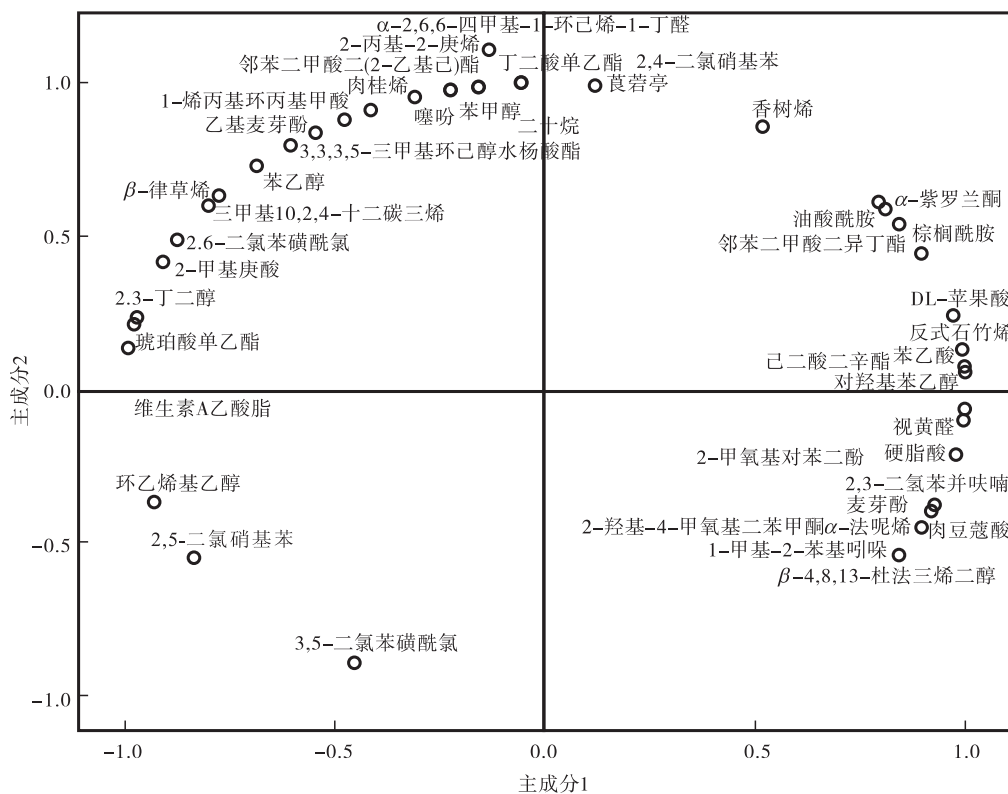


图1 44种挥发性成分的主成分散点图

Fig. 1 The main component scatter plot of 44 kinds of flavor components

维生素 A 乙酸酯是维生素 A 的酯化产物,其生理功能与维生素 A 一致,具有促进人体生长和发育等作用^[15]. 影响云南文山烤烟花蕾的挥发性成分主要集中在第一和第二象限,包括二十烷、油酸酰胺、2-丙基-2-庚烯、丁二酸单乙酯、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、莨菪亭、苯甲醇、噻吩、肉桂烯、1-烯丙基环丙基甲酸、3,3,5-三甲基环己醇水杨酸酯. 二十烷、2-丙基-2-庚烯、丁二酸单乙酯为云南文山烤烟花蕾浸膏独有的挥发性成分,其含量分别为 3.40 mg/g, 4.06 mg/g, 2.92 mg/g. 肉桂烯含量达到 5.43 mg/g, 苯甲醇为 1.18 mg/g, 噻吩为 1.36 mg/g, 尤其是莨菪亭含量达 14.20 mg/g, 是其余 2 种浸膏的 4~7 倍. 这些物质中, 莨菪亭是烟草中重要的多酚类物质, 其降解物能够赋予烟草制品优雅的香气, 增加烟草制品的香气量, 改善烟草制品的品质^[16]; 苯甲醇具有类似苯甲醛的苦杏仁气息; 噻吩是具有类似苯芳香气味的无色液体^[17]. 影响湖南邵阳烤烟花蕾浸膏的挥发性成分主要集中在第四象限, 即主成分 1 的正半轴和主成分 2 的负半轴, 包括 2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮、肉豆蔻酸、乙基麦芽酚、 α -法呢烯、2-甲氧基对苯二酚、 β -4,8,13-杜法三烯-1,3-二醇、硬脂酸、对羟基苯乙醇、视黄醛、2,3-二氢苯并呋喃. 乙基麦芽酚、 α -法呢烯、2-甲氧基对苯二酚为湖南邵阳烤烟花蕾浸膏独有的挥发性成分, 其含量分别为 11.93 mg/g, 1.08 mg/g, 0.12 mg/g. 这些物质中麦芽酚具有似焦香奶油糖的特殊香气, 其稀溶液呈草莓香味^[18]; α -法呢烯与部分乌龙茶的香气品质呈正相关关系^[15]; β -4,8,13-杜法三烯-1,3-二醇是烟草独有的二萜类物质, 具有抑菌、抗炎等作用; 视黄醛是 β -胡萝卜素的中间体, 是烟草的香味前体物质^[17].

3 结论

本研究采用超声水提法制备了 6 种不同产地的烤烟花蕾浸膏, 将其添加于烟丝中制成卷烟进行感官评吸, 从中选取 2 种评吸感觉较好和 1 种评吸感觉较差的浸膏, 采用溶剂萃取法提取其香味物质进行 GC-MS 分析和主成分分析, 得到如下结论.

1) 感官评吸结果表明, 6 种不同产地烤烟花蕾浸膏对卷烟加香效果的优劣顺序为: 云南文山 > 重庆奉节 > 贵州兴义 > 云南昭通 > 对照样品 > 广西河池 > 湖南邵阳, 其中添加了云南文山和重庆奉节烤烟花蕾浸膏的卷烟, 其内在品质比对照样品有明显提升.

2) 用 GC-MS 对重庆奉节、云南文山和湖南邵阳烤烟花蕾浸膏进行挥发性成分分析, 结果表明, 3 种产地的浸膏中, 共检出挥发性成分 44 种, 包括酮类 3 种、烯类 5 种、醛类 1 种、醇类 5 种、酯类 7 种、酸类 6 种、萜类 4 种、杂环类和其他 13 种. 在相同的分析条件下, 不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分和含量存在较大差异.

3) 主成分分析表明, 不同产地烤烟花蕾浸膏的挥发性成分存在较大差异. 其中影响重庆奉节烤烟花蕾浸膏的挥发性成分主要集中在第二和第三象限, 包括 2,5-二氯硝基苯、1-(1-环己烯基)-乙醇、维生素 A 乙酸酯、2,3-丁二醇等. 影响云南文山烤烟花蕾浸膏的挥发性成分主要集中在第一和第二象限, 包括二十烷、油酸酰胺、2-丙基-2-庚烯、丁二酸单乙酯、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯等. 影响湖南邵阳烤烟花蕾浸膏的挥发性成分主要集中在第四象限, 包括 2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮、肉豆蔻酸、乙基麦芽酚、 α -法呢烯等. 将 3 种产地的烤烟花蕾浸膏的主成分综合得分进行排序, 可得云南文山 > 重庆奉节 > 湖南邵阳. 该结果与卷烟品质感官评吸的结果一致, 说明感

官评吸结果可靠。

本试验采用主成分分析法研究了不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分的差异,找到了引起不同产地烤烟花蕾浸膏挥发性成分差异的主要化合物,对理解化合物对香气的贡献有重要的帮助。同时,主成分分析的综合得分与感官评价结果一致,可以作为感官评价的参考依据。

参考文献:

- [1] 满红. 烟草打顶抹杈技巧[J]. 新农村, 2012(1):24.
- [2] 苏贤坤, 张晓海, 廖德智. 烟草综合利用现状及其前景[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(5): 120.
- [3] 康武成. 提高烟株利用率初探[J]. 烟草科技, 1992(3):36.
- [4] 许春平, 肖源, 孙斯文, 等. 白肋烟花蕾制备烟用香料[J]. 烟草科技, 2014(11):57.
- [5] 许春平, 刘远上, 肖源, 等. 超声波水提法提取烤烟花蕾香料工艺的研究[J]. 贵州农业科学, 2014(12):209.
- [6] 郭方道, 钟科军, 黄建国, 等. 烟用香精香气成分提取方法的选择[J]. 烟草科技, 2005(12):20.
- [7] 孟鹭, 乔宇, 康旭, 等. 同时蒸馏萃取、溶剂萃取和顶空固相微萃取与 GC-MS 联用分析甜面酱的挥发性成分[J]. 中国调味品, 2011, 36(1):97.
- [8] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟 第四部分:感官技术要求:GB5606.4—2005[S]. 北京:中国标准出版社, 2005.
- [9] 王光辉, 熊少祥. 有机质谱解析[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- [10] 李小胜, 陈珍珍. 如何正确应用 SPSS 软件做主成分分析[J]. 统计研究, 2010, 27(8):105.
- [11] JOLLI I T. Principal component analysis[J]. Springerbriefs in Optimization, 2013, 16(11): 576.
- [12] 周玲. 乌龙茶香气挥发性成分及其感官性质分析[D]. 重庆:西南大学, 2006.
- [13] 唐会周, 明建. 5 种市售脐橙果实香气成分的主成分分析[J]. 食品科学, 2011(20):175.
- [14] 吴亚非, 李科. 基于 SPSS 的主成分分析法在评价体系中的应用[J]. 当代经济, 2009(3): 166.
- [15] 吕国锋, 高建荣, 黄国东, 等. 合成维生素 A 醋酸酯新工艺的研究[J]. 浙江工业大学学报, 2006, 34(6):614.
- [16] 徐晓燕, 孙五三, 王能如. 烟草多酚类化合物的合成与烟叶品质的关系[J]. 中国烟草科学, 2003, 24(1):3.
- [17] 史宏志. 烟草香味学[M]. 北京:中国农业出版社, 2011.
- [18] 穆旻, 郑福平, 孙宝国, 等. 麦芽酚和乙基麦芽酚的合成及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1):407.



引用格式:程传玲,牛婷婷,杨艳勤,等. 烘焙条件对白肋烟增香效果的影响及其评价指标考察[J]. 轻工学报,2017,32(2):58-63.

中图分类号:TS41⁺1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.009

文章编号:2096-1553(2017)02-0058-06

烘焙条件对白肋烟增香效果的影响及其评价指标考察

Influence of baking conditions on the aroma enhancement effect of burley tobacco and its evaluation index

程传玲¹,牛婷婷¹,杨艳勤²,韩明³,王建民¹

CHENG Chuan-ling¹, NIU Ting-ting¹, YANG Yan-qin², HAN Ming³, WANG Jian-min¹

1. 郑州轻工业学院 烟草科学与工程学院,河南 郑州 450001;

2. 云南中烟工业有限责任公司 曲靖卷烟厂,云南 曲靖 655001;

3. 河南中烟工业有限责任公司 安阳卷烟厂,河南 安阳 455004

1. School of Tobacco Science and Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Qujing Cigarette Factory, China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Qujing 655001, China;

3. Anyang Cigarette Factory, China Tobacco He'nan Industrial Co., Ltd., Anyang 455004, China

摘要:利用烘箱模拟白肋烟烘焙过程,以温度和时间为变量,采用响应面设计法研究了不同烘焙条件对白肋烟还原糖、总糖、烟碱和总氮等常规化学成分和碱性香味成分含量的影响,结果表明:1)随着烘焙条件变化,碱性香味成分和还原糖、总糖含量均发生显著变化,碱性香味成分含量受烘焙条件影响最大;常规化学成分中,还原糖和总糖含量的变化受烘焙条件的影响较大,烟碱和总氮含量受烘焙条件影响较小,说明烘焙条件会显著影响白肋烟烘焙增香效果. 2)烘焙后白肋烟还原糖含量与碱性香味成分含量之间存在极显著负相关关系,将“还原糖含量降低最多”作为评价白肋烟烘焙增香效果好的依据,可以优化白肋烟烘焙工艺参数、提高工作效率、降低试验成本.

关键词:

白肋烟;烘焙;碱性香味成分;还原糖

Key words:

burley tobacco; baking; alkaline aroma compounds; reducing sugar

收稿日期:2016-05-06

基金项目:河南中烟工业有限责任公司科技计划项目(HNZY052014017)

作者简介:程传玲(1977—),女,河南省南阳市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为烟草化学和烟气化学.

通信作者:王建民(1963—),男,河南省安阳市人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为卷烟工艺.

Abstract: The electric drying oven was used to simulate the baking treatment technology of burley tobacco, temperature and time were selected as independent variable, the content change of reducing sugar, the total water soluble sugars, nicotine, total nitrogen and volatile alkaline aroma compounds of burley tobacco under different roasting conditions were studied by response surface method. The results showed that: 1) With baking conditions change, the content of volatile alkaline aroma compounds, reducing sugar and the total water soluble sugars changed significantly. The changes of reducing sugar content and total water soluble sugars content were affected strongly by baking conditions, however, nicotine content and total nitrogen content were less affected, that's to say, baking conditions could affect significantly the effect on increasing aroma compounds of burley tobacco. 2) There was a significant negative correlation between reducing sugar content and volatile alkaline aroma compounds content after baking burley tobacco. Above all, that "reducing sugar content decreased the most" as evaluation standard of baking effect on increasing burley tobacco aroma compounds can optimize the burley tobacco baking process parameters, improve the work efficiency and reduce test cost.

0 引言

白肋烟是混合型卷烟的重要原料,在感官品质方面,国产多种白肋烟之间有一定的差异,这些差异部分是由其内在香味物质组成不同而引起的^[1-2]. 未经处理的白肋烟糖含量少,烟碱和总氮含量高,吃味较差,组织疏松、多孔,能够吸收大量料液,并且易干燥^[4-7]. 白肋烟在烘焙过程中部分致香成分会有所损失,而重加里料可以弥补这一弱点^[8],因此高温烘焙和重加里料是白肋烟处理的工艺特点. 烘焙温度、烘焙时间和烘后烟叶含水率是影响白肋烟处理效果的重要因素^[9]. 不同的干燥模式、干燥气流温度和干燥终端含水率对白肋烟主要致香成分都有重要影响^[10]. 为了去除白肋烟的杂气,降低其刺激性,干燥气流的干湿球温度不能过高,这有利于充分表露白肋烟的特征香气;如果干燥气流的干湿球温度过高,则会使白肋烟的特征香气减弱、吸味品质下降^[11]. 碱性香味物质是白肋烟的特征香味物质,在一定程度上可以通过白肋烟碱性香味物质的含量评价白肋烟烘焙效果,但碱性香味物质测定较为复杂,所需原料较多. 还原糖、总糖、总植物碱、总氮、氯、钾等常规化学成分,对烟草产品的质量监测与控制具有重要的意义^[12]. 白肋烟经烘焙处理的香味

物质主要是还原糖与氨基化合物发生美拉德反应产生的,且常规化学成分的测定较为简单和方便. 目前关于不同烘焙条件下白肋烟主要化学成分变化情况的研究已有较多报道^[13-15],但用一种简单的常规化学成分来表征白肋烟烘焙增香效果的方法尚鲜见报道. 本试验拟研究烘焙条件对挥发性碱性香味成分和主要常规化学成分的影响,以期找到一种简单的常规化学成分来表征白肋烟烘焙增香效果.

1 材料与amp;方法

1.1 材料和仪器

材料:白肋烟配方烟叶和料液,安阳卷烟厂提供;4-羟基苯甲酰肼,纯度98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司产;D-葡萄糖,分析纯,天津永大试剂公司产;柠檬酸,分析纯,天津致远试剂公司产;冰乙酸,分析纯,天津富宇试剂公司产;二氯甲烷,色谱纯,Dikma公司产;碱性香味物质标准曲线溶液(自制).

仪器:AB265-S型分析天平(感量:0.000 01 g),瑞士Mettler公司产;AA3连续流动分析仪,英国Seal Analytical公司产;6890-5973气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司产;DHG-9023A型电热鼓风干燥箱,上海一恒公司产.

1.2 方法

1.2.1 试验指标 进料含水率(35%~38%) \pm 1.5%,干燥终端含水率(8%~10%) \pm 2%.

1.2.2 试验方案的确定 某烟厂现行白肋烟烘焙方法采用三段式烘烤工艺,温度波动范围为105~165 $^{\circ}$ C,烟叶经过烤机时间为11 min,经过每段干燥区时间约3 min.本试验利用单个烘箱模拟烤机的干燥区,以保证烘焙温度的准确性,并选择温度、时间范围分别为105.0~165.0 $^{\circ}$ C,4.0~11.0 min.以烘焙温度(X_1)和烘焙时间(X_2)为自变量,以不同烘焙条件下不同化学成分含量为响应值,利用Minitab 15进行响应面试验设计,选取加料后未经烘焙处理的烟叶作为空白对照组.每组试验平行测定两次.

1.2.3 样品处理 对白肋烟配方烟叶进行加料处理,密封贮存(>5 h),使烟叶水分达38%左右.按照响应面设计方案对贮存烟叶进行烘焙处理,测定出料含水率,烘焙处理后烟叶经35 $^{\circ}$ C低温烘焙至干,粉碎过40目筛,保存待用.

1.2.4 不同处理条件下常规化学成分的测定

按照文献[16-18]的方法分别测定白肋烟中还原糖、总糖、总氮、烟碱含量.

1.2.5 不同处理条件下挥发性碱性香味成分的测定

将40.0 g烟末、400 mL水置于1000 mL平底烧瓶中,将60 mL CH_2Cl_2 置于100 mL梨形瓶中并加入少许沸石,分别接于同时蒸馏萃取装置的两端,同时蒸馏2.5 h.用20 mL体积分数5%的HCl洗涤3次,再用质量分数20%的NaOH调节其pH>14.用20 mL CH_2Cl_2 萃取3次,加入无水硫酸钠冷藏过夜.过滤后加入1 mL乙酸苯乙酯(0.018 9 mg/mL)为内标,60 $^{\circ}$ C水浴浓缩至1 mL,进行GC-MS分析.采用内标法进行定量分析,分析条件如下.

色谱柱:FFAP(60.0 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样量为1 μL ,进样口温度为

230 $^{\circ}$ C,分流比为1:1.程序升温:50 $^{\circ}$ C(2 min) $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 100 $^{\circ}$ C $\xrightarrow{4^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 220 $^{\circ}$ C(20 min);电离电压为70 eV,离子源温度为230 $^{\circ}$ C,扫描离子范围为33~400 amu,质谱扫描方式为选择离子监测(SIM).

2 结果与讨论

2.1 烘焙条件对常规化学成分和碱性香味成分含量的影响

表1为在响应面设计方案和不同烘焙条件下,烘焙后白肋烟常规化学成分和碱性香味成分含量的检测结果.由表1可知:由变异系数可以看出,烘焙条件对碱性香味成分含量的影响最大,然后依次是还原糖、总糖、烟碱和总氮;与对照样相比,不同烘焙条件下,烘焙后白肋烟碱性香味成分含量基本呈升高趋势,还原糖和总糖含量均呈下降趋势,烟碱和总氮含量则有升有降,无明显规律性.造成糖含量降低、香味成分含量增加的主要原因是烘焙过程中糖基化合物与氨基化合物发生美拉德反应,产生了香味物质.

表2和表3所示回归分析结果表明:烘焙条件对碱性香味成分、还原糖、总糖含量均有极显著影响,决定系数分别为0.974 0,0.810 3和0.779 8.这是因为在烘焙过程中还原糖与烟中的氨基化合物发生美拉德反应,产生了香味物质.

综上所述,烘焙前后白肋烟碱性香味成分、还原糖、总糖含量的变化不仅具有规律性,且随着烘焙条件的改变其变化程度具有高度统计学意义,因此均可作为评价白肋烟烘焙增香效果的变量.碱性香味成分是白肋烟香味物质的重要组成部分,其含量高低与感官品质密切相关,因此可视为反映白肋烟烘焙增香效果的变量;糖类物质在烘焙过程中参与美拉德反应,其含量的变化可在一定程度上说明烘焙条件对美拉德反应程度的影响.

表1 响应面设计方案和不同烘焙条件下白肋烟常规化学成分和碱性香味成分测定结果

Table 1 Response surface methodology and the results of the determination of the chemical components and basic aroma components in burley tobacco under different baking conditions %

样品序号	烘焙条件		碱性香味成分	还原糖	总糖	烟碱	总氮
	温度/°C	时间/min					
1	105.0	7.5	2.637 0	0.279 8	0.776 5	4.448 2	3.701 7
2	113.8	5.0	2.332 3	0.278 2	0.772 2	4.511 0	3.818 3
3	113.8	10.0	2.736 2	0.271 6	0.789 3	4.491 9	4.080 1
4	156.2	5.0	3.024 0	0.266 6	0.784 6	4.286 6	3.873 2
5	156.2	10.0	4.768 5	0.233 3	0.739 6	4.301 9	3.764 2
6	165.0	7.5	4.655 7	0.243 2	0.783 1	4.180 4	3.819 8
7	135.0	4.0	2.426 9	0.321 3	0.880 7	4.444 1	3.958 8
8	135.0	11.0	3.288 7	0.252 5	0.779 6	4.695 8	3.860 2
9	135.0	7.5	3.109 7	0.279 7	0.837 1	4.302 7	3.922 2
10	135.0	7.5	2.852 7	0.279 8	0.852 2	4.330 3	3.880 7
11	135.0	7.5	2.991 2	0.292 6	0.874 1	4.475 3	3.966 8
12	135.0	7.5	2.912 3	0.300 0	0.895 4	4.386 7	3.974 9
13	135.0	7.5	2.900 0	0.291 2	0.881 4	4.421 0	3.915 3
变异系数			24.040 0	8.583 1	6.424 1	2.955 1	2.552 8
对照样			2.626 1	0.340 2	0.902 0	4.558 9	3.907 8

表2 还原糖、总糖和碱性香味成分的估计回归系数汇总表

Table 2 The summarizing form of estimating regression coefficients about reducing sugar and total sugar and alkaline aroma compounds

项目	还原糖		总糖		碱性香味成分	
	系数	P	系数	P	系数	P
常量	-0.230 2	0.236 0	-1.422 6	0.109 0	17.667 9	0.000 0
温度	0.009 0	0.009 0	0.031 3	0.002 0	-0.222 4	0.000 0
时间	-0.006 9	0.003 0	0.058 3	0.074 0	-0.691 7	0.007 0
温度与温度交互作用	-0.000 0	0.006 0	-0.000 1	0.002 0	0.000 8	0.000 0
时间与时间交互作用			-0.004 5	0.044 0		
温度与时间交互作用					0.006 4	0.002 0
决定系数		0.810 3		0.779 8		0.974 0

注: $P < 0.01$ 为极显著; $0.01 < P < 0.05$ 为显著;下同.

表3 还原糖、总糖和碱性香味成分回归方程方差分析的P值表

Table 3 The P value form of anova of dual regression equation about reducing sugar and total sugar and alkaline aroma compounds

项目	还原糖	总糖	碱性香味成分
回归模型	0.001	0.010	0.000
线性	0.002	0.005	0.001
平方	0.006	0.004	0.001
还原糖与总糖交互作用			0.002
失拟	0.197	0.212	0.135

2.2 还原糖和总糖含量与碱性香味成分含量的关系

基于表1—表3数据,对不同烘焙条件下,烘焙后白肋烟还原糖、总糖与碱性香味成分含量3因素进行相关性分析,结果表明,碱性香味成分含量与还原糖含量呈极显著负相关关系(相关系数-0.789)、与总糖含量相关性不显著(相关系数-0.441).这是总糖中只有还原糖参与美拉德反应的结果.

以碱性香味成分含量为因变量、还原糖和总糖含量为自变量进行多元逐步回归分析,结果见表4—表6.

表4 方差分析表

Table 4 The form of ANOVA

模型	平方和	自由度	均方	<i>F</i>	<i>P</i>
回归	6.253	3	2.084	36.257	0.000
残差	0.517	9	0.057		
总计	6.770	12			

表5 模型回归统计

Table 5 The model regression statistics

模型	<i>R</i>	<i>R</i> ²	调整 <i>R</i> ²	标准估计的误差	Durbin-Watson
数值	0.961	0.924	0.898	0.240	2.454

表6 模型系数表

Table 6 The form of model coefficient

模型	非标准化系数		标准系数	<i>t</i>	<i>P</i>
	<i>B</i>	标准误差			
常量	43.724	7.601		5.753	0.000
还原糖	-281.487	55.411	-8.882	-5.080	0.001
还原糖与总糖交互作用	31.640	8.268	1.370	3.827	0.004
还原糖与还原糖交互作用	390.085	102.143	6.780	3.819	0.004

由表4可知,还原糖、总糖含量总体达到极显著水平.由表5可知,决定系数 *R*² 为0.924,说明根据还原糖和总糖含量能够很好地预测碱性香味成分含量,即两种糖含量可以作为评价白肋烟烘焙增香效果的指标.由表6的标准系数可知,还原糖含量对模型的贡献远大于总糖含量,因此实际应用时可以直接用还原糖含量表征白肋烟烘焙增香效果;通过对表6回归方程的系数进行分析可知,在试验温度和时间范围内,碱性香味成分含量随着还原糖含量的降低而升高,即烘焙后还原糖含量越低,美拉德反应越充分,白肋烟烘焙增香效果越好.

3 结论

本文利用烘箱模拟白肋烟烘焙过程,以温

度和时间为变量,采用响应面设计法研究了不同烘焙条件对白肋烟还原糖、总糖、烟碱和总氮等常规化学成分和碱性香味成分含量的影响,得到如下结论.

1)随着温度、时间等烘焙条件的变化,烘焙后白肋烟的碱性香味成分和还原糖、总糖含量均发生了显著变化,且烘焙条件对碱性香味成分含量的影响最大.常规化学成分中,还原糖和总糖含量的变化受烘焙条件的影响较大,烟碱和总氮含量受烘培条件影响较小;与对照样相比,白肋烟碱性香味成分含量在不同烘焙条件下烘焙后基本呈升高趋势,还原糖和总糖含量均呈下降趋势,烟碱和总氮含量变化无明显规律.这表明,烘焙条件会显著影响白肋烟烘焙增香效果.

2)不同烘焙条件下,烘焙后白肋烟的还原糖含量与碱性香味成分含量之间存在极显著负相关关系,表现为随着还原糖含量降低,碱性香味成分含量升高,即烘焙后还原糖含量越低,美拉德反应越充分,白肋烟烘焙增香效果越好.由标准化回归系数可知,还原糖含量对模型的贡献远大于总糖含量,因此实际应用时可以直接用还原糖含量表征白肋烟烘焙增香效果.将“还原糖含量降低最多”作为评价白肋烟烘焙增香效果好的依据,可以优化白肋烟烘焙工艺参数、提高工作效率、降低试验成本.

参考文献:

- [1] 于川芳,王兵,罗登山.部分国产白肋烟与津巴布韦、马拉维及美国白肋烟的分析比较[J].烟草科技,1999(4):1.
- [2] 谢剑平,赵明月,吴鸣,等.白肋烟重要香味物质组成的研究[J].烟草科技,2002(10):3.
- [3] 宋凌勇.关于白肋烟处理技术的探讨[J].广西烟草,2004(2):25.
- [4] 闫克玉,赵铭钦.烟草原料学[M].北京:科学出版社,2008:281.

- [5] DHRISTOSK A B. Casing and flavoring of blend cigarettes[J]. T A,1975(4):597.
- [6] 胡晓军,周小忠.白肋烟处理线加料系统的改进[J].浙江烟草,2004(3):44.
- [7] 王道宽,周跃飞,谢金栋.白肋烟叶片、叶丝二次加料研究[J].烟草科技,2013(1):13.
- [8] 王晓辉,段黎跃,廖春蓉.白肋烟处理工艺探讨[J].烟草科技,2001(8):10.
- [9] 卢杰英,吴金良,王加深,等.白肋烟处理前后化学成分的变化规律探讨[J].烟草科技,2000(10):3.
- [10] 陈建军.白肋烟烘焙关键工艺参数设置与加工质量[J].烟草科技,2007(6):12.
- [11] 堵劲松,王宏生,王兵,等.白肋烟加工工艺技术研究[J].烟草科技,2001(6):3.
- [12] 王芳,陈达,邵学广.近红外光谱与卷烟样品常规成分的关系模型研究[J].烟草科技,2002(5):23.
- [13] 丁乃红,言志景,查勇.干燥模式对混合型卷烟感官质量的影响[J].烟草科技,2012(7):13.
- [14] 陈子勇,朱巍,黄龙,等.白肋烟处理前后化学成分的变化及其处理工艺优化研究[J].湖北农业科学,2010,49(3):663.
- [15] 安毅,徐丽霞,杨靖,等.烘焙条件对白肋烟重要致香成分的影响[J].烟草科技,2012(10):56.
- [16] 中国国家标准化管理委员会.烟草及烟草制品水溶性糖的测定连续流动法:YC/T 159—2002[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [17] 中国国家标准化管理委员会.烟草及烟草制品总氮的测定连续流动法:YC/T 161—2002[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [18] 中国国家标准化管理委员会.烟草及烟草制品总植物碱的测定连续流动法:YC/T 160—2002[S].北京:中国标准出版社,2002.

本刊数字网络传播声明

本刊已许可万方数据资源系统、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,以及中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及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:陈海需,罗鑫,衡耀付. SJ1237 型叶丝加料机热风温度控制系统的改进[J]. 轻工学报,2017,32(2):64-70.

中图分类号:TS43;TP273 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.010

文章编号:2096-1553(2017)02-0064-07

SJ1237 型叶丝加料机 热风温度控制系统的改进

Improvement of hot-air temperature control system of SJ1237 cut tobacco casing cylinder

陈海需,罗鑫,衡耀付

CHEN Hai-xu, LUO Xin, HENG Yao-fu

关键词:

热风温度稳定性;烟叶丝加料机;过程能力指数;PLC 优化控制

黄淮学院 机电工程学院,河南 驻马店 463000

College of Mechanical and Electrical Engineering, Huanghuai University, Zhumadian 463000, China

Key words:

hot-air temperature stability; cut tobacco casing cylinder; process capability index; PLC optimal control

摘要:针对某烟厂 SJ1237 型叶丝加料机工作过程中滚筒内热风温度波动超过工艺要求问题,从改进滤网清吹系统,提高压缩空气压力,优化滤网清吹、排潮、蒸汽喷吹程序等方面,改进设计了叶丝加料机热风控制系统. 运行效果证明:改进后热风温度可控制在 $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$,热风温度过程能力指数提升至 1.96,出口水分标准偏差降为 0.13%,筒体内粘附物料量降为 1.9kg/d,可达到稳定叶丝加料机热风温度的目的.

收稿日期:2016-07-16

基金项目:国家自然科学基金项目(61404057);河南省科技攻关项目(162102110129)

作者简介:陈海需(1987—),男,河南省南阳市人,黄淮学院讲师,硕士,主要研究方向为工业自动化和机电控制.

通信作者:衡耀付(1966—),男,河南省驻马店市人,黄淮学院教授,硕士,主要研究方向为机电工程技术.

Abstract: In order to solve the problem that the hot-air temperature fluctuations of SJ1237 cut tobacco casing cylinder in certain cigarette factory is over technology assessment requirements, the hot-air temperature control system of cut tobacco casing cylinder was improved to improve the compressed air pressure, optimize screen cleaning, moisture removal and steam injection. The operation result showed that hot-air temperature (100 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, process capability index of hot-air temperature was raised to 1.96, standard deviation of outlet water was decreased to 0.13%, the amount of material adhered in cylinder body reduced to 1.9 kg/d. It reached the purpose of stabilizing hot-air temperature.

0 引言

某卷烟厂于2013年引进了秦皇岛烟机有限公司的SJ1237型叶丝加料机,在工作过程中通过监测发现:叶丝加料机滚筒中热风温度在(100 ± 7) $^{\circ}\text{C}$ 范围波动,水分标准偏差0.225%,过程能力指数 $C_{pk} = 1.12$.不符合生产工艺要求的热风温度(100 ± 3) $^{\circ}\text{C}$ (三类烟),出口水分标准偏差 $< 0.16\%$,过程能力指数 $C_{pk} > 1.33$.制成品不良较多,卷烟质量不符合标准.另外,每天按5批烟(5000 kg/批)计算,加料机筒体粘附物料量约为15.7 kg/d,造成原料浪费.

王兵等^[1-2]对叶丝加料基础理论、工艺技术和生产应用进行了研究,探讨了烟叶加料过程中不同工艺模式的优劣,指出先切丝后加料有利于料液的快速吸收,提高料液利用率.刘泽等^[3-5]研究了加料工序和不同加工参数对料液施加效果的影响,提出了最优工艺参数.吴国忠^[6]对叶片加料滚筒设备的内部导流装置进行重新设计,提高了加料过程的料液有效利用率和加料均匀性.王聪慧等^[7]研制了筒体旋转风刀自动清扫装置,解决了烟草制丝线滚筒类设备中普遍存在的筒体内粘料问题.现有文献主要对叶丝加料工艺参数和加料机自身机械结构进行了研究与设计,而针对叶丝加料机工作控制系统和滚筒内热风温度随工作参数的变化波动研究鲜见报道,鉴于此,本文拟对影响热风温度稳定性的各种控制系统进行优化,以便实际应用.

1 叶丝加料机滚筒热风温度控制过程

1.1 过程能力指数

过程能力指数 C_{pk} 也称工序能力指数:

$$C_{pk} = T / (6\sigma) - |M - \mu| / (3\sigma)$$

其中, T 为公差, M 为公差中心, μ 为分布中心, σ 为标准差.

C_{pk} 评级标准如下.

A级: $1.67 > C_{pk} \geq 1.33$,能力良好,状态稳定;B级: $1.33 > C_{pk} \geq 1.0$,状态欠稳定,生产流程因素稍有变异即有出现不良状态的危险;C级: $1.0 > C_{pk} \geq 0.67$,状态较差,生产流程中出现不良状态较多,必须提升其能力.

通常取 $C_{pk} = 1.33$ 为最小可接受值, $C_{pk} > 1.67$ 被认为过程能力充分,技术管理能力很好.

1.2 叶丝加料机热风控制系统

SJ1237叶丝加料机结构如图1所示.物料由振动输送机从右侧送入筒体内,依靠自重与筒体 3° 倾角,随着筒体旋转向出料端移动.料液和水通过控制管路,在蒸汽的引射下,由进料端喷射到筒体内的物料上,对物料进行加料和增湿.蒸汽通过蒸汽喷头喷射进循环风道内,提高热风温度,进而提高物料温度.循环风系统从进料端向筒体内吹热气,提高物料温度,同时达到减少筒体粘料的目的.热风风机通过变频调速可调整循环风量,通过热风门开度调剂冷热风配比.排潮风机通过排潮管道,不断从筒内抽走少量的空气,使筒内形成负压,以免雾化的料液及蒸汽外溢.通过调节排潮阀的开度,可以方

便调整筒内的排潮风量。

2 叶丝加料机热风湿度控制系统存在问题与改进

2.1 改进滤网清吹系统

SJ1237 型叶丝加料机使用蒸汽清吹热风滤网,清吹时造成叶丝出口水分增大 2% 以上;同时蒸汽喷口带出的大量水滴将热风滤网打湿后,与滤网上烟末混合成糊状烟末泥堵塞网孔。

生产中监测到的生产时间与热风温度关系如图 2 所示.由图 2 可以看出,连续生产时间与热风温度近似为线性关系,说明系统即使在 PID 闭环控制下,还会因滤网堵塞造成生产时间愈长、热风温度越高的问题,高于给定温度近 10 ℃。

试验发现,使用压缩空气替换原来的蒸汽进行滤网清吹(系统改进见图 3),同时调整 PLC 控制程序,在自动运行状态下,加料机预热

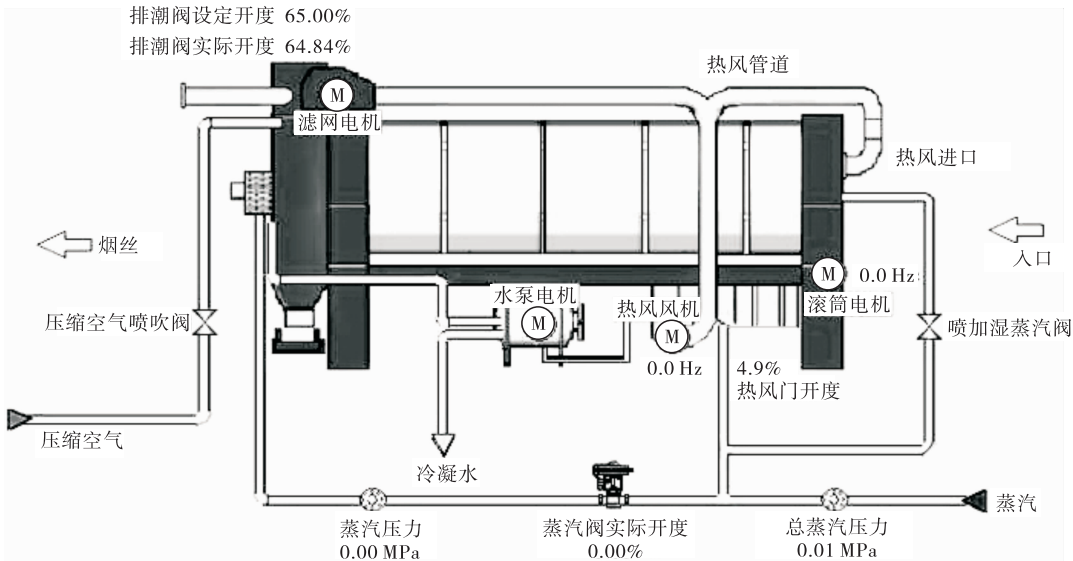


图 1 烟叶丝加料机结构示意图

Fig. 1 Structure diagram of cut tobacco casing cylinder

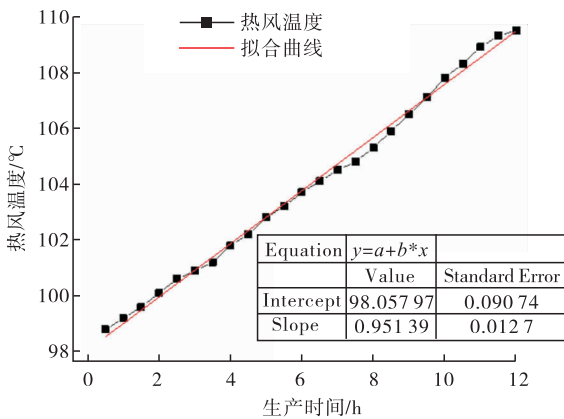
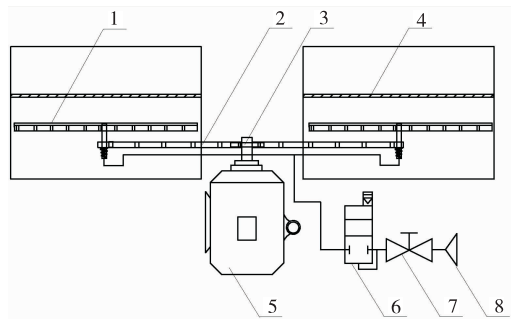


图 2 连续生产时间与热风温度的关系

Fig. 2 Relationship between hot-air temperature and production time



1. 旋转喷嘴 2. 链条 3. 驱动齿轮 4. 滤网
5. 电机 6. 电磁阀 7. 截止阀 8. 压缩空气阀

图 3 滤网清吹系统改进示意图

Fig. 3 The sketch map of filter cleaning improvement

完成清吹需时 10 s; 生产中过料时每间隔 20 min 进行 10 s 清吹; 生产结束时, 清吹 10 s, 可以保持热风滤网清洁, 系统程序优化见图 4.

2.2 提高压缩空气工作压力

SJ1237 型叶丝加料机利用热交换器的冷热风配比阀门进行热风温度恒定控制. 生产过程中, 当热风门开度显示为“0”时, 冷风风门应全部打开, 实际配比阀门的开度调节范围为 0% ~ 25%, 仅为设计值的 1/4 (见图 5). 调查发现, 即使冷热风配比阀门完好, 但由于冷热风阀门伺服气缸工作压缩空气压力小, 动能不足, 不能按比例有效带动风门挡板自动运行, 使挡板无法达到相应位置, 造成热风温度由 111 ℃ 下调至给定值 100 ℃ 时, 用时长达 10 min.

针对上述情况, 将冷热风阀门伺服气缸的压缩空气工作压力由原来 0.05 MPa 提高到 0.1 MPa, 并对风门控制程序进行优化. 改进后,

风门挡板可按自控要求实现 0% ~ 100% 的有效控制, 热风温度由 111 ℃ 降至设定值 100 ℃ 时, 仅需时 3.7 min.

2.3 优化预热、排潮并行模式

现有排潮控制模式是排潮电机在预热时不运行、生产线启动后才开始运行, 由此造成叶丝加料滚筒出口端有蒸汽外溢, 冷凝水在出口振槽聚集, 粘附叶丝形成湿团, 筒体粘附量多; 另一方面, 预热时热风回风风门处于关闭状态, 热风不能形成回路, 滚筒预热不充分, 出口端温度达不到工艺要求的预热温度, 导致热风回风温度波动.

利用 PLC 优化预热、排潮并行模式 (部分程序见图 6), 在叶丝加料机预热时同时打开排潮电机和回风风门, 对滚筒出口端提前预热, 杜绝蒸汽外溢, 使热风循环风道温度同步上升并达到恒定.

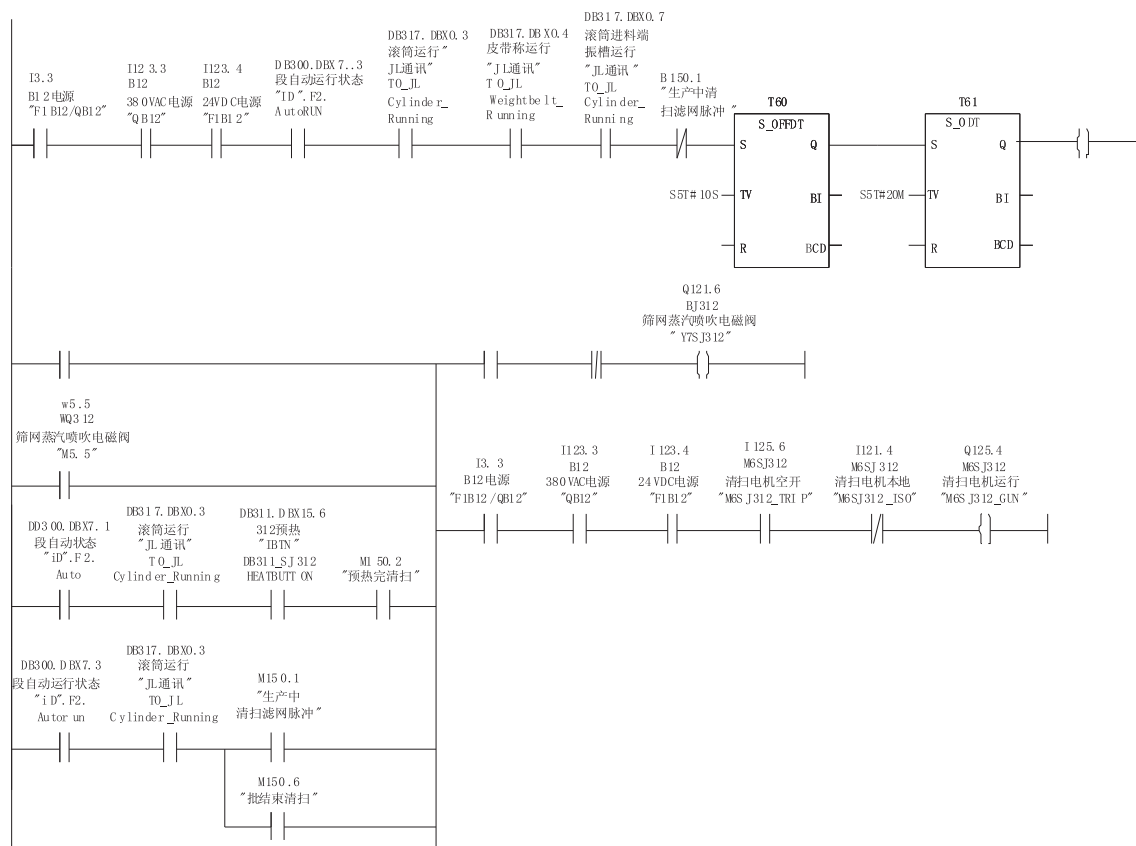


图 4 滤网清吹系统程序优化

Fig. 4 Filter gauze cleaning program optimization

2.4 优化蒸汽喷吹程序

SJ1237 叶丝加料机在检测到入口电子皮带秤有料信号后,延时 2 min 开启补偿蒸汽,造成预热时热风管道喷吹蒸汽疏水阀未打开,蒸汽含水量大且热焓值低.此时,对物料喷吹蒸汽后造成物料进口热风温度大幅下降,降幅达 7 ℃ 以上,热风温度波动较大,如图 7 所示.

改进措施:加料机滚筒预热时,打开热风管道的喷吹蒸汽阀,10 min 后打开喷吹蒸汽疏水阀开始疏水,使蒸汽阀开度和工作压力与正常生

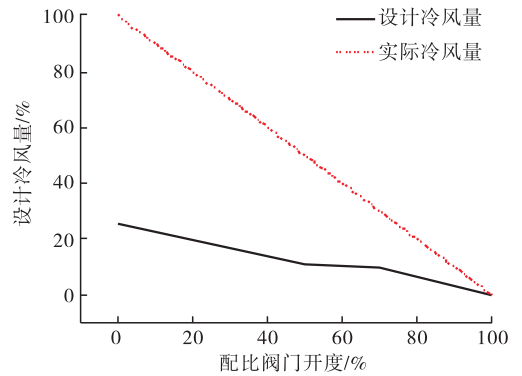


图 5 热风门开度调节范围

Fig. 5 Opening range of the hot-air valve

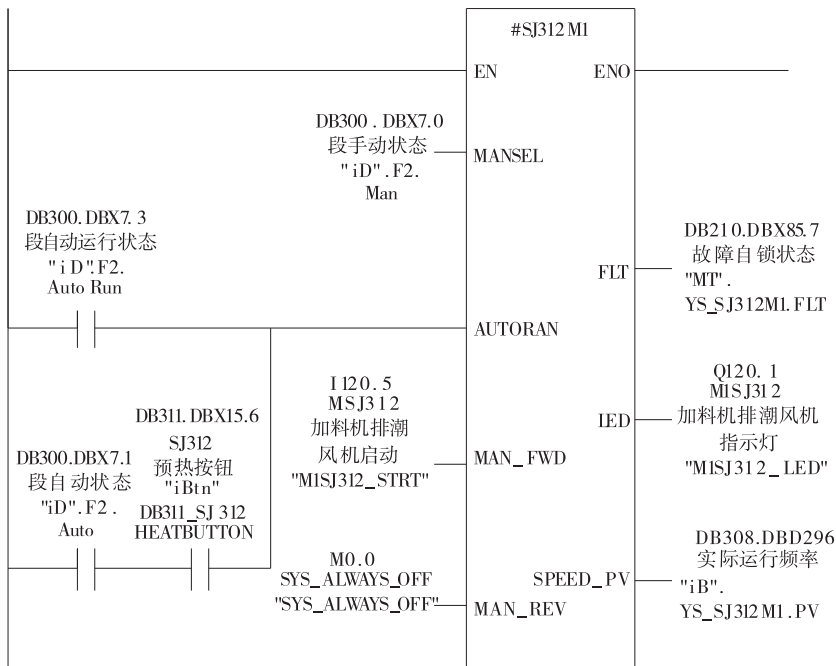


图 6 经优化的预热、排潮并行模式部分程序

Fig. 6 Part program of optimized preheating and moisture removal parallel mode

产时一致,生产结束加料入口秤流量降至 200 kg/h 时,关闭热风管道的喷吹蒸汽阀,同时用气动薄膜调节阀代替气动球阀控制蒸汽开启(见图 8).

3 改进效果

以上改进措施实施后,随机抽取改进前后 25 个批次的加料机热风温度样本进行对比分析:改进前热风温度波动幅度达 12 ℃,改进后降为 2 ℃,如图 9 所示.由此说明加料机滚筒内

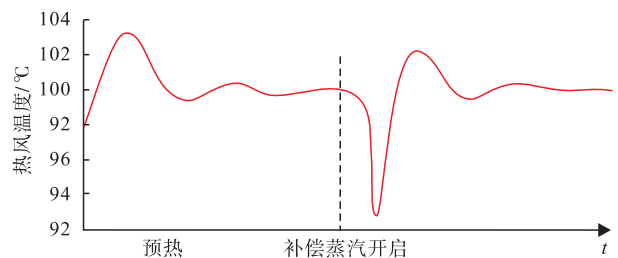


图 7 补偿蒸汽开启时热风温度变化图

Fig. 7 The hot-air temperature variation during steam compensating

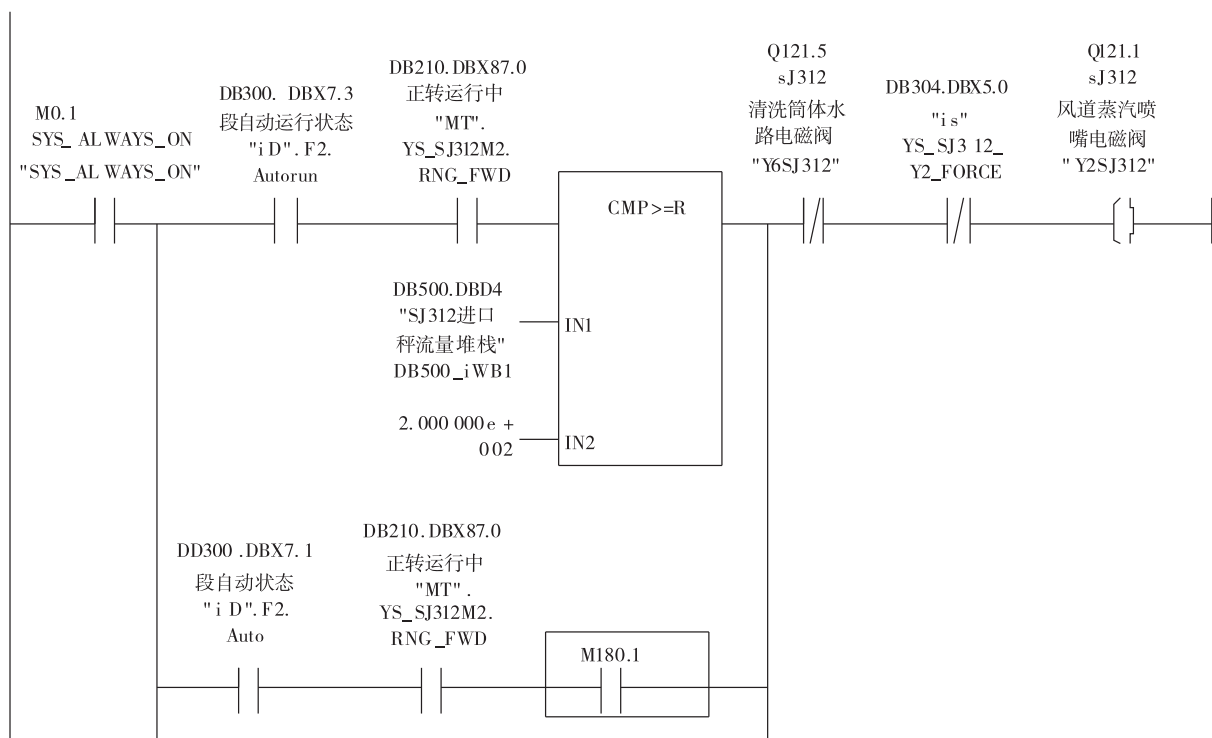


图 8 蒸汽喷吹程序优化

Fig. 8 Program optimization of the steam injection mode

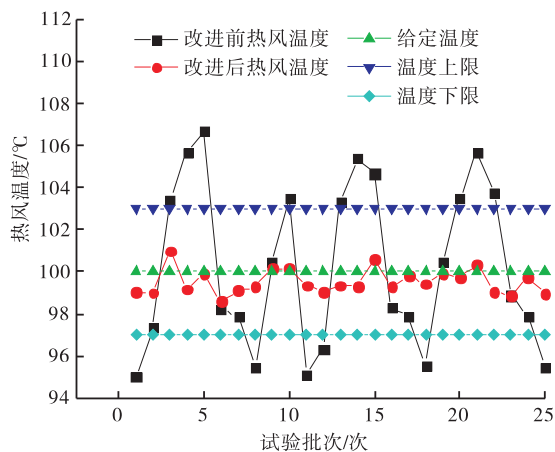


图 9 改进前后热风温度稳定性对比

Fig. 9 Hot-air temperature stability comparison before and after improvement

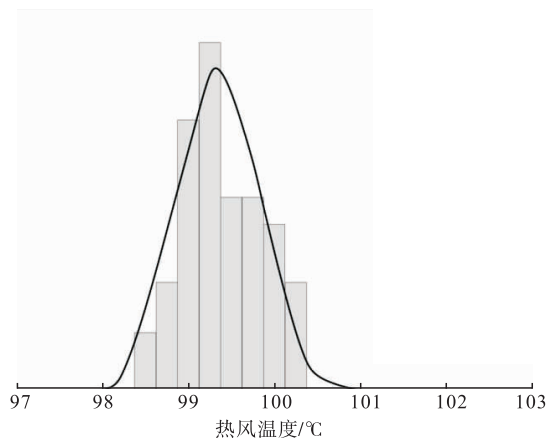


图 10 改进后热风温度过程能力检验结果

Fig. 10 Hot-air temperature process capability test results after improvement

水分失控、气流不畅是导致温度不稳定的主要因素. 控制措施得当使得热风温度过程能力大幅提升, 其检验结果见图 10. 经计算, 热风温度样本均值为 99.40 °C, 过程能力指数 C_{pk} 由改进

前的 1.12 升至改进后的 1.96, 达到 A+ 标准, 证明过程能力充分, 技术管理能力很好. 同时, 由系统测得改进后叶丝加料出口水分标准偏差降为 0.13%, 筒体粘附物料量降至 1.9 kg/d.

4 结论

针对 SJ1237 型叶丝加料机热风温度波动超过工艺要求的问题,提出以下优化措施:

- 1) 利用压缩空气清吹滤网,生产中每隔 20 min 进行 10 s 清吹;
- 2) 压缩空气工作压力提高到 0.1 MPa,实现风门开度 0% ~ 100% 有效控制;
- 3) 预热时同时启动排潮电机和回风风门,对滚筒出口端提前预热;
- 4) 预热时打开喷吹蒸汽阀,10 min 后打开疏水阀开始疏水,使蒸汽阀开度和工作压力与正常生产时一致. 运行效果表明,改进后该系统可使热风温度控制在 (100 ± 2) °C 范围内(三类烟), C_{pk} 提升至 1.96,出口水分标准偏差降为 0.13%,筒体粘附物料量降至 1.9 kg/d,改善效果明显.

参考文献:

- [1] 王兵,姚光明. 卷烟叶丝加料工艺[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2013.
- [2] 温若愚,赵维一,曾建,等. 卷烟叶丝加料工艺创新模式的探讨[J]. 河北农业科学,2010,14(1):68.
- [3] 刘泽,何邦华,陈林,等. 基于料液施加效果的加料工序关键工艺参数优化[J]. 烟草科技,2015(4):71.
- [4] 熊安言,于建春,王二彬. 叶丝加料工艺参数对加料效果的影响[J]. 烟草科技,2016(1):66.
- [5] 许峰,叶鸿宇,张建中,等. 叶丝加料效果影响研究[J]. 烟草科技,2014(10):5.
- [6] 吴国忠. 叶丝加料机内部导流装置的研究及应用[J]. 装备制造技术,2014(8):159.
- [7] 王聪慧,张玉和,任谦,等. 筒体旋转风刀自动清扫装置的研制与应用[J]. 烟草科技,2014(7):24.
- [8] 方敏,徐有宁,丛璐. 烟气脱硫工程中脱硫率、烟气温度稳定性控制的分析及解决方法[J]. 沈阳工程学院学报(自然科学版),2009,25(2):122.
- [9] 李复. 月费托合成反应器温度稳定性控制研究[J]. 计算机仿真,2016,33(2):290.
- [10] 陈鹿民,谭跃奎,黄俊. 基于有限元方法的纵切机床自适应同步回转导套机构的优化设计[J]. 轻工学报,2016,31(3):57.



引用格式:高海丽,何里烈,张勇,等.不同制备方法对 Pt/石墨烯电催化性能的影响[J].轻工学报,2017,32(2):71-77.

中图分类号:O643 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.011

文章编号:2096-1553(2017)02-0071-07

不同制备方法对 Pt/石墨烯电催化性能的影响

Effects of different preparation methods on the electro-catalytic performance of Pt/Graphene

高海丽,何里烈,张勇,张胜利,夏同驰,王昊

GAO Hai-li, HE Li-lie, ZHANG Yong, ZHANG Sheng-li, XIA Tong-chi, WANG Hao

关键词:

Pt/石墨烯;有机溶胶法;硼氢化钠还原法;甲醇氧化;电催化活性

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:

Pt/Graphene; organic sol method; sodium borohydride reduction method; methanol oxidation; electro-catalytic activity

摘要:以氧化石墨为载体前驱体,聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为络合剂,分别采用有机溶胶法和硼氢化钠还原法同时还原氧化石墨烯和氯铂酸制备 Pt/石墨烯(分别简称为 Pt/Gr-OS 和 Pt/Gr-SR).利用 TEM 和 XRD 对所制备催化剂的形貌、粒径大小、粒径分布进行表征和分析,并采用循环伏安法和计时电流法对催化剂的电催化性能进行测试.结果表明,与 Pt/C 催化剂相比,采用上述两种制备方法得到的 Pt/Gr 催化剂分散性都较高,且 Pt/Gr-OS 的分散性优于 Pt/Gr-SR;Pt/Gr-OS 具有较小的粒径、较大的电催化活性比表面积,对甲醇氧化具有较高的电催化性能,分别是 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 1.7 倍和 3.8 倍,且具有较高的稳定性.

收稿日期:2016-04-23

基金项目:国家自然科学基金项目(U1404201);河南省高校科技创新团队支持计划项目(16IRTSTHN016);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(2013XGGJS007);郑州轻工业学院研究生科技创新基金项目(2015002);郑州轻工业学院大学生科技活动资助项目(2016014)

作者简介:高海丽(1981—),女,河南省周口市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为新能源材料与电催化.

Abstract: Pt/Gr catalysts were prepared via both organic sol method and sodium borohydride reduction method (denoted as Pt/Gr-OS and Pt/Gr-SR, respectively) with graphene oxide (GO) as carrier precursor and chloroplatinic acid with polyvinyl pyrrolidone (PVP) as complexing agent. TEM and XRD were used to characterize the morphology, particle size, and size distribution, and the electro-catalytic performance of the catalysts for methanol oxidation was also investigated by means of cyclic voltammetry and chronoamperometry. The results showed that compared with Pt/C, the Pt/Gr catalysts obtained by using both of the methods had high dispersion and Pt/Gr-OS had higher dispersion than Pt/Gr-SR; Pt/Gr-OS had smaller particle size, larger electrochemical activity specific surface area, and higher electro-catalytic performance on methanol oxidation. The electro-catalytic performance of Pt/Gr-OS was 1.7 and 3.8 times as those of Pt/Gr-SR and Pt/C catalysts, respectively. In addition, Pt/Gr-OS had higher stability than Pt/Gr-SR and Pt/C.

0 引言

直接甲醇燃料电池(DMFCs)具有能量转换效率高、操作温度低、携带方便、结构简单、燃料来源丰富等优点^[1],近年来备受关注,成为燃料电池研究的方向和热点之一.金属Pt以其优异的催化性能,成为DMFCs阴、阳极催化剂最常用的活性组分,但由于Pt资源稀少、价格高昂,在一定程度上阻碍了DMFCs的商业化进程.因此,减小催化剂粒径、提高其分散性和降低催化剂中Pt载量是目前催化剂研究的重要目标.

载体材料对于催化剂的形貌、粒径分布、粒径大小等有重要影响,所以新型载体的开发是目前研究的热点.除了常见的活性炭载体外,近年来石墨烯以其高导电性、大比表面积等优点^[2],成为燃料电池催化剂的优良载体.目前,研究人员已使用多种方法来制备石墨烯负载Pt基催化剂.笔者在前期研究工作中,采用柠檬酸钠做络合剂,在乙二醇中同时还原 H_2PtCl_6 和氧化石墨烯,制备了Pt/RGO催化剂^[3].Pt/RGO对甲醇氧化的电催化活性和稳定性高于Pt/C和Pt/CNT.H. Q. Ji等^[4]采用电沉积法制备了还原氧化石墨烯负载PdPt催化剂,其在碱性介质中对甲醇氧化有很好的电催化性能.C. C. Kung等^[5]使用硼氢化物还原法制备了

PtRu/3D-Gr,该催化剂对甲醇氧化有优异的催化性能和抗中毒能力.Z. X. Yan等^[6]使用间歇微波加热法制备了碗状石墨烯负载Pt催化剂,其对甲醇氧化的电催化活性和稳定性高于Pt/C.

综上所述,目前可以用来制备Pt/石墨烯(Pt/Gr)的方法很多,但是关于制备方法对Pt/Gr催化剂本身性能的影响之研究报道很少,尤其是有机溶胶法和硼氢化钠还原法对制备的Pt/Gr催化剂的粒径大小、粒径分布、电催化性能等的影响鲜有报道.本文拟以氧化石墨为载体前驱体,以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为络合剂,分别采用有机溶胶法和硼氢化钠还原法制备Pt/Gr催化剂,通过分析所制催化剂对甲醇氧化电催化性能的影响,确定催化剂的适宜制备方法,以期得到高性能的Pt/Gr催化剂.

1 材料与方法

1.1 材料与设备

主要材料:乙二醇、PVP、KOH、无水甲醇、 $NaNO_3$ 和 H_2O_2 ,天津市风船化学试剂科技有限公司产;氯铂酸,沈阳市金科试剂厂产;浓 H_2SO_4 ,洛阳市化学试剂厂产;硼氢化钠, $KMnO_4$,天津市北辰化学试剂有限公司产.所用试剂均为分析纯.Vulcan XC-72碳粉(比表面积 $247\text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$),美国卡博特公司产;石墨粉(纯度99.9%),青岛恒胜石墨有限公司产.

主要设备:CHI604E 电化学工作站,上海辰华仪器厂;DHG 型鼓风干燥箱,生元仪器有限公司;DZF 型真空干燥箱,北京市永明医疗仪器厂;SHZ-D(Ⅲ) 循环水式真空泵型,巩义市英峪予华仪器厂;KQ-50B 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;TG16-WS 型湘仪离心机,成都英希科技有限公司;AL204 型电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 催化剂制备

氧化石墨的制备:氧化石墨的制备与笔者前期工作^[3]中制备氧化石墨的方法相同。所得产物进行冷冻干燥,得到氧化石墨样品。

Pt/Gr 催化剂采用以下两种方法制备。

1) 有机溶胶法制备 Pt/Gr 催化剂:称取 200 mg 氧化石墨放入圆底烧瓶中,然后加入 30 mL 乙二醇,超声均匀后加入适量 PVP,搅拌均匀;向溶液中加入 $0.0386 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯铂酸-乙二醇溶液,然后用 KOH-乙二醇溶液调节反应液使其 $\text{pH} > 10$,于 $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 6 h 后,进行洗涤抽滤;最后将产物冷冻干燥 24 h,得到 Pt/Gr 催化剂,标记为 Pt/Gr-OS。

2) 硼氢化钠还原法制备 Pt/Gr 催化剂:称取 200 mg 氧化石墨放入烧杯中,加入 30 mL 蒸馏水,超声分散均匀,然后向其中加入适量 PVP,搅拌均匀后向溶液中加入 $0.0386 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯铂酸-乙二醇溶液;接着滴加适量新鲜配置的硼氢化钠水溶液,常温下反应 12 h;待反应完全后,进行洗涤抽滤,直到无 Cl^- 为止;最后将产物冷冻干燥 24 h,得到 Pt/Gr 催化剂,标记为 Pt/Gr-SR。

对比样品 Pt/C 催化剂的制备:以碳粉为载体,采用硼氢化钠还原法制备质量分数为 20% 的 Pt/C 催化剂。

1.3 催化剂表征

XRD 测试:采用 $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 0.15406 \text{ nm}$) 辐射,扫描范围 $2\theta = 5^\circ \sim 80^\circ$,扫描速度 $4^\circ/\text{min}$ 。

样品的形貌和粒径观察在 TEM 上进行,测试电压为 200 kV。样品制备方法:将少量催化剂超声分散到无水乙醇中,然后将悬浮液滴到铜网上,接着在红外灯下烘干。用电感耦合等离子体质谱仪进行催化剂组成测试:称取 1 mg 催化剂溶于 10 mL 的王水中,然后用去离子水将溶液稀释到 0.01 mg/mL 进行 Pt 的含量测试。

1.4 电催化性能评价

电催化性能测试在电化学工作站上进行:称取 2 mg 催化剂样品,分散于 1 mL Nafion 溶液中,然后放入超声波清洗器,使其分散均匀。接着用微型取样器移取 $6 \mu\text{L}$ 溶液,涂在玻碳电极表面,将其在室温下晾干作为测试的研究电极。以铂丝电极作为辅助电极,将 Ag/AgCl 电极作为测试的参比电极。在自始至终通入 N_2 的条件下,在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CH_3OH 和 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2SO_4 溶液中测试催化剂对于甲醇氧化的电催化活性。电催化性能测试在室温条件下进行,扫描的电位范围是 $-0.2 \sim 1.0 \text{ V}$,扫描速度为 $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 3 种催化剂的 XRD 分析

图 1 为 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 这 3 种催化剂的 XRD 图。由图 1 可以看出,相比较氧化石墨在 10° 左右的衍射峰, Pt/Gr-OS 和 Pt/Gr-SR 催化剂在 $2\theta = 24^\circ$ 出现了一个宽衍射峰,与文献^[7]报道一致,说明氧化石墨已被还原成石墨烯^[8]。Pt/C 催化剂在 $2\theta = 24.5^\circ$ 有一个明显的 C(002) 衍射峰。3 种催化剂在 2θ 为 $39.7^\circ, 46.5^\circ, 67.7^\circ$ 和 81.1° 处均出现面心立方 (fcc) Pt 的 (111), (200), (220) 和 (311) 衍射峰,说明氯铂酸已被还原成 Pt。与 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 相比, Pt/Gr-OS 的 Pt 衍射峰明显宽化,说明 Pt/Gr-OS 的粒径较小、分散性较高。根据 Pt(220) 衍射峰,用谢乐公式^[8]可以计算出催化

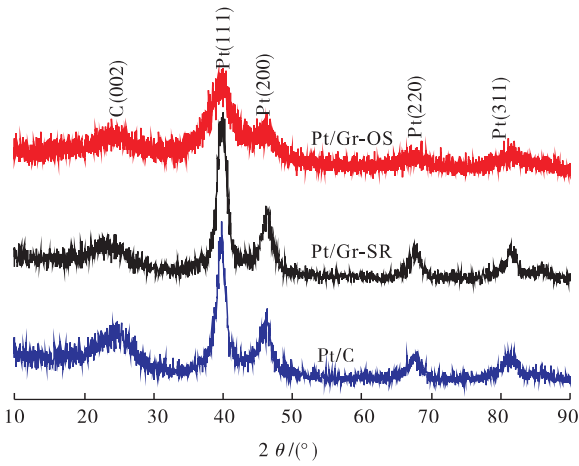


图1 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 XRD 图
Fig. 1 XRD patterns of Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR and Pt/C catalysts

剂的晶粒大小. Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的平均粒径分别为 2.1 nm, 2.4 nm 和 2.9 nm. 由以上内容可知, 采用有机溶胶法和硼氢化钠还原法都可以同时还原氧化石墨烯和氯铂酸制备 Pt/Gr 催化剂, 但是采用有机溶胶法

制备的催化剂粒径小于硼氢化钠还原法制备的催化剂. 另外, 对比 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 可以看出, 采用同样方法制备的 Pt/C 和 Pt/Gr, 以石墨烯作载体的 Pt 催化剂的粒径和分散性均小于以碳作载体的 Pt 催化剂, 这是由石墨烯的高比表面积与石墨烯和 Pt 的强相互作用引起的^[9]. 由此推断采用有机溶胶法制备的 Pt/Gr 催化剂将具有较高的电催化性能.

2.2 3 种催化剂的 TEM 分析

图2为 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 TEM 图和相应的粒径分布图. 从图 2a) 和图 2b) 可以看出, Pt/Gr-OS 和 Pt/Gr-SR 中 Pt 纳米粒子都可以均匀地分散在石墨烯表面, 且以石墨烯为载体的 Pt 催化剂的分散性明显高于以碳为载体的催化剂, 这是由于 Pt 纳米粒子和石墨烯载体间具有较强的相互作用^[9], 而这种强相互作用会影响 Pt 的催化性能. 从图 2d) —f) 中可以看出, Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化

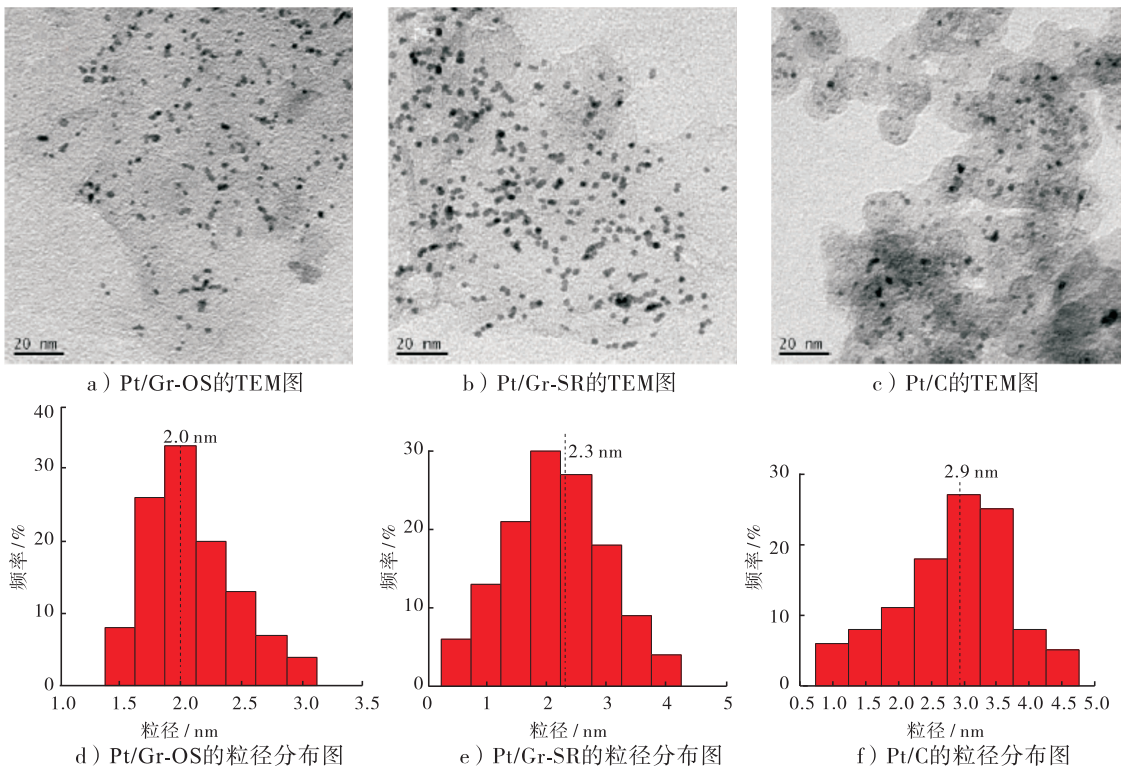


图2 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 TEM 图和相应的粒径分布图

Fig. 2 TEM images of Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR and Pt/C, and the corresponding particle size distribution

剂的平均粒径分别为 2.0 nm, 2.3 nm 和 2.9 nm, 与 XRD 分析计算的结果几乎一致。

采用 ICP-MS 测试了 3 种催化剂中的 Pt 含量, 得到 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的实际 Pt 负载量分别为 18.7%, 18.3% 和 19.6%, 与理论值相符。

2.3 3 种催化剂的电催化性能分析

图 3 为 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液中的循环伏安图。3 种催化剂在电位 $-0.20 \sim 0.11 \text{ V}$ 范围内均出现明显的氢吸脱附峰, 其峰值大小分别为 $0.071 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, $0.054 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $0.032 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, 其中, Pt/Gr-OS 的氢吸脱附峰值最大, Pt/C 的氢吸脱附峰值最小。根据下式可计算出催化剂的电化学活性表面积^[10]:

$$ECSA = \frac{Q_H}{0.21 \times m_{\text{Pt}}}$$

式中, Q_H 为所测得的氢的脱附峰面积 ($\text{mC} \cdot \text{cm}^{-2}$), m_{Pt} 是负载到电极表面催化剂的质量/g。由上式计算出 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 的 ECSA 值分别为 $169.5 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, $116.7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $75.0 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 。可见, 3 种催化剂的电化学活性表面积的大小顺序为 Pt/Gr-

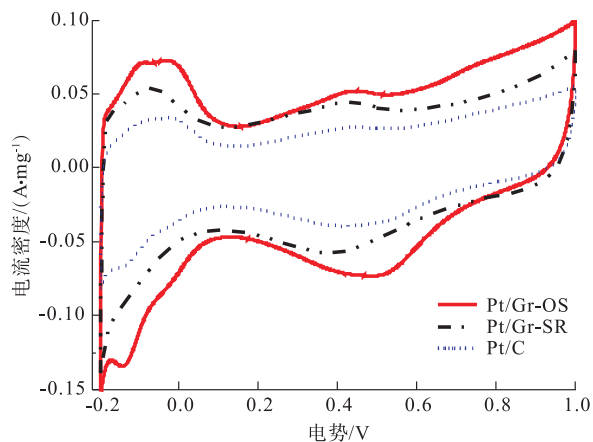


图 3 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液中循环伏安图

Fig. 3 Cyclic voltammograms of Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR and Pt/C catalysts in $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ solution

OS > Pt/Gr-SR > Pt/C。其中 Pt/Gr-OS 的 ECSA 值最大, 分别是 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 的 1.5 倍和 2.3 倍。这是由采用有机溶胶法制备的 Pt/Gr 具有最小的粒径和较好的分散性所致。而 ECSA 值与催化剂的电催化活性有关, 其值越大表明催化剂的电催化活性越高, 由此推断 3 种催化剂的电催化活性顺序是 Pt/Gr-OS > Pt/Gr-SR > Pt/C。

图 4 为 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4 + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CH}_3\text{OH}$ 溶液中的循环伏安图。从图 4 可以看出, 3 种催化剂在 0.65 V 左右均出现较强的正扫峰 (I_f), 在 0.5 V 左右出现反扫峰 (I_b)。一般认为, I_f 是甲醇氧化峰, 而 I_b 是中间产物 CO_{ad} 氧化峰^[11]。Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 I_f 值分别为 $0.38 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, $0.22 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $0.10 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, 其中 Pt/Gr-OS 催化剂对甲醇氧化峰的峰电流最大, 分别是 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 1.7 倍和 3.8 倍, 因此 Pt/Gr-OS 催化剂对甲醇氧化的电催化活性较高。另外, Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和

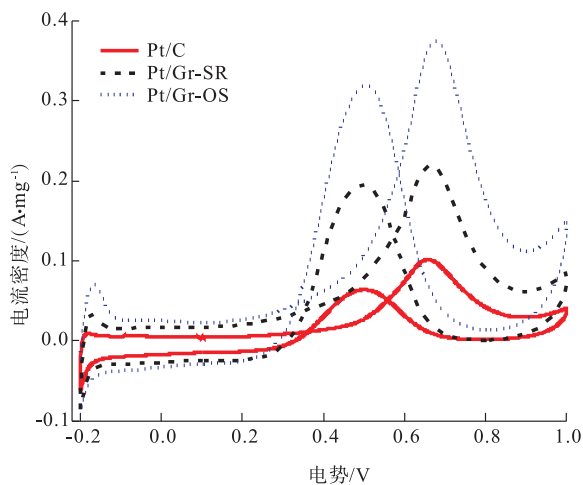


图 4 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4 + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CH}_3\text{OH}$ 溶液中的循环伏安图

Fig. 4 Cyclic voltammograms of Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR and Pt/C catalysts in $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CH}_3\text{OH} + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ solution

Pt/C 催化剂对甲醇氧化电催化的起始电位分别为 0.15 V, 0.17 V 和 0.20 V. 与 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂相比, Pt/Gr-OS 催化剂对甲醇氧化的起始电位分别负移了 20 mV 和 50 mV, 表明 Pt/Gr-OS 催化剂对甲醇氧化具有较高的电催化性能. 3 种催化剂对甲醇氧化的电催化活性的大小顺序为 Pt/Gr-OS > Pt/Gr-SR > Pt/C, 与其 ECSA 值顺序一致. 这是由于 Pt/Gr-OS 催化剂具有最小的粒径和较好的分散性, 能提供较多的 Pt 活性位进行甲醇氧化反应, 所以其电催化性能较好.

2.4 3 种催化剂的稳定性能分析

为了评价催化剂的稳定性, 采用计时电流法测试了催化剂在 0.6 V 条件下对甲醇氧化的计时电流曲线, 结果见图 5. 由图 5 可以看出, 测试开始阶段, Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的电流密度都急剧下降, 这是由于催化剂被甲醇氧化反应的中间产物所毒化^[12], 然后随

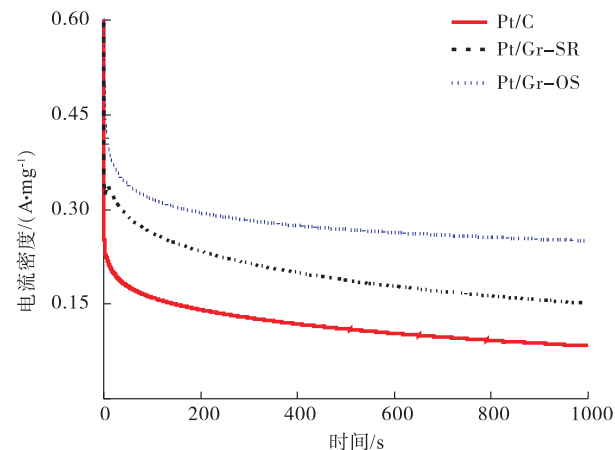


图 5 Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂
0.6 V 条件下在 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
 $\text{H}_2\text{SO}_4 + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CH}_3\text{OH}$ 溶液中
对甲醇氧化的计时电流曲线

Fig. 5 Chronoamperometry curves of methanol
oxidation on Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR and Pt/C catalysts
at 0.6 V in $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4 + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
 CH_3OH solution

着时间的延长逐渐趋于稳定. Pt/Gr-OS 催化剂在整个测试过程中的电流密度明显高于 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂. Pt/Gr-OS, Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂在 1000 s 处的稳定电流密度值分别 $0.25 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, $0.15 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $0.08 \text{ A} \cdot \text{mg}^{-1}$, 说明采用有机溶胶法制备的催化剂具有较高的稳定性, 也表明以石墨烯作载体的 Pt 催化剂稳定性高于以碳作载体的 Pt 催化剂.

3 结论

本文以氧化石墨为载体前驱体, PVP 为络合剂, 分别采用有机溶胶法和硼氢化钠还原法同时还原氧化石墨烯和氯铂酸, 成功制备了催化剂 Pt/Gr-OS 和 Pt/Gr-SR. 与作为对照的 Pt/C 催化剂相比, 采用上述两种制备方法得到的催化剂分散性都较高, 且 Pt/Gr-OS 催化剂的分散性优于 Pt/Gr-SR 催化剂; Pt/Gr-OS 催化剂具有较小的粒径、较大的电化学活性比表面积, 从而对甲醇氧化具有较高的电催化性能, 分别是 Pt/Gr-SR 和 Pt/C 催化剂的 1.7 倍和 3.8 倍, 且具有较高的稳定性. 这表明, 以 PVP 为络合剂的有机溶胶法是制备石墨烯载 Pt 催化剂的有效方法, 可减小 Pt 的粒径、提高分散性, 从而使 Pt/Gr 催化剂对甲醇氧化具有较高的电催化性能.

参考文献:

- [1] LEE Y H, LEE G, SHIM J H, et al. Monodisperse PtRu nanoalloy on carbon as a high-performance DMFC catalyst [J]. Chem Mater, 2006, 18 (18): 4209.
- [2] GEIM A K, NOVOSELOV K S. The rise of graphene [J]. Nature Mater, 2007, 6(3): 183.
- [3] 高海丽, 李小龙, 贺威, 等. 一步法制备还原态氧化石墨烯载铂纳米粒子及其对甲醇氧化的电催化性能 [J]. 物理化学学报, 2015, 31 (11): 2117.

- [4] JI H Q, LI M G, WANG Y L, et al. Electrodeposition of graphene-supported PdPt nanoparticles with enhanced electrocatalytic activity [J]. *Electrochem Commun*, 2012, 24: 17.
- [5] KUNG C C, LIN P Y, XUE Y, et al. Three dimensional graphene foam supported platinum-ruthenium bimetallic nanocatalysts for direct methanol and direct ethanol fuel cell applications [J]. *J Power Sources*, 2014, 256: 329.
- [6] YAN Z X, HE G Q, JIANG Z F, et al. Mesoporous graphene-like nanobowls as Pt electrocatalyst support for highly active and stable methanol oxidation [J]. *J Power Sources*, 2015, 284: 497.
- [7] WANG X M, LIAN J, WANG Y. The effect of Sn on platinum dispersion in Pt/graphene catalysts for the methanol oxidation reaction [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2014, 39(26): 14288.
- [8] ENSAFI A A, JAFARI-ASL M, REZAEI B. A new strategy for the synthesis of 3-D Pt nanoparticles on reduced graphene oxide through surface functionalization, application for methanol oxidation and oxygen reduction [J]. *Electrochim Acta*, 2014, 130: 397.
- [9] GEORGAKILAS V, GOURNIS D, TZITZIOS V, et al. Decorating carbon nanotubes with metal or semiconductor nanoparticles [J]. *J Mater Chem*, 2007, 17(26): 2679.
- [10] ZHOU Y K, HE B L, ZHOU W J, et al. Electrochemical capacitance of well-coated single-walled carbon nanotube with polyaniline composites [J]. *Electrochim Acta*, 2004, 49(2): 257.
- [11] PRABHURAM J, MANOHARAN R. Investigation of methanol oxidation on unsupported platinum electrodes in strong alkali and strong acid [J]. *J Power Sources*, 1998, 74(1): 54.
- [12] GAO H L, LIAO S J, LIANG Z X, et al. Anodic oxidation of ethanol on core-shell structured Ru@PtPd/C catalyst in alkaline media [J]. *J Power Sources*, 2011, 196(15): 6138.



引用格式:王培远,李韶丹,王申,等. 三维花状 NiCo_2O_4 材料的合成及其超级电容性能分析 [J]. 轻工学报,2017,32(2):78-83.

中图分类号:O631.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.012

文章编号:2096-1553(2017)02-0078-06

三维花状 NiCo_2O_4 材料的合成及其超级电容性能分析

Preparation of three dimensional flower-like NiCo_2O_4 and its supercapatance properties

王培远,李韶丹,王申,李雁楠,吴琼,孙淑敏

WANG Pei-yuan, LI Shao-dan, WANG Shen, LI Yan-nan, WU Qiong, SUN Shu-min

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

关键词:

三维花状 NiCo_2O_4 材料;超级电容;赝电容

Key words:

three dimensional flower-like NiCo_2O_4 ; supercapactor; pseudocapacitance

摘要:通过水热及后续的热处理过程合成三维花状 NiCo_2O_4 材料,利用 XRD, XPS 和 SEM 对该材料的晶型、元素构成和表面形貌进行表征,并对其超级电容性能进行分析,结果表明:1)所合成的 NiCo_2O_4 材料结晶度不高。2)含有不同价态的 Ni 和 Co 元素,存在的两个氧化还原对 $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ 和 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$ 为赝电容的产生提供了两个活性中心。3)作为超级电容器电极材料,由纳米片组成的三维花状 NiCo_2O_4 材料表现出良好的超级电容性能。

收稿日期:2016-04-22

基金项目:国家自然科学基金项目(21301159)

作者简介: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材料。

通信作者: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。

Abstract: Three dimensional flower-like NiCo₂O₄ was prepared by a hydrothermal method and annealing treatment. XRD, XPS and SEM were used to characterize the crystallization, element composition and morphology of synthesized material. The results showed that: 1) The crystallinity of the synthesized NiCo₂O₄ material was not high. 2) The material contained Ni and Co elements with different valences. The presence of the Ni²⁺/Ni³⁺ and Co²⁺/Co³⁺ provided two active centers for the generation of pseudocapacitance. 3) As supercapacitor electrode material, the three dimensional flower-like NiCo₂O₄ displayed excellent electrochemical performance.

0 引言

随着能源危机和环境污染的不断恶化,新型储能材料和储能装置的研发,可再生能源(风能、太阳能等)的高效储存与利用,成为当今的研究热点. 超级电容器,又称为电化学电容器,以其功率密度高、可快速充放电和循环寿命长等特点,被认为可以部分替代传统的化学电池用于车辆的牵引电源和启动能源^[1-2]. 电极材料是超级电容器研究的重点. 根据储能原理,电极材料可分为双电层电极材料和赝电容电极材料. 其中,各类碳材料主要被用作双电层电极材料,金属氧化物和导电高分子材料常被用作赝电容材料. 由于电化学反应发生在两相界面,电子和离子同时参与反应,因此,电极材料的结构和形貌对其电化学性能有很大的影响^[3-5]. 目前,研制具有特定结构且电化学性能良好的电极材料是提高超级电容器性能的重要途径.

在众多的赝电容金属氧化物材料中,廉价二元金属氧化物 NiCo₂O₄ 是一种典型的尖晶石型混合价态金属复合氧化物, NiCo₂O₄ 中存在的两个氧化还原对 Ni²⁺/Ni³⁺ 和 Co²⁺/Co³⁺ 为赝电容的产生提供了两个活性中心. 特别是相比于单一的 Co₃O₄ 和 NiO, NiCo₂O₄ 本身具有较好的导电性. 较高的理论比电容和导电性使其成为理想的超级电容器电极材料^[6]. 目前,多种形状的 NiCo₂O₄ 材料已被制备并用作超级电容器电极材料,如 NiCo₂O₄ 纳米线、NiCo₂O₄ 纳米片和三维海胆状 NiCo₂O₄, 这些材料都显示出优异的电化学性能^[7-9]. 虽然多级结构的

NiCo₂O₄ 材料已引起人们的广泛关注,但是其合成过程大多需要精确控制反应参数,比较繁琐. 本文拟通过简单的水热与后续热处理方法制备具有多级结构的三维花状 NiCo₂O₄, 并研究其作为超级电容器电极材料的电化学性能, 以期高性能超级电容器电极材料的合成奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂: 四水乙酸镍 Ni(CH₃COO)₂ · 4H₂O, 四水乙酸钴 Co(CH₃COO)₂ · 4H₂O, 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司产; 无水乙醇, 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司产; 泡沫镍, 工业品, 太原力源锂电科技中心产; 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), 德国 Bruker 产; ESCALab 250Xi 型 X 射线光电子能谱仪 (XPS), 美国热电公司产; JSM-6490LV 型扫描电子显微镜, 日本电子公司产; CHI660D 型电化学工作站, 上海辰华仪器有限公司产; KQ-300GVDV 型超声仪, 昆山市超声仪器有限公司产; DZF-6020 型真空干燥箱, 上海一恒仪器产; RH basic-1 型搅拌器, 艾卡(广州)仪器设备有限公司产; 100-ML 反应釜, 天合科研协作中心产.

1.2 实验

1.2.1 三维花状 NiCo₂O₄ 的制备 称取

2 mmol $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4 mmol $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 溶于 40 mL 无水乙醇和 20 mL 去离子水的混合液中, 在室温下磁力搅拌 0.5 h, 超声处理 0.5 h. 然后将混合溶液装入聚四氟乙烯反应釜中, 在 180 °C 下恒温反应 6 h. 待反应完全冷却至室温, 抽滤, 用去离子水和无水乙醇反复洗涤, 并将滤渣在 60 °C 下真空干燥 12 h. 最后将得到的粉末在 300 °C 于管式炉中煅烧 4 h, 即可得到产物.

1.2.2 材料的表征 采用 X 射线衍射仪对所得产物进行 XRD 测定: 管电压 40 kV, 管电流 30 mA, Cu $\text{K}\alpha$ 辐射, $\lambda = 0.1542 \text{ nm}$, 扫描范围 $2\theta = 5^\circ \sim 80^\circ$. 利用扫描电子显微镜观察产物的形貌: 将样品置于导电胶带上, 加速电压 20 kV. 采用 XPS 对所得材料的成分和氧化态进行分析: 以 Mg $\text{K}\alpha$ 为激发源, 所得谱图的结合能以 C 的标准峰位进行校正. 使用 CHI660E 电化学工作站进行电化学测试: 采用三电极体系, 饱和甘

汞为参比电极, 活性炭为辅助电极, 电解液为 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KOH}$. 产品的比电容计算:

$$C = It/\Delta V \tag{1}$$

其中, C 为比电容/ $(\text{F} \cdot \text{g}^{-1})$, I 为电流密度/ $(\text{A} \cdot \text{g}^{-1})$, t 为放电时间/s, ΔV 为测试电压范围/V.

2 结果与讨论

2.1 NiCo_2O_4 材料的 XRD 和 XPS 图谱分析

NiCo_2O_4 材料的 XRD 图谱如图 1a) 所示. 由图 1a) 可以看出, 在 $19.08^\circ, 31.31^\circ, 36.72^\circ, 44.51^\circ, 58.89^\circ$ 和 65.08° 时的特征衍射峰, 分别对应尖晶石结构 NiCo_2O_4 材料的 (111), (220), (311), (400), (511) 和 (440) 晶面 (JCPDS card no. 20 - 0781), 但衍射峰强度不高, 说明经水热和热处理后得到的 NiCo_2O_4 材料结晶度不高. 利用 XPS 仪对 NiCo_2O_4 材料的成分和氧化态进行分析, XPS 全扫描图谱见图 1b).

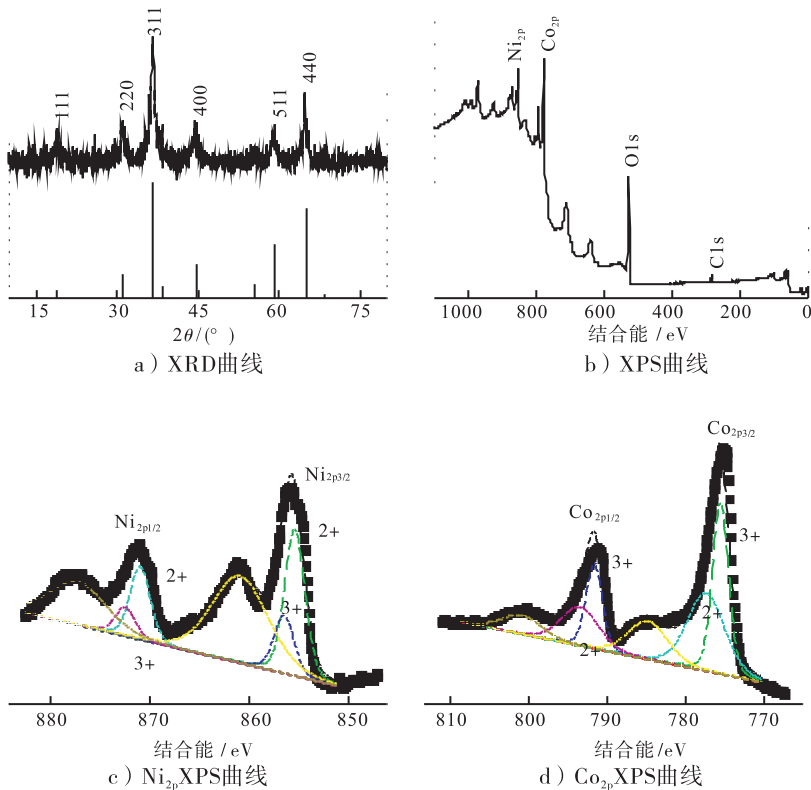


图 1 NiCo_2O_4 材料的 XRD 和 XPS 曲线

Fig. 1 XRD pattern and XPS spectra of NiCo_2O_4

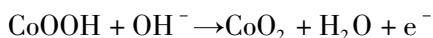
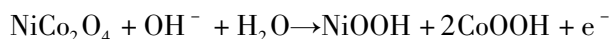
从图 1b)可以看出, NiCo₂O₄ 材料含有 Ni, Co 和 O 元素. 图 1c)为 NiCo₂O₄ 材料的 Ni_{2p} XPS 图谱及拟合曲线. 由图 1c)可以看出, 结合能为 854.68 eV 的峰归属为 Ni²⁺, 结合能为 855.88 eV 的峰归属为 Ni³⁺. 图 1d)为 NiCo₂O₄ 材料的 Co_{2p} XPS 图谱及拟合曲线. 由图 1d)可以看出, 781.78 eV 的峰归属为 Co²⁺, 结合能为 779.88 eV 的峰归属为 Co³⁺[¹⁰]. 综合以上 XPS 结果可知, 合成的 NiCo₂O₄ 材料含有不同价态的 Ni 元素和 Co 元素, 其中存在的两个氧化还原对 Ni²⁺/Ni³⁺ 和 Co²⁺/Co³⁺ 为赝电容的产生提供了两个活性中心.

2.2 NiCo₂O₄ 材料的形貌分析

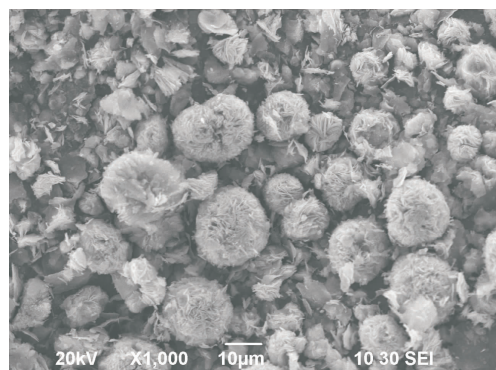
图 2 为 NiCo₂O₄ 材料的 SEM 图. 由图 2a)可以看出, 合成的 NiCo₂O₄ 材料为直径 10 ~ 15 μm 的微米球. 通过更高倍率的 SEM 图片 (图 2b)—d)) 可以清晰地看出, 这些三维花状微米球由纳米片组成, 其三维结构有利于电解质的传递, 而纳米片的二维结构为表面电化学反应提供了更多活性位, 使所制得的 NiCo₂O₄ 材料具有较好的电容性能 [¹¹⁻¹³].

2.3 NiCo₂O₄ 材料的电化学性能分析

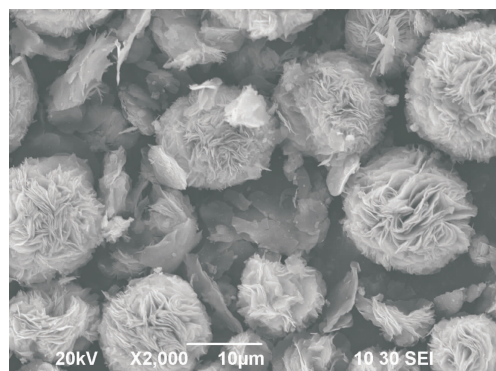
利用三电极体系对所合成的三维花状 NiCo₂O₄ 材料的电化学性能进行了测试, 结果见图 3. 图 3a)为在 6 mol/L KOH 溶液中, 不同扫描速率下 NiCo₂O₄ 材料的循环伏安曲线. 由图 3a)可以看出, 在 -0.1 ~ 0.5 V 电压范围内, 循环伏安曲线存在明显的氧化还原峰, 表明三维花状 NiCo₂O₄ 材料具有明显的赝电容特性, 其电容主要来自 MO/MO—OH (M = Ni 和 Co) 相关的法拉第氧化还原反应 [¹⁴⁻¹⁵]. 其储能机理如下:



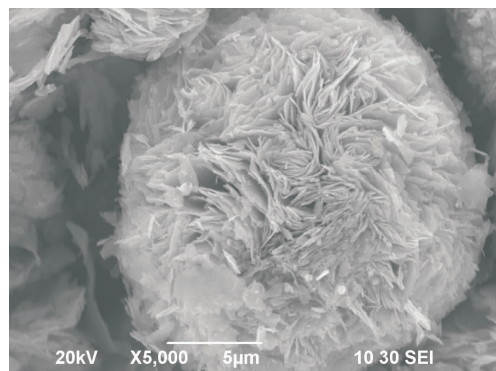
另外, 在不同的扫描速率下, 循环伏安曲线几乎保持了相同的形状, 且在每个电压逆转时



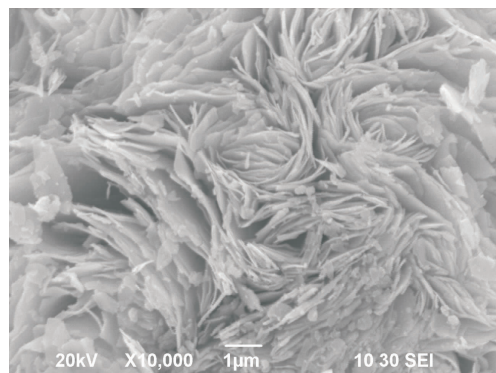
a) × 1000



b) × 2000



c) × 5000



d) × 10 000

图 2 NiCo₂O₄ 材料的 SEM 图Fig. 2 SEM images of NiCo₂O₄

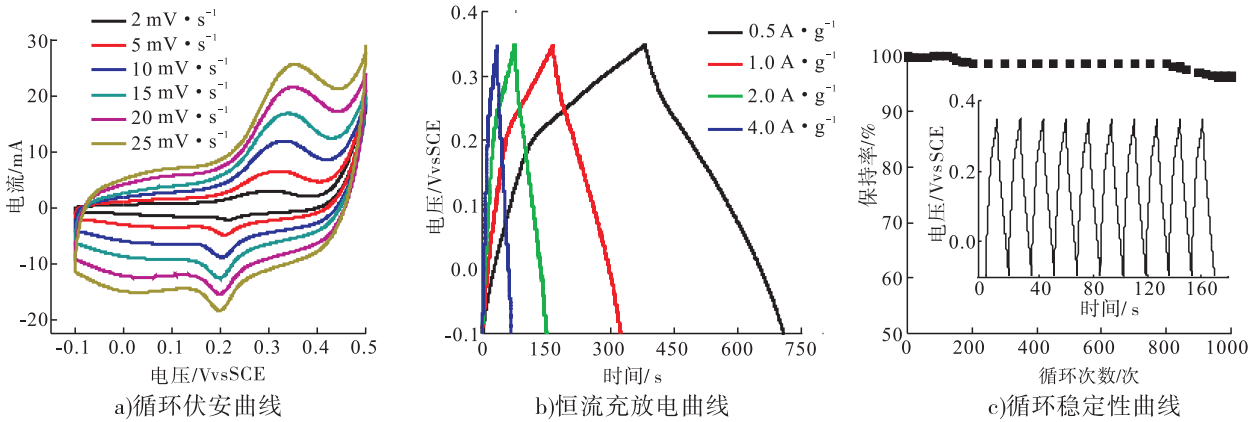


图3 NiCo_2O_4 的循环伏安曲线、恒流充放电曲线和循环稳定性曲线

Fig. 3 CP, CV and cycle stability of NiCo_2O_4

电流都能快速响应,说明该材料具有优异的电化学电容性质。

为了更好地了解三维花状 NiCo_2O_4 材料的电容性能,在不同电流密度下进行了恒流充放电测试,结果见图 3b)。由图 3b)可以看出, NiCo_2O_4 材料的充放电电压与时间呈非直线型关系,表现出赝电容特性。根据公式①,在 $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$, $1.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$, $4.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 的电流密度下,该材料的比电容分别为 $362 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$, $355 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$, $328 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$, $293 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ 。由此可知,当电流密度从 $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 增大到 $4.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$,该材料比电容的保持率为 80.9%,结合 SEM 结果可知,其优异的倍率特性是由其三维花状多级结构所致。

作为超级电容器电极材料,循环稳定性也是一个重要的参数。图 3c)为三维花状 NiCo_2O_4 电极材料的循环稳定性曲线。由图 3c)可以看出,140 次循环之后,比电容下降较明显,这可能是因为循环过程中 NiCo_2O_4 电极材料表面活性物质脱落所致。另外,在经过 800 次循环后,比电容也明显下降,这可能是由于多次充放电循环后电极材料的结构发生一定变化所致。1000 次充放电循环后,电极材料比电容保持率仍维持在 96.4%,这说明由二维纳米片组成、

有独特三维花状结构的该电极材料,在高倍率下充放电具有良好的循环稳定性。

3 结论

本文利用简单的水热及后续的热处理过程合成了由二维纳米片组成的三维花状 NiCo_2O_4 材料。通过对该材料的晶型、元素构成及表面形貌进行表征,以及对其超级电容性能进行分析得出结论: 1) 该材料结晶度不高。2) 含有不同价态的 Ni 和 Co 元素,存在的两个氧化还原对 $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ 和 $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$ 为赝电容的产生提供了两个活性中心。3) 作为超级电容器电极材料表现出良好的超级电容性能。当电流密度为 $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,比电容为 $326 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$; 当电流密度为 $4.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,比电容为 $293 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$,电容保持率为 80.9%; 在电流密度为 $4.0 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 的条件下,经 1000 次循环后,比电容保持率为 96.4%,仅衰减了 3.6%。对 NiCo_2O_4 材料的结构优化能够提高其电化学性能,同时促进新型电极材料的研究和发展。

参考文献:

- [1] FAGGIOLI E, RENA P, DANIEL V, et al. Supercapacitors for the energy management of electric vehicles[J]. Journal of Power Sources, 1999, 84

- (2):261.
- [2] YANG Z B, REN J, ZHANG Z, et al. Recent advancement of nanostructured carbon for energy applications [J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(11):5159.
- [3] SUN S M, WANG P Y, FANG S M, et al. Fabrication of MnO₂/nanoporous 3D graphene for supercapacitor electrodes [J]. *Materials Letters*, 2015, 145:141.
- [4] ZEIGER M, JACKEL N, MOCHALIN V N, et al. Review: carbon onions for electrochemical energy storage [J]. *Journal of Material Chemistry A*, 2013, 4(9):3172.
- [5] 闫福丰, 张园厂, 董晓东, 等. MnO₂/石墨烯/聚噻吩复合材料的制备与充放电性能研究 [J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2014, 29(4):1.
- [6] LIU S N, WU J, ZHOU J, et al. Mesoporous NiCo₂O₄ nanoneedles grown on three dimensional graphene networks as binder-free electrode for high-performance lithium-ion batteries and supercapacitors [J]. *Electrochimica Acta*, 2015, 176:1.
- [7] DU J, ZHOU G, ZHANG H, et al. Ultrathin porous NiCo₂O₄ nanosheet arrays on flexible carbon fabric for high-performance supercapacitors [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(15):7405.
- [8] JIANG H, MA J, LI C. Hierarchical porous NiCo₂O₄ nanowires for high-rate supercapacitors [J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(37):4465.
- [9] CHEN Y J, QU B, HU L, et al. High-performance supercapacitor and lithium-ion battery based on 3D hierarchical NH₄F-induced nickel cobaltate nanosheet-nanowire cluster arrays as self-supported electrodes [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(20):9812.
- [10] KHALID S, CAO C, AHMAD A, et al. Microwave assisted synthesis of mesoporous NiCo₂O₄ nanosheets as electrode material for advanced flexible supercapacitors [J]. *RSC Advances*, 2015, 5(42):33146.
- [11] SUN S, WANG S, WANG P Y, et al. Hydrothermal synthesis of MnOOH/three dimensional reduced graphene oxide composite and its electrochemical properties for supercapacitors [J]. *Journal of Material Chemistry A*, 2015, 3(42):20944.
- [12] CHEN H, JIANG J, ZHANG L, et al. Facile synthesized porous NiCo₂O₄ flowerlike nanostructure for high-rate supercapacitors [J]. *Journal of Power Sources*, 2014, 248:28.
- [13] WANG Y, SHI Z, HUANG Y, et al. Supercapacitor devices based on graphene materials [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, 113(30):13103.
- [14] AN C, WANG Y, HUANG Y, et al. Novel three-dimensional NiCo₂O₄ hierarchitectures: solvothermal synthesis and electrochemical properties [J]. *Cryst Eng Comm*, 2014, 16(3):385.
- [15] ZHANG D, YAN H, LU Y, et al. NiCo₂O₄ nanostructure materials: morphology control and electrochemical energy storage [J]. *Dalton Transactions*, 2014, 43(42):15887.



引用格式: 庞龙, 张肖静, 马永鹏, 等. 造纸行业主要污染物排污绩效值的核定方法研究[J]. 轻工学报, 2017, 32(2): 84-90.

中图分类号: X793; TS79 文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.013

文章编号: 2096-1553(2017)02-0084-07

造纸行业主要污染物排污绩效值的核定方法研究

Accounting method of the emission performance value of the major pollutants in papermaking industry

庞龙, 张肖静, 马永鹏, 刘楠, 方少明

PANG Long, ZHANG Xiao-jing, MA Yong-peng, LIU Nan, FANG Shao-ming

郑州轻工业学院 材料与化学工程学院/河南省环境污染治理与生态修复协同创新中心, 河南 郑州 450001

College of Material and Chemical Engineering/Collaborative Innovation Center of Environmental Pollution Control and Ecological Restoration of He'nan Province, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:

造纸行业; 化学需氧量; 排污绩效值

Key words:

papermaking industry; chemical oxygen demand; emission performance value

摘要:以制浆和造纸联合生产企业为例, 对比分析若干常用方法在化学需氧量(COD)排污绩效值核定中的优势和不足, 提出综合利用相关性分析、线性回归和加权平均等方法核定 COD 排污绩效值, 并与传统的排污系数法、定额达标法和《主要污染物排污权核定暂行办法》推荐的绩效值进行对比, 确定了能真正反映造纸企业排污现状的绩效值, 即推荐废纸(国废、美废)、旧瓦楞纸和旧纸箱、混合废纸、麦草制浆和造纸联合生产企业 COD 排污绩效值分别为 3162 g/t, 3349 g/t, 1744 g/t, 3600 g/t, 达标率为 50% ~ 57%。鉴于各地环境容量存在差异, 提出采用定额达标法制定流域特别排污绩效值。

收稿日期: 2016-06-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(51508525); 河南省环境保护厅项目(豫财竞谈 2013-248)

作者简介: 庞龙(1983—), 男, 河南省许昌市人, 郑州轻工业学院讲师, 博士, 主要研究方向为环境化学。

通信作者: 方少明(1963—), 男, 河南省汝南县人, 郑州轻工业学院教授, 博士, 主要研究方向为功能材料合成与改性。

Abstract: Take the example of pulp and paper companies, advantages and disadvantages of several commonly used accounting methods for the emission performance value of chemical oxygen demand (COD) were compared. Methods such as correlation analysis, linear regression, and weighted average were proposed as potential tools for the calculation of COD emission performance value. Comparison was made with the traditional methods of pollution discharging coefficient, quota standard, and recommended value of the interim measure, the performance values were determined, which could really reflect the emission status of the papermaking enterprises. The recommended values for waste paper, old corrugated paper, old cardboard box, and wheat straw pulp and paper companies were 3162 g/t, 3349 g/t, 1744 g/t, and 3600 g/t, respectively, with the qualification rate of 50% ~ 57%. Regarding to the difference of environment capacity in various regions, a method was proposed for setting special discharge performance values by using quota standard method.

0 引言

排污权交易制度通过市场的杠杆作用可调节并优化环境资源的配置,起到削减污染和保护环境的作用,而排污权初始分配是排污权交易制度实施的前提与基础. 科斯在 1960 年发表的《社会成本问题》中提出,利用市场和产权界定的方式来处理外部性问题,形成了排污权交易制度的雏形^[1]. 1968 年,戴尔斯在《污染、财富和价格》一书中将产权的概念引入污染控制领域,并首次提出排污权交易的概念^[2]. 我国开展排污权交易制度研究较晚,1980 年代中后期才开始探索逐步建立排污权交易制度. 1993 年,国家环保总局开始实施大气排污权交易政策,自此,我国排污权交易制度不断向前推进. 2014 年 8 月 25 日,国务院办公厅印发《国务院办公厅关于进一步推进排污权有偿使用和交易试点工作的指导意见》(国办发[2014] 38 号),标志着排污权交易制度已成为中国一项重要的环境经济政策^[3].

排污权交易的实质就是把污染作为一种产权,通过市场的调节作用使排污单位之间形成供求关系,节约下来的污染排放指标可以通过交易卖给缺少排放指标的企业,从而促使排污企业改进生产工艺,提高装备水平和管理水平,提升污染治理技术,最终促使企业污染减排. 排污权交易制度是优化配置环境容量资源、促进

产业结构调整 and 污染物减排、推动经济增长方法转变、实现环境与经济协同发展的有效市场手段^[4]. 在排污权交易制度实施过程中,科学的初始排污权指标的核定与分配方法是保障一级市场和二级市场可靠运行的重要环节,是交易实施最重要的基础性工作和前置性条件^[5-6]. 2014 年 12 月 30 日,环保部印发的《建设项目主要污染物排放总量指标审核及管理暂行办法》中对火电、水泥、造纸、印染行业建设项目所需替代的主要污染物排放总量指标采用绩效方法核定^[7]. 随后颁布的《主要污染物排污权核定暂行办法》中对造纸和纸制品制造企业化学需氧量(COD)和氨氮(NH₃-N)排污绩效值进行了明确.

排污绩效值是影响排污权初始分配的重要环节和决定因素. 造纸企业工艺复杂、类型众多,建立一种公平、合理、科学的排污绩效值核算方法具有重要意义. 本文以制浆和造纸联合生产企业为例,就排污绩效法对 COD 排污绩效值的核定方法进行分析探讨,并建立考虑各地区环境容量差异的核定方法,以期对造纸行业初始排污权核定提供参考.

1 排污绩效值核算方法的比较与选择

1.1 类比法

根据项目建设规模、生产工艺、设备类型、

产品结构、原辅材料消耗和污染物类型等,在与待核定企业具有相似性和可比性的基础上,确定排污总量的方法.类比法适用条件是分析对象与类比对象间具有相似性和可比性.该方法在实际应用中,要根据生产规模等工程特征、生产管理和外部因素等进行调整、修正.

1.2 资料复用法

在进行污染物排放量核定时,直接使用某技术文件确定的数据,如采用建设项目环境影响评价文件、竣工环境保护验收文件等资料确定的污染物排放量.对于未建企业排污量的核定,适合直接采用环评批复数据.

1.3 物料衡算法

造纸行业 COD 来源较多,其主要产生环节包括洗草(麦草制浆)、制浆和抄造;同时 COD 受生产工艺的影响,如制浆原料、制浆工艺、抄造工艺、涂布工艺等;另外,COD 还受末端治理技术的影响.物料衡算法一般用于单一物质的核算,而造纸废水主要污染物 COD 为混合物,若采用物料衡算法,则没有相对精确的物料衡算公式来表达物料之间的关系.

1.4 监测数据法

监测数据法是指根据企业污染物排放的历史监测数据来计算单位产品污染物排放量,并以此作为企业污染物排放指标的核算依据.监测数据法所得到的数据最为真实和直接,在企业正常运行情况下的监测数据基本可以真实反映企业年度实际排污量.但对于同等规模、同等工艺、能耗物耗较低、污染治理设施较好的企业来说,如果将较低的排放量作为排污权指标,无形中减少了这类企业对资源的使用权,不能有效激发企业减排动力,不足以体现初始分配的公平性.

1.5 产排污系数法

产排污系数法是核算各类污染源污染物产生量和排放量的基本方法之一.我国进行了

若干研究工作,为开展环境规划、环境统计、环境监测、环境监督、排污收费和排污申报登记和污染过程控制等各项工作提供了支持.《污染源普查产排污系数手册》将造纸行业按照生产类型、工艺类型、原料、规模及末端治理技术进行了分类^[8].该手册数据来源较早,其后造纸行业生产工艺、装备水平和末端治理技术不断提高,原产排污系数法已不适用,应进行适当修正.

1.6 定额达标法

定额达标法是指以现有的国家行业污染物排放标准规定的排污定额为依据来确定排污权指标,即采用排放浓度限值和单位产品基准排水(气)量计算出排污总量.《制浆造纸工业污染物排放标准》(GB 3544—2008)中根据造纸企业的生产类型,将企业分为制浆企业、造纸企业和制浆造纸联合生产企业,对各类型企业基准排水量和污染物排放限值作出了规定.

1.7 排污绩效法

排污绩效法是以生产单位产品所排放的污染物作为基准的排污单位允许排放量的核算方法.国家环境保护部《主要污染物排污权核定暂行办法》中推荐了造纸与纸制品企业 COD 和 NH₃-N 排污权核定绩效值.

根据以上分析,类比法、资料复用法、物料衡算法、监测数据法和产排污系数法不适用于造纸企业 COD 排污绩效值的核算.根据《制浆造纸工业污染物排放标准》(GB 3544—2008)中提供的基准排水量和污染物排放浓度限值,可采用定额达标法核算 COD 排污绩效值;根据造纸企业产品产量和污染物排放总量,采用排污绩效法确定造纸行业排污绩效值.同时与定额达标法、产排污系数法和《主要污染物排污权核定暂行办法》中推荐的 COD 排污绩效值进行对比,最终得到相对公平合理的排污绩效值.

2 造纸行业 COD 排污绩效值的核算

2.1 相关性分析

按照生产原料种类,制浆和造纸联合生产企业分为3类,即废纸制浆和造纸联合生产企业、麦草制浆和造纸联合生产企业、木片制浆和造纸联合生产企业。生产原料不同,其单位产品COD也不尽相同。废纸制浆和造纸联合生产企业的生产原料类型又分为国废、美废、混合废纸、旧瓦楞纸和旧纸箱。因此应首先对各类企业单位产品COD排放量进行显著性差异分析,以确定是否需要根据企业生产原料分别核算排污绩效值。

本文共统计废纸制浆和造纸联合企业样本61个,单位产品COD排放量均值2841;麦草制浆和造纸联合生产企业统计样本7个,单位产品COD排放量均值3064。对样本进行独立样品T检验, $P = 0.852$,显然 $P > 0.05$,两类企业如没有显著性差异,可以归为一类核算COD排污绩效值。由于木片制浆和造纸联合生产企业样本仅有1个,本研究未对其进行显著性差异分析。

废纸(美废、国废)制浆和造纸联合生产企业统计样本34个,单位产品COD排放量均值2969;混合废纸制浆和造纸联合生产企业统计样本13个,单位产品COD排放量均值3288。独立样品T检验结果显示, $P = 0.01$,显然 $P < 0.05$,即两类企业存在显著性差异,应分别核算COD排污绩效值。旧瓦楞纸和旧纸箱制浆造纸联合生产企业统计样本14个,单位产品COD排放量均值2117。独立样品T检验结果显示, $P = 0.064$,显然 $P > 0.05$,即两类企业无显著性差异,可归为一类核算COD排污绩效值。

2.2 排污绩效值核算

根据显著性差异分析的结果,将制浆和造纸联合生产企业分为废纸制浆和造纸联合生产企业与其他制浆和造纸联合生产企业,分别核

算COD排污绩效值。将废纸制浆和造纸联合生产企业分为废纸、混合废纸、旧瓦楞纸和旧纸箱3类企业核算COD排污绩效值。

根据造纸企业产品产量和COD排放总量等信息,对造纸企业单位产品COD排放量,即排污系数,采用线性回归和加权平均两种方法计算COD排污绩效值,结果见图1和表1。单位产品COD排放量计算公式如下:

$$N_i = B_i / C_i$$

其中, N_i 为单位产品COD排放量/($g \cdot t^{-1}$), B_i 为第*i*家造纸企业年产品产量/($t \cdot a^{-1}$), C_i 为第*i*家造纸企业年COD排放量/($g \cdot a^{-1}$)。

单位产品COD排放量加权平均值计算公式如下:

$$M = \sum a_i \times A_i / \sum a_i$$

其中, M 为造纸企业化学需氧量排污系数加权平均值/($g \cdot t^{-1}$), a_i 为第*i*个造纸企业年产品产量/($t \cdot a^{-1}$), A_i 为第*i*个造纸企业化学需氧量排放系数/($g \cdot t^{-1}$)。

通过对单位产品COD排放量对数值与企业产品产量的拟合分析发现,对于废纸(国废、美废)、混合废纸和麦草制浆造纸联合企业,COD排放量对数值与企业产品产量两者存在明显的负相关,表明规模越大的造纸企业,单位产品COD排放量越小。对于旧瓦楞纸和旧纸箱制浆造纸联合企业,两者却表现出一定的正相关,原因可能与统计样本较少有关。基于线性拟合法和加权平均法,制浆和造纸联合生产企业COD排污系数范围值分别为802~4019 g/t和1706~3349 g/t,存在较大差异,表明制浆造纸企业生产原料和工艺类型相对复杂,生产规模、装备与污染治理水平参差不齐,以致造成单位产品COD排放量存在较大区别。

2.3 可行性分析

根据制浆造纸企业年产量,采用通过线性回归和加权平均法得到的绩效值对其排放量进

行验算,并与企业实际排放量进行对比,结果见表2.由表2可知,以3162 g/t为废纸(国废、美废)制浆和造纸联合生产企业 COD 排污绩效值,达标率为50%,与《主要污染物排污权核定暂行办法》(简称《暂行办法》)推荐绩效值较为一致;对于旧瓦楞纸和旧纸箱制浆造纸企业,无论采用线性回归或加权平均所得绩效值,其达标率均为57%.对比《暂行办法》推荐的绩效值,以3349 g/t作为 COD 排污绩效值较为合理;对于混合废纸制浆造纸企业,采用加权平均

得到的绩效值为1744 g/t,其达标率为56%,该值明显小于《暂行办法》推荐绩效值,反映了该地区此类企业单位产品 COD 排放量低于国家平均水平;采用线性回归法得到的麦草制浆造纸企业 COD 排污绩效值为939~4019 g/t,明显大于《暂行办法》推荐绩效值,因此采用3600 g/t为 COD 排污绩效值,其达标率达到50%.综上所述,基于推荐绩效值,制浆和造纸联合生产企业 COD 排放量达标率为50%~57%,具有较强的可行性,方法比较见表3.

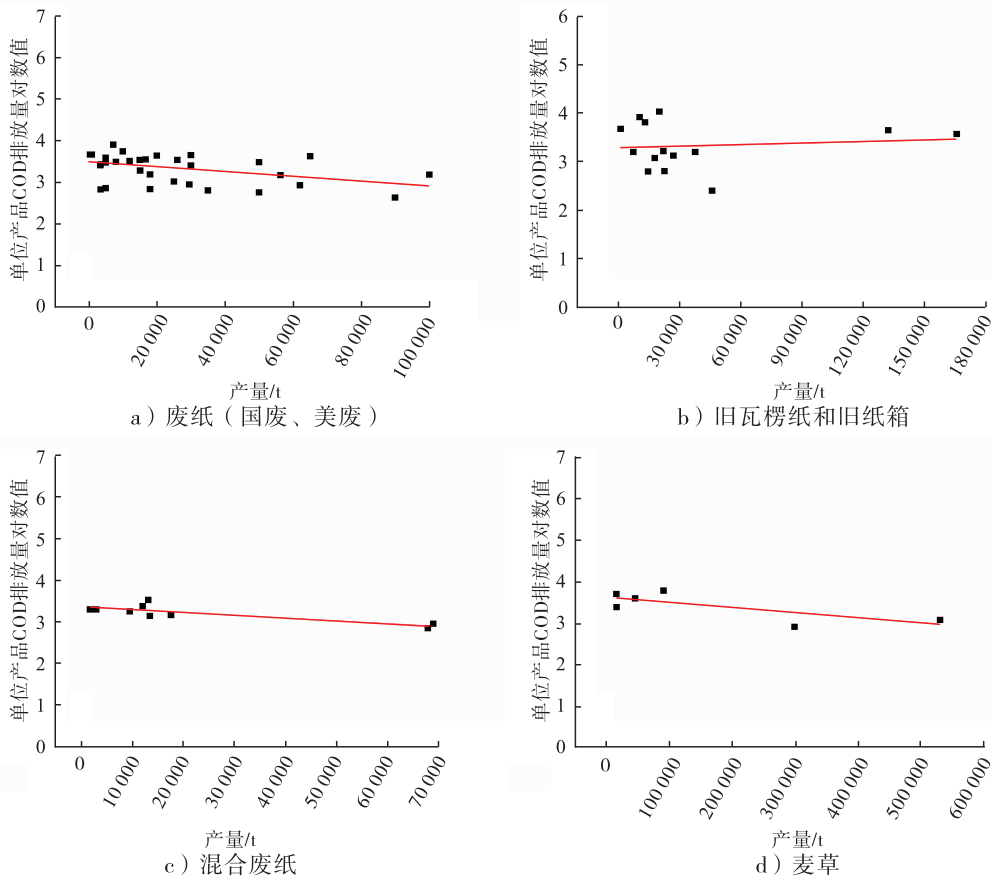


图1 单位产品 COD 排放量对数值 - 产量拟合曲线示意图

Fig. 1 The logarithm of COD emission per unit product vs production fitting curve diagram

表1 制浆和造纸联合生产企业 COD 排污系数线性方程和加权平均值

Table 1 Linear equation and weighted average of COD emission performance value for pulp and paper companies

原料类型	线性方程	对数值	线性回归值/(g·t ⁻¹)	加权平均值/(g·t ⁻¹)
废纸(国废、美废)	$y = 3.50729 - 0.000005879x$	3.45 ~ 3.50	2818 ~ 3162	2212
旧瓦楞纸、旧纸箱	$y = 3.22758 + 0.000001629x$	3.24 ~ 3.50	1735 ~ 3142	3349
混合废纸	$y = 3.35517 - 0.000006537x$	3.34 ~ 2.90	802 ~ 2205	1744
麦草	$y = 3.62249 - 0.000001227x$	2.97 ~ 3.60	939 ~ 4019	1706

2.4 流域特别排污绩效值

2.4.1 核算方法 考虑到企业所在地区环境容量差异,对于规定有流域排放标准的地区应执行更加严格的排污绩效值.流域特别排污绩效值采用定额达标法进行核算.定额达标法的计算公式如下:

$$G_{\text{COD}} = A_i \times B_i \times C_{\text{COD}} \times 10^{-6}$$

其中, G_{COD} 为第*i*个造纸企业在定额排放情况下的COD排污权指标/($\text{t} \cdot \text{a}^{-1}$), A_i 为第*i*个造纸企业环评批复的生产规模/($\text{t} \cdot \text{a}^{-1}$), B_i 为第*i*个造纸企业单位产品最高排水定额/($\text{m}^3 \cdot \text{t}^{-1}$), C_{COD} 为第*i*个造纸企业废水中COD执行排放浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

排污绩效值核算公式如下:

$$M_{\text{COD}} = B_i \times C_{\text{COD}} \quad \text{①}$$

其中, M_{COD} 为第*i*个制浆造纸企业COD排污绩

效值/($\text{g} \cdot \text{t}^{-1}$); B_i 为第*i*个造纸企业单位产品最高排水定额/($\text{m}^3 \cdot \text{t}^{-1}$); C_{COD} 为第*i*个造纸企业废水中COD执行排放浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

2.4.2 COD 特别排污绩效值 河南省已经颁布的流域标准有惠济河流域、贾鲁河流域、蟒沁河流域、清潒河流域、双洎河流域和省辖海河流域.根据各流域基准排水量和COD排放限值,可采用公式①计算COD排污绩效值,结果见表4.由表4可知,除混合废纸制浆造纸联合生产企业外,流域特别排污绩效值均小于推荐绩效值(表3),即对于企业所在区域无流域标准的,执行表3推荐的绩效值;若企业所在区域有流域标准的,应执行更加严格的特别排污绩效值.对于混合废纸制浆造纸联合生产企业,若企业所在区域有流域标准的,按照较低值执行特别排污绩效值.

3 结论

本文按照生产原料对造纸企业进行分类,首先采用相关性分析法判断是否需要分别执行排污绩效值,而后采用线性回归和加权平均法核算排污绩效值,通过与传统的排污系数法、定额达标法和推荐绩效值进行对比分析,并采用可行性分析进行验证,确定了能够真实反映造纸企业排污现状的绩效值,即推荐废纸(固废、美废)、旧瓦楞纸和旧纸箱、混合废纸制浆及麦

表2 可行性分析

Table 2 Feasibility analysis

企业类型	数量	绩效值/($\text{g} \cdot \text{t}^{-1}$)	达标率/%
废纸(固废、美废)制浆和造纸联合生产企业	34	2818 ~ 3162 ^a 2212 ^b	47 ~ 50 38
旧瓦楞纸和旧纸箱制浆造纸企业	14	1735 ~ 3142 ^a 3349 ^b	57
混合废纸制浆造纸企业	9	802 ~ 2205 ^a 1744 ^b	11 ~ 78 56
麦草制浆造纸企业	6	939 ~ 3600 ^a 1706 ^b	17 ~ 50 33

注:^a表示线性回归法;^b表示加权平均法.

表3 制浆和造纸联合生产企业COD排污绩效值比较

Table 3 A comparison of COD emission performance values for pulp and paper companies g/t

核算方法	废纸(固废、美废)制浆和造纸联合生产企业	旧瓦楞纸和旧纸箱制浆造纸企业	混合废纸制浆造纸企业	麦草制浆造纸企业
排污绩效法	2818 ~ 3162 ^a 2212 ^b	1735 ~ 3142 ^a 3349 ^b	802 ~ 2205 ^a 1744 ^b	939 ~ 4019 ^a 1706 ^b
排污系数法	1410 ~ 6920 ^c 970 ~ 5460 ^d	880 ~ 6500	1410 ~ 6500	4460 ~ 302 900
定额达标法	2400	2400	2400	2400
《暂行办法》	3600	3600	3600	3600
推荐绩效值	3162	3349	1744	3600

注:^a表示线性回归,^b表示加权平均值,^c表示混合废纸,^d表示旧新闻纸.

表4 造纸企业流域 COD 特别排污绩效值一览表^A

Table 4 COD special emission performance values for paper companies

流域	基准排水量 /(m ³ · t ⁻¹)	化学需氧量 /(mg · L ⁻¹)	排污绩效值 /(g · t ⁻¹)
惠济河流域	40	50	2000
贾鲁河流域	40	50	2000
蟒沁河流域	30	50	1500
清潒河流域	40	50	2000
双洎河流域	40	50	2000
省辖海河流域	30	50	1500

注:A 代表企业类型为制浆和造纸联合生产企业.

草制浆和造纸联合生产企业 COD 排污绩效值分别为 3162 g/t, 3349 g/t, 1744 g/t, 3600 g/t, 达标率为 50% ~ 57%. 最后针对各地环境容量差异, 提出了采用定额达标法制定流域特别排污绩效值的方法. 本研究为造纸行业主要污染物排污绩效值的核算提供了一种新的思路和方法, 具有重要的实践意义.

参考文献:

[1] COASE R H. The Market, the Firm, and the Law[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1988.

[2] DALES J H. Pollution, Property and Prices [M]. Toronto: University of Toronto Press, 1968.

[3] 任艳红, 周树勋. 基于总量控制的排污权交易机制改革思路研究[J]. 环境科学与管理, 2016, 41(3):19.

[4] 魏圣香, 王慧. 美国排污权交易机制的得失及其镜鉴[J]. 中国地质大学学报(社会科学版), 2013, 13(6):34.

[5] 于术桐, 黄贤金, 程绪水, 等. 流域排污权初始分配模式选择[J]. 资源科学, 2009, 31(7):1175.

[6] WOERDMAN E. Implementing the Kyoto protocol: Why JI and CDM show more promise than international emissions trading[J]. Energy Policy, 2000, 28(1):29.

[7] 张玮, 白金. 排放绩效在火电行业大气污染物排放总量核定中的应用分析[J]. 环境与发展, 2015 (2):11.

[8] 第一次全国污染源普查资料编纂委员会. 第一次全国污染源普查资料文集——污染源普查产排污系数手册:上册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2011.



引用格式:吴振军,杨凯,秦方圆. 基于双二阶广义积分器锁频环的基波正序分量检测方法[J]. 轻工学报,2017,32(2):91-96.

中图分类号:TM615 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.014

文章编号:2096-1553(2017)02-0091-06

基于双二阶广义积分器锁频环的 基波正序分量检测方法

Detection method of fundamental positive sequence components based on double second-order generalized integrator frequency-locked loop

吴振军¹,杨凯^{1,2},秦方圆¹

WU Zhen-jun¹, YANG Kai^{1,2}, QIN Fang-yuan¹

关键词:

双二阶广义积分器;
锁频环;三相电压不
平衡;基波正序分量

Key words:

double second-order
generalized integrator
(DSOGI); frequency-
locked loop (FLL);
three-phase voltage
unbalance; fundamental
positive sequence
component

1. 郑州轻工业学院 电气与信息工程学院,河南 郑州 450002;

2. 国家电网河南省电力公司 安阳供电公司,河南 安阳 455000

1. College of Electric and Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;

2. Anyang Power Supply Company, State Grid He'nan Electric Power Company, Anyang 455000, China

摘要:针对电网电压三相不平衡问题,设计了双二阶广义积分器锁频环(DSOGI-FLL),利用DSOGI-FLL的角频率反馈代替双二阶广义积分器锁相环(DSOGI-PLL)的频率反馈,实现了对输入电压频率的自适应控制。在Matlab/Simulink平台对电压不对称跌落、谐波污染、相位突变、频率突变4种情况进行仿真,并与DSOGI-PLL进行性能对比,结果表明,DSOGI-FLL比DSOGI-PLL有更好的频率与相位追踪特性,尤其在相位突变和频率突变时效果更为明显。

收稿日期:2015-11-19;修回日期:2016-09-26

基金项目:河南省基础与前沿技术研究计划项目(132300413213)

作者简介:吴振军(1971—),男,河南省郑州市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为电工理论和电工新技术。

Abstract: In view of the problem of three-phase voltage unbalance, the double second-order generalized integrator frequency-locked loop (DSOGI-FLL) was designed. It used SOGI-FLL angular frequency feedback instead of the second order generalized integrator phase-locked loop (DSOGI-PLL) frequency feedback, and realized the adaptive control of the input voltage frequency. Four conditions including asymmetric voltage drop, harmonic pollution, phase mutations, frequency mutations were simulated in Matlab/Simulink platform, and its performance was compared with SOGI-PLL. The results showed that SOGI-FLL had the better characteristics in tracking phase and frequency in all kinds of cases; especially so when the phase variation and frequency variation happened.

0 引言

并网逆变器是分布式发电系统的重要组成部分,其性能直接影响电网电压的电能质量.当电网电压处于三相不平衡,如谐波污染、频率畸变和相位突变等状态时,要求锁相环 PLL (phase-locked loop) 实时追踪电网电压的相位和频率,以减小对电力系统的影响.因此,并网逆变器系统对低电压穿越 LVVRT (low voltage ride through) 技术有严格的要求^[1].

并网逆变器控制系统中常用的是基于同步旋转坐标系的锁相环 (SRF-PLL)^[2]. SRF-PLL 通过跟踪同步旋转坐标系达到相位锁定的目的,在电网电压理想状态下可以很好地锁相.当电网电压出现畸变或者其他不平衡时,则需要以基波正序电压分量作为参考,但因其带宽较窄无法有效滤除负序分量,不能实现准确锁相,可能导致锁相失败^[3]. 针对上述问题,有学者对 SRF-PLL 进行了改进研究^[4-6]:改进型数字锁相环 (EPLL)^[4]、双同步旋转坐标系解耦锁相环 (DDSRF-PLL)^[5] 等实现了频率自适应,能够准确获取电网电压的频率和相位,但算法结构比较复杂;基于双二阶广义积分器的锁相环 (DSOGI-PLL)^[6] 能够通过二阶广义积分器 (SOGI) 产生相角差为 90° 的正交信号,实现相序分离锁相,但 SOGI-PLL 在频率和相位突变情况下有动态响应速度慢等缺点. 鉴于此,本文拟在 SOGI 的基础上加入有频率自适应环节的锁频环 FLL (frequency-locked loop), 设计基

于双二阶广义积分器的锁频环 (DSOGI-FLL), 用于检测基波正序分量,以期在信号发生突变时提高频率和相位追踪速度,降低频率和相位的超调量.

1 SOGI-FLL 结构与工作原理

当电网电压处于不平衡状态时,电网电压没有恒定的幅值,也没有恒定的旋转频率,不能直接用 PLL 来跟踪电网电压. 通常情况下,需要检测正序分量的相位和频率来代替电网电压^[7]. 电网电压的正序分量可以表示为

$$u_{abc}^+ = [T^+] U_{abc} = \frac{1}{3} \begin{bmatrix} 1 & a^2 & a \\ a & 1 & a^2 \\ a^2 & a & 1 \end{bmatrix} u_{abc}$$

其中,算子 $a = e^{-j\frac{2\pi}{3}}$, e 为常量参数.

电压正序分量经 Clarke 变换得

$$u_{\alpha\beta}^+ = [T_{\alpha\beta}^+][T_+] u_{abc} = [T_{\alpha\beta}^+][T_+][T_{\alpha\beta}^+]^{-1} u_{\alpha\beta} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & -q \\ q & 1 \end{bmatrix} u_{\alpha\beta}$$

其中, $q = e^{-j\frac{\pi}{2}}$ 是一个滞后于初始相位 90° 的相移算子. 因此,需要引入一个正交信号发生器 QSG (quadrant signal generator) 来实现 90° 的相移. 常见的方法有自适应陷波器 ANC (adaptive notch filtering) 法、延迟 $T/4$ 法、反 Park 变换 IPT (inverse park transform) 法^[8-9]. 但这些方法在实现过程中都要使用正弦或余弦函数,使算法结构变得复杂,不但增加系统的反应时间,还可能引入噪声误差^[10]. SOGI 结构更加简单,其核心是一个移相电路,结构如图 1 所示.

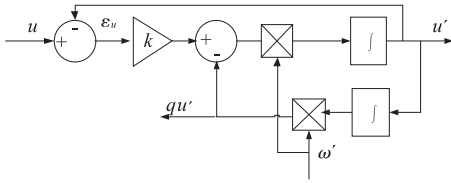


图1 SOGI 结构示意图

Fig. 1 Mathematical model of the SOGI

图1中输入 u 为旋转电压 u_α (或 u_β), 利用 90° 的相位位移, 输出 u' 和 qu' 为相互正交的电压, ε_u 为输入信号 u 和输出信号 u' 的误差, ω' 为估值角频率. 其传递函数如下:

$$G(s) = \frac{u'}{k\varepsilon_u}(s) = \frac{\omega' s}{s^2 + \omega'^2}$$

$$D(s) = \frac{qu'}{u}(s) = \frac{k\omega' s}{s^2 + k\omega' s + \omega'^2}$$

$$Q(s) = \frac{qu'}{u}(s) = \frac{k\omega'^2}{s^2 + k\omega' s + \omega'^2}$$

其中, $G(s)$ 为系统传递函数; $D(s)$ 和 $Q(s)$ 分别为正交输出信号的带通滤波器和低通滤波器传递函数, 其带宽与输入角频率无关, 只取决于参数 k , 因此 SOGI 具有频率自适应性, 适用于频率突变的场合.

在三相不平衡电网中, 正序、负序分量的频率相同, 而 SOGI 只能实现滤波作用, 无法实现正序、负序分量之间的解耦. 因此, 要通过并联、拓展构成双二阶广义积分器 (DSOGI), 实现正、负相序的分离. 电网电压经 Clarke 变换得到 u_α 和 u_β , 分别经过 SOGI 滤波后得到其正交电压信号, 最后利用正序、负序计算法实现分离, 得到电网电压的正序分量和负序分量.

当电压出现不平衡或相位和频率出现跳变时, 为更快追踪相位和频率, 引入 FLL 环节, DSOGI-FLL 可用来处理电压成分 $U_{\alpha\beta}$. FLL 由 SOGI 和频率自适应单元构成, 其结构如图 2 所示.

与 SOGI 相比, 加入 FLL 环节后, SOGI 将电压误差 ε_u 和正交电压 qu' 输出到 FLL, 得到

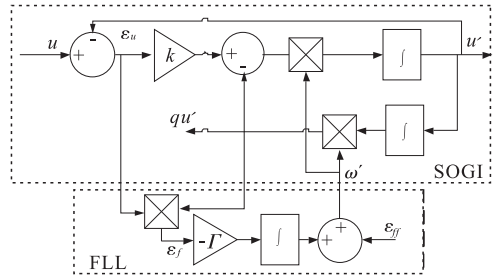


图2 SOGI-FLL 结构示意图

Fig. 2 Mathematical model of the SOGI-FLL

频率误差 ε_f , ε_f 经过增益为 $-\Gamma$ 的控制器和积分器输出系统估值角频率 ω' , 再反馈给 SOGI, 形成闭环控制回路, 从而得到准确的系统频率. 采用闭环回路, 可以有效地消除角频率的累积, 并不断调整 ω' , 使误差信号 $\varepsilon_f = 0$, 从而实现频率锁定.

DSOGI-FLL 结构如图 3 所示, 其工作特性与 DSOGI-PLL 类似, 都存在频率反馈和相位反馈环节, 所以 DSOGI-PLL 和 DSOGI-FLL 都能在电网电压频率突变和相位突变的情况下准确地追踪电网电压的频率和相位.

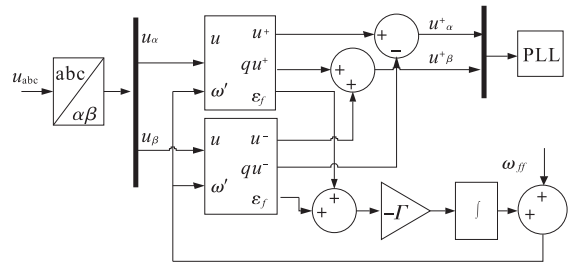


图3 DSOGI-FLL 结构示意图

Fig. 3 Mathematical model of the DSOGI-FLL

2 仿真结果与分析

为验证 DSOGI-FLL 的可靠性, 在 Matlab/Simulink 环境下, 建立 DSOGI-FLL 模型. 分别对电网电压发生不对称跌落、谐波污染、频率突变和相位突变等情况进行仿真, 仿真时电网电压真实值 $U = 310 \text{ V}$, 额定基波频率 $f = 50 \text{ Hz}$, 初始相角 $\varphi = 0$. SOGI 系统参数 $k = 1.414$, FLL 的

参数 $\Gamma = 100$, 前馈角频率 $\omega_{ff} = 100\pi$. 对电网电压相位追踪和频率追踪特性进行分析, 并与 DSOGI-PLL 算法结果进行对比.

2.1 电网电压发生不对称跌落

电网电压在 0.1 s 时跌落至 $U_a = 50$ V, $U_b = 60$ V, $U_c = 70$ V, 图 4 给出了两种方法的仿真结果. 从图 4 可看出, 当电网电压产生不对称跌落时, DSOGI-FLL 方法能够在 2 个周期内完成对电网电压相位的精确追踪, 而 DSOGI-PLL 方法则需要 4 个周期, 且 DSOGI-FLL 的相位波动为 0.1 r/min, 小于 DSOGI-PLL 的 0.19 r/min, 说明 DSOGI-FLL 方法比 DSOGI-PLL 方法具有更快的动态响应速度. 在频率追踪方面, 电压跌落动态响应过程中 DSOGI-FLL 在 2 个周期内完成对频率的锁定, 而 DSOGI-PLL 则需要 4 个周期, 且 DSOGI-FLL 的频率波动更小, 动态响应曲线更加平滑.

2.2 电网电压含有 5 次谐波

电网电压在 0.1 s 时注入 5 次谐波, 幅值分别为 $U_{a1} = 12$ V, $U_{b1} = 15$ V, $U_{c1} = 20$ V, 图 5 给

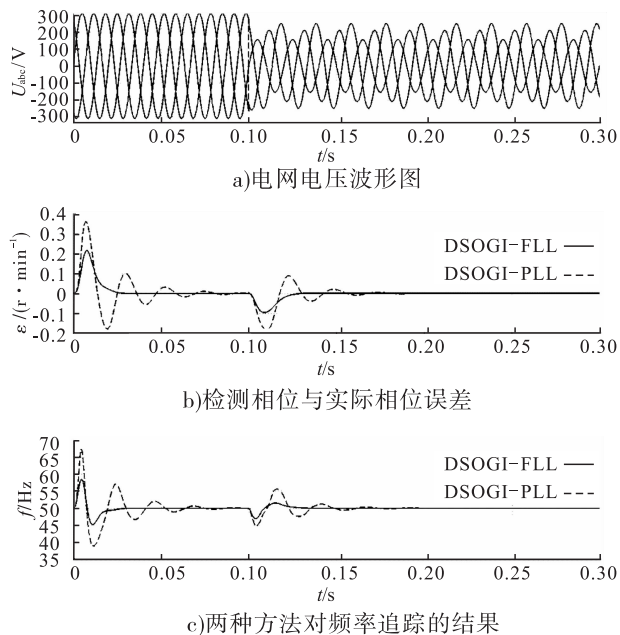


图 4 电网电压不对称跌落时的仿真结果

Fig. 4 Simulation result in asymmetric voltage drop

出了两种方法的仿真结果. 从图 5 可看出, 当不存在谐波时, 两种方法都能很好地追踪电压信号相位, 但 DSOGI-FLL 具有更好的动态特性. 加入谐波后, 两种方法相位追踪能力都有所下降, 出现了误差波动, DSOGI-FLL 的相位波动为 0.002 r/min, PLL 的相位波动为 0.004 r/min, 说明 DSOGI-FLL 方法追踪特性更好. 出现谐波后, 两种方法频率追踪能力都有明显的降低, 频率出现了波动, 但 DSOGI-FLL 方法频率波动范围为 0 ~ 0.4 Hz, 波动相对较小, DSOGI-PLL 的频率波动范围为 0 ~ 0.5 Hz. 因此两种方法对谐波污染的处理能力都不强.

2.3 电网电压相位突变

电网电压在 0.1 s 时相位发生 30° 突变. 图 6 给出了两种方法的仿真对比结果.

由图 6 可知, 当电网电压发生相位突变时, DSOGI-FLL 在 2 个周期内实现了对电网电压相位的追踪, 相位波动幅值为 0.12 r/min; DSOGI-PLL 在 5 个周期内实现相位追踪, 相位波动幅

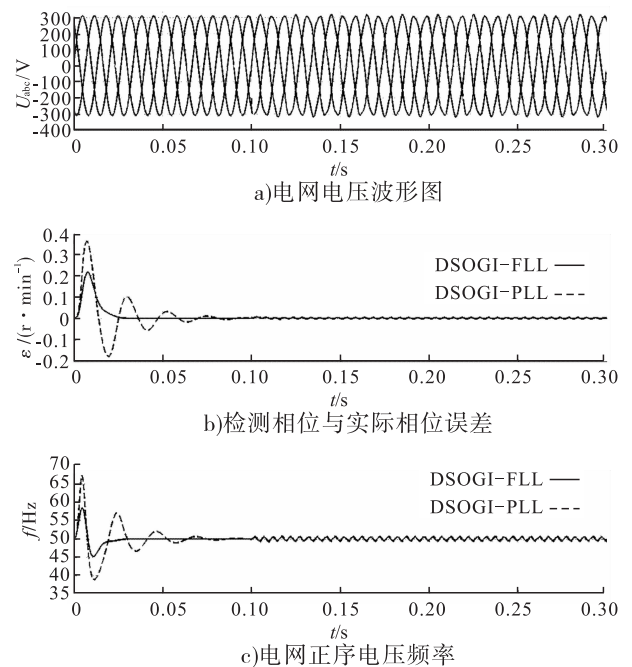


图 5 电网电压含 5 次谐波的仿真结果

Fig. 5 Simulation result in condition that fundamental voltage has fifth harmonic

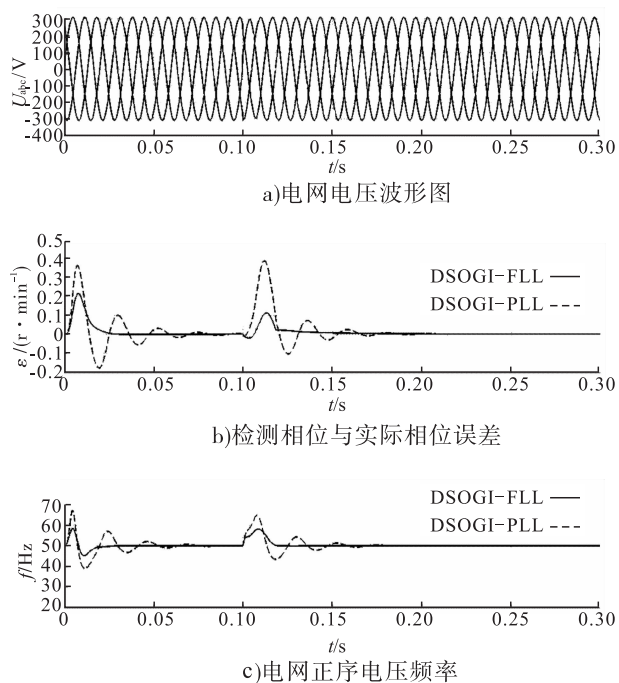


图6 电网电压相位突变的仿真结果

Fig. 6 Simulation result in voltage phase mutation

值为 0.39 r/min , 说明 DSOGI-FLL 动态响应速度更快. 在相位突变情况中, DSOGI-FLL 可在 1 个周期内完成对电网频率的锁定, 而 DSOGI-PLL 则需要 5 个周期, 且 DSOGI-FLL 频率波动明显小于 DSOGI-PLL, 说明 DSOGI-FLL 动态响应速度快、超调量小.

2.4 电网电压频率突变

在 0.1 s 时, 电网电压频率从 50 Hz 突变为 48 Hz , 图 7 给出了电网电压频率突变时的仿真结果.

由图 7 可知, 当电网电压频率发生突变时, DSOGI-FLL 在 2 个周期内实现了对电网电压相位的追踪, 优于 DSOGI-PLL 的 4 个周期, 且 DSOGI-FLL 的相位波动为 1.2 r/min , 小于 DSOGI-PLL 的 1.25 r/min . 在频率突变动态响应过程中, DSOGI-FLL 在 1 个周期内完成对电网频率的锁定, 而 DSOGI-PLL 需要 5 个周期, 且 DSOGI-FLL 频率波动明显小于 DSOGI-PLL,

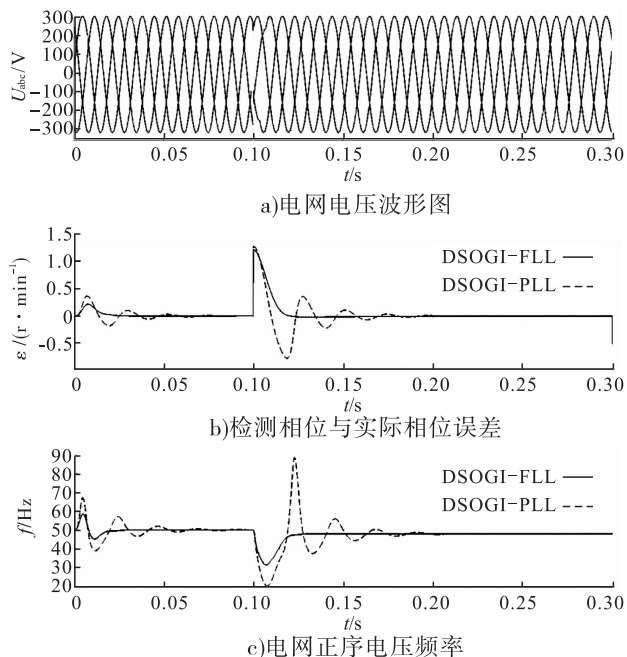


图7 电网电压频率突变的仿真结果

Fig. 7 Simulation result in the voltage frequency mutations

说明 DSOGI-FLL 动态响应速度快、超调量小.

对以上 4 种情况的仿真分析可知, DSOGI-FLL 和 DSOGI-PLL 都具有良好的频率自适应性, 能够较精确地检测电网电压不平衡时的相位和频率信息. 但在系统的动态响应过程中, DSOGI-FLL 的相位和频率波动明显小于 DSOGI-PLL, 具有超调量小、平滑性好的优点.

3 结语

针对电网电压三相不平衡问题, 设计了 DSOGI-FLL 用于检测基波正序分量, 并在 Matlab/Simulink 平台进行了仿真. 仿真结果表明, 电网电压处于不平衡状态时, 利用 DSOGI-FLL 的角频率反馈代替 DSOGI-PLL 的频率反馈, 实现对输入电压频率的自适应控制, 在电网电压相位和频率发生突变时, 能够快速准确地追踪电压相位和频率. 该方法运用于并网逆变器控制系统中的相位检测, 能够提高光伏并网逆变器的动态响应速度和系统稳态精度, 满足逆变

器控制系统的需求.

参考文献:

[1] BEST R E. 锁相环设计仿真与应用[M]. 李永明,译.5版.北京:清华大学出版社,2007.

[2] 黄建明,吴春华,许富强.基于相序解耦谐振控制器的基波正序电压相位检测方法[J].电网技术,2013,37(3):667.

[3] 吴晓波,赵仁德,马帅.电网畸变条件下基于滑动平均自适应陷波滤波器的基波相位提取[J].电网技术,2013,37(12):3528.

[4] 王建勋,刘会金,韩丰收,等.用于谐波、间谐波在线监测的时频混合方法[J].电网技术,2012,36(10):229.

[5] 王颢雄,马伟明,肖飞,等.双dq变换软件锁相环的数学模型研究[J].电工技术学报,2011,26(7):237.

[6] 赵贵龙,祝龙记,曹玲玲,等.基于光伏并网低

电压穿越的改进锁相环设计[J].低压电器,2014,6:28.

[7] 黄建明,吴春华,许富强.基于相序解耦谐振控制器的基波正序电压相位检测方法[J].电网技术,2013,37(3):667.

[8] WIDROW B, GLOVER J R, MCCOOL J M, et al. Adaptive noise cancelling: principles and applications [J]. Proceedings of the IEEE, 1975,63(12):1692.

[9] SAITOU M, MATSUI N, SIMIZU T. A control strategy of single-phase active filter using a novel d-q transformation[C]//38th IAS Annual Meeting on Conference Record of the Industry Applications Conference. Piscataway: IEEE, 2003:1222.

[10] 薛尚青,蔡金锭.基于二阶广义积分器的基波正负序分量检测方法[J].电力自动化设备,2011,31(11):69.



引用格式:过金超,赵海洋,蒋正轲,等.双向重载智能自主导航车系统设计[J].轻工学报,2017,32(2):97-102.

中图分类号:TP273 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.015

文章编号:2096-1553(2017)02-0097-06

双向重载智能自主导航车系统设计

Design of bidirectional heavy load intelligent automated guided vehicle system

过金超¹,赵海洋²,蒋正轲¹,曹宏³,司贞元³

GUO Jin-chao¹, ZHAO Hai-yang², JIANG Zheng-ke¹, CAO Hong³, SI Zhen-yuan³

1. 郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002;

2. 重庆邮电大学 光电工程学院/重庆国际半导体学院,重庆 400065;

3. 河南森源电气股份有限公司,河南 长葛 450034

1. College of Electric and Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Optoelectronics Engineering/Chongqing International Semiconductor Institute, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China;

3. He'nan Senyuan Electric Co., Ltd., Changge 450034, China

关键词:

自主导航车;重载;
PID控制

Key words:

automated guided vehicle (AGV);
heavy load;
PID control

摘要:针对自主导航车(AGV)市场规模小、成本高,难以满足企业物流自动化要求的现状,基于西门子1200系列PLC和智能控制技术,设计了串级PID控制引导算法,开发了一款载重10 t的双向重载智能自主导航车.经调试,AGV小车能够按照码带运行,轨迹偏差值控制在 ± 10 mm内,且系统响应迅速,小车运行稳定,实现了自主导航、自主避障、自主定位等功能.

收稿日期:2015-12-23;修回日期:2016-06-26

基金项目:国家自然科学基金项目(U1304508);河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目(教高[2012]626号-107)

作者简介:过金超(1978—),男,河南省开封市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为机器人智能控制与信息融合.

Abstract: In order to solve the problems of automated guided vehicle (AGV) of small market scale and high cost and difficulty in meeting the needs of the automation of enterprise logistics, the cascade PID control guidance algorithm was designed, a load 10 t two-way heavy load intelligent automated guided vehicle was developed based on Siemens 1200 series PLC and intelligent control technology. After the commission the vehicle could run according to code-band and track deviation value was within ± 10 mm. The system was quick in reaction and stable in running, AGV could realize autonomous navigation, autonomous obstacle avoidance and autonomous positioning, etc.

0 引言

自主导航车 AGV (automated guided vehicle) 是指安装有自动导引系统、可沿预设路径行驶、具有安全保护与移载功能的无人驾驶运输小车^[1-2]。现代工厂对生产中物流自动化程度的要求越来越高,AGV 必将在现代化工业中得到普及^[3-4]。目前国内 AGV 市场规模相对偏小,价格居高不下,且载重能力超过 10 t 的 AGV 更是寥寥无几,无论从应用方面还是成本方面,都无法满足企业的要求,因此从企业的长远发展来看,开发一款载重 10 t 的双向智能自主导航车,可以通过无线网络,组成一个对系统内所有 AGV 进行监视、控制,以及 AGV 之间进行通讯的上位机控制系统^[5],具有重要的应用价值。本文拟设计双向运行、载重 10 t 的 AGV 系统,以满足公司特殊的生产运输需求。

1 系统架构

AGV 系统是一个复杂的系统,以车体为载体,集成了大量的智能控制技术,一个完整的

AGV 系统包括工作系统、动力系统和控制系统^[6-7],其系统框图见图 1。

本项目设计的 AGV 控制系统,包括上位机控制系统和车载控制系统两部分。上位机控制系统采用通用 PC 作为控制端,通过无线组网技术,将 AGV 运行信息拓扑到 PC 端,实现上位机和 AGV 之间的数据交换^[8](见图 2),为企业实现自动化生产提供了一种方案,其光纤环网结构为通讯的可靠性提供了更好的保障。

2 硬件结构设计

车载控制系统是 AGV 的核心部分,其结构如图 3 所示。主控制器采用西门子 PLC,其具有可扩展的灵活设计,最高标准的工业通信接口,可集成在综合自动化解决方案中,实现与上位机的数据交换、对各传感器的信息融合处理、对 AGV 执行机构的指令下达等功能。导航方式为视觉导航,通过倍加福公司的视觉导航系统 PGV 实现精确导引和精确定位。

AGV 采用四轮驱动。由于 AGV 设计载重 10 t,因此电机扭矩是设计重点,需搭配合适的

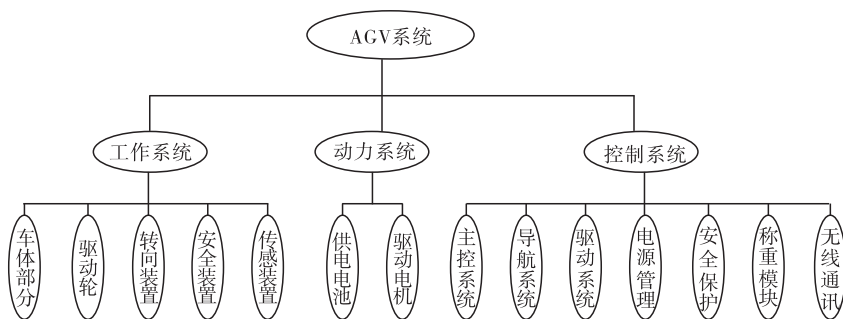


图 1 AGV 系统框图

Fig. 1 The block diagram of AGV system

减速机^[9],以确保 AGV 正常启动行驶. AGV 行驶时需克服的阻力包括滚动阻力 F_f ,空气阻力 F_w 和加速阻力 F_j ^[10]. 滚动阻力 $F_f = m \cdot g \cdot f$, 式中, f 为滚动阻力系数,参考有关数据^[11],取 $f = 0.020$;总质量取满载加自重 $m = 12\ 000\ \text{kg}$. 由公式得滚动阻力 $F_f = 2352\ \text{N}$.

由于载重过大,需对 AGV 进行限速. 设 AGV 从静止启动经过位移 $S = 1\ \text{m}$,车速达到最大值 $V_{\max} = 0.5\ \text{m/s}$,加速度 $a = 0.125\ \text{m/s}^2$,加速阻力为 $F_j = m \cdot a = 1500\ \text{N}$.

AGV 在室内工作,因此空气阻力可忽略不计,则 AGV 运动阻力为 $F = F_f + F_j = 3852\ \text{N}$.

车轮直径设计为 24 英寸,即半径为 $0.3\ \text{m}$,则阻力力矩 $M = F \cdot r = 1\ 155.6\ \text{N} \cdot \text{m}$.

综上,选用直流无刷伺服电机,搭配行星减速机,4 轴持续总扭矩 $2397\ \text{N} \cdot \text{m}$,转速 $14.4\ \text{r/min}$,

整车最大运行速度 $0.46\ \text{m/s}$,电机选型符合项目要求,能够保证 AGV 满载时正常运行.

3 软件设计

完整的 AGV 系统不仅需要硬件的支持,而且还需要针对硬件的特性、系统的技术指标、功能要求设计相应的软件,以实现包括信息共享、控制流程设计、数据逻辑运算与处理、状态显示与参数存储等功能.

3.1 上位机软件设计

上位机的功能是监控 AGV 运行状态,控制车载可编程逻辑控制器(PLC)^[11-12]. 控制软件基于图形化编程软件 LabVIEW 进行编写,利用其强大的数据处理功能和良好的人机交互环境来实现上位机的监控功能^[13-14],即利用 LabVIEW 对 PLC 的实时监控,从指定的通道读取数据,并往指定的通道发送控制命令或数据. 利用 LabVIEW 调试软件开发出的后台集中监控系统界面如图 4 所示.

3.2 车载 PLC 控制编程设计

PLC 程序主要负责顺序控制和信息控制,顺序控制即实现系统按一定顺序工作,信息控制即完成数据采集、存储、变换、逻辑运算与处理等任务. PLC 根据 PGV 系统采集的道路偏差信息和其他传感器采集的信息进行分析处理,输出控制信号,通过电机调整 AGV 的运动姿态,以实现 AGV 的导引控制. 控制流程如图 5 所示.

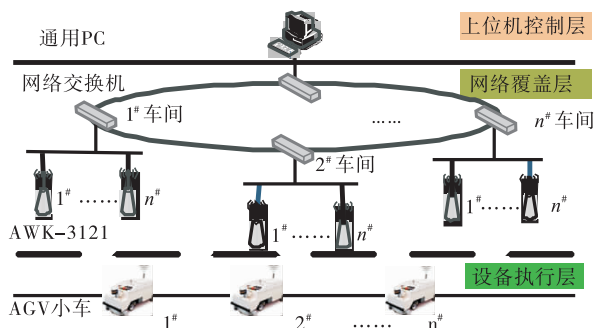


图 2 AGV 系统网络组态图

Fig. 2 The network configuration diagram of AGV system

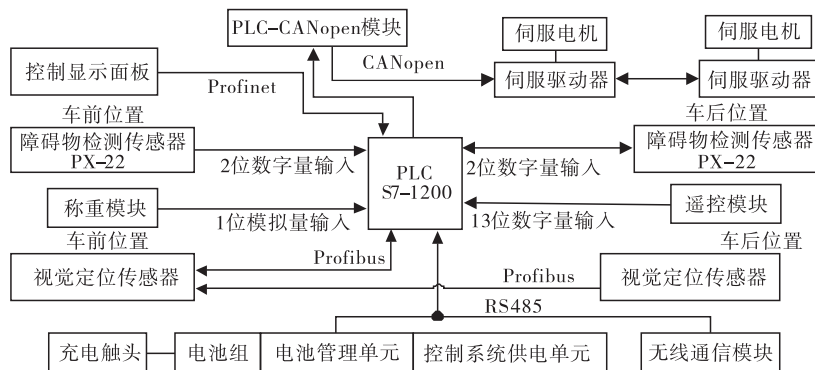


图 3 AGV 车载控制系统结构图

Fig. 3 The structure diagram of AGV vehicle control system

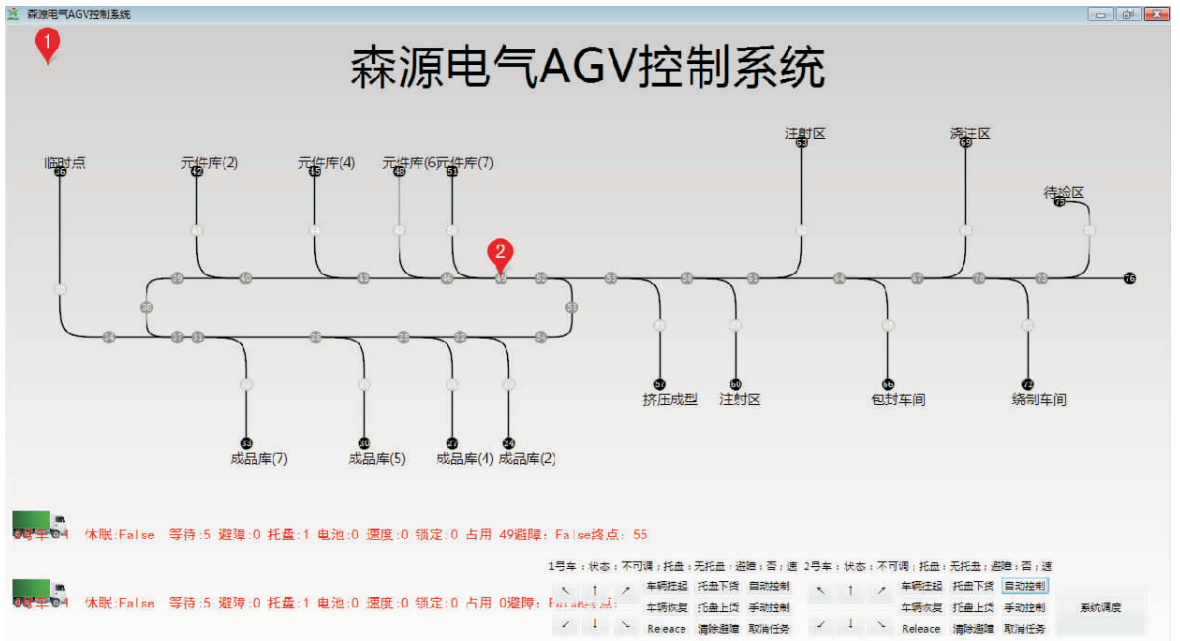


图4 后台集中监控系统界面

Fig.4 The interface of background centralized monitoring system

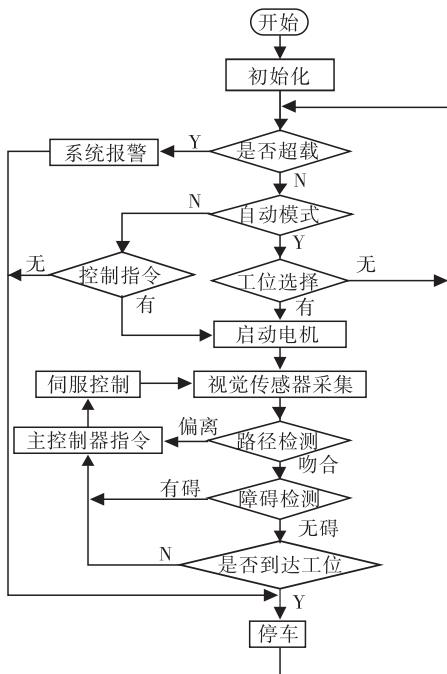


图5 AGV 控制流程图

Fig.5 The control flow chart of AGV

4 PID 控制算法的实现

4.1 PID 控制原理

PID 控制算法因其控制参数相对独立、稳定性高、鲁棒性强和适应面广等优点,成为工业

生产中最常用的一种控制方式^[15]. 其微分方程为

$$u(t) = K_p \cdot e(t) + K_i \cdot \int e(t) dt + K_d \cdot \frac{de}{dt}$$

其中,比例环节决定系统的响应速度与控制精度,积分环节影响系统的稳态误差,微分环节使系统提前在偏差发生较大变化前将其消除,达到快速校正的效果. 综上,PID 控制器可以将比例、积分和微分作用有效综合,使系统获得很好的稳定性和响应速度.

4.2 串级 PID 控制器设计

对 AGV 小车同侧车轮分别进行同步,采用差速控制进行姿态调节. 依据运行状态,分别给左右侧车轮初始速度 $v_L(0)$ 和 $v_R(0)$. 根据 PGV 读头实时检测到的位置偏差值 $Y(k)$ 和角度偏转值 $\varphi(k)$,计算出调整速度 $\Delta v(k)$,分别与两侧车轮 $k-1$ 次采样的速度进行加减,得出调整后的左右轮速度 $v_L(k)$ 和 $v_R(k)$,实时调整车体运行姿态,保证小车精确导引及定位. 经调试可知,造成小车运行不稳定的主要原因是不稳定的 Δv : 过大容易引起小车震荡,过小则无法及

时调节造成小车脱轨. 因此,能够对 Δv 进行较好的控制,是维持系统稳定性的关键.

综上,在传统 PID 控制算法的基础上,采用位置偏差控制外环和角度偏转内环相级联的方式组成双闭环串级 PID 控制器. 控制器原理框图如图 6 所示. 该算法中,位置偏差 PID 控制为主调节器,占据着非常重要的地位. 限幅为防止小车因修正幅度过大而导致的震荡,确保调节的平顺稳定.

位置偏差 PID 控制计算公式如下:

$$\theta(k) = K_{p1} \cdot Y_k + K_{i1} \cdot (Y_0 + Y_1 + \dots + Y_k) \cdot \lambda_1 + K_{d1} \cdot (Y_k - Y_{k-1}) / \lambda$$

式中, Y_k 是 PGV 读头第 k 次采样的路径偏差值, Y_0 是小车初始位置的路径偏差值, λ 是与采样时间有关的时间因子. 路径偏差值 Y_k 作为轨迹偏差 PID 控制器的输入, 输出值 $\theta(k)$ 与角度偏转值相加得 $\mu(k)$ 作为内环输入.

角度偏转 PID 控制计算公式如下:

$$\Delta v(k) = K_{p2} \cdot \mu_k + K_{i2} \cdot (\mu_0 + \mu_1 + \dots + \mu_k) \cdot \lambda + K_{d2} \cdot (\mu_k - \mu_{k-1}) / \lambda$$

经 PID 内环计算得出的调整速度 $\Delta v(k)$, 与左右侧车轮速度进行计算得出调整后的速度, 对小车进行纠偏, 完成导引. 差速调节计算公式分别为

$$v_L(k) = v_L(k-1) + \Delta v(k)$$

$$v_R(k) = v_R(k-1) - \Delta v(k)$$

整定控制参数, 得到最优的参数组合. 单回路控制系统响应见图 7, 串级控制系统响应见图 8. 分别在 35 s 左右加一个外部干扰, 通过对比可知, 串级控制比单回路控制具有更好的调节效果, 对于干扰的响应更迅速, 震荡更小.

经串级 PID 控制器调节, 小车能够按照码带运行, 轨迹偏差值控制在 ± 10 mm 内, 且系统响应迅速, 小车运行稳定. 经测试, 该算法可以满足小车导航需求, 符合预期目标.

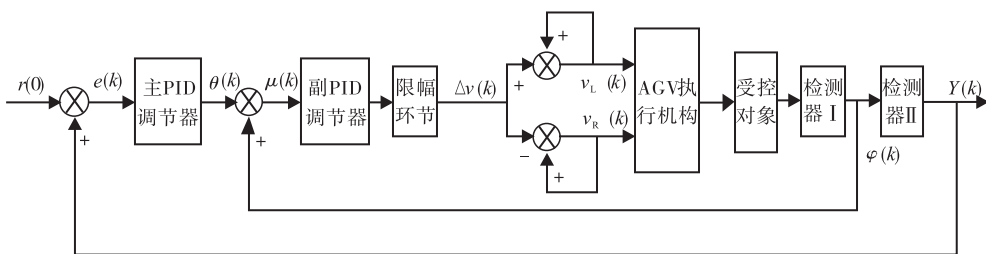


图 6 串级 PID 控制器框图

Fig. 6 The block diagram of cascade PID controller

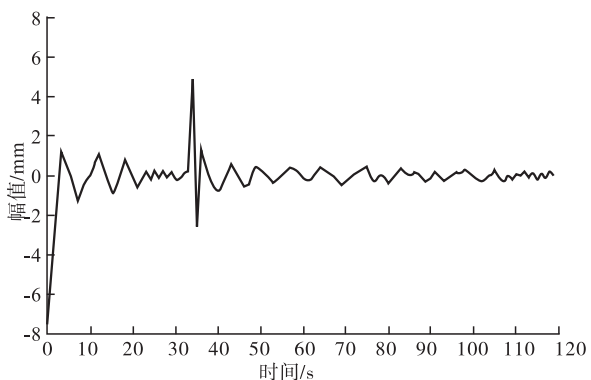


图 7 单回路控制系统响应

Fig. 7 The response of single loop control system

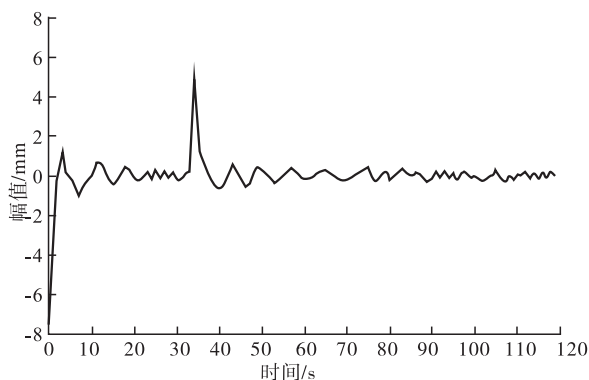


图 8 串级控制系统响应

Fig. 8 The response of cascade control system

5 结语

本文从硬件结构组成、软件设计、PID 控制导引算法等方面对一款载重 10 t 的双向重载智能自主导航车实现了功能设计。经调试, AGV 小车能够按照码带运行, 轨迹偏差值控制在 ± 10 mm 内, 且系统响应迅速, 小车运行稳定, 实现了自主导航、自主避障、自主定位等功能。后续将继续研究更加灵活的设计方案, 并将上位机对多台 AGV 的控制调度策略作为研究重点, 以实现全厂区物流自动化。

参考文献:

- [1] MILJKOVIC Z, VUKOVIC N, MITIC M, et al. New hybrid vision-based control approach for automated guided vehicles [J]. International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2013, 66(1-4):231.
- [2] 卢东华. 计算机控制自动导向小车 (AGV) 的设计与实现 [D]. 上海: 上海交通大学, 2006.
- [3] 潘运平, 鲁峰, 王飞, 等. 工厂 AGV 的结构设计与控制研究 [J]. 现代机械, 2014(5):1.
- [4] ZHANG J, PENG Y T, HUNG W N N, et al. A case study on formal analysis of an automated guided vehicle system [J]. Journal of Applied Mathematics, 2014(3):1.
- [5] EROL R, SAHIN C, BAYKASOGLU A, et al. A multi-agent based approach to dynamic scheduling of machines and automated guided vehicles in manufacturing systems [J]. Applied Soft Computing, 2012(6):1720.
- [6] 吴伟涛. 物流搬运 AGV 的总体方案及其关键技术研究 [D]. 沈阳: 沈阳理工大学, 2013.
- [7] YAHYAEI M, JAM J E, HOSNAVI R. Controlling the navigation of automatic guided vehicle (AGV) using integrated fuzzy logic controller with programmable logic controller (IFLPLC)—stage 1 [J]. International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2010, 47(5):795.
- [8] 朱永平, 廖洵. PLC 无线通讯技术在自动导向车中的应用 [J]. 湖北工业大学学报, 2012, 27(4):97.
- [9] 李铭. 小型重载 AGV 的设计与实验研究 [D]. 西安: 西安理工大学, 2009.
- [10] 谷玉川. AGV 驱动转向一体化机构及其导航控制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [11] 余志生. 汽车理论 [M]. 北京: 机械工业出版社, 2000.
- [12] 黄胃. 基于 PLC 控制的 AGV 技术研究及其应用 [D]. 上海: 华东理工大学, 2013.
- [13] 史建征. 基于 LabVIEW 的全方位 AGV 控制系统研究 [D]. 沈阳: 沈阳航空航天大学, 2014.
- [14] 赵金光. 基于 LabVIEW 的远程测控技术的研究与应用 [D]. 北京: 北京交通大学, 2008.
- [15] 胡蝶. 自动导引车 (AGV) 控制系统的设计与研究 [D]. 武汉: 湖北工业大学, 2014.



引用格式:尚姝钰,陈豪,姜素霞,等.基于模型预测控制的有源电力滤波器开关损耗优化设计[J].轻工学报,2017,32(2):103-108.

中图分类号:TM741.3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2017.2.016

文章编号:2096-1553(2017)02-0103-06

基于模型预测控制的 有源电力滤波器开关损耗优化设计

Optimized design of active power filter switching loss based on model predictive control

尚姝钰¹,陈豪²,姜素霞²,吕恒志¹,陶涛³,崔光照²

SHANG Shu-yu¹,CHEN Hao²,JIANG Su-xia²,LYU Heng-zhi¹,TAO Tao³,
CUI Guang-zhao²

1. 平顶山工业职业技术学院,河南 平顶山 476001;

2. 郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002;

3. 国家电网河南省电力公司 许昌供电公司,河南 许昌 461000

1. Pingdingshan Industrial College of Technology, Pingdingshan 476001, China;

2. College of Electric and Information Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;

3. Xuchang Power Supply Company, State Grid He'nan Electric Power Company, Xuchang 461000, China

关键词:

有源电力滤波器;模型预测控制;评估函数;开关损耗

Key words:

active power filter;
model predictive
control; cost function;
switching loss

摘要:通过 α - β 坐标变换构建了有源电力滤波器逆变器输出电流的预测模型,提出了预测电流优化控制策略,以降低有源电力滤波器开关损耗.该设计利用评估函数对逆变器开关器件不同开关状态电压矢量进行评估,预测所有可能的有源电力滤波器补偿电流值.当评估函数值最小时,将电压矢量对应的开关状态应用于下一采样周期,实现谐波参考电流快速跟踪.评估函数增加了开关频率的附加项,通过控制开关动作次数实现了开关频率下降.仿真结果表明,使用该控制策略,通过优化评估函数并选择合适的权重系数,能够显著降低开关频率,保证开关频率与并网电流的平衡,有效减少开关损耗.

收稿日期:2016-05-24

基金项目:河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目(2015GGJS-180);郑州轻工业学院博士科研基金项目(2013BSJJ025)

作者简介:尚姝钰(1980—),女,河南省平顶山市人,平顶山工业职业技术学院讲师,主要研究方向为电能质量分析与控制.

通信作者:崔光照(1957—),男,河南省洛宁县人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为智能电网技术.

Abstract: The prediction model of the current output of the active power filter inverter was constructed by α - β coordinate transformation, and the optimal current control strategy was proposed to reduce the switching loss of the active power filter. The design used an evaluation function to evaluate the voltage vectors in different switching state of the inverter switching device for the sake of predicting all the possible compensation current values of active power filter. When the evaluation function value turned the smallest, the switch state corresponding to the voltage vector was applied to the next sampling period, achieving the quick tracking of the harmonic reference current. The evaluation function increased the switching frequency of the additional term, by controlling the number of switching operations to realize the switching frequency drop. The simulation results showed that this control strategy could significantly reduce the switching frequency by optimizing the evaluation function and selecting the appropriate weight coefficient, ensure the balance between switching frequency and grid current, and effectively reduce the switching losses.

0 引言

电力电子装置的广泛应用导致电力系统出现谐波污染问题,不但影响正常的电网电压,还会使电流波形产生畸变,成为影响供电质量的突出问题之一^[1-4].为了抑制电流谐波污染,有源电力滤波器得以广泛应用,其控制技术已经成为电力电子领域的研究热点.

传统的滤波器控制方法包括三角载波控制和滞环电流控制等^[5-7].三角载波控制电路实现简单,但在大功率应用中受到限制;滞环电流控制在开关频率变化范围大、负载换路时,被控制量常常不能得到有效控制.随着数字处理器性能的提高,不断有新的控制方法被提出,如模糊控制^[8]、滑模控制^[9]、模型预测控制^[10-14]等.

本文拟采用基于瞬时无功理论的 $i_p - i_q$ 谐波检测法设计检测部分^[5-6],建立有源电力滤波器逆变桥在 α - β 坐标下电流的预测模型,设计预测电流优化控制策略,以降低有源滤波器开关损耗,并通过仿真验证其有效性.

1 三相有源电力滤波器电流预测模型

并联型有源滤波器 SAPF (shunt active power filter) 由指令电流检测模块和补偿电流发生模块两部分组成(见图1).图1中 i_{ia} , i_{ib} 和 i_{ic} 为三相负载电流; i_{sa} , i_{sb} 和 i_{sc} 是电网三相输出电

流; i_{ca} , i_{cb} 和 i_{cc} 分别是三相 SAPF 输出电流; V_a , V_b 和 V_c 分别是 SAPF 交流侧三相输出电压.假设图1中三相电路对称,则 a 相电流满足 $i_{ia} = i_{sa} + i_{ca}$,若 SAPF 的 a 相输出电流 i_{ca} 等于负载电流 i_{ia} 中的谐波电流成分,则电源输出电流 i_{sa} 中只含有基波电流.

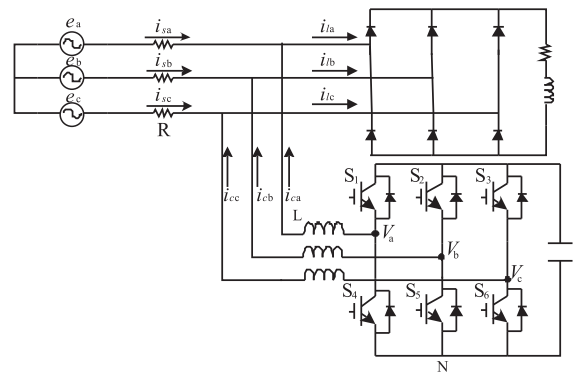


图1 并联型有源滤波器主结构图

Fig.1 The main structure of shunt active power filter

逆变桥晶闸管的开关状态由信号 S_a, S_b, S_c 控制如下:

$$S_a = \begin{cases} 1 & S_1 \text{ 闭合, } S_4 \text{ 断开} \\ 0 & S_1 \text{ 断开, } S_4 \text{ 闭合} \end{cases}$$

$$S_b = \begin{cases} 1 & S_2 \text{ 闭合, } S_5 \text{ 断开} \\ 0 & S_2 \text{ 断开, } S_5 \text{ 闭合} \end{cases}$$

$$S_c = \begin{cases} 1 & S_3 \text{ 闭合, } S_6 \text{ 断开} \\ 0 & S_3 \text{ 断开, } S_6 \text{ 闭合} \end{cases}$$

设开关状态矢量为 S , 则

$$S = \frac{2}{3}(S_a + aS_b + a^2S_c)$$

其中, $a = e^{j2\pi/3}$, 设逆变桥输出电压矢量为 V , 则

$$V = \frac{2}{3}(V_{aN} + aV_{bN} + a^2V_{cN})$$

由图 1 可知 SAPF 接入电网电流动态矢量方程为

$$V = Ri + L \frac{di}{dt} + e \quad (1)$$

其中, R 和 L 分别为电网母线测电容和电感。

式①的矩阵形式为

$$\begin{bmatrix} V_{aN} \\ V_{bN} \\ V_{cN} \end{bmatrix} = R \begin{bmatrix} i_{sa} \\ i_{sb} \\ i_{sc} \end{bmatrix} + L \frac{d}{dt} \begin{bmatrix} i_{ca} \\ i_{cb} \\ i_{ch} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_a \\ e_b \\ e_c \end{bmatrix}$$

在 α - β 坐标下式①的表达式为

$$\begin{bmatrix} V_\alpha \\ V_\beta \end{bmatrix} = R \begin{bmatrix} i_\alpha \\ i_\beta \end{bmatrix} + L \frac{d}{dt} \begin{bmatrix} i_\alpha \\ i_\beta \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_\alpha \\ e_\beta \end{bmatrix} \quad (2)$$

令信号采样周期为 T_s , 则

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} i_\alpha \\ i_\beta \end{bmatrix} = \frac{1}{T_s} \begin{bmatrix} i_\alpha(k+1) - i_\alpha(k) \\ i_\beta(k+1) - i_\beta(k) \end{bmatrix} \quad (3)$$

将式③代入式②, 离散并化简得

$$\begin{bmatrix} i_\alpha(k+1) \\ i_\beta(k+1) \end{bmatrix} =$$

$$\frac{T_s}{L} \begin{bmatrix} V_\alpha(k) - e_\alpha(k) \\ V_\beta(k) - e_\beta(k) \end{bmatrix} + \left(1 - \frac{RT_s}{L}\right) \begin{bmatrix} i_\alpha(k) \\ i_\beta(k) \end{bmatrix} \quad (4)$$

式中, $i_\alpha(k)$ 和 $i_\beta(k)$ 为第 k 个采样周期经 α - β 变换得到的逆变器产生的谐波补偿电流; $V_\alpha(k)$ 和 $V_\beta(k)$ 为第 k 个采样周期经 α - β 变换得到的不同开关状态时的电压矢量; $e_\alpha(k)$ 和 $e_\beta(k)$ 为第 k 个采样周期电网电压经 α - β 变换得到的电压分量; $i_\alpha(k+1)$ 和 $i_\beta(k+1)$ 为第 $k+1$ 个采样周期经 α - β 变换得到的预测谐波电流分量。

2 模型预测电流控制算法设计

基于离散时间模型的模型预测控制原理如

图 2 所示, 通过选择晶闸管开关状态的控制信号 S_n , 使预测模型输出的 $x(t)$ 快速逼近参考值 $x^*(t)$. 系统有 n 种控制信号, 根据 t_k 时刻的 $x(t)$ 和预测函数 $f(x)$, 可以得到 t_{k+1} 时刻所有可能的预测值, 预测函数 $f(x)$ 通常由系统模型得出. 为选取最优控制信号, 根据预测值和参考值之差的绝对值定义评估函数 $g(x^*(t), x(t))$, 评估函数值最小时的控制信号即为最优控制信号. 如图 2 中在 t_k 时刻 S_3 对应的 $x(t)$ 最接近参考值 $x^*(t)$, 此时评估函数的值最小, 所以在 t_{k+1} 时刻选择 S_3 对应的控制信号, 以此类推, 下一时刻采取相同的方式选择控制信号^[15].

三相参考电流 i_a^*, i_b^*, i_c^* 经过 Clarke 变换后得到 α - β 坐标下的参考电流 $i_\alpha^*(k+1)$ 和 $i_\beta^*(k+1)$. 取三相电网电流 i_a, i_b, i_c , 电压 e_a, e_b, e_c 和直流侧电压 V_{dc} , 分别经过 Clarke 变换后得到 α - β 坐标下控制策略所需的各个参数, 即 $e_\alpha, e_\beta, i_\alpha, i_\beta, v_\alpha, v_\beta$, 在某时刻依据式④输出不同电压矢量对应的下一时刻所有预测值 $i_\alpha(k+1)$ 和 $i_\beta(k+1)$. 通过比较评估函数, 选择使评估函数取值最小时的电压矢量, 此时的开关状态为 S_a, S_b, S_c .

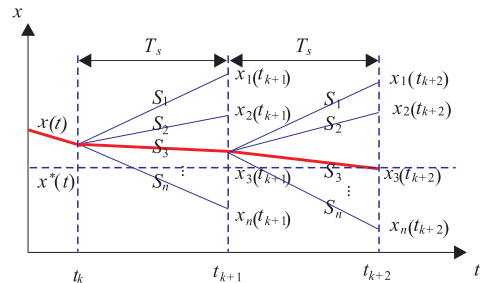


图 2 模型预测控制原理示意图

Fig. 2 Principle of model predictive control

SAPF 补偿模块不同的开关状态对应的电压矢量不同, 各个状态输出的谐波补偿电流也不同. 为了使 t_{k+1} 时刻输出的谐波补偿电流接近检测得到的谐波电流, 预测 t_{k+1} 时刻不同的谐波电流补偿值是必要的. 图 3 为有源电力滤

波器模型预测控制结构图,其中预测函数的作用是预测下一时刻在各个电压矢量作用下输出的谐波补偿电流分量,根据逆变桥电路数学模型推导出的预测函数式④,选择 t_{k+1} 时刻 α - β 坐标下的电流值 $i_\alpha(k+1)$ 和 $i_\beta(k+1)$ 。

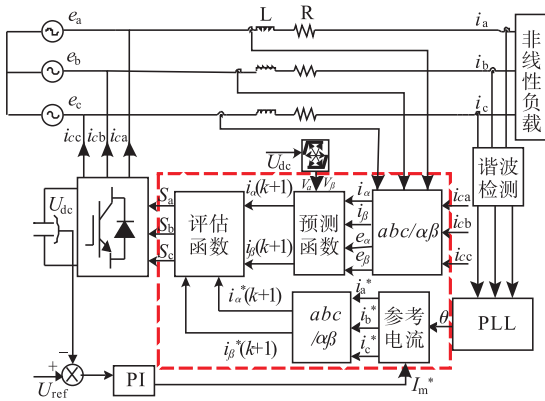


图3 有源电力滤波器模型预测控制结构图

Fig.3 Model predictive control of active power filter structure

图3中评估函数是为从各个预测值中选出最优的开关电压矢量而设置的。 t_{k+1} 时刻预测电流与参考电流的误差最小为最优,将预测电流与参考电流差值的绝对值之和作为评估函数,即

$$g = |i_\alpha^*(k+1) - i_\alpha(k+1)| + |i_\beta^*(k+1) - i_\beta(k+1)| \quad (5)$$

式中, $i_\alpha^*(k+1)$ 和 $i_\beta^*(k+1)$ 是 t_{k+1} 时刻参考电流通过 α - β 变换得到的电流分量。

模型预测控制算法流程见图4,其中 $S(n)$ 为补偿电路的开关状态, $g(j)$ 为第 j 个开关状态时评估函数的值, m 和 j 为变量参数, $j=0-7$ 分别对应逆变桥输出的各种电压矢量。

3 评估函数优化

开关频率是影响有源电力滤波器电能转换补偿效率的重要因素之一,降低开关频率能够有效减少开关损耗。

评估函数的作用是对涉及的变量参数进行

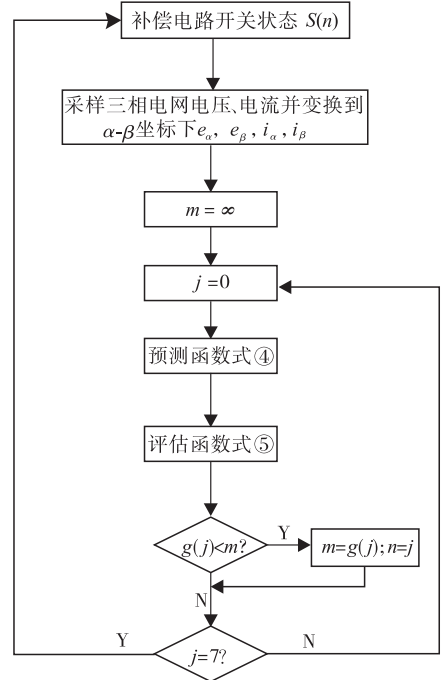


图4 模型预测控制算法流程图

Fig.4 Flow diagram of model predictive control algorithm

评估,以选出最优状态.为了降低开关频率,需对评估函数进行优化:通过增加开关频率的附加项,控制开关动作次数,来实现降低开关频率.将式⑤添加附加项即可实现评估函数的优化:

$$g = (i_\alpha^* - i_\alpha^P(k+1))^2 + (i_\beta^* - i_\beta^P(k+1))^2 + \lambda n \quad (6)$$

式中, i_α^* 和 i_β^* 为给定参考电流, λ 为权重系数, n 为开关状态从 $S(k)$ 到 $S(k+1)$ 时的开关动作次数。

三相逆变器开关矢量 $\mathbf{S} = (S_a, S_b, S_c)$ 确定了各逆变器桥臂的开关状态,则从 t_k 时刻到 t_{k+1} 时刻的开关动次数

$$n = |S_a(k+1) - S_a(k)| + |S_b(k+1) - S_b(k)| + |S_c(k+1) - S_c(k)|$$

式中, $S_a(k), S_b(k), S_c(k)$ 为 t_k 时刻的开关状态; $S_a(k+1), S_b(k+1), S_c(k+1)$ 为 t_{k+1} 时刻的开关状态。

4 仿真结果与分析

采用 Simulink 搭建基于瞬时无功功率理论的 $i_p - i_q$ 谐波电流检测模块,以及模型预测电流控制的补偿电流产生模块.检测部分低通滤波器的截止频率为 50 Hz,阶数为 2 阶.仿真参数:直流侧电容 $C = 5000 \mu\text{F}$,滤波电感 $L = 30 \text{ mH}$,电网电压 $e = 380 \text{ V}$,负载侧电阻 $R = 40/50 \Omega$,负载侧电感 $L = 8 \text{ mH}$.在仿真过程的 0.2 s 时,负载侧电阻为 40Ω .另外分别取不同的权重系数进行仿真,观察其对应开关频率对有源电力滤波器补偿性能(THD)的影响.

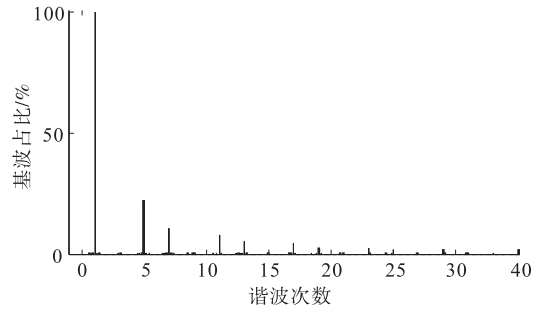
为了更直观地分析改变权重系数对有源电力滤波器补偿特性的影响,分别对补偿前后的电网电流进行谐波分析,结果如图 5 所示.从图 5a)中可以看出,当接入非线性负载之后,电网电流发生畸变,电流畸变率达 27.78%,此时电流中除了含有基波外,5 次、7 次、11 次、17 次等谐波也占有较大的比例.由图 5b)—e)可得不同权重系数下谐波分析结果(见表 1).

表 1 中的数据表明,当权重系数 $\lambda = 0.0$ 时,平均开关频率为 1700 Hz;当权重系数 $\lambda = 1.0$ 时,平均开关频率为 1000 Hz,补偿后电网电流谐波含量降低为 4.7%.当式⑥中权重系数 λ 增大时,逆变桥的开关频率下降,但相应的并网电流 THD 变大,故需要选择合适的权重系数,才能保证开关频率与并网电流的平衡.经过比较,当 $\lambda = 1.0$ 时,电网电流 $\text{THD} = 4.7\%$,可满足电网电流 $\text{THD} < 5\%$ 的要求;若继续降低开关频率,电网电流 $\text{THD} > 5\%$.因此, $\lambda = 1.0$ 是合适的系数.

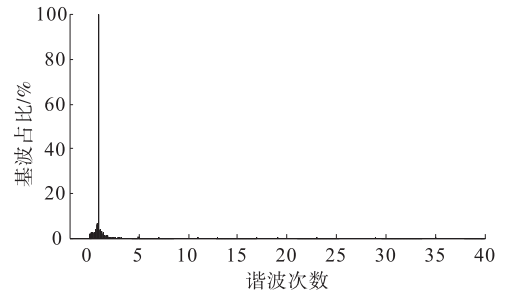
仿真结果表明,适当调整权重系数能够显著降低开关频率,验证了优化评估函数的有效性.

5 结语

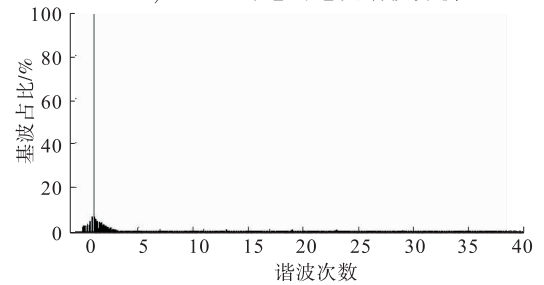
本文通过建立有源电力滤波器的电流预测



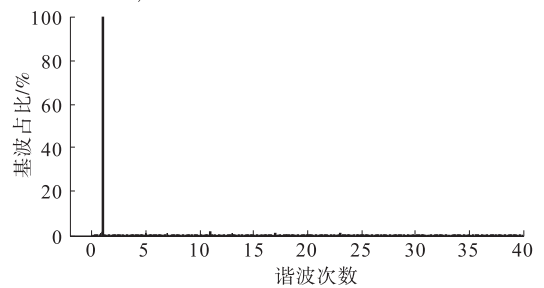
a) 负载侧谐波分析



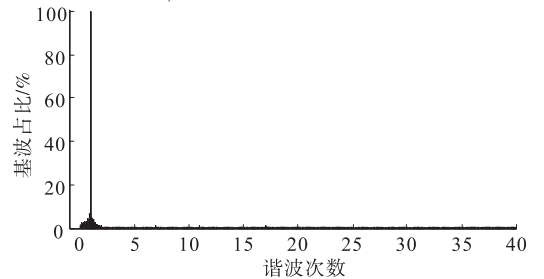
b) $\lambda = 1.5$ 的电网电流谐波分析



c) $\lambda = 1.0$ 的电网电流谐波分析



d) $\lambda = 0.5$ 的电网电流谐波分析



e) $\lambda = 0.0$ 的电网电流谐波分析

图 5 SAPF 在补偿前后电网电流谐波分析

Fig. 5 Harmonic analysis of grid current waveform of SAPF before and after compensation

表1 不同权重系数下谐波分析结果

Table 1 The harmonic analysis results under different weight coefficient

权重系数 λ	开关频率 f_{sw}/Hz	THD/%
0.0	1700	2.5
0.5	1300	3.6
1.0	1000	4.7
1.5	900	9.4

模型,基于有限状态模型预测控制方法,进行有源滤波器的控制优化问题研究,提出了一种在 α - β 坐标下开关损耗优化控制策略.该策略通过增加开关频率的附加项优化了评估函数,控制开关动作次数,降低了开关频率.基于 Simulink 搭建仿真模型,仿真结果表明,优化评估函数并选择合适的权重系数,能够显著降低开关频率,保证开关频率与并网电流的平衡,有效减少开关损耗.

参考文献:

- [1] RAHMANI S, MENDALEK N, AL-HADDAD K. Experimental design of a nonlinear control technique for three-phase shunt active power filter [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2010, 57(10):3364.
- [2] 周柯,王凯,刘路,等.一种改进型并联混合有源电力滤波器及其控制[J].中国电机工程学报,2012,32(30):67.
- [3] TANG Y, LOH P C, WANG P, et al. Generalized design of high performance shunt active power filter with output LCL filter [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2012, 59(3):1443.
- [4] TRINH Q N, LEE H H. An advanced current control strategy for three-phase shunt active power filters [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2013, 60(12):5400.
- [5] 王兆安,杨君,刘进军.谐波抑制与无功功率补偿[M].北京:机械工业出版社,1998.
- [6] 左坤,李铮,吴建明,等.基于瞬时无功功率理

论的谐波检测方法的研究[J].电力学报,2011,26(2):104.

- [7] LAM C S, WONG M C, HAN Y D. Hysteresis current control of hybrid active power filters [J]. IET Power Electronics, 2012, 5(7):1175.
- [8] MUYEEN S M, AL-DURRA A. Modeling and control strategies of fuzzy logic controlled inverter system for grid interconnected variable speed wind generator [J]. IEEE Systems Journal, 2013, 7(4):817.
- [9] CURKOVIC M, JEZERNIK K, HORVAT R. FPGA-based predictive sliding mode controller of a three-phase inverter [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2013, 60(2):637.
- [10] ODAVIC M, BIAGINI V, ZANCHETTA P, et al. One-sample-period-ahead predictive current control for high-performance active shunt power filters [J]. IET Power Electronics, 2011, 4(4):414.
- [11] PREINDL M, SCHALTZ E, THOGERSEN P. Switching frequency reduction using model predictive direct current control for high-power voltage source inverters [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2011, 58(7):2826.
- [12] CORTES P, RODRIGUEZ J, SILVA C, et al. Delay compensation in model predictive current control of a three-phase inverter [J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2012, 59(2):1323.
- [13] 金楠,邓轩轩,崔光照,等.光伏并网逆变器模型预测直接功率控制方法研究[J].电气工程学报,2016(6):13.
- [14] 漆铭钧,罗安,刘定国,等.有源电力滤波器参考电流的预测方法及其实现[J].中国电机工程学报,2009,29(7):128.
- [15] 金楠,胡石阳,崔光照,等.光伏并网逆变器有限状态模型预测电流控制[J].中国电机工程学报,2015,35(S1):190.