



CN 41-1437/TS  
ISSN 2096-1553  
CODEN QXIUAV

# 轻工学报<sup>®</sup>

QINGGONG  
XUEBAO

JOURNAL OF LIGHT INDUSTRY



网站



公众号

ISSN 2096-1553

09 >



9 772096 155186

2018年9月15日出版

中国高校优秀科技期刊

河南省二十佳提名期刊

俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI) 来源期刊

美国《艾博思科数据库》(EBSCOhost) 来源期刊

英国《食品科技文摘》(FSTA) 来源期刊

美国《化学文摘》(CA) 来源期刊

美国《乌利希期刊指南》(Ulrichs) 收录期刊

第 5 期 2018 年  
第 33 卷总第 153 期

# 轻工学报<sup>®</sup>

JOURNAL OF LIGHT INDUSTRY

## 学术顾问(以姓氏笔画为序)

- 王世成 中国轻工业联合会党委副书记 博士生导师  
孙宝国 中国工程院院士 中国轻工业联合会特邀副会长 北京工商大学校长  
朱蓓薇 中国工程院院士 大连工业大学教授 博士生导师  
江伟辉 景德镇陶瓷大学校长 教授 博士生导师  
陈克复 中国工程院院士 华南理工大学教授 博士生导师  
陈嘉川 齐鲁工业大学校长 教授 博士生导师  
李春文 清华大学教授 博士生导师  
张玉奎 中国科学院院士 中国科学院大连化学物理研究所研究员 博士生导师  
张明高 中国工程院院士 中国电波传播研究所研究员 博士生导师  
张锁江 中国科学院院士 中国科学院过程工程研究所所长 研究员 博士生导师  
金 涌 中国工程院院士 清华大学教授 博士生导师  
金征宇 江南大学副校长 教授 博士生导师  
杨叔子 中国科学院院士 华中科技大学教授 博士生导师  
曹巨江 陕西科技大学教授 博士生导师  
谢宋和 武汉轻工大学副校长 教授  
路福平 天津科技大学副校长 教授 博士生导师

## 编委会组成人员

主任委员:赵卫东

副主任委员:毛多斌 王新杰 方少明(常务) 张福平

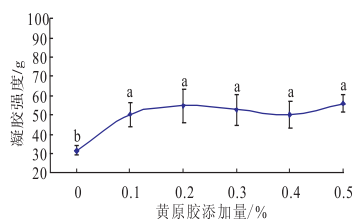
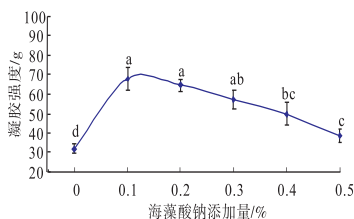
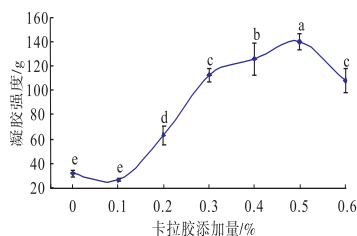
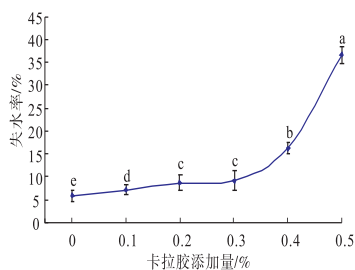
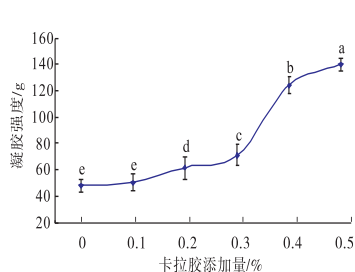
委员(以姓氏笔画为序):

王 军	王永华	王国庆	王延峰	王新杰	方少明
毛多斌	甘 勇	白艳红	申瑞玲	吕彦力	许春平
孙玉胜	杜 森	苏玉玲	张东初	张治红	张建伟
张胜利	张福平	张素智	宋寅卯	何培英	陈镇平
尚宝平	罗国富	赵卫东	郭晓丽	龚 毅	崔光照

### 目次 CONTENTS

#### 食品与生物工程[栏目主持:胡永金]

- 1 胡永金,薛桥丽, 三川火腿加工过程中生物胺的变化规律  
李泽众,张云鹤, The change rule of biogenic amines during the processing of Sanchuan ham  
李世俊 HU Yongjin, XUE Qiaoli, LI Zezhong, ZHANG Yunhe, LI Shijun
- 9 汪薇,杨宏, 斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备及其胶凝性能优化研究  
严守雷 Preparation of gelatin from Channel Catfish skin and its gelling performance optimization  
WANG Wei, YANG Hong, YAN Shoulei



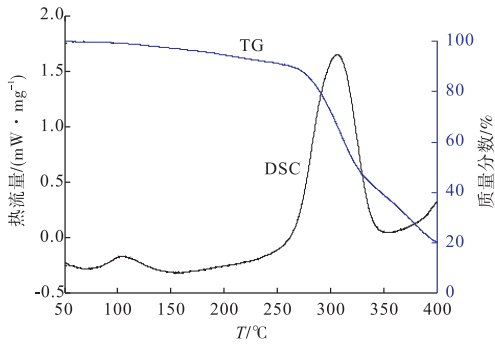
- 20 金晓帆,商玉荟, 无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分的影响  
朱萍,钟秋平 Effect of inorganic nitrogen sources supplementation on (non) volatile constituents in lychee wine  
JIN Xiaofan, SHANG Yuhui, ZHU Ping, ZHONG Qiuping
- 30 肖旭华,汪薇, 超声波辅助水酶法提取芝麻油的工艺优化研究  
杨宏 Process optimization of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of sesame oil  
XIAO Xuhua, WANG Wei, YANG Hong

主编:张福平 副主编:邹琳  
责任编辑:王健东 杨晓娟  
编辑人员:张福平 邹琳 王健东  
王榕 王晓波 杨晓娟  
特邀编辑:刘西琳 陈燕 刘静(外文)

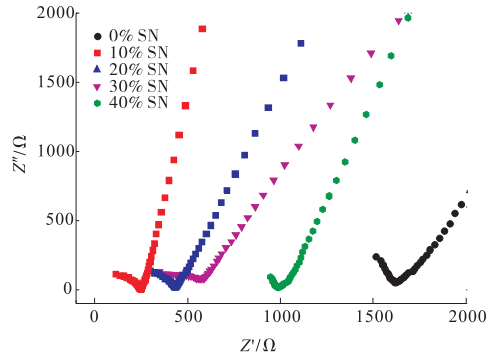
## 烟草科学与工程

- 37 许春平,俞金伟,烟草花蕾的酶解条件优化及其烟用香料制备研究  
冉盼盼,白家峰, Optimization of enzymatic hydrolysis conditions of tobacco flower buds and  
马扩彦,姚延超, preparation of tobacco flavor  
刘绍华 XU Chunping, YU Jinwei, RAN Panpan, BAI Jiafeng, MA Kuoyan, YAO Yanchao, LIU Shaohua  
实验结果表明:1)酶解温度为50 ℃,酶解时间为6 h,酶解pH值为6,加酶量为1%(质量分数)时,氨基酸含量和还原糖含量最高,分别为2.89 mg/g和0.88 mg/g;2)香味物质主要有65种,其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、氧化石竹烯、烟草烯、植酮、大马士酮、巨豆三烯酮、油酸酰胺、2-正戊基呋喃等香气阈值较低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出;3)氨基酸、还原糖含量与香味物质总量的相关性不明显,与香味物质的种类数量呈正相关。
- 44 余晶晶,蔡君兰,手性色谱柱-HPLC-DAD法分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体  
王冰,秦亚琼, Separation and analysis of nicotine enantiomers in tobacco and tobacco  
赵晓东,刘克建, products using chiral column-HPLC-DAD method  
薛聪,张晓兵, YU Jingjing, CAI Junlan, WANG Bing, QIN Yaqiong, ZHAO Xiaodong, LIU Kejian, XUE Cong,  
刘绍锋 ZHANG Xiaobing, LIU Shaofeng  
方法表征和检验结果表明:1)左旋烟碱和右旋烟碱分别在15~750 μg/mL, 0.75~30.00 μg/mL质量浓度范围内线性关系良好,二者检出限和定量限分别为0.02 mg/g和0.05 mg/g;2)烟碱的日内、日间测定结果的精密度分别小于等于0.85%,4.00%;左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为94.93%~103.70%, 92.50%~117.50%。这表明本方法精密度较好,回收率较高。使用该方法对26个不同类型烟草及烟草制品的烟碱旋光异构体进行测定发现,烟草中主要为左旋烟碱,仅6个样品中检出右旋烟碱,且右旋烟碱质量占总烟碱比例为0.18%~0.70%;10个成品卷烟烟丝及其主流烟气中,右旋烟碱质量占总烟碱的比例明显高于卷烟烟丝。
- 53 许蔼飞,章平泉,用气相色谱法同时测定薄荷型卷烟滤嘴中的薄荷醇、三乙酸甘油酯和  
范忠,黄世杰, 烟碱含量  
陈志燕,周芸, Simultaneous determination of the content of menthol, triacetin and  
唐桂芳,朱静, nicotine in mint cigarette filter by gas chromatography  
李小兰,许春平 XU Aifei, ZHANG Pingquan, FAN Zhong, HUANG Shijie, CHEN Zhiyan, ZHOU Yun, TANG Guifang,  
ZHU Jing, LI Xiaolan, XU Chunping
- 60 杨建云,田孟玉,基于近红外光谱技术的初烤烟叶致香成分含量特性快速定量评价  
裴梓桦,赵蔚, Rapid quantitative evaluation of the content of aroma components in  
马骥,李俊谷, flue-cured tobacco leaves based on near-infrared spectroscopy  
杨乾栩 YANG Jianyun, TIAN Mengyu, PEI Ziyue, ZHAO Wei, MA Ji, LI Jungu, YANG Qianxu

- 69 邢雅兰,陈泓州, 新型全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的制备及其电化学性能研究  
吴昊,熊刚毅, 张世超  
Study on preparation and electrochemical performance of new all-solid-state polymer electrolyte PEG475-DMAA copolymer  
XING Yalan, CHEN Hongzhou, WU Hao, XIONG Gangyi, ZHANG Shichao



PEG475-DMAA+10%SN体系的TG-DSC曲线



PEG475-DMAA体系的室温交流阻抗谱图

- 77 方华,张振华, 分级多孔石墨烯/活性炭复合材料的制备及其电化学电容性能分析  
常鑫波,张含之, Preparation and electrochemical capacitance properties analysis of  
张辉 hierarchically porous graphene/activated carbon composites  
FANG Hua, ZHANG Zhenhua, CHANG Xinbo, ZHANG Hanzhi, ZHANG Hui
- 83 陈雪,刘文博, 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的制备及其电化  
董鑫,成朋 学性能研究  
Study on preparation and electrochemical properties of three-dimensional  
interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with  
bimodel pore size distribution  
CHEN Xue, LIU Wenbo, DONG Xin, CHENG Peng

计算机与通信工程

- 90 陈建明,时铭慧 结合改进的 SIFT 算法的双目视觉测距  
Binocular vision ranging combined with improved SIFT algorithm  
CHEN Jianming, SHI Minghui  
结合改进的 SIFT 算法的双目视觉测距方案采用类单目的双目视觉模型,以减少  
计算变量;采用缩小尺度空间个数、降低特征向量维度、街区距离代替欧式距离  
的方法对传统的 SIFT 算法进行改进,以提高两摄像机同时拍摄的两幅图片同一  
特征点的匹配效率.结果表明:该方法匹配时间缩短了32%,测量最大误差率降  
至3.75%,可满足无人机快速实时巡线测距的精度要求.
- 97 朱颢东,薛校博, 海量数据下基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法  
李红婵,孟颖辉 Distributed FP-Growth algorithm based on Hadoop under massive data  
ZHU Haodong, XUE Xiaobo, LI Hongchan, MENG Yinghui
- 103 陈欣,于俊洋, 基于 CNN 和 B-LSTM 的文本处理模型研究  
赵媛媛 Research on text processing model based on CNN and B-LSTM  
CHEN Xin, YU Junyang, ZHAO Yuanyuan

# 《轻工学报》稿约

## 一、选题范围

1. 来稿应选题新颖,有前瞻性、创新性。本刊主要刊载食品与生物工程、烟草科学与工程、材料与化学工程、机电科学与工程、电气与控制工程、计算机与通信工程等学科方向、服务轻工行业领域的学术研究成果。

2. 对高级专家、学科带头人的来稿,以及根据国家及省部级基金资助研究项目(应给出项目来源及编号)撰写的论文一经审稿通过,将优先发表并从优付酬。欢迎学术团队和重点实验室的重大项目综述、研究进展、专题理论研究与应用研究专题集中投稿。

3. 涉密单位和项目,须提供单位或组织审查同意发表证明。

## 二、构成要求

1. 文章标题应能反映所用关键技术与主要研究内容,并附与中文标题对应的英文题名。

2. 署名作者(包括单位,附英文)应为参与研究、对内容负责者;第一作者信息包括性别、出生年、民族、籍贯、单位、职称、学位、主要研究方向、邮政编码、联系电话、电子信箱等。

3. 摘要(附英文)是文章基本内容的浓缩,应能揭示研究指向和技术实现路径,突出学术创新,由目的、方法、结果和结论四要素组成,200字左右。

4. 关键词(附英文)应准确反映论文主题、研究角度与特点,3—8个为宜。

5. 来稿应层次分明,结构合理,图表清晰(附英文标题),数据真实完整准确,图表与内文表意一致。引言应包括研究目的、理论基础、问题产生的背景和意义、已有研究不足和本文创新指向、技术路线及选择特定研究方法的理由;实验设计应科学(欢迎附加实验微视),结果与讨论应有对结果的研判与原因分析(综述文章各部分应环环相扣,构成完整的体系,不仅要述,还要评);结论是将正文中的数据或结果进行推理归纳,进而得出规律性的论点,应科学、准确,立足全文。

6. 文献引用应全面、权威、新颖,不少于10篇(综述不少于30篇),并在文中用序号一一标明、统一在文末列出;同一文献在文中共用一个序号;文后参考文献著录项目应完整规范:连续出版物按“主要责任者.文献题名[J].刊名,年,卷(期):起始页码。”顺序排列,专著按“主要责任者.文献题名[M].译者.版本.出版地:出版者,出版年:引文页码。”顺序排列,论文集中的析出文献按“析出文献主要责任者.析出文献题名[C]//文集题名.出版地:出版者,出版年:析出文献起止页码。”顺序排列。

## 三、其他事项

1. 本刊不收纸质文稿,请登录 <http://zzqb.cbpt.cnki.net> 在线投稿(可参见本刊网站 <http://xb.zzuli.edu.cn> 投稿指南),投稿两周后可通过电子邮件 [qgxb@zzuli.edu.cn](mailto:qgxb@zzuli.edu.cn) 或致电(0371)63556285 询问审稿情况。

2. 来稿文责自负,不能一稿多投(稿件发出3个月后未接到采用通知的方可另投他刊),不能抄袭或剽窃他人作品,凡因作品本身侵犯其他公民或法人合法权益的,作者应承担全部责任并赔偿因此而给本刊造成的损失;参考或引用他人作品,必须按《著作权法》规定注明(尽量给出原始文献),但摘引率应低于5%,不能歪曲被引作品原意。

3. 为达到出版要求,编辑部一般要对来稿作适当整合、修改,若作者不同意,请在来稿时声明。

4. 文章发表后,即致稿酬(含中国知网、万方数据资源系统数字化期刊群、维普中文科技期刊数据库、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI)、英国《食品科技文摘》(FSTA)等本刊加入的国内外数字出版系统和文摘的入网入编稿费,不同意其他报刊、数据库等转载摘编者,请在来稿时声明),另赠样刊两本,并向作者提供邮箱的好友免费发送电子样刊。

## 文后参考文献著录规则(摘编)

参考文献的著录,按论文中引用顺序排列。

文献类型标志参考国家标准 GB/T 7714—2015,如下表:

文献类型	普通图书	会议录	汇编	报纸	期刊	学位论文	报告	标准	专利	数据库	计算机程序	电子公告	档案	舆图	数据 集	其他
标志代码	M	C	G	N	J	D	R	S	P	DB	CP	EB	A	CM	DS	Z

按照引用的文献类型不同使用不同的方法,示例如下:

1. **专著著录格式** 主要责任者.题名:其他题名信息[文献类型标识/文献载体标识].其他责任者.版本项.出版地:出版者,出版年:引文页码[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符.

[1] PEEBLES P Z Jr. Probability, random variable, and random signal principles[M]. 4th ed. New York: McGraw Hill, 2001.

2. **专著中析出的文献著录格式** 析出文献主要责任者.析出文献题名[文献类型标识/文献载体标识].析出文献其他责任者//专著主要责任者.专著题名:其他题名信息.版本项.出版地:出版者,出版年:析出文献的页码[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符.

[2] 程根伟. 1998年长江洪水的成因与减灾对策[M]//许厚泽,赵其国.长江流域洪涝灾害与科技对策.北京:科学出版社,1999:32-36.

[3] 贾东琴,柯平.面向数字素养的高校图书馆数字服务体系研究[C]//中国图书馆学会.中国图书馆学会年会论文集:2011年卷.北京:国家图书馆出版社,2011:45-52.

3. **连续出版物中的析出文献著录格式** 析出文献主要责任者.析出文献题名[文献类型标识/文献载体标识].连续出版物题名:其他题名信息,年,卷(期):页码[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符.

[4] 于潇,刘义,柴跃廷,等.互联网药品可信交易环境中主体资质审核备案模式[J].清华大学学报(自然科学版),2012,52(11):1518.

4. **专利文献著录格式** 专利申请者或所有者.专利题名:专利号[文献类型标识/文献载体标识].公告日期或公开日期[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符.

[5] 河北绿洲生态环境科技有限公司.一种荒漠化地区生态植被综合培育种植方法:01129210.5[P/OL].2001-10-24[2002-05-28].<http://211.152.9.47/sipoasp/zlijs/hyjs-yx-new.asp?recid=01129210.5&leixin=0>.

#### 5. 学位论文著录格式

[6] CALMS R B. Infrared spectroscopic studies on solid oxygen[D]. Berkeley: Univ. of California, 1965.

#### 6. 报告著录格式

[7] 中国互联网络信息中心.第29次中国互联网络发展现状统计报告[R/OL].(2012-01-16)[2013-03-26].<http://www.cnnic.net.cn/hlwfzyj/hlwzbg/201201/P020120709345264469680.pdf>.

#### 7. 报纸中析出文献著录格式

[8] 丁文祥.数字革命与竞争国际化[N].中国青年报,2000-11-20(15).

8. **电子资源著录格式** 主要责任者.题名:其他题名信息[文献类型标识/文献载体标识].出版地:出版者,出版年:引文页码(更新或修改日期)[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符.

[9] HOPKINSON A. Unimarc and metadata: dublin core[EB/OL].(2009-04-22)[2013-03-27].<http://archive.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.

#### 9. 标准的著录格式

[10] 中国国家标准化管理委员会.卷烟感官质量要求:GB 5606.4—2005[S].北京:中国标准出版社,2005.



引用格式:胡永金,薛桥丽,李泽众,等. 三川火腿加工过程中生物胺的变化规律[J]. 轻工学报,2018,33(5):1-8.

中图分类号:TS251.5<sup>+</sup>1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.001

文章编号:2096-1553(2018)05-0001-08

# 三川火腿加工过程中生物胺的变化规律

The change rule of biogenic amines during the processing of Sanchuan ham

胡永金<sup>1</sup>,薛桥丽<sup>2</sup>,李泽众<sup>1</sup>,张云鹤<sup>1</sup>,李世俊<sup>1</sup>

HU Yongjin<sup>1</sup>, XUE Qiaoli<sup>2</sup>, LI Zezhong<sup>1</sup>, ZHANG Yunhe<sup>1</sup>, LI Shijun<sup>1</sup>

1. 云南农业大学 食品科学技术学院,云南 昆明 650201;

2. 云南农业大学 学报编辑部,云南 昆明 650201

1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Journal Editorial Department, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

**摘要:**以用传统发酵工艺制作的三川火腿为研究对象,采用高效液相色谱法检测三川火腿腌制期、晾干期和堆焐发酵期中8种主要生物胺的质量浓度,探究三川火腿加工过程中生物胺的变化规律.结果表明:1)共检测出7种生物胺,分别为苯乙胺、尸胺、腐胺、组胺、酪胺、亚精胺和精胺,未检测出色胺,且苯乙胺只在腌制中期被检出.其中,腐胺和精胺存在于三川火腿的整个加工过程中;尸胺的质量浓度在7种生物胺中最高,其次是精胺,尸胺的质量浓度在三川火腿加工过程中持续增加,在堆焐发酵后期达到最大值( $69.24 \pm 12.54$ ) mg/kg,但在堆焐发酵末期又开始显著降低;亚精胺和精胺都保持着较平稳的质量浓度变化,其中亚精胺的质量浓度一直处于较低水平;苯乙胺只在腌制中期被检出;组胺的质量浓度较低,最高仅为( $22.52 \pm 5.25$ ) mg/kg,较为安全.2)在三川火腿的整个加工过程中,总生物胺的质量浓度呈先上升、后平稳、再上升的趋势:新鲜三川火腿中总生物胺的质量浓度最低,为( $5.84 \pm 1.30$ ) mg/kg,到腌制中后期,总生物胺的质量浓度显著增加( $P < 0.05$ );进入晾干期,总生物胺的质量浓度增加不显著( $P > 0.05$ );堆焐发酵期是生物胺累积的主要时期,堆焐发酵后期的总生物胺的质量浓度最高,为( $158.08 \pm 31.35$ ) mg/kg.

## 关键词:

三川火腿;生物胺;  
高效液相色谱法

## Key words:

Sanchuan ham;  
biogenic amine;  
HPLC

收稿日期:2018-07-12

基金项目:国家自然科学基金项目(31460445)

作者简介:胡永金(1971—),男,云南省永胜县人,云南农业大学教授,博士,主要研究方向为食品微生物、功能性食品与生物技术.

通信作者:李世俊(1971—),男,云南省永胜县人,云南农业大学副教授,博士,主要研究方向为食品科学与工程.



**Abstract:** With Sanchuan ham made by traditional fermentation process as raw material, the mass concentration of 8 main biogenic amines in the curing, drying and fermentation stages of Sanchuan ham was determined by HPLC, and the change rule of biogenic amines in the processing of Sanchuan ham was studied. The results showed that: 1) a total of 7 kinds of biogenic amines were detected, which were phenethylamine, resinsamine, saprolamine, histamine, tyramine, ispermine and spermine. Tryptamine was not detected out. Among them, sapromine and spermine existed in the whole process of Sanchuan ham. The cadaverine mass concentration was the highest in 7 species, followed by spermine. The cadaverine mass concentration continued to increase during the processing of Sanchuan ham, and reached the maximum value in the late stage of fermentation, which was  $(69.24 \pm 12.54)$  mg/kg, but began to decrease significantly in the late stage of fermentation. The mass concentration of spermidine and spermine were stable, and the mass concentration of spermidine was low. Phenethylamine was detected only in the middle of curing. The mass concentration of histamine was low, and the highest mass concentration was only  $(22.52 \pm 5.25)$  mg/kg, which was relatively safe. 2) during the whole process of Sanchuan ham, the total biogenic amine mass concentration first increased, then stabilized and then decreased: the total biogenic amine mass concentration in fresh Sanchuan ham was the lowest, which was  $(5.84 \pm 1.30)$  mg/kg, and the total biogenic amine mass concentration increased significantly in the middle and late stage of curing ( $P < 0.05$ ). During the drying period, the increase of total biogenic amine mass concentration was not significant ( $P > 0.05$ ). In the late stage of fermentation, the mass concentration of biogenic amine was the highest, which was  $(158.08 \pm 31.35)$  mg/kg.

## 0 引言

三川火腿是产自云南丽江、有着 600 多年悠久历史的传统特色发酵肉制品,因其原产于丽江三川坝而得名. 长期以来,三川火腿因其色泽鲜艳、香气醇厚、风味独特、品质上乘、质地柔软而久享盛誉<sup>[1]</sup>. 三川火腿在腌制过程中不使用硝酸盐、火硝、防腐剂等添加剂,具有低盐、低亚硝酸盐和低过氧化值等优点. 此外,三川火腿营养丰富,盐分适中,色香味俱佳,亚硝酸盐的质量浓度仅为国家一级火腿的 0.5%, 被国家食品专家称为“软性火腿”<sup>[2]</sup>. 三川火腿的加工工艺主要是腌制、晾干和堆焐发酵<sup>[1]</sup>. 其中,腌制工艺首先是将经检验合格的三川土著黑毛猪的鲜猪后腿放在竹筐内充分晾凉,然后分次上盐并反复用力揉搓,同时在火腿表面淋上高度白酒,反复数次,使食盐和白酒充分、均匀地渗入,最后把火腿放入腌制池内,分层堆放,15 d 左右上下翻动一次,25 ~ 30 d 便可出缸晾挂;晾干工艺是将火腿从腌肉缸内取出,首先在其表面蒙上一层白棉纸,然后上架晾挂风干,晾挂时间为

1 ~ 2 个月;堆焐发酵工艺是将晾干后的火腿(以尖部渗油为度)取下后套一个布袋,放入竹筐内用灶灰堆焐,堆焐发酵半年以上即可取出烹调食用.

生物胺 BA (biogenic amines) 是生物体内产生的一类低分子含氮有机化合物的总称<sup>[3]</sup>. 食品中存在的生物胺主要有 8 种,包括组胺、腐胺、尸胺、酪胺、色胺、 $\beta$ -苯乙胺、精胺和亚精胺<sup>[4]</sup>. 目前,市场上大部分食品中都含有生物胺,尤其是蛋白质含量比较丰富的发酵类食品<sup>[5]</sup>. 食品中的生物胺主要是由微生物产生的氨基酸脱羧酶促使氨基酸脱羧,以及醛或酮的转胺作用生成,而在发酵肉制品中,生物胺主要靠微生物产生的氨基酸脱羧酶促使氨基酸脱羧生成. 食品中适量的生物胺有利于人体健康,但过量的生物胺则会使人中毒,从而引起头疼、血压变化、呼吸紊乱、心悸、呕吐等不良反应,严重时甚至会导致死亡<sup>[6]</sup>.

近年来,国内外很多学者针对发酵肉制品中的生物胺进行了研究. 发酵肉制品中主要的

生物胺以色胺、苯乙胺、腐胺、组胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺为主,但不同种类的发酵肉制品,其生物胺种类和质量浓度尚存在一定的差别.刘姝韵等<sup>[7]</sup>研究发现,精胺的质量浓度在云南牛干巴的整个加工过程中都是最高的,其最大值达到 $(227.05 \pm 18.57)$  mg/kg,进入成熟期3个月时,生物胺总量达到最大值 $(392.36 \pm 35.59)$  mg/kg. P. Ikonic等<sup>[8]</sup>研究发现,在塞尔维亚发酵香肠的成熟过程中,生物胺的质量浓度变化范围为113~332 mg/kg,并且没有检测到组胺.于长青等<sup>[9]</sup>研究发现,香肠中芳香胺类质量浓度较高,特别是酪胺和苯乙胺.孙霞等<sup>[10]</sup>检测发现,30种市售四川香肠中组胺的平均质量浓度最高,酪胺、尸胺和腐胺次之,亚精胺的平均质量浓度最低. G. Favaro等<sup>[11]</sup>在发酵香肠和干腌制品中,检测到了酪胺、腐胺和尸胺. R. Monica等<sup>[12]</sup>发现意大利涂抹式香肠中生物胺的质量浓度随腌制时间的增加而增加,而且其中质量浓度最高的是酪氨酸、腐胺和尸胺3种.生物胺的形成主要与特定的微生物有关,而不同国家(地区、组织)的地理环境、气候条件、发酵肉制品的生产条件、种类各不相同,使得发酵肉制品中微生物的区系有较大差异,从而导致生物胺的种类和质量浓度不同<sup>[13-14]</sup>.鉴于发酵肉制品中生物胺的潜在毒性,有必要对我国传统发酵肉制品中生物胺的检测和控制进行深入分析和研究.

三川火腿采用传统自然发酵而成,发酵时间长,受季节影响较大,检测和分析三川火腿中的生物胺十分迫切并具有意义.笔者前期对三川火腿理化成分和主要微生物进行了分析<sup>[15-16]</sup>,但尚未对三川火腿中生物胺的质量浓度的变化规律进行系统研究.鉴于此,本研究拟通过高效液相色谱法对三川火腿加工过程中的生物胺的质量浓度进行测定,旨在为三川火腿的品质和安全控制提供有力的科研依据,并为

其后续研究提供良好的实验基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

三川火腿,选用云南省丽江市永胜县三川坝按照传统三川火腿生产工艺加工制作的同一批次的火腿,火腿原料为三川土著黑毛猪后腿.

### 1.2 仪器与试剂

HP-A600型电子天平,福州华志科学仪器有限公司产;Reeko AH-20型均质器,睿科仪器有限公司产;CT15RE型冷冻离心机,日本电子株式会社产;NanoLC型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司产;Milli-Q型超纯水制备系统,德国Merck公司产.

HPLC试剂:色胺、苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺和精胺,均为生物胺标准品, Sigma公司产;HClO<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O, NaOH, NaHCO<sub>3</sub>,均为分析纯,天津市北方天医化学试剂厂产;丹磺酰氯,衍生剂, Sigma公司产.

### 1.3 实验方法

**1.3.1 三川火腿的取样方法** 三川火腿加工过程主要包括腌制期、晾干期和堆焐发酵期,其中,在腌制期取样6次(0 d, 4 d, 8 d, 12 d, 16 d, 20 d),分别由H1, H2, H3, H4, H5, H6表示;在晾干期取样2次(50 d, 80 d),分别由H7, H8表示;在堆焐发酵期每隔1个月取样1次,一共取样8次(110~320 d),分别由H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16表示.每次取样均随机抽取3个三川火腿作为实验材料,取样时选择三川火腿股二头肌(*Biceps femoris*)部分,并将样品立即放入已灭菌的自封袋中,于-80℃冰箱中储藏.

**1.3.2 三川火腿加工过程中生物胺的测定方法**

**1.3.2.1 标准品衍生化处理与标准曲线线性方程的确定** 将8种生物胺标准品,色胺、苯乙

胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺和精胺,均分别稀释成质量浓度为 0.025 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.25 mg/mL, 0.50 mg/mL 和 0.1 mg/mL 的混合溶液. 取 1 mL 混合溶液, 首先加入 200  $\mu$ L 物质的量浓度为 2 mol/L 的 NaOH 溶液, 其次加入 300  $\mu$ L 饱和的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液进行缓冲, 再加入 2 mL 的 Dns-Cl 溶液, 在 40  $^{\circ}$ C 黑暗环境中反应 45 min 后, 加入 100  $\mu$ L 的 NH<sub>4</sub>OH 去除残留的 Dns-Cl 溶液, 最后加入乙腈定容至 5 mL<sup>[17]</sup>. 衍生化处理后用 0.22  $\mu$ m 的滤膜过滤, 用于分析检测. 各浓度样品均测 5 次, 取平均值, 进而确定各标准品的标准曲线线性方程.

### 1.3.2.2 三川火腿样品制备与衍生化处理

取 5 g 三川火腿样品, 加入 20 mL 物质的量浓度为 0.4 mol/L 的 HClO<sub>4</sub>, 用匀浆机匀浆后, 于 2500 r/min, 10  $^{\circ}$ C 条件下冷冻离心 10 min, 取出沉淀部分再离心. 将两次离心提取的上清液合并, 再加入物质的量浓度为 0.4 mol/L 的 HClO<sub>4</sub> 定容至 50 mL.

取上述上清液 1 mL 置于 5 mL 容量瓶中, 首先加入 200  $\mu$ L 物质的量浓度为 2 mol/L 的 NaOH 溶液, 使之呈碱性, 其次加入 300  $\mu$ L 饱和的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液进行缓冲, 再加入 2 mL 的 Dns-Cl 溶液, 在 40  $^{\circ}$ C 黑暗中反应 45 min 后, 加入 100  $\mu$ L 的 NH<sub>4</sub>OH 去除残留的 Dns-Cl 溶液, 最后加入乙腈定容至 5 mL. 衍生化处理后用

0.22  $\mu$ m 的滤膜过滤, 用于分析检测<sup>[18]</sup>.

**1.3.2.3 色谱条件的设置** 色谱柱为 ZOR 生物胺  $\times$  Eclipse  $\times$  DB-C18 (4.6 mm  $\times$  250 mm  $\times$  5  $\mu$ m); 柱温 30  $^{\circ}$ C; 流动相 A 为水, 流动相 B 为乙腈; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 254 nm; 进样量 20  $\mu$ L. 表 1 为梯度洗脱程序.

### 1.4 数据分析

采用 SPSS 23.0 软件进行数据处理, 所有样品均进行 3 次平行实验, 测定结果取平均值  $\pm$  标准差, 采用单因素方差分析方法 (ANOVA) 比较三川火腿加工过程对总生物胺的质量浓度的显著性影响,  $P < 0.05$  为影响显著, 否则为不显著.

## 2 结果与分析

### 2.1 生物胺标准曲线的线性方程

生物胺标准曲线的线性方程如表 2 所示. 由表 2 可知, 8 种生物胺标准品的峰面积与其相关浓度呈良好的线性关系,  $R^2$  均大于 0.99.

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Program of gradient elution

洗脱时间 /min	流动相 A 体积分数/%	流动相 B 体积分数/%
0	40	60
5	35	65
20	0	100
24	0	100
25	40	60
30	40	60

表 2 生物胺标准曲线的线性方程

Table 2 Linear equations of biogenic amine standards

生物胺	线性范围/(mg $\cdot$ mL <sup>-1</sup> )	线性方程	$R^2$
色胺	0.025 ~ 1.000	$y = 322.94x + 0.7345$	0.9999
苯乙胺	0.025 ~ 1.000	$y = 468.81x + 3.9190$	0.9993
腐胺	0.025 ~ 1.000	$y = 114.64x - 0.1031$	1.0000
尸胺	0.025 ~ 1.000	$y = 778.03x + 34.7150$	0.9852
组胺	0.025 ~ 1.000	$y = 754.12x - 2.5257$	0.9998
酪胺	0.025 ~ 1.000	$y = 679.74x + 6.3011$	0.9989
亚精胺	0.025 ~ 1.000	$y = 693.28x + 58.2400$	0.9558
精胺	0.025 ~ 1.000	$y = 109.31x + 1.1010$	0.9999

## 2.2 生物胺标准品的高效液相色谱图

图1为8种生物胺标准品的高效液相色谱图. 经过外标法定量,8种生物胺标准品能在25 min之内全部分离. 由此可见,该方法能较好地分析各生物胺的质量浓度.

## 2.3 三川火腿加工过程中生物胺的变化规律

三川火腿加工过程中生物胺的质量浓度如表3所示. 在总生物胺列的数据中,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),ND表示为未检测到该

生物胺.

在三川火腿16组样品中共检测出7种生物胺,分别为苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺和精胺,未检测出色胺. 王桂瑛等<sup>[19]</sup>通过对宣威火腿生物胺的质量浓度的检测,共发现7种生物胺,未检测出组胺,这与本研究结果稍有不同. 在新鲜火腿样品H1中,只检测出了腐胺和精胺,这与J. M. Lorenzo等<sup>[20]</sup>的研究发现稍有不同. J. M. Lorenzo等人研究发现,在西班牙

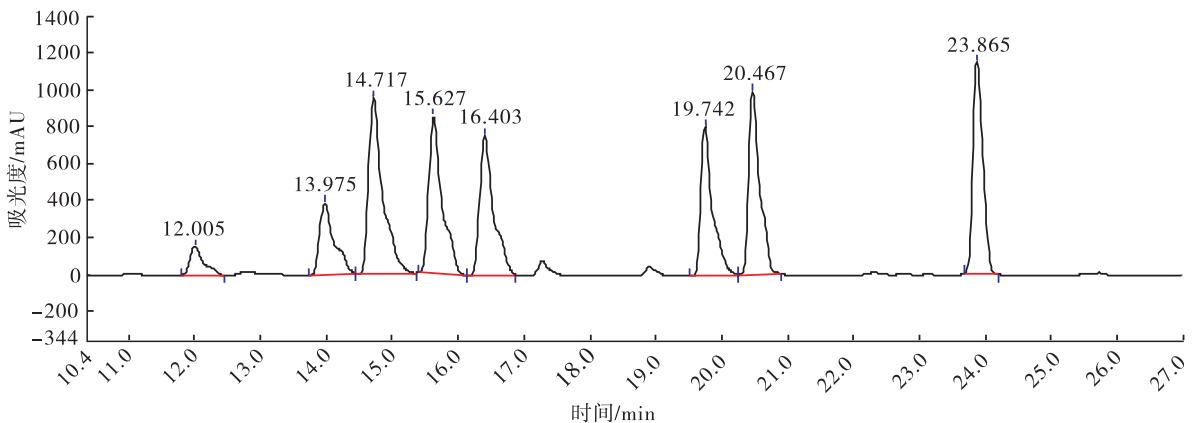


图1 生物胺标准品的高效液相色谱图

Fig. 1 The HPLC of biogenic amine standards

表3 三川火腿加工过程中生物胺的质量浓度

Fig. 3 Mass concentrations of biogenic amines in Yunnan Sanchuan hams during processing

mg/kg

样品	生物胺								总生物胺
	色胺	苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	酪胺	亚精胺	精胺	
H1	ND	ND	1.95 ± 0.77	ND	ND	ND	ND	3.89 ± 0.53	5.84 ± 1.30 <sup>a</sup>
H2	ND	ND	3.26 ± 0.42	ND	0.35 ± 0.13	ND	0.55 ± 0.15	12.22 ± 2.87	16.38 ± 3.57 <sup>a</sup>
H3	ND	ND	6.44 ± 1.87	9.61 ± 0.82	7.21 ± 1.42	7.82 ± 0.97	0.93 ± 0.22	11.96 ± 2.86	43.97 ± 8.16 <sup>b</sup>
H4	ND	9.09 ± 1.91	10.90 ± 3.82	9.95 ± 1.06	9.03 ± 1.54	12.34 ± 2.63	2.34 ± 0.74	13.25 ± 3.54	66.90 ± 15.24 <sup>c</sup>
H5	ND	ND	7.16 ± 1.77	12.42 ± 2.08	8.80 ± 1.83	13.74 ± 4.84	2.6 ± 0.53	23.58 ± 4.96	68.30 ± 16.01 <sup>c</sup>
H6	ND	ND	8.94 ± 1.93	17.90 ± 3.43	9.64 ± 2.01	16.83 ± 3.75	3.06 ± 0.85	22.27 ± 4.17	78.64 ± 16.14 <sup>c</sup>
H7	ND	ND	12.45 ± 2.48	24.69 ± 5.28	15.54 ± 3.14	20.45 ± 3.84	1.06 ± 0.24	18.94 ± 4.25	93.13 ± 19.23 <sup>d</sup>
H8	ND	ND	18.22 ± 5.02	25.34 ± 3.13	18.52 ± 4.79	24.27 ± 5.44	2.14 ± 0.46	15.74 ± 2.14	104.23 ± 21.15 <sup>d</sup>
H9	ND	ND	24.56 ± 5.57	32.68 ± 5.81	22.52 ± 5.25	31.52 ± 4.52	3.52 ± 0.75	23.22 ± 3.42	137.02 ± 25.32 <sup>e</sup>
H10	ND	ND	21.07 ± 5.84	37.41 ± 4.72	20.32 ± 4.35	34.32 ± 6.71	2.23 ± 0.68	25.44 ± 6.82	140.79 ± 29.12 <sup>e</sup>
H11	ND	ND	17.23 ± 3.15	37.72 ± 6.39	18.58 ± 2.74	37.73 ± 3.79	2.77 ± 0.85	29.95 ± 7.49	143.98 ± 24.41 <sup>e</sup>
H12	ND	ND	16.93 ± 4.11	47.5 ± 8.78	16.01 ± 3.21	29.29 ± 5.43	4.03 ± 1.15	25.58 ± 3.79	139.34 ± 26.47 <sup>e</sup>
H13	ND	ND	10.99 ± 2.37	41.25 ± 9.97	17.84 ± 4.88	31.03 ± 6.71	4.56 ± 0.93	25.39 ± 5.64	131.06 ± 30.50 <sup>e</sup>
H14	ND	ND	11.03 ± 2.14	45.71 ± 7.77	14.21 ± 2.18	24.57 ± 2.78	2.01 ± 0.52	31.42 ± 5.83	128.95 ± 21.22 <sup>de</sup>
H15	ND	ND	14.18 ± 2.52	69.24 ± 12.54	13.52 ± 3.82	19.03 ± 3.86	2.58 ± 0.36	39.53 ± 8.25	158.08 ± 31.35 <sup>f</sup>
H16	ND	ND	6.09 ± 1.76	41.74 ± 9.69	17.84 ± 3.59	15.75 ± 2.75	2.78 ± 0.72	28.32 ± 5.94	112.52 ± 24.45 <sup>d</sup>

牙传统发酵肉类产品中,新鲜肉中的主要生物胺为色氨酸和精氨酸.腐胺和精胺存在于三川火腿的整个加工过程中,已有研究表明,腐胺的存在对精胺的质量浓度有一定影响,且两者的质量浓度存在动态平衡<sup>[21]</sup>.在三川火腿的整个加工过程中,尸胺的质量浓度最高,其次是精胺,这与 F. Wei 等<sup>[22]</sup>和 R. Virgili 等<sup>[23]</sup>的研究发现稍有不同. F. Wei 等人研究发现,在如皋火腿后熟期(325 d)的样品中检测出 7 种生物胺,其中精胺的质量浓度最高,尸胺和腐胺次之;而 R. Virgili 等人研究发现,在意大利干腌火腿中,酪胺的质量浓度最高,精胺次之.尸胺的质量浓度在三川火腿加工过程中持续增加,在堆焐发酵后期样品 H15 中达到最大值( $69.24 \pm 12.54$ ) mg/kg,但在堆焐发酵末期样品 H16 中,尸胺的质量浓度开始显著降低.在三川火腿的各个加工期,亚精胺和精胺都保持着较平稳的质量浓度变化,其中亚精胺的质量浓度一直处于较低水平.苯乙胺只在腌制中期样品 H4 中被检测出,在其余样品中均未检测出.

组胺是发酵肉类产品中重要的生物胺,其毒性在所有生物胺中最强,对人类健康具有很大的威胁.美国食品药品监督管理局 FDA(Food and Drug Administration)规定,食品中组胺的质量浓度的上限为 500 mg/kg<sup>[24]</sup>;而欧盟则规定,鲭科鱼类和其他食品中组胺的质量浓度的上限为 100 mg/kg<sup>[25]</sup>.本研究结果表明,在三川火腿的整个加工过程中,组胺的质量浓度均较低,其最大值为( $22.52 \pm 5.25$ ) mg/kg,较为安全,且在新鲜火腿中未检测出组胺,这可能与在三川火腿腌制期加入了食盐有关. C. Kdh 等<sup>[26]</sup>的研究发现,当肉制品中食盐质量分数达 3.5% ~ 5.5% 时,组胺的质量浓度会显著下降.

在三川火腿的整个加工过程中,总生物胺的质量浓度呈现先上升、后平稳、再上升的趋

势.在腌制前期(H1, H2, H3),总生物胺的质量浓度相对较少,其中新鲜火腿(H1)的生物胺的质量浓度最低,仅为( $5.84 \pm 1.30$ ) mg/kg,这可能与温度、食盐添加量有关.三川火腿的腌制期是在三川坝最冷的时期,温度在 5 ℃ 左右,而低温和食盐添加量是控制生物胺产生的有效方法. M. Laranjo 等<sup>[27]</sup>研究发现,将两种葡萄牙传统干腌香肠中的盐分从 6% 降低到 3%,总生物胺的质量浓度从 88.86 mg/kg 上升到 796.68 mg/kg,其中尸胺、组胺和酪胺的质量浓度上升尤为明显.到腌制中后期(H4, H5, H6),总生物胺的质量浓度显著增加( $P < 0.05$ ).腌制结束进入晾干期(H7, H8)时,总生物胺的质量浓度增加不显著( $P > 0.05$ ),这可能是由于晾干期三川火腿的水分含量下降,抑制了微生物的生长,从而间接抑制了总生物胺的质量浓度的增长.进入堆焐发酵期,总生物胺的质量浓度又显著增加( $P < 0.05$ ),在堆焐发酵后期(H15),总生物胺的质量浓度达到最高值( $158.08 \pm 31.35$ ) mg/kg.这可能与三川火腿的加工条件密切相关,堆焐发酵期的温度通常高于 15 ℃,而脱羧酶在 15 ℃ 时仍具有活性,可促进火腿中的游离氨基酸脱羧产生生物胺<sup>[28]</sup>.

### 3 结论

本研究以传统发酵工艺制作的三川火腿为研究对象,在三川火腿的整个加工过程中,采用高效液相色谱法共检测出 7 种生物胺,分别为苯乙胺、尸胺、腐胺、组胺、酪胺、亚精胺和精胺,未检测出色胺,且苯乙胺只在腌制中期被检出.其中,腐胺和精胺存在于三川火腿的整个加工过程中;尸胺的质量浓度在 7 种生物胺中最高,其次是精胺,尸胺的质量浓度在三川火腿加工过程中持续增加,在堆焐发酵后期达到最大值( $69.24 \pm 12.54$ ) mg/kg,但在堆焐发酵末期又开始显著降低;亚精胺和精胺都保持着较平稳

的质量浓度变化,其中亚精胺的质量浓度一直处于较低水平;苯乙胺只在腌制中期被检出;组胺的质量浓度较低,最高仅为 $(22.52 \pm 5.25)$  mg/kg,较为安全.在三川火腿的整个加工过程中,总生物胺的质量浓度呈先上升、后平稳、再上升的趋势:新鲜三川火腿中总生物胺的质量浓度最低,为 $(5.84 \pm 1.30)$  mg/kg,到腌制中后期,总生物胺的质量浓度显著增加( $P < 0.05$ );进入晾干期,总生物胺的质量浓度增加不显著( $P > 0.05$ );堆焐发酵期是生物胺累积的主要时期,堆焐发酵后期的总生物胺的质量浓度最高,为 $(158.08 \pm 31.35)$  mg/kg.

本研究有望为三川火腿的品质提高和安全控制提供依据,并为其后续研究提供一定的实验基础.采用传统加工工艺制备的三川火腿,需要采取适当的措施,如控制好发酵温湿度,选用生物胺氧化酶菌株发酵,控制好草木灰质量等,降低加工过程中生物胺的质量浓度,以提高三川火腿产品的食用安全性.

### 参考文献:

- [1] 章建浩. 腌腊肉制品加工技术[M]. 北京:中国农业出版社,2014.
- [2] 陈露,陈红,胡永金. 三川火腿成熟过程中主要理化性质变化的研究[J]. 食品安全质量检测学报,2016(6):2205.
- [3] 王光强,俞剑葵,胡健,等. 食品中生物胺的研究进展[J]. 食品科学,2016,37(1):269.
- [4] SHALABY A R. Significance of biogenic amines to food safety and human health [J]. Food Research International,1996,29(7):675.
- [5] SUZZI G, GARDINI F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review [J]. International Journal of Food Microbiology,2003,88(1):41.
- [6] 刘景,任婧,孙克杰. 食品中生物胺的安全性研究进展[J]. 食品科学,2013,34(5):322.
- [7] 刘姝韵,孙灿,王桂瑛,等. 云南牛干巴加工过程中生物胺变化规律[J]. 肉类研究,2017,31(6):7.
- [8] IKONIC P, TASIC T, PETROVIC L, et al. Proteolysis and biogenic amines formation during the ripening of Petrovskú klobása, traditional dry-fermented sausage from Northern Serbia [J]. Food Control,2013,30(1):69.
- [9] 于长青,姚笛,满永刚,等. 发酵肉制品中生物胺的危害及控制[J]. 肉类研究,2010(1):41.
- [10] 孙霞,杨勇,巩洋,等. 市售四川香肠中生物胺含量比较分析[J]. 食品发酵工业,2015,41(10):147.
- [11] FAVARO G, PASTORE P, SACCANI G, et al. Determination of biogenic amines in fresh and processed meat by ion chromatography and integrated pulsed amperometric detection on Au electrode[J]. Food Chem,2007,105(4):1652.
- [12] MONICA R, GIANFRANCO S, MARCO B, et al. Influence of packaging conditions on biogenic amines and fatty acids evolution during 15 months storage of a typical spreadable salami ('Nduja) [J]. Food Chem,2016,213:115.
- [13] 孙钦秀,董福家,陈倩,等. 肉制品中生物胺及其控制技术研究进展[J]. 食品工业,2015,36(8):216.
- [14] 王光强,俞剑葵,胡健,等. 食品中生物胺的研究进展[J]. 食品科学,2016,37(1):269.
- [15] 胡永金,陈红,薛桥丽,等. 云南三川火腿加工中微生物区系变化规律研究[J]. 轻工学报,2017,32(5):8.
- [16] 李泽众,陈红,李世俊,等. 云南三川火腿加工过程中的理化性质变化[J]. 肉类研究,2017,31(11):1.
- [17] 李蕊婷,卢士玲,李开雄,等. 新疆熏马肠中产氨基酸脱羧酶优势细菌的分离及鉴定[J]. 现代食品科技,2014(9):85.
- [18] 张雅晴,李蕊婷,卢士玲,等. 两株肠杆菌对熏马肠中生物胺的交互作用[J]. 中国食品学

- 报,2017,17(2):182.
- [19] 王桂瑛,殷红,曹锦轩,等. 宣威火腿加工过程中生物胺变化规律[J]. 食品与发酵工业,2012,38(4):192.
- [20] LORENZO J M, MARTÍNEZ S, FRANCO I, et al. Biogenic amine content during the manufacture of dry-cured lacón, a Spanish traditional meat product: effect of some additives[J]. *Meat Science*,2007,77(2):287.
- [21] HALÁSZ A, ÁGNES R, SIMON-SARKADI L, et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food[J]. *Trends in Food Science & Technology*,2015,5(94):42.
- [22] WEI F, XU X, ZHOU G, et al. Irradiated Chinese Rugao ham: changes in volatile N-nitrosamine, biogenic amine and residual nitrite during ripening and post-ripening[J]. *Meat Science*,2009,81(3):451.
- [23] VIRGILI R, SACCANI G, GAB L, et al. Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham[J]. *LWT- Food Science and Technology*,2007,40(5):871.
- [24] KALAC P. Biologically active polyamines in beef, pork and meat products: a review [J]. *Meat Sci*,2006,73(1):1.
- [25] European Communities Committee. Microbiological criteria for foodstuffs: 2073/2005/EC [S]. Brussels: Official Journal of the European Union,2005:12.
- [26] KDH C, KOEHLER P E. Effect of salt concentration and incubation temperature on formation of histamine, phenethylamine, tryptamine and tyramine during miso fermentation [J]. *Journal of Food Protection*,1986,49(6):423.
- [27] LARANJO M, GOMES A, AGULHEIRO-SANTOS A C, et al. Impact of salt reduction on biogenic amines, fatty acids, microbiota, texture and sensory profile in traditional blood dry-cured sausages[J]. *Food Chemistry*,2017(218):129.
- [28] BOVER-CID S, HUGAS M, IZQUIERDO-PULIDO M, et al. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages [J]. *International Journal of Food Microbiology*,2001,66(3):185.



引用格式:汪薇,杨宏,严守雷.斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备及其胶凝性能优化研究[J].轻工学报,2018,33(5):9-19.

中图分类号:TS254.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.002

文章编号:2096-1553(2018)05-0009-11

# 斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备及其胶凝性能优化研究

## Preparation of gelatin from Channel Catfish skin and its gelling performance optimization

汪薇<sup>1</sup>,杨宏<sup>1,2,3</sup>,严守雷<sup>1,3</sup>

WANG Wei<sup>1</sup>,YANG Hong<sup>1,2,3</sup>,YAN Shoulei<sup>1,3</sup>

1. 华中农业大学 食品科技学院,湖北 武汉 430070;

2. 湖南文理学院 水产高效健康生产湖南省协同创新中心,湖南 常德 415000;

3. 华中农业大学 环境食品学教育部重点实验室,湖北 武汉 430070

1. College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Hunan Collaborative Innovation Center for Aquatic Efficient Health Production, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China;

3. Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**摘要:**以斑点叉尾鮰鱼皮为原料制备食用明胶,通过单因素试验比较 NaOH 处理浓度和处理时间、醋酸处理浓度和处理时间、熬胶温度和熬胶时间对明胶品质的影响,并通过正交试验优化工艺条件,探究斑点叉尾鮰鱼皮明胶的最佳制备工艺.分别选择卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶 3 种亲水胶体与斑点叉尾鮰鱼皮明胶进行复配,以改善鱼皮明胶胶凝性能.结果表明:1)斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备的最佳工艺为,先用 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h,然后用 0.2 mol/L 醋酸溶液浸泡 4 h,最后在 60 °C 条件下热水浴提取 4 h.在此工艺条件下,明胶得率达 73.36%,凝胶强度为 434.86 g,胶凝温度和融化温度分别为 19 °C 和 26 °C,等电点 pI 为 6.8. SDS-PAGE 分析结果表明,鱼皮水解制备的明胶是多组分的混合物,没有确定的分子量,但具有分子量段.2)当鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,复配胶临界质量分数为 2.0% 时,鱼皮明胶与卡拉胶的复配效果最优.此配方所得复配凝胶的胶凝温度和融化温度分别为 17.6 °C 和 35.1 °C,相较于空白组,其胶凝温度和融化温度分别提高了 13.8 °C 和 22.8 °C.可见,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,对改善鱼皮明胶加工性能具有重要作用.

### 关键词:

斑点叉尾鮰;鱼皮明胶;胶凝性能;工艺优化

### Key words:

channel catfish;  
fish skin gelatin;  
gelling performance;  
process optimization

收稿日期:2018-04-19

基金项目:“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD27B03);中央高校基本科研业务费专项项目(2013PY096)

作者简介:汪薇(1989—),女,湖北省武汉市人,华中农业大学博士研究生,主要研究方向为农产品加工及贮藏.

通信作者:杨宏(1968—),男,重庆市人,华中农业大学教授,博士生导师,主要研究方向为食品加工.



**Abstract:** The effect of NaOH treatment concentration and treatment time, acetic acid treatment concentration and treatment time, temperature and treatment time of preparation process on the quality of gelatin were compared by single factor test, and orthogonal test optimization process was performed, to explore the optimal preparation process of channel catfish skin gelatin. Then three hydrocolloids including carrageenan, sodium alginate and xanthan gum were selected to be compounded with channel catfish skin gelatin to improve its gelling performance. The results showed that: 1) The optimal preparation process of gelatin for channel catfish skin was first soaked in 0.2 mol/L NaOH solution for 2 h, then soaked in 0.2 mol/L acetic acid solution for 4 h, and finally extracted in hot water bath at 60 °C for 4 h. Under this process conditions, the yield of gelatin reached 73.36%, the gel strength was 434.86 g, and the gelling temperature and melting temperature were 19 °C and 26 °C, respectively. The isoelectric point pI was 6.8. The result of SDS-PAGE analysis showed that gelatin prepared by hydrolysis of fish skin was a multi-component mixture with no definite molecular weight, but a molecular weight segment. 2) When the fish skin gelatin concentration was 1.6%, the carrageenan added amount was 0.4%, and the critical concentration of the compounding gel was 2.0%, the fish skin gelatin and carrageenan had the best compounding effect. The gelling and melting temperatures of the gel were 17.6 °C and 35.1 °C, respectively, compared with the blank group, the gelling temperature and melting temperature were increased by 13.8 °C and 22.8 °C, respectively. The addition of carrageenan can improve the thermal stability of fish skin gelatin, which is of important role for improving the processing performance of fish skin gelatin.

## 0 引言

鱼皮是渔业加工的副产品之一,主要由水分、蛋白质、脂质、矿物质和少量碳水化合物组成,鱼皮中含有丰富的胶原蛋白,其含量达到鱼皮蛋白质总量的60%以上<sup>[1]</sup>.与普通蛋白质不同,胶原蛋白含有大量脯氨酸、羟脯氨酸和一定量的羟赖氨酸<sup>[2-3]</sup>.胶原蛋白分子长为300 nm,相对分子质量约为300 kDa,由3条多肽链借助范德华力、疏水相互作用、氢键和共价交联相互缠绕形成三股螺旋结构<sup>[4]</sup>.肽链具有重复的氨基酸序列:甘氨酸-X-Y, X通常为脯氨酸, Y为羟脯氨酸或羟赖氨酸.羟脯氨酸含量稳定,一般在13%~14%,可以通过测定羟脯氨酸的含量来推算胶原蛋白的含量.

胶原蛋白经稀酸液或稀碱液浸泡预处理后加热,可转变为可溶性的明胶, A. G. Ward等<sup>[5]</sup>将明胶定义为温和而不可逆的胶原断裂后的主要产物.明胶生产包括原料预处理、明胶提取、纯化和干燥等步骤.预处理方法主要有酸法、碱法和酶法.酸法耗时短,废水少,但明胶纯度不

高;碱法制得的明胶品质较高,但生产周期长;酶法制胶在实验室规模上已获得较好的明胶产品,但由于在工艺上较难控制水解程度,该法存在着明胶中易残留酶、可用酶较少、生产成本高等问题,致使其在工业化生产上仍得不到推广.近年来,由于疯牛病、口蹄疫等哺乳动物传染病的传播和宗教信仰的差异,人们开始寻找鱼皮、鱼鳞、鸡皮等其他原料来代替哺乳动物明胶. L. M. Kasankala等<sup>[6]</sup>以草鱼鱼皮作为原料提取明胶,用质量分数为1.19%的HCl溶液预处理24 h,在52.61 °C条件下提取5.12 h,明胶得率为19.83%.李丁等<sup>[7]</sup>用NaOH溶液处理斑点叉尾鲷鱼皮制备明胶,所得凝胶强度高达337 g.因此,探索合适的预处理方法对于提高鱼皮明胶得率,改善明胶品质至关重要.

我国对于斑点叉尾鲷的加工,一般仅限于将其加工成鱼片以出口至美国、欧洲<sup>[8]</sup>,大量的鱼皮被当作废弃物扔掉,这不仅是资源的浪费,而且还会造成环境污染.因此,开发利用鱼皮资源来生产食用明胶,既可变废为宝,解决鱼类加

工副产物造成的环境污染及其综合利用问题,同时又可满足特定人群的特殊需求.然而,鱼皮明胶热稳定性较差,其热变性温度普遍低于哺乳动物明胶,如猪皮明胶的热变性温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,而罗非鱼鱼皮明胶的热变性温度为 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[9]</sup>,这就使得鱼皮明胶在夏季高温条件下易熔化变形,从而严重限制了水产类明胶的应用.亲水胶体自身具有形成凝胶的能力,将亲水胶体与鱼皮明胶进行复配,有望改善鱼皮明胶的胶凝性能,但亲水胶体与鱼皮明胶复配使用时,大分子间的热力学不兼容性尚需进一步研究.

本文拟针对斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备工艺进行研究,采用酸碱结合法预处理斑点叉尾鮰鱼皮,进而以热水浴提取制备明胶,比较 NaOH 处理浓度和处理时间、醋酸处理浓度和处理时间、熬胶温度和熬胶时间 3 种处理方法对所制鱼皮明胶品质的影响,并通过正交试验优化鱼皮明胶制备预处理工艺条件;在此基础上,针对鱼皮明胶热稳定性较差的问题,通过添加亲水胶体与鱼皮明胶进行复配,改善鱼皮明胶的胶凝性能,以满足鱼皮明胶凝胶产品加工成型的要求,为鱼皮明胶的开发利用提供新的理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

斑点叉尾鮰鱼皮,购于湖北省荆州洪湖市井力水产食品有限公司;猪皮,购于华中农业大学农贸市场;NaOH, HCl, 考马斯亮蓝 R-250, 醋酸, 乙醇等试剂,均为 AR 级,国药集团化学试剂有限公司产;卡拉胶,海藻酸钠,黄原胶,均为食品级,汇通生物科技有限公司产.

### 1.2 仪器与设备

DZD-400/2S 型真空包装机,江苏腾通包装公司产;AB204-S 型分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;722 型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司产;Avanti J-E 型高

速冷冻离心机,美国 BECKMAN COULTER 公司产;HH-8 型数显恒温水浴锅,常州市国华电器有限公司产;TA-XT Plus 型质构仪,英国 Stable Micro System 公司产;AR-2000ex 型动态流变仪,美国 TA 仪器公司产;PB-10 型 pH 计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司产;FJ200-SH 型数显高速分散均质机,上海标本模型厂产.

### 1.3 实验方法

**1.3.1 鱼皮明胶的提取** 鱼皮的预处理过程为:鱼皮( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存) $\rightarrow 4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱解冻 $\rightarrow$ 手工剥去鱼皮上粘连的脂肪组织等 $\rightarrow$ 水洗净 $\rightarrow$ 剪切成长约  $2\sim 5\text{ mm}$  条状,分装备用( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  贮藏保存不宜超过 2 个月).

鱼皮明胶提取工艺流程为:鱼皮 $\rightarrow$ 剪碎 $\rightarrow$ NaOH 溶液处理 $\rightarrow$ 水洗至中性 $\rightarrow$ 醋酸溶液处理 $\rightarrow$ 水洗至中性 $\rightarrow$ 热水浴提胶 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 浓缩 $\rightarrow$ 冷冻干燥 $\rightarrow$ 明胶成品<sup>[10]</sup>.

**1.3.2 鱼皮膨胀度计算** 用排水法取一定体积新鲜鱼皮,经酸碱处理,水洗中和后,再测膨胀鱼皮的体积.膨胀鱼皮体积与处理前鱼皮原体积之比即为鱼皮膨胀度.

**1.3.3 鱼皮明胶得率计算** 鱼皮明胶得率 = 鱼皮明胶冻干样质量/鱼皮干重  $\times 100\%$ .

**1.3.4 鱼皮明胶凝胶强度测定** 制备质量分数为 6.67% 的鱼皮明胶溶液(准确称取 7.5 g 冻干鱼皮明胶,加入 105 g 蒸馏水),于  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下溶胀 1 h 后,在  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中搅拌至鱼皮明胶全部溶解,倒入直径 4 cm,高 2 cm 的模具中,于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱放置 16~18 h 成胶,采用质构仪测定鱼皮明胶的凝胶强度.

测试条件如下:采用 P/0.5 探头,触发力 5 g,测试前速度 5.0 mm/s,测试中速度 1.0 mm/s,测试后速度 5.0 mm/s,压入距离 4.0 mm.

### 1.3.5 鱼皮明胶提取工艺优化

**1.3.5.1 单因素试验设计** 以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,分别研究不同 NaOH 处理

浓度(0, 0.1 mol/L, 0.2 mol/L, 0.3 mol/L, 0.4 mol/L, 0.5 mol/L)、不同 NaOH 处理时间(0.5 h, 1.0 h, 1.5 h, 2.0 h, 2.5 h)、不同醋酸处理浓度(0, 0.1 mol/L, 0.2 mol/L, 0.3 mol/L, 0.4 mol/L, 0.5 mol/L)、不同醋酸处理时间(2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h)、不同熬胶温度(40 ℃, 50 ℃, 60 ℃, 70 ℃, 80 ℃, 90 ℃)和不同熬胶时间(2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h)对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,并确定最优的鱼皮明胶提取工艺单因素条件。

**1.3.5.2 正交试验设计** 为了确定最佳的斑点叉尾鮰鱼皮预处理工艺条件,在单因素试验的基础上,以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,以 NaOH 浓度(A)、NaOH 处理时间(B)、醋酸浓度(C)、醋酸处理时间(D)为影响因素,设计四因素三水平  $L_9(3^4)$  正交试验.表1为预处理工艺正交试验因素水平表。

表1 预处理工艺正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factor level table of pretreatment process

水平	因素			
	A/(mol · L <sup>-1</sup> )	B/h	C/(mol · L <sup>-1</sup> )	D/h
1	0.15	1.5	0.15	3.5
2	0.20	2.0	0.20	4.0
3	0.25	2.5	0.25	4.5

### 1.3.6 鱼皮明胶胶凝温度和熔化温度测定

制备质量分数为6.67%的鱼皮明胶溶液(方法同1.3.4)。采用动态流变仪以动态黏弹性( $G'$ 和 $G''$ )法测定凝胶温度和熔化温度,选用直径40 mm 平板,调节平板和样台之间的距离为0.15 mm,加热过程中用三甲基硅油密封以防止水分蒸发。

动态流变仪的参数为:振荡频率1 Hz,应变5%。设置两组温度扫描程序:降温扫描程序是从40 ℃降温到5 ℃,升温扫描程序是从5 ℃升温到40 ℃,升温和降温速率均为2 ℃/min。胶

体溶液在降温过程中, $G'$ 迅速上升并开始大于 $G''$ 时,对应的温度被定义为胶凝温度.胶体溶液在升温过程中, $G'$ 迅速下降并开始小于 $G''$ 时,对应的温度被定义为熔化温度<sup>[11]</sup>。

**1.3.7 鱼皮明胶的等电点测定** 配制质量分数为1%的鱼皮明胶溶液,分别以浓度0.1 mol/L的HCl溶液和浓度0.1 mol/L的NaOH溶液调节为pH不同的鱼皮明胶溶液,以精密pH计测定其准确pH值,并在660 nm波长下测定各溶液的透光度 $T$ ,做pH值与 $T$ 的关系曲线.透光度最小时对应的pH值为鱼皮明胶的等电点<sup>[12]</sup>。

**1.3.8 SDS - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)实验** 分别取1 g 冷冻干燥后的鱼皮酸性胶原、鱼皮明胶和猪皮明胶,加入质量分数为5%的SDS后,采用高速分散均质机均质,再于85 ℃的水浴中保温1 h来溶解样品中的蛋白质,以8000 r/min离心20 min后取上清液,用Lorry法测定上清液中蛋白质的含量,并将蛋白质浓度调至1 mg/mL,用于SDS-PAGE分析.电泳样品在质量分数为5%的浓缩胶里进行浓缩,在质量分数为8%的分离胶里进行电泳分离.以考马斯亮蓝R-250染色,用醋酸乙醇溶液进行脱色。

**1.3.9 亲水胶体对鱼皮明胶胶凝特性的影响实验** 分别选择卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶3种亲水胶体与明胶进行复配.配制质量分数为1.5%的鱼皮明胶溶液,分别加入质量分数为0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%的3种亲水胶体,制成复配胶样品,测定各样品凝胶强度。

## 1.4 统计学分析

为了减少实验误差,提高数据可信度,每个实验均重复3次,结果取平均值.所有数据采用Microsoft Excel和GraphPad Prism 5进行处理和作图.采用SPSS(17.0)软件对实验数据进行显著性分析:当 $P < 0.05$ 时,为差异显著;当 $P <$

0.01时,为差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 鱼皮明胶提取工艺单因素试验结果分析

#### 2.1.1 NaOH 浓度对鱼皮明胶品质的影响

考虑到中性盐溶液也具有部分除去盐溶性非胶原蛋白的作用,因此,在研究用不同浓度 NaOH 溶液处理对鱼皮明胶影响的同时,将 NaCl 溶液和 NaOH 溶液处理的样品进行比较,结果如图 1 所示,不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),下同。

由图 1 可知,随着 NaOH 浓度的增大,鱼皮明胶的得率依次下降,并且逐渐低于 NaCl 溶液处理组 ( $P < 0.05$ );而凝胶强度呈现先增大后减小的趋势,且显著高于 NaCl 溶液处理组 ( $P < 0.05$ ),表明中性盐溶液预处理所得的鱼皮明胶纯度不及碱液处理组.与空白组相比,经碱液和盐液预处理工序处理后所得的鱼皮明胶,其凝胶强度显著提高,表明浸碱工序是明胶制备工艺中必不可少的步骤.这是因为碱液浸

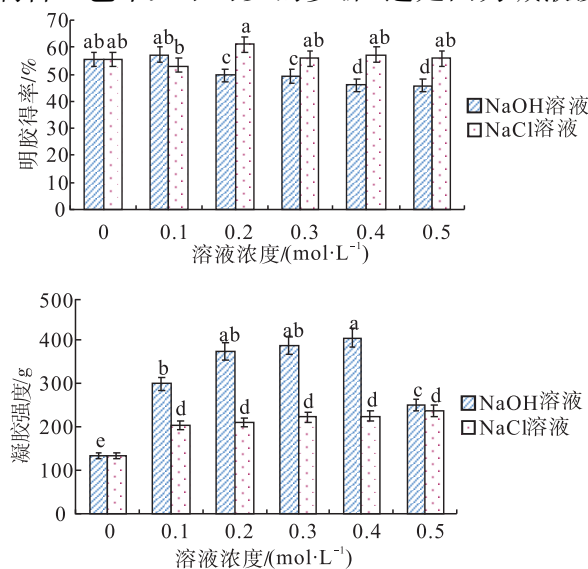


图 1 不同 NaOH 浓度和 NaCl 浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 1 Effect of different NaOH concentration and NaCl concentration on yield and gel strength of fish skin gelatin

泡可使碱与鱼皮脂肪发生皂化反应,除去大部分的脂肪,通过反复洗涤,能加速盐溶性蛋白的溶出,除去鱼皮中非胶原蛋白和色素等<sup>[13]</sup>,从而提高明胶品质.同时,NaOH 溶液能打断胶原中的部分氢键,使胶原分子螺旋结构展开,使得水分子易于进入形成蛋白质-水氢键,从而有助于明胶的提取.当 NaOH 浓度从 0.1 mol/L 增加到 0.2 mol/L,尽管明胶得率有所下降,但凝胶强度可达 374.67 g.当 NaOH 浓度达到 0.5 mol/L 时,凝胶强度显著减小 ( $P < 0.05$ ),这可能是由于过高浓度的碱液处理导致鱼皮胶原间化学键断裂较充分,胶原结构十分松散,经后续加热处理,部分明胶发生次级水解,小片段进入溶液引起凝胶强度显著减小.综合考虑,NaOH 浓度选择 0.2 mol/L 为宜。

#### 2.1.2 NaOH 处理时间对鱼皮明胶品质的影响

选择 0.2 mol/L 的 NaOH 溶液,探究 NaOH 处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,随着 NaOH 处理时间的延长,鱼皮明胶得率呈现先显著下降后上升再下降的趋势,而凝胶强度先增大后减小 ( $P < 0.05$ ).当 NaOH 处理时间从 0.5 h 增加到 1.0 h 时,明胶

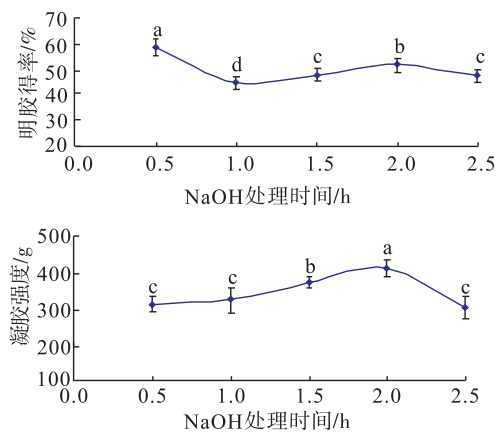


图 2 NaOH 处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 2 Effect of NaOH treatment time on yield and gel strength of fish skin gelatin

得率有明显的下降,但凝胶强度没有显著性差异( $P > 0.05$ ),表明此时鱼皮脂肪被皂化除去,明胶纯度有所提高.当处理时间继续增加,明胶纯度也继续提高,并且 NaOH 处理打断了鱼皮上的小部分作用键,有利于明胶的提取,此时鱼皮明胶得率和凝胶强度均增大,当处理 2.0 h 时,鱼皮明胶得率和凝胶强度均达到较大值.之后随着处理时间继续增加,鱼皮明胶得率和凝胶强度均显著降低,这可能是由于 NaOH 处理时间过长导致胶原部分溶出.综合考虑,NaOH 处理时间选择 2.0 h 为宜.

**2.1.3 醋酸浓度对鱼皮明胶品质的影响** 经 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2.0 h 后的鱼皮,再用醋酸溶液处理,探究醋酸浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 3 所示.

由图 3 可知,随着醋酸浓度的增大,鱼皮明胶得率逐渐提高并达到平衡,但凝胶强度呈减小趋势.当醋酸浓度为 0.1 mol/L 时,鱼皮吸水膨胀程度较低,胶原不易溶出,尽管此时酸水解程度较小,维持了胶原分子链长,形成的三维凝胶网络稳定,凝胶强度较大,但明胶得率较低.当醋酸浓度增大到 0.2 mol/L 时,鱼皮膨胀较充分,凝胶强度略有减小,而明胶得率却有较大

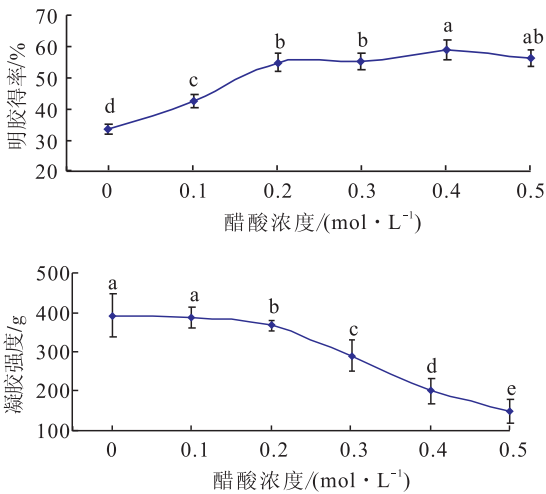


图 3 醋酸浓度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响  
Fig. 3 Effect of acetic acid concentration on yield and gel strength of fish skin gelatin

幅度的提高.当醋酸浓度高于 0.2 mol/L 后,明胶得率趋于平缓,凝胶强度大幅减小( $P < 0.05$ ),这可能是由于高浓度醋酸处理使得鱼皮明胶过水分水解成小片段,故凝胶强度降低.综上,当醋酸浓度为 0.2 mol/L 时,凝胶强度较好,得率较高.而未经浸酸工序的鱼皮,胶原仍保持了较为致密的结构,不易溶出,因此明胶得率极低,表明浸酸工艺是鱼皮明胶提取不可或缺的环节.鱼皮经温和酸预处理,可打断非共价交联键,使得胶原分子间作用力减弱,有利于熬胶过程中转化为明胶,提高明胶得率,然而凝胶强度由于酸水解略有减小.但当醋酸浓度继续升高,明胶过水分水解成小片段,不利于三维网络的形成,此时凝胶强度低.综合考虑,醋酸浓度选择 0.2 mol/L 为宜.

**2.1.4 醋酸处理时间对鱼皮明胶品质的影响** 经 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h 后的鱼皮,再用 0.2 mol/L 醋酸溶液处理,探究醋酸处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 4 所示.

由图 4 可知,当醋酸处理时间从 2 h 延长至 4 h,鱼皮明胶得率显著提高,之后趋于平缓.鱼皮明胶凝胶强度与酸浸泡时间成反比,即随

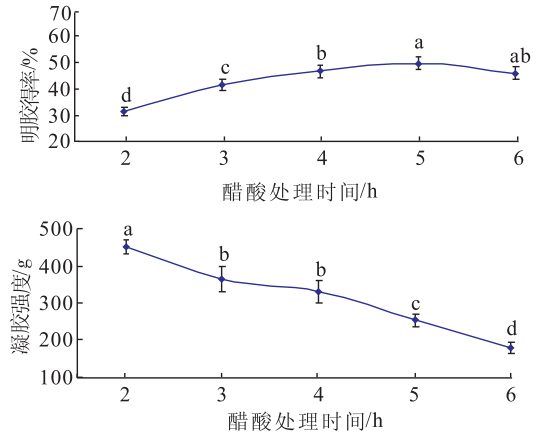


图 4 醋酸处理时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响  
Fig. 4 Effect of acetic acid treatment time on yield and gel strength of fish skin gelatin

着醋酸作用时间的增加,凝胶强度逐渐减小( $P < 0.05$ )。浸酸 2 h 时所得凝胶强度最大,但此时明胶得率仅有 31.42%;醋酸浸泡 3 h 和 4 h 所得明胶凝胶强度无显著性差异( $P > 0.05$ ),但 4 h 时明胶得率显著高于 3 h 处理组( $P < 0.05$ );当处理时间超过 5 h,明胶得率略有下降,凝胶强度显著减小( $P < 0.05$ )。随着醋酸作用时间的增加,稳定胶原螺旋结构的作用力被破坏,明胶得率上升;另一方面,酸处理使得胶原骨架主肽链部分降解<sup>[14]</sup>,其交联能力下降,凝胶强度逐渐减小。当酸处理时间过长时,可能使一些酸溶性蛋白过多地溶解在醋酸中,胶原在清洗过程中大量损失,再加上浸酸加重了明胶的次级水解,凝胶强度显著减小。综合考虑,醋酸处理时间选择 4 h 为宜。

**2.1.5 熬胶温度对鱼皮明胶品质的影响** 在鱼皮明胶制备预处理单因素试验基础上,继续探究熬胶温度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,在较低温度(40 ℃)制备的鱼皮明胶凝胶强度最大,但是明胶得率低;当熬胶温度从 40 ℃升高到 50 ℃时,明胶得率和凝胶强度变化不显著( $P > 0.05$ );当温度升高到

60 ℃时,明胶得率显著提高( $P < 0.05$ ),但其凝胶强度有所减小( $P < 0.05$ );随着温度继续升高,明胶得率增加并趋于平缓,当鱼皮明胶受热超过 80 ℃时,过高的温度会使鱼皮明胶的凝胶强度明显减小( $P < 0.05$ )。因此,温度过高或过低均不符合要求,试验熬胶温度不宜超过 80 ℃,最好维持在 70 ℃以下。原料鱼皮经温和酸碱预处理后,胶原分子的交联键被破坏,胶原充分溶胀。之后用高于 40 ℃的热水浴提胶处理,氢键和一部分共价交联键断裂释放出明胶<sup>[15]</sup>,40 ℃是鱼皮胶原由螺旋向无规卷曲转变的温度,通过螺旋向无规卷曲的转变可破坏胶原三股螺旋结构。升高温度可打断胶原分子的次级键和少部分肽键,使  $\alpha$  链断裂, $\alpha$  链和少量  $\alpha$  链聚集体进入溶液,形成可溶的明胶<sup>[16]</sup>。在熬制明胶的过程中,关键是要控制温度条件,防止明胶发生次级水解<sup>[17]</sup>。在较低的温度下制备明胶,鱼皮胶原水解温和,所得肽链较长,有助于凝胶网络结构,一般低温制备的明胶品质较好,但是产量低;明胶受热温度过高又将加速明胶的次级水解速度,分子链排序被打乱,并且蛋白质分子的氢键、范德华力也会遭到破坏<sup>[15]</sup>,致使明胶的凝胶强度急剧下降。综合考虑,熬胶温度选择 60 ℃为宜。

**2.1.6 熬胶时间对鱼皮明胶品质的影响** 选择熬胶温度为 60 ℃,探究熬胶时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响,结果如图 6 所示。

由图 6 可知,随着熬胶时间的延长,鱼皮明胶得率逐渐提高,当熬胶时间超过 4 h,明胶得率变化不显著( $P > 0.05$ ),而凝胶强度随着熬胶时间的延长呈现先增大后减小的趋势。短时间加热提取明胶,胶原分子释放出的  $\alpha$  肽链过少,含有高分子量的多聚体组分过多,导致此时鱼皮明胶得率和凝胶强度都较低,尤其是明胶得率。随着熬制时间的延长,鱼皮胶原水解程度增大, $\alpha$  链增多,形成较为有序的凝胶网络结

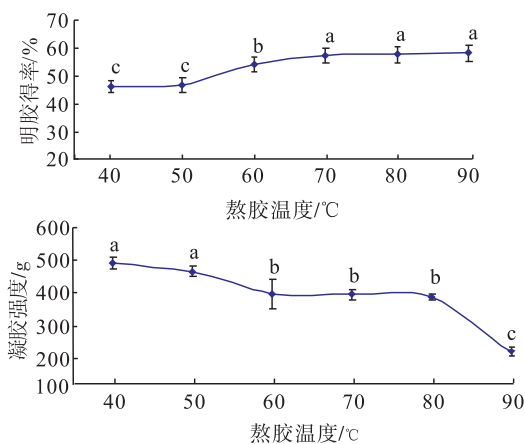


图 5 熬胶温度对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 5 Effect of extraction temperature on yield and gel strength of fish skin gelatin

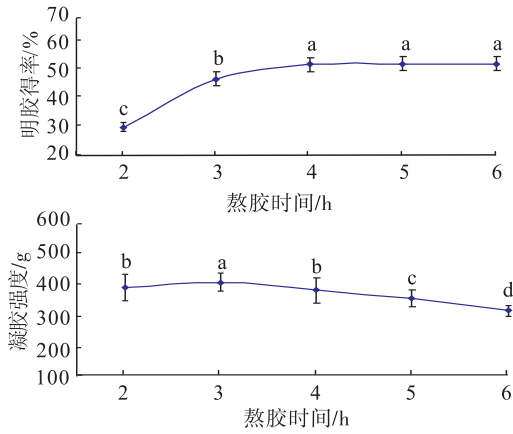


图6 熬胶时间对鱼皮明胶得率和凝胶强度的影响

Fig. 6 Effect of extraction time on yield and gel strength of fish skin gelatin

构.然而,熬胶时间过长又会导致次级水解产物增加,比 $\alpha$ 链小的片段增多,明胶纯度下降,明胶的凝胶强度减小且能耗增加.综合考虑,熬胶时间选择4 h为宜.

## 2.2 鱼皮明胶制备预处理工艺正交试验结果与分析

从以上单因素试验可以看出,鱼皮经酸碱结合法预处理浸泡后充分吸水膨胀,使胶原更容易转变为明胶,并且浸碱工艺和浸酸工艺有一定的交互作用.以鱼皮明胶得率和凝胶强度为指标,预处理工艺正交试验设计方案与结果见表2,正交试验明胶得率和凝胶强度的方差分析结果分别见表3和表4.

由表3可知,NaOH浓度、NaOH处理时间、醋酸浓度和醋酸处理时间在显著性水平上均是差异极显著的,结合表2可知,4种因素对鱼皮明胶得率的影响大小为醋酸处理时间 > NaOH浓度 > 醋酸浓度 > NaOH处理时间,并且,以明胶得率为评定指标的最佳组合为 $A_3B_2C_1D_3$ .由表4可知,NaOH浓度、NaOH处理时间、醋酸浓度和醋酸处理时间在显著性水平上均是差异极显著的,结合表2可知,4种因素对鱼皮明胶凝胶强度的影响大小为醋酸处理时间 > 醋酸浓

表2 预处理工艺正交试验设计方案与结果

Table 2 Orthogonal test design scheme and results of pretreatment process

试验号	因素				明胶得率/%	凝胶强度/g
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	56.64	397.67
2	1	2	2	2	63.75	350.27
3	1	3	3	3	69.13	298.93
4	2	1	2	3	67.69	316.75
5	2	2	3	1	65.31	350.31
6	2	3	1	2	64.82	354.41
7	3	1	3	2	67.98	319.34
8	3	2	1	3	69.31	331.31
9	3	3	2	1	65.11	322.90
$k_1$	63.17	64.10	63.59	62.35		
$k_2$	65.94	66.12	65.52	65.52		
$k_3$	67.47	66.35	67.47	68.71		
$r$	4.29	2.25	3.88	6.36		
$K_1$	348.96	344.59	361.13	356.96		
$K_2$	340.49	343.96	329.97	341.34		
$K_3$	324.52	325.41	322.86	315.66		
$R$	24.44	19.17	38.27	41.30		

注: $k, r$ 为明胶得率极差分析; $K, R$ 为凝胶强度极差分析

表3 正交试验明胶得率的方差分析

Table 3 Analysis of variance of gelatin yield in orthogonal test

差异来源	自由度 $df$	平方和 $SS$	均方 $MS$	$F$ 值	显著性
因素	8	357.55	44.69	159.46	**
误差	18	5.05	0.28		
总和	26	362.60			
A	2	94.21	47.11	168.07	**
B	2	30.33	15.16	54.10	**
C	2	52.28	26.14	93.27	**
D	2	180.73	90.37	322.42	**

注:\*\*表示差异极显著( $P < 0.01$ ), \*表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同

度 > NaOH浓度 > NaOH处理时间,并且,以凝胶强度为评定指标的最佳组合为 $A_1B_1C_1D_1$ .

由表2可知,鱼皮明胶得率与其对应的凝胶强度呈现相反的趋势,需要找出二者的平衡点.综合考虑明胶得率和凝胶强度,选择斑点叉尾鲷鱼皮明胶制备处理工艺为:NaOH浓度为0.2 mol/L, NaOH处理时间2 h,醋酸浓度为0.2 mol/L,醋酸处理时间4 h,然后在60℃条

件下水浴提取 4 h. 根据此工艺进行验证试验, 明胶得率达 73.36%, 凝胶强度为 434.86 g. 由动态流变学降温 and 升温模式测得鱼皮明胶的胶凝温度和融化温度分别为 19.0 °C 和 26.0 °C, 且此时鱼皮明胶等电点 pI 为 6.8.

表 4 正交试验凝胶强度的方差分析

Table 4 Analysis of variance of gel strength in orthogonal test

差异来源	自由度 <i>df</i>	平方和 <i>SS</i>	均方 <i>MS</i>	<i>F</i> 值	显著性
因素	8	21 583.97	2 698.00	342.20	* *
误差	18	141.92	7.88		
总和	26	21 725.89			
<i>A</i>	2	2 574.97	1 287.48	192.55	* *
<i>B</i>	2	3 036.13	1 518.06	163.30	* *
<i>C</i>	2	7 055.66	3 527.83	447.46	* *
<i>D</i>	2	8 917.21	4 458.61	565.51	* *

### 2.3 鱼皮明胶 SDS-PAGE 实验结果分析

斑点叉尾鮰鱼皮明胶的 SDS-PAGE 实验结果如图 7 所示. 由图 7 可知, 鱼皮酸性胶原 (ASC) 的电泳条带非常明显, 具有较完整的胶原三股螺旋结构,  $\alpha$  组分包含  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  两条链, 相对分子质量为 120 kDa,  $\beta$  链相对分子质量大约为  $\alpha$  链的两倍, 表明  $\beta$  组分是  $\alpha$  链的二聚体. 鱼皮经部分水解转变成明胶时, 共价交联键、次级键等的断裂是随机无规则的, 从而造成明胶分子是多组分的混合物, 没有确定的分子量. 猪皮明胶的分子量段大于鱼皮明胶, 这也解释了为什么鱼皮明胶的凝胶强度、胶凝温度和融化温度均低于猪皮明胶.

### 2.4 亲水胶体对鱼皮明胶品质的影响

前期试验发现, 当鱼皮明胶质量分数小于 1.5% 时, 明胶不形成凝胶; 当鱼皮明胶质量分数达到 1.5% 时, 明胶开始形成凝胶, 但此时所形成的凝胶网络结构松散. 因此, 可以认为 1.5% 是斑点叉尾鮰鱼皮明胶的最小胶凝质量分数. 由于此时明胶溶液尚未达到复配胶的临界质量分数, 可在此基础上添加一定量的亲水

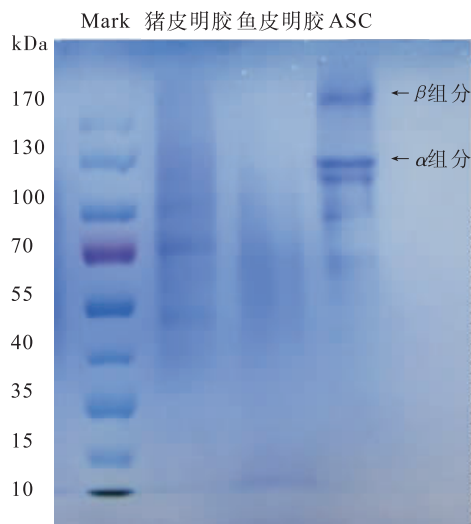


图 7 明胶样品电泳图

Fig. 7 SDS-PAGE of gelation samples

胶体. 由图 8 可知, 在鱼皮明胶与亲水胶体的复配胶中, 鱼皮明胶与卡拉胶复配效果最好, 由于海藻酸钠和黄原胶在水中分散性较差, 加入鱼皮明胶溶液中易发生聚集成团. 随着卡拉胶质量分数的增加, 鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶的凝胶强度逐渐增大, 当卡拉胶质量分数增大到 0.5% 时, 复配胶凝胶强度达到最大值. 之后进一步增大卡拉胶质量分数, 凝胶强度反而减小, 表明此时可能超过了二者复配的临界质量分数, 且可认为鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶临界质量分数为 2.0%.

固定鱼皮明胶 - 卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%, 改变其中明胶与卡拉胶的配比, 探究不同配比下凝胶强度和持水性的变化. 由图 9 可知, 随着明胶 - 卡拉胶复配胶中卡拉胶比例的增大, 其凝胶强度显著增大, 同时失水率增加, 复配胶持水性降低. 研究发现, 卡拉胶持水性差, 当复配胶中卡拉胶所占比例较小时, 持水性较好, 在 92% 以上; 当添加质量分数为 0.4% 的卡拉胶时, 复配胶持水性为 83.68%; 但当卡拉胶质量分数增加到 0.5% 时, 复配胶持水性下降到 63.44%. 综合考虑复配胶的凝胶强度和持



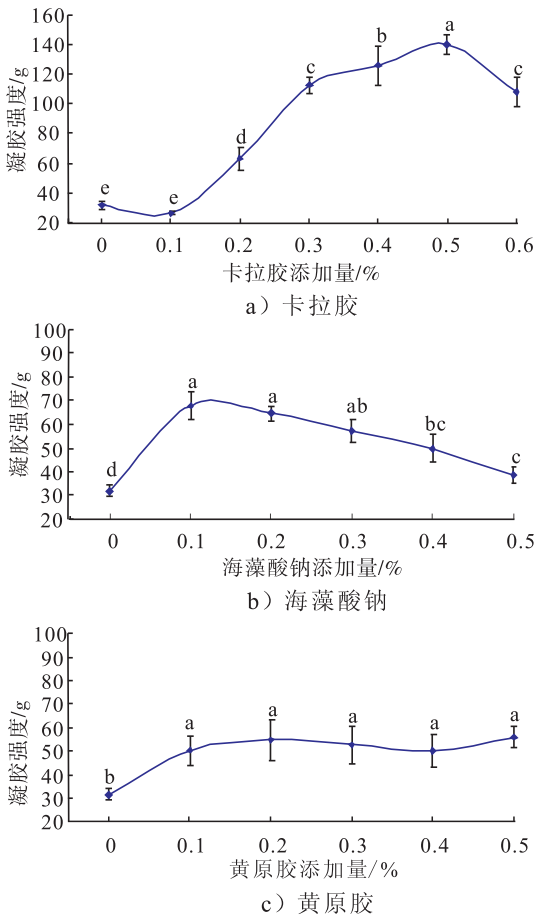


图8 亲水胶体对鱼皮明胶凝胶强度的影响

Fig. 8 Effect of hydrocolloids on the gel strength of fish skin gelatin

水性,选择鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,明胶-卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%。此配方所得复配凝胶的胶凝温度和融化温度分别为 17.6 °C 和 35.1 °C,相较于空白组,其胶凝温度和融化温度分别提高了 13.8 °C 和 22.8 °C。因此,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,并且,所得复配明胶质地均匀,弹性良好,透明度高,气味诱人。

复配溶液交互作用主要分为 3 种形式,即相容、不相容和共溶。鱼皮明胶与多糖类亲水胶体均为高聚物,发生共溶的几率较小。两种或两种以上胶体通过静电作用、氢键、共价键等发生相互作用称为相容,在胶凝临界质量分数以下,带正电荷的鱼皮明胶与卡拉胶的硫酸基团发生静电相互作用,可稳定复配胶的凝胶结构。但是

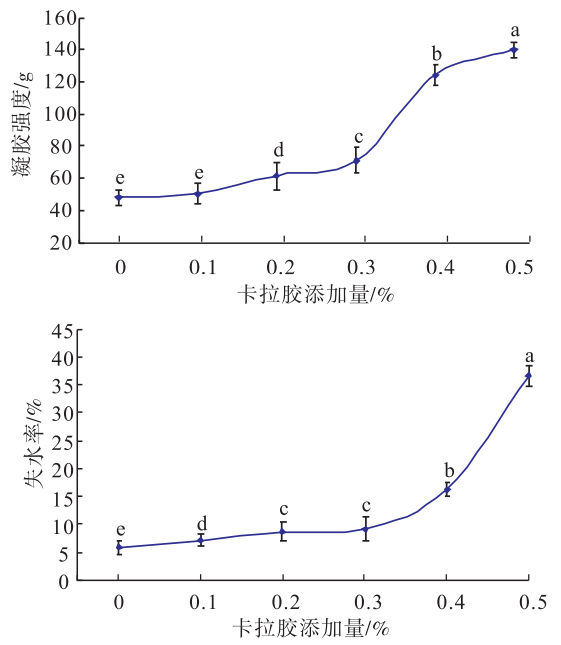


图9 不同配比对明胶-卡拉胶复配胶凝胶强度和持水性的影响

Fig. 9 Effect of different proportions on gel strength and water-holding capacity of gelatin-carrageenan mixture

当超过二者胶凝临界质量分数时,明胶与卡拉胶大分子彼此相互排斥,二者自我缔合,复配胶体系呈现不相容性。可以推断,当不添加卡拉胶时,形成的是以鱼皮明胶为主的网络结构;当逐渐增大复配体系中卡拉胶的比例时,鱼皮明胶与卡拉胶形成互穿型的网络结构,鱼皮明胶中带正电荷的基团与卡拉胶的硫酸基团发生静电反应,宏观上表现出较致密的网络结构,凝胶强度随之增大。

### 3 结论

本文采用酸碱结合法对鱼皮进行预处理,然后以热水浴提胶,通过单因素试验和正交试验优化鱼皮明胶制备工艺参数,确定了斑点叉尾鲷鱼皮明胶制备的最佳工艺:首先用 0.2 mol/L NaOH 溶液浸泡 2 h,然后用 0.2 mol/L 醋酸浸泡 4 h,最后在 60 °C 条件下水浴提取 4 h。此时,明胶得率达 73.36%,凝胶强

度为 434.86 g,胶凝温度和熔化温度分别为 19 ℃ 和 26 ℃,等电点 pI 为 6.8. SDS-PAGE 分析结果表明,鱼皮水解制备的明胶是多组分的混合物,没有确定的分子量,但具有分子量段.通过卡拉胶、海藻酸钠和黄原胶 3 种亲水胶体分别与斑点叉尾鮰鱼皮明胶复配,对比得出鱼皮明胶与卡拉胶的复配效果最优,选择鱼皮明胶质量分数为 1.6%,卡拉胶质量分数为 0.4%,鱼皮明胶-卡拉胶复配胶总质量分数为 2.0%,此配方所得复配凝胶的胶凝温度和熔化温度分别为 17.6 ℃ 和 35.1 ℃,相较于空白组,其胶凝温度和熔化温度分别提高了 13.8 ℃ 和 22.8 ℃. 这表明,卡拉胶的加入可提高鱼皮明胶的热稳定性,并且,所得复配凝胶质地均匀,弹性良好,透明度高,气味诱人.

本文获得的鱼皮凝胶产品的初步配方,为研发出热稳定性好、能在夏季高温中稳定贮存的鱼皮明胶凝胶类食品提供了新的理论依据和参考,同时为解决鱼类加工副产物造成的环境污染及其综合利用问题提供了参考途径.

## 参考文献:

- [1] 杨树奇,章超桦,曾少葵,等. 3 种鱼皮的基本成分及氨基酸组成分析[J]. 广东海洋大学学报(自然科学版),2010,30(1):97.
- [2] 崔凤霞. 海参胶原蛋白生化性质及胶原肽活性研究[D]. 上海:中国海洋大学,2008.
- [3] YANG H S, WANG Y F, JIANG M K, et al. 2-step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelation[J]. Journal of Food Science, 2007, 72(4): C188.
- [4] PAPON P, LEBLOND J. Gelation and transitions in biopolymers[M] // The physics of phase transitions, Berlin Heidelberg: Springer, 2002: 185.
- [5] WARD A G, COURTS A. Science and technology of gelatin[M]. New York: Academic Press, 1977.
- [6] KASANKALA L M, YAN X, YAO W L, et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(17): 3338.
- [7] 李丁, 刘海英, 过世东. 斑点叉尾鮰鱼皮明胶制备工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2006(12): 134.
- [8] 刘海英. 斑点叉尾鮰鱼皮胶原蛋白及胶原蛋白多肽的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [9] IKOMA T, KOBAYSSHI H, TANAKA J, et al. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 32(3/5): 199.
- [10] JONGJAREONRAK A, BENIAKUL S, VISESANGNAN W, et al. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(8): 1216.
- [11] MONTERO P, FERNÁNDEZ-DÍAZ M D, GÓMEZ-GUILLÉN M C. Characterization of gelatin gels induced by high pressure[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(3): 197.
- [12] 刘小玲. 鸡骨明胶的制备、结构及功能性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [13] JONGJAREONRAK A, BENJAKUL S, VISESANGVAN W, et al. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper[J]. European Food Research and Technology, 2006, 222(3/4): 229.
- [14] 于洋, 方旭波. 罗非鱼皮明胶的制备及性质研究[J]. 中国食物与营养, 2009(1): 26.
- [15] 陈小娥, 方旭波, 钟秋琴. 安康鱼皮明胶的制备及性质研究[J]. 食品科技, 2006(12): 173.
- [16] MONTERO P, GÓMEZ-GUILLÉN M C. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(3): 434.
- [17] 王卫东, 李超, 孙月娥. 鱼皮明胶的制备、特性及应用[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 484.



引用格式:金晓帆,商玉荟,朱萍,等. 无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分的影响[J]. 轻工学报,2018,33(5):20-29.

中图分类号:TS261.4 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.003

文章编号:2096-1553(2018)05-0020-10

# 无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分的影响

## Effect of inorganic nitrogen sources supplementation on (non) volatile constituents in lychee wine

金晓帆<sup>1</sup>,商玉荟<sup>1</sup>,朱萍<sup>2</sup>,钟秋平<sup>1</sup>

JIN Xiaofan<sup>1</sup>, SHANG Yuhui<sup>1</sup>, ZHU Ping<sup>2</sup>, ZHONG Qiuping<sup>1</sup>

1. 海南大学 食品学院,海南 海口 570228;

2. 海南大学 热带农林学院,海南 海口 570228

1. College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China

### 关键词:

无机氮源;荔枝酒;酿酒酵母;(非)挥发性成分

### Key words:

inorganic nitrogen source; lychee wine; *Saccharomyces cerevisiae*; (non) volatile constituent

**摘要:**分别添加质量浓度范围为 60 ~ 360 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  于无核荔枝汁中,研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响,结果表明:1)添加不同质量浓度的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  可以不同程度地加快酿酒酵母对糖的消耗速率,缩短发酵时间,保持 pH 值在 3.55 ~ 3.67 范围内,提高乙醇和酯类物质的总量,降低甘油、琥珀酸和乙醛的产生量;2)首次检出 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮(DDMP)这一具有多种生理活性的功能性成分,明确了是无机氮源的添加促进了该物质的生成。

收稿日期:2018-07-23

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(317013)

作者简介:金晓帆(1994—),女,山东省枣庄市人,海南大学硕士研究生,主要研究方向为食品发酵。

通信作者:钟秋平(1966—),男,福建省武平县人,海南大学教授,博士,主要研究方向为食品发酵。

**Abstract:** Supplementation of lychee juice was made with concentration in the range 60 ~ 360 mg/L of ammonium chloride, diammonium phosphate, respectively, the effects on the fermentation dynamics of *saccharomyces cerevisiae* and (non) volatile constituents produced during the fermentation of lychee wine were investigated. The results showed that addition of different concentrations of ammonium chloride and diammonium phosphate increased the rate of consumption sugar at different degrees, and shortened the yeast fermentation time. The alcohol content and total esters were increased significantly, whereas the glycerol, acetaldehyde and succinic acid was decreased obviously. A product of the Maillard reaction, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one (DDMP), which has various physiological functions, was detected for the first time in lychee wine. It proved that the supplementation of inorganic nitrogen source promoted the generation of the product.

## 0 引言

无核荔枝,系授粉受精后的幼果因对温度敏感,发生早期败育和种核退化而形成的完全无核的荔枝,近几年在海南发展迅速.无核荔枝采收期短,果皮易龟裂、褐变而导致腐烂损失<sup>[1]</sup>.无核荔枝肉厚、汁多,含糖量和可食率高,适合加工成果汁、罐头和果酒<sup>[2]</sup>.与果汁、水果罐头相比,果酒的增值效益更为显著<sup>[3]</sup>.利用无核荔枝酿制的果酒称为无核荔枝酒.因无核荔枝的氮源相对不足,利用其酿制的无核荔枝酒残糖含量高,风味欠佳<sup>[4]</sup>.

氮源是酿酒酵母生长和发酵过程中重要的营养物质,影响果酒的成分和感官品质.在酿酒过程中,当可同化氮源含量不足时,酿酒酵母发酵力弱,发酵过程缓慢, $H_2S$ 和高级醇类物质生成量大,果酒的品质低;当可同化氮含量过高时,酿酒酵母发酵速率快,对人体有致癌作用的氨基甲酸乙酯、生物胺等有害物质与引起酒体口感尖酸苦涩的醋酸含量增加,使得成品果酒生物稳定性较差<sup>[5]</sup>.可同化氮源包括有机氮源和无机氮源,与有机氮源相比,无机氮源价廉易得.在众多的无机氮源中,以 $NH_4^+$ 形式存在的无机氮源能直接被酵母菌利用,而 $NO_3^-$ 则需在还原成 $NH_4^+$ 后才能被酵母菌利用<sup>[6]</sup>.铵盐是一种富裕氮源,可以增加果酒中总可同化氮源的含量,调节可同化氮源中无机氮源和有机氮源的比例,促进酿酒酵母对氮源的合理利用.张

丹等<sup>[7]</sup>研究发现,在果酒酿造过程中添加适量的铵盐可以增加挥发性香气物质的含量,降低具有中毒和麻醉作用的异戊醇的含量.曾朝珍等<sup>[8]</sup>研究发现,在苹果酒白兰地酿造过程中添加无机氮源,可增强酵母菌的发酵动力,提高产品总酸和酒精度.因此,在无核荔枝酒发酵中添加适宜的无机氮源,将有助于酿酒酵母的生长,提高无核荔枝酒的产量和品质,并降低成本,提高经济效益.

鉴于此,本文拟在无核荔枝的酿酒过程中分别添加不同质量浓度的无机氮源 $NH_4Cl$ 和 $(NH_4)_2HPO_3$ ,研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响,旨在进一步提高无核荔枝酒的品质,为果酒的产业化发展提供新的理论依据和参考.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

实验材料:金澄无核荔枝,海南陆桥农业发展有限公司提供;酿酒酵母 DV10 (*Saccharomyces cerevisiae* DV10),果胶酶,上海杰兔工贸有限公司产.

实验试剂: $NH_4Cl$ , $(NH_4)_2HPO_3$ ,均为分析纯,阿拉丁试剂有限公司产;甲醇(色谱纯),瑞典欧森巴克化学公司产;焦磷酸钠, $NaH_2PO_3$ 等,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司产;酒精、乙酸和甘油测定试剂盒:R-biopharm AG, D-64297 Darmstadt, Germany,丙酮酸试剂

盒,南京建成生物工程研究所产。

## 1.2 仪器与设备

DS-200型组织捣碎机,上海垒固仪器有限公司产;HH4型数显恒温水浴锅,常州澳华仪器有限公司产;ILRH-250A型生化培养箱,韶关泰宏医疗器械有限公司产;AR124CN型电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司产;Sorvall Stratos型高速冷冻离心机,美国 Thermo 公司产;TG16-WS型高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产;PAL-1型手持糖度计,日本 ATAGO 公司产;FE20型实验室 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;T6型新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司产;1260型液相色谱仪,6890-5975C型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司产。

## 1.3 实验方法

**1.3.1 无核荔枝汁的制备** 将去皮后的新鲜无核荔枝的果肉打浆,添加质量分数为 0.02% 的果胶酶,于 50 °C 条件下酶解 2 h,经纱布过滤除去果渣,添加蔗糖与苹果酸调整荔枝汁的糖度(°Brix)与 pH 值分别为 23.0% 和 3.50。根据所得的果汁体积添加适量皂土,静置 24 h,取上清液进行硅藻土抽滤,得澄清荔枝汁,接种前添加质量浓度为 200 mg/L 的偏重硫酸钠。

**1.3.2 无核荔枝汁的发酵** 将质量浓度为 60 mg/L, 120 mg/L, 240 mg/L, 360 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (分别以 A-60, A-120, A-240, A-360 表示) 和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  (分别以 B-60, B-120, B-240, B-360 表示) 分别添加至无核荔枝汁(已于 100 °C 条件下灭菌 15 min) 中,冷却后接入质量浓度为 0.2 g/L 活化好的酿酒酵母 DV10,于 20 °C 恒温条件下发酵,以不添加无机氮源的无核荔枝汁发酵液作为空白组(CK)。

**1.3.3 酿酒酵母生长曲线与糖耗曲线的绘制**

取 1 mL 无核荔枝汁发酵液,于 3 000 r/min 条件下离心 15 min 后得酿酒酵母沉淀物,添加

蒸馏水洗涤,以同样条件离心两次得最终酿酒酵母沉淀物,于 80 °C 条件下烘干至恒重,以酿酒酵母质量为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制酿酒酵母生长曲线。

用手持糖度计每 d 测定无核荔枝汁发酵液可溶性固形物的含量,以可溶性固形物含量为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制可溶性固形物的变化趋势——酿酒酵母糖耗曲线。

**1.3.4 发酵代谢产物质量浓度的测定** 分别取各处理样品 1 mL,于 6000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液,稀释适当的倍数后,按照检测试剂盒说明书测定丙酮酸、乙酸、甘油、乙醇的质量浓度。

采用高效液相色谱法测定苹果酸、柠檬酸、琥珀酸的质量浓度。色谱柱为 Zorbax SB-aq (250 mm × 4.6 mm × 5 μm),流动相为 0.01 mol/L ( $\text{V}(\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_3(\text{pH}=2.62))$ ):  $\text{V}(\text{甲醇})=97:3$ ,柱温 30 °C,流速 0.8 mL/min,进样量 15 μL,检测波长 215 nm。

**1.3.5 挥发性物质的测定** 采用气质联用仪器进行测定,选用 AB-INowax (30.0 m × 250 μm × 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱。柱温 45 °C (保留 2 min),以 4 °C/min 升温至 230 °C,保持 20 min;汽化室温度 250 °C;载气为高纯 He (99.999%);柱前压 5.08 psi,载气流量 1.0 mL/min;进样量 1 μL;溶剂延迟时间 1.5 min。离子源为 EI 源;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;电子能量 70 eV;发射电流 34.6 μA;倍增电压 1618 V;接口温度 280 °C;扫描质量范围 20~450 amu。

对总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对 Nist2008 和 Wiley275 标准质谱图,确定挥发性化学成分,用峰面积归一化法测定各化学成分的相对质量分数。

## 1.4 数据分析

所有分析数据为各组处理三次重复的平均

值,利用 SPSS 18.0 进行方差分析(ANOVA),各平均值利用 Duncan 多重比较检验进行差异显著性分析, $P < 0.05$  为差异显著, $P > 0.05$  为差异不显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 无机氮源对酿酒酵母生长与糖耗的影响

酿酒酵母生长曲线见图 1。由图 1 可知,经  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理后的酿酒酵母在发酵前期呈现出快速生长的状态,当二者质量浓度为 240 ~ 360 mg/L 时,酿酒酵母的生长尤为迅速。经  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理后的酿酒酵母,其最大生长量分别为 6.7 ~ 6.9 mg/mL 和 7.1 ~ 7.4 mg/mL,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  处理组与 CK 空白组 (6.7 mg/L) 差异不明显 ( $P > 0.05$ ),而  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理组较 CK 空白组增加了 5.9% ~ 10.4%。经无机氮源处理后的酿酒酵母,其最大生长量出现的时间较 CK 空白组提早了 1 d。由此可见,无机氮源的添加可加快酿酒酵母的发酵进程,这与韩东等<sup>[9]</sup>研究发现的添加无机氮源可加快酿酒酵母发酵速度的结果一致。酿酒酵母发酵速度加快的原因可能与适宜

浓度的氮为酿酒酵母提供了充足的氮源有关。

可溶性固形物含量随发酵时间变化情况见图 2。由图 2 可知,所有无机氮源处理组的可溶性固形物消耗速率均快于 CK 空白组。随着  $\text{NH}_4\text{Cl}$  质量浓度的增加,可溶性固形物消耗速率呈现先加快后减慢的趋势,并且在  $\text{NH}_4\text{Cl}$  质量浓度为 240 mg/L 时消耗速率最快;  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理组的可溶性固形物消耗速率逐渐加快,当  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  质量浓度高于 240 mg/L 时,其可溶性固形物减少趋势变缓。这表明:氮浓度过低会降低糖消耗速率,提高无核荔枝酒发酵过程中无机氮源的浓度,促进糖代谢进程。

### 2.2 无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度和甘油质量浓度的影响

无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度的影响见图 3 a)。由图 3 a) 可知,添加无机氮源后,无核荔枝酒的酒精度均有不同程度的提高。与 CK 空白组相比,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  质量浓度为 120 mg/L 的处理组的酒精度(酒精的质量分数)最高(13.4%),其余处理组的酒精度在 12.5% ~ 12.9% 之间。  $\text{NH}_4^+$  是酿酒酵母较好的氮源,有

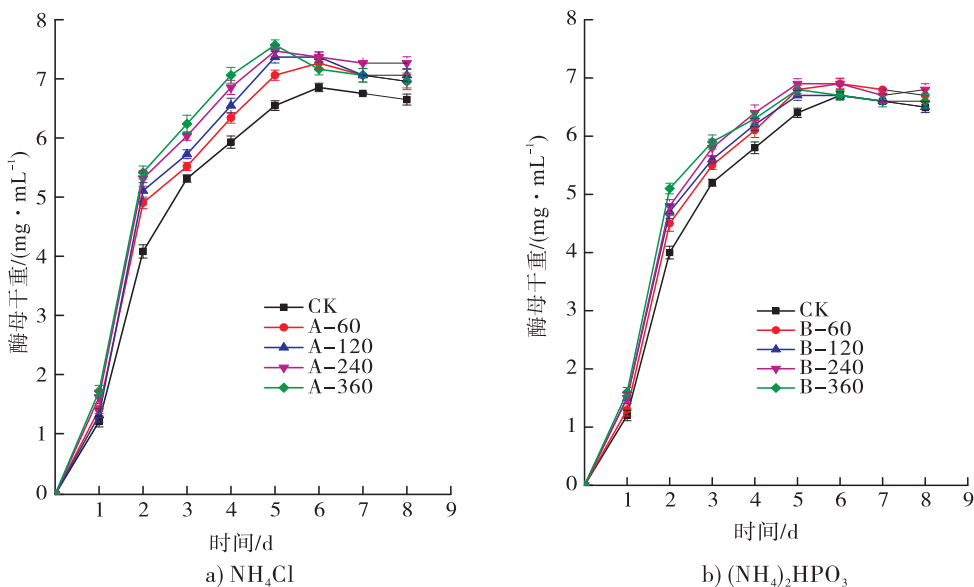


图 1 酿酒酵母 DV10 生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *Saccharomyces cerevisiae* DV10

利于酿酒酵母对有机氮源的吸收,能促进酿酒酵母的生长与乙醇的生成<sup>[10]</sup>. 在相同发酵条件下,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  处理组的酒精度上升程度更为明显, 表明酿酒酵母对  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的利用率更高.

添加无机氮源对无核荔枝酒甘油质量浓度的影响见图 3 b), 由图 3 b) 可知, 与 CK 空白组相比, 无机氮源处理组的甘油质量浓度显著降低 ( $P < 0.05$ ), 其变化范围在 6.15 ~

6.58 mg/mL 之间, 当无机氮源质量浓度超过 240 mg/L 后, 甘油的质量浓度不再发生改变. 在酒精发酵中, 甘油是由二羟丙酮磷酸 (DHAP) 经过两个步骤产生, 它的存在可维持酵母细胞细胞质的氧化还原平衡<sup>[11]</sup>. 加入的无机氮源可以作为渗透压保护剂, 降低酿酒酵母对甘油生成的需要, 从而导致甘油质量浓度的降低.

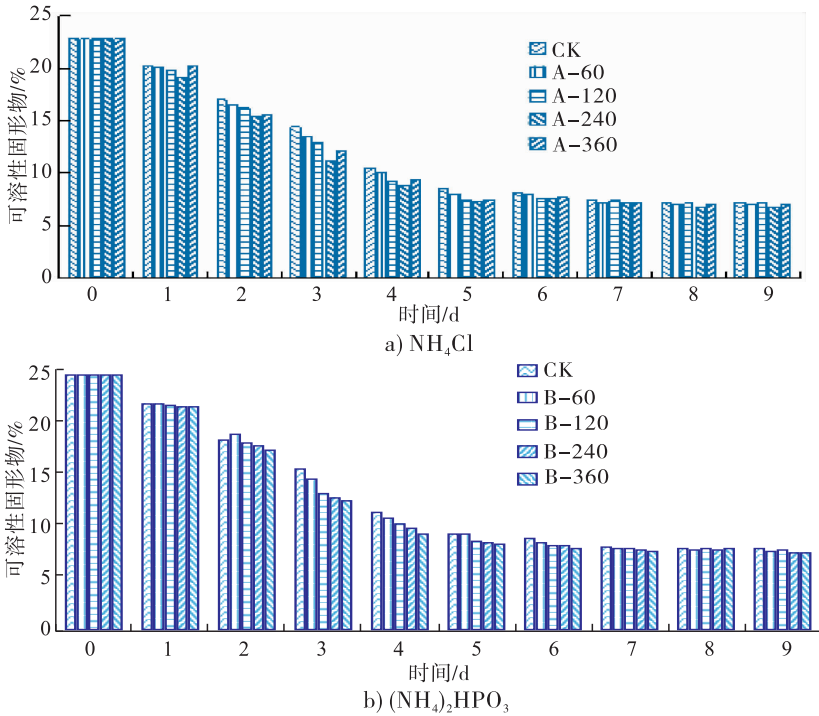


图 2 可溶性固形物含量随发酵时间变化图

Fig. 2 Changes of consumption of soluble solid content during fermentation

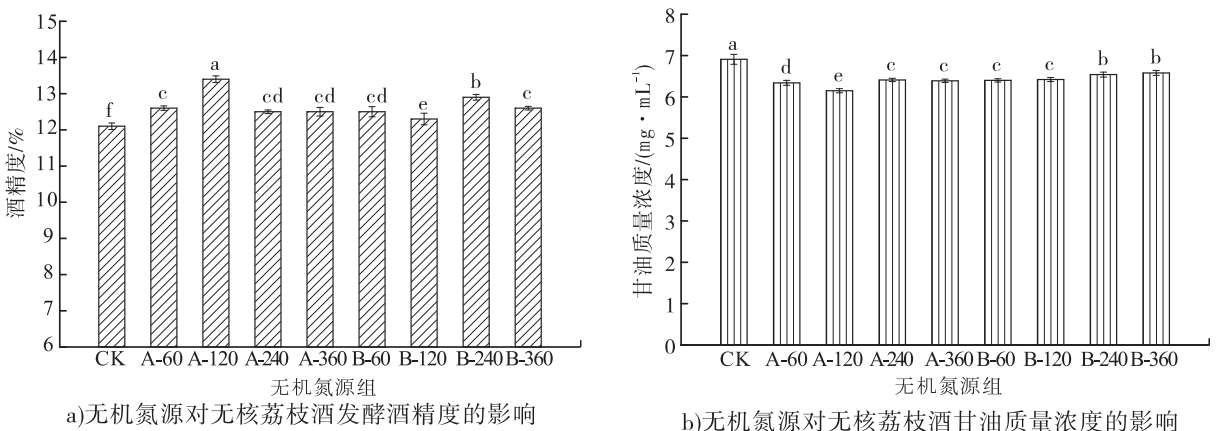


图 3 无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度和甘油质量浓度的影响

Fig. 3 Effect of inorganic nitrogen sources on alcohol degree and glycerol mass concentration during the fermentation of lychee wine

## 2.3 无机氮源对无核荔枝酒 pH 值与主要有机酸的影响

无核荔枝酒中的 pH 值与有机酸质量浓度见表 1,表中同列数据间不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),相同小写字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ).由表 1 可知,发酵结束后荔枝酒的 pH 值在 3.61 ~ 3.67 范围内,与 CK 空白组相比,除添加质量浓度为 60 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  样品组的 pH 值显著降低以外,其余无机氮源处理组的 pH 值均显著增加( $P < 0.05$ ).

无核荔枝酒中含有较高的苹果酸和琥珀酸(见表 1).苹果酸酸味爽口,呈味较强且时间长.添加  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  对无核荔枝酒中的苹果酸含量影响相差较大,苹果酸质量浓度最大值与最小值之间相差约 1 g/L.琥珀酸味道复杂,既苦又咸,富有味觉特征,适量的琥珀酸赋予酒体醇厚感,但过量对酒体的品质有负面影响.与 CK 空白组相比,发酵结束后,两种无机氮处理组的琥珀酸含量均显著降低( $P < 0.05$ ),表明添加适量的无机氮源可以降低无核荔枝酒的咸苦味.酒石酸在影响果酒的稳定性方面具有重要作用,随着无机氮浓度的增加,酒石酸含量呈现先增加后减少的趋势,其质量浓度变化范围为 0.35 ~ 0.44 g/L.除添加质量浓度为 60 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理组的酒石酸含量与 CK 空白组相比显著增加外,

其余无机氮源处理组的酒石酸含量均显著降低( $P < 0.05$ ).而对于非主体酸柠檬酸和丙酮酸而言,添加无机氮源对它们的影响相对较小.

## 2.4 无机氮源对无核荔枝酒挥发性成分的影响

### 2.4.1 酯类化合物

酯类化合物是构成果酒香气的重要物质,对酒体产生积极的作用<sup>[12]</sup>.酯类物质在酿酒酵母代谢中,主要由乙酰辅酶 A 酵解和氨基酸的碳骨架生成<sup>[4]</sup>.无核荔枝酒中挥发性成分的相对百分含量见表 2.由表 2 可知,一共检出 28 种酯类物质.与 CK 空白组相比,无机氮源处理组的挥发性酯类化合物总的相对百分含量有不同程度的提高.无机氮源处理组中具有不同果香味和甜蜜香味的乙酸异戊酯、乙酸乙酯、辛酸乙酯的相对百分含量都有不同程度的提高,2-苯乙醇乙酸酯、丁酸-3-羟基-乙基酯、七叶内酯、氰酸乙酯、壬酸乙酯和棕榈酸甲酯只在  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  处理组中存在,而已酸乙酯、乙酸苯乙酯为  $\text{NH}_4\text{Cl}$  处理组特有的脂类物质.由此可见,添加无机氮源对无核荔枝酒的酯类成分有一定的调节作用,在酿造过程中可以根据需要进行选择.

### 2.4.2 醇类化合物

高级醇是果酒香气的重要组成部分,在酿酒酵母发酵过程中由氨基酸和糖代谢产生.酒体中高级醇含量过高会对人

表 1 无核荔枝酒中的 pH 值与有机酸质量浓度

Table 1 The pH value and organic acids mass concentration of lychee wine

样品	pH 值	苹果酸质量 浓度/(g · L <sup>-1</sup> )	琥珀酸质量 浓度/(g · L <sup>-1</sup> )	酒石酸质量 浓度/(g · L <sup>-1</sup> )	柠檬酸质量 浓度/(g · L <sup>-1</sup> )	丙酮酸质量 浓度/(g · L <sup>-1</sup> )
CK	3.59 ± 0.01 <sup>e</sup>	4.80 ± 0.19 <sup>bc</sup>	1.28 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.19 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>
A-60	3.55 ± 0.01 <sup>f</sup>	4.94 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.15 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.43 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>
A-120	3.61 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.39 ± 0.02 <sup>f</sup>	1.02 ± 0.01 <sup>e</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>
A-240	3.63 ± 0.00 <sup>bc</sup>	4.52 ± 0.08 <sup>ef</sup>	0.99 ± 0.01 <sup>f</sup>	0.37 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>
A-360	3.61 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.83 ± 0.04 <sup>bc</sup>	1.09 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.35 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.24 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>b</sup>
B-60	3.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.24 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.20 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>a</sup>
B-120	3.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.41 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.14 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.40 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>b</sup>
B-240	3.65 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.16 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.95 ± 0.02 <sup>e</sup>	0.37 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>
B-360	3.62 ± 0.01 <sup>cd</sup>	4.68 ± 0.08 <sup>e</sup>	0.86 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.00 <sup>d</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.15 ± 0.00 <sup>c</sup>



表2 无核荔枝酒中挥发性成分的相对百分含量

Table 2 Relative constituents of volatile components in lychee wine

%

化合物种类	挥发性成分	CK A-240 B-240			化合物种类	挥发性成分	CK A-240 B-240		
		CK	A-240	B-240			CK	A-240	B-240
酯类化合物	棕榈酸乙酯	0.04	0.04	0.05	醇类化合物	乙醇	54.33	56.8	58.12
	棕榈酸甲酯	—	—	0.02		仲辛醇	3.02	2.31	2.75
	乙酸异戊酯	0.04	0.09	0.07		正己醇	0.01	—	0.02
	乙酸乙酯	0.10	0.15	0.26		正辛醇	0.04	0.03	0.02
	乙酸苯乙酯	—	0.09	—		正庚醇	0.03	0.01	0.04
	乙基-9-癸烯酸酯	0.08	0.05	0.04		正丁醇	0.01	0.01	0.02
	辛酸乙酯	0.08	0.22	0.07		正戊醇	0.01	—	—
	辛酸甲酯	0.02	0.01	0.02		异丁醇	0.69	0.36	0.32
	壬酸乙酯	—	—	0.02		乙酰甲基原醇	—	—	0.04
	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇双异丁酸酯	0.02	0.05	—		三甲基硅醇	0.10	0.14	0.11
	十三酸甲酯	0.01	0.01	—		芳樟醇	0.01	0.01	0.01
	氰酸乙酯	—	—	0.05		丙醇	0.05	0.12	0.18
	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇苯甲酸酯	0.03	0.04	—		DL-3,4-二羟基苯基二醇	—	0.01	0.02
	1,2-苯二甲酸二(2-甲基-丙基)酯	0.02	0.03	—		6,10-二甲基-4-十一烷醇	—	0.01	0.25
	七叶内酯	—	—	0.02		3-乙氧基-1-丙醇	—	0.03	0.05
	磷酸三丁酯	0.13	0.15	0.02		3-甲基丁醇	1.91	2.34	2.11
	癸酸乙酯	0.07	0.07	0.07		3-甲基-1-戊醇	0.01	—	0.02
	硅酸乙酯二(三甲基硅基)酯	—	—	0.04		2-乙基-1-己醇	0.04	0.01	0.02
	二甲基硅烷二醇二乙酸酯	0.35	0.45	0.40		(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇	—	0.04	—
	丁酸乙酯	0.01	0.01	0.02		2-壬醇	—	—	0.02
	丁酸-3-羟基-乙基酯	—	—	0.02		2-甲基-1-丁醇	—	1.46	0.77
	2-氧代丙酸乙酯	—	0.01	0.02		2-壬醇	—	0.01	—
	2-苯乙醇乙酸酯	—	—	0.07		十一醇	—	0.01	—
	1,3-丙二醇双乙酸酯	0.01	0.01	0.02		苯乙醇	0.88	0.67	1.05
	3-羟基丁酸乙酯	0.04	0.08	—		1-辛烯-3-醇	0.09	0.15	0.14
	己酸乙酯	—	0.12	—		月桂醇	0.02	—	0.02
	羟基乙酸乙酯	0.02	—	—		3-甲基-2-庚醇	0.01	—	—
	癸酸甲酯	0.01	—	—		3-甲基-1-十二炔-3-醇	0.01	—	—
硫化物	二甲基硫醚	0.26	0.36	0.01	2-亚甲基环丙基乙醇	0.03	—	—	
	3-甲硫基丙醇	0.01	0.01	—	1-己烯-3-醇	0.11	—	—	
烷类化合物	十三烷	0.01	0.03	0.02	(R)-3,7-二甲基-6-辛烯醇	—	—	0.05	
	十六烷	0.02	0.14	0.02	酸类化合物	乙酸	1.87	0.81	0.95
	十甲基环五硅氧烷	0.10	0.20	0.11		辛酸	0.20	0.30	0.25
	十二甲基环六硅氧烷	0.05	0.09	0.07		己酸	0.01	0.01	—
	六甲基环三硅氧烷	0.11	0.27	0.11		乙醛	0.40	0.37	0.33
	八甲基环四硅氧烷	0.21	0.19	0.14		香草醛	0.02	—	0.02
	4,5-二甲基-1,3-二噁烷	—	0	0.02		天竺葵醛	0.01	0.01	0.02
	1-乙氧基-1-甲氧基乙烷	—	0	0.04		苯甲醛	0.01	0.01	0.02
	二甲基二甲氧基硅烷	0.01	0.01	—		2,5-二羟基苯甲醛	0.04	0.04	0.02
	2,3-二甲基壬烷	0.01	0.01	—		乙缩醛	0.02	0.01	0.02
	1-乙氧基-1-甲氧基乙烷	0.01	0.01	—		正辛醛	—	0.03	—
	1,1-二乙氧基乙烷	0.02	0.05	0.09		糠醛	0.03	—	—
	1,1-二甲基环戊烷	—	0	0.02		苯乙醛	0.01	—	—
	十四甲基六硅氧烷	0.03	—	—		2-辛酮	0.02	0.01	0.02
十四甲基环五硅氧烷	0.05	—	—	其他		2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮	0.03	0.05	0.06
					2,4-二叔丁基苯酚	0.09	0.16	0.11	

注：“—”表示未检出

体造成危害,但含量过少则会导致风味单薄<sup>[13]</sup>.由表2可知,在无核荔枝酒检出的醇类物质中,除乙醇外,主要醇类物质有仲辛醇、异丁醇、苯乙醇和3-甲基丁醇等.苯乙醇含量较高且具有玫瑰花香,仲辛醇有甜味和淡淡的花香,适量的仲辛醇存在于果酒中可使果酒具有一定的回甜感,而3-甲基丁醇和异丁醇则有让人不愉快的气味.

**2.4.3 酸类化合物** 由表2可知,无核荔枝酒中的挥发性酸类物质有乙酸、己酸和辛酸3种,果酒中的乙酸主要来源于醋酸菌的氧化、酿酒酵母的代谢和异型乳酸发酵.根据QB/T 4262的规定,荔枝酒挥发酸的质量浓度应低于1.2 g/L.对于果酒而言,当挥发酸质量浓度高于0.8 g/L时,可明显感到不怡人的风味.与CK空白组相比,添加质量浓度为240 mg/L的 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 显著降低了无核荔枝酒中乙酸的相对百分含量.其原因可能是添加适量的无机氮源抑制了酿酒酵母中乙醛脱氢酶的作用,导致酒体中醋酸含量降低.己酸属低级脂肪酸,对无核荔枝酒的风味有一定贡献作用,添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 的无核荔枝酒中己酸含量与CK空白组差别不显著,而添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的无核荔枝酒中未检出己酸.辛酸具有令人不愉快的气味,但它可以与醇类结合生成酯类,是提高果酒品质的重要保障<sup>[6]</sup>,添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的无核荔枝酒中辛酸的含量明显高于CK空白组.

**2.4.4 羰基化合物** 乙醛是无核荔枝酒中主要的羰基化合物.适量的乙醛有助于果酒风味的形成,但过量乙醛会给果酒带来不成熟的口感甚至是辛辣感.由表2可知,添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 降低了乙醛的相对百分含量;具有玫瑰和橙皮香气的正辛醛仅在 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 处理组中被检出,而糠醛和苯乙醛仅在CK空白组中检出;其他羰基化合物相对百分含量变化不大.

**2.4.5 硫化物** 无核荔枝酒中仅检出二甲基

硫醚和3-甲硫基丙醇两种硫化物.添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 明显提高了二甲基硫醚的相对百分含量,而 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 则显著降低了二甲基硫醚的相对百分含量;3-甲硫基丙醇未在添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的处理组中检出.

**2.4.6 烷类化合物** 无核荔枝酒中共检出15种烷类化合物(见表2).主要的烷类化合物为八甲基环四氧硅烷、六甲基环三硅氧烷和十甲基环五硅氧烷.添加 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 增加了六甲基环三硅氧烷和十甲基环五硅氧烷的相对百分含量,降低了八甲基环四氧硅烷的相对百分含量.而添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 仅降低了八甲基环四氧硅烷的相对百分含量,对其他两种主要烷类化合物几乎没有影响.

**2.4.7 其他化合物** 令人感兴趣的是,在无核荔枝酒中首次检出了2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮(DDMP)这一具有极强的抗氧化、抑菌、抑酶等多种生理活性的功能性成分<sup>[14,15]</sup>, $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的添加均促进了该物质的生成,这可能与无机氮源的添加节约了形成DDMP的前体物质氨基酸等有机氮有关.但该物质的含量偏低,如何进一步提高无核荔枝酒中DDMP的含量,改善荔枝酒的功能品质,是值得继续研究的课题.

## 2.5 无核荔枝酒主成分分析结果

主成分分析法主要用于分析添加无机氮源与主要挥发性物质之间的相关性.主成分分析法是将检出的众多挥发性物质进行降维处理,找出若干个综合因子来代表原来众多的变量,使得这些综合因子尽可能多地反映原来变量的信息(而彼此之间互不相干).之后,对降维处理的特征向量进行线性分类,最后在PCA分析的散点图上显示主要的二维散点图,以达到简化的目的<sup>[16]</sup>.第1主成分(PC1)和第2主成分(PC2)包含了在转换中得到的第1主成分和第2主成分的贡献率,贡献率越大,表明降维后的

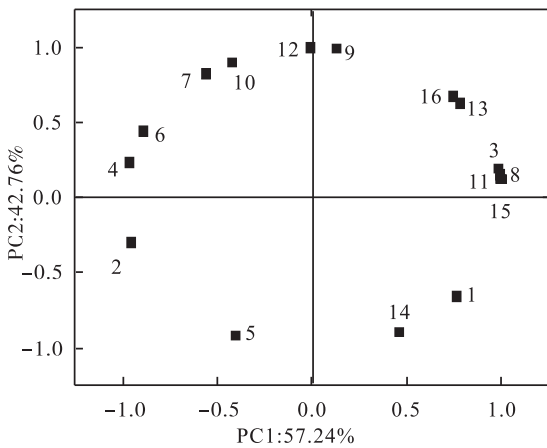
综合指标能更多地反映原来多指标的信息. CK 空白组与添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图见图 4, 其中, 1 代表乙醇; 2 代表仲辛醇; 3 代表 3 - 甲基丁醇; 4 代表乙酸; 5 代表苯乙醇; 6 代表异丁醇; 7 代表乙醛; 8 代表二甲基硅烷二醇二乙酸酯; 9 代表二甲基硫醚; 10 代表八甲基环四氧硅烷; 11 代表辛酸; 12 代表磷酸三丁酯; 13 代表六甲基环三硅氧烷; 14 代表乙酸乙酯; 15 代表 2 - 甲基 - 1 - 丁醇; 16 代表辛酸乙酯. 由图 4 可知, PC1 解释了酒样之间 57.24% 的差异, PC2 解释了酒样之间

42.76% 的差异. 不补充无机氮源的对照 CK 空白组与乙酸、异丁醇、乙醛、八甲基环四氧硅烷、磷酸三丁酯分布在 PC2 的左上半部分; 添加质量浓度为 240 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的处理组与 3 - 甲基丁醇、二甲基硅烷二醇二乙酸酯、二甲基硫醚、辛酸、辛酸乙酯则分布在 PC1 的右上半部分; 添加质量浓度为 240 mg/L 的  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  的处理组与乙醇、乙酸乙酯则分布在 PC1 的右下半部分. 由此可见, 主成分分析可以将不补充无机氮源的对照 CK 空白组与添加了质量浓度为 240 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  的处理组区分开来.

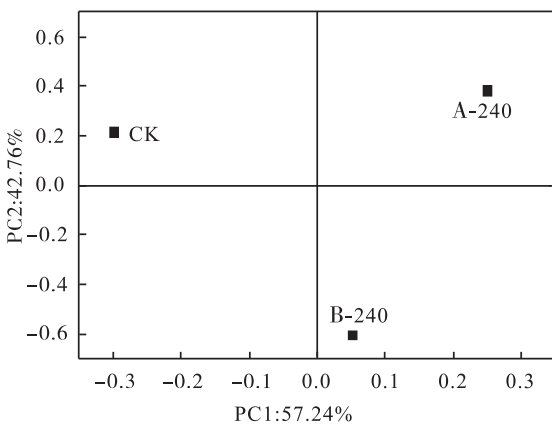
### 3 结论

本文以无核荔枝为原料, 在所制备的无核荔枝酒发酵过程中分别添加质量浓度范围为 60 ~ 360 mg/L 的无机氮源  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ , 研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响. 结果表明: 添加不同质量浓度的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$  可以不同程度地加快酿酒酵母对糖的消耗速率, 缩短发酵时间, 保持 pH 值在 3.55 ~ 3.67 范围内, 提高乙醇和酯类物质的总量, 降低甘油、琥珀酸和乙醛的产生量. 同时, 本研究首次检出 2,3 - 二氢 - 3,5 - 二羟基 - 6 - 甲基 - 4H - (吡喃) - 4 - 酮(DDMP) 这一具有多种生理活性的功能性成分, 而无机氮源的添加促进了该物质的生成. 因此, 在无核荔枝酒的酿造过程中, 添加适宜浓度的无机氮源对无核荔枝酒的安全生产和品质提升均有一定的正向调节作用.

本研究有望填补无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分影响已有研究的不足, 为果酒的研究和产业化发展提供新的理论依据和参考, 丰富果酒产品的多样性, 推进新型果酒产业化生产的进程.



a) 无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图



b) 添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图

图 4 无核荔枝酒与添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图

Fig. 4 Bi-plot of principal component analysis of the main volatile compounds in lychee wine and lychee wine supplemented with inorganic nitrogen

## 参考文献:

- [1] SHANG Y H, ZHU P, ZHONG Q P, et al. Acetate metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* at different temperatures during lychee wine fermentation[J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2016, 30(3):512.
- [2] 商玉荟. 可同化氮对无核荔枝酒发酵品质的影响研究[D]. 海口:海南大学, 2017.
- [3] 钟秋平, 方佳. 低温发酵荔枝澄清汁酿制优质荔枝酒[J]. *热带作物学报*, 2005, 26(3):74.
- [4] 张斌, 曾新安, 陈勇. 氨基酸对荔枝酒风味的影响[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(9):216.
- [5] SMIT I, PFLIEHINGER M, BINNER A, et al. Nitrogen fertilisation increases biogenic amines and amino acid concentrations in *Vitis vinifera* var Riesling musts and wines[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2014, 94(10):2064.
- [6] 于占学. 营养盐添加对酵母的发酵影响初探[D]. 长春:吉林大学, 2012.
- [7] 张丹, 锁然, 范力欣, 等. 可同化氮素对固态发酵枣酒高级醇的影响[J]. *酿酒科技*, 2013(11):15.
- [8] 曾朝珍, 张永茂, 康三江, 等. 不同氮源及浓度对苹果白兰地酒发酵的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(8):205.
- [9] 韩东, 李红, 景建洲. 不同氮源与浓度对苹果啤酒发酵及风味的影响[J]. *酿酒科技*, 2015(10):5.
- [10] 周光荣, 杨雪峰, 段雪荣, 等. 葡萄酒发酵过程中氮源的控制与管理[J]. *科技创新与应用*, 2014, 24:287.
- [11] PAMPULHA M E, LOUREIRO-DIAS M C. Energetics of the effect of acetic acid on growth of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2000, 184(1):69.
- [12] MATO I, SUÁREZ-LUQUE S, HUIDOBRO J F. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines[J]. *Food Research International*, 2005, 38(10):1175.
- [13] 程军, 秦伟帅, 赵新节. 葡萄酒酿造中高级醇的形成机制与调节[J]. *中国酿造*, 2011, 30(12):9.
- [14] HIRAMOTO K, NASUHARA A, MICHIKOSHI K, et al. DNA strand-breaking activity and mutagenicity of 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (DDMP), a Maillard reaction product of glucose and glycine[J]. *Mutation Research*, 1997, 395:47.
- [15] TAKARA K, OTSUKA K, WADA K, et al. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory effects of constituents of sugarcane molasses[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2007, 71:183.
- [16] 唐会周. 电子鼻在水果品质评价体系中的应用研究进展[J]. *食品与包装机械*, 2011, 29(1):51.



引用格式:肖旭华,汪薇,杨宏. 超声波辅助水酶法提取芝麻油的工艺优化研究[J]. 轻工学报,2018,33(5):30-36.

中图分类号:TS224.2 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.004

文章编号:2096-1553(2018)05-0030-07

# 超声波辅助水酶法提取芝麻油的工艺优化研究

## Process optimization of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of sesame oil

肖旭华<sup>1</sup>,汪薇<sup>2</sup>,杨宏<sup>3</sup>

XIAO Xuhua<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, YANG Hong<sup>3</sup>

1. 金昌市食品检验检测中心,甘肃 金昌 737100;

2. 湖北省食品质量与安全监督检验研究院,湖北 武汉 430079;

3. 华中农业大学 食品科技学院,湖北 武汉 430070

1. Jinchang Center for Food Control, Jinchang 737100, China;

2. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430079, China;

3. College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

### 关键词:

芝麻油;水酶法提取;  
超声波提取;工艺优化

### Key words:

sesame oil;  
aqueous enzymatic  
extraction;  
ultrasonic extraction;  
process optimization

**摘要:**以芝麻为原料,采用超声波辅助水酶法提取芝麻油,研究了超声处理条件(处理时间和处理温度)和酶解条件(料液比、酸性蛋白酶质量分数、酶解pH值、酶解温度和酶解时间)对芝麻油得率的影响。结果表明,提取芝麻油的最优工艺条件为:超声处理时间为15 min,超声处理温度为50℃;料液比为1:10,酸性蛋白酶质量分数为0.16%,酶解pH值为3.0,酶解温度为45℃,酶解时间为5 h。在此条件下进行芝麻油提取验证试验,芝麻油得率可达43.28%,所得芝麻油的油质好且污染少。这表明用超声波辅助水酶法工艺提取芝麻油具有可行性,且优于许多传统方法。

收稿日期:2018-07-04

基金项目:“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD27B03)

作者简介:肖旭华(1989—),女,湖南省娄底市人,金昌市食品检验检测中心助理工程师,主要研究方向为食品检测和食品安全。

通信作者:汪薇(1989—),女,湖北省武汉市人,湖北省食品质量与安全监督检验研究院工程师,博士,主要研究方向为农产品加工与贮藏、食品有害物质筛查。

**Abstract:** The sesame was used as raw material to extract sesame oil by ultrasonic-assisted aqueous enzymatic method. The effects of ultrasonic treatment conditions (treatment time and treatment temperature) and enzymatic hydrolysis conditions (material-to-liquid ratio, acid protease mass fraction, enzymatic hydrolysis pH, temperature and time) on sesame oil yield were discussed. The results showed that the optimal extraction conditions for sesame oil were as follows: ultrasonic treatment time was 15 min, ultrasonic treatment temperature was 50 °C; material-to-liquid ratio was 1 : 10, acid protease mass fraction was 0.16%, enzymatic hydrolysis pH was 3.0, hydrolysis temperature was 45 °C, hydrolysis time was 5 h. The sesame oil extraction verification test was carried out under these conditions, the yield of sesame oil could reach 43.28%, and the obtained sesame oil had good oil quality and less pollution, which indicated that it was feasible to extract sesame oil by ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction and superior to many conventional methods.

## 0 引言

芝麻,属胡麻科胡麻属植物.我国芝麻产量约占世界芝麻总产量的34%,素有“芝麻王国”之称<sup>[1]</sup>.作为我国四大食用油料作物之一,芝麻种子含油量高达46%~62%,且芝麻油的消化吸收率高,含有大量人体必需的脂肪酸<sup>[2]</sup>,包括油酸、亚油酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸和微量的亚麻酸,此外,芝麻油还含有木脂素类和生育酚类这两大类抗氧化物质.因此,芝麻油是一种品质好、营养价值高的优良食用油,经常食用可改善人体血液循环,延缓衰老<sup>[3]</sup>.

目前,芝麻油的主要提取工艺有水代法、压榨法和浸出法等.其中,水代法是我国芝麻油提取的传统方法,但由于生产规模小,资源得不到合理利用,无法实现连续化生产;使用压榨法进行芝麻油的提取,存在产量低、操作麻烦、饼中残油偏高等问题;浸出法较压榨法提油率有了大幅提高,但整个工艺过程需使用有机化学试剂,使油料作物中蛋白质的含量和品质均受到不同程度的破坏,从而影响蛋白质的功能特性,并且溶剂用量大,易造成环境污染<sup>[4-7]</sup>.

水酶法是近年来受广泛关注的一种油脂提取新工艺,它是以机械和酶解为手段,通过破坏植物细胞壁,使油脂得以释放,具有出油率高、毛油质量好、色泽浅、能耗低、不易造成环境污

染等优点<sup>[8-11]</sup>.超声波作为一种高频机械振荡波,在物料局部区域中可迅速交替压缩和膨胀,对物料施加张力和压溃作用,产生空化效应;同时,超声波的机械振动、增溶效应等作用也可促进物料中有效成分的溶出,利于油料中油脂的提取;并且,超声波还具有成本低、设备简单、操作容易等优点<sup>[12-14]</sup>.目前,水酶法提取茶叶籽、葵花籽、松仁、油菜籽等油料作物中油脂的研究已有较深入的报道<sup>[15-19]</sup>,如王维茜等<sup>[19]</sup>研究发现,采用水酶法优化提取芝麻油,其最佳工艺条件为酶解温度为55 °C,液料比为5 : 1,酶解时间为120 min,pH值为8.5,在此条件下,芝麻油得率可达69.33%.超声波辅助水酶法处理条件温和,设备简单,生产安全,能耗少,油脂得率高,油质好,污染少,同时,获得的油脂无需进行脱胶,与传统油脂提取方法相比具有很大的优越性.采用超声波辅助水酶法提取油脂的研究可见少量报道<sup>[20-22]</sup>,如张伟光等<sup>[22]</sup>采用超声辅助水酶法提取冬瓜籽油,得出最佳提取工艺条件为颗粒粒度为60目,液料比为7 : 1,酶质量分数为2.0%,pH值为8.0,酶解温度为55 °C,超声时间为20 min,超声功率为150 W,超声温度为50 °C,在此条件下,冬瓜籽油提取率为82.55%.然而,采用超声波辅助水酶法提取芝麻油鲜有报道.

本文以芝麻为原料,在前期试验的基础上,采用超声波辅助水酶法提取芝麻油,对超声处

理条件(处理时间和处理温度)和酶解条件(料液比、酸性蛋白酶质量分数、酶解 pH 值、酶解温度和酶解时间)进行优化研究,以探索芝麻油提取的新途径。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 原料与试剂

实验原料:芝麻(含油量为 52.37%),购买于华中农业大学教育超市。

主要试剂:酸性蛋白酶(50 000 U/g),食品级,无锡雪梅酶制剂科技有限公司产;柠檬酸,  $\text{Na}_2\text{HPO}_3$ , NaOH, 石油醚,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司产。

### 1.2 仪器与设备

CDE-220E2 型多功能食品处理机,佛山市顺德区欧科电器有限公司产;AEL-200 电子分析天平,湘仪天平仪器设备有限公司产;YXQ-SG46-280S 型手提式压力蒸汽灭菌锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂产;KQ-250E 型超声波清洗器,昆山市超声波仪器制造厂产;PHS-25 型数字式 pH 计,上海日岛科学仪器有限公司产;HHS 型精密恒温水浴锅,江苏金坛市医疗仪器厂产;LXJ-IIB 型飞鸽牌离心机,上海安亭科学仪器厂产;GZX-9246MBE 型数显热鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂产。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 芝麻油提取工艺流程** 芝麻→烘干→粉碎→过 60 目筛→加水调节料液比→蒸汽预处理(0.05~0.1 MPa 下蒸煮 20 min)→冷却→超声波处理→调 pH 值→酶解反应→灭酶(95 ℃ 水浴加热 10 min)→第一次离心分离(4000 r/min, 15 min)→收集上层毛油,弃去乳状液,水洗残渣→第二次离心分离(4000 r/min, 15 min)→收集上层油→将两次离心收集的油合并,得毛油。

### 1.3.2 芝麻油得率计算

$$\text{芝麻油得率} = \frac{\text{芝麻油的质量}}{\text{芝麻粉的原料质量}} \times 100\%$$

**1.3.3 单因素试验设计** 以芝麻油得率为指标,分别探讨不同超声处理时间(5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min)、不同超声处理温度(40 ℃, 45 ℃, 50 ℃, 55 ℃, 60 ℃)、不同料液比(1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10)、不同酸性蛋白酶质量分数(0.04%, 0.08%, 0.12%, 0.16%, 0.20%)、不同酶解 pH 值(2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0)、不同酶解温度(35 ℃, 40 ℃, 45 ℃, 50 ℃, 55 ℃)和不同酶解时间(2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h)对芝麻油得率的影响,并确定最优的芝麻油提取单因素条件。

**1.3.4 正交试验设计** 在单因素试验的基础上,以芝麻油得率为评价指标,选取料液比(A)、酸性蛋白酶质量分数(B)、酶解温度(C)和酶解时间(D)为影响因素,设计四因素三水平  $L_9(3^4)$  正交试验,以优化超声波辅助水酶法提取芝麻油的工艺条件。表 1 为正交试验因素水平表。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal experimental factor level table

水平	因素			
	A	B/%	C/℃	D/h
1	1:8	0.12	40	4
2	1:9	0.16	45	5
3	1:10	0.20	50	6

### 1.4 数据分析

所有试验均重复 3 次,结果取平均值。应用 SAS 9.0 软件和 GraphPad Prism 5 对试验数据进行分析 and 绘图。单因素试验采用 Duncan 多重比较分析法,正交试验采用最小显著极差法进行各数据之间的显著性对比,当  $P < 0.05$  时,为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声处理条件对芝麻油得率的影响

#### 2.1.1 超声处理时间对芝麻油得率的影响

在前期试验的基础上,设定超声处理功率为 400 W,超声处理温度为 50 ℃,料液比为 1:9,酶解 pH 值为 3.0,酸性蛋白酶质量分数为 0.16%,酶解温度为 45 ℃,酶解时间为 3 h,在此条件下考察超声处理时间对芝麻油得率的影响,结果如图 1 所示。

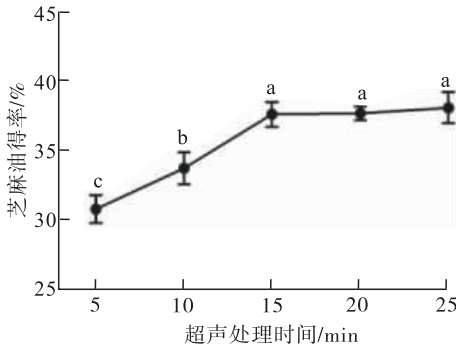


图 1 超声处理时间对芝麻油得率的影响  
Fig. 1 Effects of ultrasonic treatment time on the yield of sesame oil

由图 1 可知,芝麻油得率随超声时间的延长而升高,超声处理 15 min 后渐趋稳定.这可能是由于在开始的时间段内,超声波对细胞膜的破碎作用比较大,溶出物多,使得芝麻油得率不断升高<sup>[16]</sup>;当溶解度达到饱和后,有效成分不再被溶出,再延长超声时间对提高提取率意义不大.因此,最适超声处理时间为 15 min.

#### 2.1.2 超声处理温度对芝麻油得率的影响

设定超声功率为 400 W,超声波处理时间为 15 min,料液比为 1:9,酶解 pH 值为 3.0,酸性蛋白酶质量分数为 0.16%,酶解温度为 45 ℃,酶解时间为 3 h,在此条件下考察超声处理温度对芝麻油得率的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,当超声温度低于 45 ℃时,芝麻油得率较低.当超声温度从 45 ℃升高到

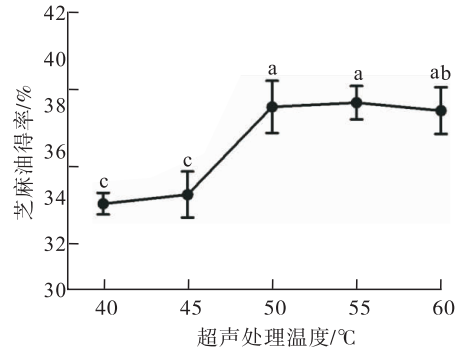


图 2 超声处理温度对芝麻油得率的影响  
Fig. 2 Effects of ultrasonic treatment temperature on the yield of sesame oil

50 ℃时,芝麻油得率随着温度的升高显著提高,表明此超声温度段有利于芝麻油的提取.当超声温度超过 50 ℃时,芝麻油得率提高缓慢,甚至略有下降,这可能是因为超声温度低于 50 ℃时,分子扩散运动小,物料的空化作用不够完全,得率较低<sup>[11]</sup>,但温度过高又会引起蛋白质变性,造成溶解度降低,从而阻碍油脂的溢出<sup>[17]</sup>.因此,最适超声处理温度为 50 ℃.

### 2.2 酶解条件对芝麻油得率的影响

2.2.1 料液比对芝麻油得率的影响 设定超声处理时间为 15 min,超声处理温度为 50 ℃,酸性蛋白酶质量分数为 0.16%,酶解 pH 值为 3.0,酶解温度为 45 ℃,酶解时间为 3 h,在此条件下考察料液比对芝麻油得率的影响,结果如图 3 所示。

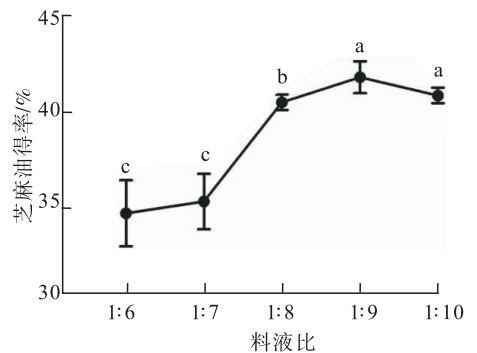


图 3 料液比对芝麻油得率的影响  
Fig. 3 Effects of material-to-liquid ratio on the yield of sesame oil



由图3可知,当料液比小于1:9时,芝麻油得率随着料液比的增加快速上升,并在料液比为1:9时达到最大值,这可能是由于酶解时加入的水有利于酶和芝麻粉末的充分接触,利于酶解的进行.当料液比大于1:9时,芝麻油得率反而有所下降,原因可能是加水量过多降低了酶与芝麻粉末的浓度,进而降低了蛋白酶分子与底物分子的碰撞几率,使得反应速率降低,从而使酶作用效果下降<sup>[9]</sup>.因此,最适料液比为1:9.

**2.2.2 酸性蛋白酶质量分数对芝麻油得率的影响** 设定超声处理时间为15 min,超声处理温度为50℃,料液比为1:9,酶解pH值为3.0,酶解温度为45℃,酶解时间为3 h,在此条件下考察酸性蛋白酶质量分数对芝麻油得率的影响,结果如图4所示.

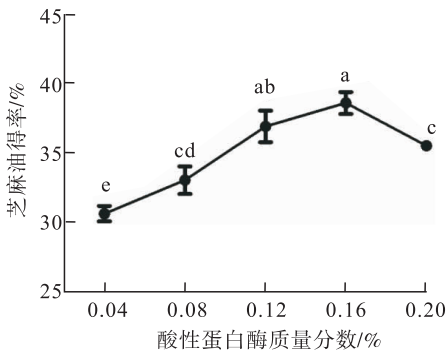


图4 酸性蛋白酶质量分数对芝麻油得率的影响  
Fig. 4 Effects of acid protease mass fraction on the yield of sesame oil

由图4可知,随着酸性蛋白酶质量分数的增加,芝麻油得率呈现先升高后下降的趋势,当酸性蛋白酶质量分数为0.16%时达最大值,当酸性蛋白酶质量分数超过0.16%时,芝麻油得率反而下降,这可能是由于反应底物已饱和,过多的酶引起无效的结合而减弱了酶解效果.因此,最适酸性蛋白酶质量分数为0.16%.

**2.2.3 酶解 pH 值对芝麻油得率的影响** 设定超声处理时间为15 min,超声处理温度为

50℃,料液比为1:9,酸性蛋白酶质量分数为0.16%,酶解温度为45℃,酶解时间为3 h,在此条件下考察酶解pH值对芝麻油得率的影响,结果如图5所示.

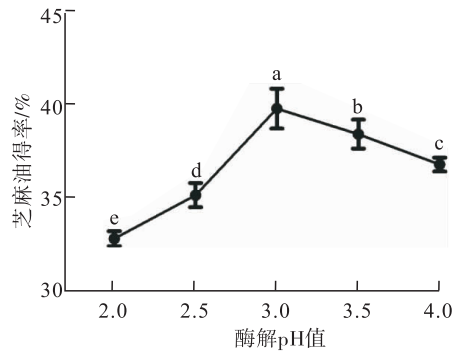


图5 酶解 pH 值对芝麻油得率的影响  
Fig. 5 Effects of enzymatic hydrolysis pH value on the yield of sesame oil

由图5可知,芝麻油得率随着酶解pH值的升高显著提升,在pH值为3.0时达到最大值.但当pH值超过3.0时,芝麻油得率随pH值的升高而下降,这可能与酸性蛋白酶的最适酶解pH值有关,酸性蛋白酶的适宜酶解pH值为2.5~4.0,当酶解pH值偏离其最适pH值时,不利于酸性蛋白酶作用,也不利于芝麻油的提取.因此,最适酶解pH值为3.0.

**2.2.4 酶解温度对芝麻油得率的影响** 设定超声处理时间为15 min,超声处理温度为50℃,料液比为1:9,酸性蛋白酶质量分数为0.16%,酶解pH值为3.0,酶解时间为3 h,在此条件下考察酶解温度对芝麻油得率的影响,结果如图6所示.

由图6可知,随着酶解温度升高,芝麻油得率不断上升,在45℃时达到最大值,超过45℃时,芝麻油得率随着温度的升高而迅速下降.在一定温度范围内,酶解反应随温度升高而加快,但当温度升高至一定程度时,酶发生了变性,其活性中心结构被破坏,会部分甚至完全丧失其催化活性,从而降低酶解反应速度<sup>[18]</sup>.综合考

考虑酸性蛋白酶的最适酶解温度范围(40 ~ 50 ℃),选择45 ℃为最适酶解温度。

**2.2.5 酶解时间对芝麻油得率的影响** 设定超声处理时间为15 min,超声处理温度为50 ℃,料液比为1:9,酸性蛋白酶质量分数为0.16%,酶解pH值为3.0,酶解温度为45 ℃,在此条件下考察酶解时间对芝麻油得率的影响,结果如图7所示。

由图7可知,随着酶解时间的延长,芝麻油得率不断上升,但当酶解时间超过4 h时,芝麻油得率增幅变小,这可能是由于底物减少,且所释放的油脂对酶解反应的抑制作用增强,油脂的释放不再进一步增加,芝麻油得率趋于稳定,并且酶解时间过长还会影响油的色泽和品质。因此,选择4 h为最适酶解时间。

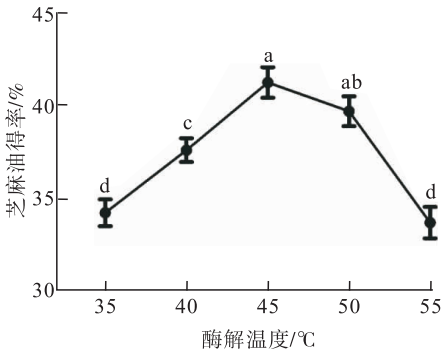


图6 酶解温度对芝麻油得率的影响

Fig. 6 Effects of enzymatic hydrolysis temperature on the yield of sesame oil

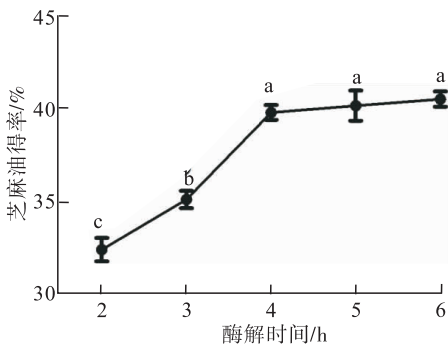


图7 酶解时间对芝麻油得率的影响

Fig. 7 Effects of enzymtic hydrolysis time on the yield of sesame oil

## 2.3 芝麻油提取工艺条件正交试验优化结果

芝麻油提取工艺条件的正交试验设计方案与结果见表2。

表2 正交试验设计方案与结果  
Table 2 Design scheme and results of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	芝麻油得率/%
1	1	1	1	1	36.63
2	1	2	2	2	40.59
3	1	3	3	3	35.52
4	2	1	2	3	40.75
5	2	2	3	1	42.28
6	2	3	1	2	38.94
7	3	1	3	2	42.96
8	3	2	1	3	39.22
9	3	3	2	1	41.61
$K_1$	37.58	40.11	38.26	40.17	
$K_2$	40.66	40.70	40.98	40.83	
$K_3$	41.26	38.69	40.25	38.50	
R	3.68	2.01	2.72	2.33	

由表2可知,各因素对芝麻油得率影响的主次顺序为料液比>酶解时间>酶解温度>酸性蛋白酶质量分数,最优组合为 $A_3B_1C_3D_2$ ,即优化后的芝麻油提取工艺条件为:料液比为1:10,酸性蛋白酶质量分数为0.16%,酶解时间为5 h,酶解温度为45 ℃.在此条件下进行验证试验,芝麻油得率为43.28%.虽然本研究提取工艺所得的芝麻油得率不及个别已有研究的芝麻油得率高,如王维茜等<sup>[19]</sup>采用水酶法优化提取芝麻油,其芝麻油得率可达69.33%,但本研究所得芝麻油的油质好且污染少:颜色金黄,色泽清亮,带有浓厚的芝麻香味,油脂液体中仅含有少量的胶状物。

## 3 结论

本文以芝麻为原料,采用单因素试验结合正交试验,确定了超声波辅助水酶法提取芝麻油的最佳工艺条件为:超声处理时间为15 min,超声处理温度为50 ℃,料液比为1:10,酸性

蛋白酶质量分数为0.16%,酶解pH值为3.0,酶解温度为45℃,酶解时间为6h.在此条件下进行芝麻油提取验证试验,芝麻油得率为43.28%.并且,该条件下所得芝麻油的油质好且污染少;颜色金黄,色泽清亮,带有浓厚的芝麻香味,油脂液体中仅含有少量的胶状物.

本研究成果为芝麻油的提取探索了一条新的途径,可为改进油料作物油脂提取工艺提供技术参考.然而,目前对于超声波辅助水酶法技术在提取芝麻油方面的研究仍处于探索阶段,水酶法用水量大、酶成本高和尚需制定水酶法产品标准等问题亟待解决.如何解决水和酶的循环使用,以及如何将超声波辅助水酶法技术应用于大规模的产业化生产是今后需继续深入探索的方向.

#### 参考文献:

- [1] 李娜. 芝麻的营养成分与食疗保健作用[J]. 中国食物与营养,2008(5):55.
- [2] GB 8233—2008,芝麻油[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [3] 芝麻研究室. 芝麻的营养保健价值及综合利用[J]. 现代农业科技,2009(5):286.
- [4] 刘玉兰,陈刘杨,汪学德,等. 芝麻品种和制油工艺对芝麻油品质的影响[J]. 油脂加工,2010,35(2):6.
- [5] 杜仲,辅徐英. 芝麻油制取新工艺研究及在化妆品中开发应用[J]. 粮油加工,2006(12):21.
- [6] 魏东,窦福良. 低温压榨芝麻油的工艺研究[J]. 食品科学,2010,31(22):260.
- [7] 张雅娜,王辰,刘丽美,等. 芝麻油提取方法研究进展[J]. 中国食物与营养,2017,23(10):42.
- [8] LATIF S, ANWAR F. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction[J]. Food Chemistry,2011,125(2):679.
- [9] 宋玉卿,于殿宇,王瑾,等. 水酶法提取榛子油工艺条件研究[J]. 食品科学,2008,29(8):261.
- [10] 王瑛瑶,贾照宝,张霜玉. 水酶法提油技术的应用进展[J]. 中国油脂,2008,33(7):24.
- [11] 冷玉娴,许时婴,王璋,等. 水酶法提取葵花籽油的工艺[J]. 食品与发酵工业,2006,32(10):127.
- [12] 米宏伟,唐传核,杨晓泉,等. 超声波协助提取荞麦蛋白的研究[J]. 食品工业,2005(4):38.
- [13] 吴素萍. 超声辅助酶法提取燕麦蛋白的研究[J]. 粮食与饲料工业,2007(9):22.
- [14] 赵玉红,李莉. 超声波辅助提取松仁蛋白的工艺研究[J]. 中国林副特产,2008(1):6.
- [15] 王敬敬,麻成金,黄伟,等. 水酶法提取茶叶籽油工艺条件研究[J]. 中国食物与营养,2010(6):49.
- [16] SAJID L, FAROOQ A. Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2009, 86(4):393.
- [17] LI Y, JIANG L Z, SUI X N, et al. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of pine kernel oil by response surface methodology [J]. Procedia Engineering,2011(15):4641.
- [18] 刘志强,令玉林,曾云龙,等. 水相酶解法提取菜籽油与菜籽蛋白工艺的优化[J]. 农业工程学报,2004,20(3):163.
- [19] 王维茜,邓洁红,刘永红,等. 水酶法提取芝麻油的工艺研究[J]. 粮食与油脂,2015,28(8):28.
- [20] 杨柳,江连洲,李杨. 超声波辅助水酶法提取大豆油的研究[J]. 中国油脂,2009,34(12):10.
- [21] 王小英,曹安银. 超声波协同水酶法提取小麦胚芽油的研究[J]. 中国油脂,2008,33(4):16.
- [22] 张伟光,邸凯,赵国君. 超声辅助水酶法提取冬瓜籽油的工艺研究[J]. 中国油脂,2017,42(11):12.



引用格式:许春平,俞金伟,冉盼盼,等.烟草花蕾的酶解条件优化及其烟用香料制备研究[J].轻工学报,2018,33(5):37-43.

中图分类号:TS41<sup>+</sup>3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.005

文章编号:2096-1553(2018)05-0037-07

# 烟草花蕾的酶解条件优化及其烟用香料制备研究

## Optimization of enzymatic hydrolysis conditions of tobacco flower buds and preparation of tobacco flavor

许春平<sup>1</sup>,俞金伟<sup>1</sup>,冉盼盼<sup>1</sup>,白家峰<sup>2</sup>,马扩彦<sup>3</sup>,姚延超<sup>1</sup>,  
刘绍华<sup>2</sup>

XU Chunping<sup>1</sup>, YU Jinwei<sup>1</sup>, RAN Panpan<sup>1</sup>, BAI Jiafeng<sup>2</sup>, MA Kuoyan<sup>3</sup>,  
YAO Yanchao<sup>1</sup>, LIU Shaohua<sup>2</sup>

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 广西中烟工业有限责任公司 技术中心,广西 南宁 530001;

3. 重庆中烟工业有限责任公司 技术研发中心,重庆 400060

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

2. Technical Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China;

3. Technical Center, China Tobacco Chongqing Industrial Co., Ltd., Chongqing 400060, China

### 关键词:

酶解条件;  
美拉德反应;  
烟草花蕾;烟用香料

### Key words:

enzymatic hydrolysis  
condition;  
Maillard reaction;  
tobacco flower bud;  
tobacco flavor

**摘要:**通过正交试验对烟草花蕾在纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶的作用下的酶解条件进行优化,利用美拉德反应和同时蒸馏萃取方法提取其中的香味成分,并用 GC-MS 对所提取的香味成分分析。结果表明:1)酶解温度为50℃,酶解时间为6 h,酶解 pH 值为6,加酶量为1% (质量分数)时,氨基酸含量和还原糖含量最高,分别为2.89 mg/g 和 0.88 mg/g; 2)香味物质主要有65种,其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、氧化石竹烯、烟草烯、植酮、大马士酮、巨豆三烯酮、油酸酰胺、2-正戊基咪喃等香气阈值较低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出; 3)氨基酸、还原糖含量与香味物质总量的相关性不明显,与香味物质的种类数量呈正相关。

收稿日期:2017-07-06;修回日期:2018-01-05

基金项目:国家自然科学基金项目(U1604176);广西中烟合作项目(20141011)

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:刘绍华(1962—),男,广西壮族自治区桂林市人,广西中烟工业有限责任公司研究员,博士后,主要研究方向为天然产物在卷烟中的应用。

**Abstract:** The enzymatic hydrolysis conditions of tobacco flower buds under the action of cellulase, hemicellulase, pectinase and protease were optimized by orthogonal test. The flavor components were extracted by Maillard reaction and simultaneous distillation extraction. The extracted aroma components were analyzed by GC-MS. The results showed that 1) the enzymatic hydrolysis temperature was 50 °C, the enzymatic hydrolysis time was 6 h, the enzymatic hydrolysis pH was 6, and the enzyme content was 1% (mass fraction), the amino acid content and reducing sugar content were the highest, respectively 2.89 mg/g and 0.88 mg/g. 2) There were mainly 65 kinds of aroma substances, including myristic acid, dihydro kiwi lactone, oxidized carbenene, tobacco alkene, phytonone, damasthone, giant bean ketone, oleic acid amide, 2-n-pentyl group. The low aroma threshold such as furan in these substances was a key aroma substance in tobacco and contributed to tobacco aroma. 3) The correlation between amino acid and reducing sugar content and the total amount of aroma substances was not obvious, and it was positively correlated with the number of aroma substances.

## 0 引言

我国是烟草资源十分丰富的国家,烟草植物的种植面积和产量均居世界首位.我国卷烟工业多选取优质烟叶为原料,其中将近25%的烟叶、烟末等下脚料会被废弃<sup>[1]</sup>.对这些烟草废弃物的再利用,不仅可以从中获得有用的产品,为企业带来更大经济效益,也可以减轻由其带来的各种环境污染.近年来,我国科研人员在利用酶制剂改善烟叶品质方面进行了一些研究.其中,张立昌<sup>[2]</sup>利用从酵母菌 B13 中分离纯化的酶制剂处理打叶复烤后的烟叶烟丝,评吸结果显示,经酶制剂处理后的烟丝可明显改善卷烟香气,减轻杂气和刺激性,提高低次烟叶的等级.马林<sup>[3]</sup>将酶解和微生物发酵技术综合应用于改善低次烤烟的品质,评吸结果表明,处理后的烟叶香气增加,刺激性显著降低,余味干净,杂气轻微.可见,利用酶制剂和微生物发酵制备烟用香料,能明显改善卷烟香气,使烟气醇和饱满,并可以减少卷烟杂气和刺激性.

美拉德反应又被称为非酶棕色化反应,它是羰基化合物(还原糖类)和氨基化合物(氨基酸和蛋白质)之间发生的反应,经过复杂的历程最后生成棕色甚至是黑色的大分子物质类黑精(或称拟黑素),所以又被称为羰胺反应<sup>[4]</sup>,此反应可以提升烟叶品质.目前,将酶解技术和

美拉德反应结合运用的报道较少,本研究拟将酶解技术和美拉德反应综合应用于制备烟用香料:以烟草花蕾为原料,采用纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶降解烟草花蕾中纤维素、半纤维素、果胶和蛋白质,通过正交试验设计,以降解产物氨基酸和还原糖为指标,优化酶解条件,然后进行美拉德反应,同时以蒸馏萃取法提取香味成分,讨论氨基酸、还原糖含量与香味物质含量的相关性,为进一步研究烟用香料提供参考.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与amp;仪器

供试材料:云烟 87 烟草花蕾.

试剂:葡萄糖,天津市大茂化学试剂厂产;谷氨酸,上海麦克林生化科技有限公司产;Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,天津市科密欧化学试剂有限公司产;3,5-二硝基水杨酸钠,天津市光复精密化工研究所产;丙二醇,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,天津市富宇精细化工有限公司产;1 mol/L NaOH, 1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,开封市芳晶化学试剂有限公司产;0.8221 mg/mL 乙酸苯乙酯,北京市百灵威科技有限公司产.以上试剂均为分析纯.

仪器:Q-100A3 旗箭粉碎机,上海冰都电器有限公司产;HS-4 恒温水浴锅,上海医疗器械五厂产;PL203 电子分析天平(0.0001 g),

德国赛多利斯集团产;RIGOL Ultra-3400 紫外分光光度计,梅特勒-托利多仪器上海有限公司产;DGX-9143 电热恒温鼓风干燥箱,上海福玛设备有限公司产;BIORIDGE 卢湘仪, TGL-16M 离心机, 6890/5973 气相色谱/质谱联用仪,安捷伦科技有限公司产。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 氨基酸和还原糖标准曲线方程的求取

1) 茚三酮法测水溶性氨基酸。

茚三酮显色液的制备:称取 2 g 茚三酮加入 100 mL 蒸馏水中,溶解,放入棕色瓶中保存(应每次使用前配置);pH = 8 缓冲液的制备:量取 94.7 mL 的 0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  和 5.3 mL 的 0.2 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  混合均匀,备用<sup>[6]</sup>。

取 0.2 mg/mL 谷氨酸标准溶液按表 1 加入试剂,沸水浴中加热 15 min,冷却后定容至 10 mL,摇匀,在 570 nm 波长处测氨基酸吸光度,并求得其标准曲线方程。

表 1 氨基酸标准溶液成分

Table 1 Standard solution composition of

		amino acid			mL
编号	标准氨基酸	蒸馏水	缓冲液	茚三酮	
1	0	1.0	1.0	1.0	
2	0.2	0.8	1.0	1.0	
3	0.4	0.6	1.0	1.0	
4	0.6	0.4	1.0	1.0	
5	0.8	0.2	1.0	1.0	
6	1.0	0	1.0	1.0	

2) DNS 法测水溶性还原糖。

3,5-二硝基水杨酸钠试剂(DNS)<sup>[5]</sup>的制备:将 6.5 g 的 3,5-二硝基水杨酸钠和 2 mol NaOH 加到 500 mL 含有 182 g 酒石酸钾钠的热水中,再加入 5 g 苯酚和 5 g 亚硫酸钠,搅拌溶解,冷却后加蒸馏水定容至 1000 mL,贮存于棕色瓶中室温放置 7~10 d 后标定使用。

取葡萄糖标准溶液,按表 2 加入 DNS 试剂沸水浴中加热 5 min,冷却后定容至 25 mL 摇

匀,在 520 nm 波长测还原糖吸光度,并求得其标准曲线方程。

### 1.2.2 酶解条件正交试验设计方法

烟草花蕾打粉后,按照  $m$  (烟草花蕾): $m$  (水) = 1:10 的比例混合,加入纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶(质量比 1:1:1:1),在一定温度、pH 值、时间的条件下进行酶解。

对单因素温度(40 °C, 50 °C, 60 °C)、酶解 pH 值(6, 7, 8)、酶解时间(4 h, 5 h, 6 h)、加酶量(1%, 1.5%, 2%)酶解条件进行优化。采用正交试验设计的方法,选用  $L_9(3^4)$  正交表对酶解条件(酶解温度  $A$ , 酶解时间  $B$ , 酶解 pH 值  $C$ , 加酶量  $D$ )进行正交试验优化设计,正交试验因素水平表见表 3。

### 1.2.3 美拉德反应处理方法

经酶解试验后的样品中各加入 20 mL 丙二醇,调整 pH = 7。用封口膜封口放入烘箱,于

表 2 还原糖标准溶液成分

Table 2 The standard solution composition of

		reducing sugar		mL
编号	葡萄糖标准溶液	蒸馏水	DNS 试剂	
0	0	2.0	1.5	
1	0.2	1.8	1.5	
2	0.4	1.6	1.5	
3	0.6	1.4	1.5	
4	0.8	1.2	1.5	
5	1.0	1.0	1.5	
6	1.2	0.8	1.5	
7	1.4	0.6	1.5	
8	1.6	0.4	1.5	

表 3 正交试验因素水平表

Table 3 Factors and levels of orthogonal experiment design

水平	因素			
	$A/^\circ\text{C}$	$B/\text{h}$	$C$	$D/\%$
1	40	4	6	1
2	50	5	7	1.5
3	60	6	8	2

70 ℃条件下反应 12 h<sup>[7]</sup>.

### 1.2.4 同时蒸馏萃取提取香味物质的方法

将美拉德反应产物倒入同时蒸馏萃取装置一端的平底烧瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,用电子调温电热套加热,装置的另一端蒸馏瓶中注入 50 mL 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,于 60 ℃水浴中加热.同时蒸馏萃取 2.5 h,在 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取液中加入质量浓度为 0.8221 mg/mL 的乙酸苯乙酯 1 mL 和适量无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,静置过夜.然后于 35 ~ 40 ℃条件下浓缩至 1 mL 转至样品瓶中,低温密封保存,用 GC-MS 法进行定量分析.

### 1.2.5 GC-MS 条件的确定

色谱条件:色谱柱为 HP-5MS 色谱柱 (30 m × 250 μm × 0.25 μm),进样口温度 280 ℃,分流比 10 : 1,进样量 1 μL,载气为氦气,载气流量 3 mL/min,升温程序:起始温度 50 ℃,以 4 ℃/min 升至 280 ℃.

质谱条件:EI 源,接口温度 270 ℃,电子能量 70 eV,四极杆温度 150 ℃.采集模式:扫描;质量扫描范围:35 ~ 550 m/z<sup>[8]</sup>.

## 2 结果与分析

### 2.1 氨基酸和还原糖的标准曲线方程

通过实验可得氨基酸的标准曲线方程为  $y = 0.5509x - 0.2106$  ( $R^2 = 0.9929$ ),还原糖的标准曲线方程为  $y = 0.4182x + 0.0087$  ( $R^2 = 0.9973$ ),两者的  $R^2$  均大于 0.99,可用作烟草中氨基酸和还原糖含量的检测标准.

### 2.2 酶解条件正交试验结果分析

正交试验结果见表 4.从表 4 中极差分析可知:4 种因素对氨基酸含量影响顺序为酶解温度 > 酶解时间 > 加酶量 > 酶解 pH 值,最优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 6 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,氨基酸含量达到最高,为 2.89 mg/g;4 种因素对还原糖含量影响顺序为酶解温度 > 酶解 pH 值 > 加酶量 > 酶解时间,得出最优组合 A'<sub>2</sub>B'<sub>3</sub>

C'<sub>1</sub>D'<sub>1</sub>,即当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 5 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,还原糖含量达到最高 0.88 mg/g.

表 4 酶解条件正交试验结果

Table 4 Orthogonal results of enzymolysis conditions

试验号	A	B	C	D	氨基酸含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )	还原糖含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	2.72	0.45
2	1	2	2	2	2.76	0.44
3	1	3	3	3	2.70	0.33
4	2	1	2	2	2.80	0.73
5	2	2	3	3	2.85	0.57
6	2	3	1	1	2.89	0.88
7	3	1	3	2	2.74	0.49
8	3	2	1	3	2.79	0.69
9	3	3	2	1	2.80	0.54
k <sub>1</sub>	2.74	2.75	2.80	2.80		
k <sub>2</sub>	2.85	2.80	2.79	2.77		
k <sub>3</sub>	2.78	2.81	2.78	2.79		
R	0.11	0.06	0.02	0.03		
k' <sub>1</sub>	0.41	0.56	0.67	0.62		
k' <sub>2</sub>	0.73	0.57	0.57	0.55		
k' <sub>3</sub>	0.57	0.58	0.46	0.53		
R'	0.32	0.02	0.21	0.09		

注:k, R 分别是氨基酸含量的平均值和极差, k', R' 分别是还原糖含量的平均值和极差

### 2.3 香味成分物质分析

依据上述最优酶解条件,在 70 ℃条件下进行美拉德反应,然后用同时蒸馏萃取方法提取香味成分,并用 GC-MS 法分析所提取的香味成分,得到香味物质成分见表 5.从表 5 可以看出,提取的香味物质成分主要有 65 种,包括醇、醛、酸、酯、酮、烯几类,其他还有酚、酰胺、呋喃、吡啶、吡啶、腈等.从香味物质总量来看,样品 9<sup>#</sup>在酸、醇、烯、酮类别香味物质中总量最高;但从香味物质种类来看,样品 6<sup>#</sup>的香味物质种类最丰富,为 41 种;从烟碱含量来看,样品 9<sup>#</sup>含量较高,样品 6<sup>#</sup>的烟碱含量适中.氨基酸与反应体系中还原糖的比例会对美拉德反应产生明显的影响:当氨基酸量不足时,会导致美拉德反应程度不完全<sup>[9]</sup>;当还原糖含量升高时,对美拉德

表5 香味物质成分

Table 5 The composition of aroma substances

μg/g

类别	物质成分	样品编号									
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>	
酸类	软脂酸	83.48	97.93	82.68	120.60	100.24	125.14	114.70	104.10	147.46	
	硬脂酸	10.76	6.71	5.39	—	—	20.82	—	—	—	
	亚油酸	68.48	19.03	15.77	1.58	1.43	0.92	1.04	0.92	—	
	癸酸	—	1.59	—	1.66	—	2.40	—	1.55	2.90	
	肉豆蔻酸	7.55	9.17	5.87	9.79	5.69	11.05	6.80	9.46	12.19	
	十三烷酸	—	2.76	—	—	—	—	—	—	—	
	正十五酸	1.41	7.39	—	8.30	—	8.40	—	8.32	11.30	
	总量	202.34	172.69	122.02	171.59	147.74	186.33	171.38	145.93	207.17	
醇类	苯乙醇	24.48	23.82	21.96	21.99	19.87	22.35	19.97	22.78	24.77	
	苯甲醇	17.45	16.45	13.66	16.04	13.12	16.51	13.21	16.89	18.32	
	1,5,9-3-甲基-12-(1-甲基乙基)-4,8,13-环十四烷烯-1,3-2-二醇	15.75	10.02	16.91	37.89	43.32	33.80	47.83	29.13	47.29	
	异蒲勒醇	—	—	—	—	—	—	0.29	—	—	
	顺-3-壬烯醇	—	—	—	—	—	0.39	—	—	—	
	顺-3-壬烯-1-醇	0.97	1.77	1.65	6.16	—	8.85	—	—	9.07	
	1-(2-甲氧基-1-甲基乙氧基)异丙醇	5.57	5.05	3.30	6.79	2.34	6.16	4.94	6.32	7.98	
	兰桉醇	1.18	—	—	—	—	—	—	—	—	
		总量	65.39	57.10	57.46	88.86	78.65	88.06	86.25	75.11	107.43
	酯类	邻苯二甲酸二丁酯	1.25	1.40	1.43	2.52	2.28	2.58	2.21	3.21	—
乙酸苏合香酯		0.34	—	—	—	—	—	—	—	—	
己二酸二辛酯		1.04	2.09	4.43	1.47	0.96	1.63	2.49	6.00	2.32	
丙位壬内酯		—	—	1.05	—	—	—	—	—	—	
环十五内酯		1.09	—	—	—	—	—	—	—	—	
棕榈酸甲酯		4.73	4.83	5.20	6.97	6.22	7.78	6.35	7.96	8.45	
硬脂酸甲酯		—	1.99	1.87	—	3.70	—	—	—	—	
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯		—	—	—	1.27	2.95	0.62	0.81	—	—	
亚麻酸甲酯		—	4.55	4.56	6.00	5.23	6.89	5.62	—	—	
二氢猕猴桃内酯		2.67	3.14	3.07	3.33	3.25	3.19	4.02	3.32	4.24	
	总量	11.12	18.01	21.62	21.57	24.59	22.70	21.49	20.50	15.01	
烯类	1-石竹烯	—	—	—	4.88	4.48	5.20	4.89	5.69	5.43	
	1-十八烷烯	—	—	2.30	—	0.67	—	—	—	0.75	
	三环烯	68.80	33.47	38.42	75.62	77.28	73.88	77.20	80.43	86.01	
	氧化石竹烯	3.46	3.48	2.83	5.01	2.74	3.53	4.95	3.74	4.30	
	1-二十二烯	—	0.51	0.47	—	—	—	—	—	—	
	烟草烯	3.86	10.07	8.15	—	—	3.96	—	4.33	—	
	1-十九烷烯	—	—	—	0.60	—	—	—	0.71	0.86	
	别香枝烯	—	—	0.71	—	—	—	4.90	—	—	
	总量	76.12	47.53	52.88	86.11	85.17	86.57	91.94	94.90	97.34	
酮类	植酮	5.45	7.30	6.15	7.04	6.90	7.42	7.44	8.14	8.97	
	邻甲基苯乙酮	0.92	—	—	—	—	0.86	0.79	—	0.90	
	间甲基苯乙酮	—	1.19	1.07	0.78	0.69	—	—	—	—	
	2-壬酮	—	—	1.47	1.14	1.10	—	—	—	0.88	
	2-羟基环十五酮	—	—	—	1.92	—	2.05	—	—	2.50	
	乙位紫罗兰酮	—	—	—	—	—	0.85	—	—	0.91	
	大马士酮	0.58	0.55	0.49	1.02	0.72	—	0.59	1.65	1.53	
	大马酮	—	—	—	—	—	1.53	—	—	—	
	巨豆三烯酮	0.62	—	—	0.96	0.60	0.87	3.92	0.94	1.05	



续表 5

类别	物质成分	样品编号								
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>
醛类	总量	7.58	9.04	9.18	12.85	10.00	13.58	12.74	10.73	16.75
	对甲基苯甲醛	—	0.74	—	—	0.82	—	—	1.04	1.14
	苯乙醛	17.15	18.69	18.66	14.15	11.62	18.59	8.04	17.27	13.24
	邻甲基苯甲醛	0.85	—	—	0.91	—	—	0.88	—	—
	反,顺-2,6-壬二烯醛	1.68	—	1.26	1.30	—	1.34	1.32	1.38	1.43
	正十五碳醛	—	1.50	1.50	2.19	1.83	2.44	1.76	2.92	2.81
	反式-2-癸烯醛	2.40	—	—	—	—	2.13	—	—	—
	2-苯基巴豆醛	0.54	0.48	—	0.51	0.58	0.67	0.58	0.66	0.76
	反-2,6-壬二醛	—	1.32	—	—	1.33	—	—	—	—
总量	22.63	22.73	21.42	19.06	16.18	25.17	12.58	23.28	19.38	
其他	邻硝基苯酚	0.87	3.20	2.87	—	—	—	—	—	—
	邻甲氧基苯酚	2.54	—	—	—	—	—	—	—	—
	4-乙基-2-甲氧基苯酚	2.09	—	—	5.27	5.10	6.58	4.32	6.06	6.16
	N-乙基-2-甲基苯胺	2.53	2.28	—	—	—	—	1.80	—	1.73
	N-乙基间甲苯胺	—	—	2.07	1.84	1.69	—	—	—	—
	芥酸酰胺	1.29	—	1.75	1.29	1.27	1.58	1.84	8.28	—
	油酸酰胺	2.41	3.30	3.64	2.86	2.41	3.06	2.33	5.87	5.76
	N-异丙基苯胺	—	—	—	—	—	1.96	—	—	—
	2-正戊基咪喃	2.35	1.72	1.44	2.18	1.97	2.54	1.90	2.74	2.81
	叔丁基吡啶	—	—	—	—	—	—	—	1.92	—
	吡啶	4.39	3.13	3.43	5.91	5.59	6.16	5.72	6.36	7.20
	2,3-2-苯基吡啶	—	—	—	—	0.81	—	0.85	0.75	0.93
	苯甲腈	0.93	1.56	1.34	—	—	—	—	—	—
	苯乙腈	0.85	0.85	0.84	1.66	1.02	1.57	1.23	1.67	—
	烟碱	30.66	28.12	12.31	29.66	40.39	17.60	48.84	21.59	33.31
总量	20.23	16.03	17.39	21.01	19.85	23.45	19.98	33.66	24.58	
香味物质总量	405.41	343.14	301.98	421.07	382.19	445.85	416.37	404.10	487.65	
香味物质类别总和/种	40	39	38	39	37	41	36	35	36	

反应有促进作用. 样品 6<sup>#</sup>中氨基酸、还原糖含量比较高,比例合适,反应比较完全,所以香味物质种类比较多. 综合权衡香味物质种类、含量和烟碱含量,样品 6<sup>#</sup>所处条件为最佳酶解条件.

其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、氧化石竹烯、烟草烯、植酮、大马士酮、巨豆三烯酮、油酸酰胺、2-正戊基咪喃等香气阈值低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出<sup>[10-11]</sup>.

### 2.3 氨基酸、还原糖含量与香味物质含量的相关性分析

从表 4 和表 5 可知,试验 6 条件下氨基酸、

还原糖含量最高;但从醇、醛、酸、酯、酮、烯类别香味物质总量来看,样品 6<sup>#</sup>的各类别香味物质并非总量最高,只有醛类总含量最高,其他类别含量均仅次于最高含量,所有香味物质总含量仅次于样品 9<sup>#</sup>;但从香味物质种类来看,样品 6<sup>#</sup>的香味物质种类最为丰富. 这说明氨基酸、还原糖含量与香味物质总量相关性不明显;但氨基酸、还原糖含量与香味物质种类数量呈正相关.

### 3 结论

本文以烟草花蕾为原料,通过纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶进行酶解,采用正交

试验对酶解条件进行优化,并在一定温度条件下进行美拉德反应,然后用同时蒸馏萃取方法提取香味成分,用 GC-MS 法加以分析,得到如下结论.

1)当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 6 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,氨基酸和还原糖含量最高,分别可达 2.89 mg/g 和 0.88 mg/g.

2)提取的主要香味物质有 65 种,包括醇、醛、酸、酯、酮、烯、酚、酰胺、呋喃、吡啶、腈等物质.其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、植酮和大马士酮、巨豆三烯酮、氧化石竹烯、烟草烯、油酸酰胺、2-正戊基呋喃等香气浓度大,香气阈值低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出.

3)氨基酸、还原糖含量与香味物质总量相关性不明显,但与香味物质种类数量呈正相关.本文主要根据氨基酸、还原糖含量与香味物质种类选择最优酶解条件,在具体试验中可以根据目的的不同而选择相应的最优酶解条件.

将烟草花蕾通过酶解和美拉德反应制备烟用香料,可为烟草花蕾的重新利用提供一条切实可行的途径.本文方法所开发的香料运用于调香工艺,有助于形成卷烟产品的独特风格,下一步的工作重点将通过外加不同的单糖,优化美拉德反应条件并揭示其反应机理,进一步提升以烟草花蕾为原料的烟用香料的品质.

#### 参考文献:

[1] 彭靖里,马敏象,吴绍情,等.论烟草废弃物的

综合利用技术及其发展前景[J].中国资源综合利用,2001,12(8):18.

[2] 张立昌.烟叶酶处理的作用效果[J].烟草科技,2001(4):7.

[3] 马林.利用生物技术改变烟叶化学组分提高其吸食品质和安全性的研究[J].郑州工程学院学报,2001,22(3):40.

[4] CARDOSO J C, PEREIRA N L, NUNES P S, et al. Effect of the Maillard reaction on properties of casein and casein films [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2010, 104(1):249.

[5] 李环,陆佳平,王登进. DNS 法测定山楂片中还原糖含量的研究[J].食品工业科技,2013(18):75.

[6] 郭兴凤.蛋白质水解度的测定[J].中国油脂,2000,25(6):176.

[7] 张鹏,于静洋,龙章德,等.美拉德反应改善烟草薄片质量的应用研究[J].食品与机械,2016,32(3):39.

[8] 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.

[9] 唐胜,沈光林,饶国华,等.利用烟末酶解液制备烟用美拉德反应香精的研究[J].食品工业科技,2011,32(4):268.

[10] 毛多斌,马宇平,梅业安.卷烟配方和香精香料[M].北京:化学工业出版社,2001.

[11] 史宏志,刘国顺.烟草香味学[M].北京:中国农业出版社.1998.



引用格式:余晶晶,蔡君兰,王冰,等. 手性色谱柱-HPLC-DAD法分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体[J]. 轻工学报,2018,33(5):44-52.

中图分类号:TS41<sup>+</sup>1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.006

文章编号:2096-1553(2018)05-0044-09

# 手性色谱柱-HPLC-DAD法 分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体

## Separation and analysis of nicotine enantiomers in tobacco and tobacco products using chiral column-HPLC-DAD method

余晶晶,蔡君兰,王冰,秦亚琼,赵晓东,刘克建,薛聪,  
张晓兵,刘绍锋

YU Jingjing, CAI Junlan, WANG Bing, QIN Yaqiong, ZHAO Xiaodong, LIU Kejian,  
XUE Cong, ZHANG Xiaobing, LIU Shaofeng

中国烟草总公司 郑州烟草研究院,河南 郑州 450001

Zhengzhou Tobacco Research Institute, China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001,  
China

**摘要:**选用大赛璐手性色谱柱 CHIRALPAK-IC,以  $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 95 : 5$  的混合溶液为流动相,以二乙胺为流动相添加剂,在正相色谱模式下,建立了手性色谱柱-高效液相色谱-二极管阵列检测器法(HPLC-DAD)分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体.对该方法的表征和检验结果表明:1)左旋烟碱和右旋烟碱分别在  $15 \sim 750 \mu\text{g/mL}$ ,  $0.75 \sim 30.00 \mu\text{g/mL}$  质量浓度范围内线性关系良好,二者检出限和定量限分别为  $0.02 \text{ mg/g}$  和  $0.05 \text{ mg/g}$ ;2)烟碱的日内、日间测定结果的精密度分别小于等于  $0.85\%$ ,  $4.00\%$ ;左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为  $94.93\% \sim 103.70\%$ ,  $92.50\% \sim 117.50\%$ .这表明本方法精密度较好,回收率较高.使用该方法对26个不同类型烟草及烟草制品的烟碱旋光异构体进行测定发现,烟草中主要为左旋烟碱,仅6个样品中检出右旋烟碱,且右旋烟碱质量占总烟碱比例为  $0.18\% \sim 0.70\%$ ;10个成品卷烟烟丝及其主流烟气中,右旋烟碱质量占总烟碱的比例明显高于卷烟烟丝.

### 关键词:

烟草;烟草制品;手性  
色谱柱;HPLC-DAD;  
烟碱旋光异构体

### Key words:

tobacco; tobacco  
product; chiral column;  
HPLC-DAD;  
nicotine enantiomers

收稿日期:2018-01-04

基金项目:中国烟草总公司2016年度重点项目(110201603006);郑州烟草研究院院长科技发展项目(312017CA0110)

作者简介:余晶晶(1982—),女,湖北省黄冈市人,郑州烟草研究院副研究员,博士,主要研究方向为卷烟烟气有害成分分析及新型烟草制品.

通信作者:刘绍锋(1979—),男,福建省永安市人,郑州烟草研究院高级工程师,主要研究方向为烟草化学.

**Abstract:** The CHIRALPAK-IC was used, and the mixed solution of  $V(n\text{-hexane}) : V(\text{isopropanol}) = 95 : 5$  was used as the mobile phase, and diethylamine was used as the mobile phase additive. In normal phase chromatography mode, a chiral column-high performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD) method was developed for the separation and analysis of nicotine optical isomers in tobacco and tobacco products. The characterization and test results of this method indicated: 1) The linear relationship between S-( -)-nicotine and R-(+)-nicotine was in the range of  $15 \sim 750 \mu\text{g/mL}$  and  $0.75 \sim 30.00 \mu\text{g/mL}$ , respectively. The detection limit and limit of quantification were  $0.02 \text{ mg/g}$  and  $0.05 \text{ mg/g}$ , respectively. 2) The precision of intra- and inter-day measurements of nicotine was less than  $0.85\%$  and  $4.00\%$ , respectively; the recovery rates of S-( -)-nicotine and R-(+)-nicotine were  $94.93\% \sim 103.70\%$  and  $92.50\% \sim 117.50\%$ , respectively. This indicated that the method had good precision and high recovery rate. Using this method to determine the nicotine optical isomers of 26 different types of tobacco and tobacco products, it was found that tobacco was mainly S-( -)-nicotine, only 6 samples were detected by R-(+)-nicotine. The proportion of nicotine quality was  $0.18\% \sim 0.70\%$ ; among the 10 finished cigarettes and their mainstream smoke, the proportion of R-(+)-nicotine in total cigarette smoke was higher than that of cigarette tobacco.

## 0 引言

烟碱是烟草中含氮生物碱的主要成分,对中枢神经系统、周边神经系统有刺激作用,具有成瘾性,是人类吸烟的主要动力<sup>[1]</sup>. 烟碱的分子中含有一个不对称碳原子,因此有两个旋光异构体,即左旋烟碱(S-( -)-烟碱)和右旋烟碱(R-(+)-烟碱). 天然烟草中的烟碱主要是左旋体,卷烟烟气中的右旋烟碱质量占总烟碱比例比烟草中略高,约为 $3.0\%$ <sup>[2-3]</sup>. 烟碱的左旋体和右旋体具有完全不同的代谢机理和生理特性,左旋烟碱的生理活性和毒性比右旋烟碱更强<sup>[4]</sup>. 因此,烟碱旋光异构体的分离分析在吸烟与健康研究中具有重要意义.

烟碱旋光异构体的分离分析方法主要有气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)<sup>[2-3,5-6]</sup>、高效液相色谱-二极管阵列检测器法(HPLC-DAD)<sup>[7-8]</sup>、毛细管电泳法<sup>[9]</sup>、核磁共振法(NMR)<sup>[10-11]</sup>、电子圆二色谱法<sup>[12]</sup>、超合相色谱法<sup>[13]</sup>等. 其中,毛细管电泳法, NMR, 电子圆二色谱法, 超合相色谱法的分离度和灵敏度较高,但所需仪器不够普

及. 采用手性气相色谱柱,结合 GC 和 GC-MS 法可实现烟碱旋光异构体的分离分析,然而手性拆分所需时间较长. 例如, P. Clayton 等<sup>[2]</sup>采用手性色谱柱-GC-MS 法分离了烟碱旋光异构体,对 S-( -)-烟碱的裂解行为进行了研究,所需的分析时间约为 75 min,且烟碱旋光异构体并未实现基线分离. 与 GC, GC-MS 法相比, HPLC 法分析烟碱旋光异构体同样需使用手性色谱柱,且所需分析时间短、分离度高. 例如, Y. Tang 等<sup>[7]</sup>采用衍生化的纤维素手性固定相-正相色谱柱-HPLC 法实现了烟碱和降烟碱旋光异构体的基线分离,分析时间约为 35 min. 因此, HPLC 法更适合烟碱旋光异构体的拆分. 本文拟建立烟草和烟草制品中烟碱旋光异构体的手性色谱柱-HPLC-DAD 分析方法,对不同类型烟叶和卷烟烟丝中烟碱旋光异构体进行测定,并考察卷烟烟丝和主流烟气中烟碱旋光异构体的比例关系,以加深业界对于吸烟与健康之关系的研究.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试剂与amp;仪器

标准品: 烟碱外消旋体(纯度 > 98%), 加

拿大 TCR 公司产;水为 GB/T 6682—2008 规定的一级水;CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 甲基叔丁基醚, 正己烷均为色谱纯, 美国 J. T Baker 公司产;NaOH, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 均为分析纯, 国药集团化学试剂公司产.

仪器: Agilent 1290 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司产;Cerulean SM450 直线式吸烟机, 英国 Cerulean 公司产;Milli-Q50 超纯水仪, 美国 Millipore 公司产;KQ-700DE 型数控超声波清洗器, 江苏省昆山市超声仪器有限公司产;CP2245 电子天平(感量 0.000 1 g), 德国 Sartorius 公司产.

## 1.2 标准溶液的配制和标准曲线的绘制

准确称取 30.0 mg 烟碱外消旋体(精确到 0.1 mg), 置于 10 mL 的棕色容量瓶中, 用正己烷稀释定容至刻度. 烟碱外消旋体储备液中左旋烟碱和右旋烟碱质量浓度均为 1.5 mg/mL. 首先分别移取 5 mL, 1 mL 烟碱外消旋体储备液于不同的 10 mL 棕色容量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 配制两个标准溶液, 分别标示为标准溶液 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>; 再分别移取 5 mL, 2 mL, 1 mL, 500 μL, 100 μL, 50 μL 的标准溶液 B<sub>1</sub> 于不同的 50 mL 棕色容量瓶中, 用正己烷稀释定容至刻度, 得到 6 个标准溶液, 分别标示为 B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>8</sub>. 采用 B<sub>1</sub>—B<sub>5</sub> 和 B<sub>4</sub>—B<sub>8</sub> 分别作为左旋烟碱和右旋烟碱的标准溶液系列, 用于标准曲线的拟合. 烟碱旋光异构体标准溶液避光在 -20 °C 条件下存放. 采用 HPLC-DAD 法测定烟碱旋光异构体标准系列溶液, 得到左旋烟碱和右旋烟碱的峰面积, 由各化合物的质量浓度与面积建立标准曲线, R<sup>2</sup> 应 ≥ 0.99.

## 1.3 样品的前处理

称取 0.2 g 烟末样品置于锥形瓶内, 加入 2 mL 5% (若无特指, 均指质量分数) 的 NaOH 溶液湿润样品, 静置 15 min; 然后加入 20 mL 正己烷溶液, 室温下超声萃取 15 min. 称取 4.0 g

无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 加入到一次性无菌注射器中, 然后取 2 mL 上层萃取溶液加入到注射器中, 用注射器收集过滤液于 2 mL 色谱分析瓶中待进样分析.

将卷烟样品放置于温度 (22 ± 1) °C, 相对湿度 (60 ± 2) % 的环境中平衡 48 h, 然后选平均质量在 ± 0.02 g, 平均吸阻在 ± 49 Pa/支范围内的烟支作为测试烟支. 采用直线式吸烟机, 按照每 60 s 抽吸一口, 每口抽吸容量 35 mL, 抽吸持续时间 2 s 的要求进行抽吸. 用直径 44 mm 的剑桥滤片捕集卷烟主流烟气总粒相物, 每张滤片收集 5 支卷烟的总粒相物. 抽吸完的滤片置于锥形瓶中, 在滤片上加 5 mL 5% 的 NaOH 溶液, 后续处理同烟末样品的处理.

## 1.4 液相色谱条件的确定

采用 Agilent 1290 高效液相色谱仪 - 二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 分析样品, 在适宜的检测波长条件下, 通过实验选择适宜的色谱柱、流动相和流动相添加剂, 流速 1.0 mL/min, 等度洗脱, 进样量为 10 μL.

流动相的配制方法为: 配制 1 L 流动相混合溶液, 加入 1 mL 流动相添加剂, 混合均匀.

## 2 结果与讨论

### 2.1 液相色谱柱的选择结果

烟碱旋光异构体的拆分关键在于色谱柱的选择, 与普通色谱柱相比, 更易于实现烟碱旋光异构体的分离. 对大赛璐手性柱 CHIRALPAK-IC (4.6 mm × 250 mm × 5 μm) 和大赛璐手性柱 CHIRALPAK-OJ (4.6 mm × 250 mm × 5 μm) 两种正相手性色谱柱上烟碱旋光异构体的分离情况进行考察, 结果如图 1 所示. 由图 1 可知, 在 CHIRALPAK-IC 色谱柱上烟碱旋光异构体能够实现拆分, 左旋烟碱和右旋烟碱保留时间 (RT) 分别为 13.7 min, 14.8 min, 二者相差 1.1 min; CHIRALPAK-OJ 色谱柱在流动相为

碱性条件时,不能拆分烟碱旋光异构体. 结合文献[7]中 CHIRALPAK-OJ 色谱柱分离烟碱旋光异构体需采用酸性流动相条件(如三氟乙酸)的结论,考虑到 CHIRALPAK-OJ 色谱柱为涂覆型手性色谱柱,而 CHIRALPAK-IC 色谱柱为新型键合型手性柱,稳定性更高,本文采用 CHIRALPAK-IC 色谱柱分离烟碱旋光异构体.

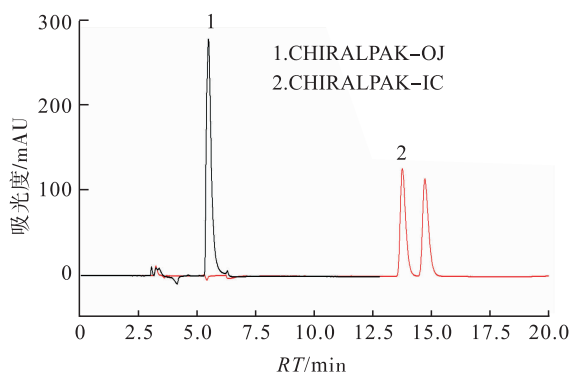


图 1 不同手性色谱柱上烟碱旋光异构体的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of nicotine enantiomers on different chiral columns

## 2.2 流动相组成的优化结果

由于 CHIRALPAK-IC 色谱柱的保存溶剂为  $V(\text{正己烷}):V(\text{异丙醇})=90:10$  的混合溶液,因此实验中同样选用正己烷和异丙醇的混合溶液作为流动相,但需要对二者比例进行优化,实验结果如图 2 所示. 由图 2 可知,随着流动相中正己烷比例升高(由  $90:10$  到  $98:2$ ),烟碱旋光异构体色谱 RT 变长,左旋烟碱和右旋烟碱 RT 差变长,但同时色谱峰型会变宽. 综合考虑,选用  $V(\text{正己烷}):V(\text{异丙醇})=95:5$  的混合溶液为流动相.

烟碱为碱性化合物,在流动相中添加碱性流动相添加剂,有助于烟碱保持分子状态,以实现较好的色谱分离. 流动相为  $V(\text{正己烷}):V(\text{异丙醇})=95:5$ ,选择二乙胺为流动相添加剂,对其用量进行考察,结果如图 3 所示. 由图 3 a)可知,当流动相中不添加二乙胺时,色谱峰型拖尾,且左旋烟碱和右旋烟碱的分离度较差.

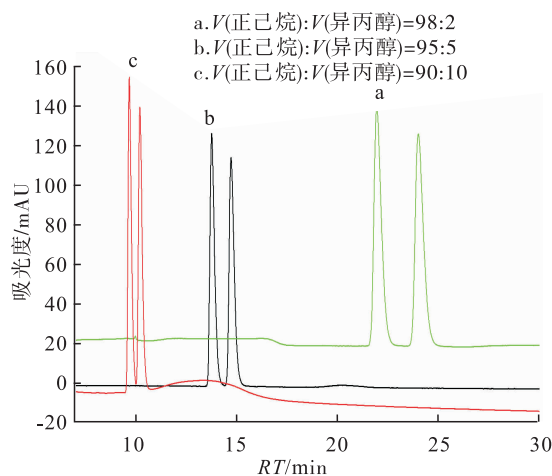


图 2 不同流动相比比例对优化结果的影响

Fig. 2 Influence of different mobile phase ratio on optimization results

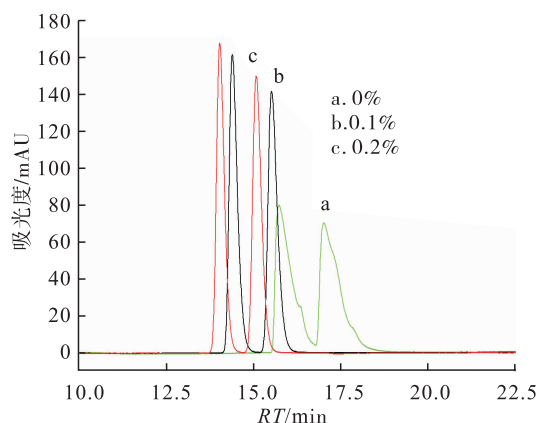


图 3 二乙胺添加量对优化结果的影响

Fig. 3 Influence of diethylamine additive amount on optimization results

由图 3 b)一c)可知,当流动相中二乙胺的量增加时,烟碱旋光异构体能够实现拆分,且峰型较好;随着二乙胺量的增加(由  $0\%$  到  $0.2\%$ ),烟碱的 RT 变短,色谱峰变窄,左旋烟碱和右旋烟碱的 RT 差也变小. 综合考虑,选用二乙胺作为流动相添加剂,适宜添加量为  $0.1\%$ .

## 2.3 萃取溶剂的选择结果

选用二氯甲烷、甲基叔丁基醚、正己烷 3 种萃取溶剂分别对烤烟和白肋烟中的烟碱进行萃取,在适宜的萃取条件下,考察不同萃取溶剂对萃取效果的影响,结果如图 4 所示.

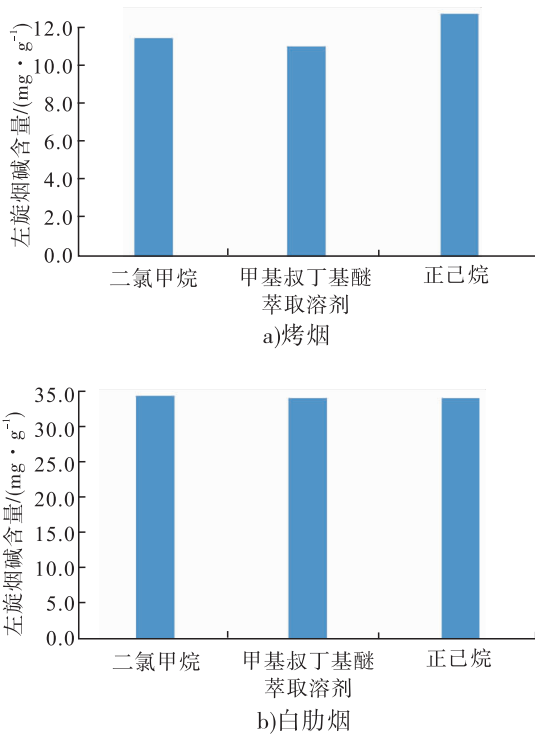


图4 不同萃取溶剂对烤烟和白肋烟烟末中烟碱的萃取效果影响

Fig. 4 Influence of different solvent on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

由图4可知,对于烤烟烟末,采用正己烷萃取效果较好,而对于白肋烟,3种溶剂萃取效果相当.这与标准YC/T 246—2008<sup>[14]</sup>中选用正己烷为萃取溶剂一致.因此,本实验选用正己烷为萃取溶剂.

### 2.4 萃取条件的确定结果

**2.4.1 萃取溶剂体积对萃取效果的影响** 以正己烷为萃取溶剂,萃取时间15 min,超声功率40 W时,不同体积的正己烷对烤烟和白肋烟烟末中烟碱萃取效果的影响如图5所示.由图5可知,当萃取溶剂体积由10 mL增加至50 mL过程中,在添加正己烷20 mL时左旋烟碱萃取量最高,继续增加萃取溶剂反而稀释了目标物浓度,造成色谱峰较小,定量不准确.因此,选择20 mL作为正己烷的适宜添加量.

**2.4.2 萃取时间和超声功率对萃取效果的影**

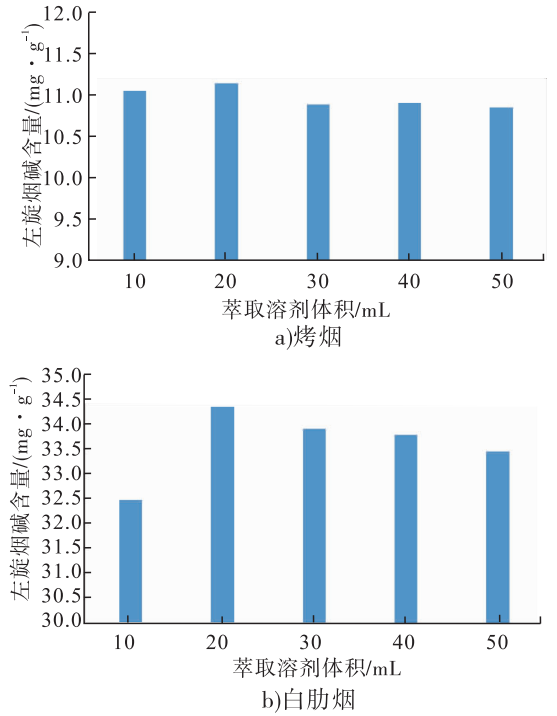


图5 萃取溶剂体积对烤烟和白肋烟烟末中烟碱的萃取效果的影响

Fig. 5 Influence of extraction solvent volume on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

**响** 以正己烷为萃取溶剂,萃取体积20 mL,超声功率40 W时,采用超声萃取的方式提取烤烟和白肋烟烟末中烟碱旋光异构体,超声萃取时间对萃取效果的影响如图6所示.由图6可知,当超声时间从5 min增加至15 min时,烟碱萃取量增加,15min达到最高,继续增加超声时间,萃取量降低.考虑到实验中超声水浴温度随着超声时间延长而升高,这可能会导致溶剂和烟碱的挥发,因此选择15 min为适宜的超声萃取时间.

另外,对不同超声功率(40 W,60 W,80 W,100 W)对萃取效果的影响也进行了考察,结果表明超声功率对萃取效果无明显影响,本实验选择40 W为适宜的超声功率.

### 2.5 检测波长的选择结果

考察二极管整列检测器检测波长在260 ~

265 nm 范围内变化对烟碱旋光异构体响应的影响,结果如图 7 所示.由图 7 可知,随着检测波长由 260 nm 增加至 265 nm,左旋烟碱和右旋烟碱的响应呈现先增加后降低的趋势.当检测波长为 261 nm 时,左旋烟碱和右旋烟碱的响应最高.因此,选择 261 nm 适宜的检测波长.

## 2.6 方法表征与检验

### 2.6.1 工作曲线、检出限与定量限

分别将不同质量浓度的烟碱旋光异构体标准溶液 B<sub>1</sub>—B<sub>5</sub> 和 B<sub>4</sub>—B<sub>8</sub> 进 HPLC-DAD 仪器进行分析,得到左旋烟碱和右旋烟碱的相对峰面积,由各化

合物的质量浓度( $x$ )与相对峰面积( $y$ )建立标准曲线.将最低标准溶液逐级稀释至烟碱色谱峰信噪比( $S/N$ )接近 3 时,计算检出限和定量限.其中检出限和定量限分别为  $S/N = 3$  和  $S/N = 10$  时所对应的烟碱浓度,结果见表 1.由表 1 可知,左旋烟碱和右旋烟碱分别在 15 ~ 750  $\mu\text{g/mL}$ , 0.75 ~ 30.00  $\mu\text{g/mL}$  质量浓度范围内,线性关系良好;二者检出限和定量限相同,分别为 0.02  $\text{mg/g}$ , 0.05  $\text{mg/g}$ .

### 2.6.2 精密度和回收率

选用烤烟烟末、白肋烟烟末典型样品各一个,对这两种典型样品进行 5 次日内和日间平行测定,结果见表 2.考察该方法的日内和日间精密度,并在高、中、低 3 个含量水平上进行回收率的测定(样品加标法),结果见表 3.由表 2 和表 3 可知,本方法烟碱的日内、日间测定结果的精密度分别小于等于 0.85% 和 4.00%,左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为 94.93% ~ 103.70% 和 92.50% ~ 117.50%,说明该方法重复性较好,回收率较高.

## 2.7 样品测定结果

选取不同类型烟草和烟草制品 26 个,包括烟叶样品 11 个(烤烟 5 个、白肋烟 2 个、香料烟

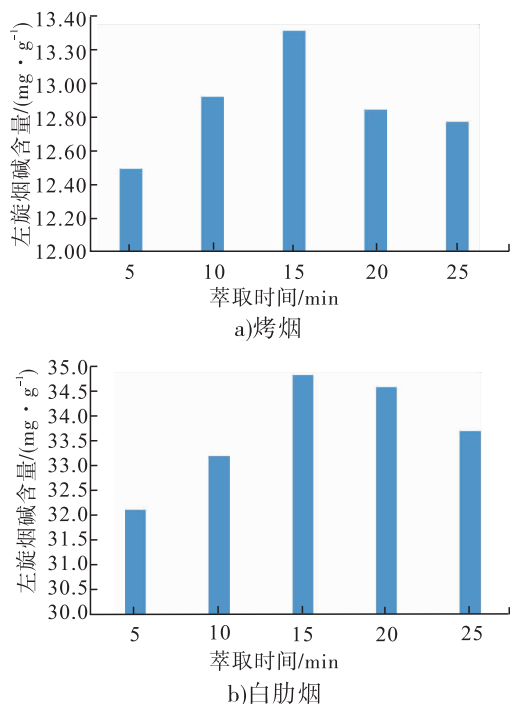


图 6 萃取时间对烤烟和白肋烟烟末中烟碱的萃取效果的影响

Fig. 6 Influence of extraction time on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

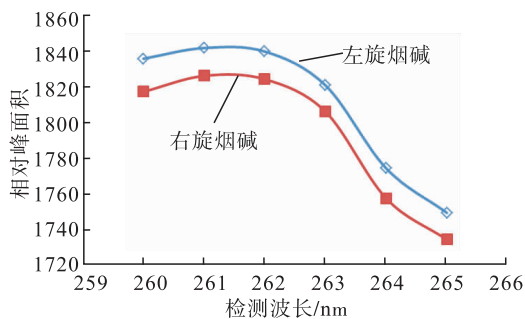


图 7 检测波长的优化

Fig. 7 Optimization of detection wavelength

表 1 本文方法的线性方程、检出限和定量限

Table 1 Linear equation, LODs and LOQs of the paper method

化合物	质量浓度范围/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回归方程	$R^2$	检出限/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	定量限/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
左旋烟碱	15 ~ 750	$y = 8.51x - 7.55$	0.999 8	0.02	0.05
右旋烟碱	0.75 ~ 30.00	$y = 8.70x - 0.96$	0.999 8	0.02	0.05



1个、晒红烟1个、晒黄烟2个),成品卷烟烟丝样品15个(烤烟5个、混合型烟5个、雪茄烟5个),对其烟碱旋光异构体进行测定,结果见表4和表5.表4,表5中左旋烟碱和右旋烟碱的所有测定结果均在定量限之上.由表4可知,11个烟叶样品中仅有1个样品检出右旋烟碱,其质量在总烟碱中占比0.18%.由表5可知,15

个成品卷烟烟丝样品中有5个样品检出右旋烟碱,其质量在总烟碱中占比0.45%~0.70%.另外,由于雪茄烟的抽吸方式不同于传统卷烟,实验中仅对10个传统卷烟(包括5个烤烟和5个混合型卷烟样品)进行了抽吸,对卷烟主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱质量的分析显示,10个卷烟样品主流烟气中均检出了左旋烟碱和右旋烟碱,其中右旋烟碱质量占总烟碱比例为2.08%~3.19%.由10个卷烟烟丝和对应的主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱含量的比较可知,卷烟主流烟气中右旋烟碱质量占总烟碱的比例高于卷烟烟丝,这主要是因为卷烟烟丝在燃吸过程中部分左旋烟碱会转化为右旋烟碱<sup>[3]</sup>.

表2 用本文方法检测样品的日内和日间精密度

Table 2 Intra-day and inter-day precisions of the paper method %

样品	日内精密度	日间精密度
烤烟	0.78	4.00
白肋烟	0.85	3.90

表3 用本文方法检测样品的回收率(n=3)

Table 3 Recovery of samples with the paper method(n=3) mg/g

样品	烟碱含量		加标量		实测量		回收率/%	
	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱
烤烟	12.60	0.00	6.95	0.30	19.60 ± 0.30	0.33 ± 0.02	98.72 ~ 101.80	105.00 ~ 115.00
			13.90	0.60	26.24 ± 0.95	0.68 ± 0.03	95.43 ~ 102.60	109.20 ~ 117.50
			27.80	1.20	38.92 ± 0.57	1.23 ± 0.10	94.93 ~ 97.75	94.17 ~ 110.80
白肋烟	34.10	0.00	19.90	0.30	56.28 ± 0.30	0.33 ± 0.02	104.80 ~ 103.70	103.00 ~ 116.70
			39.50	0.60	74.54 ± 1.22	0.61 ± 0.05	99.62 ~ 102.90	93.33 ~ 110.00
			79.00	1.20	111.15 ± 0.01	1.21 ± 0.10	98.27 ~ 98.28	92.50 ~ 109.20

表4 烟叶样品测试结果

Table 4 The test results of tobacco samples

样品编号	样品信息	左旋烟碱含量/(mg · g <sup>-1</sup> )	右旋烟碱含量/(mg · g <sup>-1</sup> )	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%
1	烤烟	14.56	ND	—
2	烤烟	12.40	ND	—
3	烤烟	22.46	ND	—
4	烤烟	20.57	ND	—
5	烤烟	10.03	ND	—
6	白肋烟	24.14	ND	—
7	白肋烟	28.74	ND	—
8	香料烟	7.46	ND	—
9	晒红烟	11.08	ND	—
10	晒黄烟	21.94	0.039	0.18
11	晒黄烟	21.99	ND	—

注:ND表示未检出,下同

表5 卷烟烟丝和主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱的含量

Table 5 The contents of S-( -)-nicotine and R-( +)-nicotine in cigarette cut tobacco and corresponding mainstream smoke

样品编号	样品信息	卷烟烟丝			卷烟主流烟气		
		左旋烟碱含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )	右旋烟碱含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%	左旋烟碱含量 / (mg · 支 <sup>-1</sup> )	右旋烟碱含量 / (μg · 支 <sup>-1</sup> )	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%
1	烤烟	15.70	0.11	0.70	0.85	20.67	2.39
2	烤烟	16.68	ND	—	0.68	19.48	2.77
3	烤烟	16.71	0.09	0.53	0.63	18.14	2.79
4	烤烟	19.38	ND	—	0.87	21.96	2.47
5	烤烟	14.42	ND	—	0.54	15.98	2.87
6	混合型	17.09	ND	—	0.73	21.54	2.86
7	混合型	17.39	ND	—	0.54	11.43	2.08
8	混合型	17.68	0.09	0.49	0.59	16.03	2.64
9	混合型	15.85	ND	0.62	0.12	3.89	3.19
10	混合型	17.46	0.08	0.45	0.62	19.34	3.02
11	雪茄	13.07	ND	—	—	—	—
12	雪茄	13.17	ND	—	—	—	—
13	雪茄	12.01	ND	—	—	—	—
14	雪茄	13.20	ND	—	—	—	—
15	雪茄	15.31	ND	—	—	—	—

### 3 结论

本文选择大赛璐手性色谱柱 CHIRALPAK-IC,以 V(正己烷):V(异丙醇)=95:5 的混合溶液为流动相,以二乙胺为流动相添加剂,在正相色谱模式下,采用手性色谱柱-HPLC-DAD法实现了烟草及烟草制品中烟碱旋光异构体的分离分析.对该分析方法的表征和检验结果表明:左旋烟碱和右旋烟碱分别在 15~750 μg/mL, 0.75~30.00 μg/mL 质量浓度范围内线性关系良好,左旋烟碱和右旋烟碱的检出限和定量限分别为 0.02 mg/g 和 0.05 mg/g;烟碱的日内、日间测定结果的回收率分别小于等于 0.85%, 4.00%;左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为 94.93%~103.70%, 92.50%~117.50%,表明该方法的精密度和回收率均较好.

选取不同类型烟草及烟草制品 26 个,使用该方法对其中烟碱旋光异构体进行测定,结果表明:烟草中的烟碱主要为左旋烟碱,11 个烟

叶样品中仅有 1 个样品检出右旋烟碱,其质量占总烟碱的 0.18%;15 个成品卷烟烟丝样品中有 5 个样品检出右旋烟碱,其质量占总烟碱的 0.45%~0.70%;10 个成品卷烟烟丝和主流烟气中,卷烟主流烟气右旋烟碱其质量在总烟碱中的占比明显高于卷烟烟丝.这主要是因为卷烟烟丝在燃吸过程中部分左旋烟碱会转化为右旋烟碱.

### 参考文献:

- [1] 谢剑平.烟草与烟草化学成分[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [2] CLAYTON P, LU A, BISHOP L. The pyrolysis of ( -)-(S)-nicotine: Racemization and decomposition[J]. Chirality, 2010, 22(4):442.
- [3] LIU B Z, YAO W, SU Q D. Racemization of S-( -)-nicotine during smoking and its relationship with pyrolysis process[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2008, 81(2): 157.

- [4] GORROD J W, PEYTON J. Analytical determination of nicotine and related compounds and their metabolites [M]. Amsterdam: Elsevier, 1999: 191.
- [5] ARMSTRONG D W, WANG X, LEE J T, et al. Enantiomeric composition of nornicotine, anatabine, and anabosine in tobacco [J]. Chirality, 1999, 11(1): 82.
- [6] MESNARD F, GIRARD S, FLINIAUX O, et al. Chiral specificity of the degradation of nicotine by *Nicotiana glauca* cell suspension cultures [J]. Plant Science, 2001, 161(5): 1011.
- [7] TANG Y, ZIELINSKI W L, BIGOTT H M. Separation of nicotine and nornicotine enantiomers via normal phase HPLC on derivatized cellulose chiral stationary phases [J]. Chirality, 1998(10): 364.
- [8] ARMSTRONG D W, SPINO L A, HAN S M, et al. Enantiomeric resolution of racemic nicotine and nicotine analogues by microcolumn liquid chromatography with  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes [J]. Journal of Chromatography, 1987, 411: 490.
- [9] KODAMA S, MORIKAWA A, NAKAGOMI K, et al. Enantioseparation of nicotine alkaloids in cigarettes by CE using sulfated  $\beta$ -CD as a chiral selector and a capillary coated with amino groups [J]. Electrophoresis, 2009, 30(2): 349.
- [10] RAVARD A, CROOKS P A. Chiral purity determination of tobacco alkaloids and nicotine-like compounds by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy in the presence of 1, 1'-Binaphthyl-2, 2'-Diylphosphoric acid [J]. Chirality, 1996, 8(4): 295.
- [11] THUY T T T, DUONG T D, KHANH P N, et al. NMR spectroscopy using a chiral lanthanide shift reagent to determine the enantiomeric purity of nicotine and the geometric parameters of lanthanide-nicotine complex [J]. Tap Chi Hoa Hoc, 2010, 48: 653.
- [12] CLAYTON P, VAS C A, BUI T T, et al. Mcadam K, spectroscopic studies on nicotine and nornicotine in the UV region [J]. Chirality, 2013, 25(5): 288.
- [13] 庞永强, 费婷, 张洪非, 等. 一种无烟气烟草制品中烟碱的手性分析合相色谱串联质谱法: 106896174 A [P]. 2017-06-27.
- [14] 全国烟草标准化技术委员会. 烟草及烟草制品 烟碱的测定 气相色谱法: YC/T 246—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.



引用格式:许蔼飞,章平泉,范忠,等.用气相色谱法同时测定薄荷型卷烟滤嘴中的薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量[J].轻工学报,2018,33(5):53-59.

中图分类号:TS41<sup>+</sup>1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.007

文章编号:2096-1553(2018)05-0053-07

# 用气相色谱法同时测定薄荷型卷烟滤嘴中的薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量

## Simultaneous determination of the content of menthol, triacetin and nicotine in mint cigarette filter by gas chromatography

许蔼飞<sup>1</sup>,章平泉<sup>2</sup>,范忠<sup>1</sup>,黄世杰<sup>1</sup>,陈志燕<sup>1</sup>,周芸<sup>1</sup>,唐桂芳<sup>1</sup>,  
朱静<sup>1</sup>,李小兰<sup>1</sup>,许春平<sup>3</sup>

XU Aifei<sup>1</sup>,ZHANG Pingquan<sup>2</sup>,FAN Zhong<sup>1</sup>,HUANG Shijie<sup>1</sup>,CHEN Zhiyan<sup>1</sup>,  
ZHOU Yun<sup>1</sup>,TANG Guifang<sup>1</sup>,ZHU Jing<sup>1</sup>,LI Xiaolan<sup>1</sup>,XU Chunping<sup>3</sup>

1. 广西中烟工业有限责任公司技术中心,广西南宁 530001;
  2. 江苏中烟工业有限责任公司淮阴卷烟厂品质管理处,江苏淮安 223002;
  3. 郑州轻工业学院食品与生物工程学院,河南郑州 450001
1. Technology Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China;  
2. Quality Management Department of Huaiyin Cigarette Factory, China Tobacco Jiangsu Industrial Co., Ltd., Huai'an 223002, China;  
3. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

### 关键词:

气相色谱法;薄荷型  
卷烟滤嘴;薄荷醇;三  
乙酸甘油酯;烟碱

### Key words:

gas chromatography;  
mint cigarette filter;  
menthol; triacetin;  
nicotine

**摘要:**选择 HP-Innowax 毛细管色谱柱,以无水乙醇为萃取溶剂,采用气相色谱法同时测定薄荷型卷烟滤嘴中的薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量.结果表明:薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱分别在质量浓度 0.30 ~ 4.80 g · L<sup>-1</sup>, 0.30 ~ 4.80 g · L<sup>-1</sup> 和 0.01 ~ 0.16 g · L<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好,定量限分别为 14.4 μg · 支<sup>-1</sup>, 29.8 μg · 支<sup>-1</sup> 和 9.6 μg · 支<sup>-1</sup>, 3 种目标物的加标回收率在 97.1% ~ 103.1% 之间,使用该方法对 7 个薄荷型卷烟滤嘴样品进行测定,3 种目标物的相对标准偏差均 < 3.0%, 爆珠薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇含量明显高于传统薄荷型卷烟滤嘴,而烟碱和三乙酸甘油酯含量变化无明显规律.

收稿日期:2017-12-06;修回日期:2018-03-26

基金项目:国家自然科学基金联合基金项目(U1604176);广西中烟合作项目(201745000034020)

作者简介:许蔼飞(1980—),男,江西省抚州市人,广西中烟工业有限责任公司工程师,硕士,主要研究方向为卷烟材料及卷烟产品化学分析.

通信作者:李小兰(1971—),女,广西壮族自治区贵港市人,广西中烟工业有限责任公司高级工程师,主要研究方向为烟草化学.

**Abstract:** HP-Innowax capillary column was selected and the content of menthol, triacetin and nicotine in mint cigarette filter was determined by gas chromatography with anhydrous ethanol as extraction solvent. The results showed that: The linear relationship was good among menthol, triacetic acid and nicotine in the concentration range of  $0.30 \sim 4.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.30 \sim 4.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $0.01 \sim 0.16 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively, the limit of quantification was  $14.4 \mu\text{g} \cdot \text{branch}^{-1}$ ,  $29.8 \mu\text{g} \cdot \text{branch}^{-1}$  and  $9.6 \mu\text{g} \cdot \text{branch}^{-1}$ , the spiked recoveries of the three targets ranged from 97.1% to 103.1%, and the determination result of 7 mint cigarette filter samples by this method showed that the relative standard deviations (RSD) were less than 3.0%. The content of menthol in the menthol cigarette filter was significantly higher than that of the traditional menthol cigarette filter, while the change of nicotine and triacetin content had no obvious change.

## 0 引言

薄荷香料是一种应用广泛的香精原料,主要用于食品、日化、卷烟和医药等行业<sup>[1-4]</sup>。薄荷醇能赋予卷烟烟气特异的清凉感觉<sup>[5]</sup>,已广泛应用于传统型和爆珠薄荷型卷烟<sup>[6-7]</sup>。烟碱是卷烟抽吸过程产生的重要特征物质之一,而卷烟滤嘴对烟碱具有一定的截留作用<sup>[8]</sup>。三乙酸甘油酯是制造卷烟滤嘴常用的增塑剂<sup>[9]</sup>,其使用量直接影响到滤嘴过滤效果和卷烟品质<sup>[10]</sup>。目前,卷烟滤嘴中薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯含量的检测,多集中于测定卷烟滤棒材料<sup>[11-13]</sup>,虽然也有卷烟和烟气中上述化合物的检测报道<sup>[14-18]</sup>,但文献报道多为单组分的测定,鲜见同时测定薄荷型卷烟滤嘴中上述3种组分含量的报道。本文拟采用气相色谱法建立同时测定薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量的方法,以期为卷烟烟气中薄荷醇和烟碱转移行为研究、卷烟产品质量监控和配方维护提供支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂和仪器

**材料:** 7个薄荷型卷烟样品,广西中烟工业有限责任公司提供,样品信息见表1。

**主要试剂:** 薄荷醇、烟碱、三乙酸甘油酯、十七碳烷,均为优级纯,百灵威科技有限公司产;甲醇、无水乙醇、异丙醇,均为色谱纯,美国

Dikma公司产。

表1 卷烟样品信息

Table1 Cigarette sample information

样品编号	滤嘴圆周 /mm	滤嘴吸阻 /Pa	滤嘴长度 /mm
传统薄荷型卷烟1 <sup>#</sup>	24.65	1207	27
传统薄荷型卷烟2 <sup>#</sup>	24.53	1278	25
传统薄荷型卷烟3 <sup>#</sup>	24.47	1027	24
传统薄荷型卷烟4 <sup>#</sup>	16.94	1271	30
传统薄荷型卷烟5 <sup>#</sup>	24.42	1164	30
爆珠薄荷型卷烟1 <sup>#</sup>	24.63	1053	27
爆珠薄荷型卷烟2 <sup>#</sup>	24.41	1085	30

**主要仪器:** Agilent 7890B 气相色谱仪(配FID检测器), Agilent 7890B-5977A 气相色谱质谱仪,美国 Agilent 公司产; LX20 直线吸烟机,美国博瓦特凯希公司产; AL204 电子天平,瑞士 Mettler Toledo 公司产; HY-8A 旋转振荡器,上海亚荣生化仪器厂产。

### 1.2 样品前处理

参照国标 GB/T 5606.1—2004<sup>[19]</sup> 挑选试样烟支后,取 20 支传统薄荷型卷烟试样按照 GB/T 19609—2004<sup>[20]</sup> 在吸烟机上进行卷烟抽吸。对于爆珠薄荷型卷烟,先刺破爆珠,然后立即进行卷烟抽吸。卷烟抽吸完毕后,取下烟蒂,去除烟蒂上的烟草柱体;纵向撕开滤嘴,每 10 支一组放入 250 mL 具塞锥形瓶中,加入 100 mL 萃取溶剂,密封;振荡萃取 60 min,萃取液过  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜后,进行气相色谱分析。

### 1.3 标准溶液的配制

薄荷醇、烟碱、三乙酸甘油酯标准储备液配

制:分别称取薄荷醇 300.0 mg,烟碱 10.0 mg 和三乙酸甘油酯 300.0 mg,置于 10 mL 容量瓶中,萃取溶剂溶解,定容,其质量浓度分别为  $30.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $30.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

分别移取 0.1 mL, 0.2 mL, 0.4 mL, 0.8 mL, 1.6 mL 上述 3 种标准储备液于 10 mL 容量瓶中,萃取溶剂溶解,定容后为 3 种标准工作溶液,上机测试。

#### 1.4 气相色谱条件

通过实验在 HP - Innowax (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), HP - 5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 和 DB - 1 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 3 种不同极性毛细管色谱柱中选择适宜的色谱柱;进样口温度 250 °C;升温程序:150 °C (保持 2 min) → 180 °C (5 °C/min) → 230 °C (20 °C/min, 保持 3 min);检测器温度 250 °C;载气 N<sub>2</sub>, 流量 1.0 mL/min, 为恒流模式;H<sub>2</sub> 流量 40 mL/min;空气流量 400 mL/min;尾吹气体 N<sub>2</sub>, 流量 25 mL/min;分流比 50 : 1;进样量 1.0 μL。

萃取溶剂的配制:称取内标物十七碳烷 2.0 g,用适宜萃取剂定容至 4 L,备用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱柱选择结果

对 HP - Innowax, HP - 5 和 DB - 1 这 3 种不同极性色谱柱对目标物的分离效果进行实验,结果如图 1 所示,其中 1 表示薄荷醇,2 表示十七碳烷,3 表示烟碱,4 表示三乙酸甘油酯。由图 1 可知,3 种色谱柱均可对薄荷型卷烟滤嘴中的薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯 3 种目标物和内标物实现良好的基线分离(3 种色谱柱目标峰及内标峰出峰顺序相同),但 HP - Innowax 色谱柱得到的峰形更尖锐,响应更强,也与文献 [12 - 13] 柱型一致,因此,选取 HP - Innowax 为实验分离柱。

### 2.2 目标物辅助定性结果

在传输线温度 230 °C, 电离方式 EI, 离子源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 扫描方式为全扫描, 溶剂延迟 2.0 min 的质谱条件下, 利用 GC-MS 全扫描定性功能对目标物进行辅助定性验证, 对标准溶液和实际样品的测试结果表明, 在 3 种目标物对应的出峰时间处均能检测到目标物, 且目标物之间具有良好的匹配度, 说明在该实验条件下采用 GC-FID 同时测定 3 种目标物不会出现假阳性。

### 2.3 萃取溶剂的选择

为选择合适的萃取溶剂, 对常用溶剂(甲醇、无水乙醇、异丙醇)进行萃取和比对分析, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 甲醇作为萃取溶剂时, 萃取体系基质响应增多, 而无水乙醇作为

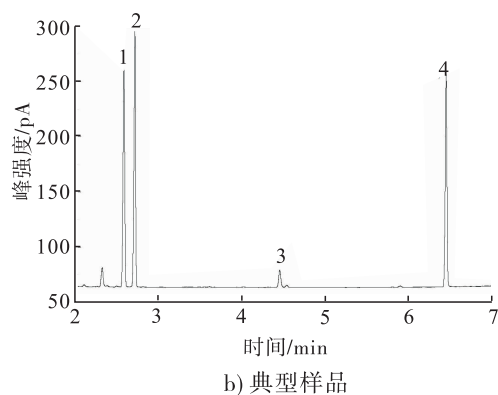
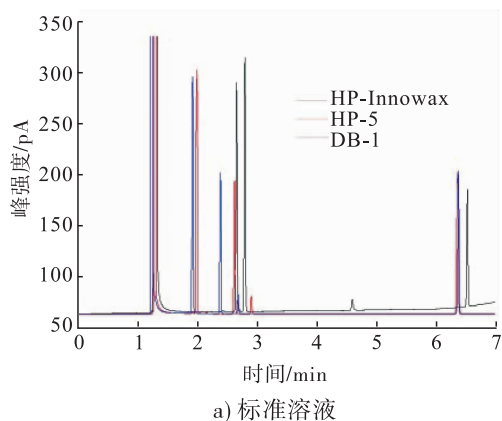


图 1 标准溶液和典型样品的气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatograms of standard solution and typical sample

萃取溶剂时,目标物色谱响应强度略高于异丙醇.综合考虑萃取试样色谱行为和萃取溶剂化学属性,选择无水乙醇为萃取溶剂.

### 2.4 萃取条件的选择及其对萃取效果的影响

**2.4.1 萃取时间对萃取效果的影响** 为了考察萃取时间对萃取效果的影响,采用无水乙醇为萃取溶剂,选取典型薄荷型卷烟进行抽吸,收集10支抽吸后的卷烟滤嘴,并对不同萃取时间萃取后的试样中3种目标物含量进行测定,结果见表2.

由表2可知,10~30 min内,3种目标物的含量随着萃取时间的增加,均呈明显增加趋势;当萃取时间超过30 min后,薄荷醇和烟碱的含量均没有明显差异;萃取时间超过60 min后,三乙酸甘油酯的含量趋于稳定.因此,选择60 min为适宜的萃取时间.

**2.4.2 萃取溶剂体积对萃取效果的影响** 为了考察萃取溶剂体积对萃取效果的影响,选取

典型薄荷型卷烟进行抽吸,收集10支抽吸后卷烟的滤嘴,添加不同体积的萃取溶剂,并对萃取后的试样中3种目标物含量进行测定,结果见表3.

由表3可知,在80~140 mL范围内,萃取溶剂的体积对薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯的萃取效果无明显差异.为便于操作,同时考虑适当、合用的目标物质量浓

表2 萃取时间对薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯含量的影响

Table 2 Influence of extractive time on the content of menthol, nicotine and triacetin mg·支<sup>-1</sup>

萃取时间/min	传统薄荷型卷烟滤嘴			爆珠薄荷型卷烟滤嘴		
	薄荷醇含量	烟碱含量	三乙酸甘油酯含量	薄荷醇含量	烟碱含量	三乙酸甘油酯含量
10	1.85	0.17	3.45	7.68	0.15	2.53
20	3.53	0.35	6.74	11.89	0.29	6.57
30	3.63	0.43	8.23	12.62	0.32	7.02
40	3.62	0.41	9.37	12.61	0.31	7.18
50	3.57	0.42	10.01	12.62	0.32	7.42
60	3.61	0.43	10.24	12.63	0.31	7.46
70	3.62	0.41	10.16	12.59	0.33	7.47
80	3.57	0.42	10.20	12.61	0.31	7.44
90	3.61	0.40	10.17	12.60	0.32	7.47
120	3.64	0.42	10.21	12.57	0.31	7.45
150	3.59	0.41	10.19	12.60	0.32	7.47

表3 萃取溶剂体积对薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯含量的影响

Table 3 Influence of volume of extractive on the content of menthol, nicotine and triacetin mg·支<sup>-1</sup>

萃取溶剂体积/mL	传统薄荷型卷烟滤嘴			爆珠薄荷型卷烟滤嘴		
	薄荷醇含量	烟碱含量	三乙酸甘油酯含量	薄荷醇含量	烟碱含量	三乙酸甘油酯含量
80	3.49	0.41	10.29	12.60	0.30	7.45
90	3.54	0.39	10.15	12.59	0.31	7.44
100	3.58	0.40	10.34	12.63	0.31	7.46
110	3.51	0.39	10.20	12.62	0.30	7.43
120	3.49	0.41	10.18	12.58	0.31	7.40
130	3.47	0.39	10.25	12.57	0.30	7.39
140	3.53	0.40	10.19	12.59	0.29	7.40

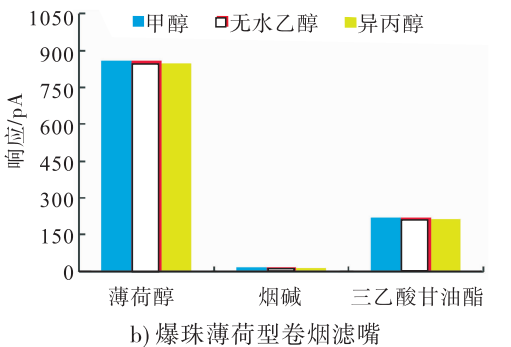
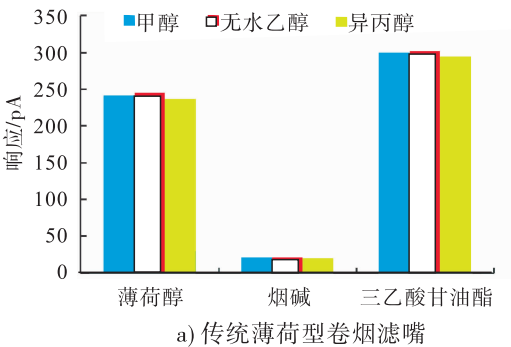


图2 不同卷烟滤嘴萃取溶剂对萃取效果的影响

Fig. 2 Influence of extraction solution efficiency for different cigarette filters

度,选择适宜的萃取溶剂体积为 100 mL.

## 2.5 方法表征与检验

**2.5.1 线性方程、检出限与定量限** 以各标准工作溶液中 3 种目标物的峰面积和内标物的峰面积比值为纵坐标,以 3 种目标物的质量浓度为横坐标,绘制 3 种目标物的标准工作曲线. 重复测定 10 次最低质量浓度标准溶液,计算目标物对应的标准偏差值,并分别以 3 倍和 10 倍标准偏差值为方法的检出限和定量限. 测试结果见表 4.

由表 4 可知,在质量浓度范围内,薄荷醇等 3 种目标物之间具有良好的线性关系,相关系数均  $\geq 0.9999$ ; 检出限和定量限分别在  $2.9 \sim 8.9 \mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$  和  $9.6 \sim 29.8 \mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$  之间.

**2.5.2 精密度与回收率** 根据样品中薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯 3 种目标物含量的高低,在低、中、高 3 个质量浓度水平上进行加标回收率试验. 在试样萃取前,分别添加不同含量的目标物标样,然后加入萃取溶剂进行萃取,并计算方法的加标回收率,结果见表 5 和表 6.

由表 5 和表 6 可知,精密度在  $0.62\% \sim 2.67\%$  之间,加标回收率在  $97.1\% \sim 103.1\%$  之间,说明该法具有良好的精密度和回收率,可适用于薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量的测定.

## 2.6 样品分析结果

采用本实验方法测定了 7 个薄荷型卷烟滤嘴样品中薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量(见表 7),选择典型薄荷型卷烟样品,按实验方法平行测定 6 次,并计算其相对标准偏差

(RSD),结果表明,实验选定的所有样品中均检出薄荷醇、烟碱和三乙酸甘油酯,3 种目标物的相对标准偏差  $< 3.0\%$ . 其中两种爆珠薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇含量( $12.62 \sim 16.43 \text{ mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )明显高于传统薄荷型卷烟滤嘴( $2.47 \sim 8.56 \text{ mg} \cdot \text{支}^{-1}$ ),而烟碱和三乙酸甘油酯含量变化无明显规律,这主要与不同类型卷烟产品配方和卷烟参数设计有关<sup>[21]</sup>.

## 3 结论

本文选择 HP - Innowax 毛细管色谱柱,以无水乙醇为萃取溶剂,基于气相色谱法建立了同时测定薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量的方法. 结果表明,萃取时间为 60 min,萃取溶剂体积为 100 mL 条件下,3 种目标物分别在质量浓度  $0.30 \sim 4.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.30 \sim 4.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.01 \sim 0.16 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内线性关系良好,定量限分别为  $14.4 \mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$ ,  $9.6 \mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$  和  $29.8 \mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$ ,加标回收率在  $97.1\% \sim 103.1\%$  之间,这说明该方法简单、高效、准确,适用于薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇、三乙酸甘油酯和烟碱含量的同时测定. 使用该方法对 7 个薄荷型卷烟滤嘴样品进行测定,3 种目标物的相对标准偏差均  $< 3.0\%$ ,爆珠薄荷型卷烟滤嘴中薄荷醇含量明显高于传统薄荷型卷烟滤嘴,而烟碱和三乙酸甘油酯含量变化无明显规律,这主要与不同类型卷烟产品配方和卷烟参数设计有关.

表 4 目标物线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 4 Target linear equation, linearity parameters, limit of detection and limit of quantification

化合物	质量浓度范围/( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	线性方程	相关系数	检出限/( $\mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$ )	定量限/( $\mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1}$ )
薄荷醇	0.30 ~ 4.80	$y = 2.9497x - 0.0245$	0.999 9	4.3	14.4
烟碱	0.01 ~ 0.16	$y = 2.1436x - 0.0107$	1.000 0	2.9	9.6
三乙酸甘油酯	0.30 ~ 4.80	$y = 0.9126x - 0.0152$	0.999 9	8.9	29.8



表5 精密度测试结果( $n=6$ )

化合物	薄荷醇	烟碱	三乙酸甘油酯
传统薄荷型卷烟滤嘴精密度	1.28	2.34	0.90
爆珠薄荷型卷烟滤嘴精密度	1.07	2.67	0.62

表6 回收率计算实验结果( $n=6$ )

卷烟滤嘴样品	化合物	加标浓度/( $\text{mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )	回收率/%
传统薄荷型卷烟滤嘴	薄荷醇	1.50	97.1
		3.00	90.5
		6.00	101.5
	烟碱	0.20	100.0
		0.40	103.1
		0.80	100.0
	三乙酸甘油酯	5.00	97.3
		10.00	100.8
		20.00	99.4
爆珠薄荷型卷烟滤嘴	薄荷醇	6.00	98.5
		12.00	99.1
		24.00	102.4
	烟碱	0.20	99.1
		0.40	101.8
		0.80	98.7
	三乙酸甘油酯	5.00	98.4
		10.00	98.6
		20.00	99.3

表7 样品分析结果

Table 7 Analytical results of samples

卷烟滤嘴样品	薄荷醇		烟碱		三乙酸甘油酯		
	含量/( $\text{mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )	RSD/%	含量/( $\text{mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )	RSD/%	含量/( $\text{mg} \cdot \text{支}^{-1}$ )	RSD/%	
传统薄荷型卷烟滤嘴	1 <sup>#</sup>	3.60	1.01	0.41	1.98	10.19	0.78
	2 <sup>#</sup>	4.12	0.95	0.45	2.04	11.04	0.71
	3 <sup>#</sup>	8.56	0.87	0.34	1.42	13.47	0.53
	4 <sup>#</sup>	2.47	1.25	0.21	2.87	6.38	0.86
	5 <sup>#</sup>	5.43	0.94	0.36	1.73	11.74	0.57
爆珠薄荷型卷烟滤嘴	1 <sup>#</sup>	12.62	1.02	0.31	1.74	7.46	0.90
	2 <sup>#</sup>	16.43	0.52	0.37	1.25	11.73	0.54

## 参考文献:

- [1] FURRER S M, SLACK J P, Mc CLUSKEY S T, et al. New developments in the chemistry of cooling compounds [J]. Chemosensory Perception, 2008, 1(2): 119.
- [2] 郑昌戈, 刘焯业, 喻晓蔚, 等. L-薄荷醇的合成研究[J]. 化工进展, 2011, 30(10): 2276.
- [3] 何智慧, 罗嘉, 练文柳. 薄荷卷烟研究进展[J]. 烟草科技, 2006(9): 38.
- [4] 程阔菊, 王晖, 陈垦. 薄荷醇的安全性研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(2): 377.
- [5] ECCLES R. Menthol and related cooling compounds [J]. Journal of Pharmacy & Pharmacology, 1994, 46(8): 618.
- [6] STRASSER A A, ASHARE R L, KAUFMAN M,

- et al. The effect of menthol on cigarette smoking behaviors, biomarkers and subjective responses [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 22(3):382.
- [7] 王文俊,孙凯健,陈静. 薄荷醇加香位置对主流烟气中薄荷醇含量的影响[C]//中国烟草学会2014年学术年会. 上海:上海市烟草学会,2014.
- [8] 金闻博,戴亚,杨俊. 烟草化学与烟气分析[M]. 南昌:江西科技出版社,1993.
- [9] 周永芳,张伟杰,蒋平平. 国内外烟草用增塑剂三醋酸甘油酯现状及发展趋势[J]. *增塑剂*, 2010, 21(2):4.
- [10] 冯剑,王军,王雷,等. 滤嘴中三乙酸甘油酯含量与其物理指标的相关性研究[J]. *安徽农业通报*, 2012, 16(6):126.
- [11] 张卫平,陆明华,胡爱平,等. 气相色谱法测定醋酸纤维滤棒中薄荷醇[J]. *理化检验:化学分册*, 2014, 50(10):1299.
- [12] 中国国家标准化管理委员会. 醋酸纤维滤嘴中薄荷醇的测定 气相色谱法:YC/T 416—2011[S]. 北京:中国标准出版社,2011.
- [13] 中国国家标准化管理委员会. 醋酸纤维滤嘴中三乙酸甘油酯的测定 气相色谱法:YC/T 331—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [14] 黄龙,陈一,刘辉,等. 卷烟及烟气中薄荷醇的毛细气相色谱分析[J]. *烟草科技*, 2007(4):32.
- [15] 官梅,葛炯,许建铭,等. 卷烟及烟气中薄荷醇含量的测定[J]. *烟草科技*, 2002(7):29.
- [16] 林文强,欧亚非,王瑞玲,等. 薄荷型卷烟和主流烟气中薄荷醇分析及其转移的研究[J]. *化学研究与应用*, 2010, 22(9):1122.
- [17] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟滤嘴中烟碱的测定 气相色谱法:YC/T 154—2001[S]. 北京:中国标准出版社,2001.
- [18] 黄华发. 卷烟滤嘴中三醋酸甘油酯向主流烟气的转移研究[J]. *安徽农业科技*, 2012, 40(6):3602.
- [19] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟 第1部分 抽样:GB/T 5606.1—2004[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [20] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟 用常规分析用吸烟机测定总粒相物和焦油:GB/T 19609—2004[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [21] 彭斌,孙学辉,尚平平,等. 辅助材料设计参数对烤烟型卷烟烟气焦油、烟碱和CO释放量的影响[J]. *烟草科技*, 2012(2):61.



引用格式:杨建云,田孟玉,裴梓烨,等. 基于近红外光谱技术的初烤烟叶致香成分含量特性快速定量评价[J]. 轻工学报,2018,33(5):60-68.

中图分类号:TS41<sup>+</sup>1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.008

文章编号:2096-1553(2018)05-0060-09

# 基于近红外光谱技术的 初烤烟叶致香成分含量特性快速定量评价

## Rapid quantitative evaluation of the content of aroma components in flue-cured tobacco leaves based on near-infrared spectroscopy

杨建云,田孟玉,裴梓烨,赵蔚,马骥,李俊谷,杨乾栩  
YANG Jianyun, TIAN Mengyu, PEI Ziyue, ZHAO Wei, MA Ji, LI Jungu,  
YANG Qianxu

### 关键词:

初烤烟叶;致香成分;  
近红外光谱技术;快  
速定量评价;主成分  
分析

云南中烟工业有限责任公司 技术中心,云南 昆明 650231  
Technology Center, China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650231, China

### Key words:

flue-cured tobacco  
leaves;  
aroma component;  
near-infrared  
spectroscopy;  
rapid quantitative  
evaluation; principal  
component analysis

**摘要:**为实现对初烤烟叶致香成分含量特性的快速评价,以河南、贵州和云南K326初烤烟叶为样本,采用近红外光谱技术结合偏最小二乘法判断分析(PLS-DA)建立PLS-DA模型和定量校正模型,对不同种植环境中K326初烤烟叶致香成分含量特性进行快速定量评价,结果表明:1)3个产地初烤烟叶致香成分在PLS-DA模型中差异性明显,第1,第2主成分对模型具有较好的解释能力,对模型分类变量的解释能力为81.4%;2) $\beta$ -大马酮、亚麻酸甲酯、丁基化羟基甲苯、 $\beta$ -紫罗兰酮等化合物是对3个产地样品的重要区分性化合物;3)基于第1,第2主成分得分的近红外校正模型,其决定系数分别为0.9700和0.9080,具有较好的稳定性和预测准确性。

收稿日期:2018-01-24

基金项目:云南省科技厅科技计划项目(2018FD164);云南中烟工业有限责任公司科技项目(2015CP02, 2016CP03)

作者简介:杨建云(1980—),男,四川省岳池县人,云南中烟工业有限责任公司工程师,主要研究方向为卷烟产品研发。

通信作者:杨乾栩(1987—),男,重庆市人,云南中烟工业有限责任公司工程师,博士,主要研究方向为烟草原料。

**Abstract:** In order to realize the rapid evaluation of the content of aroma components in flue-cured tobacco leaves, the flue-cured tobacco leaves of He'nan, Guizhou and Yunnan K326 were used as samples, and the PLS-DA model and quantitative correction model were established by using near-infrared spectroscopy combined with partial least squares method. The differences in the aroma components of K326 flue-cured tobacco leaves in the planting environment were quickly and quantitatively evaluated. The results showed that: 1) The aroma components of the flue-cured tobacco leaves in the three producing areas were significantly different in the PLS-DA model, and the first and second principal components had good interpretation ability. The explanatory power of the model categorical variable was 81.4%; 2)  $\beta$ -Damascone, methyl linolenic acid, butylated hydroxytoluene,  $\beta$ -ionone and other compounds were important distinguishing compounds for the three origin samples; 3) The near-infrared correction model based on the first and second principal component scores had a coefficient of determination of 0.970 0 and 0.908 0, respectively, and had good stability and prediction accuracy.

## 0 引言

卷烟工业对烟叶内在化学成分,尤其是致香成分极为关注<sup>[1]</sup>,致香成分的种类和含量影响着烟叶及其制品的香气品质.致香成分含量差异的本质是致香成分代谢特性的不同,其影响因素包括烟叶品种、部位、生态区域、栽培措施、烘烤调制技术等<sup>[2-6]</sup>.各影响因素与烟草致香成分含量差异的相关性研究可揭示影响因素对致香成分代谢特性影响的强弱,同时也可发现不同条件下种植的烟叶其致香成分的关键标记物,从而为进一步科学地做好烟草种植规划、彰显卷烟风格特征奠定基础.目前,各影响因素与烟草致香成分含量差异的相关性研究一般采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)结合化学计量学方法.该方法的优势在于GC-MS法定性和定量准确,化学计量学方法能有效揭示多维数据间的相关性.L. Zhang等<sup>[3]</sup>基于初烤烟叶的GC-MS数据,结合HCA,PCA和OPLS-DA方法分析了我国不同省份烟叶致香成分的含量特性差异及其影响因素.GC-MS法可准确测定烟叶中致香成分的种类和含量,但该方法存在前处理复杂、测定时间长、易产生环境污染、成本较高等不足.近红外分析技术作为一种简便、快速、无损的检测方法已被广泛应用于对各行

业产品品质的快速分析<sup>[7-10]</sup>.在烟草领域,近红外分析技术被应用于烟草品质的定性分析和定量测定,其中定性分析应用于卷烟配方和不同批次间卷烟产品的质量稳定性评价等方面,定量测定包括快速测定烟草品质的多项化学指标,如烟碱、总氮、总糖、还原糖、多酚、淀粉、纤维素等.近红外光谱信息能从整体上反映烟草的理化性质,利用其分析初烤烟叶致香成分含量具有一定的可行性.偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)是一种建立样本属性和预测值之间关系的有监督模式的方法,其整合了主成分分析、相关分析和判别分析,具有运算速度快、准确度高的优点,广泛应用在近红外数据分析领域<sup>[11]</sup>.

鉴于此,本研究拟以河南、贵州和云南K326初烤烟叶为样本,采用近红外光谱技术结合PLS-DA建立PLS-DA模型和定量校正模型,并对不同种植环境中K326初烤烟叶致香成分含量特性进行评价,以期快速定量评价K326致香成分差异提供参考.

## 1 实验材料与方法

### 1.1 材料与仪器

主要试剂:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(色谱纯),西陇化工股份有限公司产;萘(色谱纯),百灵威科技有限

公司产。

主要材料:收集 2014 年份的河南、贵州和云南产地 K326 品种, B2F, C3F, X2F 等级的初烤烟叶共计 300 份, 2.0 kg/份, 样品详细信息见表 1。

表 1 样品信息表

Table 1 Sample information table

产地	部位和等级	样品数量/份
河南	B2F	30
	C3F	40
	X2F	30
贵州	B2F	30
	C3F	40
	X2F	30
云南	B2F	30
	C3F	40
	X2F	30

主要仪器: Truelab2000 同时蒸馏萃取仪, 上海楚柏实验室设备有限公司产; R-3000 型旋转蒸发仪, 瑞士 Buchi 公司产; KDM 型调温电热套, 山东鄄城华鲁电热仪器有限公司产; Antaris II 型 FT-NIR 光谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司产; Agilent GC6890N/MS5975I 气相色谱/质谱联用仪 (GC-MS), 美国 Agilent 公司产; Milli-Q 超纯水系统, 美国 Millipore 公司产。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 初烤烟叶样品前处理** 准确称取备用样品 25.0 g, 每个样本平行 3 份, 置于恒温恒湿箱 (温度 22 °C, 湿度 60% RH) 平衡 24 h; 采用同时蒸馏萃取法, 将盛有烟叶样品的一端加入 350 mL 蒸馏水置于电热套上加热, 另一端加入 30 mL 二氯甲烷置于水浴锅中加热, 水浴锅温度为 60 °C, 蒸馏萃取 2 h; 萃取完成后, 采用旋转蒸发仪 (温度约为 20 °C, 压力为 560 MPa, 转速为 65 r/min) 将萃取液浓缩至 1.0 mL, 装入样品瓶中, 待测。

**1.2.2 初烤烟叶致香物质含量测定** 致香物质含量测定: 采用 GC-MS 测定上述浓缩液的致

香物质含量, 作为对应初烤烟叶中致香成分的含量, 测定条件见文献 [12]。经含量测定所得图谱用计算机谱库 (NIST05, Wiley275) 检索, 确定各谱峰归属的化合物; 采用内标法 (萘为内标), 测定各物质的相对含量。

**1.2.3 初烤烟叶近红外光谱的采集** 按照 DBT 497—2013《烟草及烟草制品 主要化学成分指标 近红外校正模型建立与验证导则》所述方法, 首先进行样品前处理: 将样品粉碎、过 60 目筛, 制成粒径大小均匀、水分含量相对稳定的样品 (约 60 g), 密封备用; 采用 FT-NIR 光谱仪采集样品光谱数据, 设定光谱扫描范围为 10 000 ~ 4000  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率为 8  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描次数为 64 次, 开机预热 2 h 后, 采集样品近红外光谱。

## 2 致香成分代谢特性的建模与评价

### 2.1 致香成分代谢特性 PLS-DA 模型的建立

按烟叶产地 (河南、贵州和云南) 对 300 份样品进行类别划分, 结合对应的致香成分含量, 采用 SIMCA-P + 11.5 软件, 建立基于 K326 初烤烟叶致香成分含量的致香成分代谢特性 PLS-DA 模型, 提取能表征不同类间差异性即致香成分含量特征性分布的参数  $t_1$ ,  $t_2$  和  $t_3$  (分别表示第 1, 2, 3 主成分下每个样品对应的得分)。

### 2.2 定量校正模型的建立

近红外光谱的多元散射校正 MSC (multiplicative scatter correction) 可消除因颗粒分布不均匀而产生的散射影响, Norris 滤波器和二阶微分可过滤噪声, 消除基线漂移。因此本文采用 MSC + Norris (11, 3) 平滑 + 二阶微分对样品近红外光谱进行预处理, 并采用 TQ Analyst 8.6 软件完成校正。

随机挑选预处理后的 270 个样品 (河南、贵州和云南各 90 个) 的近红外光谱数据, 结合对应的  $t_1$  和  $t_2$ , 采用偏最小二乘法 (PLS) 建立表

征致香成分含量特性分布的参数  $t_1$  和  $t_2$  的近红外校正模型。

### 2.3 定量校正模型的评价

采用参数相关系数 ( $R^2$ )、校正均方根误差、交互验证均方根误差,基于参数预测值与实测值之间的配对  $t$  检验结果、验证平均误差 ( $\bar{e}_v$ )、验证标准误差和验证标准误差的标准偏差,根据未参加建模的 30 个样品的致香成分含量数据和近红外光谱数据,对近红外校正模型预测的准确性和稳定性进行外部评价。

## 3 结果与讨论

### 3.1 致香成分测定结果

采用 GC-MS 法对烟叶致香成分进行测定,共检出如下 71 种化合物:1-戊烯-3-酮、3-羟基-2-丁酮、3-甲基-1-丁醇、吡啶、己醛、面包酮、糠醛、糠醇、2-环戊烯-1,4-二酮、1-(2-呋喃基)-乙酮、丁内酯、2-吡啶甲醛、糠酸、苯甲醛、甲基糠醛、苯酚、2-戊基呋喃、2,4-庚二烯醛 A、4-吡啶甲醛、1H-吡咯-2-甲醛、2,4-庚二烯醛 B、苯甲醇、苯乙醛、1-(1H-吡咯-2-基)-乙酮、对甲基苯酚、二甲基苯酚、芳樟醇、壬醛、甲基-3-吡啶基酮、苯乙醇、氧化异佛尔酮、2,6-壬二烯醛、苯并[b]噻吩、藏花醛、胡薄荷酮、2,3-二氢苯并呋喃、吡啶、乙烯基愈疮木酚、茄酮、 $\beta$ -大马酮、 $\beta$ -二氢大马酮、去氢去甲基烟碱、香叶基丙酮、 $\beta$ -紫罗酮、丁基化羟基甲苯、3-(1-甲基乙基)(1H)吡啶[3,4-b]吡嗪、2,3'-联吡啶、二

氢猕猴桃内酯、巨豆三烯酮 A、巨豆三烯酮 B、巨豆三烯酮 C、巨豆三烯酮 D、3-氧代- $\alpha$ -紫罗兰醇、十四醛、肉豆蔻酸甲酯、肉豆蔻酸、降茄二酮、葱、螺岩兰草酮、新植二烯、邻苯二甲酸酯二丁酯、金合欢基丙酮 A、棕榈酸甲酯、棕榈酸、棕榈酸乙酯、异瑟模环烯醇、亚麻酸甲酯、植醇、西柏三烯二醇、金合欢基丙酮 B、茄那士酮。

### 3.2 PLS-DA 模型最优主成分数的选择

选择适宜的主成分数 ( $A$ ) 是 PLS-DA 模型稳定性和准确性的重要因素。选择主成分数时,主成分特征值 (*Eigenvalues*) 一般需要大于 2, 同时应兼顾主成分分析对原光谱数据的累积解释能力和模型的预测准确性及精度。 $R^2X$  表示该主成分数下模型对光谱矩阵的解释能力,  $R^2X_{cum}$  表示模型累积对光谱矩阵的解释能力;  $R^2Y$  表示该主成分数下模型对分类变量的预测能力,  $R^2Y_{cum}$  表示模型累积对分类变量累积预测能力;  $Q^2$  是基于累计交叉有效性的模型预测精度参数,  $Q^2_{cum}$  表示模型累积的预测精度。不同主成分下,建立 PLS-DA 模型的  $R^2X$ ,  $R^2X_{cum}$ , *Eigenvalues*,  $R^2Y$ ,  $R^2Y_{cum}$ ,  $Q^2$  和  $Q^2_{cum}$  见表 2。

由表 2 可知:当模型的主成分数由 1 增加至 4 时,  $R^2X_{cum}$  为 0.514,  $R^2Y_{cum}$  为 0.908,  $Q^2_{cum}$  为 0.897; 当主成分数增加到 5 时,上述 3 个参数进一步增加,但其特征值为 1.83 ( $< 2$ )。因此,所建立的 PLS-DA 模型最优的主成分数为 4。

### 3.3 PLS-DA 模型主成分得分分析

选择 PLS-DA 模型的主成分数为 4 时,各

表 2 不同主成分下 PLS-DA 模型的相关参数

Table 2 PLS-DA model related parameters with different principal components

主成分数	$R^2X$	$R^2X_{cum}$	<i>Eigenvalues</i>	$R^2Y$	$R^2Y_{cum}$	$Q^2$	$Q^2_{cum}$
1	0.195	0.195	12.30	0.434	0.434	0.430	0.430
2	0.153	0.348	9.63	0.379	0.814	0.658	0.805
3	0.106	0.454	6.71	0.068	0.881	0.341	0.872
4	0.059	0.514	3.74	0.027	0.908	0.195	0.897
5	0.029	0.543	1.83	0.015	0.922	0.048	0.902

样品第1,第2主成分得分( $t_1, t_2$ )分布图如图1所示,各样品第1,第2,第3主成分得分( $t_1, t_2, t_3$ )分布图见图2.

由图1和图2可知:由于K326烟叶产地差异,其致香成分在多维模型空间呈现一定的分布差异, $t_1$ 和 $t_2$ 共同作用即可实现对3个产地样品较好的区分效果,此时对模型分类变量的解释能力为81.4%; $t_1, t_2$ 和 $t_3$ 共同作用可实现对3个产地样品完全区分的效果;不同产地样品 $t_1, t_2$ 与 $t_3$ 数值之间的差异可反映出K326初烤烟叶致香成分含量在PLS-DA模型的空间差异,因此 $t_1, t_2$ 和 $t_3$ 可表征不同生态条件下K326致香成分含量特性.

不同地区样品对应的 $t_1$ 和 $t_2$ 最大值、最小值和平均值见表3,3个地区对应的 $t_1$ 和 $t_2$ 分布范围如图3所示.由表3和图3不难发现:3个地区样品的 $t_1$ 值和 $t_2$ 值具有较明显的差异,河南地区 $t_1$ 值较低, $t_2$ 值适中且分布较广;云南地区 $t_1$ 值较高, $t_2$ 值较低;贵州地区 $t_1$ 值适中, $t_2$ 值较高.正是由于不同地区 $t_1$ 值, $t_2$ 值的数据特性,即致香成分含量特性不同,3个地区K326样品具有较强的区分模式.

### 3.4 致香成分重要性分析

在PLS-DA模型中,不同主成分下各致香

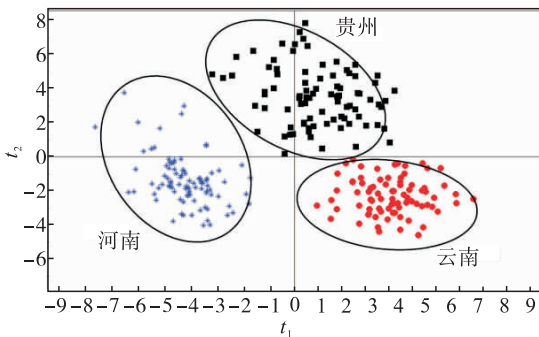


图1 不同初烤烟叶致香成分指标分类得分图 (第1,第2主成分得分)

Fig.1 Classification scores of aroma components of different flue-cured tobacco leaves (The 1st ,2nd principal components score)

成分的变量重要性投影VIP(variables importance of projection)值能够反映该物质对提高分类变量区分度的贡献率<sup>[13]</sup>.因此,分析不同主成分下各致香成分VIP值的排序,能进一步明确造成不同地区K326致香成分含量特性差异性的物质基础.第1,第2和第3主成分得分下对应的VIP值排序见表4.

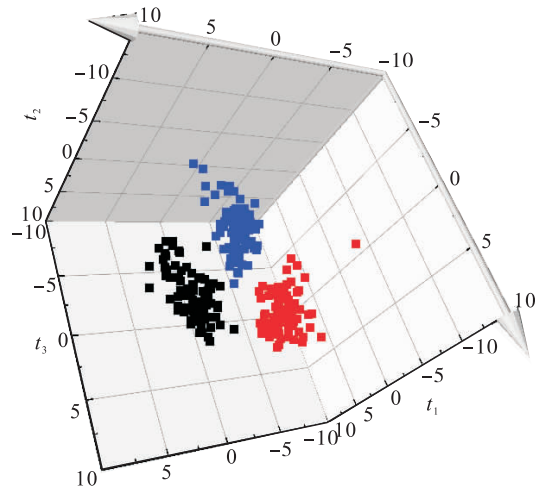


图2 不同初烤烟叶致香成分指标分类得分图 (第1,第2,第3主成分得分)

Fig.2 Classification scores of aroma components of different flue-cured tobacco leaves (The 1st ,2nd ,3rd principal components score)

表3 不同地区烟叶样品 $t_1, t_2$ 的最大值、最小值和平均值

Table3 Maximum, minimum and average values of  $t_1$  and  $t_2$  in tobacco leaves samples from different regions

地区	统计量	$t_1$	$t_2$
河南	最大值	-1.794	3.845
	最小值	-7.354	-3.710
	平均值	-4.186	-1.191
贵州	最大值	4.524	7.870
	最小值	-2.878	-0.036
	平均值	0.955	3.407
云南	最大值	6.395	0.900
	最小值	-0.833	-4.614
	平均值	3.231	-2.216

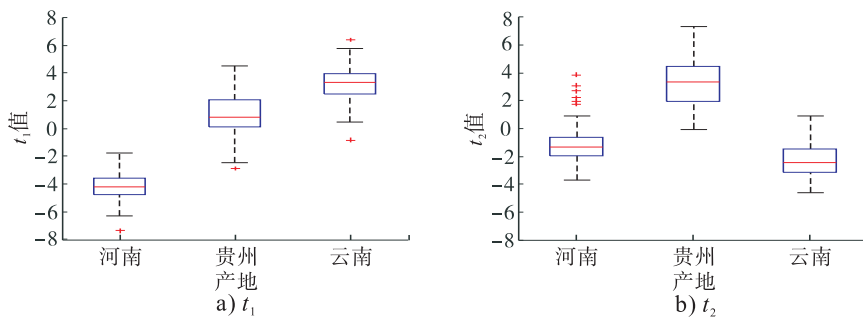


图3 不同地区烟叶样品  $t_1, t_2$  的最大值、最小值和平均值分布范围

Fig. 3 Maximum, minimum and average values of  $t_1$  and  $t_2$  in tobacco leaves samples from different regions

表4 第1,第2和第3主成分下对应的VIP值排序

Table 4 The corresponding VIP values sort of the principal components 1, 2 and 3

主成分位次	化合物名称	VIP 值	主成分位次	化合物名称	VIP 值
第1主成分	亚麻酸甲酯	1.835 21	第2主成分	胡薄荷酮	1.125 63
	香叶基丙酮	1.781 72		2-环戊烯-1,4-二酮	1.123 38
	吡啶	1.752 33		西柏三烯二醇	1.114 14
	棕榈酸乙酯	1.706 25		2,6-壬二烯醛	1.106 36
	棕榈酸甲酯	1.660 28		氧化异佛尔酮	1.080 31
	苯并[b]噻吩	1.556 05		邻苯二甲酸二丁酯	1.075 90
	$\beta$ -紫罗兰酮	1.546 45		苯乙醛	1.069 29
	胡薄荷酮	1.509 73		3-氧代- $\alpha$ -紫罗兰醇	1.064 32
	苯乙醛	1.463 88		藏花醛	1.056 99
	4-吡啶甲醛	1.425 20		4-吡啶甲醛	1.047 65
	邻苯二甲酸二丁酯	1.380 10		1-(3-吡啶基)-乙酮	1.037 27
	金合欢基丙酮 B	1.315 72		丁内酯	1.020 40
	金合欢基丙酮 A	1.285 04		$\beta$ -紫罗兰酮	1.627 79
	$\beta$ -大马酮	1.272 07		丁基化羟基甲苯	1.610 48
	丁内酯	1.244 77		$\beta$ -大马酮	1.506 01
	茄那土酮	1.214 11		亚麻酸甲酯	1.369 14
	去氢去甲基烟碱	1.207 84		香叶基丙酮	1.311 93
	1-(1H-吡咯-2-基)-乙酮	1.207 05		吡啶	1.257 86
	氧化异佛尔酮	1.202 08		3-甲基-2-丁烯醛	1.235 45
	西柏三烯二醇	1.182 55		棕榈酸乙酯	1.227 80
2,3'-联吡啶	1.178 52	苯甲醛	1.222 06		
藏花醛	1.178 10	$\beta$ -二氢大马酮	1.222 03		
1H-吡咯-2-甲醛	1.173 86	棕榈酸甲酯	1.215 23		
$\beta$ -二氢大马酮	1.060 54	巨豆三烯酮 C	1.197 62		
3-氧代- $\alpha$ -紫罗兰醇	1.040 89	1-(3-吡啶基)-乙酮	1.175 06		
2,3-二氢苯并呋喃	1.035 65	第3主成分	茄酮	1.168 14	
苯乙醇	1.021 32		吡啶	1.167 68	
$\beta$ -紫罗兰酮	1.693 95		糠醛	1.162 81	
丁基化羟基甲苯	1.673 81		巨豆三烯酮 D	1.139 39	
$\beta$ -大马酮	1.567 33		金合欢基丙酮 B	1.129 44	
亚麻酸甲酯	1.404 18		2-环戊烯-1,4-二酮	1.104 67	
香叶基丙酮	1.357 42		苯并[b]噻吩	1.103 28	
吡啶	1.291 36		2,6-壬二烯醛	1.099 03	
3-丁基-2-丁烯醛	1.277 94		胡薄荷酮	1.091 80	
棕榈酸乙酯	1.277 30		苯乙醇	1.075 52	
$\beta$ -二氢大马酮	1.270 35		丁内酯	1.072 39	
巨豆三烯酮 C	1.226 25		西柏三烯二醇	1.071 86	
棕榈酸甲酯	1.222 43		氧化异佛尔酮	1.057 18	
苯甲醛	1.214 39		1-(1H-吡咯-2-基)-乙酮	1.054 81	
茄酮	1.211 01		邻苯二甲酸二丁酯	1.036 15	
吡啶	1.200 29		苯乙醛	1.034 84	
糠醛	1.185 84		4-吡啶甲醛	1.032 13	
巨豆三烯酮 D	1.168 96		3-氧代- $\alpha$ -紫罗兰醇	1.026 11	
金合欢基丙酮 B	1.167 62		藏花醛	1.022 05	
苯并[b]噻吩	1.137 65				



由表4可知:第1主成分下,对分类变量贡献较大的化合物有27种,第2,第3主成分下,对分类变量贡献较大的分别有30种和32种.分析第1,第2主成分下对分类变量贡献较大的物质排序可知,两者之间不同物质间的排序差异较大.分析第2,第3主成分下对分类变量贡献较大的化合物排序可知,两个主成分之间不同物质间的排序差异较小.结合不同主成分对X矩阵(致香成分含量)和Y值(不同地区分类变量)的解释和预测类能力,可知 $t_1$ 与 $t_2$ 间的差异是反映不同地区K326初烤烟叶含量特性差异的主要参数.因此下一步建立基于致香物质近红外光谱数据的 $t_1$ 和 $t_2$ 校正模型,用于快速表征K326致香成分含量特性.

为进一步明晰上述VIP值大于1的化合物与 $t_1, t_2$ 的相关性,将上述化合物含量与 $t_1, t_2$ 之间做Pearson相关性分析,分析结果见表5.首先需要计算化合物重要程度综合指数,公式如下:

化合物重要程度综合指数 =

$SQRT(\text{与 } t_1 \text{ 相关系数}^2 + \text{与 } t_2 \text{ 相关系数}^2)$

其中, $SQRT$ 代表开算术平方根运算,综合指数反映化合物在 $t_1$ 和 $t_2$ 整体上具有的相关性程度,可作为判定化合物重要程度的依据.

由表5可知,VIP值大于1的化合物与 $t_1$ 和 $t_2$ 值之间在0.01水平下整体均呈现较强的相关性,其中 $\beta$ -大马酮、亚麻酸甲酯、丁基化羟基甲苯、 $\beta$ -紫罗兰酮、棕榈酸乙酯、吡啶、香叶基丙酮、3-甲基-2-丁烯醛、2-环戊烯-1,4-二酮、糠醛的综合指数均大于0.7,是对3个产地样品的重要区分性化合物,与Y. X. Xi等<sup>[14]</sup>研究结论基本一致.

### 3.5 定量校正模型的拟合结果分析

基于近红外光谱 $t_1$ 和 $t_2$ 的定量校正模型拟合结果分别如图4和图5所示.从图中可以看出,测定值与模型预测值整体上较为均匀地

表5 VIP值大于1的化合物与 $t_1, t_2$ 的 Pearson 相关系数及综合指数

Table 5 Pearson correlation coefficient and composite index between compounds with VIP greater than 1 and  $t_1, t_2$

化合物	与 $t_1$ 相关系数	与 $t_2$ 相关系数	综合指数
$\beta$ -大马酮	-0.615**	0.666**	0.907
亚麻酸甲酯	0.791**	0.357**	0.868
丁基化羟基甲苯	0.000	0.853**	0.853
$\beta$ -紫罗兰酮	0.526**	0.663**	0.846
棕榈酸乙酯	0.765**	0.188**	0.788
吡啶	-0.750**	0.204**	0.777
香叶基丙酮	-0.764**	-0.142*	0.777
3-甲基-2-丁烯醛	0.000	0.733**	0.733
2-环戊烯-1,4-二酮	0.000	0.729**	0.729
糠醛	0.000	0.707**	0.707
苯乙醛	-0.699**	0.029	0.700
茄酮	0.000	0.697**	0.697
西柏三烯二醇	0.541**	0.436**	0.695
氧化异佛尔酮	-0.530**	0.449**	0.695
棕榈酸甲酯	0.680**	0.065	0.683
胡薄荷酮	-0.627**	0.213**	0.662
3-氧代- $\alpha$ -紫罗兰酮	-0.462**	0.451**	0.646
金合欢基丙酮A	-0.638**	0.000	0.638
吲哚	0.000	0.633**	0.633
巨豆三烯酮C	0.000	0.614**	0.614
邻苯二甲酸二丁酯	-0.552**	-0.231**	0.598
4-吡啶甲醛	0.569**	0.169**	0.594
苯并[b]噻吩	0.589**	0.015	0.589
去氢去甲基烟碱	-0.579**	0.000	0.579
2,3'-联吡啶	-0.574**	0.000	0.574
$\beta$ -二氢大马酮	-0.568**	0.000	0.568
金合欢基丙酮B	0.562**	0.000	0.562
巨豆三烯酮D	0.000	0.561**	0.561
苯乙醇	-0.516**	0.000	0.516
1H-吡咯-2-甲醛	0.511**	0.000	0.511
藏花醛	0.360**	0.350**	0.502
丁内酯	0.500**	-0.043	0.502
巨豆三烯酮B	0.000	0.493**	0.493
2,3-二氢苯并咪喃	-0.480**	0.000	0.480
1-(1H-吡咯-2-基)-乙酮	0.458**	0.000	0.458
茄那土酮	0.451**	0.000	0.451
2,6-壬二烯醛	0.000	0.428**	0.428
苯甲醛	0.000	-0.409**	0.409
$\beta$ -大马酮	0.000	-0.214**	0.214

注:\*\*表示在0.01水平(双侧)上显著相关;\*表示在0.05水平(双侧)上显著相关;0.000表示该化合物在对应 $t_1$ 或 $t_2$ 上的VIP值小于1,因此不做相关性分析

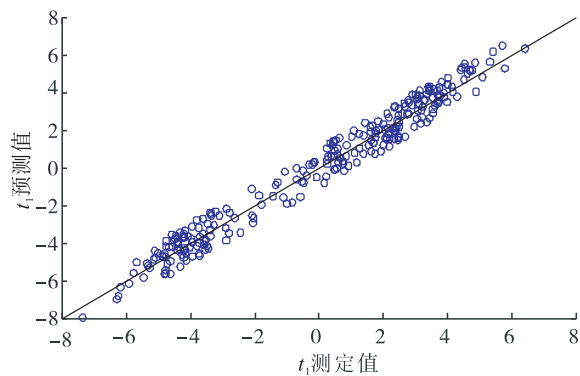


图4  $t_1$  测定值与模型预测值的散点图

Fig. 4 Scatter plot of  $t_1$  measured value and model predicted value

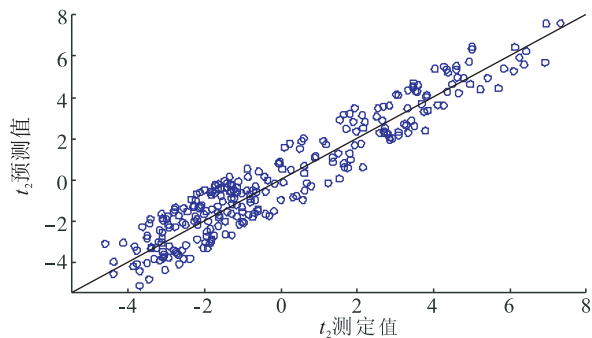


图5  $t_2$  测定值与模型预测值的散点图

Fig. 5 Scatter plot of  $t_2$  measured value and model predicted value

分布在直线  $y=x$  两侧;近红外校正模型拟合效果均较为理想,对  $t_1$  的拟合程度要优于对  $t_2$  的拟合程度。

$t_1$  和  $t_2$  校正模型内部和外部评价结果如表6和表7所示。从表6可知:近红外光谱对  $t_1$  和

表6  $t_1$  和  $t_2$  校正模型内部评价统计量

Table 6  $t_1$  and  $t_2$  correction model internal evaluation statistics

模型名称	决定系数 $R^2$	适宜主成分数 $k$	校正标准误差	交互验证均方根误差
$t_1$ 校正模型	0.970 0	9	0.829	0.976
$t_2$ 校正模型	0.908 0	7	1.130	1.220

表7  $t_1$  和  $t_2$  校正模型外部评价统计量

Table 7  $t_1$  and  $t_2$  correction model external evaluation statistics

模型名称	验证平均误差 $\bar{e}_v$	验证标准误差	验证标准误差的标准偏差	$t$ 分布值	概率 $P$ 值
$t_1$ 校正模型	-0.002 91	0.099 60	0.100 83	-0.183	0.856
$t_2$ 校正模型	-0.021 11	0.126 06	0.125 86	-1.062	0.295

$t_2$  的决定系数分别为0.970 0和0.908 0,表明近红外光谱可对  $t_1$  和  $t_2$  有较好的解释效果;且交互验证均方根误差均小于2,表明所构建模型较为稳健,不存在过拟合现象。从表7可以看出,验证平均误差、验证标准误差均较小,且配对  $t$  检验结果均大于0.05,表明内部评价结果与外部评价结果之间不存在统计学差异。以上分析表明,所建立的模型具有较好的稳定性和预测准确性。

### 3 结论

本文以河南、贵州和云南2014年的K326初烤烟叶为样本,将近红外光谱技术与PLS-DA相结合,建立了PLS-DA模型和定量校正模型,用于评价不同种植环境K326初烤烟叶致香成分的含量特性。结果表明:3个产地初烤烟叶致香成分在PLS-DA模型中差异性明显,第1,第2主成分对模型具有较好的解释能力,对模型分类变量的解释能力为81.4%,第1,第2主成分得分可作为样品致香成分的特性参数; $\beta$ -大马酮、亚麻酸甲酯、丁基化羟基甲苯、 $\beta$ -紫罗兰酮等化合物是对3个产地样品的重要区分性化合物;基于第1、第2主成分得分的近红外校正模型,其决定系数分别为0.970 0和0.908 0,具有较好的稳定性和预测准确性。

在后续的研究中,可进一步拓宽K326致香成分含量特性差异性的样品,从校正模型的波长变量筛选和建模方法优化方面,进一步提

高 PLS-DA 模型和  $t_1, t_2$  校正模型的稳定性和预测准确性.

### 参考文献:

- [1] 邵丽, 晋艳. 生态条件对不同烤烟品种烟叶产质量的影响[J]. 烟草科技, 2002(10): 40.
- [2] 常寿荣, 罗华元, 王玉, 等. 云南烤烟种植海拔与致香成分的相关性分析[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(3): 37.
- [3] ZHANG L, WANG X Y, GUO J Z, et al. Metabolic profiling of Chinese tobacco leaf of different geographical origins by GC-MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 2597.
- [4] YANG C, WU W, WU S C, et al. Aroma types of flue-cured tobacco in China: Spatial distribution and association with climatic factors [J]. Theoretical and Applied Climatology, 2014, 115 (3/4): 541.
- [5] ZHU X L, GAO Y, CHEN Z Y, et al. Development of a chromatographic fingerprint of tobacco flavor by use of GC and GC-MS [J]. Chromatographic, 2009, 69(7/8): 745.
- [6] 王玉, 王保兴, 武怡, 等. 卷烟挥发性成分的聚类分析[J]. 烟草科技, 2007(2): 48.
- [7] 陈贵平, 童佩瑾, 耿金培, 等. 近红外光谱结合膜富集技术测定饮料中微量邻苯二甲酸二异辛酯的含量[J]. 分析测试学报, 2012, 31(5): 605.
- [8] 刘波平, 荣茵, 邓泽元, 等. 基于 PLS - 自组织竞争神经网络近红外光谱技术对鲜乳和掺假乳的检测方法研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(11): 1147.
- [9] 褚小立, 许育鹏, 陆婉珍. 支持向量回归建立成品汽油通用近红外校正模型的研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(6): 619.
- [10] CHU X, YUAN H F, LU W I. Research and applications of near infrared spectroscopy in China in recent years [J]. Analytical Instrumentation, 2006, 22(2): 1.
- [11] 王惠文. 偏最小二乘回归方法及其应用 [M]. 北京: 国防工业出版社, 1999.
- [12] 杨乾栩, 冯斌, 吴长伟, 等. 基于大孔树脂静态吸附的烟草增香组分制备及应用 [J]. 烟草科技, 2014(10): 39.
- [13] OUSSAMA A, ELABADI F, PLATIKANOV S, et al. Detection of olive oil adulteration using FT-IR spectroscopy and PLS with variable importance of projection (VIP) scores [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2012, 89(10): 1807.
- [14] XI Y X, SONG J Z, LI F, et al. Different types flue-cured tobacco aroma precursors and variance analysis of aroma components content [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2011 (2): 355.



引用格式:邢雅兰,陈泓州,吴昊,等. 新型全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的制备及其电化学性能研究[J]. 轻工学报,2018,33(5):69 - 76.

中图分类号:TM912.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.009

文章编号:2096-1553(2018)05-0069-08

# 新型全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的制备及其电化学性能研究

Study on preparation and electrochemical performance of new all-solid-state polymer electrolyte PEG475-DMAA copolymer

邢雅兰,陈泓州,吴昊,熊刚毅,张世超

XING Yalan, CHEN Hongzhou, WU Hao, XIONG Gangyi, ZHANG Shichao

北京航空航天大学 材料科学与工程学院,北京 100191

School of Materials Science and Engineer, Beihang University, Beijing 100191, China

## 关键词:

锂离子电池;全固态  
聚合物电解质;  
PEG475 - DMAA 膜;  
光聚合反应

## Key words:

lithium ion battery;  
all-solid-state polymer  
electrolyte;  
PEG475-DMAA film;  
photo-polymerization

**摘要:**采用无需有机溶剂的光聚合合成工艺,以聚乙二醇甲基丙烯酸酯(PEG475)为基体、N,N-二甲基丙烯酰胺(DMAA)为交联剂,引入增塑剂丁二腈(SN),制备新型全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA,并对其电化学性能进行测试.结果表明:当 SN 的添加量为 10% (质量分数)时,该电解质体系的离子电导率最大,约为  $4 \times 10^{-5}$  S/cm,相对于聚氧乙烯体系提高了 3 个数量级;该电解质的稳定窗口在 5.0 V 以上,可满足目前使用的电解质体系对电压稳定性的要求;该电解质在 270 °C 附近有良好的热稳定性;由该电解质膜组装的锂离子电池的初始容量较低与商品化锂离子电池还有比较大的差距,未来需进一步提高该电解质膜的离子电导率,改善其电化学循环性能.

收稿日期:2018-07-01

基金项目:国家自然科学基金项目(51774017);北京市自然科学基金项目(2174075)

作者简介:邢雅兰(1986—),女,河北省邯郸市人,北京航空航天大学讲师,博士,主要研究方向为先进能源材料与电化学.

通信作者:张世超(1963—),男,河南省灵宝市人,北京航空航天大学教授,博士生导师,主要研究方向为先进能源材料与电化学.

**Abstract:** A photo-polymerization synthesis process without organic solvent was used. Polyethylene glycol methacrylate (PEG475) was used as the matrix, N, N dimethyl acrylamide (DMAA) was used as the crosslinking agent, and the plasticizer succinonitrile (SN) was introduced, a new all-solid polymer electrolyte (PEG475-DMAA) was prepared and its electrochemical performance was tested. The results showed that when the addition amount of SN was 10% (mass fraction), the ionic conductivity of the electrolyte system was the largest, about  $4 \times 10^{-5}$  S/cm, which was increased by three orders of magnitude relative to the polyoxyethylene system. The electrochemical stability window was above 5.0 V, which satisfied the voltage stability requirements of the currently-used electrolyte system. The electrolyte had good thermal stability in the range of 270 °C. The lithium ion battery assembled by the electrolyte membrane had a low initial capacity. There was still a big gap with commercial lithium-ion batteries. In the future, it is necessary to further improve the ionic conductivity of the electrolyte membrane and improve the electrochemical cycle performance.

## 0 引言

电解质是锂离子电池的重要组成部分,具有在正负极之间传输  $\text{Li}^+$  的作用. 目前使用和研究的锂离子电池电解质包括液态有机电解质、凝胶型聚合物电解质和全固态聚合物电解质<sup>[1]</sup>. 商品化的锂离子电池多数使用液态有机电解质和凝胶型聚合物电解质. 液态有机电解质是由有机溶剂和电解质锂盐组成的非水液体电解质,由于其中含有易挥发的易燃性液态有机物,因而存在易着火、爆炸等安全隐患<sup>[2]</sup>. 凝胶型聚合物电解质的主要成分与液态有机电解质基本相同,只是将液态有机电解质吸附在凝胶状的聚合物基质上,这虽然避免了漏液的问题,但依然存在与液态有机电解质相同的安全隐患. 全固态聚合物电解质(SPE)通常以聚合物作为基体掺入易解离的锂盐制得,不含有液态有机电解质,具有不漏液、安全和柔性设计等优点,用固态电解质代替液体电解质是获得高能量密度、安全和长循环寿命的全固态锂电池的根本途径<sup>[3-4]</sup>.

传统的全固态聚合物电解质主要为聚氧乙烯(PEO)基电解质,它的导电过程是  $\text{Li}^+$  不断与 PEO 链上的醚氧基发生络合-解络合反应,通过 PEO 的链段运动实现  $\text{Li}^+$  的迁移<sup>[5]</sup>. 但是, PEO 本身容易结晶,  $\text{Li}^+$  在晶相中的传播速

度比在无定形相中低大约二三个数量级,同时锂盐在 PEO 无定相中的溶解度较低,载流子数目少,  $\text{Li}^+$  迁移数小,这两个原因导致传统的全固态聚合物电解质的室温电导率较低,基本在  $10^{-8}$  S/cm 数量级<sup>[6-7]</sup>.

目前,大量研究都围绕如何克服 PEO 的结晶进而提高聚合物电解质离子电导率来进行,常用的方法有三种:第一种是交联反应,通过拓扑结构的高熵固定结构来抑制 PEO 结晶,从而提高电解质的热稳定性和机械强度<sup>[8]</sup>, 聚合物基体交联后,受限的聚合物链段从结构上阻止了 PEO 结晶过程;第二种是共聚反应<sup>[9]</sup>, 研究者先后采用嵌段共聚<sup>[10-11]</sup> 和接枝共聚<sup>[12-13]</sup> 来制备新型聚合物电解质基体,以降低其结晶性和增加离子的络合形式;第三种是从分子结构设计出发,将电解质的聚合物基体制成梳状结构. PEO 结构规整,两端并没有活性基团,使得在实验室对 PEO 进行交联、共聚、梳状分子结构设计都十分困难. 有文献报道侧链为 PEG 的聚合物电解质表现出橡胶态,足够的自由体积使得  $\text{Li}^+$  更容易迁移<sup>[14-15]</sup>. 聚乙二醇甲基丙烯酸酯(PEG475)由于其结构存在类似于 PEO 的  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  链段,可以用作锂离子电池聚合物电解质的基体,并且具有类似结构的聚合物电解质体系已有文献报道<sup>[16-17]</sup>. N,N-二甲基丙烯酰胺(DMAA)可与丙烯酸类单体、苯乙

烯、醋酸乙烯等共聚,容易生成高聚合度的聚合物,聚合引发条件要求不高,聚合工艺相对简单,因此,可以选择 DMAA 作为交联共聚单体来合成共聚电解质体系.同时,丁二腈(SN)具有较高的熔点、极性和溶解盐的能力,常用来作为聚合物电解质的添加剂——固体增塑剂,并且它具有比液体增塑剂更高的安全性能.

鉴于此,本研究拟选择带有活性基团的 PEG475 作为基体、DMAA 作为交联剂,通过共聚反应制备梳状基体全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA,用丁二腈(SN)对其进行改性,考察其离子电导率、电化学稳定窗口、热稳定性等性能,以期获得性能优于 PEO 的电解质体系.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

主要试剂:聚乙二醇甲基丙烯酸酯(PEG475),无水高氯酸锂( $\text{LiClO}_4$ ),分析纯,阿拉丁试剂(上海)有限公司产;N,N-二甲基丙烯酰胺(DMAA)(分析纯),国药集团化学试剂有限公司产;丁二腈(SN)(分析纯),阿法埃莎(中国)化学有限公司产;钴酸锂,北大先行科技产业有限公司产;1173 光引发剂,北京英力科技发展有限公司产.

主要仪器:MUA-165 型紫外灯,台湾嘉铭工业器材有限公司产;CHI-660D 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产;BT2000 型电池充放电测试设备,阿滨仪器(天津)有限公司产;GT-TS-2000 型电子拉伸机,台湾高铁(Gotech)公司产;STA 200PC 型热重分析仪,德国耐驰机械仪器有限公司产;FTIR Spectrum GX 型 FTIR 光谱仪,德国 Bruker 公司产;CT 2001 型蓝电电池充放电测试仪,武汉蓝电电子股份有限公司产.

### 1.2 聚合物电解质膜的制备

电解质前驱体的制备:先称取 PEG475 液

体 0.6 g 于玻璃瓶中,接着加入  $\text{LiClO}_4$  0.106 g,在  $\text{N}_2$  保护下进行磁力搅拌直至体系形成均一的溶液.然后向该体系加入交联剂聚 DMAA 0.02 g,不同比例的增塑剂 SN(0 ~ 0.024 g 之间),继续磁力搅拌至形成均一的透明溶液后,滴入光引发剂 1173(0.02 g),搅拌均匀后得到透明均相的可聚合前驱体.根据 SN 与 PEG475 的比例,制备 SN 添加量分别为 0%,10%,20%,30%,40%(如无特指,均为质量分数)的 5 个样品.

电解质膜的制备:用移液枪取出 100  $\mu\text{L}$  前驱体溶液滴入自制的圆形光聚合模具中(模具上层盖子由可穿透紫外线的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)层与光滑的低密度聚乙烯(LDPE)层组成,对电解质膜起到保护作用),将模具放在紫外灯下固化 5 ~ 10 min,使得透明前驱体溶液在紫外光的照射下发生光聚合反应,固化成自支撑的大分子电解质膜.然后将这个胶状共聚物电解质连同模具放在 80  $^\circ\text{C}$  真空干燥箱中加热 12 h,使之完全反应,最终得到直径为 16 mm 和厚度为 200  $\mu\text{m}$  的聚合物固体电解质膜,保存在  $\text{Ar}$  气氛中.

### 1.3 性能表征

采用 FTIR 光谱仪测试分析聚合物电解质材料的结构,扫描波数为 400 ~ 4000  $\text{cm}^{-1}$ .通过热重分析测试电解质材料的热稳定性,测试温度范围为室温到 400  $^\circ\text{C}$ ,升温速率为 10  $^\circ\text{C}/\text{min}$ ,保护气体为氩气.

使用电化学工作站测试聚合物电解质材料的室温离子电导率:将电解质组装成 SS(不锈钢)|SPE(固态聚合物电解质)膜|SS结构的扣式电池,设置电压幅值为 5 mV,频率范围为 1 MHz ~ 1 Hz.根据交流阻抗谱图找到电解质膜本体电阻,继而根据离子电导率公式计算体系的室温离子电导率

$$\delta = D / (SR)$$

其中,  $D$  为膜的厚度,  $S$  为膜的面积,  $R$  为用交流阻抗法测得的膜的阻抗。

利用线性扫描法 LPS (linear potential scan) 测定聚合物电解质的电化学窗口, 比较其耐氧化能力. 组装的扣式半电池结构为 Li/SPE/SS, 扫描速率为 1 mV/s, 扫描范围 2.5 ~ 6 V, 测试温度 25 °C, 向阳极方向进行线扫, 直到响应电流迅速增大为止, 选取此电位为电化学稳定窗口极限。

用蓝电电池充放电测试仪进行电池性能的测试. 将电解质膜装配成扣式电池, 扣式电池正极材料为钴酸锂, 负极材料为金属锂片. 扣式电池装配在充满 Ar 的手套箱中进行, 装配次序从下到上依次是 LIR2032 负极壳、金属锂、固体电解质、正极极片、不锈钢垫片、不锈钢弹片、正极壳。

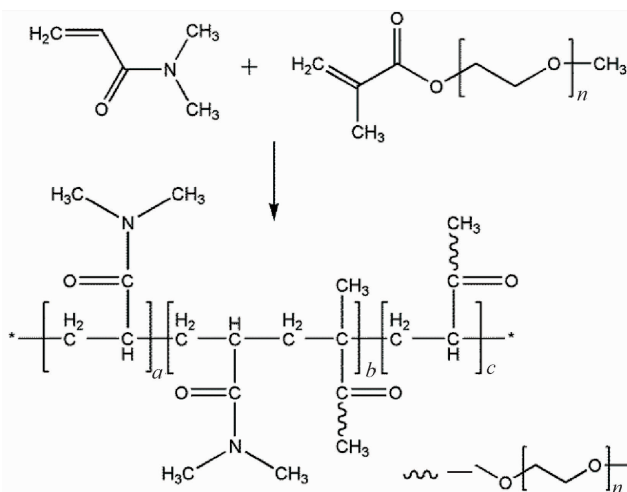
## 2 结果与分析

### 2.1 样品的物性表征

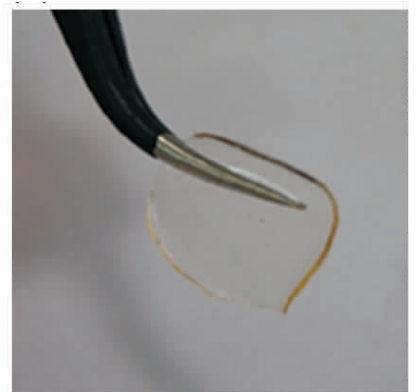
图 1 为全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的制备反应历程示意图及其电解质膜的照片. 由图 1a) 可以看出, PEG475 与 DMAA 在

光引发剂的参与下, 通过光聚合反应发生聚合交联, 在磨具中原位合成得到全固态电解质. 由图 1b) 可以看出, 所得电解质膜为透明柔性的膜。

图 2 为全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的 FTIR 谱图. 由图 2a) 可以看出, 1107  $\text{cm}^{-1}$  为 PEG475 的侧链—C—O—C—键的拉伸振动峰, 此键在 1252  $\text{cm}^{-1}$  处也有微小的伸缩振动吸收峰, 1735  $\text{cm}^{-1}$  处为酯基—COOR 的拉伸振动峰, 2890  $\text{cm}^{-1}$  为烷基类—C—H 键的振动吸收波段. 1630  $\text{cm}^{-1}$  为 C=C 键振动红外波吸收段, 此处没有明显的红外吸收, 表明 C=C 双键已基本参与共聚反应. 3450  $\text{cm}^{-1}$  为—O—H 键的振动峰, 这表明全固态聚合物电解质的分子结构与设计一致. 由图 2 b) 可以看出, 1125  $\text{cm}^{-1}$  为—C—O—C—键的拉伸振动峰, 也就是  $\text{Li}^+$  与链段的主要络合点, 随着 SN 的加入,  $\text{Li}^+$  与 O 络合增加, 从而导致—C—O—C—键能减弱, 使得拉伸振动峰向低波数移动, 表现为红移. 由图 2c) 可以看出, 1735  $\text{cm}^{-1}$  为—O—C=O—键的拉伸振动峰, 随着 SN 的加入, 此键的振动并没有发生明显变化, 表明  $\text{Li}^+$  未与羧基中的 O 络合。



a) PEG475-DMAA 的制备反应历程示意图



b) PEG475-DMAA 聚合物电解质膜的照片

图 1 全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的制备反应历程示意图及其电解质膜的照片

Fig. 1 Schematic illustration of the reaction process to prepare all-solid-state PEG475-DMAA electrolyte and image of it's electrolyte membrane

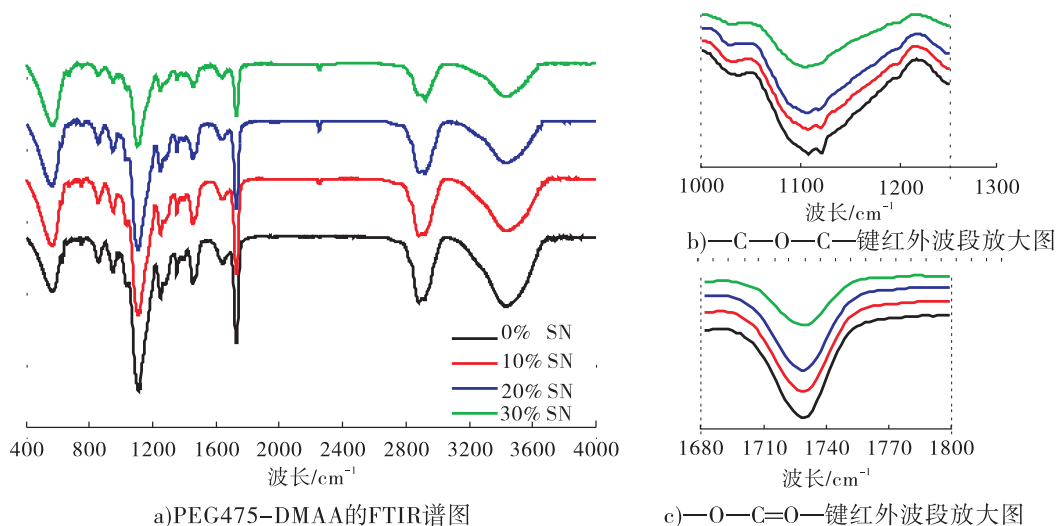


图2 全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 的 FTIR 谱图

Fig. 2 The FTIR spectra of solid-state polymer electrolyte PEG475-DMAA

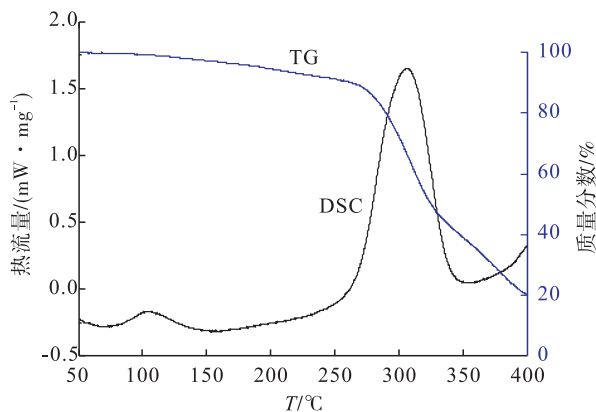


图3 PEG475 - DMAA + 10% SN 电解质体系的 TG-DSC 曲线

Fig. 3 TG-DSC curves of polymer electrolyte PEG475-DMAA + 10% SN

通过热重分析表征电解质材料的热稳定性,图3为 PEG475 - DMAA + 10% SN 体系的 TG-DSC 曲线.由图3可以看出,在 270 °C 左右,电解质膜的重量发生急剧减少,同时伴随明显的吸热峰,表明此时聚合物发生了分解,验证了该电解质膜在 270 °C 范围内有良好的热稳定性,以上表明该电解质膜应用于锂离子电池可以有效提高电池的安全性.

## 2.2 样品的电化学性能测试结果

图4为全固态聚合物电解质 PEG475 -

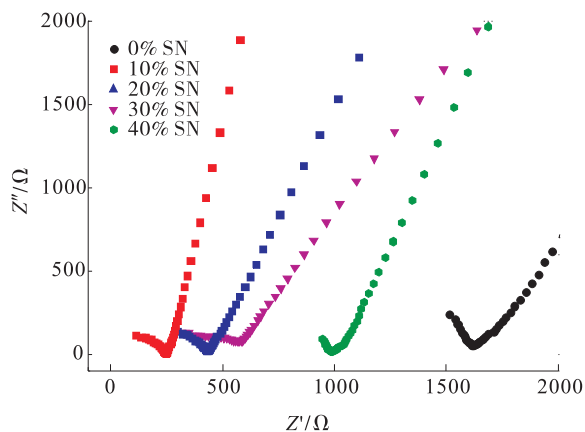


图4 全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 体系的室温交流阻抗谱图

Fig. 4 The impedance spectra of polymer electrolytes PEG475-DMAA at room temperature

DMAA 体系的室温交流阻抗谱图.由图4可以看出,制备的全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 体系的室温阻抗为 1600 Ω,纯的 PEO 体系为 150 000 Ω,此体系的提升效果明显,随着 SN 的引入,此体系的电阻在逐渐变小,并且随着 SN 添加量的增加,体系电阻逐渐变小,而阻抗又会增大.这是由于 SN 的加入使得聚合物体系的结晶度降低,有利于链段的运动和离子电导率的提高.对于此体系,由于 PEG475 为溶



剂, SN 在其中的溶解量有限, 随着 SN 添加量的增加, 此体系逐渐出现难以溶解的 SN, 不利于离子的传输. 根据离子电导率计算公式, 当 SN 的添加量为 10% 时, 此体系获得的最大离子电导率约为  $4 \times 10^{-5} \text{ S/cm}$ , 相对于 PEO 体系提高了 3 个数量级.

对全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜的交流阻抗和离子电导率随温度的变化关系进行考察, 结果如图 5 所示. 由图 5 可知, 该体系在离子电导率比较低的情况下, 得到的交流阻抗谱图在高频区出现一段比较完整的半圆; 随着温度的升高, 对应的电解质体系的离子电导率逐渐升高, 典型的交流阻抗谱图其高频区仅出现一部分圆弧或者不出现圆弧. 从图 5a) 可以看出, 电解质膜的本体电阻随着温度的升高而迅速变小, 当温度达到 323 K 时, 体系的阻抗为  $20 \Omega$ , 离子电导率为  $5 \times 10^{-4} \text{ S/cm}$ . 从图 5b) 可以进一步看出, 温度对体系的影响变化趋势一致, 温度显著增加了链段运动的速度和  $\text{Li}^+$  的迁移速度, 这对离子电导率的提高有巨大的贡献. 同时可以看出, 聚合物电解质在中高温条件下的离子电导率接近有机液体电解质, 考虑到普通的液体电解质在中高温环境下容易产生

热效应, 尤其是有机物的挥发、汽化等存在一定的安全隐患, 所以对于在中高温环境使用的锂离子电池来说, 全固态聚合物电解质更具有优势.

通过电化学扫描测定固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜的电化学稳定窗口, 了解电解质的稳定性. 图 6 为固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜组成的半电池的电流 - 电压响应曲线. 由图 6 可以看出, 对于未添加 SN 的电解质体系, 当电极电位升高到 5.4 V 时才出现明显的氧化电流, 表明该电解质体系的电化学稳定窗口在 5.4 V 左右. 目前实际应用的电解质膜的电化学稳定窗口在 4.5 V 左右, 这表明该固态聚合物电解质体系具有更好的电化学稳定性. 另外, 引入一定数量的 SN 后, 电解质体系的电化学稳定窗口有所降低, 为 5.2 V 左右, 联系离子电导率的结果可知, SN 的引入提高了聚合物电解质膜的离子电导率, 但降低了其结晶性, 从而降低了其电化学稳定性.

为了进一步验证固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜在锂离子电池中的工作性能, 将制备的 PEG475 - DMAA 膜与商业化的正极材料钴酸锂、负极金属锂片组成扣式电池, 进行充放电循环测试. 图7为室温下全固态聚合

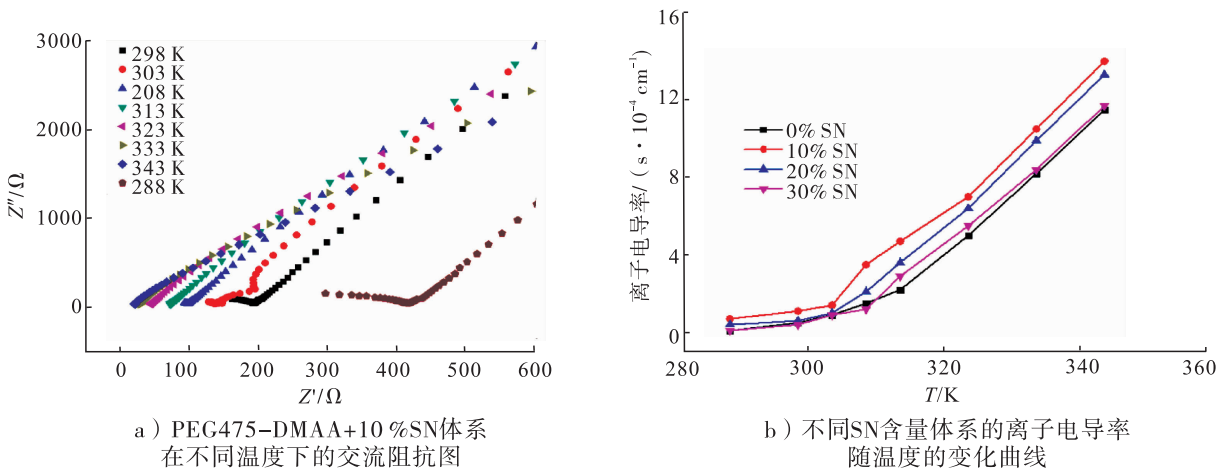


图 5 全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜的交流阻抗图和离子电导率随温度的变化曲线

Fig. 5 The impedance spectra of all-solid-state PEG475-DMAA film and plots of temperature dependences of the ionic conductivities

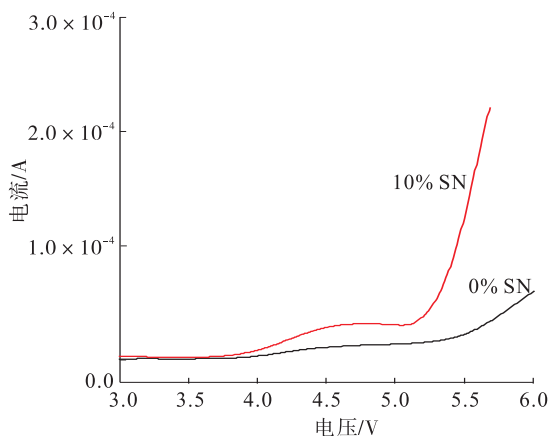


图6 全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA 膜组成的 Li|SPE|SS 半电池的线性扫描曲线  
Fig. 6 The linear scan voltammetry curve of Li|SPE|SS half cell composed of all-solid-state polymer electrolyte PEG475-DMAA film

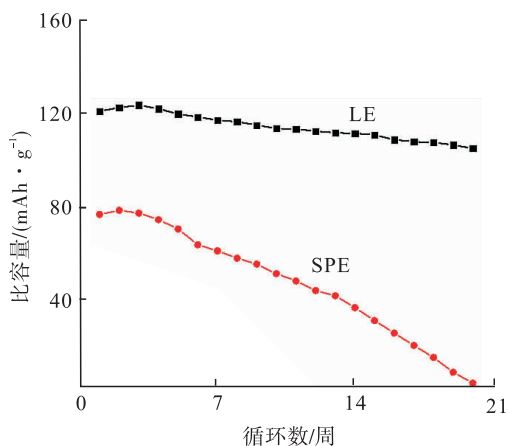


图7 室温下全固态聚合物电解质锂离子电池与液态锂离子电池循环稳定性对比曲线  
Fig. 7 Comparison curve of cycle stability of all-solid-state polymer electrolyte lithium ion battery and liquid lithium ion battery at room temperature

物电解质锂离子电池与液态锂离子电池循环稳定性的对比曲线,其中,LE 为液态锂离子电池, SPE 为制备的 PEG475 - DMAA + 10% SN 体系组装的全固态聚合物电解质锂离子电池. 液态锂离子电池测得的电极材料比容量在 120 mAh/g 左右,接近钴酸锂的理论比容量,循

环 20 周后衰减到  $10^3$  mA/g. 全固态聚合物电解质锂离子电池的初始比容量仅 80 mAh/g 左右,明显小于钴酸锂的理论比容量,同时循环 20 周后,比容量衰减到 0. 这主要是由于固态电解质锂离子电导率较低,固态电解质/电极界面接触电阻大于液态电解质/电极界面,充放电过程中  $\text{Li}^+$  容易在界面堆积,破坏活性材料的结构,降低其循环稳定性.

### 3 结论

本文以 PEG475 为基体、DMAA 作为交联剂,通过光聚合合成工艺制备了梳状基体全固态聚合物电解质 PEG475 - DMAA(制备过程和产物均不含液体有机电解质),并用丁二腈(SN)对其进行改性,得到了透明、有柔性的电解质膜,通过考察其离子电导率、电化学稳定窗口、热稳定性等性能得出:SN(添加量为 10%)的引入,使该电解质体系的室温离子电导率得到较大提高,达到  $4 \times 10^{-5}$  /cm,相对于 PEO 体系提高了 3 个数量级;该电解质的电化学稳定窗口达到 5.0 V 以上,可满足目前使用的电解质体系对电压稳定性的要求;此体系热分解温度为 270 °C,具有良好的热稳定性,可以有效提高锂离子电池的安全性. 但是该电解质膜与钴酸锂电池组成半电池后,与有机电解液电池相比,该锂离子电池的容量较低,未来还可以进一步提高其离子电导率,改善其电化学循环性能.

### 参考文献:

- [1] TARASCON J M, ARMAND M. Issues and challenges facing rechargeable lithium batteries[J]. Nature, 2001, 414(6861): 359.
- [2] 范欢欢,周栋,范丽珍,等. 现场聚合制备锂离子电池用凝胶聚合物电解质研究进展[J]. 硅酸盐学报, 2013, 41(2), 134.
- [3] ARMAND M, TARASCON J M. Building better batteries[J]. Nature, 2008, 451(7179): 652.

- [4] GOODENOUGH J B, KIM Y. Challenges for rechargeable Li batteries [J]. *Chemistry of Materials*, 2009, 22(3): 587.
- [5] WRIGH P V. Polymer electrolytes—the early days [J]. *Electrochim Acta*, 1998, 43(10/11): 1137.
- [6] CHU P P, JEN H P, LO F R, et al. Exceedingly high lithium conductivity in novolac type phenolic resin/PEO blends [J]. *Macromolecules*, 1999, 32(14): 4738.
- [7] SENGWA R J, DHATARWAL P, CHOUDHARY S. Role of preparation methods on the structural and dielectric properties of plasticized polymer blend electrolytes: correlation between ionic conductivity and dielectric parameters [J]. *Electrochim Acta*, 2014, 142: 359.
- [8] DJURADO D, CURTET J P, BÉ E M, et al. Systematic study of the structure of alternate pyromellitimide-PEO copolymers: influence of the chain flexibility [J]. *Electrochimica Acta*, 2007, 53(4): 1497.
- [9] GUILHERME L A, BORGES R S, MORAES E M S, et al. Ionic conductivity in polyethylene-b-poly (ethylene oxide)/lithium perchlorate solid polymer electrolytes [J]. *Electrochimica Acta*, 2007, 53(4): 1503.
- [10] SAIKIA D, WU H Y, PAN Y C, et al. Highly conductive and electrochemically stable plasticized blend polymer electrolytes based on PVdF-HFP and triblock copolymer PPG-PEG-PPG diamine for Li-ion batteries [J]. *Journal of Power Sources*, 2011, 196(5): 2826.
- [11] SADOWAY D R. Block and graft copolymer electrolytes for high-performance, solid-state, lithium batteries [J]. *Journal of Power Sources*, 2004, 129(1): 1.
- [12] HU Q, OSSWALD S, DANIEL R, et al. Graft copolymer-based lithium-ion battery for high-temperature operation [J]. *Journal of Power Sources*, 2011, 196(13): 5604.
- [13] HOU W H, CHEN C Y, WANG C C, et al. The effect of different lithium salts on conductivity of comb-like polymer electrolyte with chelating functional group [J]. *Electrochimica Acta*, 2003, 48(6): 679.
- [14] JIANG H, FANG S. All solid-state comb-like network polymer electrolytes based on poly (methylsiloxane) [J]. *Journal of Power Sources*, 2006, 159(1): 673.
- [15] LIANG Y H, WANG C C, CHEN C Y. Comb-like copolymer-based gel polymer electrolytes for lithium ion conductors [J]. *Journal of Power Sources*, 2008, 176(1): 340.
- [16] AYDIN H, ENEL M, ERDEMI H, et al. Inorganic-organic polymer electrolytes based on poly (vinyl alcohol) and borane/poly (ethylene glycol) monomethyl ether for Li-ion batteries [J]. *Journal of Power Sources*, 2011, 196(3): 1425.
- [17] CHOI N S, RYU S W, PARK J K. Effect of tris (methoxy diethylene glycol) borate on ionic conductivity and electrochemical stability of ethylene carbonate-based electrolyte [J]. *Electrochimica Acta*, 2008, 53(22): 6575.



引用格式:方华,张振华,常鑫波,等.分级多孔石墨烯/活性炭复合材料的制备及其电化学电容性能分析[J].轻工学报,2018,33(5):77-82.

中图分类号:TM911 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.010

文章编号:2096-1553(2018)05-0077-06

# 分级多孔石墨烯/活性炭复合材料的制备及其电化学电容性能分析

## Preparation and electrochemical capacitance properties analysis of hierarchically porous graphene/activated carbon composites

方华,张振华,常鑫波,张含之,张辉

FANG Hua, ZHANG Zhenhua, CHANG Xinbo, ZHANG Hanzhi, ZHANG Hui

关键词:

氧化石墨烯;酚醛树脂;石墨烯/活性炭复合材料;分级多孔;电化学电容性能

郑州轻工业学院 材料与化学工程学院,河南 郑州 450001

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

Key words:

graphene coxide;  
phenolic resin;  
graphene/activated  
carbon composite;  
hierarchically porous;  
electrochemical  
capacitance property

**摘要:**采用液相共混法,以酚醛树脂和氧化石墨为原料,得到氧化石墨烯/酚醛树脂复合材料,再通过高温碳化和活化工艺,制备出石墨烯/活性炭复合材料.采用循环伏安和恒流充放电测试表征其电化学电容性能,结果表明:该复合材料在  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$  的电流密度下比电容高达  $197 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ,当电流密度增加到  $10 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$  时,比电容为  $163 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ,电流增加 20 倍,电容保持率为 83%,在  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$  的电流密度下循环 1000 次,未见容量有衰减,电容保持率为 100%. 这表明该复合材料具有优良的电容性能.

收稿日期:2018-07-02

基金项目:国家自然科学基金项目-河南人才培养联合基金项目(U1504204)

作者简介:方华(1979—),男,河南省周口市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为先进碳材料与电化学储能技术.

**Abstract:** The graphene/phenolic resin composites were prepared by liquid phase blending method using phenolic resin and graphene oxide as raw materials, and then graphene/activated carbon composites were prepared by high temperature carbonization and activation process. Cyclic voltammetry and constant current charge-discharge tests were used to characterize the electrochemical capacitance. The results showed that the composite had a specific capacitance of  $197 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$  at a current density of  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ , and the current density increased to  $10 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ , the specific capacitance was  $163 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ , the current was increased by 20 times, the capacitance retention rate was 83%, and the cycle was repeated 1000 times at a current density of  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ , and no capacity was attenuated, the capacity retention rate was 100%, which indicated that the composite material had excellent capacitance properties.

## 0 引言

石墨烯因为具有较大的比表面积和极好的导电性而成为极具潜力的优良超级电容器电极材料。然而,石墨烯片的大比表面积和高表面能,使其易于通过堆垛效应团聚,从而导致比表面积降低,因此,大多数已报道的石墨烯材料的电容性能与预期相差甚远<sup>[1]</sup>。以石墨烯为载体,研制具有纳米片形貌的石墨烯/活性炭复合材料,其中石墨烯可以提供电子传输通道,包覆在石墨烯表面的多孔炭层可以提供高的比电容,这引起了研究者的关注<sup>[2-3]</sup>。如 G. D. Hao 等<sup>[4]</sup>利用原位聚合法和后续的碳化、活化工艺制备出三明治结构的微孔炭/石墨烯复合炭纳米片,在有机电解液中组装的两电极超级电容器,比电容达到  $103 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ; L Wang 等<sup>[5]</sup>以氧化石墨烯和酚醛树脂为原料,采用软模板法构筑出了介孔炭/石墨烯复合材料,在水系电解液中比电容为  $242 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ 。然而已报道的石墨烯/活性炭复合材料的制备方法大多工艺复杂,成本高,不利于该类材料的产业化应用。

本文拟采用易于实现的液相共混法,以酚醛树脂和氧化石墨为原料,制备氧化石墨烯/酚醛树脂复合材料,再通过高温碳化和活化工艺,制备石墨烯/活性炭复合材料,并对其电化学电容性能进行测试,以期低成本、高性能的超级电容器用炭电极材料的制备及该类材料的产业化应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

主要试剂:天然石墨粉,青岛南墅瑞英石墨有限公司产;  $\text{KMnO}_4$ , 天津市北辰化学试剂科技有限公司产;  $\text{KOH}$ , 天津市科密欧化学试剂有限公司产;  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 天津市风船化学试剂科技有限公司产; 浓硫酸、苯酚、甲醛, 烟台市双双有限公司试剂厂产。以上试剂均为分析纯。

主要仪器: JSM-7001F 型热场发射扫描电子显微镜 (FESEM), 日本电子株式会社产; D8 ADVANCE 型 X-射线粉末衍射仪, 德国布鲁克公司产; BELSORP-Mini II 型比表面积/孔隙分析仪, 日本 MicrotracBEL 公司产; CHI604E 型电化学分析仪, 上海辰华仪器有限公司产; CT4008 型高性能电池检测系统, 深圳市新威尔电池有限公司产。

### 1.2 氧化石墨和酚醛树脂的制备

采用改进的 Hummers 法制备氧化石墨<sup>[6]</sup>, 工艺步骤如下: 首先, 称取 2 g 天然石墨, 2 g  $\text{NaNO}_3$ , 同 100 mL 浓硫酸一起置于 1000 mL 烧瓶中混合, 强烈搅拌 15 min, 然后称取 12 g  $\text{KMnO}_4$  缓慢加入该溶液, 反应 30 min, 上述反应过程均利用冰浴将反应温度维持在  $0^\circ\text{C}$ , 冰浴结束后将所得悬浮液在室温条件下继续搅拌 48 h; 然后, 量取 184 mL 纯净水, 在 15 min 内缓慢加入悬浮液中, 再量取 560 mL 暖水和 40 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  进一步处理悬浮液; 最后, 利用离心分离

法分离出氧化石墨,用 300 mL 稀 HCl 溶液洗涤,再用去离子水洗涤至滤液接近中性后,过滤,将所得滤饼在鼓风干燥箱中于 60 °C 条件下干燥 8 h,即得到氧化石墨粉末。

称取 1 g 苯酚加入三口烧瓶中,升温至 50 °C,再称取 3.45 g 甲醛加入烧瓶中,接着加入 1 g KOH 作为催化剂,磁力搅拌反应 30 min 后,升温至 85 °C 并在此温度下继续磁力搅拌反应 4 h,用酸中和后过滤分离出酚醛树脂,所得树脂用水充分洗涤后干燥备用。

### 1.3 石墨烯/活性炭复合材料的制备

称取 1.5 g 氧化石墨粉末,将其超声分散在 300 mL 乙醇里,形成均匀的氧化石墨烯乙醇溶液,再称取 20 g 酚醛树脂溶解于上述溶液中,磁力搅拌 2 h,使酚醛树脂均匀溶解,并将其超声分散,得到氧化石墨烯均匀分散的酚醛树脂乙醇溶液.将该溶液小心转移至培养皿中室温蒸发过夜,再干燥至恒重,得到氧化石墨烯/酚醛树脂复合材料.将该复合材料置于管式炉中,在 N<sub>2</sub> 保护下,于 850 °C 条件下煅烧 3 h,升温速度控制为 1 °C · min<sup>-1</sup>。

将制得的碳化样品与 KOH 以质量比为 1 : 4 进行活化,即称取 0.5 g 碳化样品和 2 g KOH,在玛瑙研钵中研磨至混合均匀,然后置于管式炉中,在 N<sub>2</sub> 气保护下进行活化,升温速率控制为 2 °C · min<sup>-1</sup>,活化温度 800 °C,活化时间 2 h. 活化的样品用去离子水反复浸洗至滤液呈中性后,过滤,于 120 °C 条件下真空干燥 8 h,即得到所需的石墨烯/活性炭复合材料。

### 1.4 样品物性表征方法

利用 FESEM 对样品的表面形貌进行表征,工作电压和压力分别为 10 kV 和  $1.33 \times 10^{-2}$  Pa. 用 X - 射线粉末衍射仪分析样品的物相,以 Cu K $\alpha$  靶作为辐射源,管电压 40 kV,电流 100 mA,扫描速度为 4° · min<sup>-1</sup>,扫描范围  $2\theta = 3^\circ \sim 90^\circ$ . 用低温 N<sub>2</sub> 吸脱附实验(77

K) 表征样品的比表面积和孔结构,利用传统的 Brunauer-Emmett-Teller 法 (BET) 计算样品的比表面积,用 N<sub>2</sub> 在相对压力为 0.95 时的吸附量计算总孔容,用密度泛函理论方法计算孔径分布。

### 1.5 电化学电容性能表征方法

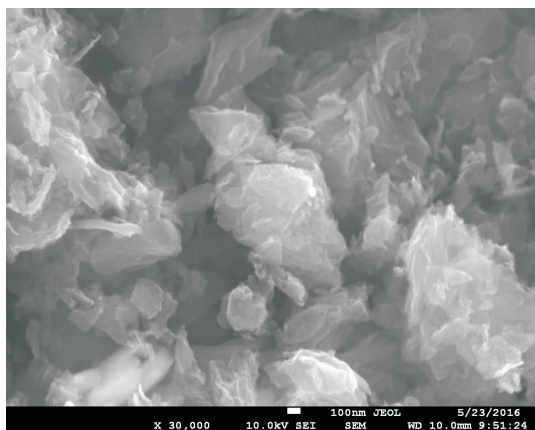
将制备的石墨烯/活性炭复合材料和乙炔黑置于烧杯中,加入适量的乙醇,超声振荡混匀,待温度升至约 85 °C 时,加入 10 % (质量分数) 聚四氟乙烯溶液,持续振荡  $m$  (活性物质) :  $m$  (乙炔黑) :  $m$  (聚四氟乙烯) = 85 : 10 : 5 的混合物至黏稠状后将其擀成片状,再将其涂覆在泡沫镍上,并在 80 °C 条件下烘干 8 h,再在 20 Mpa 的压力下压片成型.将压好的电极片在 6 mol/L KOH 中浸泡 24 h,然后组装三电极体系进行电化学性能测试。

利用三电极体系对样品进行电化学测试.以 6 mol/L 的 KOH 水溶液为电解质溶液,以所制备的石墨烯电极作为工作电极,铂片为对电极,饱和甘汞电极为参比电极,测试的电压窗口为 -1.1 ~ 0 V (vs SCE). 在电化学工作站上对样品进行循环伏安测试,控制扫描速率为 10 ~ 200 mV · s<sup>-1</sup>. 在高性能电池检测系统上对样品进行恒流充放电测试,电流密度为 0.5 ~ 10 A · g<sup>-1</sup>。

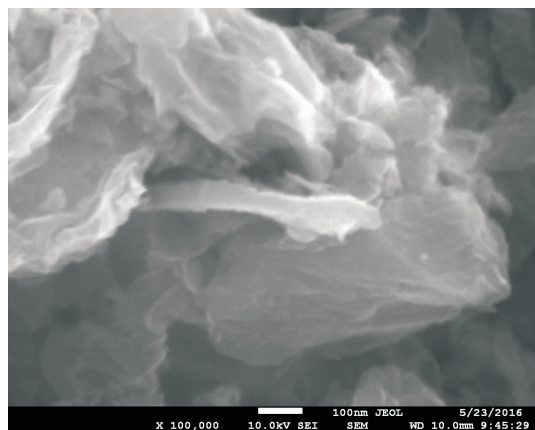
## 2 结果与讨论

### 2.1 样品的物性表征

图 1 为石墨烯/活性炭复合材料的 FESEM 图.由图 1 可知,通过对样品不同放大倍率的观察可以看出,石墨烯/活性炭复合材料具有明显的纳米片形貌,这是因为在制备过程中,氧化石墨烯能起到结构导向剂的作用,与酚醛树脂复合形成纳米片状结构,在后续的高温碳化过程中,氧化石墨烯被还原为石墨烯,酚醛树脂被碳化包覆在石墨烯表面,再经过活化工序,最后形成了石墨烯/活性炭复合材料。



a) × 30 000



b) × 100 000

图1 石墨烯/活性炭复合材料的 FESEM 图

Fig.1 FESEM images of the graphene/activated carbon composites

图2为石墨烯/活性炭复合材料的XRD图。由图2可以看出,在 $2\theta$ 角为 $24^\circ$ 和 $43^\circ$ 位置分别出现了无定型碳的(002)和(100)衍射峰,表明该复合材料以无定型的活性炭为主,而复合材料中的石墨烯被无定型的活性炭所包裹,因此XRD图谱没有显示出石墨烯的特征。

图3为石墨烯/活性炭复合材料的低温 $N_2$ 吸脱附曲线和孔径分布图。从图3a)可以看出,在中间压力范围之间有一个明显的滞后环,表明材料中有介孔存在,这可能是由纳米片状的复合炭材料的堆积所造成的。由图3b)可以

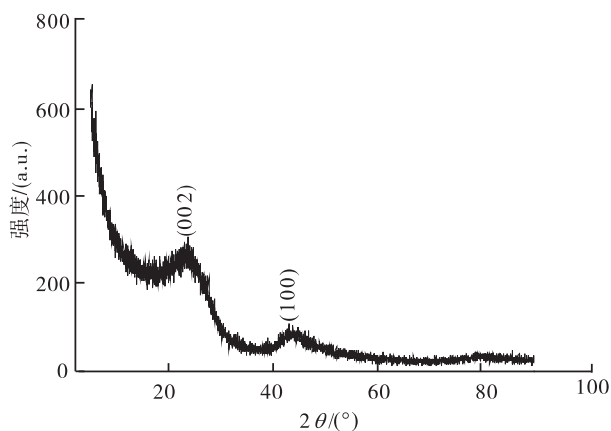


图2 石墨烯/活性炭复合材料的 XRD 图

Fig.2 XRD patterns of the graphene/activated carbon composites

看出,石墨烯/活性炭复合材料具有明显的分级多孔结构,这有利于电解质离子的快速迁移<sup>[7]</sup>. 利用传统的 BET 法、 $N_2$  在相对压力为0.95时的吸附量、NLDFT 法分别计算样品的比表面积、总孔容和孔径分布,结果表明:该复合材料的比表面积达到了 $1230 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ,总孔容为 $1.27 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ,平均孔径为3.9 nm.

## 2.2 样品的电化学电容性能测试结果

图4为石墨烯/活性炭复合材料的循环伏安曲线、恒流充放电曲线、功率性能曲线和循环稳定性能曲线。由图4a)可以看出,当扫描速率从 $2 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 增加到 $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,该复合材料电极的循环伏安曲线均为近似的矩形,表明其具有较好的电化学双电层电容性能;电流响应的速度很快,表明具有较好的功率性能。由图4b)可以看出,当电流密度从 $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $10 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,该复合材料的充放电曲线均接近三角形,没有发生明显的变化,且放电开始瞬间的电压下降也不明显,表明该复合材料的功率性能优异。由图4c)可以看出,在 $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 的电流密度下比电容高达 $197 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ;当电流密度增加到 $10 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,其比电容为 $163 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ,电流增加20倍,电容保持率为83%.

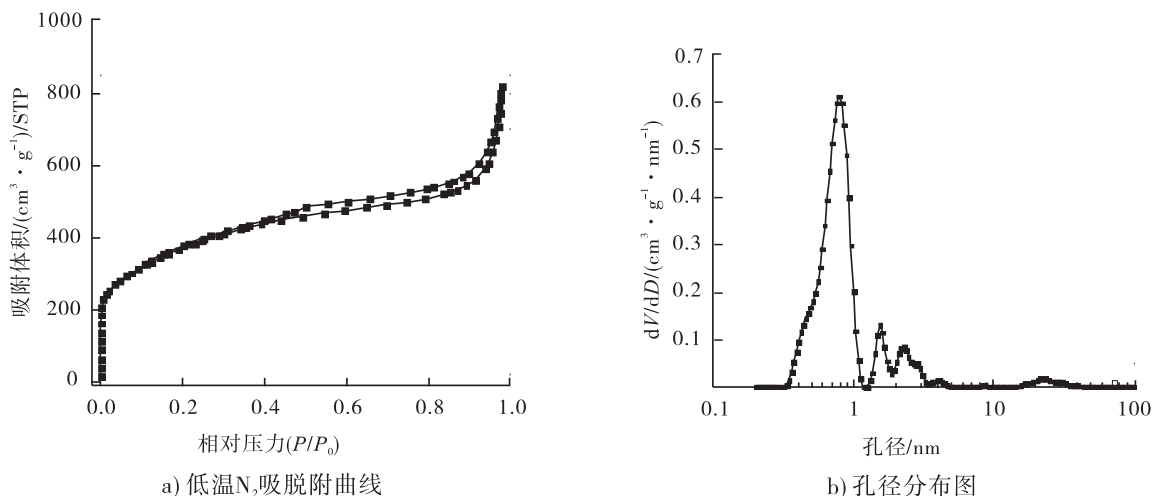


图3 石墨烯/活性炭复合材料的低温 N<sub>2</sub> 吸脱附曲线与孔径分布图

Fig.3 Low temperature N<sub>2</sub> adsorption isotherms and pore size distributions of the graphene/activated carbon composites

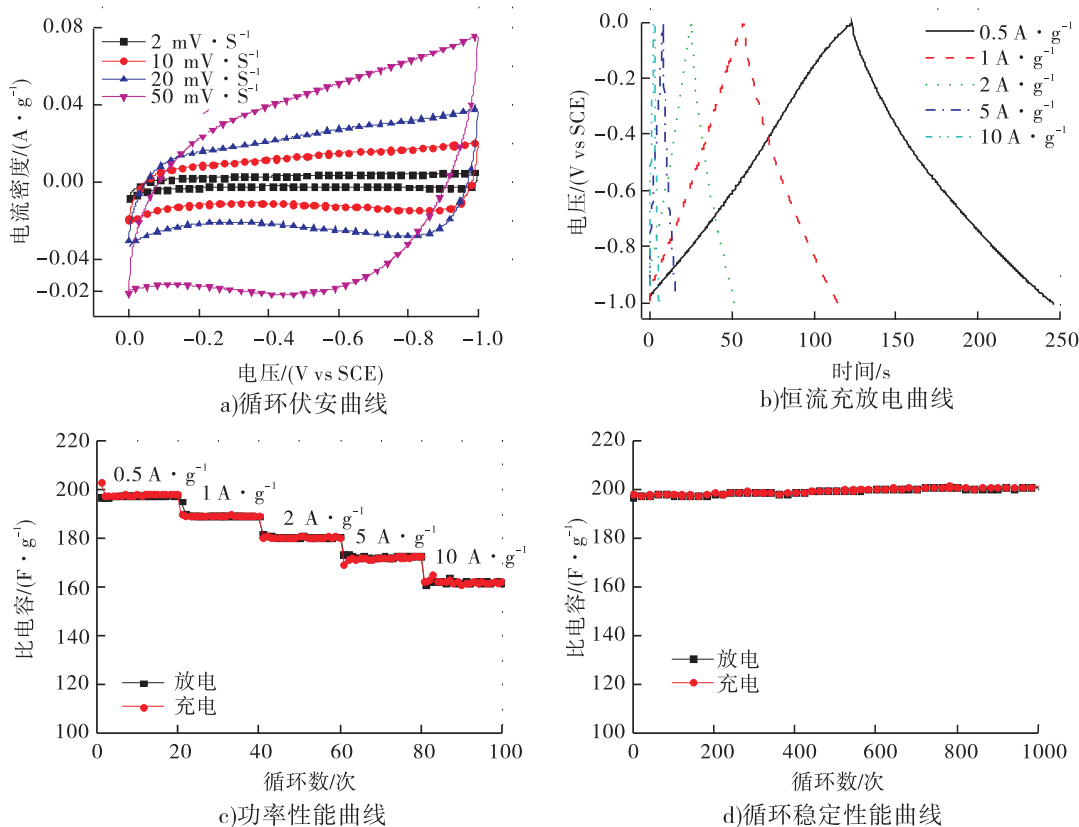


图4 石墨烯/活性炭复合材料的循环伏安曲线、恒流充放电曲线、功率性能曲线和循环稳定性能曲线

Fig.4 CV curves, galvanostatic charge/discharge plots, rate performances and cycle stability of the graphene/activated carbon composites



由图4d)可以看出,在  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$  的充放电电流密度下,循环 1000 次,未见容量有衰减,电容保持率为 100%。优良的电容性能可以归因于石墨烯/活性炭复合炭材料的纳米片状的形貌、分级多孔的孔结构和高的比表面积。

### 3 结论

本文采用液相共混法结合后续的高温碳化和活化工艺,制备出了石墨烯/活性炭复合材料。利用 FESEM, XRD 和  $\text{N}_2$  吸脱附实验对该复合材料的表面形貌、物相、比表面积和孔结构进行表征,结果表明:该复合材料具有纳米片状的形貌,厚度为 30 ~ 50 nm,物相为无定型的炭材料,比表面积高达  $1230 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ,且具有明显的分级多孔结构。采用循环伏安和恒流充放电测试表征其电化学电容性能,结果表明:石墨烯/活性炭复合材料具有较好的电容性能,在  $0.5 \text{ A} \cdot \text{g}^{-1}$  电流密度下,比电容高达  $197 \text{ F} \cdot \text{g}^{-1}$ ,且具有优异的倍率性能和循环稳定性能。本文研究的石墨烯/活性炭复合材料制备工艺简单且易于实现产业化,作为超级电容器电极材料具有较好的应用潜力。

#### 参考文献:

[1] JIANG L, FAN Z. Design of advanced porous graphene materials: from graphene nanomesh to 3D architectures [J]. *Nanoscale*, 2014, 6 (4):1922.

[2] YOU B, WANG L, LI N, et al. Improving the energy storage performance of graphene through insertion of pristine CNTs and ordered mesoporous carbon coating [J]. *Chem Electro Chem*, 2014, 1(4):772.

[3] LEE C W, YOON S B, KIM H K, et al. A two-dimensional highly ordered mesoporous carbon/graphene nanocomposite for electrochemical double layer capacitors: effects of electrical and ionic conduction pathways [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2015, 3(5):2314.

[4] HAO G P, LU A H, DONG W, et al. Sandwich-type microporous carbon nanosheets for enhanced supercapacitor performance [J]. *Advanced Energy Materials*, 2013, 3(11):1421.

[5] WANG L, SUN L, TIAN C, et al. A novel soft template strategy to fabricate mesoporous carbon/graphene composites as high-performance supercapacitor electrodes [J]. *RSC Advances*, 2012, 2(22):8359.

[6] 方华,王力臻,高可政,等.微波辐射热解膨胀法制备三维多孔石墨烯及其电容性能研究 [J]. *轻工学报*, 2017, 32(4):8.

[7] WANG Q, YAN J, WANG Y, et al. Three-dimensional flower-like and hierarchical porous carbon materials as high-rate performance electrodes for supercapacitors [J]. *Carbon*, 2014, 67:119.



引用格式:陈雪,刘文博,董鑫,等. 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的制备及其电化学性能研究[J]. 轻工学报,2018,33(5):83-89.

中图分类号:TM911.13 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.011

文章编号:2096-1553(2018)05-0083-07

# 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的制备及其电化学性能研究

Study on preparation and electrochemical properties of three-dimensional interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with bimodal pore size distribution

陈雪,刘文博,董鑫,成朋

CHEN Xue, LIU Wenbo, DONG Xin, CHENG Peng

关键词:

锂离子电池;去合金化法;化学沉积法;Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极;电化学性能

四川大学 制造科学与工程学院,四川 成都 610065

College of Manufacturing Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Key words:

lithium ion battery;  
dealloying;  
chemical deposition;  
Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn  
composite electrode;  
electrochemical property

摘要:采用去合金化法腐蚀 Al-35Cu 合金制备三维双孔径纳米多孔铜集流体,经化学沉积法在该多孔集流体孔壁表面镀上一层活性物质 Sn, Cu 与 Sn 快速反应形成 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 过渡层,从而制备出三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极,并对该电极进行电化学性能测试,结果表明:该电极在 0.1 mA/cm<sup>2</sup> 的电流密度下,首次放电比容量为 2.53 mAh/cm<sup>2</sup>,充电比容量为 0.43 mAh/cm<sup>2</sup>,经过 300 周循环之后,放电比容量仍为 0.159 mAh/cm<sup>2</sup>,充电比容量为 0.157 mAh/cm<sup>2</sup>,容量保持率为 36.5%。这表明该电极具有较优异的电化学性能,在下一代高性能锂离子电池中具有潜在的应用前景。

收稿日期:2017-03-16

基金项目:国家自然科学基金项目(51604177);四川省国际科技合作与交流计划项目(2017HH0068);人社部“香江学者计划”资助项目(XJ2014045)

作者简介:陈雪(1994—),女,四川省巴中市人,四川大学硕士研究生,主要研究方向为锂离子电池多孔负极材料。

通信作者:刘文博(1983—),男,天津市人,四川大学副教授,入选 2017 年度四川省“千人计划”,主要研究方向为纳米多孔材料制备及功能化。

**Abstract:** Three-dimensional (3D) nanoporous copper current collector with bimodal pore size distribution was fabricated by dealloying of Al-35Cu alloy, and the three-dimensional interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode was obtained further by chemical deposition of Sn on the surface of 3D nanoporous copper, in which Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> transition layer could be formed via quick reaction between Sn and Cu. Subsequently, the electrode was characterized by electrochemical performance testing. The results showed that the initial discharge specific capacity was 2.53 mAh/cm<sup>2</sup> and the charge specific capacity was 0.43 mAh/cm<sup>2</sup> at a current density of 0.1 mA/cm<sup>2</sup>. After 300-week cycles, the discharge specific capacity was still 0.159 mAh/cm<sup>2</sup>, the charging specific capacity was 0.157 mAh/cm<sup>2</sup>, and the capacity retention rate was 36.5%, which indicated that the electrode had excellent electrochemical performance and had potential application prospects in the next generation high performance lithium ion battery.

## 0 引言

锂离子电池因具有能量密度高、循环稳定性优异、体积小和无污染等特性,被广泛应用于消费电子类产品、电动工具、电动自行车等领域。近几年,新能源电动汽车、储能、通信、数据中心等新兴消费领域的快速发展,对锂离子电池电化学性能(如循环稳定性、倍率性能、阻抗性能等)提出了更高的要求<sup>[1]</sup>。长期以来,在集流体上镀 Sn 以提高锂离子电池阳极性能的技术广受关注,原因在于:1) Sn 本身具有很高的理论容量(994 mAh/g),可提高锂离子电池的比容量;2)化学镀 Sn 设备少,操作简单,可满足深层镀 Sn 的要求;3)镀层均匀性好,有利于提高锂离子电池的循环稳定性<sup>[2]</sup>。但是,铜锡复合材料作为锂离子电池负极存在两点不足:1)在锂离子电池充放电过程中,Li<sup>+</sup>的脱嵌过程会导致 Sn 产生巨大的体积变化,使电极粉化,从而使电池性能大大降低;2)化学镀 Sn 过程中集流体上 Sn 的生长不易控制<sup>[3]</sup>。目前,刘春静等<sup>[4-6]</sup>已对锂离子电池铜锡复合负极展开研究,并试图通过不同实验方法解决锂离子电池充电过程中 Sn 体积膨胀的问题,如采用电镀、化学镀或磁共溅射等方法在二维铜箔、三维载体上包覆层状的 Sn。而采用三维双孔径纳米多孔铜作为集流体有如下优势:1)纳米数量级

多孔材料可显著提高集流体的比表面积,增加化学沉积的活性位点;2)多孔结构可缓冲 Li<sup>+</sup>脱嵌过程中由于体积变化产生的应力。

鉴于此,本文拟采用去合金化法腐蚀 Al-35Cu 合金制备三维双孔径纳米多孔铜集流体,再在其孔壁表面化学沉积活性物质 Sn,制备出三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极,并对该电极进行电化学性能测试,以期为该领域的研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

主要试剂:无水乙醇, HCl, 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 成都市科隆化学品有限公司产;丙酮,成都长联化学品有限公司;SnSO<sub>4</sub>, 硫脲,柠檬酸,对苯二酚,成都市科龙化工试剂厂产。以上试剂均为分析纯。

主要仪器:CHI760E 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产;HH-2 型数显恒温水浴锅,上海维试仪器有限公司产;DZF 型真空干燥箱,北京科伟永兴仪器有限公司产;DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱,成都晟杰科技有限公司产;NEWARE BTS-620 型恒流充放电系统,深圳市新威尔电子有限公司产;JSM-7500F 型 X 射线能量色散谱仪(EDS), JSM-7500F 型场发射型电子扫描镜(FESEM),日本电子株式会社产;EMPYREAN 型 X 射线衍射

仪,荷兰帕纳科公司产;LS-750D 手套箱,成都德力斯实业有限公司产;WT3002 电子天平,杭州万特衡器有限公司产。

## 1.2 电极的制备

以 Al-35Cu (其中 Cu 的原子百分比为 35%) 合金为原料,通过去合金化法制备三维双孔径纳米多孔铜集流体,步骤如下:将磨好经抛光的铝铜合金置于 100 mL 稀 HCl (质量分数为 5%) 溶液中,在 90 °C 恒温水浴锅中腐蚀 5 h. 取出试样反复清洗后,将其放在 75 °C 真空干燥箱中干燥 12 h,即得到三维双孔径纳米多孔铜集流体。

采用化学沉积法,制备三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极. 首先,配制 100 mL 酸性镀 Sn 溶液,其主盐为 SnSO<sub>4</sub>,提供 Sn 源,由稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 提供酸性环境,配有促进剂(硫脲)以降低 Cu 的标准电位,促使其生成置换膜,完成置换反应;还原剂(次磷酸钠)实现 Sn 的自催化沉积;络合剂(柠檬酸)让 Sn<sup>2+</sup> 以络合离子的形式存在,增加镀液稳定性;抗氧化剂(对苯二酚)防止 Sn<sup>2+</sup> 被水解氧化为 Sn<sup>4+</sup>[5]. 将配好化学沉积溶液的烧杯置于 45 °C 恒温水浴锅中,待溶液升温至 45 °C 后,将三维双孔径纳米多孔铜集流体用镊子夹着悬空放入该溶液,化学沉积 1 min 后取出放入小烧杯中,用去离子水反复冲洗后,置于真空干燥箱干燥,即得三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极材料。

## 1.3 结构表征

采用 X 射线衍射仪检测化学腐蚀、化学沉积 Sn 后试样的物相组成:以 Cu 靶 K $\alpha$  为辐射源,管电压 50 kV,管电流 30 mA,掠入射角  $\psi$  为 3°,扫描范围 25 ~ 95°,扫描速度 0.03°/min;用 EDS 进一步证实复合电极的成分;用 FESEM 分别表征化学腐蚀后试样、化学腐蚀和化学沉积 Sn 后试样的表面形貌。

## 1.4 电化学性能测试

在氩气保护的手套箱中,将制备好的 Cu/Sn 复合电极材料放入模拟电池中作为锂离子电池负极,用锂片为对电极,高强度薄膜化的微孔聚丙烯作隔膜,以含有 1 mol/L 六氟磷酸锂 (LiPF<sub>6</sub>) 的碳酸乙烯酯 (EC)、碳酸二甲酯 (DMC) 和碳酸二乙酯 (DEC) 的混合溶液 (V(EC):V(DMC):V(DEC) = 1:1:1) 作为电解液,组装成电池. 采用恒流充放电系统对锂离子电池进行性能测试,充放电电流密度为 0.1 mA/cm<sup>2</sup>,电压范围为 0.01 ~ 1.5 V vs Li/Li<sup>+</sup>,测试温度为室温。

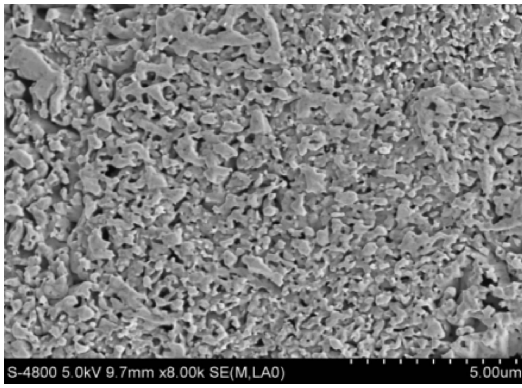
## 2 结果与分析

### 2.1 三维双孔径纳米多孔铜集流体形貌表征分析

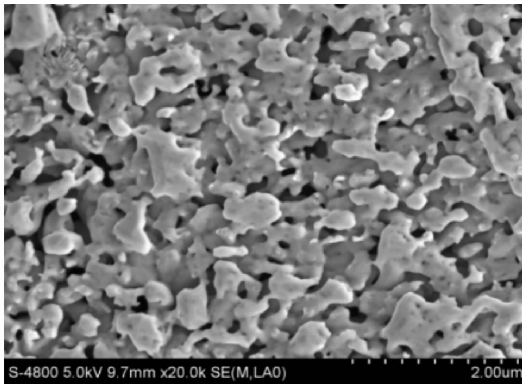
三维双孔径纳米多孔铜集流体的 FESEM 图如图 1 所示. 由图 1 可以看出,三维双孔径纳米多孔铜集流体是典型的双连续结构,该铜集流体具有较大的孔径尺寸,平均约 200 nm,同时具有较小的孔径尺寸,约为 50 nm,平均孔径尺寸约为 100 nm,平均韧带尺寸约为 500 nm,孔隙率高,且孔洞分布均匀,可防止化学沉积时 Sn 颗粒团聚. 三维双孔径纳米多孔铜集流体相比于传统的二维铜箔集流体具有更大的表面积,因此在相同载量的情况下,镀层可以更薄,而且活性材料与作为载体的集流体的结合力更好,这都有利于提高 Sn 的循环性能<sup>[6]</sup>。

### 2.2 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极微观结构分析

三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的 XRD 谱图如图 2 所示. 由图 2 可知,三维纳米多孔铜集流体材料经 40 °C 条件的酸性镀 Sn 1 min 后,在 30.5°,44°等处出现典型的四方晶系 Sn (标准卡片号为 19-1365) 的衍射峰. 在 43°,74°和 51°等位置还探测到面心立



a) × 8000



b) × 20 000

图 1 三维双孔径纳米多孔铜集流体的 FESEM 图

Fig. 1 The FESEM images of 3D nanoporous copper current collector with bimodel pore size distribution

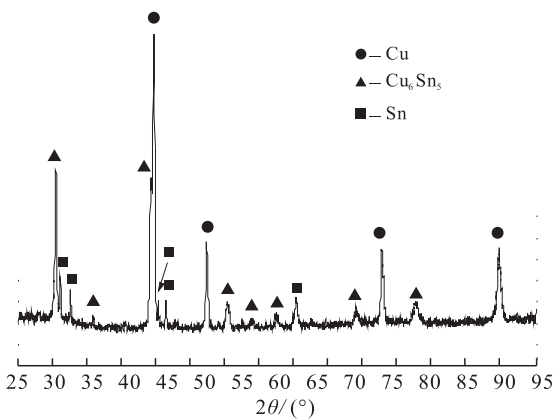
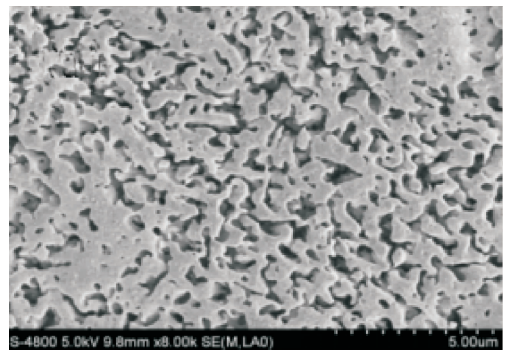


图 2 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的 XRD 谱图

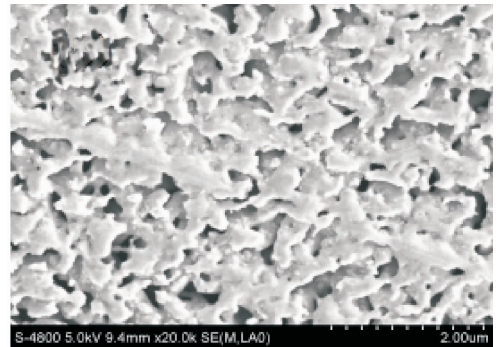
Fig. 2 The FEXRD patterns of 3D interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with bimodel pore size distribution

方 Cu(标准卡片号为 06 - 0836)的衍射峰.此外,在 30°, 42°处出现较强的 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>(标准卡片号为 45 - 1488)合金的衍射峰,在其他位置也出现较弱的 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>衍射峰,表明在该化学沉积条件下制备的复合电极中含有少量的 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>,这是由于在化学沉积过程中 Cu, Sn 原子发生了一定程度的扩散形成了过渡层.

三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的 FESEM 图如图 3 所示.由图 3a)可以看出,三维纳米多孔铜孔洞变少,孔径尺寸减小,孔隙率降低,这是由于三维纳米多孔铜表面包覆了部分的 Sn.由图 3b)可以看出,三维纳米多孔铜表面镀上了某种物质,但没有形成枝晶.结合图 2 可以观察到有 Sn, Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 相的存



a) × 8000



b) × 20 000

图 3 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的 FESEM 图

Fig. 3 The FESEM of 3D interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with bimodel pore size distribution

在,因此,笔者初步判断这种层状物质为 Sn,且由于高温原子扩散在 Sn 与 Cu 接触的地方形成了 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 相,这一过程即三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极形成的过程.比较图 2 和图 3 可知,通过化学沉积后的复合电极保留了三维纳米多孔铜集流体结构特征仍为双孔径连通结构;而高温下的化学沉积也使得原子重排,导致纳米孔尺寸的增大.

笔者随后采用 EDS 进一步确认这种层状物质的成分.表 1 为三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的化学成分.由表 1 可知,Cu 和 Sn 的质量分数分别为 84.90% 和 15.10%,原子数比分别为 91.31% 和 8.69%.因此,可以确定试样中存在 Sn 元素,即纳米多孔铜表面层状物质成分为 Sn.此外,检测试样不论是在质量分数还是在原子数比例上,Cu 都占主体地位,Cu 含量远远高于 Sn 的含量,且在图 2 中也有 Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 相衍射峰的存在.由此可以推断,Cu 为基体,Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 为过渡层,Sn 为表面镀层.

表 1 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的化学成分

Table 1 The chemical composition of 3D interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with bimodal pore size distribution

元素	质量分数/%	原子数比例/%
Cu	84.90	91.31
Sn	15.10	8.69

### 2.3 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的电化学性能分析

三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的电化学性能曲线如图 4 所示.由图 4a)可以看出,三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极在第一周阴极扫描时,在 1.3 V 处出现了阴极电流峰,即发生了还原反应.其中,1.3 V 的峰位特别大,电流为

-0.024 mA,这可能是由于在第一周放电时,生成了表面固态电解质(SEI)膜,影响了原有的嵌 Li 反应产生的峰的峰位.在小于 1.3 V 处出现的较小的阴极电流峰表明发生了嵌 Li 反应.第二周阴极扫描时,在 0.5 V 和 1.48 V 处出现了阴极电流峰,此时发生了还原反应,即嵌 Li 反应.出现不止一个峰的原因是因为 Li 与 Sn 的产物不止一种,不同电位,生成了不同产物.第二周放电时,阴极电流峰处的电压、电流、峰的大小与第一周放电时均不同,这是由于第一周放电时产生了 SEI 膜,因而有额外的峰位叠加造成的.因此,判断该电池的循环性能时,不能用第一周放电和第二周放电曲线的重合程度来判断.第二周阴极扫描时,在 1.1 V 和 1.9 V 处发现了阳极电流峰,这表明发生了氧化反应,即脱 Li 反应.第三周阴极扫描时,电流峰处的电压、电流、峰的大小都与第二周充放电处的电流峰的各项参数基本一致,曲线基本保持一致,这表明在充放电过程中,Li<sup>+</sup> 在嵌入脱出过程中,损耗少,电池在两周中的可逆性较强.

由图 4b)可以看出,第一周放电曲线与第二周放电曲线偏差很大,这主要是因为首次放电嵌 Li 过程中,生成的 SEI 膜消耗了大量的 Li<sup>+</sup>.但是,除第一周充电曲线外,其余曲线(第一周充电曲线,第二周、第三周充放电曲线)重合率都较高,这表明电池的可逆性能较好.

由图 4c)可以看出,随着充电、放电循环的进行,三维纳米多孔 Cu/Sn 复合电极材料的比容量逐渐降低.首次放电比容量为 2.53 mAh/cm<sup>2</sup>,充电比容量为 0.43 mAh/cm<sup>2</sup>,首次不可逆容量为 2.1 mAh/cm<sup>2</sup>.首次不可逆容量非常高,这可能是因为在首次放电过程中,电解液在负极表面大量分解,形成的大量 SEI 膜消耗了部分 Li<sup>+</sup>.经过 150 周循环之后,放电比容量仍为 0.184 mAh/cm<sup>2</sup>,充电比容量为 0.179 mAh/cm<sup>2</sup>.经过 300 周循环之后,放电比容

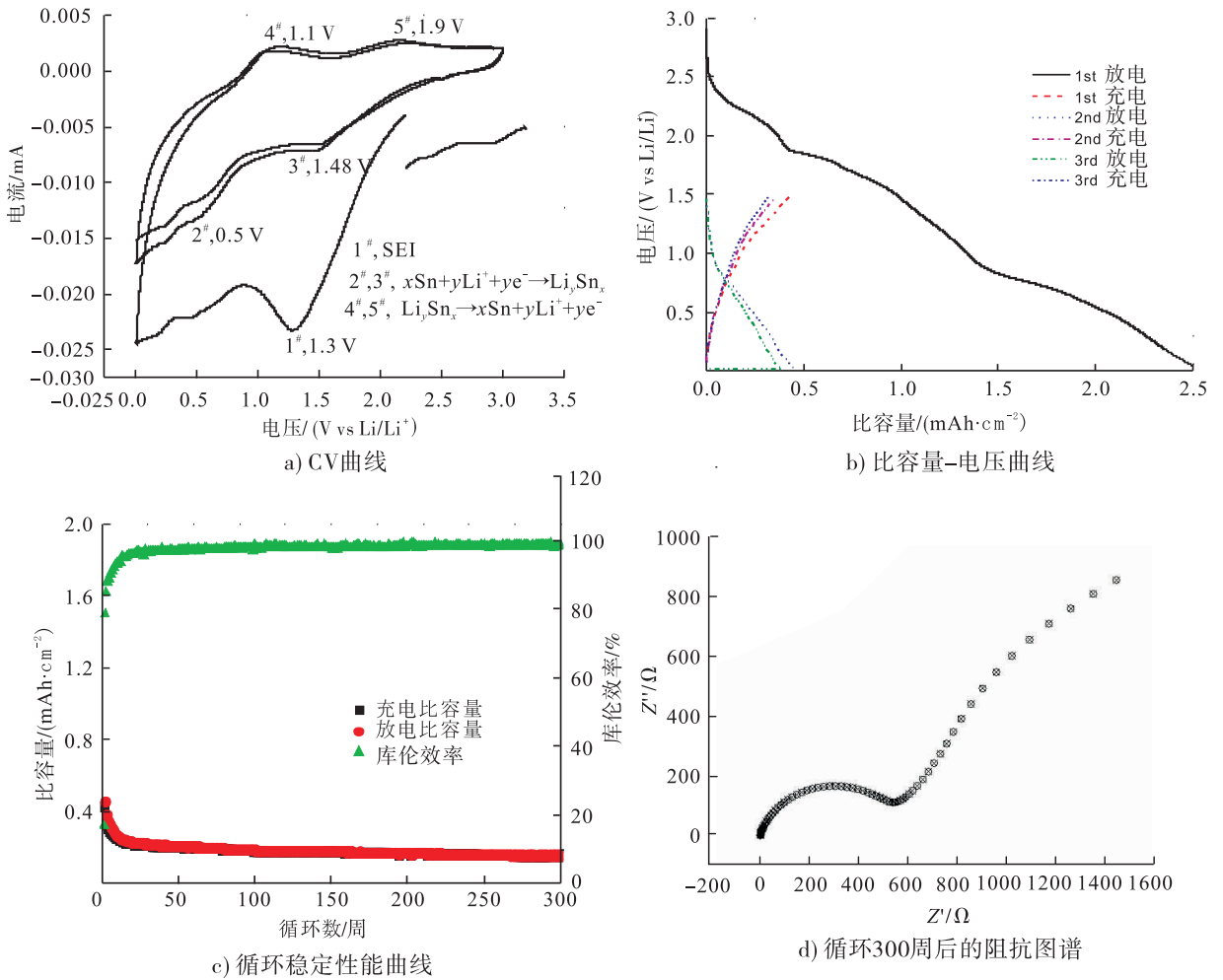


图4 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 电化学性能曲线

Fig. 4 The electrochemical performance curves of 3D interlayer-shaped nanoporous Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn composite electrode with bimodel pore size distribution

量为 0.159 mAh/cm<sup>2</sup>, 充电比容量为 0.157 mAh/cm<sup>2</sup>, 容量保持率为36.5%. 对于库伦效率, 除了前 25 周呈缓慢上升趋势, 之后均超过 95%. 以上数据表明, 三维双孔径夹层状纳米多孔结构 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 负极可有效缓解在嵌脱 Li 过程中由 Sn 体积膨胀引起的应力变化, 减少活性材料的粉化程度, 使该电池具有较好的循环稳定性.

由图 4d) 可以看出, 三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极的阻抗谱由高频区的半圆弧和低频区的倾斜 45° 的直线组成, 高频区半圆起点与原点的截距代表电池的

溶液电阻(Rs), 半圆代表负极与电解液界面处电荷迁移电阻(Rct), 低频区的 45° 直线则代表 Li<sup>+</sup> 在固相活性物质中的扩散相关的 Warburg 阻抗(Zw). 高频区的半圆与负极材料和电解液之间的电荷转移步骤有关系, 循环后的阻抗(Rct)约为 600 Ω, 这表明即使在循环 300 周后电子迁移速率受到一定的影响, 但电池循环性能较好. 低频区的倾斜直线所反映的是 Li<sup>+</sup> 在固相中的扩散过程<sup>[7-8]</sup>, 直线的斜率逐渐减小, 这表明随着反应的进行, Li<sup>+</sup> 在固相中的迁移速率受到的阻碍越来越大, 这可能是由循环 300 周后活性物质的脱落和 Sn 体积变化明显等原

因造成的.

### 3 结论

本文采用去合金化法腐蚀 Al-35Cu 合金制备出三维双孔径纳米多孔铜集流体,将该集流体在酸性镀液中化学沉积 Sn,Sn 以层状包覆在铜集流体上,Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub> 为过渡层,获得三维双孔径夹层状纳米多孔 Cu/Cu<sub>6</sub>Sn<sub>5</sub>/Sn 复合电极.对该电极进行恒流充放电性能、阻抗性能等电化学性能测试,结果表明,在 0.1 mA/cm<sup>2</sup> 的电流密度下,该电极首次放电比容量为 2.53 mAh/cm<sup>2</sup>,充电比容量为 0.43 mAh/cm<sup>2</sup>,经 300 周循环后,充电比容量仍有 0.157 mAh/cm<sup>2</sup>,容量保持率为 36.5%,表现出较优异的电化学储 Li 性能和长循环稳定性,在下一代高性能锂离子电池中具有潜在的应用前景.值得注意的是,以层状分布的活性物质 Sn 在嵌脱 Li 过程中仍会遭受巨大的体积变化而导致部分脱落.因此,在后续研究中,笔者力争使活性物质 Sn 以细小颗粒状均匀、弥散分布于三维纳米多孔铜集流体中,以期进一步减小 Sn 体积膨胀对锂离子电池性能的影响,提高其电化学性能.

#### 参考文献:

[1] 吴娇杨,刘品,胡勇胜,等.锂离子电池和金属

锂离子电池的能量密度计算[J].储能科学与技术,2016(4):443.

- [2] 孙竞晔,王莉,何向明,等.锂离子二次电池铜锡合金负极研究进展[J].科技导报,2006,24(608):73.
- [3] JHAN Y R, DUH J G, YANG M H, et al. Electroless-plated tin compounds on carbonaceous mixture as anode for lithium-ion battery [J]. Journal of Power Sources, 2009, 193(2):810.
- [4] 刘春静.锂离子电池锡基纳米负极材料制备及储锂性能[D].大连:大连理工大学,2015.
- [5] 段富良,王梅.铜基上化学镀锡工艺分析[J].云南化工,2017,44(6):76.
- [6] PARK H, UM J H, CHOI H, et al. Hierarchical micro-lamella-structured 3D porous copper current collector coated with tin for advanced lithium-ion batteries [J]. Applied Surface Science, 2017, 399:132.
- [7] SONG J, KIM J, KANG T, et al. Design of a porous cathode for ultrahigh performance of a Li-ion battery: an overlooked pore distribution [J]. Scientific Reports, 2017(7):42521.
- [8] DU Z J, ZHANG S C, JIANG T, et al. Preparation and characterization of three-dimensional tin thin-film anode with good cycle performance [J]. Electrochimica Acta, 2010, 55:3537.





引用格式:陈建明,时铭慧. 结合改进的 SIFT 算法的双目视觉测距[J]. 轻工学报,2018,33(5):90-96.

中图分类号:TP751 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.012

文章编号:2096-1553(2018)05-0090-07

# 结合改进的 SIFT 算法的双目视觉测距

## Binocular vision ranging combined with improved SIFT algorithm

陈建明,时铭慧

CHEN Jianming, SHI Minghui

华北水利水电大学 电力学院,河南 郑州 450045

College of Electric Power, North China University of Water Resources and Electric Power, Zhengzhou 450045, China

### 关键词:

双目视觉测距;摄像机标定;SIFT 算法

### Key words:

binocular vision ranging;  
camera calibration;  
SIFT algorithm

**摘要:**针对采用双目视觉测距进行无人机实时巡线测距时计算复杂、实时性不高的问题,提出了结合改进的 SIFT 算法的双目视觉测距方案.该方案采用类单目的双目视觉模型,以减少计算变量;采用缩小尺度空间个数、降低特征向量维度、街区距离代替欧式距离的方法对传统的 SIFT 算法进行改进,以提高两摄像机同时拍摄的两幅图片同一特征点的匹配效率.结果表明:该方法匹配时间缩短了 32%,测量最大误差率降至 3.75%,可满足无人机快速实时巡线测距的精度要求.

收稿日期:2018-06-21

作者简介:陈建明(1962—),男,河南省洛阳市人,华北水利水电大学教授,主要研究方向为检测与自动化装置、模式识别与人工智能.

**Abstract:** In order to solve the problem of complex calculation and low real-time performance when using binocular vision ranging for UAV real-time line patrol, a binocular vision ranging scheme combining improved SIFT algorithm was proposed. A binocular vision model similar to monocular vision was adopted to reduce computation variables, the traditional SIFT algorithm was improved by reducing the number of scale spaces, reducing the dimension of feature vectors, and replacing the Euclidean distance with the block distance, so as to improve the matching efficiency of the uniform feature points of two images taken simultaneously by two cameras. The results showed that the matching time was reduced by 32% and the maximum error rate was reduced to 3.75%. The method could meet the accuracy requirements of UAV fast real-time line patrol ranging.

## 0 引言

视觉测距是指通过图像采集装置将被采集目标转换成图片信息并传给专门的处理系统的检测方式,相比于超声、红外、激光等传统检测方式,视觉测距以其携带信息丰富、测量精准等诸多优势在人工智能方面的应用越来越广泛<sup>[1-2]</sup>。在测量无人机与输电线路的距离时,上述传统的测距方式不能准确检测到目标,故通常选择视觉测距的方式。视觉测距根据图像采集装置的个数可以分为单目视觉、双目视觉和多目视觉<sup>[3-5]</sup>,其中双目视觉是通过比较某一目标点在两台摄像机上成像点的差距,利用相对运动学原理,还原出距离的方法。采用双目视觉测距的核心<sup>[4]</sup>就是匹配出两台摄像机拍摄两幅图片中的同一特征点。常用的特征匹配算法有 SIFT 算法、SURF 算法、KAZE 算法等<sup>[6-9]</sup>,其中 SIFT 算法具有旋转不变性,对噪声、视角变化比较稳定,鲁棒性较好;但其计算复杂,实时性不够。针对 SIFT 算法的不足,宋佳乾等<sup>[10]</sup>利用 Canny 边缘检测算法获得图像的边缘点坐标,然后通过 K-L 变换降低算法复杂度;刘佳等<sup>[11]</sup>采用“回”字形双层方邻窗将特征点邻域区域划分成四部分,建立 32 维特征点描述符向量。上述两种做法虽然都在一定程度上降低了计算的复杂程度,但同时也大大降低了点的正确匹配率。李奇敏等<sup>[12]</sup>以曼哈顿距离作为最邻近特征点查询中的相似性度量简化计算,但实时性仍然不高。

鉴于此,本文拟采用改进的 SIFT 算法,在实现图像中同名点匹配的同时减少计算量,结合双目视觉模型<sup>[13-14]</sup>,测量无人机在巡线过程中与目标输电线路的距离,以满足无人机快速实时巡线测距的精度要求,从而为无人机巡线提供参考。

## 1 双目视觉测距

### 1.1 测距模型

常见的双目视觉测距的模型有两种:一种是两台摄像机左右平行摆放,两台摄像机连线与光轴在同一水平平面内,且垂直于光轴,如图 1a)所示;另外一种为两台摄像机上下平行摆放,两台摄像机连线与光轴在同一竖直平面内,且垂直于光轴,如图 1b)所示。以上两种方法在应用中同时存在一个问题:同一点在两摄像机中的成像会发生偏移,与光心连线的角度会超过  $180^\circ$ ,所以在计算过程中就不能单单用距离来表示无人机与输电线路的直线距离,还必须加上角度。为减少变量,在计算时只考虑长度而不考虑角度的影响,本文创新性地采用如图 1c)所示的类单目的双目视觉测距模型,其中,两条竖实线表示两个成像平面,两台摄像机相同,焦距均为  $f$ , $o_1$  和  $o_2$  分别是两台摄像头的焦点,两台摄像头距离为  $d$ , $d_1$  和  $d_2$  分别为两台摄像头距离目标的直线距离, $S'_1$  和  $S'_2$  分别为目标点在两成像平面上所成的点。两台摄像机前后摆放,连线近似看作与光轴重合,相当于摄像机在远处拍摄一张照片之后沿光轴向目标物

体靠近,因此,目标点在两台摄像机成像平面中的点与光心连线角度相等。

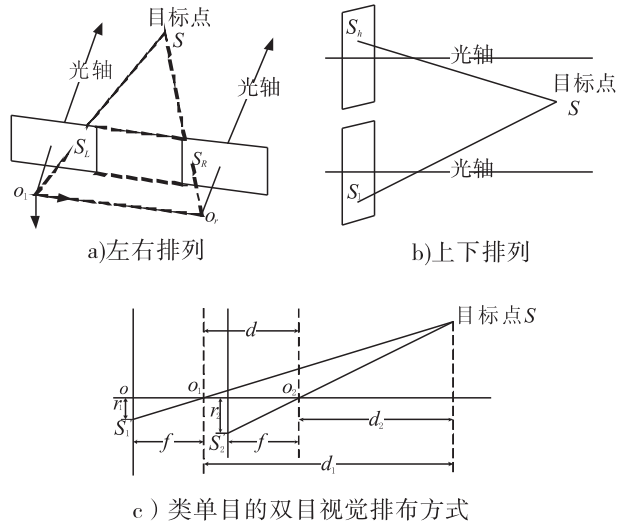


图1 双目视觉测距摄像机排布方式  
Fig.1 The arrangement of binocular vision ranging camera

1.2 测距原理

本文所用的双目视觉测距的两光屏成像如图2所示,图2a)是后摄像机即距离目标物较远的摄像机成像,图2b)是前摄像机即距离目标物较近的摄像机成像,在像素坐标系中, $S'_1$ 点的坐标为 $(i,j)$ , $S'_2$ 点的坐标为 $(m,n)$ ,在世界坐标系中,目标点 $S$ 的坐标为 $(x,y,z)$ ,设目标点与光轴所在直线的距离为 $R$ 。

由图1c)和图2可得

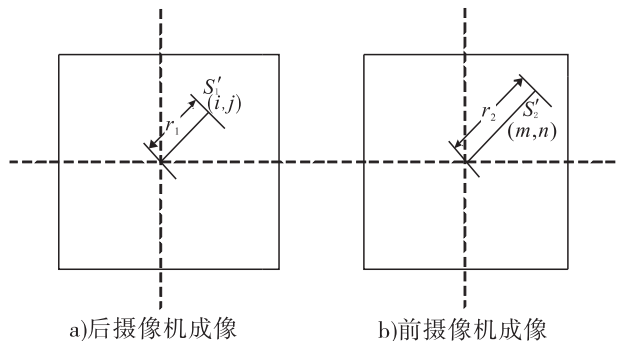


图2 双目视觉测距两光屏成像图  
Fig.2 Two-screen imaging of binocular vision ranging

$$r_1 = \sqrt{i^2 + j^2}$$

$$r_2 = \sqrt{m^2 + n^2}$$

$$\frac{r_1}{f} = \frac{R}{d_1} \Rightarrow R = \frac{r_1 d_1}{f}$$

$$\frac{r_2}{f} = \frac{R}{d_2} \Rightarrow R = \frac{r_2 d_2}{f}$$

$$d_1 - d_2 = d$$

将上述公式联立,可得近端摄像头焦距距离目标点的距离为

$$d_2 = \frac{r_1 d}{r_2 - r_1} = \frac{d \sqrt{i^2 + j^2}}{\sqrt{m^2 + n^2} - \sqrt{i^2 + j^2}}$$

2 传统的 SIFT 算法及其改进

采用类单目视觉的双目视觉测距的核心就是匹配出两台摄像机拍摄两幅图片中的同一特征点,本方案中采用改进的 SIFT 算法匹配同一特征点。

2.1 传统的 SIFT 算法

SIFT 算法即尺度不变特征转换算法,用于两幅图片中特征点的匹配,主要由特征提取和特征匹配两个过程组成.特征提取主要由4个步骤组成,SIFT 算法流程图如图3所示。

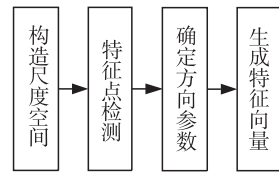


图3 SIFT 算法流程图

Fig.3 SIFT algorithm flow chart

SIFT 算法具有相对较高的准确性和良好的尺度、旋转、光照等不变特性,鲁棒性较高,但是计算复杂,实时性相对较差,直接应用于距离测量效果不佳.通过实验测量30幅图片 SIFT 算法各个步骤的处理时间,整理统计结果见表1。

由表1可知,SIFT 算法的实现时间主要消耗在构建尺度空间和生成特征向量这两个步骤,耗时占总时间的近80%,所以从这两个步

表 1 SIFT 算法各步骤耗时统计表

Table 1 Time-consuming statistics of SIFT algorithm steps

算法步骤	所用时间 /s	占比 /%
构建尺度空间	1.84 ~ 3.92	30 ~ 50
特征点检测	0.85 ~ 1.12	12
确定方向参数	1.91 ~ 3.13	10
生成特征向量	0.18 ~ 0.62	30 ~ 50

骤对 SIFT 算法进行改进以缩短处理时间有较大的空间.

### 2.2 改进的 SIFT 算法

分析传统 SIFT 算法耗时长长的原因后,总结其主要存在的问题有两个方面:一是构建尺度空间具有一定的复杂性,构建的尺度空间层数越多,所消耗的时间就越多;二是 SIFT 描述子具有高维度(4 × 4 × 8 = 128 维),加大了算法空间复杂性与时间复杂度,并且数据量大,存储不易,严重影响了算法的实时性.

针对以上问题,对 SIFT 算法提出改进措施如下.

**改进 1** 本文用 2 × 2, 4 × 4, 6 × 6, 8 × 8, 10 × 10 的矩形积分表示 5 个不同的尺度空间,降低尺度空间的维度,然后将原图像降维采样,再用同样的方法构造第二组、第三组……构建积分金字塔完成后,同一组中两两图像作差,最终构建积分差分金字塔.

**改进 2** 采用 32 维特征向量代替 128 维特征向量.以关键点为中心,取 16 × 16 的窗口,在每个 2 × 2 的小块上,计算 8 个方向的梯度方向直方图,绘制每个梯度方向的累加值,即可形成一个种子点.这样对于一个种子点会产生 2 × 2 × 8 = 32 维的特征向量,即特征描述子.

**改进 3** 以街区距离代替欧式距离,作为最邻近特征点查询中的相似性度量,降低算法的运算难度,从而缩短匹配时间,提高算法的匹配效率.

欧式距离为

$$l = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}$$

街区距离为

$$l_j = \sum_{i=1}^n |x_i - y_i|$$

式中,  $n$  为特征向量维数.

由定义可知,在 128 维的情况下,计算欧式距离需要 128 次平方,128 次减法,127 次加法,1 次开方.降维之后采用街区距离计算,可大大降低运算量,提高数据处理速度,增强系统匹配的实时性.

## 3 实验结果与分析

### 3.1 传统的与改进的 SIFT 算法对比实验

为了验证本文改进 SIFT 算法的有效性,通过实验测定传统的 SIFT 算法与改进的 SIFT 算法的时间对比,结果见表 2,正确匹配率对比结果见表 3.

由表 2 可知,改进的 SIFT 算法的运算时间明显缩短,相较于传统算法时间缩短了 32%.

表 2 传统的与改进的 SIFT 算法运算时间对比表

Table 2 Comparison of operation time between the traditional and improved SIFT algorithm

算法步骤	构建尺度空间	特征点检测	确定方向参数	生成特征向量
传统 SIFT 算法	1.93	1.04	2.23	0.48
改进 SIFT 算法	1.12	0.63	1.76	0.35

表 3 传统的与改进的 SIFT 算法正确匹配率对比表

Table 3 Comparison table of correct matching rate between the traditional algorithm and improved SIFT algorithm

算法	实验组别	特征点数 / 个	正确匹配数 / 个	正确匹配率 / %
传统 SIFT 算法	1	355	275	77.5
	2	375	280	74.7
改进 SIFT 算法	1	300	274	91.3
	2	298	280	94.0

由表3可知,改进的SIFT算法在特征点个数降低不明显的情况下,缩短了匹配时间,提高了匹配效率,增强了实时性,可用于下一步双目视觉测距实验.

### 3.2 结合改进的SIFT算法的双目视觉测距实验

为了验证结合改进的SIFT算法的双目视觉测距方案的可行性,本文搭建了前后两台摄像机相距0.5 m的实验平台,拍摄多组照片,对不同距离的特征点进行检测匹配、计算距离,实验流程如图4所示.

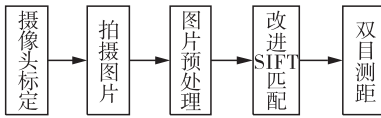


图4 结合改进的SIFT算法的双目视觉测距实验流程图

Fig.4 Experimental flow chart of binocular vision ranging combined with improved SIFT algorithm

摄像机标定作为信息采集处理的前端,标定效果直接影响后续信息的处理,摄像机模型是光学成像几何关系的简化,通常采用小孔成像模型研究摄像机标定问题.摄像机标定实验基于Matlab R2014a,采用camera Calibrator标定工具箱进行.搭建基线长度约为500 mm的沿光轴的双目视觉系统.通过推导像素坐标系、图像物理坐标系、相机坐标系和世界坐标系这四大坐标系之间的联系,得到像素坐标系与世界坐标系的关系:

$$Z_c \begin{bmatrix} u \\ v \\ l \end{bmatrix} =$$

$$\begin{bmatrix} \frac{1}{dx} & 0 & u_0 \\ 0 & \frac{1}{dy} & v_0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} f & 0 & 0 & 0 \\ 0 & f & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R & t \\ 0^T & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_w \\ Y_w \\ Z_w \\ 1 \end{bmatrix} =$$

$$\begin{bmatrix} a_x & 0 & u_0 & 0 \\ 0 & a_y & v_0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R & t \\ 0^T & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_w \\ Y_w \\ Z_w \\ 1 \end{bmatrix} =$$

$$M_1 M_2 X_w = M X_w$$

据此,分别对前、后摄像头进行单目标定实验,求出摄像机的内参数和外参数,然后利用两台摄像机标定的.mat文件,导入双目标定程序,求出平移矩阵和旋转矩阵,完成标定.单目标定结果如下( $M_1$ 为前内参矩阵, $M_2$ 为后内参矩阵):

$$M_1 =$$

$$\begin{bmatrix} 1 & 046.325 & 7 & 0 & 489.461 & 9 & 0 \\ 0 & & 1 & 055.164 & 1 & 640.886 & 2 & 0 \\ 0 & & 0 & & 0 & 1 & & 0 \end{bmatrix}$$

$$M_2 =$$

$$\begin{bmatrix} 1 & 031.969 & 1 & 0 & 515.856 & 5 & 0 \\ 0 & & 1 & 050.785 & 9 & 697.026 & 0 & 0 \\ 0 & & 0 & & 0 & 1 & & 0 \end{bmatrix}$$

分别对双目视觉的两台摄像机完成单目标定后,利用不同的图片对应的外参矩阵完成对双目的视觉标定,可以获得两台摄像机对应的旋转和平移关系,即旋转矩阵  $R$  和平移变量  $T$ :

$$R = \begin{bmatrix} 0.916 & 7 & 0.051 & 5 & 0.352 & 0 \\ 0.009 & 7 & 1.000 & 0 & 0.000 & 3 \\ 0.314 & 5 & 0.009 & 3 & 0.976 & 4 \end{bmatrix}$$

$$T = [ -509.907 & 2 \quad -3.414 & 1 \quad 2.062 & 11 ]^T$$

通过标定结果可以看出,旋转矩阵  $R$  近似于单位矩阵,基本无旋转,符合所建立的双目立体视觉模型,从平移变量可以看出,两台摄像机的距离为509.907 2 mm,与实际距离500 mm相近,标定实验的成功可为后续摄像头拍摄图像的使用奠定基础.

由于无人机的工作环境比较特殊,光照、运动等容易在图片中产生噪声,在图片采集完毕后,需要对图片进行预处理,其原则是在尽可能

消除噪声的基础上保留更多的细节特征. 通过实验对比,本文采用小波法和独立分量分析法进行图像去噪. 根据输电线路贯穿图片、线径固定、平行直线的典型特征,可通过设定长度阈值、宽度阈值和平行线判定的方法将输电线路目标提取出来作为改进的 SIFT 算法匹配的基础.

将距离目标物近的摄像机与目标物的距离定义为所求距离,在 4 ~ 20 m 内以 1 m 为梯度间隔选取 17 组数据,测量结果见表 4.

表 4 实验结果统计表

Table 4 Statistical table of experiment results

实际距离/m	测量距离/m	误差/m	误差率/%
20	20.75	0.75	3.75
19	18.58	-0.42	2.21
18	18.59	0.59	3.28
17	17.55	0.55	3.25
16	16.30	0.30	1.90
15	14.67	-0.33	2.20
14	14.28	0.28	2.00
13	13.35	0.35	2.70
12	12.42	0.42	3.50
11	10.78	-0.22	2.00
10	10.29	0.29	2.95
9	9.21	0.21	2.32
8	7.87	-0.13	1.63
7	7.21	0.21	3.00
6	6.20	0.20	3.33
5	5.12	0.12	2.40
4	3.90	-0.10	2.50

由表 4 可知,测量结果最大的误差率为 3.75%,同等实验条件下的单目视觉测距的误差率为 7.25%,降低了 48.3%,可满足实际设备的精度要求. 表 4 中误差产生的原因可能是: 1) 摄像机的位置有偏差,摄像机的安装位置没有完全按照几何模型设置,造成结果不准确; 2) 成像设备分辨率低,导致空间分辨率低; 3) 无人机运动速度较快,运算的延时造成误差.

## 4 结语

针对传统测距方法应用于无人机自动巡线效果不理想的情况,本文提出了一种结合改进的 SIFT 算法的类单目的双目视觉测距方案,该方案创新性地采用两台摄像设备前后排列的方式,减少计算过程中的变量;采用缩小尺度空间个数、降低特征向量维度、街区距离代替欧式距离的方法改进 SIFT 算法,提高运算效率. 通过计算推导,证明了该方案的科学性;通过实验,验证了该方案的有效性,匹配时间缩短了 32%,测量最大误差率降至 3.75%,较单目视觉测距降低了 48.3%. 当然,目前将图像测距技术运用于无人机的巡线还处于探索阶段,在后续的工作中需要建立更加精确的模型,换用更高分辨率的摄像设备,以及继续改进算法以进一步缩短运算时间.

## 参考文献:

- [1] 陈奕君. 基于多传感器信息融合的机器人避障研究[D]. 大庆:东北石油大学,2004.
- [2] 张天,杨晨曦,朱颖,等. 多传感器信息融合在四足机器人避障中的应用[J]. 传感器与微系统,2015,34(5):150.
- [3] 汪启跃,王中字. 基于单目视觉的航天器位姿测量[J]. 应用光学,2017,38(2):250.
- [4] 陈爱鸾. 基于 SIFT 算子的双目视觉三维测量技术研究[D]. 广州:广东工业大学,2015.
- [5] 余彩云,胡贤洪,唐坤,等. 一种多目视觉三维测距系统设计[J]. 制导与引信,2015,36(9):20.
- [6] LOWE D G. Distinctive image features from scale-invariant key points [J]. International Journal of Computer Vision, 2004,60(2):91.
- [7] BAY H, ESS A, TUYTELAARS T, et al. Speeded-up robust features (SURF) [J]. Compute VisImage Underst,2008,110:346.

- [8] ALCANTARILLA P F, BARTOLI A, DAVISON A J. KAZE Features[C]//European Conference on Computer Vision, Berlin Heidelberg: Springer,2012:214.
- [9] ENDRES F,HESS J.3D mapping with an RGB-D camera [J]. IEEE Transactions on Robotics, 2014,30(1):177.
- [10] 宋佳乾,江西原.基于改进 SIFT 特征点匹配的图像拼接算法[J].计算机测量与控制,2015,23(2):512.
- [11] 刘佳,傅卫平,王雯,等.基于改进 SIFT 算法的图像匹配[J].仪器仪表学报,2013,34(5):1107.
- [12] 李奇敏,李扬宇.基于改进 SIFT 算法的双目视觉距离测量[J].传感器与微系统,2017,36(11):119.
- [13] 高宏伟,王辉,刘玉影,等.基于图像测距的汽车防撞系统关键技术研究[J].电子测量与仪器学报,2017,31(6):820.
- [14] 栾长一.基于定焦平移序列图像的测距技术研究[D].沈阳:沈阳理工大学,2013.

---

## 本刊数字网络传播声明

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



引用格式:朱颢东,薛校博,李红婵,等.海量数据下基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法[J].轻工学报,2018,33(5):97-102.

中图分类号:TP301 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.013

文章编号:2096-1553(2018)05-0097-06

# 海量数据下基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法

## Distributed FP-Growth algorithm based on Hadoop under massive data

朱颢东,薛校博,李红婵,孟颖辉

ZHU Haodong, XUE Xiaobo, LI Hongchan, MENG Yinghui

郑州轻工业学院 计算机与通信工程学院,河南 郑州 450001

School of Computer and Communication Engineering, Zhengzhou University of Light Industry,  
Zhengzhou 450001, China

关键词:

FP-Growth 算法;  
Hadoop; 数据分区; 分  
布式计算

Key words:

FP-Growth algorithm;  
Hadoop; data partition;  
distributed computing

**摘要:**针对大数据环境下的关联挖掘问题,采取两次扫描数据库,将事务添加到相互独立的数据分区的方式,对传统 FP-Growth 算法进行分布式改造,进而提出了基于 Hadoop 框架的分布式 FP-Growth 算法以实现海量数据的频繁模式 FP 挖掘。仿真结果表明,在数据处理量逐渐增大的过程中,该算法相比较传统算法其运行时间和内存消耗的优势愈加明显,当数据处理量达到 70 万条时,该算法比传统算法节省约 2/3 的运行时间,而内存消耗仅为传统算法的 1/5。说明该算法在处理海量数据时,能够显著提高 FP 的挖掘效率并降低内存的消耗量。

收稿日期:2018-05-16

基金项目:国家自然科学基金项目(61501405);河南省科技计划项目(152102210149,152102210357);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(XGGJS02);郑州轻工业学院研究生科技创新基金资助项目

作者简介:朱颢东(1980—),男,河南省虞城县人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为智能信息处理、智能计算。



**Abstract:** In view of the large data problem of association mining by the method of taking two times of scanning database and adding the transaction to the independent data partition, distributed renovation of traditional FP-Growth algorithm was taken, the distributed FP-Growth algorithm based on Hadoop framework was then put forward so as to realize the frequent pattern FP huge amounts of data mining. The simulation results showed that in the process of increasing data processing, the algorithm was compared with the traditional algorithm advantages of its running time and memory consumption were becoming ever more obvious. When the amount of data processing reached 700,000 items, the algorithm saved about 2/3 running time than the traditional algorithm, while the memory consumption was only 1/5 of the traditional algorithm. It showed that the algorithm could significantly improve the mining efficiency of FP and reduced the memory consumption when dealing with massive data.

## 0 引言

在大数据环境下,传统的关联挖掘算法难以满足要求,面临的主要难题有:单机情况下爬取海量数据消耗的时间太长,人们往往难以忍受<sup>[1]</sup>;单台服务器的存储空间远远无法满足海量数据的存储要求<sup>[2]</sup>;单机根本无法胜任对中间结果的计算<sup>[3]</sup>.因此,利用分布式存储和计算框架来处理海量数据下传统挖掘算法的并行挖掘工作遂成为研究热点.

FP-Growth 算法是 J. W. Han 等<sup>[4]</sup>在 2000 年提出的关联规则挖掘算法,它把数据存储在一一种称为频繁模式 FP(frequent pattern)树的紧凑数据结构中.目前,国内外已有诸多关于 FP-Growth 算法分布式方面的研究成果.黄明<sup>[5]</sup>使用格网划分结构对数据进行分区,其思想是使用平行于各数据轴的若干条分割线对数据空间进行划分,格网划分结构将数据空间划分成多个均匀或者不均匀的子数据空间,并且能够方便地表征这些子数据空间的大小和位置.这种划分结构可以使数据分区聚类的处理更加方便和直接.该分区方法虽然能保证各数据分区相互独立,但会导致数据有较高的冗余度.邱勇等<sup>[6]</sup>为了提高传统的 FP-Growth 算法的挖掘效率,提出了一种新的并行频繁模式 FP-Tree 构造算法(PFPTC),该算法并发地创建多个子 FP-Tree,但这实际上并不能算作真正意义上的

并行 FP-Growth 算法,而是一种 FP-Growth 算法内部各 FP-Tree 的合并,虽然一定程度上提高了数据挖掘能力,但挖掘效率和预期效果相距甚远<sup>[7]</sup>.茹蓓等<sup>[8]</sup>提出了针对少量实时数据流完全频繁项集的改进 FP-Growth 算法,使用改进的 FP-Tree 兼容地表示滑动窗口中的所有事务,建立一个完整的基树;利用事务的字母顺序实现基树的插入与删除操作;利用分组 Tree 结构对基树进行由上而下的遍历来建立项目树,以较低的计算成本发现完全的频繁项集.这种改进算法处理的是实时数据流,且基于最小支持度和运行时间这两个参数,确实降低了计算成本,但它通过遍历来处理数据,是一种单向、串行的方式,处理速率较慢,内存占用较大,容易使集群卡顿从而影响数据处理的效率,并不适合处理海量数据.

鉴于此,本文拟提出一种海量数据下基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法:通过两次扫描数据库,将事务添加到所对应的数据分区中,同时数据库被划分成几个独立的数据分区,在很大程度上降低了数据的冗余度;在 Hadoop 框架下,几个分区同时进行 FP 的挖掘,把不同机器上的结果聚合起来,筛选出低于阈值的频繁项集,以期解决海量数据下庞大的 FP-Tree 无法驻留在内存的问题,高效地实现在 Hadoop 框架下 FP 的分布式挖掘.

# 1 基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法

## 1.1 传统的 FP-Growth 算法

对于输入的事务数据库  $D$ , 统计所有事项中各元素的出现频次, 即每个 1 项集的频数, 并将各元素按照频数降序排列, 删除那些出现频数少于设定支持度  $min\_sup$  的元素, 形成列表  $L$ , 留下来的元素就构成了频繁 1 项集 (这是对数据集的第一遍扫描). 对数据集中每个事务的元素按照列表  $L$  排序 (按支持度降序排列), 开始构造 FP-Tree. 树的根节点为空, 每个事务中的所有元素形成一条从根节点到子节点的路径. 若几个事务的元素按列表  $L$  排序后, 具有相同的前  $N$  个元素, 则它们在 FP-Tree 中共享前  $N$  个元素代表的节点. 树中每个节点的计数为路径经过该节点的事务集的个数 (这是对数据集的第二遍扫描). 整个挖掘的过程分为两步: 首先, 扫描数据库的所有事务以获得频繁项集, 依据频繁项集构造项目头表, 根据项目头表构造出 FP-Tree; 然后, 挖掘 FP-Tree 中的所有频繁项集<sup>[9]</sup>. 其流程如图 1 所示.

## 1.2 基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法

### 1.2.1 算法思路

传统的 FP-Growth 算法的核心思想是根据原始数据库在内存中构造出 FP-Tree 这个精巧的数据结构, 再对 FP-Tree 不断地进行递归挖掘<sup>[10]</sup> 以得到完备的 FP. 但在海量数据的现状下, FP-Tree 已经大到无法保存在计算机的内存中, 这就不可能通过不断地递归挖掘来获得频繁项集. 因此, 并行化是唯一的选择.

既然传统的 FP-Growth 算法不能应对海量数据的挖掘任务, 就需要对其进行分布式改造<sup>[11]</sup>. 首先扫描一次数据库, 得到每个项的出现频率 (即频繁项), 删除频率小于最小支持度<sup>[12]</sup> 的项, 依据频繁项构造一个频繁项列表

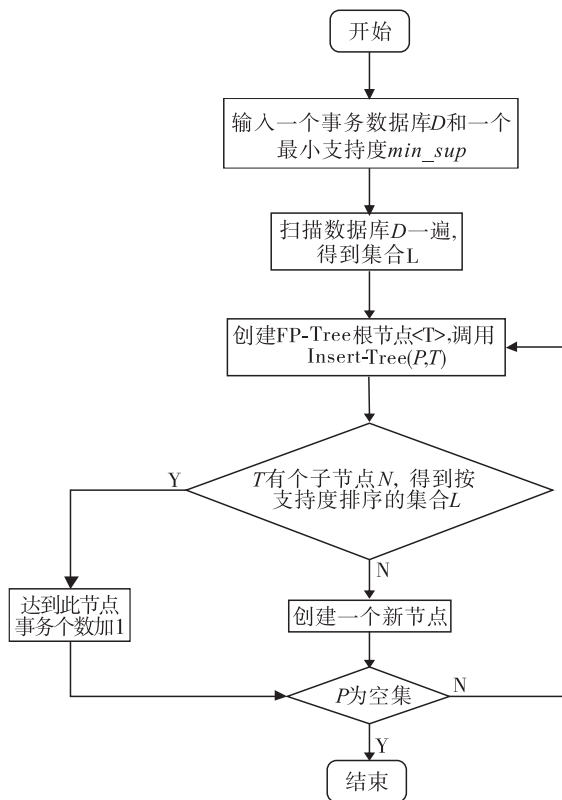


图 1 FP-Growth 算法流程图

Fig. 1 FP-Growth algorithm flow chart

$F\_list$ , 并将  $F\_list$  分组, 形成对应数量的  $G\_list$ ; 第二次扫描数据库, 取出第一条事务数据<sup>[13]</sup>, 构建 FP-Tree 的第一条路径 (项的排序与第一次扫描中得到的频繁项集合的排序一致), 然后取出第二条事务数据, 如果前面节点上有与第一条路径相同的元素, 则该节点所在元素数目值加 1, 如果后面的节点上没有相同的元素, 则创建新的路径. 依次类推, 取出数据库中剩余的若干条事务数据, 就形成了含有若干子节点的 FP-Tree 数据结构. 这样, 数据库中的事务数据就被压缩成为简洁的 FP-Tree 数据结构,  $G\_list$  则被包含在对应的数据分区中, 数据库被划分成了几个数据分区. 这种对数据库的分区方法在保证各分区独立性的同时, 也在很大程度上降低了数据的冗余度<sup>[14]</sup>.

在 Hadoop 框架下, 几个分区同时进行 FP 挖掘, 最后通过主节点将统计结果进行聚合, 筛

选出不低于阈值的数据. 这样就可以解决海量数据下庞大的 FP-Tree 无法驻留在内存的问题, 高效地实现在 Hadoop 框架下 FP 的分布式挖掘.

**1.2.2 FP-Growth 算法的算法流程** 在 Hadoop 框架中, 其 MapReduce 主要由 Map 和 Reduce 这两个函数组成<sup>[15]</sup>, Map 函数把任务分解成多个子任务, Reduce 函数把分解后的多个子任务的处理结果聚集起来, Hadoop 的工作示意图如图 2 所示.

在 Hadoop 框架下, 基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法流程图如图 3 所示, 具体步骤如下.

**步骤 1 数据库分区:** 将原始的整个数据库进行分区, 这些分区是连续的, 每一台服务器上都有一个分区, 这些分区称作 *shard*.

**步骤 2 计算  $F\_list$ ,** 也就是所有 *item* 的 *support count*, 通过 Hadoop 框架来完成.

**步骤 3  $item$  分组:** 将  $F\_list$  里的 *item* 分成  $N$  组, 行成一个 *group\_list*, 其中的每一个 *group* 都被分配一个 *group\_id*, 每个 *group\_list* 都包含一组 *item* 的集合, 去除结果中常用的单字词, 将剩下的词语序列放入候选词集中.

**步骤 4 FP-Growth 算法的分布式操作:** 在

Hadoop 框架中, 利用第一步 *shard* 的数据库分区, 逐个地去处理所在数据库分区中的每一条事务, 将单个的事务 *transaction* 分成多个 *item*, 根据 *group\_list* 把单个 *item* 映射到所对应的 *group* 里. 依照这样的映射规则, 利用 Map 函数, 将相同 *group* 的 *item* 集合聚合到一台服务器上, 产生完备数据集. 接下来利用 Reduce 函数处理上一步获得的中间结果.

**步骤 5 聚合:** 通过主节点将各从机的统计结果进行聚合, 筛选出不低于阈值的数据.

## 2 仿真实验

### 2.1 实验平台与测试数据

为了验证本文算法的有效性, 将其与传统的 FP-Growth 算法和 PFPTC 算法进行对比实验. 实验平台为 4 台安装 Linux 系统服务器的 Hadoop 2.0.4 平台, 主设备节点采用 Intel i7 处理器, 内存为 8 GB; 从设备节点采用 Intel i7 处理器, 主频为 3.6 GHz, 内存为 4 GB. 测试数据是用 python 爬虫程序爬取的 30 万条微博数据和通过新浪微博官方 API 接口获取的 40 万条微博数据, 共计 70 万条微博数据, 将微博的用户数据和发布的微博内容从网络上下载到本地数据库存储, 在存入数据库之前要经过数据的

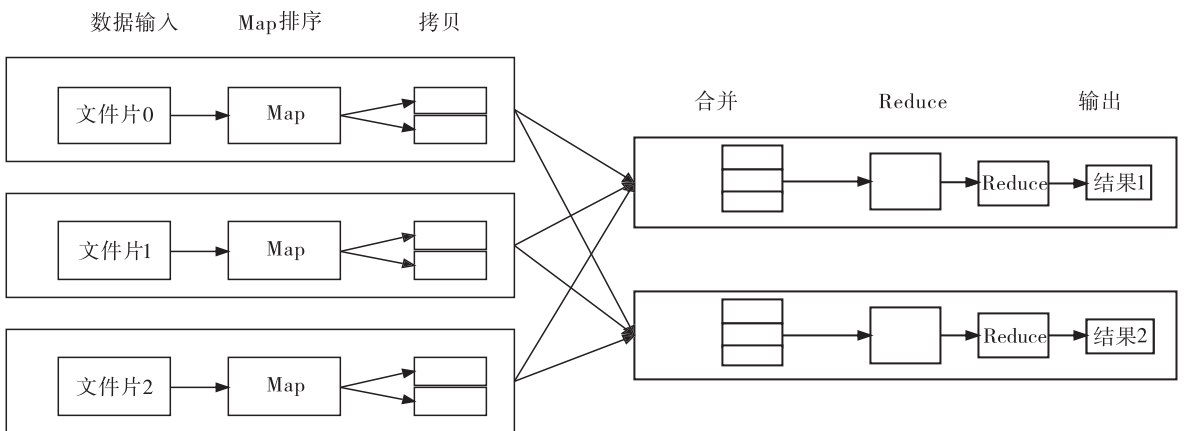


图 2 Hadoop 工作示意图

Fig. 2 Schematic diagram of Hadoop work

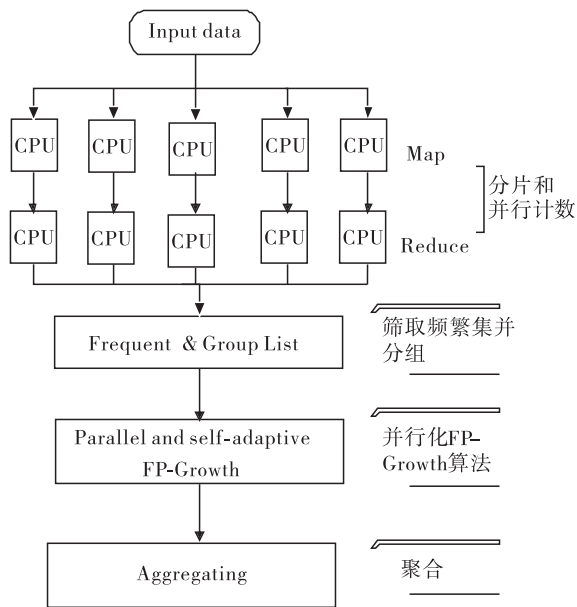


图3 基于 Hadoop 的分布式 FP-Growth 算法流程图

Fig. 3 Flow chart of distributed FP-Growth algorithm based on Hadoop

筛选和清洗等操作. 网络爬虫能够从新浪微博中将所需要数据下载并通过一系列操作存入到磁盘中, 爬取数据和清洗后的数据留作分析使用.

## 2.2 实验结果与分析

处理 10 ~ 70 万条微博数据的事务, 将采用传统 FP-Growth 算法、PFPTC 算法与本文算法所需的运行时间和内存消耗量进行比较, 结果分别见图 4 和图 5.

从图 4 可以看出, 数据量仅为 10 万条时, 3 种算法在运行时间上差别不大, 主节点耗时统计结果 (主节点只负责显示耗时量和内存消耗量, 并不处理数据) 分别为 15 s, 10 s 和 6 s. 当处理的数据为 40 万条时, 传统 FP-Growth 算法耗时 44 s, 每个从节点大约耗时十几 s; PFPTC 的算法耗时 24 s, 各从节点大约耗时 6 s; 本文算法耗时仅为 13 s, 每个从节点大约耗时 3 ~ 4 s. 当数据量达到 70 万条时, 本文算法仅用时 20 s, 而传统的 FP-Growth 算法耗时达到了

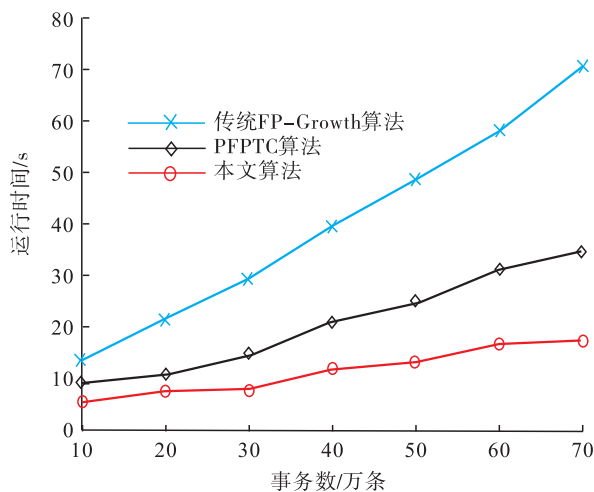


图4 3种算法的运行时间对比结果

Fig. 4 Running time comparison results of three algorithms

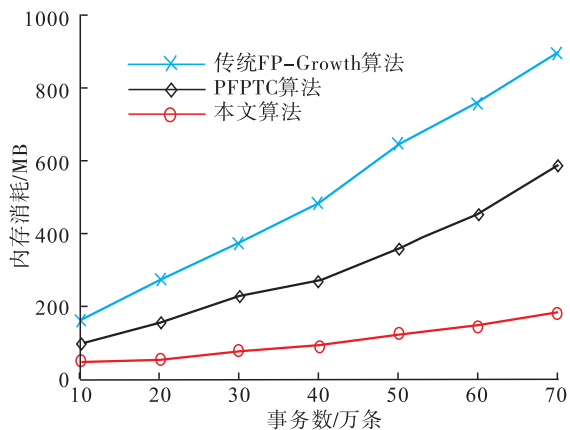


图5 3种算法的内存消耗对比结果

Fig. 5 Comparison of memory consumption between three algorithms

79 s, 本文算法比传统的 FP-Growth 算法节省了近 2/3 的时间. 从图 4 中 3 条线的斜率还可以看出, 随着处理数据量的增加, 传统 FP-Growth 算法耗时的斜率最大, 改进算法适中, 而本文算法增速趋于平缓. 由此可知, 本文并行算法在处理海量数据时, 在运行时间上更具优势.

从图 5 可以看出, 数据量为 10 万条时, 使用 3 种算法处理所消耗的内存已有所差异. 主节点统计结果为: 传统 FP-Growth 算法消耗了 158 MB 内存, PFPTC 算法为 100 MB 内存, 而本

文算法仅消耗 47 MB 内存. 随着处理数据量的增长, 当处理的数据量达到 70 万条时, 传统 FP-Growth 算法消耗 893 MB, PFPTC 算法消耗 587 MB, 本文算法消耗 183 MB, 传统算法消耗内存是本文算法的 5 倍之多. 从图 5 还可以看出, 传统 FP-Growth 算法和 PFPTC 算法处理数据所占用消耗的内存增速比较明显, 而本文算法处理时对内存的消耗并没有明显的增长, 这表明在处理海量数据时, 并行处理算法是更具优势的.

分析其原因, 本文算法与传统的 FP-Growth 算法和 PFPTC 算法相比, 其主要差异在于对输入的原始数据进行分区, 各分区的微博数据分别在集群的各个从节点上, 利用 Hadoop 分布式框架进行实现. 这样, 在海量数据下就实现了庞大数据结构 FP-Tree 的“拆分”, 使其可以驻存于各服务器的内存中. 这不仅完成了在海量数据下频繁项集的挖掘任务, 而且利用 Hadoop 并行框架能显著提高算法的执行效率, 降低单个节点计算过程中的计算量, 也降低处理数据时对内存的消耗量, 从而提高算法的执行效率.

### 3 结语

针对海量数据下传统的 FP-Growth 算法所构建的 FP-Tree 太大而增加挖掘负担和占用内存较多的问题, 本文提出了基于 Hadoop 框架的分布式 FP-Growth 算法. 该算法首先对数据分区, 扫描一次数据库, 构造出一个频繁项列表并分组, 之后再次扫描数据库中的每一条事务, 如果该事务包含了一个组中的项, 那么这条事务就被添加到这个组所对应的数据分区中, 而每个数据分区由组和组列表构成, 这样所获得的数据就具有完备性, 而且几个数据分区也相互独立; 然后对不同的数据分区在 Hadoop 框架下进行 FP-Growth 算法的分布式挖掘, 由 Map 函数获得中间结果, Reduce 函数输出结果; 最后

主节点把各从节点的结果聚合, 筛选出低于阈值的频繁项集, 从而完成在海量微博数据下的挖掘工作. 仿真实验结果表明, 处理同样的微博数据时, 在得到相等的频繁项数的情况下, 本文算法的挖掘效率和对内存的消耗量明显优于传统的 FP-Growth 算法和 PFPTC 算法. 但本文没有考虑各节点的负载均衡, 有可能造成有些节点“负担过重”, 而有些节点“过于清闲”, 从而影响到执行效率, 这也是后续工作需要研究的重点.

### 参考文献:

- [1] 刘智勇. 关联规则挖掘的并行化算法研究 [D]. 南京: 东南大学, 2016.
- [2] 董金凤. 数据挖掘中关联规则算法的改进与并行化处理 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨理工大学, 2016.
- [3] 孙兵率. 基于 MapReduce 的数据挖掘算法并行化研究与应用 [D]. 西安: 西安工程大学, 2015.
- [4] HAN J W, PEI J, YIN Y W. Mining frequent patterns without candidate generation [C] // Proceedings of the ACM SIGMOD International Conference on Management of Data, New York: ACM, 2000: 1.
- [5] 黄明. 基于空间分区的空间聚类研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2010.
- [6] 邱勇, 兰永杰. 高效 FP-TREE 创建算法 [J]. 计算机科学, 2004(10): 98.
- [7] 赵兰草. QAR 数据的异常检测与分析算法研究 [D]. 天津: 中国民航大学, 2014.
- [8] 茹蓓, 贺新征. 高效的数据流完全频繁项集挖掘算法 [J]. 计算机工程与设计, 2017, 38(10): 2759.
- [9] 王翔. 基于云计算棉花仓储海量数据挖掘算法研究 [D]. 北京: 首都师范大学, 2014.



引用格式:陈欣,于俊洋,赵媛媛.基于CNN和B-LSTM的文本处理模型研究[J].轻工学报,2018,33(5):103-108.

中图分类号:TP391.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.014

文章编号:2096-1553(2018)05-0103-06

# 基于 CNN 和 B-LSTM 的文本处理模型研究

## Research on text processing model based on CNN and B-LSTM

陈欣<sup>1</sup>,于俊洋<sup>1,2</sup>,赵媛媛<sup>2</sup>  
CHEN Xin<sup>1</sup>,YU Junyang<sup>1,2</sup>,ZHAO Yuanyuan<sup>2</sup>

1. 河南大学 软件学院,河南 开封 475000;
  2. 赛尔网络有限公司,北京 100084
1. College of software, He'nan University, Kaifeng 475000, China;  
2. Saier Network Co., Ltd., Beijing 100084, China

**关键词:**  
文本情感分类;卷积神经网络;长短时记忆网络;PaddlePaddle

**Key words:**  
text sentiment classification; CNN; LSTM; PaddlePaddle

**摘要:**针对文本情感分类准确率不高的问题,在卷积神经网络 CNN 和栈式双向长短时记忆网络 B-LSTM 的基础上,提出了一种新的情感分析训练模型 CNN-B-LSTM. 该模型利用 CNN 的卷积操作对词向量进行处理,提取词向量的强度特征,再输入到 B-LSTM 中进行上层建模,对句子进行处理. 结果表明: CNN-B-LSTM 模型的情感分类准确率比 CNN 和 B-LSTM 模型更高,差错率大约分别降低了 4% 和 1%,具有一定的效果优势.

收稿日期:2018-05-24

基金项目:河南省科技厅计划发展项目(182102210229);赛尔网络下一代互联网创新项目(NGH20160204)

作者简介:陈欣(1995—),男,河南省商丘市人,河南大学硕士研究生,主要研究方向为深度学习.

通信作者:于俊洋(1982—),男,河南省淮阳县人,河南大学讲师,博士,主要研究方向为云计算、并行与分布式系统.

**Abstract:** Aiming at the problem of low accuracy of text sentiment classification, CNN-B-LSTM, a new sentiment analysis training model based on CNN and B-LSTM was presented. The convolution operation processed the word vector to extract the intensity characteristics of the word vector, and then inputed it into the B-LSTM to perform the upper level modeling and used it to process the sentences. The results showed that the proposed CNN-B-LSTM model had higher sentiment classification accuracy, the error rates decreased by 4% and 1%, respectively. It was superior to B-LSTM and CNN models in sentiment classification.

## 0 引言

随着互联网技术的蓬勃发展,网络终端数量飞速增长,人们获得网络信息的来源越来越多.微博、论坛、贴吧等信息来源受到广大网民的关注.这些信息会起到引导舆论的作用,若其中包含虚假有害的信息和言论,则会产生负面作用,甚至造成恶劣的社会影响.但是这些信息大多以文本为载体,人工进行分析,耗费巨大,因此,如何通过计算机技术快速地对这些文本包含的情感进行准确分类,便成为自然语言和人工智能领域研究的热点.

目前,文本情感分类的研究主要运用基于情感词典的方法和基于机器学习的方法.其中,基于情感词典的研究方法从词语或词义的相似度和关联性出发,对文本中的词语和词典中收录的具有情感倾向的词语进行强度信息对比,然后对词语的情感倾向进行聚合,从而得到句子的情感倾向性<sup>[1]</sup>. H. Yu 等<sup>[2]</sup>在已有的情感词典词语之上,用 PMI 算法计算文本中词语的情感极性以获得情感倾向. A. Budanitsky 等<sup>[3]</sup>通过在 WordNet 中计算词语与标准词语的距离,对比其情感相似度,进而对词语的情感倾向性进行分析. L. Velikovich 等<sup>[4]</sup>使用每个短语的上下文词语去描述网络文本中的短语.基于情感词典的方法能充分利用已有的情感资源,对规范性文本的情感分类效果较好.但是基于情感词典的方法在很大程度上依赖于情感词典的质量和覆盖度,对不同领域的文本分析往往需要人工调整词典,灵活性较差.

B. Pang 等<sup>[5]</sup>是第一个利用基本的词特征和机器学习相结合的方法研究情感分类问题的.此后,以传统机器学习为核心的情感分析模型层出不穷. S. M. Kim 等<sup>[6]</sup>基于对句子进行褒贬分类,在传统的 n-gram 模型上加入了位置和评价词语的特征,然后用最大熵分类器进行情感分类,效果很好. J. Read 等<sup>[7]</sup>提出了一种不依赖于领域、主题和时效的半监督机器学习算法来研究情感分类.以特征选择和特征提取为核心的基于机器学习的方法,比较依赖于人工构建和提取的特征,而特征越多,人工成本越大.因此,基于深度学习的方法遂成为研究热点.

Y. Bengio 等<sup>[8]</sup>首先用神经网络训练词语的分布式向量表示,实现了对语言模型的建模,但并没有指出哪一套向量效果最好. S. Hochreiter 等<sup>[9]</sup>提出了 LSTM 与 RNN 网络结合模型,可充分地利用上下文信息,但该模型只具有前向信息记忆,对前后向序列信息不能进行记忆. R. Collobert 等<sup>[10]</sup>提出在语言顺序标注中运用神经网络,具有良好的性能和恰当的特征,但第一层词向量初始化结果对最终训练效果影响较大,需要大量无标记数据. Y. Kim<sup>[11]</sup>提出了基于 CNN 的句子分类模型,在多个公共数据集上取得较好的分类效果,但对长文本分析能力较差.

鉴于此,本文拟结合卷积神经网络 CNN 和栈式双向长短时记忆网络 B-LSTM,提出一种新的情感分析训练模型 CNN-B-LSTM,利用 CNN 的卷积操作对词向量进行处理,提取词向量的

强度特征,再输入到 B-LSTM 中进行上层建模,用其对句子进行处理,以期提高文本情感分类的准确率。

## 1 相关研究

### 1.1 卷积神经网络 CNN

卷积神经网络 CNN 是一种前馈神经网络,由一个或多个卷积层和顶端的全连通层(对应经典的神经网络)组成,CNN 文本卷积网络<sup>[12]</sup>是从词向量到句子进行完整表示的一种特殊的方法,其处理步骤可分为以下 3 步。

**步骤 1** 假设待处理句子的长度为  $n$ ,其中第  $i$  个词向量为  $\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_i \in R^k, k$  为维度大小.用每个单词左右两边相同的近邻,拼接成一个新的向量表示.将每  $h$  个词拼接起来形成一个大小为  $h$  的词窗口,记为  $\mathbf{x}_i^{i+h-1}$ ,它表示词序列  $\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_{i+1}, \dots, \mathbf{x}_{i+h-1}$  的拼接,其中,  $i$  表示词窗口中的第一个词在句子中的位置,取值从 1 到  $n-h+1, \mathbf{x}_i^{i+h-1} \in R^{hk}$ .

**步骤 2** 卷积操作:把卷积核  $filter\_size \times embedding\_size$  应用于包含  $h$  个词的窗口  $\mathbf{x}_i^{i+h-1}$ ,进行非线性变换得到新的向量特征为

$$\mathbf{c}_i = f(w \cdot \mathbf{x}_i^{i+h-1} + b)$$

其中,  $b \in R$  为偏置项,  $f$  为非线性激活函数。

将卷积核应用于句子中所有的词窗口  $\mathbf{x}_1^h, \mathbf{x}_2^{h+1}, \dots, \mathbf{x}_{n-h+1}^n$ ,产生一个特征图:

$$\mathbf{c} = \{c_1, c_2, \dots, c_{n-h+1}, c \in R^{n-h+1}\}$$

**步骤 3** 对特征图进行最大池化,得到此卷积核对应的整句话的特征  $\hat{c}$ ,它是特征图中所有元素的最大值:

$$\hat{c} = \max(c)$$

### 1.2 栈式双向长短时记忆网络 B-LSTM

长短时记忆神经网络 LSTM (long-short term memory) 是一种时间递归神经网络,可以解决较长的序列数据,由 S. Hochreiter 等<sup>[9]</sup>提出. LSTM 由输入层、隐藏层、输出层构成,其中

隐藏层又由一系列递归的记忆模块组成. LSTM 增加了输入门  $i$ , 输出门  $o$ , 遗忘门  $f$  和记忆单元  $c$ , 这些门和记忆单元组合起来可极大地提升 LSTM 处理长序列数据的能力. 若将长短时记忆网络表示的函数记为  $F$ , 则其公式为

$$h_t = F(x_t, h_{t-1})$$

其中,  $F$  由下列公式组合而成:

$$i_t = \sigma(W_{xi}x_t + W_{hi}h_{t-1} + W_{ci}c_{t-1} + b_i)$$

$$f_t = \sigma(W_{xf}x_t + W_{hf}h_{t-1} + W_{cf}c_{t-1} + b_f)$$

$$c_t = f_t \odot c_{t-1} + i_t \odot \tanh(W_{xc}x_t + W_{hc}h_{t-1} + b_c)$$

$$o_t = \sigma(W_{xo}x_t + W_{ho}h_{t-1} + W_{co}c_t + b_o)$$

$$h_t = o_t \odot \tanh(c_t)$$

式中,  $i_t, f_t, c_t, o_t$  分别表示输入门、遗忘门、记忆单元和输出门的向量值;带角标的  $W$  和  $b$  为模型参数;  $\tanh$  为双曲正切函数;  $\odot$  表示逐元素乘法操作。

对于正常顺序的循环神经网络,  $h_t$  包含了  $t$  时刻之前的输入信息,也就是上文信息. 同样,为了得到下文信息,可以使用反方向的神经网络,即将输入逆序处理. 为此,本文通过两个 LSTM 相叠加来构成 B-LSTM,以对文本数据进行建模。

## 2 CNN-B-LSTM 模型构建

卷积神经网络 CNN 的卷积层可以把长度为  $K$  的一组序列转换成长度为  $K$  的输出序列,而长短时记忆网络 LSTM 则可以把长度为  $K$  的一组序列转换成任意一组序列输出. 本文先采用卷积神经网络 CNN 对输入的文本向量进行初步的平滑滤噪声操作,提取一系列更高级别的短语代表,再堆叠在栈式双向长短时记忆网络上进行上层的建模处理,用来获得句子的表示。

一维卷积涉及在序列上滑动并在不同位置处检测特征的滤波器向量. 令  $\mathbf{x}_i \in R^d$  是句子中第  $i$  个词的  $d$  维词向量,  $\mathbf{x}_i \in R^{L \times d}$  表示输入句



子,其中  $L$  是句子的长度. 令  $k$  是滤波器的长度,并且向量  $\mathbf{m} \in R^{k \times d}$  是用于卷积运算的滤波器,对于句子中的每个位置  $j$ ,具有  $k$  个连续单词向量的窗口向量  $\mathbf{w}_j$ ,表示为

$$\mathbf{w}_j = [x_j, x_{j+1}, \dots, x_{j+k-1}]$$

其中,逗号表示行向量连接.

滤波器  $m$  以有效方式与每个位置处的窗口进行向量卷积以产生特征映射  $c \in R^{L-k+1}$ ;用于窗口向量  $\mathbf{w}_i$  的特征映射的元素  $c_j$  为

$$c_j = f(\mathbf{w}_j \odot \mathbf{m} + b)$$

其中,  $f$  是非线性变换 sigmoid 函数.

CNN-B-LSTM 模型使用多个滤波器来生成多个特征图.

对于具有相同长度的  $n$  个滤波器,生成的  $n$  维特征图可以被重新排列成窗口  $\mathbf{w}_j$ ,每个窗口  $\mathbf{w}_j$  的特征表示为

$$\mathbf{w}_j = [c_1; c_2; \dots; c_n]$$

其中,分号表示列向量连接,  $c_i$  是使用第  $i$  个过滤器生成的特征图,  $W \in R(L-k+1) \times n$  的每一行  $\mathbf{w}_j$  是从位置  $j$  处的窗口向量的  $n$  个滤波器产生的新特征表示. 新的连续的高阶窗口表示被送到下一步的 B-LSTM 中. 由于 LSTM 被明

确地用于学习长期依赖性的时间序列数据,因此,在卷积层上选择 B-LSTM 学习在更高级特征的序列中的依赖性. 对于文本分类,将 B-LSTM 最后一个时间的隐藏状态的输出视为文档表示,并在顶部添加一个 softmax 图层,通过最小化交叉熵误差来训练整个模型. CNN-B-LSTM 的训练模型如图 1 所示.

### 3 实验与结果分析

本次实验数据集为 UCI 公开数据集上的 Amazon Book Reviews,在 PaddlePaddle 上进行实验验证. 本次实验数据采用交叉验证法来采集数据,每本书随机选取 11 000 条数据,按照标签分类,其中 10 000 条分成 10 组,每组 1000 条,第一次训练,用 1—9 组作为训练数据,第 10 组作为测试数据;第二次训练用 1—8 组和第 10 组作为训练数据,第 9 组作为测试数据;第三次训练用 1—7 组、第 9 组和第 10 组作为训练数据,第 8 组作为测试数据. 以此类推,训练 10 次,取 10 次训练错误率和测试错误率的平均数. 另外的 1000 条无标签的数据作为样本数据,用于测试泛化错误率.

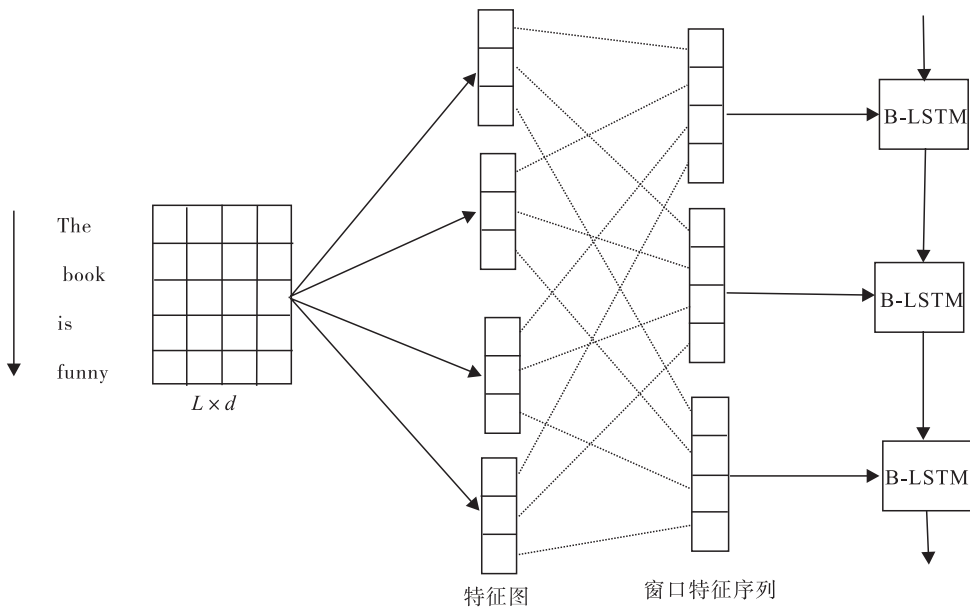


图 1 CNN-B-LSTM 训练模型

Fig. 1 CNN-B-LSTM training model

从模型训练的输出日志得出的结果输出参数详解见表 1. 对 8 本书中不同误差类型的书评在不同的模型网络上进行实验后求平均值,得到的 3 种模型对比实验的错误率见表 2.

表 1 结果输出参数详解

Table 1 Detailed explanation of the result output parameter

参数	解释
Batch = 100	表示过了 100 个 batch
samples = 1000	表示过了 1000 个样本
AvgCost	每个 pass 的第 0 个 batch 到当前 batch 所有样本的平均 cost
CurrentCost	当前 log_period 个 batch 所有样本的平均 cost
Eval: classification_error_evaluator	每个 pass 的第 0 个 batch 到当前 batch 所有样本的平均分类错误率
CurrentEval: classification_error_evaluator	当前 log_period 个 batch 所有样本的平均分类错误率

表 2 3 种模型对比实验的错误率

Table 2 Error rates of comparative experiment result of three kinds of model %

误差类型	CNN	B-LSTM	CNN-B-LSTM
训练误差	19.328	16.412	15.325
泛化误差	23.682	20.019	18.693
测试误差	22.941	19.953	18.923

由表 2 可知,3 种训练模型中的泛化误差通常都高于训练误差(约 4%),其主要原因是数据过拟合. CNN 模型中泛化误差与测试误差大约相差 0.7%,B-LSTM 模型中泛化误差与测试误差大约相差 0.06%,CNN-B-LSTM 模型中泛化误差与测试误差大约相差 0.23%,这是因为泛化误差是用已经标记好的数据集来对模型进行测试得出的结果,针对的是少量的样本数据集,故误差会偏大. 测试误差是用无标签的数据集对分类模型进行测试所得,与训练数据集一起经过 10 次的迭代测试过程,故测试误差虽然接近泛化误差,但一般略小于泛化误差.

综合对实验结果的分析可知,本文提出的

CNN-B-LSTM 模型在分类效果方面较 CNN 模型和 B-LSTM 模型更好,比 CNN 模型的错误率降低了将近 4%,比 B-LSTM 模型的错误率降低了将近 1%. 由于本文提出的 CNN-B-LSTM 模型在进行实验训练时,使用了抽象的含义向量,第一步进行的 CNN 卷积操作可以起到近似于特征提取的作用,因此,其分类效果优于传统的 CNN 和 B-LSTM,实验结果的数据之对比也证实了这一点.

## 4 结语

针对文本情感分类准确率不高的问题,本文提出了一种结合卷积神经网络 CNN 和栈式双向长短时记忆网络 B-LSTM 的新的情感分析训练模型 CNN-B-LSTM,即首先通过 CNN 对句子进行特征提取操作,再用 B-LSTM 对其进行上层建模,最后通过 softmax 分离器构建分类模型. 结果表明,本文提出的 CNN-B-LSTM 模型的情感分类效果相较于 CNN 模型和 B-LSTM 模型都有了一定的改进. 但是,本文实验训练数据为英文数据,没有使用中文数据,下一步研究工作是尝试使用本模型对中文数据进行训练与分析,并尝试使用不同的深度学习框架对自然语言进行处理.

## 参考文献:

- [1] 王雪娇. 基于深度学习的文本情感分析[D]. 长春:吉林大学,2016.
- [2] YU H, HATZIVASSILOGLOU V. Towards answering opinion questions: separating facts from opinions and identifying the polarity of opinion sentences[C] // Proceedings of Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing, Sapporo: ACL, 2003: 129.
- [3] BUDANITSKY A, HIRST G. Evaluating wordnet-based measures of lexical semantic relatedness[J]. Computational Linguistics, 2006, 32(1):

- 13.
- [4] VELIKOVICH L, BLAIR-GOLDENSOHN S, HANNAN K, et al. The viability of web-derived polarity lexicons [C] // Proceedings of Annual Conference of the North American Chapter of the Association for Computational Linguistics, Los Angeles: NAACL, 2010: 777.
- [5] PANG B, LEE L, VAITHYANATHAN S. Thumbs up sentiment classification using machine learning techniques [C] // Proceedings of Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing, Philadelphia: ACL, 2002: 79.
- [6] KIM S M, HOVY E H. Automatic identification of pro and con reasons in online reviews [C] // Proceedings of the Meeting of the Association for Computational Linguistics, Sydney: ACL 2006: 483.
- [7] READ J, CARROLL J. Weakly supervised techniques for domain-independent sentiment classification [C] // Proceedings of Conference on Information and Knowledge Management, Hongkong: ACL, 2009: 45.
- [8] BENGIO Y, DUCHARME R, VINCENT P, et al. A neural probabilistic language model [J]. The Journal of Machine Learning Research, 2003 (3): 1137.
- [9] HOCHREITER S, SCHMIDHUBER J. Long short-term memory [J]. Neural Computation, 1997, 9(8): 1735.
- [10] COLLOBERT R, WESTON J. A unified architecture for natural language processing: deep neural networks with multitask learning [C] // Proceedings of International Conference on Machine Learning, Helsinki: ICML, 2008: 160.
- [11] KIM Y. Convolutional neural networks for sentence classification [C] // Proceedings of Empirical Methods in Natural Language Processing, Doha: ACL, 2014: 1746.
- (上接第 102 页)
- [10] 周诗慧. 基于 Hadoop 的改进的并行 Fp-Growth 算法 [D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [11] 邵伟. 基于 FP-Tree 的关联规则挖掘算法研究 [D]. 西安: 西安电子科技大学, 2010.
- [12] 朱付保, 白庆春, 汤萌萌, 等. 基于 MapReduce 的数据流频繁项集挖掘算法 [J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2017, 51(4): 429.
- [13] 白川平, 杨志翀. 基于加权滑动窗口的数据流频繁项集挖掘算法 [J]. 宁夏师范学院学报, 2017, 38(6): 49.
- [14] 胡健, 吴毛毛. 一种改进的数据流最大频繁项集挖掘算法 [J]. 计算机工程与科学, 2014, 36(5): 963.
- [15] 刘慧婷, 侯明利, 赵鹏, 等. 不确定数据流最大频繁项集挖掘算法研究 [J]. 计算机工程与应用, 2016, 52(19): 72.

# 轻工学报<sup>®</sup>

JOURNAL OF LIGHT INDUSTRY

(双月刊·1986年创刊)  
2018年第5期 第33卷总第153期  
2018年9月15日出版

(Bimonthly, Started in 1986)  
No.5 2018 Vol.33 Sum No.153  
Published on Sep.15, 2018

主管单位 河南省教育厅  
主办单位 郑州轻工业学院  
编辑出版 《轻工学报》编辑部  
(通信地址:郑州市金水区东风路5号  
邮政编码:450002  
电话:0371-63556285 63556772  
电子信箱:qgxb@zzuli.edu.cn  
网络地址: <http://xb.zzuli.edu.cn>  
在线投稿: <http://zzqb.cbpt.cnki.net>  
新浪微博:郑州轻院学报)

主 编 张福平  
副 主 编 邹琳  
印刷单位 郑州豫兴印刷有限公司  
发行范围 公开发行  
国内发行 河南省邮政发行局  
国外发行 中国出版对外贸易总公司(北京782信箱)  
订 阅 全国各地邮局

Supervised by Education Department of He'nan Province  
Sponsored by Zhengzhou University of Light Industry  
Edited & Published by Editorial Department of Journal of  
Light Industry  
(Address: No.5 Dongfeng Road, Zhengzhou, China  
Postcode: 450002 Tel: 86-371-63556285 63556772  
E-mail: qgxb@zzuli.edu.cn URL: <http://xb.zzuli.edu.cn>  
Online Submission Website: <http://zzqb.cbpt.cnki.net>  
Micro-blog of Sina: Journal of ZZULI)

Editor in Chief Zhang Fuping  
Deputy Editor in Chief Zou Lin  
Printed by Zhengzhou Yuxing Printing Co., Ltd.  
Distributing Range Within and out of China  
Distributed by Office of Postal Distribution of He'nan  
Province  
Distributed Abroad by China National Publications Export  
Trading Corporation (P. O. Box782, Beijing, China)  
Subscribed by Post Offices in China

ISSN 2096-1553 (国际标准连续出版物号)

CN 41-1437/TS (国内统一连续出版物号)

国内邮发代号: 36-151

国外邮发代号: NTZ1036

定价: 10.00 元