



引用格式:魏涛,赵彩梦,郝未未,等.果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达与纯化及其酶学性质研究[J].轻工学报,2020,35(3):1-10.

中图分类号:TS41⁺3 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.001

文章编号:2096-1553(2020)03-0001-10

果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达与纯化及其酶学性质研究

Expression and purification of fructosyl transferase AoFT in *Pichia pastoris* and study on its enzymatic properties

魏涛^{1,2},赵彩梦¹,郝未未¹,黄申¹,毛多斌^{1,2}

WEI Tao^{1,2}, ZHAO Caimeng¹, JIA Weiwei¹, HUANG Shen¹, MAO Duobin^{1,2}

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 河南省食品生产与安全协同创新中心,河南 郑州 450001

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

2. He'nan Collaborative Innovation Center for Food Production and Safety, Zhengzhou 450001, China

摘要:利用基因工程技术方法,将构建的重组质粒 pPICZ α A-AoFT 线性化后,经电转化导入毕赤酵母 X33 (*Pichia pastoris* X33) 中,构建重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33,实现果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达,进而研究纯化后的果糖基转移酶 AoFT 的酶学性质.结果表明:pPICZ α A-AoFT/X33 随发酵时间的增加而快速繁殖,菌体 OD₆₀₀ 值于发酵时长 120 h 时达到峰值,此时发酵液胞外总蛋白质量浓度为 1.64 mg/mL;纯化后的果糖基转移酶 AoFT 的比活力为 71.4 U/mg,产率达 70.6%;PNGase F 酶切反应证实纯化后的果糖基转移酶 AoFT 发生了 N-糖基化反应;果糖基转移酶 AoFT 的最适反应温度为 45 °C,最适缓冲体系为醋酸钠缓冲液(pH 值为 4.5~6.0);金属离子 Mn²⁺, Ca²⁺ 对果糖基转移酶 AoFT 具有激活作用,而 Al³⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺ 和 EDTA 对果糖基转移酶 AoFT 具有抑制作用;表面活性剂 SDS,吐温 20 和 Triton X-100 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性影响较小,还原剂 DTT 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性具有明显的抑制作用,酶抑制剂 PMSF 低浓度时对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性无显著影响,高浓度时可使酶活性降低;果糖基转移酶 AoFT 对有机溶剂乙醇、二甲基亚砜、二甲基甲酰胺、正丁醇、正己烷和甲苯具有较强的抗性.

关键词:

果糖基转移酶;
毕赤酵母;表达;
纯化;酶学性质

Key words:

fructosyl transferase;
Pichia pastoris;
expression;
purification;
enzymatic property

收稿日期:2019-12-12

基金项目:国家自然科学基金项目(21406210);河南省高校科技创新人才项目(18HASTIT040);河南省留学人员科技活动项目(2019-3)

作者简介:魏涛(1980—),男,河南省卫辉市人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为食品生物技术.

Abstract: Using genetic engineering techniques, the recombinant plasmid pPICZ α A-AoFT was linearized, and then electroporated into *Pichia pastoris* X33 to construct recombinant *Pichia pastoris* engineering strain pPICZ α A-AoFT/X33 and achieve the recombinant fructosyl transferase AoFT in *Pichia pastoris*. Furthermore, the enzymatic properties of the purified fructosyl transferase AoFT were studied. The results showed that the pPICZ α A-AoFT/X33 multiplied rapidly with the increase of fermentation time. The OD_{600} value of the cell reached a peak at 120 h, and the total protein concentration of the extracellular protein in the fermentation broth was 1.64 mg/mL. The specific activity of the purified fructosyl transferase AoFT enzyme was 71.4 U/mg, and the yield was 70.6%. The peptide N-glycosidase F digestion reaction confirmed that the purified fructosyl transferase AoFT had some N-glycosylation sites. The optimal reaction temperature of fructosyl transferase AoFT was 45 °C, and the optimal buffer system was sodium acetate buffer (pH value was 4.5 ~ 6.0). Metal ions Mn^{2+} and Ca^{2+} could activate fructosyl transferase AoFT, while Al^{3+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} and EDTA could inhibit fructosyl transferase AoFT. Surfactants (SDS, Tween-20 and Triton X-100) had little effect on the activity of fructosyl transferase AoFT, while the reductant DTT had obvious inhibition effect on the activity of fructosyl transferase AoFT. The low concentration of PMSF had no significant effect on the activity of fructosyl transferase, but the high concentration could reduce the activity. The activity of fructosyl transferase AoFT showed strong resistance to organic solvents (ethanol, DMSO, dimethylformamide, n-butanol, n-hexane and toluene).

0 前言

三氯蔗糖是食品加工过程中常用的甜味剂,其甜度为蔗糖的500倍左右,同时具有良好的物理、化学性质,被广泛应用于酒类、饮料、焙烤食品、蜜饯类食品等生产行业^[1-3].在已有的三氯蔗糖合成工艺中,蔗糖-6-乙酸酯S6A(sucrose-6-acetate)是合成过程中重要的中间体之一^[4].近年来,利用果糖基转移酶生物酶法催化合成S6A已成为国内外业界研究热点^[5-6].该方法以葡萄糖-6-乙酸酯G6A(glucose-6-acetate)和蔗糖为反应底物,经果糖基转移酶转糖基作用生成S6A和葡萄糖.酶法制备S6A具有反应效率高、副产物少、易于纯化等优势,具

有广阔的应用前景.

毛多斌等^[7]从米曲霉ZZ-01(*Aspergillus oryzae* ZZ-01)筛选得到新型果糖基转移酶AoFT,该酶转果糖基活性较强,能够将蔗糖分子中的果糖基残基转化到底物G6A中,进而合成S6A,反应式如图1所示.但目前该酶的制备方法存在分离纯化较多、蛋白得率较低、尤其是用大肠杆菌表达的蛋白无法直接应用于食品行业等问题,亟待改进.毕赤酵母表达系统对营养要求低,具有低成本、培养密度大等优势,是制备食品酶制剂的重要方法之一^[8-13].基于此,本文拟将来源于米曲霉的果糖基转移酶AoFT基因在毕赤酵母X33(*Pichia pastoris* X33)中表达,并对所得重组蛋白果糖基转移酶AoFT进行酶

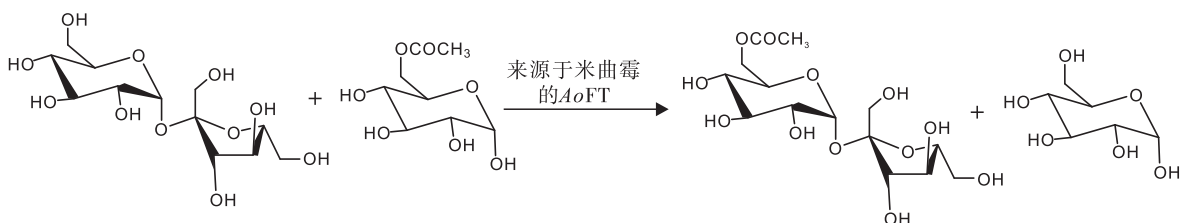


图1 来源于米曲霉的果糖基转移酶AoFT催化反应式

Fig. 1 Catalytic reaction of fructosyl transferase AoFT from *Aspergillus oryzae*

学性质研究,以期为果糖基转移酶 AoFT 的制备与应用提供一种新方法。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 菌株与质粒

重组质粒 pET22b-AoFT, *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞,郑州轻工业大学食品与生物工程学院实验室保存;载体 pPICZ α A,毕赤酵母 X33 (*Pichia pastoris* X33),购自上海生工生物工程股份有限公司。

1.1.2 主要试剂

T4 DNA 连接酶,限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Not* I, DNA 聚合酶,日本宝生物(大连)公司产;博来霉素(Zeocin),上海索宝生物科技有限公司产;多功能 DNA 纯化回收试剂盒、普通质粒抽提试剂盒(TIANprep Midi Plasmid Kit)和酵母 DNA 小量提取试剂盒,美国 Omega 公司产;肽 N-糖苷酶 F(PNGase F),美国 Novagen 公司产;酵母膏、蛋白胨,英国 Oxoid 公司产;NaCl,葡萄糖, K_3PO_4 , K_2HPO_4 , 生物素,无氨基酵母氮源(YNB),甘油,甲醇,乙醇,二甲基甲酰胺,丙酮,正丁醇,氯仿,二甲基亚砷,正己烷,丙醇,甲醛,甲苯,柠檬酸钠,醋酸钠,磷酸钠,Tris-HCl,乙二胺四乙酸(EDTA),吐温 20,聚乙二醇辛基苯甲醚(Triton X-100),十二烷基硫酸钠(SDS),二硫苏糖醇(DTT),苯甲基磺酰氟(PMSF),均系上海生工生物工程股份有限公司产。

1.1.3 培养基

LB 培养基:酵母膏 5 g,蛋白胨 10 g,NaCl 10 g,去离子水定容至 1000 mL。

YPD 培养基:酵母膏 10 g,蛋白胨 20 g,葡萄糖 20 g,去离子水定容至 1000 mL。

BMGY 培养基:酵母膏 10 g,蛋白胨 20 g, 100 mmol K_3PO_4 (pH 值为 6.0), 生物素 0.000 4 g, YNB13.4 g, 甘油 10 g, 去离子水定

容至 1000 mL。

BMMY 培养基:酵母膏 10 g,蛋白胨 20 g, 100 mmol K_3PO_4 (pH 值为 6.0), 甲醇 5 g, 生物素 0.000 4 g, YNB 13.4 g, 去离子水定容至 1000 mL。

以上培养基于 121 $^{\circ}C$ 条件下灭菌 20 min, 其中生物素、YNB 和甲醇于过滤膜除菌后再添加。

1.1.4 仪器与设备

核酸电泳仪,美国 Thermo 公司产;WD-9403D 型紫外仪,北京市六一仪器厂产;HH-S 型数显恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗仪器厂产;QYC 系列空气摇床,上海福玛实验设备有限公司产;N&DN 系列超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司产;Mini-PROTEAN Tetra 型垂直电泳仪,伯乐生命医学产品(上海)有限公司产;1525 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的构建

将重组质粒 pET22b-AoFT 用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Not* I 进行双酶切,得到目的基因 AoFT;将纯化后的目的基因 AoFT 与经相同酶切的 pPICZ α A 载体相连接,构建重组质粒 pPICZ α A-AoFT;将重组质粒 pPICZ α A-AoFT 转移至 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞,在含有博来霉素(Zeocin)抗性的 LB 平板上涂布;进行菌落 PCR 阳性克隆后,提取其重组质粒,并进行双酶切和单酶切验证;在重组质粒 pPICZ α A-AoFT 酶切位点经限制性内切酶 *Sac* I 线性化后,经电转化导入毕赤酵母 X33 中,构建重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33,采用菌落 PCR 验证阳性克隆。阴性对照为毕赤酵母基因组 DNA 模板扩增结果,阳性对照为 pPICZ α A-AoFT 质粒模板扩增结果。

1.2.2 果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达与纯化

将重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 在含有 Zeocin 抗性的 YPD 平板上划线复壮,于 30 ℃ 条件下培养 2~3 d,再转接到含 Zeocin 抗性的 YPD 液体培养基中,于 30 ℃ 条件下培养 16 h;取 500 μ L 含重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的 YPD 液体培养基,接种于 50 mL BMGY 液体培养基中,培养至 OD_{600} 值为 1.6~2.0 时,取 2 mL 含重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的 BMGY 液体培养基接种于 200 mL BMMY 培养基中,并添加质量分数为 3% 的甲醇用于诱导表达,培养 144 h. 其间每隔 24 h 取样 1 次,测定菌体 OD_{600} 值和胞外总蛋白质量浓度. 通过离心发酵液,获得粗酶液,再经硫酸铵(65% 饱和度)沉淀、镍柱亲和层析^[14-16] 纯化步骤,获得重组蛋白果糖基转移酶 AoFT.

1.2.3 果糖基转移酶 AoFT 的肽 N-糖苷酶 F (PNGase F) 酶切反应

取 10 μ g 果糖基转移酶 AoFT 溶于适量去离子水中,加入 1 μ L 10 \times 糖蛋白变性缓冲液,煮沸 10 min 使糖蛋白变性,然后加入 2 μ L 10 \times Glycobuffer 2, 1~2 μ L PNGase F 和 2 μ L 质量分数为 10% 的 NP-40,于 37 ℃ 条件下保持 1 h,终止反应,取样进行蛋白电泳(SDS-PAGE)检测.

1.2.4 果糖基转移酶 AoFT 酶活性的测定

果糖基转移酶 AoFT 酶活性的测定方法^[17-18] 如下:将 0.1 g 蔗糖和 0.05 g G6A 溶于 1 mL 的醋酸钠缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.5)中,配成反应底物;取 40 μ L 反应底物,加 20 μ L 果糖基转移酶 AoFT,用超纯水稀释至 600 μ L,于 45 ℃ 条件下水浴 24 h,通过煮沸终止反应;采用 HPLC 方法检测反应产物,详见文献[19].

1.2.5 果糖基转移酶 AoFT 的酶学性质研究

1.2.5.1 最适反应温度确定与热稳定性分析

以醋酸钠缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.5)为缓冲体系,每隔 5 ℃ 为一个测量点,将一定量的果糖基转移酶 AoFT 分别于 20 ℃, 25 ℃, 30 ℃, 35 ℃, 40 ℃, 45 ℃, 50 ℃, 55 ℃, 60 ℃, 65 ℃ 和 70 ℃ 条件下,水浴 24 h,测定各个温度下果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活,定其最适反应温度;将一定量的果糖基转移酶 AoFT 分别于 20 ℃, 30 ℃, 40 ℃, 50 ℃, 60 ℃, 70 ℃ 和 80 ℃ 条件下水浴 1 h,测定各个温度下果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活,分析其热稳定性.

1.2.5.2 最适 pH 缓冲体系确定与 pH 稳定性分析

在 45 ℃ 条件下,配制如下 pH 缓冲体系:柠檬酸钠缓冲液(pH 值为 3.0~4.0)、醋酸钠缓冲液(pH 值为 4.5~6.0)、磷酸钠缓冲液(pH 值为 6.5~8.0)和 Tris-HCl 缓冲液(pH 值为 8.5~9.0),测定不同 pH 缓冲体系下果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活,确定其最适 pH 缓冲体系;将一定量的果糖基转移酶 AoFT 分别加入上述不同 pH 缓冲体系中,置于室温下 1 h 后,测定各个 pH 缓冲体系下果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活,分析其 pH 稳定性.

1.2.5.3 金属离子和 EDTA 对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

以醋酸钠缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.5)为缓冲体系,分别加入终浓度为 5 mmol/L 的金属离子(Ca^{2+} , Al^{3+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Na^+ , K^+)和 EDTA,于 45 ℃ 条件下,测定各实验组果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活.

1.2.5.4 表面活性剂、还原剂和酶抑制剂对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

以醋酸钠缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.5)为缓冲体系,分别加入不同体积分数(1%, 5%)的表面活性剂(吐温 20, Triton X-100 和 SDS),不同浓度(0.5 mmol/L 和 5.0 mmol/L)的还原剂 DTT 和

酶抑制剂 PMSF,测定各实验组果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活。

1.2.5.5 有机溶剂对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响 分别在甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺、丙酮、正丁醇、氯仿、二甲基亚砷、正己烷、丙醇、甲醛和甲苯中加入等体积的果糖基转移酶 AoFT,混合处理 2 h 后,测定各实验组果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活。

2 结果与分析

2.1 重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的构建结果

重组质粒 pPICZ α A-AoFT 经限制性内切酶 Sac I 线性化后,结果如图 2 所示,其中, M 表示 DNA Marker, 1 和 2 表示重组质粒 pPICZ α A-AoFT 线性化。从图 2 中可见约 5000 bp 的片段,与预期线性化片段大小一致。验证重组质粒 pPICZ α A-AoFT 导入毕赤酵母 X33 后的阳性克隆电泳图如图 3 所示,其中, M 表示 DNA Marker, 1 表示阳性对照, 2 表示阴性对照, 3 表示重组 DNA。由图 3 可以看出,条带 3 约 1872 bp,较明亮,即重组 DNA 的浓度比较高,表明重组质粒 pPICZ α A-AoFT 已成功导入毕赤酵母 X33。

2.2 重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的生长状况

重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33

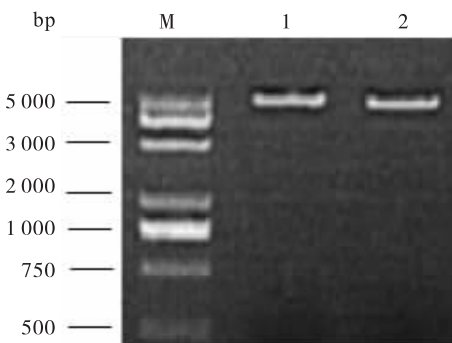


图 2 重组质粒 pPICZ α A-AoFT 线性化
Fig. 2 Linearization of recombinant plasmid pPICZ α A-AoFT

的生长曲线和发酵液胞外总蛋白质量浓度随时间变化曲线分别如图 4 和图 5 所示。由图 4 可以看出,重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 随发酵时间的增加而快速繁殖,菌体 OD_{600} 值于 120 h 时达到峰值,此时发酵液胞外总蛋白质量浓度达到 1.64 mg/mL(见图 5)。

2.3 果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达 镍柱亲和层析纯化后的重组蛋白果糖基转移酶 AoFT 电泳图如图 6 所示,其中, M 表示蛋白 Marker, 1 和 2 表示浓度为 500 mmol/L 的咪唑洗脱样品, 3 和 4 表示浓度为 50 mmol/L 的

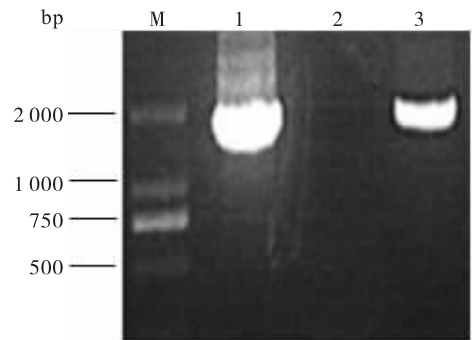


图 3 验证重组质粒 pPICZ α A-AoFT 导入毕赤酵母 X33 的阳性克隆电泳图

Fig. 3 Electrophoretogram to verify that the recombinant plasmid pPICZ α A-AoFT was successfully introduced into the positive clone of *Pichia pastoris* X33

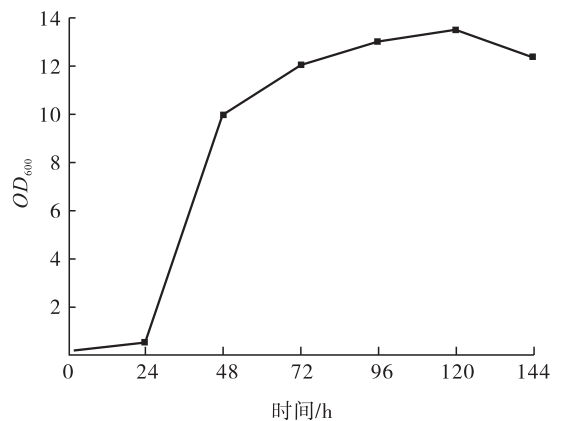


图 4 重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 的生长曲线

Fig. 4 The growth curve of recombinant *Pichia pastoris* engineering strain pPICZ α A-AoFT/X33

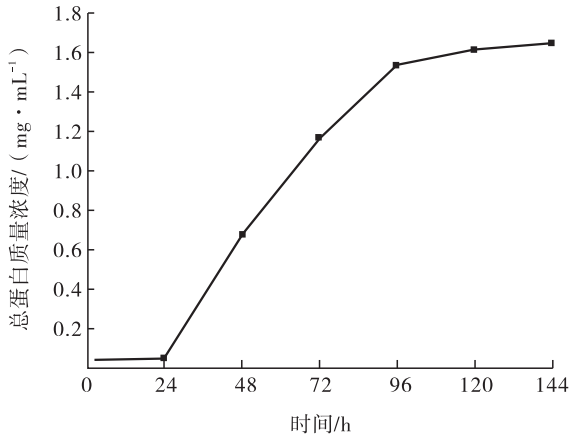


图5 发酵液胞外总蛋白质量浓度随时间变化曲线

Fig. 5 Time-varying curve of the total protein concentration of the extracellular protein in the fermentation broth

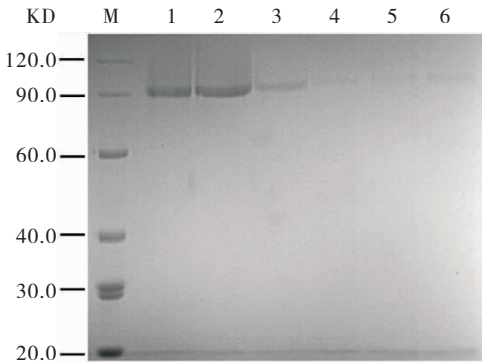


图6 重组蛋白果糖基转移酶 AoFT 的电泳图

Fig. 6 Electrophoretogram of the recombinant fructosyl transferase AoFT

咪唑洗脱样品,5 表示流出样品,6 表示上样样品.由图 6 可以看出,重组果糖基转移酶 AoFT 的纯度和浓度较高,分子量大小约为 90.0 KD.果糖基转移酶 AoFT 的纯化结果见表 1.由表 1 可知,重组毕赤酵母基因工程菌 pPICZαA-AoFT/X33 经诱导表达的粗酶液总蛋白质量为 164.0 mg,比活力为 5.9 U/mg;此粗酶液经硫酸铵盐析沉淀后,得到的总蛋白质量为 93.0 mg,比活力为 9.4 U/mg;再经镍柱亲和层析后,果糖基转移酶 AoFT 的比活力大幅提高至 71.4 U/mg,产率达 70.6%.

表 1 果糖基转移酶 AoFT 的纯化结果

Table 1 Purification of the fructosyl transferase AoFT

步骤	总蛋白质量/mg	总酶活/U	比活力/(U · mg ⁻¹)	纯化倍数	产率/%
粗酶液	164.0	973	5.9	1	100.0
硫酸铵盐析沉淀	93.0	874	9.4	1.6	89.8
镍柱亲和层析	9.6	687	71.4	12.1	70.6

2.4 果糖基转移酶 AoFT 的 PNGase F 酶切反应结果

PNGase F 几乎能水解糖蛋白中全部的 N-连聚糖^[20-21].经重组毕赤酵母工程菌 pPICZαA-AoFT/X33 表达的果糖基转移酶 AoFT 的分子量为 90.0 KD,而天然 AoFT 的分子量为 67.0 KD,据此可推测重组蛋白果糖基转移酶 AoFT 发生了翻译后的糖基化作用,因此需要通过 PNGase F 酶切反应^[22]来验证.果糖基转移酶 AoFT 的 PNGase F 酶切电泳图如图 7 所示,其中,M 表示 Marker,1 表示果糖基转移酶 AoFT,2 表示 PNGase F 酶切结果,3 表示 PNGase F.由图 7 可以看出,果糖基转移酶 AoFT 酶切后的分子量与天然状态下的果糖基转移酶 AoFT 的分子量相符,上述推测得以证实.

2.5 果糖基转移酶 AoFT 的酶学性质研究结果

2.5.1 最适反应温度与热稳定性

反应温度对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的

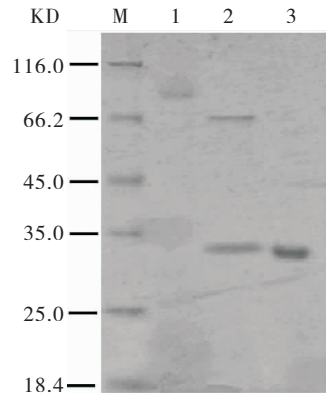


图7 果糖基转移酶 AoFT 的 PNGase F 酶切电泳图

Fig. 7 The enzyme digestion electrophoretogram of fructosyl transferase AoFT by PNGase F

影响如图 8 所示. 由图 8 可以看出,果糖基转移酶 AoFT 的最适反应温度为 45 °C,将该温度对应的相对酶活定义为 100%,当反应温度为 30 ~ 60 °C 时,相对酶活均保持良好. 果糖基转移酶 AoFT 的热稳定性如图 9 所示. 由图 9 可以看出,在 20 ~ 60 °C 温度范围内,处理 1 h 后的果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活均保持中上的水平,由此可知,AoFT 的热稳定性较好,反应温度范围较广.

2.5.2 最适 pH 缓冲体系与 pH 稳定性 pH 值对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响如图 10 所示. 由图 10 可以看出,当 pH 值在 4.5 ~ 7.0 范围内时,果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活较高,而醋酸钠缓冲液的 pH 值为 4.5 ~ 6.0,故最适 pH 缓冲体系为醋酸钠缓冲液. 果糖基转移酶 AoFT 的 pH 稳定性如图 11 所示. 由图 11 可以看出,当 pH 值为 4.0 ~ 7.0 时,果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活均较高,表明在该 pH 值范围内,果糖基转移酶 AoFT 的 pH 稳定性较高,由此可知,果糖基转移酶 AoFT 属于酸性酶,具有一定的耐酸性.

2.5.3 金属离子和 EDTA 对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

金属离子和 EDTA 对果糖基转移酶 AoFT

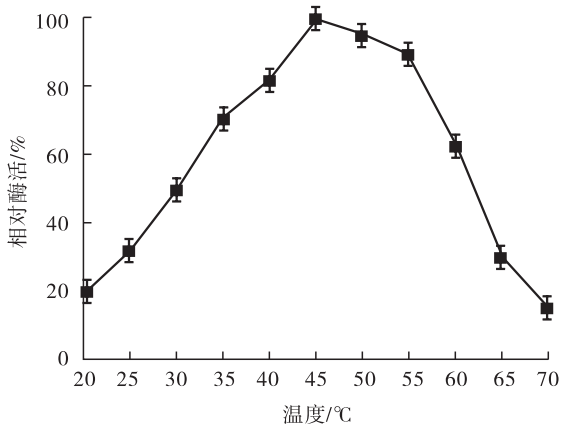


图 8 反应温度对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Fig. 8 Effect of reaction temperature on activity of fructosyl transferase AoFT

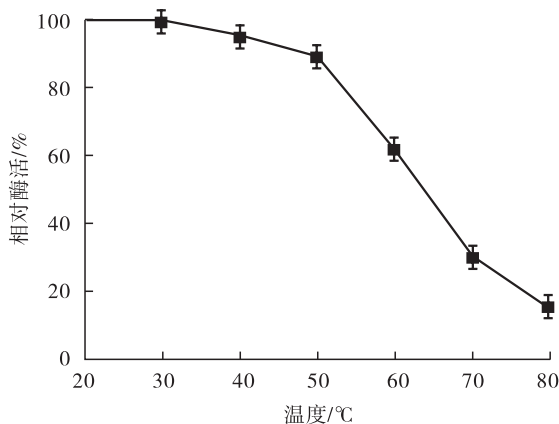


图 9 果糖基转移酶 AoFT 的热稳定性

Fig. 9 Thermal stability of the fructosyl transferase AoFT

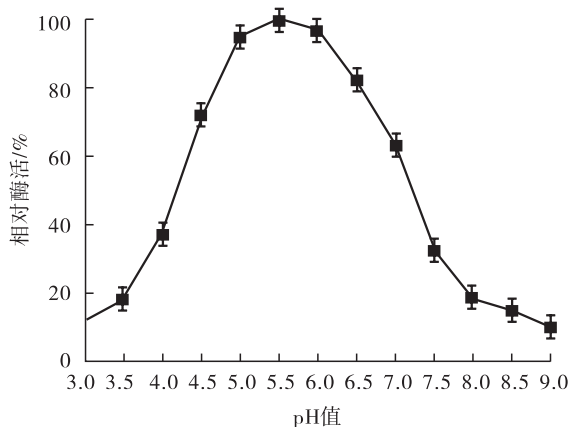


图 10 pH 值对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Fig. 10 Effect of pH value on the activity of fructosyl transferase AoFT

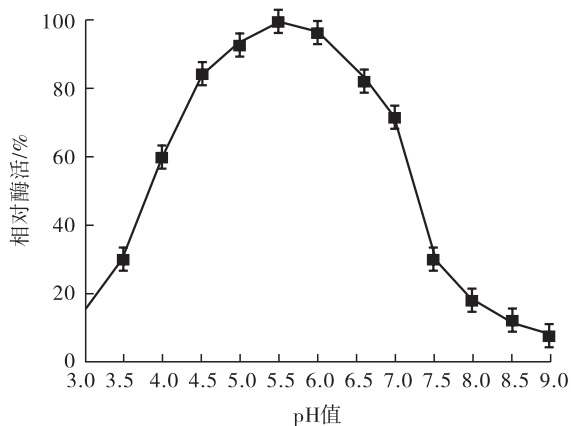


图 11 果糖基转移酶 AoFT 的 pH 稳定性

Fig. 11 pH stability of the fructosyl transferase AoFT

酶活性的影响见表2。由表2可知, Mn^{2+} 和 Ca^{2+} 能够激活果糖基转移酶 AoFT, 使其相对酶活分别提高 21% 和 13%; Al^{3+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} 和 Ni^{2+} 能够抑制果糖基转移酶 AoFT, 使其相对酶活分别降至原来的 23%, 43%, 72% 和 32%; EDTA 也能抑制果糖基转移酶 AoFT, 使其相对酶活降低 26%。

2.5.4 表面活性剂、还原剂和酶抑制剂对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性的影响

表面活性剂对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性的影响见表3。由表3可知, 不同体积分数的 SDS, Triton X-100 和吐温 20 对果糖基转移酶 AoFT 的相对酶活影响均较小, 表明果糖基转移酶 AoFT 对表面活性剂具有较强的抗性。还原剂和酶抑制剂对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性的影响见表4。由表4可知, 浓度分别为 0.5 mmol/L 和 5.0 mmol/L 的还原剂 DTT 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性均有抑制作用, 使其相对酶活分别降低 38% 和 76%; 低浓度(0.5 mmol/L) 酶抑制剂 PMSF 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性无显著影响, 但高浓度(5.0 mmol/L) 酶抑制剂 PMSF 可使果糖基转移酶 AoFT 的酶活性降低 25%。

表2 金属离子和 EDTA 对

果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Table 2 Effect of metal ions and EDTA on the enzymatic activity of fructosyl transferase AoFT

实验组	浓度/(mmol·L ⁻¹)	相对酶活/%
对照	0	100
K ⁺	5	101 ± 2
Na ⁺	5	95 ± 3
Mg ²⁺	5	98 ± 3
Mn ²⁺	5	121 ± 5
Ca ²⁺	5	113 ± 5
Al ³⁺	5	23 ± 2
Zn ²⁺	5	43 ± 4
Fe ²⁺	5	72 ± 2
Ni ²⁺	5	32 ± 3
EDTA	5	74 ± 1

2.5.5 有机溶剂对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

有机溶剂对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响见表5。由表5可知, 甲醇、甲醛和氯仿能够

表3 表面活性剂对

果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Table 3 Effect of surfactants on the enzymatic activity of fructosyl transferase AoFT %

实验组	体积分数	
	1%	5%
对照	100	100
SDS	105	103
吐温 20	92	102
Triton X-100	83	96

表4 还原剂和酶抑制剂对

果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Table 4 Effect of reducing agents and inhibitors on the enzymatic activity of fructosyl transferase AoFT %

实验组	浓度	
	0.5 mmol/L	5.0 mmol/L
对照	100	100
DTT	62	24
PMSF	103	75

表5 有机溶剂对果糖基转移酶 AoFT 酶活性的影响

Table 5 Effect of organic solvents on the enzyme activity of the fructosyl transferase AoFT

实验组	体积分数/%	相对酶活/%
对照	—	100
甲醇	50	82 ± 2
乙醇	50	107 ± 4
丙酮	50	114 ± 3
二甲基亚砜	50	103 ± 3
二甲基甲酰胺	50	95 ± 5
正丁醇	50	92 ± 4
甲醛	50	62 ± 2
正己烷	50	102 ± 3
甲苯	50	93 ± 2
丙醇	50	113 ± 5
氯仿	50	73 ± 4

抑制果糖基转移酶 AoFT,其相对酶活分别降低了 18%、38% 和 27%;丙酮和丙醇能够激活果糖基转移酶 AoFT,其相对酶活分别提高了 14% 和 13%;而乙醇、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、正丁醇、正己烷和甲苯对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性的影响较小. 这表明果糖基转移酶 AoFT 对有机溶剂(乙醇、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、正丁醇、正己烷和甲苯)具有较强的抗性.

3 结论

本研究利用基因工程技术方法,将重组质粒 pPICZ α A-AoFT 经电转化导入毕赤酵母 X33 (*Pichia pastoris* X33) 中,构建了重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33,实现了果糖基转移酶 AoFT 在毕赤酵母中的表达,同时研究了纯化后的果糖基转移酶 AoFT 的酶学性质. 结果表明:重组毕赤酵母工程菌 pPICZ α A-AoFT/X33 随发酵时间的增加而快速繁殖,菌体 OD_{600} 值于发酵时长 120 h 时达到峰值,此时发酵液胞外总蛋白质量浓度为 1.64 mg/mL;纯化后的果糖基转移酶 AoFT 的比活力为 71.4 U/mg,产率达 70.6%;PNGase F 酶切反应证实纯化后的果糖基转移酶 AoFT 发生了 N-糖基化反应;果糖基转移酶 AoFT 的最适反应温度为 45 °C,最适缓冲体系为醋酸钠缓冲液(pH 值为 4.5 ~ 6.0);金属离子 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 对果糖基转移酶 AoFT 具有激活作用,而 Al^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 和 EDTA 对果糖基转移酶 AoFT 具有抑制作用;表面活性剂 SDS,吐温 20 和 Triton X-100 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性影响较小,还原剂 DTT 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性具有明显的抑制作用,低浓度的酶抑制剂 PMSF 对果糖基转移酶 AoFT 的酶活性无显著影响,但高浓度的酶抑制剂 PMSF 可使酶活性降低;果糖基转移酶 AoFT 对有机溶剂乙醇、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、正丁醇、正己烷和甲苯具有较强的抗性. 该研究

结果有望解决果糖基转移酶 AoFT 制备中存在的分离纯化较多、蛋白得率较低等问题,为低成本制备食品酶制剂提供一种新的思路,为食品酶技术和生物催化提供数据和参考.

参考文献:

- [1] 成纪予,王莹莹,黄悦刚. 三氯蔗糖的应用及其研究进展[J]. 杭州食品科技,2004(2):5.
- [2] 林洪,李华,李韶雄,等. 三氯蔗糖[J]. 精细与专用化学品,2002,10(18):26.
- [3] 董海. 三氯蔗糖的开发前景及研究现状[J]. 河南化工,2001(7):1.
- [4] 李斐卿. 蔗糖-6-乙酸的合成及发展前景[J]. 商情,2012(30):137.
- [5] 钱俊青,李尚谦,仲翔,等. 表面活性剂存在下两相体系酶法催化合成蔗糖-6-乙酸酯[J]. 食品科学技术学报,2015,33(4):22.
- [6] DUFF R B, FARMER V C. Identification of 6-O-acetyl-d-glucopyranose in *Bacillus megaterium* cultures; Synthesis of 6-O-acetyl-d-glucopyranose and 6-O-acetyl-d-galactopyranose [J]. Biochemical Journal, 1958, 70(3):515.
- [7] 毛多斌,刘国明,韩亚伟,等. 米曲霉果糖基转移酶催化合成蔗糖-6-乙酸酯[J]. 精细化工,2010(3):234.
- [8] MA X, YAO B, ZHENG W, et al. Comparative study on characterization of recombinant B subunit of *E. coli* heat-labile enterotoxin (rLTB) prepared from *E. coli* and *P. Patoris* [J]. Journal Microbiology & Biotechnology, 2010, 20(3):550.
- [9] 范翠英,冯利兴,樊金玲,等. 重组蛋白表达系统的研究进展[J]. 生物技术,2012(2):77.
- [10] 高炳森,长孙东亭,罗素兰,等. 毕赤酵母表达体系中重组蛋白的分离纯化[J]. 生物技术通报,2009(3):33.
- [11] ALVARO-BENITO M, POLO A, GONZALEZ B, et al. Structural and kinetic analysis of *Schwan-*

- niomyces occidentalis* invertase reveals a new oligomerization pattern and the role of its supplementary domain in substrate binding[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(18):13930.
- [12] LAMMENS W, ROY K L, YUAN S G, et al. Crystal structure of 6-SST/6-SFT from *Pachysandra terminalis*, a plant fructan biosynthesizing enzyme in complex with its acceptor substrate 6-kestose[J]. Plant Journal, 2012, 70:205.
- [13] 王玉海, 岳娟, 王鹏, 等. 编码米曲霉果糖基转移酶基因在大肠杆菌中的重组表达[J]. 现代食品科技, 2014(9):67.
- [14] 李扬. 酵母 GS115 中镍柱亲和层析结合蛋白的鉴定[D]. 汕头: 汕头大学, 2013.
- [15] LAMBERTI A, SANGES C, LONGO O, et al. Analysis of nickel-binding peptides in a human hepidermoid cancer cell line by Ni-NTA affinity chromatography and mass spectrometry[J]. Protein & Peptide Letters, 2008, 15(10):1126.
- [16] PORATH J, OLIN B. Immobilized metal affinity adsorption and immobilized metal affinity chromatography of biomaterials. Serum protein affinities for gel-immobilized iron and nickel ions[J]. Biochemistry, 1983, 22(7):1621.
- [17] WEI T, YU X, WANG Y, et al. Purification and evaluation of the enzymatic properties of a novel fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae*: A potential biocatalyst for the synthesis of sucrose 6-acetate[J]. Biotechnol Lett, 2014, 36:1015.
- [18] WEI T, HUANG S, ZANG J, et al. Cloning, expression and characterization of a novel fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* ZZ-01 for the synthesis of sucrose 6-acetate[J]. Catalysts, 2016, 6(5):67.
- [19] 郑未未. 米曲霉果糖基转移酶 AoFT 基因的原核和真核表达及酶学性质研究[D]. 郑州: 郑州轻工业学院, 2016.
- [20] MALEY F, TRIMBLE R B, TARENTINO A L, et al. Characterization of glycoproteins and their associated oligosaccharides through the use of endoglycosidases[J]. Analytical Biochemistry, 1989, 180(2):195.
- [21] PLUMMER T H, TARENTINO A L. Purification of the oligosaccharide-cleaving enzymes of *Flavobacterium meningosepticum*[J]. Glycobiology, 1991, 1(3):257.
- [22] 毛银平, 巩新, 唱韶红, 等. 过表达 N-糖基转移酶的糖基工程酵母构建[J]. 军事医学, 2015(8):602.



引用格式:马伟东,李硕,王晨晨,等.常见植物真菌性病害拮抗酵母菌的筛选与鉴定[J].轻工学报,2020,35(3):11-18.

中图分类号:TS255.1;TS41 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.002

文章编号:2096-1553(2020)03-0011-08

常见植物真菌性病害拮抗酵母菌的筛选与鉴定

Screening and identification of common plant fungal disease antagonistic yeast

马伟东¹,李硕²,王晨晨²,刘溢彩²,张畅²,吴昊²,田寅²,
张俊杰²

MA Weidong¹,LI Shuo²,WANG Chenchen²,LIU Yicai²,ZHANG Chang²,
WU Hao²,TIAN Yin²,ZHANG Junjie²

1. 南阳市镇平县农业推广站,河南 南阳 474250;

2. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

1. Zhenping County Agricultural Extension Station in Nanyang City, Nanyang 474250, China;

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

关键词:
植物真菌性病害;
拮抗酵母菌;
平板对峙法

Key words:
plant fungal disease;
antagonistic yeast;
plate confrontation
method

摘要:针对黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌)、烟草赤星病病原菌(赤星霉菌)和紫云英根腐病病原菌(紫云英根腐病菌)3种常见植物真菌性病害,采用平板对峙法,从已分离保存的81株酵母菌中筛选出具有较强拮抗作用的10株酵母菌,通过形态学特征、生理生化特征、基因测序分析以确定其分类学地位。结果表明:酵母菌 WYCCW10371 对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最好,其抑菌率为46.2%,该菌株被鉴定为 *Hanseniaspora vineae*;酵母菌 WYCCW10196 对赤星霉菌拮抗效果最好,其抑菌率为30.6%,该菌株被鉴定为 *Starmerella bacillaris*;酵母菌 WYCCW11142 对紫云英根腐病菌拮抗效果最好,其抑菌率为20.7%,该菌株被鉴定为 *Pichia terricola*。

收稿日期:2020-02-07

作者简介:马伟东(1972—),男,河南省镇平县人,南阳市镇平县农业推广站高级农艺师,主要研究方向为土壤肥料研究与实践。

通信作者:张俊杰(1984—),男,河南省汝州市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为功能微生物生态与应用。

Abstract: For 3 common plant fungal diseases of cucumber fusarium wilt pathogen (cucumber fusarium oxysporum), tobacco brown spot pathogen (red star mould) and Chinese milk vetch root rot pathogen (Chinese milk vetch root rot fungus), 10 yeast strains with strong antagonistic effect were screened out from 81 isolated and preserved yeast strains by plate confrontation method. The classification status of the yeast strains was determined by analyzing morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics and gene sequencing analysis. The results showed that WYCCW10371 had the best antagonistic effect against the cucumber fusarium oxysporum, its bacteriostatic rate was 46.2%, which was identified as *Hanseniaspora vineae*; WYCCW10196 had the best antagonistic effect against the red star mould, its bacteriostatic rate was 30.6%, which was identified as *Starmerella bacillusaris*; WYCCW11142 had the best antagonistic effect against the Chinese milk vetch root rot fungus, its bacteriostatic rate was 20.7%, which was identified as *Pichia terricola*.

0 前言

由真菌引起的植物病害在全球范围内都较为常见^[1]. 针对植物病害的主要防治手段是施加化学农药^[2-6], 而这一措施会造成致病菌产生抗药性、农药残留等问题^[7], 因此, 生物防治的理念越来越受到业界的重视. 生物防治主要是利用拮抗微生物及其代谢产物对植物病害病原菌产生抑制作用, 从而削弱病原菌致病力, 达到防治效果^[8]. 生物防治由于具有不污染环境、不使致病菌产生抗药性等优点而成为近年来农作物病虫害防治的研究热点^[9-11].

果蔬等在生长、采摘、运输、贮藏等过程中若处理不当, 易腐烂变质, 而真菌性病原菌是引起果蔬等腐烂的主导因素^[12-13]. 黄瓜枯萎病是由黄瓜尖孢镰刀菌引起的土传真菌性病害, 可严重影响黄瓜的水分含量^[14], 进而影响黄瓜的品质和产量^[15]. 目前已报道的对黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌)具有生物防治潜力的微生物主要有假单胞菌属、链霉菌^[10]、芽孢杆菌^[16]、细菌^[17]等. 烟草赤星病(又称赤斑病)是一种由半知菌亚门链格孢属赤星霉菌侵染引起的主要危害烟叶的真菌性病害^[18-20]. 目前已报道的对烟草赤星病病原菌(赤星霉菌)具有生物防治潜力的微生物主要有芽孢杆菌、放线菌等^[21-23]. 在田间, 生物防治菌剂对烟草赤星病已具有很好的应用效果^[24]. 紫云英根腐病是由

紫云英根腐病原菌(紫云英根腐病菌)引起的一种真菌性病害, 是造成紫云英产量减少的重要病症之一.

酵母菌对植物真菌性病原菌具有拮抗效果, 同时具有防治效果好、不污染环境、繁殖速度快、遗传稳定、不威胁人类健康等优点^[12,25-26]. 农作物果实采摘后, 使用酵母菌替代化学农药防治植物真菌性病害, 已成为二战后世界各国农作物病虫害防治的研究热点之一. 拮抗酵母菌、植物真菌性病害病原菌与宿主植物可相互影响, 同时, 拮抗酵母菌的生物防治效果也是多种机制共同作用的结果^[27]: 一是拮抗酵母菌通过与病原菌展开空间与资源的竞争, 抑制病原菌的生长^[28-30]; 二是拮抗酵母菌通过诱导植物, 产生抑制病原菌的拮抗物质^[31]; 三是拮抗酵母菌自身也能产生具有抑菌能力的代谢物质^[32], 该代谢物质具有重要的病原菌拮抗作用. 另外, 不同酵母菌对不同植物真菌性病害病原菌的拮抗效果也有所不同. 张俊杰等^[33]从分离自葡萄果皮的酵母菌中, 筛选出一株对黄瓜尖孢镰刀菌具有明显拮抗作用的酵母菌, 并证明了该酵母菌对黄瓜尖孢镰刀菌具有潜在的生物防治效果. 目前, 鲜见拮抗酵母菌对赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有潜在的生物防治效果的相关报道^[6].

近年来, 由于分子生物学的快速发展, 利用 rDNA 鉴定菌株的技术被广泛应用于酵母菌的

分类鉴定,很多模式菌株的 26S rDNA D1/D2 区,5.8S - ITS 区和 18S rDNA 区的序列被公布在 GenBank/EMBL 国际核酸序列中,这使得酵母菌的分类鉴定更加快速和精确,也标志着酵母菌鉴定从传统的表型性状鉴定跨入现代遗传信息特性鉴定的新阶段。

基于此,本文拟选择黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌作为研究对象,采用平板对峙法,从 81 株酵母菌中筛选出对 3 种常见植物真菌性病原菌具有较强拮抗作用的酵母菌菌株,通过形态学特征、生理生化特征、基因测序分析确定其分类学地位,以期为植物真菌性病害的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 黄瓜枯萎病病原菌(黄瓜尖孢镰刀菌),由河南农业大学提供;烟草赤星病病原菌(赤星霉菌),由郑州轻工业大学提供;紫云英根腐病病原菌(紫云英根腐病菌),由中国农业大学提供;酵母菌,由郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室分离并保存。

1.1.2 主要试剂 Ezup 柱式基因组 DNA 抽提试剂盒(酵母菌);26S rDNA 引物:NL-1(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3')和 NL-4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3');5.8S - ITS 引物:ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。以上试剂均由上海生工生物工程股份有限公司提供。

1.1.3 主要培养基 PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,去离子水定容至 1000 mL。

YEPD 培养基:酵母粉 10 g,蛋白胨 20 g,葡萄糖 20 g,去离子水定容至 1000 mL。其中,固体培养基加琼脂粉 20 g。

WL 鉴别培养基^[34]:酵母粉 4 g,胰蛋白胨 5 g,葡萄糖 50 g,KH₂PO₄ 0.55 g,KCl 0.425 g,CaCl₂ 0.125 g,MgSO₄ 0.125 g,MnSO₄ 0.002 5 g,FeCl₃ 0.002 5 g,琼脂粉 20 g,溴甲酚绿 0.022 g,去离子水定容至 1000 mL,调 pH 值至 6.5。

以上培养基均在 121 ℃ 条件下高压蒸汽灭菌 25 min。

1.1.4 仪器与设备 SW - CJ - 2D 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司产;HH - S 型恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗器械有限公司产;TGL - 16G 型台式离心机,上海安亭科学仪器厂产;DH - 600 型生化培养箱,北京中兴伟业仪器有限公司产;JY023 型紫外分析仪,北京君意东方电泳设备有限公司产;C1000 型聚合酶链式反应扩增仪,美国 BIO-RAD 公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 酵母菌的活化与纯化 将保存于郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室菌库(WYCCW)中的 81 株酵母菌(分离自霞多丽葡萄果皮和葡萄酒酿造过程中)进行活化:吸取 20 μL 酵母菌菌液,置于 YEPD 培养基上,于 28 ℃ 条件下培养 3 d,待菌落长出后即为活化完成;挑取培养基中的单菌落,在 YEPD 培养基上经过 3 次划线接种培养,获得纯化后的酵母菌菌株。

1.2.2 植物真菌性病害病原菌的活化 用直径 5 mm 的打孔器在有黄瓜尖孢镰刀菌的 PDA 培养基上打出菌块,将菌块倒扣在 PDA 培养基的中央,使病原菌表面与培养基表面尽可能接触,于 28 ℃ 条件下正向放置培养 1 d,再倒置培养,待菌落长出后即为活化完成。赤星霉菌和紫云英根腐病菌的活化方法同上。

1.2.3 拮抗酵母菌的初筛 借鉴参考文献[16]的方法,分别在 3 个 PDA 培养基平板的背面十字划线,将每个平板分为 4 个相等的区域;取生长良好的 3 种病原菌菌饼(半径为 5 mm),

分别倒扣在3个PDA平板的十字交叉中心,并在每个区域内距中心菌饼3 cm处划线接种酵母菌,使酵母菌生长区域保持一致;每个病原菌做3次平行,同时以不接种酵母菌的PDA培养基平板作阴性对照,将所有平板用密封条密封好后,于28℃条件下正向培养1 d后,再倒置培养4 d;待培养结束后,与阴性对照组进行对比,将对3种病原菌有抑制作用的酵母菌初步筛选出来,用精度为0.02 mm的游标卡尺测量病原菌直径.对峙平板中的病原菌直径越小,表明抑制作用越强,酵母菌的拮抗作用越好.

1.2.4 拮抗酵母菌的复筛 进一步对初次筛选得到的拮抗酵母菌进行复筛,以确定酵母菌拮抗效果的强弱.根据1.2.3的方法(1个平板上只接种1株酵母菌)进行复筛,并计算抑菌率.计算公式如下:

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{实验组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径}} \times 100\%$$

抑菌率越高,表明酵母菌抑菌作用越强,拮抗作用越好.

1.2.5 拮抗酵母菌的初步鉴定 将复筛得到的拮抗酵母菌,划线接种至WL鉴别培养基上,于28℃条件下暗培养5 d.在暗室用白炽灯作为唯一光源(以保证结果的一致性),观察菌落形态特征^[35-36](菌落的大小、色泽等),对筛选得到的酵母菌进行初步鉴定.挑取单菌落,接种于YEPD液体培养基中,于180 r/min,28℃条件下培养24 h,在40倍光学显微镜下观察酵母菌细胞的形态学特征^[37].

1.2.6 拮抗酵母菌的基因测序 将复筛得到的拮抗酵母菌接种于YEPD液体培养基中,于180 r/min,28℃条件下过夜培养,按照酵母菌基因组DNA试剂盒的说明提取酵母菌基因组DNA.

(5'-GCATATCGGTAAGCGGAGGAAAAG-3')和反向引物NL-4(5'-GGTCCGTGTTTCAA-GACGG-3')进行扩增.5.8S-ITS区段使用正向引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和反向引物ITS-4(5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3')进行扩增.PCR体系和扩增程序参见文献[24].对PCR产物进行琼脂糖(质量分数为1%)凝胶电泳检测,电泳参数为电压100 V,定时30 min.初步判断扩增片段的大小和质量,并将扩增后的PCR产物送上海生工生物工程股份有限公司进行测序^[33].

1.2.7 拮抗酵母菌的系统发育分析 用Mega 7.0软件对PCR产物测序结果进行序列修正,在NCBI数据库中利用BLAST工具对修正后的26S rDNA D1/D2区段序列和5.8S-ITS区段序列进行序列相似性比对,并下载序列相似性最高的已知种群序列作为参比序列,建立系统发育树^[38].

2 结果与分析

2.1 拮抗酵母菌的筛选结果

经过初步筛选,从81株酵母菌中得到对黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有明显拮抗作用的10株酵母菌,分别编号为WYCCW10140, WYCCW10196, WYCCW10371, WYCCW10452, WYCCW10453, WYCCW10457, WYCCW10986, WYCCW11029, WYCCW11079和WYCCW11142.再用这10株酵母菌对3种病原菌做平板对峙实验,进行拮抗酵母菌的复筛,抑菌效果见表1.

由表1可知,对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最佳的酵母菌是WYCCW10371,其次是WYCCW11029和WYCCW11079,对应的抑菌率分别为46.2%,46.1%和44.6%;对赤星霉菌拮抗效果最佳的酵母菌是WYCCW10196,其次是WYCCW10371和WYCCW10986,对应的抑菌

表 1 拮抗酵母菌对 3 种病原菌的抑菌效果

Table 1 Antibacterial effect of antagonistic yeast strains against three pathogenic bacteria

拮抗酵母菌	黄瓜尖孢镰刀菌		赤星霉菌		紫云英根腐病菌	
	平均直径/cm	抑菌率/%	平均直径/cm	抑菌率/%	平均直径/cm	抑菌率/%
对照组	5.691	—	5.201	—	5.506	—
WYCCW10457	4.246	25.4	4.194	19.4	4.402	20.1
WYCCW10371	3.062	46.2	3.852	25.9	4.410	19.9
WYCCW10452	4.307	24.3	3.965	23.8	4.557	17.2
WYCCW10453	4.061	28.6	3.998	23.1	4.376	20.5
WYCCW10196	3.792	33.4	3.607	30.6	4.644	15.7
WYCCW11029	3.070	46.1	4.568	12.2	4.487	18.5
WYCCW11142	3.489	38.7	4.068	20.8	4.369	20.7
WYCCW10986	4.046	28.9	3.961	25.8	4.395	20.2
WYCCW11079	3.153	44.6	4.238	18.5	4.840	12.0
WYCCW10140	4.119	27.6	4.871	6.3	4.703	14.6

率分别为 30.6%, 25.9% 和 25.8%; 对紫云英根腐病菌拮抗效果最好的酵母菌是 WYCCW11142, 其次是 WYCCW10453 和 WYCCW10986, 对应的抑菌率分别为 20.7%, 20.5% 和 20.2%。

2.2 拮抗酵母菌的初步鉴定结果

对筛选得到的 10 株拮抗酵母菌进行形态学鉴定, 其在 WL 鉴定培养基上的菌落形态和显微细胞形态如图 1 所示, 表型聚类结果如表 2 所示。

2.3 拮抗酵母菌的系统发育分析结果

2.3.1 基于 26S rDNA D1/D2 区段的系统发育分析

基于 26S rDNA D1/D2 区段的拮抗酵母菌菌株系统发育树如图 2 所示。由图 2 可以看出, WYCCW11029 和 WYCCW11079 与 *Hanseniaspora guilliermondii* 和 *Hanseniaspora opuntiae* 聚为同一分支; 类似地, WYCCW10371 与 *Lachancea thermotolerans* 和 *Hanseniaspora vineae* 聚为同一分支; WYCCW11142 和 WYCCW10140 与 *Issatchenkia terricola*, *Pichia terricola* 和 *Torulasporea delbrueckii* 聚为同一分支; WYCCW10457, WYCCW10452, WYCCW10453 和 WCCWY10196 与 *Candida zemplinina* 和 *Starmerella bacillaris* 聚为同一分支。但以上 9 种拮抗酵母菌菌

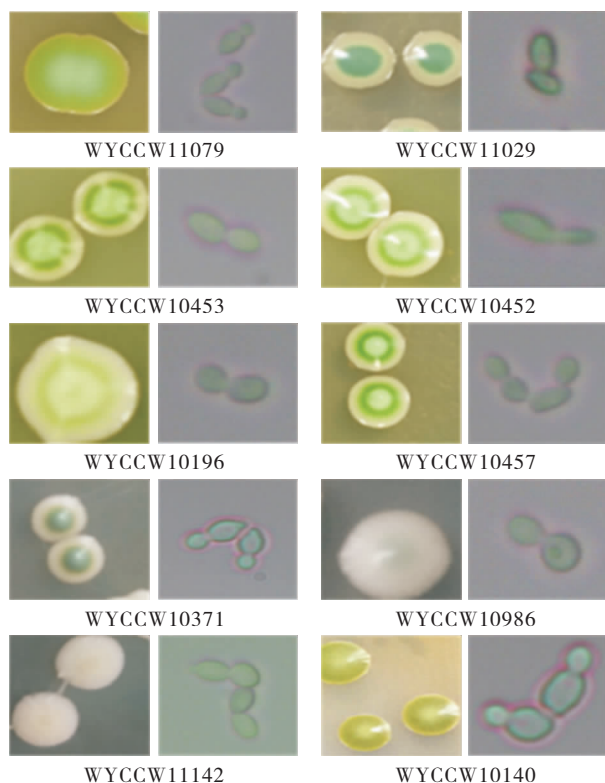


图 1 拮抗酵母菌在 WL 鉴定培养基上的菌落形态(左)和显微细胞形态(右)

Fig. 1 The colony characteristics on WL medium (the left picture) and cell microscopic characteristics (the right picture) of the antagonistic yeast strains

株均同时与不同的菌株聚为同一分支, 因此不能在种的水平上进行划分。WYCCW10986 和 *Kodamaea ohmeri* 聚为同一分支, 且序列相似性

表2 拮抗酵母菌在WL鉴定培养基上的表型聚类结果

Table 2 Clustering analysis result of antagonistic yeast strains on WL medium based on phenotypes

拮抗酵母菌	菌落颜色	菌落形态	显微细胞形态
WYCCW10457	白边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10371	白边, 浅蓝顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	柠檬形, 单生, 两端芽殖
WYCCW10452	白边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	梭形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10453	白边, 绿圈, 浅绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10196	白边, 绿圈, 浅绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11029	白边, 深绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	梭形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11142	白边, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10986	白边, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖
WYCCW11079	黄边, 深绿顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	柠檬形, 单生, 单端芽殖
WYCCW10140	黄边, 绿圈, 白顶	光滑, 有光泽, 湿润, 突起, 不透明	椭圆形, 单生, 单端芽殖

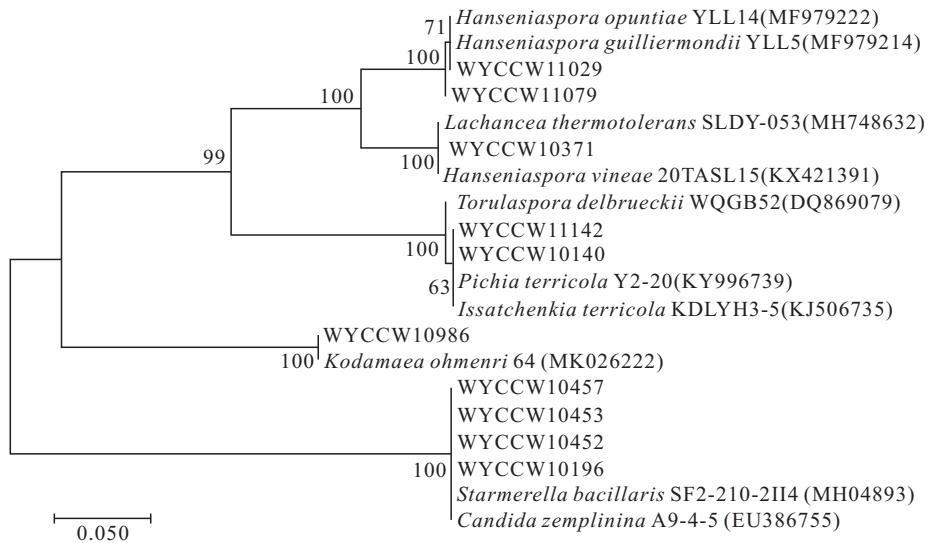


图2 基于26S rDNA D1/D2区段的拮抗酵母菌株系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of antagonistic yeast strains based on 26S rDNA D1/D2 region sequences

为100%，因此，可将WYCCW10986鉴定为 *Kodamaea ohmeri*。

2.3.2 基于5.8S-ITS区段的系统发育分析

基于5.8S-ITS区段的拮抗酵母菌株系统发育树如图3所示。由图3可以看出，WYCCW10371与 *Hanseniaspora vineae* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW10371鉴定为 *Hanseniaspora vineae*；WYCCW11079和WYCCW11029与 *Hanseniaspora opuntiae* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW11079和WYCCW11029鉴定为 *Hanseniaspora opuntiae*；WYCCW11142与

Pichia terricola 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW11142鉴定为 *Pichia terricola*；WYCCW10457，WYCCW10452，WYCCW10453和WYCCW10196与 *Starmerella bacillaris* 聚为同一分支，序列相似性为100%，因此，可将WYCCW10457，WYCCW10452，WYCCW10453和WYCCW10196鉴定为 *Starmerella bacillaris*。

3 结论

本研究选取郑州轻工业大学食品与生物工程学院微生物资源分类实验室分离筛选得到的

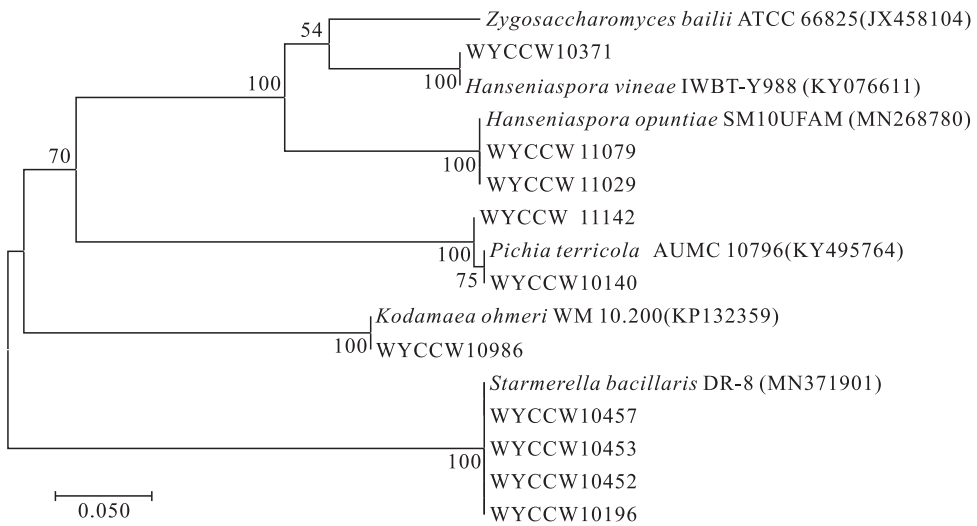


图3 基于5.8S-ITS区段的拮抗酵母菌株系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of antagonistic yeast strains based on 5.8S-ITS region sequences

81株酵母菌,经过平板对峙法进行初筛和复筛,得到10株对黄瓜尖孢镰刀菌、赤星霉菌和紫云英根腐病菌具有较好拮抗作用的酵母菌。其中,对黄瓜尖孢镰刀菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW10371,其抑菌率为46.2%,该菌株被鉴定为*Hanseniaspora vineae*;对赤星霉菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW10196,其抑菌率为30.6%,该菌株被鉴定为*Starmerella bacillaris*;对紫云英根腐病菌拮抗效果最好的酵母菌是WYCCW11142,其抑菌率为20.7%,该菌株被鉴定为*Pichia terricola*。

该研究结果确定了酵母菌对上述3种植物真菌性病原菌具有一定的生物防治效果,为发展绿色农业提供了一定的指导。然而,在大田中需要考虑的因素众多,对于拮抗酵母菌在土壤条件下的抑菌效果、拮抗因子,尚需进行代谢产物的分离检测,以及相应的盆栽和大田试验^[39]。

参考文献:

[1] 杜欣谊. 植物病害生防微生物的研究进展[J]. 现代化农业, 2016(6): 30.
 [2] 王倡宪, 王艳, 张志. 不同磷浓度条件下地表球囊霉对黄瓜枯萎病抗性和抗氧化酶活性的

影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(18): 129.

- [3] 马晓凤. 黄瓜枯萎病综合防控[J]. 西北园艺(综合), 2019(5): 51.
 [4] 刘森. 0.3%四霉素水剂防治黄瓜枯萎病田间药效试验报告[J]. 农民致富之友, 2019(10): 141.
 [5] 王芳, 王晓倩, 王莹, 等. 6种杀菌剂对黄瓜尖孢镰刀菌的毒力测定试验[J]. 中国农学通报, 2019, 35(9): 143.
 [6] 朱宇航, 黄思洋, 陈华保, 等. 烟草赤星病防治药剂的筛选[J]. 烟草科技, 2019, 52(5): 14.
 [7] 张乃芹, 郝明慧, 贾海慧, 等. PGPR多功能菌剂防治黄瓜枯萎病及对黄瓜产量影响的研究[J]. 现代园艺, 2019, 42(17): 24.
 [8] 杨侃侃, 刘晓虹, 陈宸, 等. 黄瓜枯萎病研究进展[J]. 湖南农业科学, 2019(6): 121.
 [9] 张林尧, 孟祥龙, 王午可, 等. 生物菌剂LZ-1对苹果枝干轮纹病的田间防效研究[J]. 河南农业科学, 2019, 48(10): 99.
 [10] 王丽丽, 朱诗君, 金树权, 等. 黄瓜枯萎病拮抗菌株的筛选及其生物防效[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(9): 1525.
 [11] 施河丽, 孙立广, 谭军, 等. 生物有机肥对烟草青枯病的防效及对土壤细菌群落的影响[J].

- 中国烟草科学,2018,39(2):54.
- [12] 宋金宇,刘程惠,胡文忠,等.拮抗酵母菌对果蔬病害防治的研究进展[J].保鲜与加工,2012,12(5):53.
- [13] 裘纪莹,王未名,陈建爱,等.拮抗菌在果蔬保鲜中的应用研究进展[J].食品工业科技,2009,30(5):334.
- [14] 郭晋云,胡晓峰,李勇,等.黄瓜枯萎病对黄瓜光合和水分生理特性的影响[J].南京农业大学学报,2011,34(1):79.
- [15] 王敏.土传黄瓜枯萎病致病生理机制及其与氮素营养关系研究[D].南京:南京农业大学,2013.
- [16] 魏滢洁,田叶韩,王炎峰,等.球毛壳菌与枯草芽孢杆菌组合对抗黄瓜枯萎病防御酶活性的影响[J].山东农业科学,2019,51(7):72.
- [17] 祝久香.黄瓜枯萎病拮抗细菌的筛选、发酵及生防机理研究[D].长沙:中南林业科技大学,2019.
- [18] 唐明,程智敏,向金友,等.烤烟赤星病发生规律及影响因素调查研究[J].现代农业科技,2019(15):110.
- [19] 杨波.烟草赤星病拮抗细菌筛选及其16S rDNA PCR-RFLP分析[D].杭州:浙江大学,2005.
- [20] 曾琛,陈庆园,刘洋,等.贵州省兴义市烟草赤星病发生情况调查[J].河南农业科学,2012,41(7):99.
- [21] 宋莉莎,司世飞,龙友华,等.烟草赤星病生防芽孢杆菌的筛选鉴定及其生长条件研究[J].河南农业科学,2019,48(1):84.
- [22] 司世飞.烟草赤星病生防菌筛选及发酵条件优化[D].贵阳:贵州大学,2018.
- [23] 司世飞,宋莉莎,任静,等.一株抗烟草赤星病解淀粉芽孢杆菌的筛选及鉴定[J].河北大学学报(自然科学版),2018,38(4):410.
- [24] 李锡宏,余君,陈守文,等.防治烟草赤星病的生防菌剂田间对比试验[J].湖北植保,2018(2):7.
- [25] 刘普,方静凡,程运江,等.生防酵母菌防治果品采后病害机理的研究进展[J].华中农业大学学报,2013,32(2):134.
- [26] 高云慨,张荣意,钟利文,等.1株新分离拮抗酵母菌株对芒果炭疽病生防效果及其分类鉴定[J].热带生物学报,2015,6(1):47.
- [27] 刘椰.拮抗酵母新种鉴定及其对柑橘果实采后主要病害的防治机理研究[D].重庆:西南大学,2019.
- [28] 彭景贤.酵母菌对柑橘采后病害的生物防治及防治机理的研究[D].福州:福建农林大学,2006.
- [29] 关鑫.三株生防酵母菌对番茄灰霉病生物防治的比较研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2014.
- [30] 周海莲.葡萄有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)对灰霉病抑制机理的探讨[D].南京:南京农业大学,2012.
- [31] 张红印.罗伦隐球酵母对水果采后病害的生物防治及其防治机理研究[D].杭州:浙江大学,2004.
- [32] 温新宇.拮抗酵母菌的筛选、鉴定及其制剂对枇杷贮藏保鲜的影响[D].镇江:江苏大学,2016.
- [33] 张俊杰,尚益民,田寅,等.1株黄瓜枯萎病菌拮抗酵母的分离鉴定及其拮抗作用初探[J].河南农业大学学报,2019,53(3):393.
- [34] 杨云.甜菜根腐病拮抗菌的筛选、鉴定与抑病效果研究[D].哈尔滨:黑龙江大学,2013.
- [35] 薛军侠,徐艳文,杨莹,等.WL培养基在酿酒酵母筛选中的应用[J].中国酿造,2007(9):36.
- [36] 王红.苹果和梨果表面酵母多样性及其食用安全性研究[D].济南:齐鲁工业大学,2013.
- [37] 张俊杰,尚益民,陈锦永,等.河南不同地区赤霞珠葡萄表皮酵母菌多样性研究[J].中国酿造,2019,38(6):79.
- [38] 张俊杰,尚益民,程大伟,等.河南安阳赤霞珠葡萄果表酵母菌的分离与鉴定[J].轻工学报,2018,33(3):39.
- [39] 文雨婷,张媛,李杨,等.棉花黄萎病菌拮抗酵母菌筛选及鉴定[J].河南农业科学,2018,47(11):66.



引用格式:张俊杰,郭晨,彭姗姗,等. 7个福建茶树品种的遗传多样性分析及其分子指纹图谱构建[J]. 轻工学报,2020,35(3):19-27.

中图分类号:S571.1;TS272 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.003

文章编号:2096-1553(2020)03-0019-09

7个福建茶树品种的遗传多样性分析及其分子指纹图谱构建

Analysis of genetic diversity of 7 tea plant varieties from Fujian and construction of their molecular fingerprints

张俊杰¹,郭晨¹,彭姗姗¹,宋玉婷¹,尚益民¹,李硕¹,饶耿慧²,傅天龙²

ZHANG Junjie¹,GUO Chen¹,PENG Shanshan¹,SONG Yuting¹,SHANG Yimin¹,LI Shuo¹,RAO Genghui²,FU Tianlong²

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 福建春伦集团 科研与技术创新中心,福建 福州 350018

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

2. *Research and Technology Innovation Center, Fujian Chunlun Group, Fuzhou 350018, China*

关键词:

茶树;遗传多样性;

分子标记技术;

分子指纹图谱

Key words:

tea plant; genetic

diversity; molecular

marking technology;

molecular fingerprint

摘要:基于SSR分子标记技术,对来自福建省的7个供试茶树品种的遗传多样性水平进行分析,并构建其分子指纹图谱.结果表明:初步筛选的14个SSR分子标记均为多态性标记,其多态性信息含量较丰富,可以较好地地区分7个供试茶树品种;福云六号与福云七号供试茶树品种之间的遗传相似性系数最高,为8.06,亲缘关系最近;以扩增条带较少、多态性较高的3个SSR分子标记引物(PS3,PS15,PS19)相组合而构建的分子指纹图谱,可有效鉴别7个供试茶树品种,实现以最少的分子标记引物鉴定所有品种的目的.

收稿日期:2020-02-07

基金项目:人社部留学回国人员科技活动项目(豫留学函[2016]1号)

作者简介:张俊杰(1984—),男,河南省汝州市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为功能微生物生态与应用.

Abstract: Based on the SSR molecular marking technology, it analyzed the level of genetic diversity of 7 tested tea plant varieties from Fujian province and constructed the molecular fingerprint of them. The results showed that all of the 14 molecular markers primary screening were polymorphic markers with rich polymorphism information, and 7 tested tea plant varieties could be distinguished effectively. Genetic similarity coefficient between Fuyun No. 6 and Fuyun No. 7 was highest(8.06) which had a close phylogenetic relationship. 3 SSR molecular markers(PS3, PS15, PS19) were selected to construct fingerprint because of less amplified bands and higher Polymorphism, and the fingerprint could distinguish 7 tea plant varieties, achieved the purpose of identifying all varieties with the least molecular marker.

0 引言

茶树(*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze)属于山茶目,山茶科,山茶属,茶种.作为目前世界上重要的经济作物之一^[1],茶树在世界范围内被广泛种植,现已成为最受欢迎的非酒精类饮料作物之一^[2].中国是茶树的起源地,茶树资源丰富,数千年来培育出了众多优良的茶树品种^[3].茶树的育种周期较长,但极易进行无性繁殖,因而茶树品种侵权现象普遍存在^[4].

分子标记技术是一种以个体间核苷酸序列在遗传物质内的变异为基础发展起来的遗传标记技术,可直接反映不同个体在DNA水平上的遗传差异性及其多态性^[5].与其他遗传标记技术相比,分子标记技术具有多态性良好、共显性和重复性显著、不干扰目标性状表现等优势^[6].常用的分子标记技术主要有限制性片段长度多态性 RFLP(restriction fragment length polymorphism)分子标记技术、随机扩增多态性 DNA RAPD(random amplified polymorphism DNA)分子标记技术、简单重复区间序列 ISSR(inter simple sequence repeat)分子标记技术、简单重复序列 SSR(simple sequence repeat)分子标记技术、相关序列扩增多态性 SRAP(sequence-related amplified polymorphism)分子标记技术、单核苷酸多态性 SNP(single nucleotide polymorphism)分子标记技术等^[7].其中,SSR分子标记技术是一种以特定引物的PCR扩增为基础发展起来的第二代分子标记技术,现已被广泛

应用于植物学研究^[8].大量的研究表明^[9-12],SSR分子标记技术已经非常成熟,利用该技术可以对不同茶树品种予以标记,进行区分.作为影响SSR分子标记技术的关键因素,SSR引物的开发至关重要^[13].随着茶树分子生物学研究工作的不断深入,在茶树中已开发了一些稳定的SSR分子标记,并已应用于亲缘关系、遗传多样性分析等方面的研究^[14].在利用SSR分子标记技术研究分析样品的遗传多样性时,需要有足够多的位点信息以保证实验结果的准确性和可靠性,因此,SSR分子标记技术需要做大量的重复性实验,故选择高效精准的检测方法非常重要.常用的检测方法主要有3种,即琼脂糖凝胶电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳和毛细管电泳^[15].

分子指纹图谱是一种以分子标记技术(包括RFLP,RAPD,ISSR,SSR,SRAP,SNP等)为基础,在DNA水平上直接呈现个体特异性的电泳图谱^[16].分子指纹图谱应用于植物新品种的保护和测试、植物品种或杂交种纯度的鉴定等方面,具有很大的潜力^[17].SSR分子标记技术是建立茶树品种分子指纹图谱的常用技术.郭燕等^[18]基于表达序列标签(EST)的SSR分子标记技术,分析了40份贵州古茶树资源的遗传多样性,鉴定了其分子指纹图谱,并从SSR标记中筛选出4个核心标记,构建了18位分子指纹图谱号码,且每个品种都有唯一的分子指纹图谱号码.金基强等^[19]研究分析了42份茶树品种资源,并从16对引物中筛选出13对引物

进行遗传多样性分析,证实了利用 EST-SSR 标记进行茶树资源评价是有效的.乔婷婷等^[20]研究分析了浙江省 59 个茶树品种的遗传多样性和群体结构,基于 64 对 EST-SSR 分子标记的供试茶树品种的多态性信息量平均值为 0.44,相较于育成品种,地方品种的遗传多样性水平略高.陈志辉等^[21]分析了福建的 43 个茶树品种,基于 23 对 SSR 分子标记对其进行遗传多样性分析,并从中筛选出 7 对 SSR 引物组合构建指纹图谱.王让剑等^[22]筛选得到 6 对 SSR 分子标记,并用于福建 10 个自育品种和 5 个参照品种的遗传差异分析,利用 3 对引物建立了其指纹图谱.

我国福建省茶树品种很多,而茶树品种的鉴别和保护对于发展茶业既是一项至关重要的技术工作,又是一项长期性的茶种保持和传承工作.鉴于此,本文拟采用 SSR 分子标记技术研究分析 7 个福建供试茶树品种的遗传多样性,构建其分子指纹图谱,旨在为福建茶树品种的鉴别、分子标记辅助育种等提供参考.

1 材料与方法

1.1 材料

本研究的供试材料为 7 个福建茶树品种,均采自恩顶茶园,由福建春伦集团提供,其相关信息见表 1.

表 1 7 个供试茶树品种的相关信息

Table 1 The related information of 7 tested tea plant varieties

名称	审(认、鉴)定年份/级别	原遗传背景或来源
福安大白	1985/G	安市康厝乡上高山村
白茶	1985/G	闽北政和县、闽东福鼎县
菜茶	—	武夷山区
梅占	1985/G	安溪县芦田镇三洋村
金观音	2002/G	铁观音茶与黄金桂茶自然杂交
福云六号	1987/G	福鼎大白茶与云南大叶茶自然杂交
福云七号	1987/G	福鼎大白茶与云南大叶茶自然杂交

1.2 主要试剂

过硫酸铵、硼酸、丙烯酰胺,上海麦克林生化科技有限公司产;乙二胺四乙酸(EDTA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、三羟甲基氨基甲烷硼酸(TBE)、溴代十六烷基三甲胺(CTAB),北京索莱宝生物科技有限公司产;N,N-二甲叉双丙烯酰胺,山东开普勒生物试剂公司产;AgNO₃, NaOH,氯仿,异戊醇,异丙醇,甲醇,乙醇,醋酸钠,天津市永大化学试剂公司产.以上试剂均为分析纯.琼脂糖,赛默飞世尔科技公司产.

1.3 仪器与设备

AE224 型分析天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司产;TGL-16G 型离心机,上海安亭科学仪器厂产;SC-15 型恒温水浴锅,宁波新芝生物科技有限公司产;HS-QGTFG-1200 型通风橱,安徽徽试实验设备有限公司产;JY-CX2B 型测序电泳槽,郑州博邦科贸有限公司产;C1000 TouchTM 型 PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司产;B-500 型超微量紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司产.

1.4 实验用溶液配方

质量分数为 40% 的聚丙烯酰胺溶液:丙烯酰胺 38 g, N,N-二甲叉双丙烯酰胺 2 g, 去离子水 100 mL.

质量分数为 10% 的过硫酸铵溶液:过硫酸铵 10 g, 去离子水 100 mL.

10 × TBE 溶液: Tris 5.4 g, 硼酸 2.75 g, EDTA 0.372 g, 去离子水 100 mL.

0.5 × TBE 溶液: Tris 2.7 g, 硼酸 1.375 g, EDTA 0.186 g, 去离子水 1000 mL.

2 × CTAB 缓冲液:CTAB 2 g, 10 mmol Tris (pH 值为 8.0), 2 mmol EDTA (pH 值为 8.0), 0.14 mol NaCl, 去离子水 100 mL.

高盐缓冲液(质量分数为 10% 的 AgNO₃ 溶液):AgNO₃ 10 g, 去离子水 100 mL.

染色液:高盐缓冲液 1 mL, 去离子水

100 mL.

显影液:NaOH 1.5 g,甲醛 0.5 mL,去离子水 100 mL.

1.5 茶树叶片 DNA 的提取和检测

用改进的 CTAB 法^[2, 23]分别提取供试茶树叶片的 DNA,具体步骤如下:

1) 准确称取 0.1 g 新鲜供试茶树叶片置于 1.5 mL 的离心管中,将其粉碎成匀浆状;

2) 向离心管中加入 600 μL (已于 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中预热) $2 \times$ CTAB 缓冲液后,将其置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中水浴 1 h;

3) 冷却至室温后,加入等体积的氯仿/异戊醇 ($V(\text{氯仿}) : V(\text{异戊醇}) = 24 : 1$) 混合液,颠倒混匀,于 10 000 r/min 条件下离心 10 min;

4) 收集上清液,加入等体积的氯仿/异戊醇 ($V(\text{氯仿}) : V(\text{异戊醇}) = 24 : 1$) 混合液,颠倒混匀,于 10 000 r/min 条件下离心 5 min;

5) 收集上清液,加入等体积的异戊醇,轻轻混匀;

6) 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 10 h,于 7000 r/min 条件下离心 5 min,弃上清液,用 10 μL 枪头吸出剩余液体;

7) 在剩余液体中加入 800 μL 高盐缓冲液,于 65 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中水浴 30 min,于 10 000 r/min 条件下离心 5 min,收集上清液;

8) 向上清液中加入上清液体积 1/10 的醋酸钠溶液 (3 mol/L, pH 值为 5.2)、上清液体积 2/3 的异丙醇,轻轻混匀;

9) 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 1 h,于 7000 r/min 条件下离心 5 min,弃上清液;

10) 重复步骤 6) — 9);

11) 加入质量分数为 70% 的乙醇,于 7000 r/min 条件下离心 5 min,弃上清液,重复 3 次,将离心管于通风橱中静置 4 ~ 5 min,根据沉淀量的不同加入 20 ~ 40 μL dd H_2O ;

12) 将提取出来的 DNA 进行琼脂糖凝胶电

泳检测(琼脂糖质量分数为 1%),采用超微量紫外分光光度计及其软件 NanoDrop 2000 对 DNA 纯度和质量进行检测.

1.6 SSR 分子标记方法

本研究所用的 68 个 SSR 分子标记来自不同的参考文献^[24-25],其引物序列由上海生工生物工程股份有限公司合成.

1.6.1 PCR 扩增 根据退火温度设定 PCR 反应程序,以目标条带清晰、杂带少为原则. PCR 反应体系的总体积为 20 μL ,其中, DNA 模板 2 μL , $2 \times$ Taq Master Mix 10 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 的上、下游引物各 1 μL , dd H_2O 6 μL . PCR 扩增程序的循环条件是: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 循环 1 次; 然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 循环 35 次, 最适退火温度复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s; 最后于 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 循环 1 次.

1.6.2 PCR 扩增产物检测 将 PCR 扩增产物置于电泳槽里,采用质量分数为 8% 的聚丙烯酰胺凝胶进行凝胶电泳,再结合银染方法进行检测. 本研究采用的银染方法在常规方法的基础上进行了改进: 凝胶电泳结束后取下夹子,将玻璃胶板从电泳槽上取下来,从玻璃板中剥离出凝胶,用蒸馏水漂洗 1 次; 将凝胶转入染色液中,轻摇 2 min 后,用蒸馏水漂洗 1 次,最后转入显影液中进行显色,边摇边观察显色结果,直至条带清晰后,将电泳结果拍照记录.

1.6.3 数据处理 采用人工读带的方法记录电泳结果(只针对目标条带附近的扩增位点),统计 SSR 扩增条带,在相同扩增位点上,有条带记为“1”,无条带记为“0”,利用 NTSYS-pc 2.10 软件中的 NTedit 数据编辑器,直接录入读带结果数据. 通过 PopGene 分析软件统计每对引物在 7 个供试茶树品种的有效等位基因 N_e (反映群体遗传变异大小的指标)、观测杂合度 H_o (随机抽取样本的 2 个等位基因不相同的概率)、期望杂合度 H_e (根据理论公式计算所得,

其范围从 0 到 1:当 $He = 0$ 时,说明该引物无多态性;当 $He = 1$ 时,说明该引物的无限多个等位基因具有相同的频率)和 Shannon 指数(I)。采用 PowerMarker 软件计算主要等位基因频率、基因多样性指数,并根据 Neil's 方法计算每对引物扩增位点的多态性信息量(PIC)。根据这些指标的差异,可从不同角度分析 SSR 分子标记引物在遗传多样性方面存在的差异。利用 NTSYS-pc 2.10 软件中的 Clustering 模块,通过非加权平均法(UPMGA)对 7 个供试茶树品种的遗传相似系数方阵进行聚类分析。筛选出扩增条带清晰、各茶树品种间电泳结果有差异的 SSR 分子标记引物,用于供试茶树分子指纹图谱的构建。

2 结果与讨论

2.1 供试茶树品种的 SSR 多态性

本研究从 68 个 SSR 分子标记中初步筛选出 14 个扩增条带稳定清晰并表现出多态性的 SSR 分子标记,其引物信息见表 2。

14 个 SSR 分子标记引物在 7 个供试茶树品种中的扩增结果见表 3。由表 3 可知: Ne 的群

体遗传变异范围为 3.379 3 ~ 6.533 3,平均值为 5.226 9; Ho 变化范围为 0.571 4 ~ 0.857 1,平均值为 0.734 7; He 变化范围为 0.758 2 ~ 0.912 1,平均值为 0.861 9; I 变化范围不大,为 1.567 0 ~ 1.908 5,平均值为 1.781 1;主要等位基因频率变化范围为 0.214 3 ~ 0.500 0,平均值为 0.311 2;基因多样性指数变化范围为 0.704 1 ~ 0.846 9,平均值为 0.800 3; PIC 变化范围为 0.679 6 ~ 0.827 7,平均值为 0.777 1,均大于 0.500 0。该扩增结果表明,初步筛选的 14 个 SSR 分子标记均为多态性标记,其多态性信息含量较丰富。

2.2 供试茶树品种的遗传相似性

遗传相似系数越高,表明供试茶树品种间遗传距离越近、亲缘关系越近。7 个供试茶树品种的遗传相似系数方阵见表 4。由表 4 可知,7 个供试茶树品种的遗传相似系数变化幅度较大,为 4.84 ~ 8.06。其中,同父母本的福云六号与福云七号间的遗传相似系数最高,为 8.06,表明这 2 个供试茶树品种之间具有较近的亲缘关系;金观音与福云六号间的遗传相似系数次之,为 7.90;福云六号与菜茶间的遗传相似系

表 2 14 个 SSR 分子标记引物信息

Table 2 The information of 14 SSR molecular markers primers

引物编码	正向引物序列	反向引物序列	退火温度/℃
PS2	AATAAGGCTACTCTTGG	CGGCATTTGCTTTTCAGT	54.0
PS3	AAGGAAAATCTATGGTGAA	ATGGTCAATGCTTGGAG	54.0
PS4	TTGGGAAACAAGAGTGA	TCTGGGACGAGGATAAT	54.0
PS5	GTTTCAAACCAATACAC	GCGGACACCTTGGGAATA	55.0
PS13	CATTAGATGTTCCAGTCC	TCACTCACATTTAGCTTTT	57.5
PS15	TCAATCACCCTCCATTGAAA	CGTATACCATGGTCGGAAGG	61.0
PS19	ACCCAAAATATGAAAACAACATG	TGACTACTGCACTGACACTGCTA	60.0
PS25	TGTAAGGGTCTAAGAGGTACAC	TTCCAATCTTTTCTATAACATCTGC	60.8
PS26	CCATCATTTGGCCATTACTACAA	CCATATGTGTGTGAATGATAAAAACC	57.0
PS41	GGAGCATTTGAAGCGAGAAAT	CTCTTGACCTTGGGAGCATATAGT	60.8
PS42	TCCTTTTCAATCATCTTCTCTGT	AAAATCTTGCCTTTGATCTTGAAC	60.8
PS56	GGATCCACAGTAGTACACTCTAATC	GGATGCCTCATGTAAGGGAGTTTG	60.0
PS61	TTAAGCAAAGAAGTCGCG	CTAAAATCTCCACTCAGCT	48.0
PS65	GATCCCGGACGTAATCCTG	ATCGTACCGAGGGTTCAAT	59.0

数最低,为4.84.

2.3 供试茶树品种的聚类分析结果

7个供试茶树品种的聚类分析树状图如图1所示.由图1可以看出,在相似系数约为0.69时,可将7个供试茶树品种分为4类,第1类为福安大白、白茶和金观音,第2类为福云六号和福云七号,第3类为菜茶,第4类为梅占;在相似系数约为0.74时,可将7个供试茶树品种分为5类,第1类为福安大白,第2类为白茶和金观音,第3类为福云六号和福云七号,第4类为菜茶,第5类为梅占.以上遗传相似系数分析和聚类分析表明,这14个SSR分子标记可以较好地区分7个供试茶树品种.

2.4 供试茶树品种分子指纹图谱的构建结果

对扩增条带清晰、多态性良好的14个SSR分子标记引物进行图形化处理:黑色方块表示有条带,白色方块表示无条带,按照此规则构建了一个较为全面的7个供试茶树品种分子指纹图谱,如图2所示.该图谱中,从左到右依次为福安大白、白茶、菜茶、梅占、金观音、福云六号和福云七号.由图2可以看出,7个供试茶树品种扩增条带大小在135 bp与300 bp之间,表明该指纹图谱可以将7个供试茶树品种逐一鉴别并区分开,且效果较好.然而根据表3的扩增结果可知,任何一个SSR分子标记引物都不能单独将这7个供试茶树品种区分开来,只有采

表3 14个SSR标记引物在7个供试茶树品种中的扩增结果

Table 3 The amplification results of 14 SSR primers in 7 tested tea plant varieties

引物编码	<i>Ne</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>I</i>	主要等位基因频率	基因多样性指数	<i>PIC</i>
PS2	6.533 3	0.571 4	0.912 1	1.908 5	0.214 3	0.846 9	0.827 7
PS3	4.900 0	0.857 1	0.857 1	1.767 2	0.357 1	0.795 9	0.771 9
PS4	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS5	3.379 3	0.857 1	0.758 2	1.567 1	0.500 0	0.704 1	0.679 6
PS13	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS15	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS19	5.764 7	0.714 3	0.890 1	1.833 8	0.214 3	0.826 5	0.803 3
PS25	6.533 3	0.714 3	0.912 1	1.908 5	0.214 3	0.846 9	0.827 7
PS26	4.083 3	0.571 4	0.813 2	1.673 1	0.428 6	0.755 1	0.729 8
PS41	5.157 9	0.714 3	0.868 1	1.772 1	0.285 7	0.806 1	0.779 5
PS42	4.900 0	0.571 4	0.857 1	1.767 2	0.357 1	0.795 9	0.771 9
PS56	6.125 0	0.714 3	0.901 1	1.871 2	0.214 3	0.836 7	0.815 6
PS61	6.125 0	0.571 4	0.901 1	1.871 2	0.214 3	0.836 7	0.815 6
PS65	3.379 3	0.857 1	0.758 2	1.567 1	0.500 0	0.704 1	0.679 6
平均值	5.226 9	0.734 7	0.861 9	1.781 1	0.311 2	0.800 3	0.777 1

表4 供试茶树品种的遗传相似系数方阵

Table 4 The genetic similarity coefficient matrix of 7 tested tea plant varieties

名称	福安大白	白茶	菜茶	梅占	金观音	福云六号	福云七号
福安大白	1.00	—	—	—	—	—	—
白茶	6.94	1.00	—	—	—	—	—
菜茶	6.13	6.29	1.00	—	—	—	—
梅占	5.81	7.26	6.45	1.00	—	—	—
金观音	6.94	7.42	5.32	6.29	1.00	—	—
福云六号	5.81	6.94	4.84	5.81	7.90	1.00	—
福云七号	5.48	5.97	5.81	6.13	6.29	8.06	1.00

行扩增时,其扩增条带差异越明显. SSR 多态性分析体现了 SSR 分子标记引物之间的差异,而遗传相似系数和分子指纹图谱则共同体现了供试茶树品种间的差异.

3 结论

本研究基于 SSR 分子标记技术,对采自福建省的 7 个供试茶树品种的遗传多样性水平进行了分析,并构建了其分子指纹图谱. 结果表明:初步筛选出的 14 个 SSR 分子标记均为多态性标记,且其多态性信息含量均较丰富,可以较好地区分 7 个供试茶树品种;福云六号与福云七号供试茶树品种之间的遗传相似性系数最高,为 8.06,亲缘关系最近;选取由扩增条带较少、多态性较高的 3 个 SSR 分子标记(PS3, PS15, PS19)组合构建的分子指纹图谱,可有效鉴别 7 个供试茶树品种,实现了以最少的分子标记引物鉴定尽可能多品种的目的.

今后将在本研究的基础上,不断丰富和扩充 DNA 指纹库的数据量,继续开发新的 SSR 分子标记,以适应茶树待测品系数量不断增加的现状,更好地鉴别和保护茶树品种,减少茶树品种的侵权现象.

参考文献:

[1] KAMUNYA S M, WACHIRA F N, PATHAK R S, et al. Genomic mapping and testing for quantitative trait loci in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. *Tree Genetics and Genomes*, 2010, 6(6): 915.

[2] 黄丹娟. 我国优良茶树品种遗传多样性分析及指纹图谱构建 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.

[3] CHEN L, ZHOU Z X, YANG Y J. Genetic improvement and breeding of tea plant (*Camellia sinensis*) in China: From individual selection to hybridization and molecular breeding [J].

Euphytica, 2007, 154(1/2): 239.

[4] 陈亮, 虞富莲, 姚明哲, 等. 国际植物新品种保护联盟茶树新品种特异性、一致性、稳定性测试指南的制订 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(8): 2400.

[5] 魏倩倩. 分子标记技术在家禽育种中的应用 [J]. *农民致富之友*, 2017(17): 71.

[6] 李冰敏. 分子标记在园林植物育种中的应用 [J]. *现代园艺*, 2019(15): 148.

[7] 冯英娜. 茄子遗传多样性与主要农艺性状标记关联分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.

[8] 鲁亚静, 陈庭, 李建友, 等. 叶子花 SSR-PCR 体系的优化 [J]. *安徽农业科学*, 2015(17): 57.

[9] DETTORI M T, MICALI S, GIOVINAZZI J, et al. Mining microsatellites in the peach genome: Development of new long-core SSR marker for genetic analyses in five *Prunus* species [J]. *Springerplus*, 2015, 4(1): 337.

[10] 刘本英, 孙雪梅, 李友勇, 等. 基于 EST-SSR 标记的云南无性系茶树良种遗传多样性分析及指纹图谱构建 [J]. *茶叶科学*, 2012(3): 77.

[11] 余继忠, 黄海涛, 姚明哲, 等. 基于 EST-SSR 的福云(半)同胞系茶树品种(系)遗传多样性和亲缘关系分析 [J]. *茶叶科学*, 2010(3): 32.

[12] 章志芳, 马建强. 基于 SSR 标记的茶树新品种遗传多样性分析及指纹图谱构建 [J]. *湖南农业科学*, 2012(19): 9.

[13] 孟清照, 李仕金, 董转年, 等. SSR 引物开发方法概述 [J]. *大众科技*, 2007(6): 116.

[14] 杨阳, 刘振, 赵洋, 等. 湖南省主要茶树品种分子指纹图谱的构建 [J]. *茶叶科学*, 2010, 30(5): 367.

[15] 朱岩芳. 作物品种分子标记鉴定及指纹图谱构建研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013.

[16] 徐丽芳, 陈吉炎, 罗光明. 分子标记技术及其在植物育种中的应用 [J]. *食品与药品*, 2007,

- 9(10):43.
- [17] 刘洪伟. 茶树 gSSR 分子指纹开发及其在商品茶品种鉴别中的应用[D]. 合肥:安徽农业大学,2016.
- [18] 郭燕,刘声传,曹雨,等. 基于 SSR 标记贵州古茶树资源的遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 西南农业学报, 2016,29(3):491.
- [19] 金基强,崔海瑞,龚晓春,等. 用 EST-SSR 标记对茶树种质资源的研究[J]. 遗传,2007,29(1):103.
- [20] 乔婷婷,马春雷,周炎花,等. 浙江省茶树地方品种与选育品种遗传多样性和群体结构的 EST-SSR 分析[J]. 作物学报,2010,36(5):744.
- [21] 陈志辉,单睿阳,游小妹,等. 43 个福建省茶树品种指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 热带植物学报,2017(6):579.
- [22] 王让剑,杨军,孔祥瑞,等. 福建 15 个茶树品种 SSR 遗传差异分析与指纹图谱建立[J]. 福建农业学报,2014(10):970.
- [23] DOYLE J J. DNA protocols for plants [J]. Molecular Techniques in Taxonomy, 1991(57):283.
- [24] UJIHARA T, OHTA R, HAYASHI N, et al. identification of Japanese and Chinese green tea cultivars by using simple sequence repeat markers to encourage proper labeling[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry,2009,73(1):15.
- [25] 吴晓梅,姚明哲,马春雷,等. 利用 EST-SSR 标记研究适制绿茶与乌龙茶品种的遗传多样性与遗传结构[J]. 茶叶科学,2010,30(3):195.
- [26] LIU Q W, SONG Y, LIU L, et al. Genetic diversity and population structure of pear (*Pyrus* spp.) collections revealed by a set of core genome-wide SSR markers [J]. Tree Genetics and Genomes,2015,11(6):128.

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,国家科技学术期刊开放平台,博视网,超星,中国科技论文在线,中教数据库,EBSCOhost,CA,Ulrichs,FSTA 等在其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文. 其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付. 作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明.



引用格式:刘德伟,杨鹏,徐明升,等.还原剂浓度对纳米 $\text{VO}_2(\text{B})$ 微结构及其电化学性能的影响[J].轻工学报,2020,35(3):28-36.

中图分类号:TM912 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.004

文章编号:2096-1553(2020)03-0028-09

还原剂浓度对纳米 $\text{VO}_2(\text{B})$ 微结构及其电化学性能的影响

Effect of reducing agent concentration on microstructure and electrochemical properties of Nano- $\text{VO}_2(\text{B})$

刘德伟,杨鹏,徐明升,彭科,代海洋,李涛,薛人中,陈靖,赵承周

LIU Dewei, YANG Peng, XU Mingsheng, PENG Ke, DAI Haiyang, LI Tao, XUE Renzhong, CHEN Jing, ZHAO Chengzhou

郑州轻工业大学 物理与电子工程学院,河南 郑州 450001

College of Physics and Electronic Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:

纳米 $\text{VO}_2(\text{B})$; 微观形貌; 结构缺陷; 电化学性能

Key words:

Nano- $\text{VO}_2(\text{B})$; micromorphology; structural defect; electrochemical property

摘要:以 V_2O_5 为原料、草酸为还原剂,采用水热法制备不同草酸浓度下的系列纳米 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品 ($c(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4)/c(\text{V}_2\text{O}_5) = x, 1.00 \leq x \leq 2.50$), 对所制备样品的物相结构、微观形貌和电化学性能进行表征和分析. 结果表明:所制备的样品均为单斜结构的纯相 $\text{VO}_2(\text{B})$; 随着还原剂浓度的增大, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的形貌逐渐由较小的纳米片变成较长的纳米棒; $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的结构缺陷主要为微孔; 所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品均具有较好的可逆性和循环稳定性, 其中, 当 $x = 1.75$ 时, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品具有较小的氧化还原峰电位差 (0.111 V) 和较小的电阻 (0.770 Ω), 且当电流密度为 30 mA/g 时, 具有最大的比电容值 (105.00 F/g), 表现出更好的电化学性能.

收稿日期:2019-08-19

基金项目:国家自然科学基金项目(11405148,11775192,11975211); 河南省教育厅项目(16A140022,14B140015)

作者简介:刘德伟(1979—),男,河南省濮阳市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为新能源材料与器件.

通信作者:赵承周(1986—),男,山东省东明县人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为纳米材料与器件.

Abstract: Using V₂O₅ as raw material, oxalic acid as reducing agent, a series of nano-VO₂(B) samples with different oxalic acid concentrations ($c(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4)/c(\text{V}_2\text{O}_5) = x, 1.00 \leq x \leq 2.50$) were prepared by hydrothermal method. The structure, micro-morphology and electrochemical performance of the prepared samples were characterized and analyzed. The results showed that the prepared samples were all pure phase VO₂(B) with monoclinic structure; with the increase of the concentration of reducing agent, the morphology of the VO₂(B) sample gradually changed from smaller nanoplates to larger nanorods; the structural defects of VO₂(B) samples were mainly micropores; the obtained VO₂(B) samples all had good cycle stability and reversibility. Among them, the VO₂(B) sample obtained with $x = 1.75$ had smaller redox peak potential difference (0.111 V) and smaller resistance (0.770 Ω), and when the current density was 30 mA/g, the VO₂(B) sample had the largest specific capacitance value, 105.00 F/g, showing better electrochemical performance.

0 引言

随着人类社会需求的不断提高,能源和环境问题已变得越来越重要,能量存储问题被提上日程,亟待解决.与传统的镍镉电池和镍氢电池相比,锂离子电池具有能量密度高、循环寿命长、无污染、无记忆效应等优点,可以作为便携式电子设备、电动汽车和植入式医疗设备的动力源,被认为是极具潜力的储能装置^[1-2].锂离子电池必须在两个方面满足社会对能量存储的新要求:一方面,电动汽车等大型设备不断增长的需求,使得锂离子电池必须满足高容量、循环耐久性等要求;另一方面,下一代二次电池的发展,使得锂离子电池必须满足储能装置微型化的需求.

在电极材料中,钒氧化物(VO, VO₂, V₂O₅等)具有能量密度高、成本低、资源丰富、适用于大规模储能等优点,是极具潜力的锂离子电池正极材料^[3-4].特别是钒氧化物的亚稳晶型——单斜相 VO₂(B),具有利于锂离子嵌入和脱嵌的二维层状结构,已成为锂离子电池中最有前途的电极材料之一^[5-6].纳米材料因具有较大的比表面积、理想的离子扩散路径等特点,在锂离子电池应用方面受到了广泛关注^[7-8].利用 VO₂已成功制备出一维的纳米线、纳米棒^[9-10],二维的纳米片、纳米带^[11-12],三维

的纳米花^[13],以及其他由纳米晶组装而成的功能性纳米结构,如分层异质结构、核/壳结构、介孔等^[14].然而,VO₂(B)电极材料所存在的容量较低、容量衰减较快等问题,阻碍了其进一步发展.将电极材料尺寸纳米化,可有效增大其比表面积,缩短锂离子的扩散路径,有利于提高其电化学性能.

水热法是制备纳米颗粒简单有效的方法之一,且可以通过改变压力、反应温度、反应时间、溶液 pH 值等实验条件,对晶粒的形貌和尺寸进行调控.而正电子对材料结构缺陷非常敏感,可以选择性地检测空位等缺陷类型,是研究材料结构缺陷信息的重要手段,通过测量正电子寿命可以直观、准确地分辨缺陷类型^[15-16].基于此,本文拟以 V₂O₅ 为原料、草酸为还原剂,采用水热法制备不同草酸浓度下的系列纳米 VO₂(B)样品,并对样品的微结构和电化学性能进行研究,以期为该类材料的微观结构研究提供正电子实验例证.

1 材料与方法

1.1 主要材料与设备

主要试剂与材料:V₂O₅(分析纯),草酸(分析纯),山东西亚化学股份有限公司产;无水乙醇(高纯),天津市瑞金特化学品有限公司产;乙炔黑(高纯),北京德科岛金科技有限公司

产;聚四氟乙烯(PTFE,质量分数60%),阿拉丁试剂(上海)有限公司产;泡沫镍,广胜佳新材料有限公司产;KOH(质量分数85%),天津市科密欧化学试剂有限公司产。

主要设备:250 mL 高压反应釜,郑州博科仪器设备有限公司产;XS105DU 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;300X 干燥箱,郑州科晶电炉有限公司产;769YP-15A 粉末压片机,天津市精拓仪器科技有限公司产;D8 Advance X 射线衍射仪,德国 Bruker 公司产;Quanta 250 FEG 扫描电子显微镜,科视达(中国)有限公司产;Model 265A 正电子湮没寿命谱仪,美国 ORTEC 公司产;CHI660E 电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产。

1.2 VO₂(B)样品的制备

以 V₂O₅ 为原料、草酸为还原剂,采用水热法制备不同草酸浓度下的系列纳米 VO₂(B) 样品,其中草酸与 V₂O₅ 的浓度比用 x 表示(x 分别等于 1.00, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50)。在室温条件下,首先向 60 mL 去离子水中分别加入 0.545 ~ 0.136 g 的草酸,并将其置于磁力搅拌器搅拌 30 min;待颗粒溶解后,向所得草酸溶液中加入 1.09 g 的 V₂O₅,继续搅拌 30 min,直至形成黄褐色的悬浊液;将悬浊液转入 100 mL PTFE 内衬的高压反应釜中,于 180 °C 环境中反应 48 h;待反应釜降至室温后,收集其中生成的沉淀物,并分别用去离子水和无水乙醇多次交替冲洗;将冲洗后的沉淀物置于 60 °C 的真空干燥箱中干燥 8 h,即得所需 VO₂(B) 样品。

1.3 VO₂(B)样品的表征

采用 X 射线衍射仪对室温下 VO₂(B) 样品的物相结构进行表征,靶材为 Cu K α ,衍射角为 10° ~ 80°,步长为 0.02°;利用扫描电子显微镜对 VO₂(B) 样品的微观形貌进行表征,放大倍数分别为 10 000 倍和 50 000 倍;采用寿命谱仪测量 VO₂(B) 样品的正电子寿命谱,正电子源

为强度约 13 μ Ci 的 ²²Na,并利用 PATFIT 程序对寿命谱进行解析。

1.4 VO₂(B)样品的电化学性能测试

将所制备的系列纳米 VO₂(B) 样品、导电剂乙炔黑和粘结剂 PTFE 水溶液(质量分数 60%)按照质量比 8 : 1 : 1 混合于乙醇溶剂中,将所得混合浆料涂覆在泡沫镍上,然后用压片机(压力 8 MPa)将其压紧,再置于 80 °C 烘箱中加热 6 h,制成 VO₂(B) 样品电极(泡沫镍上负载样品电极材料的质量约为 5 mg)。

在电化学工作站上采用三电极体系对 VO₂(B) 样品电极进行循环伏安(CV)、恒流充放电、交流阻抗等电化学性能测试。铂片金属电极和饱和甘汞电极分别作为对电极和参比电极,VO₂(B) 样品电极为工作电极,电解液为 2 mol/L 的 KOH 溶液。其中,CV 曲线测试条件为电压窗口 0.2 ~ 0.6 V,扫描速率 100 mV/s。

2 结果与分析

2.1 VO₂(B)样品的物相结构分析

图 1 为不同草酸浓度下所得 VO₂(B) 样品的 XRD 图。由图 1 可以看出,6 组样品的衍射峰均与单斜结构的 VO₂(B) 标准衍射峰对应,其中 VO₂(B) 晶格常数为 $a = 12.030$, $b = 3.693$, $c = 6.420$, $\beta = 107.0^\circ$ (JCPDS 31-1438)。除 VO₂(B) 标准衍射峰外,没有检测到其他杂峰,这表明该 VO₂(B) 样品纯度较高。值得注意的是,与 $x = 1.00$ 时所得样品的衍射峰相比,其他样品的衍射峰强度明显变大,这说明浓度较大的还原剂有利于样品结晶度的提高。

2.2 VO₂(B)样品的 SEM 分析

图 2 为不同草酸浓度下所得 VO₂(B) 样品的 SEM 图,插图为对应样品的高倍放大图。由图 2 可以看出,不同草酸浓度下所得 VO₂(B) 样品呈现出不同程度的团聚现象,当 $x = 2.50$ 时,VO₂(B) 样品由于其纳米棒的尺寸较大且彼

此之间连接紧密,所形成的团聚更加严重.从高倍放大图中可以看出,当 $x = 1.75$ 时,VO₂(B)样品呈不规则的纳米片状,且纳米片的面积较小、尺寸分布不均匀;随着草酸浓度的增大($x = 2.00$),VO₂(B)样品的纳米片面积逐渐增大,且纳米片的四周不平整,表现为不规则形状;当 $x = 2.50$ 时,VO₂(B)样品沿着其中一个特定方向迅速长大,最终形成了表面光滑的纳米棒.这表明草酸浓度对 VO₂(B)样品的形貌具有较大影响,适当的草酸浓度可以生成面积较小的纳米片,而当草酸浓度较大时,可以促进 VO₂(B)样品由纳米片状定向生长为纳米棒状.

2.3 VO₂(B)样品的正电子寿命分析

对于不同草酸浓度下所制备的系列 VO₂(B)样品,使用 PATFIT 程序分解正电子寿

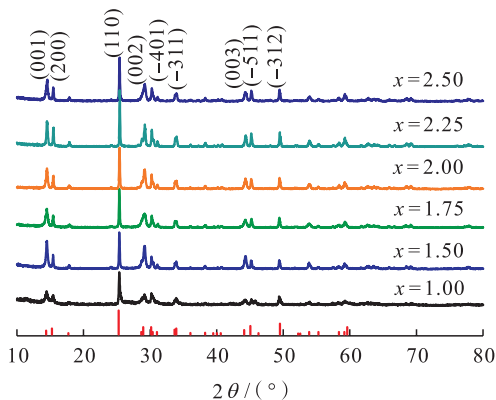


图1 不同草酸浓度下所得 VO₂(B)样品的 XRD 图

Fig. 1 XRD patterns of VO₂(B) obtained under different oxalic acid concentrations

命谱后得到两个寿命分量(已扣除源成分):短寿命分量 τ_1 和长寿命分量 τ_2 ,其所对应的强度分别为 I_1 和 I_2 .长寿命分量 τ_2 是正电子在样品表面被捕获后湮灭的结果,且其对应强度 I_2 均小于 4%,因此在后续讨论中忽略长寿命分量 τ_2 .不同草酸浓度下所得 VO₂(B)样品的正电子短寿命分量 τ_1 及其强度 I_1 如图 3 所示.由图 3 可以看出,VO₂(B)样品的短寿命分量 τ_1 分布在 $3.20 \times 10^{-10} \sim 3.50 \times 10^{-10}$ s 之间,这可能是正电子被十几个空位大小的微孔(纳米颗粒之间的空间)捕获后的湮灭所致^[17].所有 VO₂(B)样品的强度 I_1 均达到 96% 以上,说明微孔为样品中的主要结构缺陷.当 $x = 1.00$ 时,其短寿命分量 τ_1 和相应的强度 I_1 均达到最大值,分别为 3.51×10^{-10} s 和 99%,这表明与其他条件下的 VO₂(B)样品相比,该样品单位体积中的微孔尺寸较大、数量较多;随着草酸浓度的增大,VO₂(B)样品的短寿命分量及其强度都明显减小;当 $x = 2.50$ 时,VO₂(B)样品的短寿命分量及其强度都较小,这可能是由于分布均匀且表面光滑的纳米棒之间的微孔尺寸较小、数量较少.该实验结果与 SEM 的表征结果一致.

2.4 VO₂(B)样品的电化学性能分析

图 4 为 VO₂(B)样品的 CV 曲线.由图 4a)可以看出,在从 0.2 V 到 0.6 V 的正向扫描过程中,曲线出现一个氧化峰,表明 K⁺ 离子从

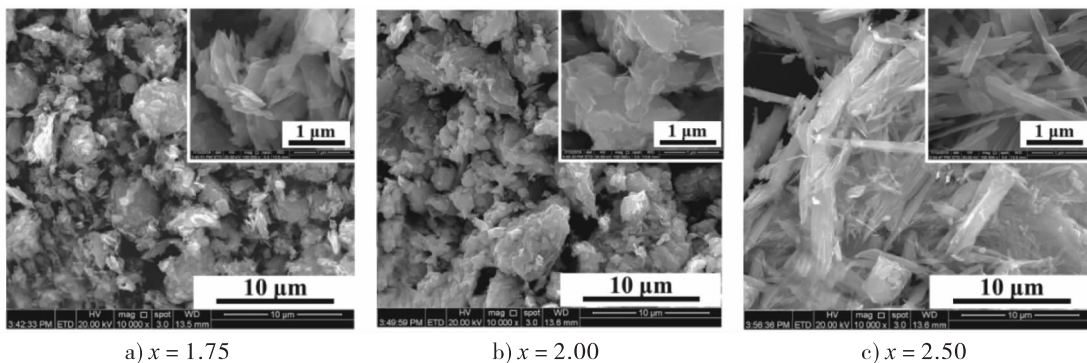


图2 不同草酸浓度下所得 VO₂(B)样品的 SEM 图

Fig. 2 SEM images of VO₂(B) obtained under different oxalic acid concentrations

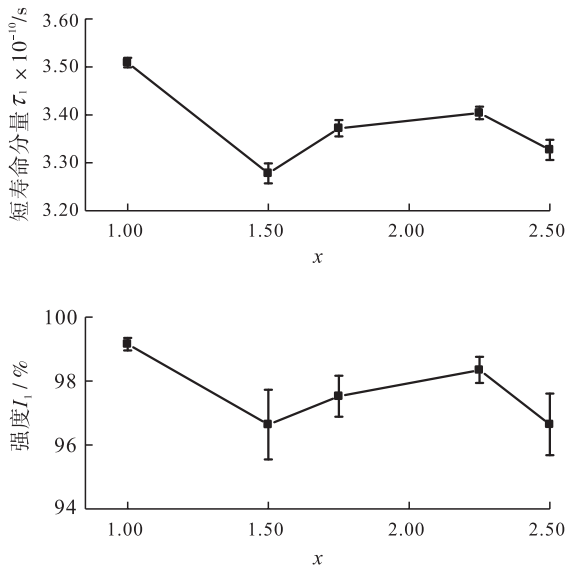


图3 用不同草酸浓度下所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的正电子短寿命分量 τ_1 及其强度 I_1

Fig. 3 Positron lifetimes τ_1 and intensity I_1 of a series $\text{VO}_2(\text{B})$ samples obtained under different oxalic acid concentrations

$\text{VO}_2(\text{B})$ 样品中脱出;在反向扫描过程中,还原峰对应 K^+ 离子嵌入 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品中. 所有 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品都只出现一对氧化还原峰,并且峰的形状是对称的,这表明 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品发生的氧化还原反应过程是可逆的. 由图 4b) 可以看出,当 x 分别等于 1.00, 1.50, 1.75, 2.00 时,4 个 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的氧化峰均出现在 0.47 附近;当 $x = 2.25$ 和 $x = 2.50$ 时, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的氧化峰出现在 0.53 附近,峰位明显偏大. 与其他 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品相比, $x = 1.75$ 时所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的氧化还原峰处于更低电位,且具有较小的电位差(0.111 V),这说明该电极中 K^+ 离子的嵌入和脱嵌更容易,更有利于氧化还原反应的发生;而当 $x = 2.25$ 和 $x = 2.50$ 时所得样品的电位明显增大,这说明当 $x > 2.00$ 时会抑制 K^+ 离子与 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的反应. 当 $x = 1.75$ 时,所得样品表现出最大的电流响应且曲线包围面积最大,根据 CV 曲线计算比电容值的公式如下:

$$C = \frac{\int_{V_1}^{V_2} IdV}{mv(V_2 - V_1)}$$

其中, $\int_{V_1}^{V_2} IdV$ 为 CV 曲线包围的面积/(AV), m 为负载电极的质量/g, v 为扫描速率/(V · s⁻¹), $(V_2 - V_1)$ 为电压窗口/V. 按照草酸浓度逐渐增大的顺序,由上式计算出的 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的比电容值依次为 77.08 F/g, 83.62 F/g, 96.35 F/g, 88.4 F/g, 70.17 F/g, 75.65 F/g. 当 $x = 1.75$ 时, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品具有最大的比电容值^[18-19], 为 96.35 F/g.

由图 4c) 可以看出,当 $x = 1.75$ 时,随着扫描速率的增大, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的峰电流也逐渐增大,氧化峰和还原峰的位置均发生了偏移且氧化峰与还原峰的峰位差值增大. 峰的偏移可能是由于扫描速率变大时,其电阻增大,从而产生了电压降;而峰位差值增大可能是由于扫描速率的增大,加速了电极表面发生的氧化还原反应,从而使电极极化^[16]. 从图 4c) 插图可以看出,峰值电流与扫描速率的平方根呈线性关系,这表明扩散是此反应过程的主要影响因素^[21]. 为进一步测试 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的循环稳定性,将 $x = 1.75$ 时所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品在 0.10 V/s 的扫描速率下进行 100 次循环扫描实验,其 CV 曲线如图 4d) 所示. 由图 4d) 可以看出,经过 100 次扫描后,该 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的 CV 曲线形状没有发生大的改变,100 次循环曲线基本重合,这说明 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品具有较好的可逆性和循环稳定性.

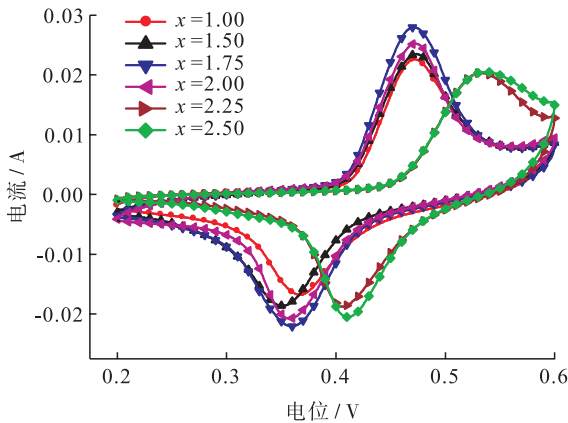
图 5 为不同草酸浓度下所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的恒流充放电曲线. 由图 5a) 可以看出,在电流密度为 30 mA/g 的条件下,所有 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品均在 0.35 V 附近表现出明显的放电平台,且放电平台的位置基本一致,这表明此时 K^+ 离子,嵌入到 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品中,并将 V^{5+} 还原为 V^{4+} . 对比 6 组 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品可以发现,随着草酸浓

度的增大,VO₂(B)样品的放电时间呈先增加后减少的趋势,其中,当 $x = 1.75$ 时,所得样品的放电时间最长,为 440 s. 根据恒流充放电曲线计算比电容值的公式如下:

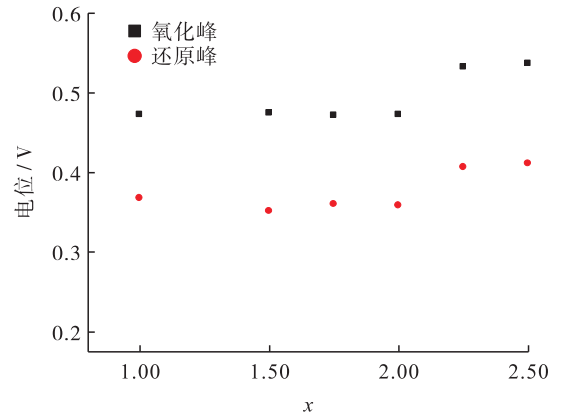
$$C = I\Delta t/m\Delta U$$

其中, I 为充电放电电流/A, t 为放电时间/s, m 为质量/g, ΔU 为电位差/V. 按照草酸浓度逐渐增大的顺序,由上式计算出的 VO₂(B)样品比电容值依次为:64.80 F/g,63.12 F/g,105.00 F/g,92.10 F/g,74.79 F/g,61.26 F/g,其中当 $x = 1.75$ 时,所得 VO₂(B)样品具有最大的比电容值,为 105.00 F/g. 该实验结果与循环伏安测试结果一致. 此时所得 VO₂(B)样品表现出较好

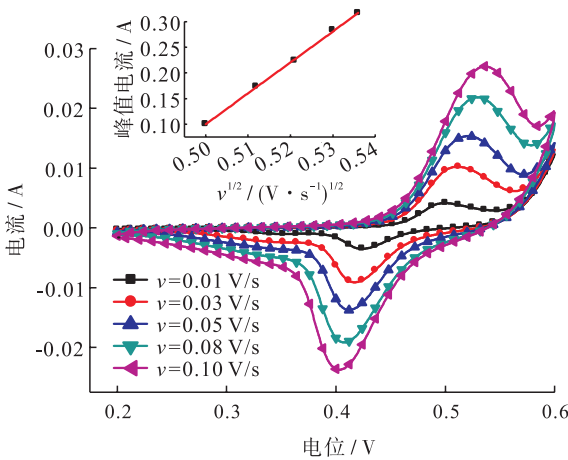
的放电容量,这可能与其较小的纳米片形貌有关,尺寸较小的纳米片在与 K⁺ 离子发生氧化还原反应时,其较大的比表面积可以提供更大的反应场所,使 K⁺ 离子在材料内部的传输路程更短^[22]. 当 $x = 1.75$ 时,所得 VO₂(B)样品在电流密度分别为 30 mA/g, 50 mA/g, 100 mA/g, 300 mA/g, 500 mA/g 时进行恒流充放电测试,其放电曲线如图 5b) 所示. 当电流密度越大时, $x = 1.75$ 时所得 VO₂(B)样品的放电时间越短,比电容值越低. 这可能是因为在较高的电流密度下,电极表面吸附的电解质离子增多,电极极化增大,从而激发电压增大,但是界面电荷数却没有增加^[23].



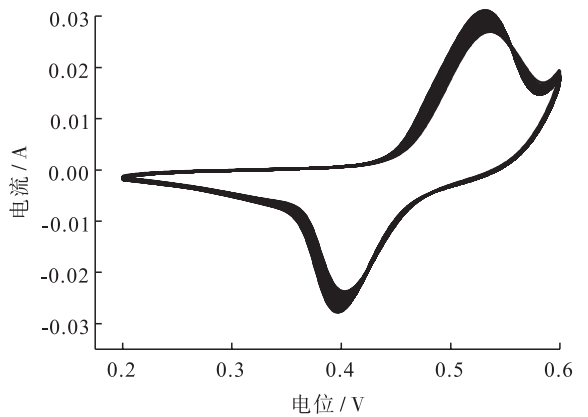
a) 扫描速率为 0.10V/s 时的 CV 曲线



b) 氧化还原峰的电位分布



c) $x = 1.75$ 时不同扫描速率下的 CV 曲线 (插图为峰值电流与 $v^{1/2}$ 的关系曲线)



d) $x = 1.75$ 时 0.10 V/s 循环扫描 100 次的 CV 曲线

图 4 用不同草酸浓度下所得 VO₂(B) 样品的 CV 曲线

Fig. 4 CV curve of VO₂(B) samples under different oxalic acid concentrations

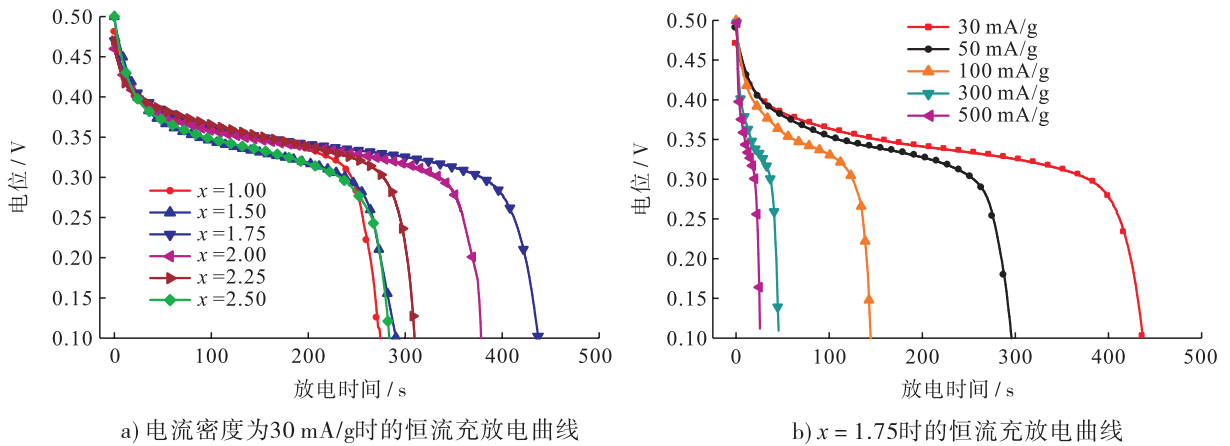


图5 用不同草酸浓度下所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的恒流充放电曲线

Fig. 5 The galvanostatic charge-discharge curves of $\text{VO}_2(\text{B})$ samples under different oxalic acid concentrations

为了更直接地显示 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的导电性和电阻特性,在 $0.01 \sim 10^5$ Hz 的频率范围内对 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品进行电化学阻抗谱(EIS)测量. 奈奎斯特(Nyquist)曲线可以表现不同频率下样品的阻力,它由两部分组成:高频区(代表电荷的传输过程)的不规则半圆和低频区的直线(代表电荷的扩散过程). 图6为不同草酸浓度下所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品在 $0.01 \sim 10^5$ Hz 频率下的 Nyquist 曲线,其中,插图 a) 为模拟阻抗谱的等效电路图, R_s 代表电解质电阻, R_{ct} 代表电极与电解质之间的电荷转移电阻, C_{dl} 代表电极表面的双层电容, W 代表 Warburg 阻抗;插图 b) 为 Nyquist 曲线在高频下的放大图. 由图6可以看出,在较低的频率下,阻抗曲线的斜率较大, $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的离子扩散阻力较小. 由图6b) 可以看出,高频曲线与实轴相交,交点对应于等效电路中的 R_s , 表示电解质与电极表面离子的欧姆电阻和 Warburg 阻抗^[4]. 当 x 分别等于 1.00, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50 时,所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品的 R_s 电阻值分别为 1.040Ω , 0.757Ω , 0.770Ω , 0.783Ω , 1.049Ω 和 0.808Ω ,除 $x = 1.00$ 和 $x = 2.25$ 时所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品外,其他样品都表现出较低的电阻. 其中, $x = 1.75$ 时所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品在低频的直线斜率较大,与虚

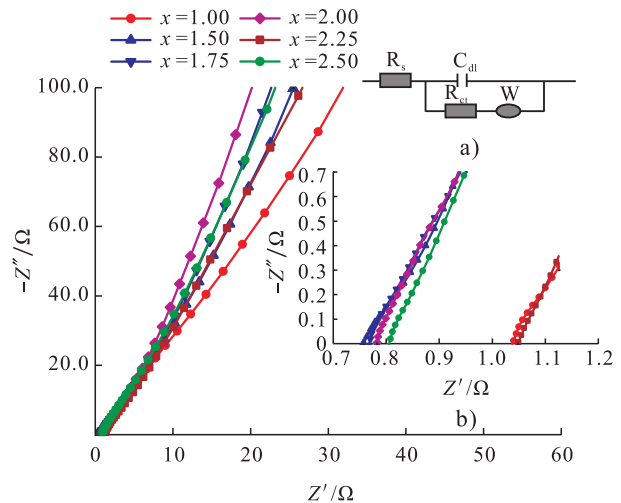


图6 不同草酸浓度下所得 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样品在 $0.01 \sim 10^5$ Hz 频率下的 Nyquist 曲线

Fig. 6 Nyquist curves of $\text{VO}_2(\text{B})$ samples with different oxalic acid concentrations at $0.01 \sim 10^5$ Hz

部轴更加平行,说明该样品的离子扩散具有较小的电荷转移电阻(R_{ct})^[24],较小的欧姆电阻和电荷转移电阻使其在恒流充放电测试中表现较好^[25].

3 结论

本文以 V_2O_5 为原料、草酸为还原剂,采用水热法,通过改变草酸与 V_2O_5 的浓度比 x ($1.00 \leq x \leq 2.50$) 制备了系列纳米 $\text{VO}_2(\text{B})$ 样

品,并研究了草酸浓度对纳米 VO₂(B)样品微结构和电化学性能的影响,得出,草酸浓度对 VO₂(B)样品的微结构和电化学性能均具有较大的影响,所得 VO₂(B)样品均为单斜结构的纯相 VO₂(B),结构缺陷主要为微孔,具有较好的可逆性和循环稳定性.其中, $x = 1.75$ 时所得 VO₂(B)样品的表面形貌为比表面积较大的纳米片状结构,当电流密度为 30 mA 时,具有最大的比电容值,为 105.00 F/g,表现出更好的电化学性能.

由本文研究结果可知,通过改变还原剂草酸的浓度可以对纳米 VO₂(B)材料的电化学性能进行调控,这为揭示纳米 VO₂(B)材料的微观结构与电化学性能之间的关系提供了基础研究资料,有助于促进该类材料在电池正极材料方面的应用.

参考文献:

- [1] LI M, LU J, CHEN Z, et al. 30 years of lithium ion batteries[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(33): 1800561.
- [2] GOODENOUGH J B, KIM Y. Challenges for rechargeable Li batteries [J]. *Chemistry of Materials*, 2010, 22(3): 587.
- [3] HUANG G, LI C, SUN X, et al. Fabrication of vanadium oxide with different valences of vanadium-embedded carbon fibers and their electrochemical performance for supercapacitor [J]. *New Journal of Chemistry*, 2017, 41(17): 8977.
- [4] MILOSEVIC S, STOJKOVIC I, MITRIC M, et al. High performance of solvothermally prepared VO₂(B) as anode for aqueous rechargeable lithium batteries[J]. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2015, 80(5): 685.
- [5] 倪娟. B相 VO₂ 纳米材料的水热法合成与电化学性能研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2011.
- [6] SONG H J, CHOI M, KIM J C, et al. Enhanced lithium storage in reduced graphene oxide supported M-phase vanadium(IV) dioxide nanoparticles[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30202.
- [7] XU F, CAO X, SHAO Z, et al. Highly enhanced thermochromic performance of VO₂ film using "movable" antireflective coatings [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(5): 4712.
- [8] ZHANG Y, JING X, CHENG Y, et al. Controlled synthesis of 3D porous VO₂(B) hierarchical spheres with different interiors for energy storage [J]. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 2018, 5(11): 2798.
- [9] BHUYAN P, D GUPTA S K, KUMAR A, et al. Highly infrared sensitive VO₂ nanowires for a nano-optical device [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2018, 20(16): 11109.
- [10] SASAKI T, UEDA H, KANKI T, et al. Electrochemical gating-induced reversible and drastic resistance switching in VO₂ nanowires [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17080.
- [11] LIU Q, TAN G, WANG P, et al. Revealing mechanism responsible for structural reversibility of single-crystal VO₂ nanorods upon lithiation/delithiation [J]. *Nano Energy*, 2017, 36: 197.
- [12] WANG W, JIANG B, HU L, et al. Single crystalline VO₂ nanosheets: A cathode material for sodium-ion batteries with high rate cycling performance [J]. *Journal of Power Sources*, 2014, 250: 181.
- [13] ZOU Z. Hydrothermal synthesis of flower-like Fe-doped VO₂(B) with enhanced lithium ion storage performance [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2018, 13(8): 8127.
- [14] 桂阳海, 孔华杰, 刘贝贝, 等. WO₃ 纳米棒/石墨烯复合材料的制备及其气敏性能研究 [J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2015, 30

- (5/6):7.
- [15] MACKIE R A, SINGH S, LAVEROCK J, et al. Vacancy defect positron lifetimes in strontium titanate[J]. *Physical Review B*, 2009, 79(1): 014102.
- [16] DAI H, XIE X, CHEN Z, et al. Microstructure evolution and magnetic properties of Eu doped CuFeO_2 multiferroic ceramics studied by positron annihilation [J]. *Ceramics International*, 2018, 44(12):13894.
- [17] 章婷, 邱诚, 张宏俊, 等. 纳米 Cu 固体材料微结构的正电子湮没研究[J]. *武汉大学学报(理学版)*, 2010, 56(6):627.
- [18] LI Z, ZHANG W, LI Y, et al. Activated pyrene decorated graphene with enhanced performance for electrochemical energy storage[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 334:845.
- [19] AZIZ S B, HAMSAN M H, ABDULLAH R M, et al. A promising polymer blend electrolytes based on chitosan: Methyl cellulose for EDLC application with high specific capacitance and energy density[J]. *Molecules*, 2019, 24:2503.
- [20] QIN M, LIANG Q, PAN A, et al. Template-free synthesis of vanadium oxides nanobelt arrays as high-rate cathode materials for lithium ion batteries[J]. *Journal of Power Sources*, 2014, 268:700.
- [21] LI J, WANG L, YOU W, et al. Catalytic effects of $[\text{Ag}(\text{H}_2\text{O})(\text{H}_3\text{PW}_{11}\text{O}_{39})]^{3-}$ on a TiO_2 anode for water oxidation[J]. *Chinese Journal of Catalysis*, 2018, 39:534.
- [22] HAN S, ZOU Z, HUO S. Hydrothermal synthesis of Mn-doped $\text{VO}_2(\text{B})$ as cathode material for lithium-ion battery[J]. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2018, 382:022059.
- [23] MAI L, WEI Q, AN Q, et al. Nanoscroll buffered hybrid nanostructural $\text{VO}_2(\text{B})$ cathodes for high-rate and long-life lithium storage[J]. *Adv Mater*, 2013, 25(21):2969.
- [24] ENCINAS-SÁNCHEZ V, DE MIGUEL M T, LASANTA M I, et al. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS): An efficient technique for monitoring corrosion processes in molten salt environments in CSP applications [J]. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2019, 191:157.
- [25] 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.



引用格式:刘卫涛,张桂伟,高盟锦,等. $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 催化剂的制备及其电解水催化性能[J]. 轻工学报,2020,35(3):37-43.

中图分类号:O645 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.005

文章编号:2096-1553(2020)03-0037-07

$\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 催化剂的制备及其电解水催化性能

Preparation of $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ catalyst and its catalytic performance of electrolyzed water

刘卫涛,张桂伟,高盟锦,陈雨蒙,韩敬莉,李亚坤,平丹

LIU Weitao, ZHANG Guiwei, GAO Mengjin, CHEN Yumeng, HAN Jingli, LI Yakun, PING Dan

郑州轻工业大学 材料与化学工程学院,河南 郑州 450001

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

关键词:

聚苯胺; ZnFe_2O_4 ;
电解水;析氢反应;
析氧反应

Key words:

polyaniline; ZnFe_2O_4 ;
electrolyzed water;
hydrogen evolution
reaction; oxygen
evolution reaction

摘要:以聚苯胺(PANI)为基体和碳源、 ZnCl_2 和 FeCl_3 为金属源,采用水热法在PANI表面原位合成 ZnFe_2O_4 尖晶石型化合物,经高温碳化后制备 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 催化剂,对其结构和形貌进行表征、分析,并考察碳化温度对所得催化剂结构和性能的影响。结果表明:催化剂 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 中的N-C主要以无定型碳的形式存在, ZnFe_2O_4 颗粒高度分散在N-C表面,且随着碳化温度的升高, ZnFe_2O_4 的结晶性逐渐增强; ZnFe_2O_4 的引入有助于催化剂 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 石墨化程度的提高,当 $n(\text{Fe}):n(\text{Zn})=2:1$,金属离子总浓度为 0.1 mol/L ,碳化温度为 $800\text{ }^\circ\text{C}$ 时,所得催化剂 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ 的D峰与G峰比 I_D/I_G 值为 0.97 ,低于N-C的 I_D/I_G 值(1.12),且对电解水析氢反应和析氧反应均有良好的催化性能。

收稿日期:2020-01-10

基金项目:国家自然科学基金项目(21808213);郑州轻工业大学校科研基金项目(13306000028);郑州轻工业大学博士基金项目(2018BSJJ024,2018BSJJ025)

作者简介:刘卫涛(1989—),男,河南省周口市人,郑州轻工业大学助教,硕士,主要研究方向为新型催化材料、传热强化与节能。

通信作者:平丹(1990—),女,河南省林州市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为新型催化材料。

Abstract: Using polyaniline (PANI) as the matrix and carbon source, ZnCl_2 and FeCl_3 as the metal sources, ZnFe_2O_4 spinel compounds were synthesized in situ on the surface of PANI by hydrothermal method. The $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ catalyst was prepared after carbonization at high temperature, its structure and morphology were characterized and analyzed, and the effect of carbonization temperature on the structure and performance of the catalyst was investigated. The results showed that the N-C in the catalyst $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ mainly existed in the form of amorphous carbon. The ZnFe_2O_4 particles were highly dispersed on the N-C surface, and with the increase of the carbonization temperature, the crystallinity of ZnFe_2O_4 gradually increased; the introduction of ZnFe_2O_4 was beneficial to the catalyst $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ graphitization degree, when $n(\text{Fe}) : n(\text{Zn}) = 2 : 1$, the total concentration of metal ions was 0.1 mol/L, and the carbonization temperature was 800 °C, the I_D/I_G (the peak D-to-G peak ratio) value of the obtained catalyst $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ was 0.97, which was lower than the I_D/I_G value of N-C (1.12), and it had good catalytic performance for both hydrogen evolution and oxygen evolution reactions of electrolyzed water.

0 引言

目前,能源危机和环境污染问题日益加剧,新型清洁能源和高效能源制备技术的开发势在必行^[1-3].近年来,氢能作为一种绿色、高效和可持续的清洁能源受到国内外研究者的广泛关注.其中,电催化分解水制氢技术(即利用太阳能、风能等可再生能源产生的电能将水分解成 H_2 和 O_2) 因具有工艺简单、产物纯度高、无碳排放等优点,是目前极具发展前景的制氢方式之一,可有效缓解传统化石燃料燃烧造成的能源和环境问题.当前,尽管贵金属 Pt, RuO_2 , IrO_2 等均表现出良好的电解水催化性能,但其价格昂贵且储量稀少,大规模应用受到限制^[4-5].因此,设计开发低成本、高效能的非贵金属基电催化剂具有重要意义.

近年来,过渡金属(Fe, Co, Ni 等)及其衍生物被认为是电解水析氢反应(HER)和析氧反应(OER)的有效催化剂,受到了广泛关注^[6-8].但它们往往易于团聚且导电性较差,致使其活性位点利用率较低且电子传递能力较差,不利于其电催化性能的提高.有研究者发现,在过渡金属衍生物的制备过程中加入碳材料,如碳纳米管(CNTs)、石墨烯、无定型碳、氮掺杂碳(N-C)材料等,可大大提高其电催化性能.例

如, D. Bin等^[9]以硝酸镍、硝酸铁和双氰胺为前驱体,经高温热处理后得到的氮掺杂 CNTs 封装的 NiFe 合金(NiFe alloy@N-CNTs)就表现出良好的电催化性能.

与其他材料相比,聚苯胺(PANI)含氮丰富($n(\text{N}) : n(\text{C}) = 0.17$)、价格低廉,且具有高共轭结构,有利于氮掺杂位点在碳材料表面的均匀分布和反应活性位密度的增加,进而所形成的更加稳定有序的碳基活性层是制备 N-C 材料的有效前驱体^[10].然而,目前以 PANI 为 N-C 材料前驱体,通过构建金属/PANI 复合前驱体,再经碳化后得到催化剂,并将其应用于电解水方面的研究还比较少见.鉴于此,本文拟以 PANI 为基体和碳源、 ZnCl_2 和 FeCl_3 为金属源,采用水热法在 PANI 表面原位合成 ZnFe_2O_4 化合物,进一步经高温碳化后制备得到催化剂样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$,并将其应用于电催化分解水的反应中,通过考察碳化温度对所得催化剂结构和性能的影响,为开发高效且经济的电解水催化剂提供新的思路和方法.

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

主要试剂:无水 ZnCl_2 , 无水 FeCl_3 , 六亚甲基四胺, KOH, 苯胺, 过硫酸铵(APS), 无水乙醇

和 HCl,均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司产;Nafion 溶液(质量分数 5%),美国 Sigma-aldrich 公司产;高纯氩气(纯度 99.999%),河南源正科技发展有限公司产。

主要仪器:CP114 型电子天平,奥豪斯仪器有限公司产;KQ-300DE 型数控超声清洗机,昆山市超声仪器有限公司产;DFY-5L 型低温恒温反应浴,78-1 型磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司产;OTF-1200X 型高温管式炉,合肥科晶技术有限公司产;H 型电解池,武汉高仕睿联科技有限公司产;CHI660D 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产;D/Max-2500 型 X-射线衍射仪,日本理学株式会社产;JSM-6490LV 型扫描电子显微镜,日本电子株式会社产;LabRam HR 型显微拉曼光谱仪,法国 HORIBA Jobin Yvon 公司产。

1.2 样品的制备

1.2.1 PANI 样品的制备 量取 2 mL 苯胺,加入 200 mL 1 mol/L 的 HCl 溶液中,搅拌均匀,记为溶液 A;配制 20 mL 1 mol/L 的 APS 溶液,记为溶液 B;将溶液 B 倒入溶液 A 中,混合均匀后,置于低温恒温反应浴(0 °C)中搅拌反应 24 h,再经离心、洗涤、干燥后,得到 PANI 样品。

1.2.2 ZnFe₂O₄/N-C 样品的制备 分别称取一定量的 FeCl₃, ZnCl₂ 和六亚甲基四胺加入到 35 mL 水与 35 mL 无水乙醇的混合溶液中,搅拌 30 min 后,再加入 0.1 g 的 PANI 样品,超声搅拌均匀后,将混合液置于带聚四氟乙烯内衬的不锈钢反应釜中,于 120 °C 条件下水热反应 6 h,经离心、洗涤、干燥后,得到催化剂前驱体,记为 ZnFe₂O₄/PANI 样品;将 ZnFe₂O₄/PANI 样品置于高温管式炉中,于 N₂ 气氛、800 °C 条件下碳化反应 2 h 后,得到所需的电催化剂,记为 ZnFe₂O₄/N-C-800,其中 $n(\text{Zn}) : n(\text{Fe}) = 1 : 2$,金属离子 Zn²⁺ 和 Fe³⁺ 总浓度为 0.1 mol/L。固定 $n(\text{Zn}) : n(\text{Fe}) = 1 : 2$ 和金属离子总浓度

0.1 mol/L 不变,调控碳化温度分别为 600 °C, 700 °C 和 900 °C,所得催化剂样品分别记为 ZnFe₂O₄/N-C-600, ZnFe₂O₄/N-C-700 和 ZnFe₂O₄/N-C-900。为便于对比,将纯 PANI 经 800 °C 碳化后所得样品记为 N-C;将不加入 PANI,经 800 °C 焙烧后所得样品记为 ZnFe₂O₄。

1.3 催化剂样品的表征

采用 X-射线衍射仪对催化剂样品的物相组成和结构进行分析:射线源 Cu K α ($\gamma = 0.154 \text{ nm}$),工作电压 40 kV,电流 40 mA,扫描范围 10° ~ 80°,扫描速度 10 (°)/min。

采用扫描电子显微镜对催化剂样品的表面形貌进行表征:加速电压 30 kV,分辨率小于 3.0 nm。

采用显微拉曼光谱仪对催化剂样品的石墨化程度进行表征:Ar 离子激光器的激发波长为 532 nm。

1.4 电化学性能测试

在电化学工作站上,采用传统三电极体系进行催化剂样品的电催化分解水性能测试。其中,工作电极(WE)为涂覆有催化剂样品的玻碳电极,对电极(CE)为铂片,参比电极(RE)为饱和甘汞电极,电解液为 1 mol/L 的 KOH 溶液(pH = 14)。测试前,首先通入 N₂ 20 min 至饱和,然后利用循环伏安法(CV)活化电极材料,待得到稳定的 CV 图后,再进行 HER 和 OER 性能测试。

1.4.1 工作电极的制备 称取 5 mg 催化剂样品,将其分散在 500 μL 无水乙醇和 25 μL 质量分数为 5% 的 Nafion 混合溶液中,超声 30 min 后,得到均匀的催化剂分散液。用移液枪准确量取 20 μL 分散液,分 4 次逐渐滴加到玻碳电极表面,自然晾干后,备用。

1.4.2 测试方法 采用循环伏安法(CV)对电极进行初始活化和双电层电容(Cdl)测试:首先在一定电压范围内分别以 10 mV/s, 20 mV/s,

40 mV/s, 60 mV/s, 80 mV/s, 100 mV/s, 120 mV/s 的扫描速率连续对催化剂样品进行测试, 得到催化剂样品在不同扫描速率下的 CV 曲线图; 然后以中间电位下对应的电流密度差 Δj 为纵坐标、扫描速率为横坐标作图, 通过线性拟合所得直线的斜率即可得到 Cdl 值, 该值与催化剂样品的电化学活性面积 (ECSA) 成正比。

采用线性扫描伏安法 (LSV) 记录工作电极上电流随电压的变化情况, 其中扫描速率为 5 mV/s, HER 的扫描电压范围为 -1.2 ~ -0.4 V (vs SCE), OER 的扫描电压范围为 0.2 ~ 1.0 V (vs SCE), 该施加电压转化为相对可逆氢电极的公式为

$$E(\text{vs RHE}) = E(\text{vs SCE}) + 0.24 + 0.0591 \times \text{pH}$$

2 结果与讨论

2.1 催化剂样品的结构分析

图 1 为催化剂前驱体和催化剂样品的 XRD 图。从图 1a) 可以看出, PANI 的衍射峰与文献 [11 - 12] 中该物质的衍射峰位置基本一致, 这说明成功合成了 PANI; 当负载 ZnFe_2O_4 后, $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{PANI}$ 样品中开始出现 ZnFe_2O_4 的特征峰 (JCPDS # 22 - 1012), 这说明在 PANI 表面已成功合成了 ZnFe_2O_4 尖晶石化合物; 此外,

由于水热过程晶体成核的不均匀性, 催化剂样品的 XRD 谱图中还出现了部分 Fe_2O_3 的特征峰。从图 1b) 可以看出, 不同碳化温度下所得催化剂样品均呈现出 ZnFe_2O_4 和部分金属氧化物 Fe_2O_3 的特征峰, 且随着碳化温度的升高, ZnFe_2O_4 的衍射峰逐渐增强, Fe_2O_3 的特征峰逐渐减弱, 这表明高温有利于 ZnFe_2O_4 的生成和 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 结晶度的提高。此外, 没有发现明显的碳的衍射峰, 说明碳化后所得催化剂样品中的碳多为无定型碳, 石墨化程度较弱^[13-14]。

2.2 催化剂样品的形貌分析

图 2 为催化剂前驱体 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{PANI}$ 和催化剂样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ 的 SEM 图。从图 2a) 可以看出, 催化剂前驱体 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{PANI}$ 呈现出相互聚集的纳米棒状结构, 且其表面粗糙, ZnFe_2O_4 颗粒成功地负载在 PANI 纳米棒的表面; 从图 2b) 可以看出, 经 800 °C 碳化后, 所得催化剂样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ 中的 ZnFe_2O_4 颗粒尺寸增大, 结晶度增强, 并高度分散在 N-C 的表面上。

2.3 催化剂样品的石墨化程度分析

图 3 为催化剂样品的 Raman 光谱图。由图 3 可以看出, 两个样品均在 1350 cm^{-1} 和 1600 cm^{-1} 附近出现振动峰, 其中, 1350 cm^{-1} 左右的 D 峰

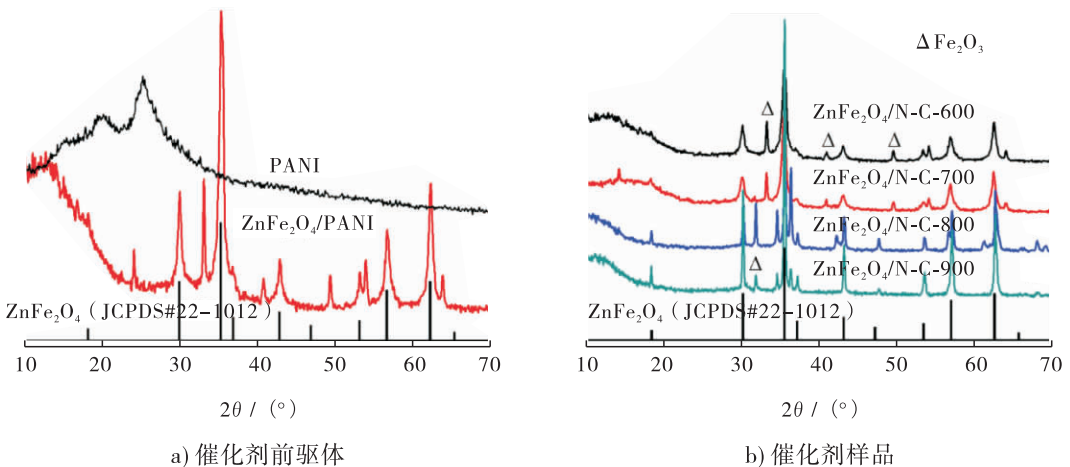


图 1 催化剂前驱体和催化剂样品的 XRD 图

Fig. 1 The XRD patterns of catalyst precursors and catalyst samples

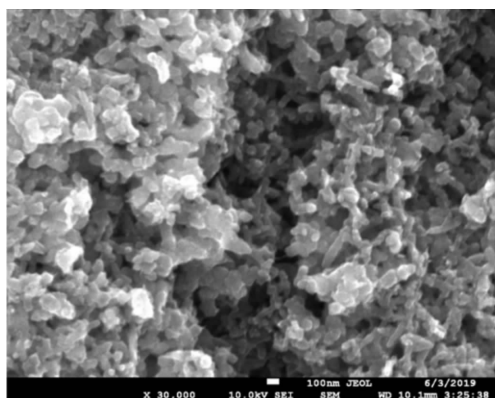
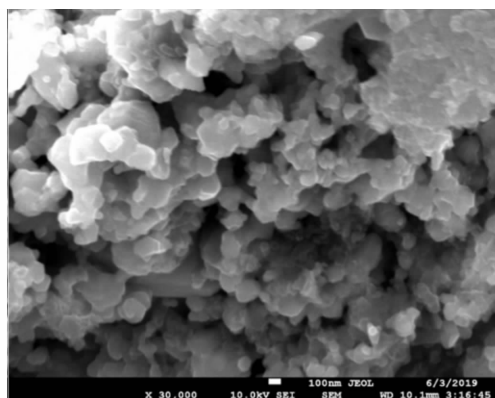
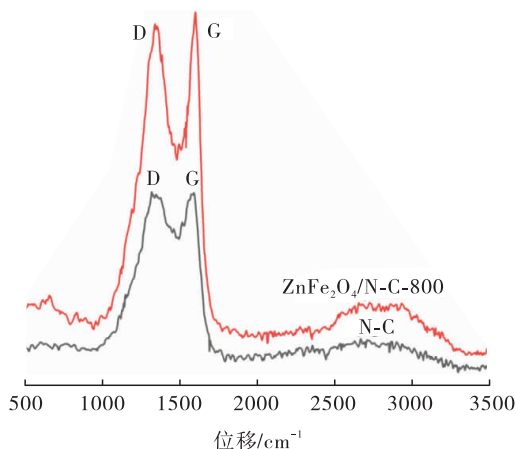
a) ZnFe₂O₄/PANIb) ZnFe₂O₄/N-C-800图2 催化剂前驱体 ZnFe₂O₄/PANI 和催化剂样品 ZnFe₂O₄/N-C-800 的 SEM 图Fig. 2 The SEM images of catalyst precursor ZnFe₂O₄/PANI and catalyst sample ZnFe₂O₄/N-C-800

图3 催化剂样品的 Raman 光谱图

Fig. 3 The Raman spectrum of catalyst samples

为 C 原子的无序振动峰,1600 cm⁻¹左右的 G 峰为 C 原子 sp² 杂化面内的对称伸缩振动峰^[15-16]. 通常,用 D 峰和 G 峰的强度比值 I_D/I_G 表示碳原子结构的缺陷程度,二者的比值越小,表示该材料的石墨化程度越高,导电性越好^[17]. 经计算可知,N-C 的 I_D/I_G 值为 1.12, ZnFe₂O₄/N-C-800 的 I_D/I_G 值为 0.97,说明 ZnFe₂O₄ 的引入有助于催化剂 ZnFe₂O₄/N-C 石墨化程度的提高,进而有助于提高其电催化性能.

2.4 催化剂样品的电化学性能分析

图 4 为催化剂样品 N-C, ZnFe₂O₄ 和

ZnFe₂O₄/N-C-800 在三电极体系中对 HER 性能的线性扫描图和双电层电容曲线(扫描速率为 5 mV/s). 由图 4a) 可以看出,3 种催化剂样品的电流密度均随还原电压的增大而增大,与文献[18]的描述一致. 其中,N-C 在测试电压范围内的电流密度几乎不变,说明它的 HER 催化性能较差;ZnFe₂O₄ 的催化性能略有加强,但电流密度较小且过电压较高;ZnFe₂O₄/N-C-800 的 HER 催化性能则明显提升,在还原电流密度为 10 mA/cm² 时,其过电压仅为 -0.2 V.

双电层电容曲线图中的斜率表示所制备样品的双电层电容值(Cdl). 一般来说,催化剂的电活性比表面积(ECSA)值与 Cdl 值成正比:Cdl 值越大,所对应的 ECSA 值也越大,其催化性能也越好^[19]. 由图 4b) 可以看出,N-C 的 Cdl 值为 13.65 mF/cm², ZnFe₂O₄ 的 Cdl 值为 1.05 mF/cm², ZnFe₂O₄/N-C-800 的 Cdl 值为 21.75 mF/cm², ZnFe₂O₄/N-C-800 的 Cdl 值明显大于 ZnFe₂O₄ 的 Cdl 值和 N-C 的 Cdl 值,即 ZnFe₂O₄/N-C-800 的 ECSA 最大,催化性能最好,这一结论与 HER 性能测试结果是一致的.

此外,笔者还考察了不同碳化温度条件下所制备样品 ZnFe₂O₄/N-C 对 HER 和 OER 的催化性能. 图 5 为催化剂样品 ZnFe₂O₄/N-C 对 HER

和 OER 的 LSV 图(其中, $n(\text{Fe}) : n(\text{Zn}) = 2 : 1$, 金属离子总浓度为 0.1 mol/L). 由图 5 可以看出, 随着碳化温度的提高, $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 的催化性能均呈先增大后减小的趋势, 且当碳化温度为 $800 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 煅烧之后所制得的样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ 对 HER 和 OER 的催化性能均较好, 在相同电流密度下, 其施加电压最小. 结合性能评价结果和催化剂制备条件可知, 适宜的催化剂碳化温度为 $800 \text{ }^\circ\text{C}$.

3 结论

本文以 PANI 为基体和碳源、 ZnCl_2 和

FeCl_3 为金属源, 利用水热法在 PANI 表面原位合成 ZnFe_2O_4 尖晶石, 进而制得 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{PANI}$ 催化剂前驱体, 经碳化后得到电解水反应所需的催化剂 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$. 通过考察碳化温度对该催化剂结构和性能的影响可知, 高温有利于 ZnFe_2O_4 的生成和 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 结晶性的提高, 当 $n(\text{Fe}) : n(\text{Zn}) = 2 : 1$, 金属离子总浓度为 0.1 mol/L , 碳化温度为 $800 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 所得催化剂样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C-800}$ 的石墨化程度最好, I_D/I_G 值为 0.97 , 低于 N-C 的 I_D/I_G 值 (1.12), 且对 HER 和 OER 均具有较好的催化性能. 本文所制 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 催化剂表现出良好的电解

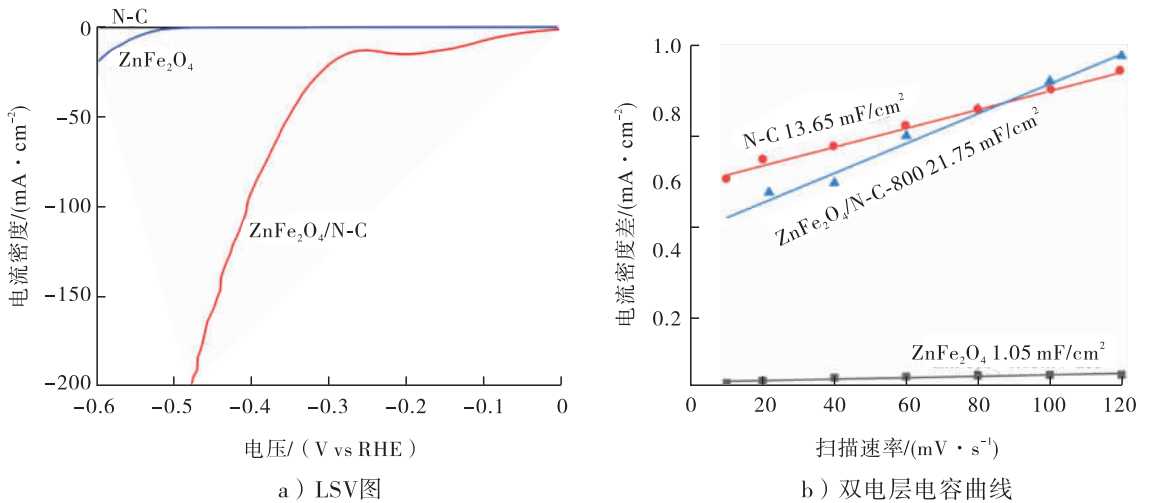


图 4 催化剂样品对 HER 的 LSV 图和双电层电容曲线

Fig. 4 The LSV curves for HER and the calculated Cdl of prepared catalysts

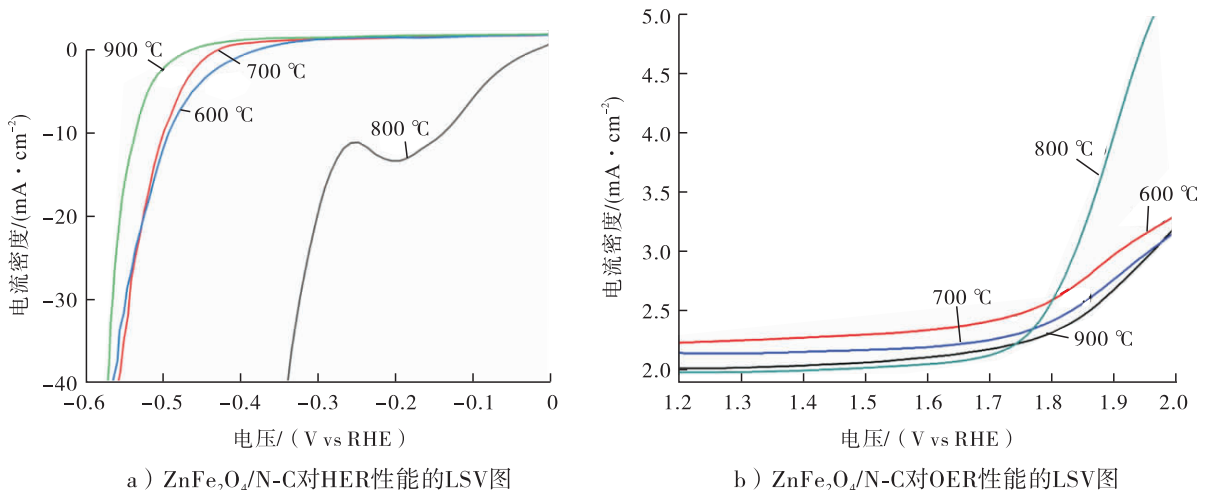


图 5 不同碳化温度下催化剂样品 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ 对 HER 性能和 OER 性能的 LSV 图

Fig. 5 The LSV curves for HER and OER of $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{N-C}$ catalyst with different pyrolysis temperature

水催化性能,具有很好的潜在应用前景,可为高效电解水催化剂的设计开发提供重要参考.后续将进一步研究催化剂中 ZnFe₂O₄ 负载量对催化性能的影响并考察其催化稳定性,同时尝试将电化学测试与原位表征技术相关联,基于实验和表征结果,利用分子模拟技术再结合密度泛函理论,阐明催化剂对 HER 和 OER 的催化反应机理.

参考文献:

- [1] 倪萌, LEUNG M K H, SUMATHY K. 电解水制氢技术进展[J]. 能源环境保护, 2004, 18(5): 6.
- [2] 刘芸. 绿色能源氢能及其电解水制氢技术进展[J]. 电源技术, 2012, 36(10): 156.
- [3] 郝伟峰, 贾丹瑶, 李红军. 基于可再生能源水电解制氢技术发展概述[J]. 价值工程, 2018, 505(29): 244.
- [4] BASHYAM R, ZELENAY P. A class of non-precious metal composite catalysts for fuel cells [J]. Nature, 2006, 443(7107): 63.
- [5] CHEN Z, HIGGINS D, YU A, et al. A review on non-precious metal electrocatalysts for PEM fuel cells [J]. Energy & Environmental Science, 2011, 4(9): 3167.
- [6] 臧一鹏. 碳基过渡金属(铁、钴、镍)电催化剂的合成与性能研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2017.
- [7] 陶磊明. 尖晶石型过渡金属基催化剂的设计合成及其电催化分解水性能研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2018.
- [8] WANG Y, ZHU C, FENG S, et al. Interconnected Fe, S, N-codoped hollow and porous carbon nanorods as efficient electrocatalysts for oxygen reduction reaction[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(46): 40298.
- [9] BIN D, YANG B, LI C, et al. In situ growth of NiFe alloy nanoparticles embedded into N-doped bamboo-like carbon nanotubes as a bifunctional electrocatalyst for Zn-air batteries [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(31): 26178.
- [10] WU G, MORE K L, JOHNSTON C M, et al. High-performance electrocatalysts for oxygen reduction derived from polyaniline, iron, and cobalt[J]. Science, 2011, 332(6028): 443.
- [11] QIAO H, LI R, YU Y, et al. Fabrication of PANI-coated ZnFe₂O₄ nanofibers with enhanced electrochemical performance for energy storage[J]. Electrochimica Acta, 2018, 273: 282.
- [12] 刘宾宾. 聚苯胺及其复合材料的制备与氨敏特性研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2010.
- [13] 张金章, 黄艺吟, 郭永榔. 负极材料石墨/SnO₂/无定形碳的电化学性能[J]. 电池, 2010, 40(4): 15.
- [14] CHISAKA M, IJIMA T, ISHIHARA Y, et al. Carbon catalyst codoped with boron and nitrogen for oxygen reduction reaction in acid media[J]. Electrochimica Acta, 2012, 85: 399.
- [15] 兰蒙. 基于层状双金属氢氧化物的碳基杂化催化材料的制备、结构及性能[D]. 北京: 北京化工大学, 2015.
- [16] 狄晓霞. 氮硫共掺杂碳负载金催化乙炔氢氯化反应性能研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2016.
- [17] GENG D, CHEN Y, CHEN Y, et al. High oxygen-reduction activity and durability of nitrogen-doped graphene [J]. Energy & Environmental Science, 2011, 4(3): 760.
- [18] LIU Q, JIN J, ZHANG J. NiCO₂S₄@ graphene as a bifunctional electrocatalyst for oxygen reduction and evolution reactions [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013, 5(11): 5002.
- [19] ZHANG, Q, LI X, TAO B, et al. CoNi based alloy/oxides@ N-doped carbon core-shell dendrites as complementary water splitting electrocatalysts with significantly enhanced catalytic efficiency[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2019, 254: 634.



引用格式:李莹,苏钰,李军,等. 不同方法制备的 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料电化学性能对比分析[J]. 轻工学报,2020,35(3):44-51.

中图分类号:TB333 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.006

文章编号:2096-1553(2020)03-0044-08

不同方法制备的 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料 电化学性能对比分析

Comparative analysis of electrochemical properties of $ZnMn_2O_4/RGO$ composites prepared by different methods

李莹,苏钰,李军,陈成

LI Ying, SU Yu, LI Jun, CHEN Cheng

关键词:

$ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料; 溶剂热法; 水热法; 石墨烯; 超级电容器

上海工程技术大学 材料工程学院, 上海 201600

School of Materials Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201600, China

Key words:

$ZnMn_2O_4/RGO$ composites; solvothermal method; hydrothermal method; graphene; supercapacitor

摘要:以乙酸锰、乙酸锌和自制氧化石墨烯为原料,分别采用溶剂热法和水热法制备了 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料,并对其电化学性能进行对比分析.结果表明:RGO 的加入,增大了 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料的比表面积,改善了 $ZnMn_2O_4$ 材料的电化学性能;在电流密度为 $2 A/g$ 的条件下,采用溶剂热法和水热法所制 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料的比电容分别为 $763.4 F/g$ 和 $127.8 F/g$,经 500 次循环实验后,这两种方法所制备的复合材料的电容保持率分别为 84.9% 和 83.0%,综合考虑,溶剂热法所制 $ZnMn_2O_4/RGO$ 复合材料的综合性能较好.

收稿日期:2019-08-25;修回日期:2020-02-22

基金项目:国家自然科学基金项目(051301105,051471105);上海工程技术大学一流研究生培养项目(060303)

作者简介:李莹(1994—),女,江苏省扬州市人,上海工程技术大学硕士研究生,主要研究方向为超级电容器电极材料.

通信作者:苏钰(1977—),女,上海市人,上海工程技术大学副教授,博士,主要研究方向为金属热力学计算及钢成形性能;李军(1977—),男,上海市人,上海工程技术大学教授,博士,主要研究方向为电化学及材料的表面性能.

Abstract: Using manganese acetate, zinc acetate and self-made graphene oxide as raw materials, $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites were prepared by solvothermal method and hydrothermal method, respectively, and their electrochemical properties were studied comparatively. The results showed that the addition of RGO increased the specific surface area of the $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites and improved the electrochemical properties of the ZnMn_2O_4 material; under the condition of a current density of 2 A/g, the $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites prepared by solvothermal method and hydrothermal method had specific capacitances of 763.4 F/g and 127.8 F/g, respectively. After 500 cycles of experiments, the capacitance retention rates of the composites made by these two methods were 84.9% and 83.0%, respectively. The $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites made by thermal method had better comprehensive properties.

0 引言

随着全球经济的迅速发展,煤炭、石油、天然气等化石燃料的大量使用,环境污染问题日益严重;与此同时,化石燃料的过度开采又加剧了能源危机,于是新能源产业应运而生^[1-2]. 储能装置在新能源产业中占有重要地位,超级电容器作为一种新型储能装置,因功率密度和能量密度均较高,在电动汽车、移动电源、大型电力装置等领域具有广阔的应用前景^[3-4].

长期以来,石墨烯(RGO)材料一直被广泛应用在超级电容器、锂离子电池、燃料电池等与能源相关的电化学领域^[5]. 然而,石墨烯材料片层间存在的范德华力使石墨烯片易发生堆叠,减小了其有效面积,从而导致其电化学性能降低. 双金属氧化物,如 ZnMn_2O_4 , NiMn_2O_4 , NiCo_2O_4 等,因具有较高的氧化还原活性、更广的潜在窗口、丰富的储量,被广泛应用在高性能超级电容器制备领域^[6-7]. 其中, ZnMn_2O_4 具有较高的电导率,可以减少离子充电、放电过程中的能量损失^[8],但在充电、放电过程中存在体积变化较大、分散性较差等缺点,导致其电化学性能降低^[9]. 因此,将石墨烯材料与 ZnMn_2O_4 复合,不仅可以增加石墨烯片层的间距,有效防止其团聚,而且在导电方面二者也表现出优异的协同作用^[10-11].

C. K. Sim 等^[12]采用煅烧法合成了介孔碳/ ZnMn_2O_4 材料,该材料具有较高的孔隙率、比表

面积和较长的寿命,在电流密度为 0.3 A/g 的条件下,经过 5000 次循环实验,其电容保持率仍为 90.77%. T. Zhang 等^[13]通过氨丙基三甲氧基硅烷(APS)交联促进剂制备出石墨烯包裹的 ZnMn_2O_4 空心微球材料,该材料具有较高的循环稳定性、较快的充放电速率,在电流密度为 100 mA/g 的条件下,经过 90 次循环实验,其比容量为 1082 mAh/g. P. E. Saranya 等^[14]通过物理化学法合成了晶粒尺寸平均为 18 nm 的 ZnMn_2O_4 /石墨烯材料,该材料具有良好的导电性,在扫描速度为 5 mV/s 的条件下,其比电容达 1341 F/g. 但以上这些制备方法均存在反应时间长、工艺复杂等问题,而水热法和溶剂热法基于相转变机理,操作简单,成本低,有利于产业化应用,但目前文献仅有关于采用两种方法制备单质 ZnMn_2O_4 的报道^[15-16],鲜见采用这两种方法制备 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的研究. 鉴于此,本文拟以乙酸锰、乙酸锌和自制氧化石墨烯(GO)为原料,分别选用溶剂热法和水热法制备 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料,探讨采用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的电化学性能差异,以期为低成本、高性能的超级电容器产业化应用提供参考.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂:浓 H_2SO_4 , 浓 H_3PO_4 , 浓 HCl, 宜兴市第二化学试剂厂产; KMnO_4 , 乙酸锰

($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 乙酸锌($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 尿素, H_2O_2 , 无水乙醇, KOH, 国药集团化学试剂有限公司产. 以上试剂均为分析纯.

主要材料: 鳞片石墨(C), 青岛东凯石墨有限公司产; 泡沫镍、乙炔黑, 太原市迎泽区力之源电池生产部产; 聚偏氟乙烯(PVDF), 法国阿玛科集团有限公司产. 以上材料均为工业级.

主要仪器: KEY1/2004 型电子天平, 常州科源电子仪器有限公司产; DHG101-1 型电热恒温鼓风干燥箱, 上虞市沪越仪器设备厂产; H1850 型离心机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司产; XTMA-1000A 型智能温度控制器, 上海自动化仪表六厂产; 25ML-1L 型水热合成反应釜, 秋佐科技有限公司产; 雷磁 JB-2A 型恒温电磁搅拌器, 上海仪电科学仪器股份有限公司产; 洁盟 JP-040 型超声波清洗机, 上海安亭科学仪器厂产; Metrohm Autolab PGSTAT 302N 型电化学工作站, 瑞士万通中国有限公司产; X Pert 型多晶粉末 X 射线衍射仪, 荷兰帕纳科公司产; JEM-2100F 型扫描电子显微镜, 日本电子株式会社产; BJ-30 型粉末压片机, 天津博君科技有限公司产; DXR 激光拉曼光谱仪, 美国热电公司产.

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备 GO 的制备: 采用改良的 Hummers 法, 将 1 g 鳞片石墨、18 mL 浓 H_2SO_4 和 2 mL 浓 H_3PO_4 于冰水浴条件下混合均匀; 低温下缓慢加入 3 g KMnO_4 , 于冰水浴($10\text{ }^\circ\text{C}$) 条件下反应 2 h; 升温至 $35\text{ }^\circ\text{C}$, 反应 30 min 后, 加入 50 mL 去离子水; 再升温至 $98\text{ }^\circ\text{C}$, 加入 10 mL 质量分数为 30% 的 H_2O_2 , 反应 30 min 后趁热离心, 得到亮黄色粗产物; 用质量分数为 5% 的 HCl 溶液和去离子水将粗产物洗涤至中性, 且检测无 SO_4^{2-} 存在为止; 最后将中性粗产物置于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱中干燥 12 h, 即得 GO.

溶剂热法制备 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料:

将 1 mmol 乙酸锌和 2 mmol 乙酸锰溶于 10 mL 的无水乙醇中, 磁力搅拌 1 h; 将该混合溶液缓慢加入到 60 mL 含有 0.14 g GO 的无水乙醇中, 磁力搅拌 1 h; 将此时得到的混合溶液放入 $180\text{ }^\circ\text{C}$ 水热合成反应釜中, 反应 10 h 后, 将离心所得沉淀置于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱中干燥 12 h, 即得 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料.

水热法制备 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料: 将 1 mmol 乙酸锌和 2 mmol 乙酸锰溶于 15 mL 去离子水中, 磁力搅拌 1 h; 将该混合溶液缓慢加入到 60 mL 含有 0.14 g GO 的无水乙醇中, 磁力搅拌 1 h; 接着将此时得到的混合溶液加入 1 mL 质量分数为 30% 的 H_2O_2 中, 搅拌 30 min; 然后将此时得到的混合溶液放入 $180\text{ }^\circ\text{C}$ 水热合成反应釜中, 反应 10 h; 最后将所得黑色产物清洗至 pH 值接近 7 后, 置于 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱中干燥 24 h, 即得 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料.

1.2.2 样品的表征 采用扫描电子显微镜对样品的形貌进行表征: 电压 10 kV, 放大倍数 10 ~ 500 000.

采用多晶粉末 X 射线衍射仪对样品的物相进行分析: 辐射源 $\text{Cu K}\alpha$, 波长 0.154 06 nm, 管电压 40 kV, 扫描速率 $2\text{ }^\circ/\text{min}$, 测试范围 $10^\circ \sim 100^\circ$.

采用激光拉曼光谱仪对样品的组成和分子结构进行分析, 激光波长 532 nm.

1.2.3 样品的电化学性能测试 利用电化学工作站, 采用三电极的方法, 分别用汞/氧化汞电极为参比电极, 铂片为对电极, 涂覆有活性物质的泡沫镍为工作电极, 1 mol/L KOH 溶液为电解液进行样品的电化学性能测试. 循环伏安(CV)测试条件: 电压范围 0 ~ 0.6 V, 扫描速度分别为 10 mV/s, 20 mV/s, 50 mV/s, 100 mV/s; 恒电流充放电(CD)测试条件: 电压范围 -0.2 ~ 0.7 V, 电流密度分别为 2 A/g, 5 A/g, 10 A/g.

工作电极的制备: 将 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合

材料、乙炔黑、聚四氟乙烯 (PTFE) 按质量比 16 : 3 : 1 进行超声混合,然后将其均匀涂覆于长 2 cm,宽 1 cm 的长方形泡沫镍下端,再将泡沫镍放入 120 °C 干燥箱中干燥 4 h 后,压片备用。

2 结果与讨论

2.1 样品的形貌分析

图 1 为样品的 SEM 图。由图 1a) 可以看出,GO 呈花球状,其表面存在明显的褶皱结构,能够观察到片状的石墨烯层,该结构有利于电解液和离子在样品中的传输;由图 1b) 可以看出,在采用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料中,RGO 有效地连接了 ZnMn_2O_4 微球材料,这种连接可以增大 ZnMn_2O_4 微球之间的接触面积,改善其导电性;由图 1c) 可以看出,在采用水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料中, ZnMn_2O_4 微球材料沉积在 RGO 上,改善了单一 ZnMn_2O_4 微球材料的电化学稳定性。

2.2 样品的组成分析

图 2 为用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 XRD 图。由图 2 可以看出,在 $2\theta = 26^\circ$ 和 $2\theta = 42^\circ$ 处,用两种方法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料均有两个较明显的特征峰,这两个特征峰分别对应石墨烯片层在

(002) 和 (100) 晶面的衍射峰^[17]。

图 3 为用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 Raman 图。由图 3 可以看出,用两种方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料均存在明显的 D 峰 (1350 cm^{-1}), G 峰 (1578 cm^{-1}) 和 2D 峰 (2700 cm^{-1}),这说明 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料中有石墨烯的存在^[18]。在 1020 cm^{-1} 处有一个尖锐的峰,峰宽较窄,归属于杂质产生的衍射峰。在 527 cm^{-1} , 630 cm^{-1} , 978 cm^{-1} 处的衍射峰归属于 ZnMn_2O_4 物相所对应的特征峰。

2.3 样品的电化学性能分析

为研究 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的氧化还原性和可逆性,分别在 10 mV/s, 20 mV/s, 50 mV/s, 100 mV/s 的扫描速率下进行了 CV 实验。图 4 为用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 CV 曲线。由图 4 可以看出,当扫描速率逐渐增大时,闭合曲线所包围的面积也逐渐增大。 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料在 0 ~ 0.6 V 固定电位窗口之间出现了明显的氧化还原峰,这表明 ZnMn_2O_4 发生了强烈的电极反应且反映出赝电容特性。由于受电解液中离子扩散阻力的影响,随着扫描速率的增大,强阳离子 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 氧化峰的位置会向电压增大的方向移动。比电容值的计算公式如下:

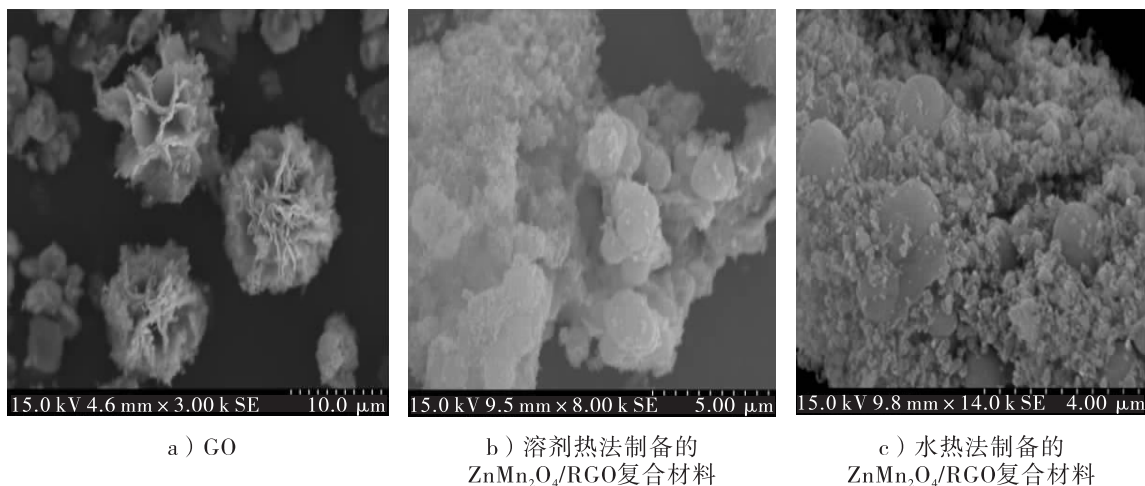
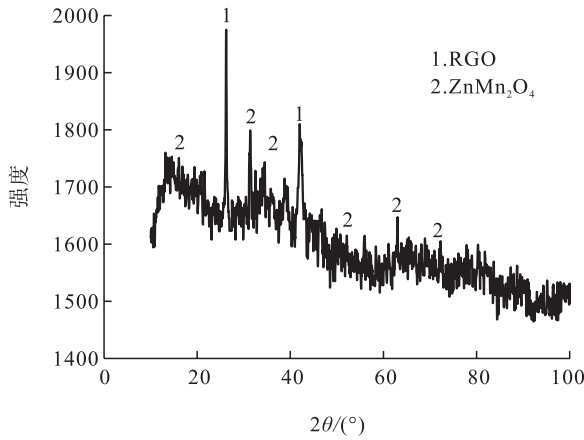
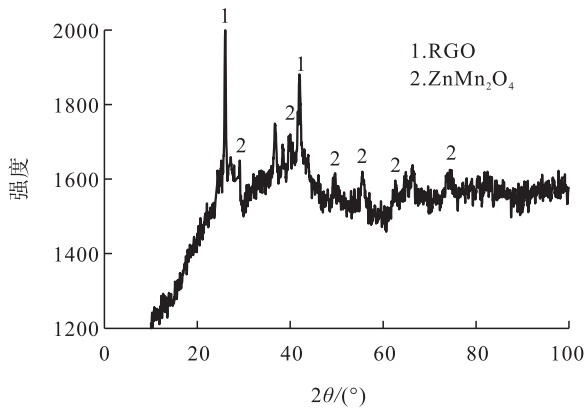


图 1 样品的 SEM 图

Fig. 1 SEM images of the samples



a) 溶剂热法制备的ZnMn₂O₄/RGO复合材料



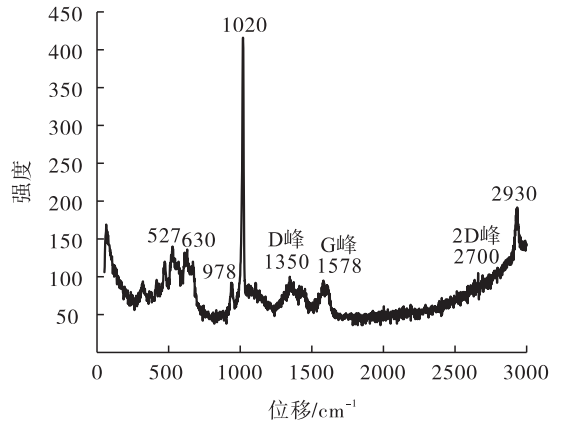
b) 水热法制备的ZnMn₂O₄/RGO复合材料

图2 用不同方法制备的 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料的 XRD 图

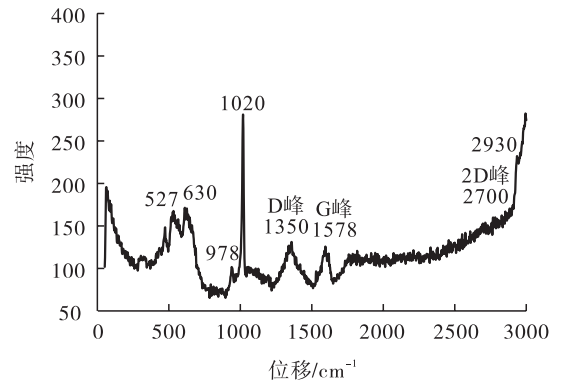
Fig.2 XRD spectrum of ZnMn₂O₄/RGO composites prepared by different methods

$$C = \frac{Q^+ - Q^-}{2m\Delta V} \quad \text{①}$$

其中, C 代表复合材料的比电容值/($F \cdot g^{-1}$); Q^+ 和 Q^- 分别代表泡沫镍电极材料在电化学循环时正极与负极的电荷转移量/ C ; m 为泡沫镍电极材料上 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料活性物质的质量/ g ; ΔV 为测试 CV 曲线时的最大电压差/ V . 由式 ① 可分别算得在 10 mV/s, 20 mV/s, 50 mV/s, 100 mV/s 的扫描速率下, 溶剂热法所制备的 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料相应的比电容值分别为 117 F/g, 100 F/g, 69 F/g, 44 F/g; 水热法所制备的



a) 溶剂热法制备的ZnMn₂O₄/RGO复合材料



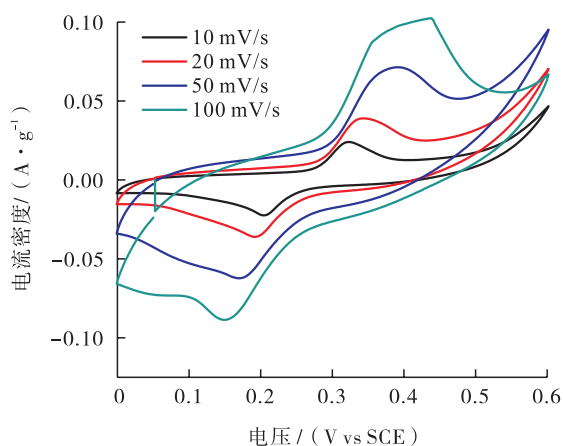
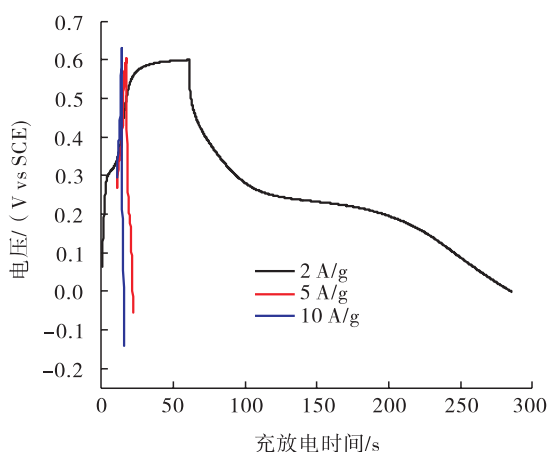
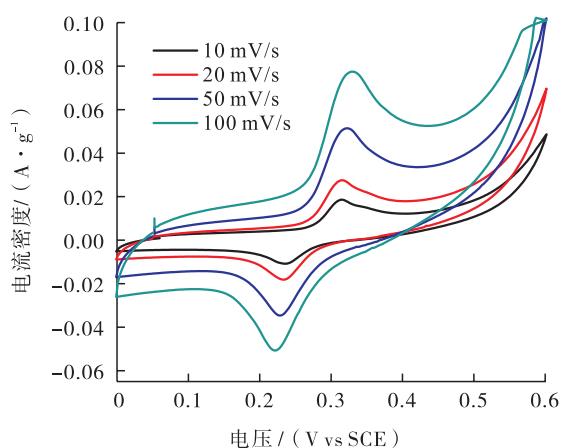
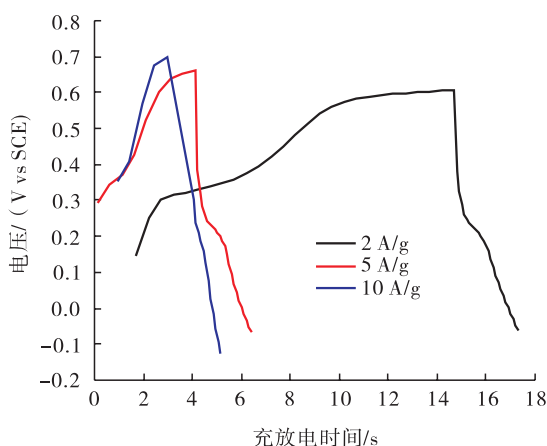
b) 水热法制备的ZnMn₂O₄/RGO复合材料

图3 用不同方法制备的 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料的 Raman 图

Fig.3 Raman spectrum of ZnMn₂O₄/RGO composites prepared by different methods

ZnMn₂O₄/RGO 复合材料相应的比电容值分别为 99 F/g, 91 F/g, 51 F/g, 37 F/g. 由此可知, 随着扫描速率的增大, 两种方法所制备的 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料的比电容值均呈减小的趋势, 这可能是因为扫描速率越大, 电极表面电子反应越不充分, 其内部电阻也就越大, 从而导致其充放电性能降低; 在相同扫描速率下, 溶剂热法所制 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料的比电容值较高, 电化学性能较好.

为进一步证实 ZnMn₂O₄/RGO 复合材料具有优良的电容性能, 分别在 2 A/g, 5 A/g, 10 A/g 的电流密度下进行了 CD 实验. 图 5

a) 溶剂热法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料a) 溶剂热法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料b) 水热法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料b) 水热法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料图4 用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 CV 曲线图5 用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 CD 曲线Fig. 4 The CV curves of $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites prepared by different methodsFig. 5 The CD curves of $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ composites prepared by different methods

为用不同方法制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的 CD 曲线. 由图 5 可以看出, 随着电流密度的增大, 用两种方法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的充放电时间均变小, 但在不同电流密度条件下, 充放电所需的时间间隔相差较大, 而充放电曲线呈现非线性变化, 这说明 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的电容特性主要由 ZnMn_2O_4 发生氧化还原反应而表现出强烈的赝电容行为^[19]. 另外, CD 曲线出现了电势降(平行于 y 轴的直线部分), 这可能是由内电阻造成的电势变化引起的. 根据图

中数据与公式②可计算复合材料的比电容值.

$$C = \frac{It}{m\Delta V} \quad (2)$$

其中, C 代表复合材料的比电容值/ $(\text{F} \cdot \text{g}^{-1})$; I 代表电流/ A ; t 代表放电时间/ s ; m 代表泡沫镍电极材料上 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料活性物质的质量/ g ; ΔV 代表放电时的电压区间/ V . 随着电流密度的增大, 用两种方法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值基本呈减小的趋势, 这是因为电化学反应

速率落后于电子传输的速率. 在电流密度为 2 A/g 的条件下, 用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值高达 763.4 F/g , 而用水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值为 127.8 F/g , 明显低于用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料; 当电流密度升至 10 A/g 时, 溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值为 89.3 F/g , 水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值为 87.22 F/g . 由此可知, 在同一电流密度下, 溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值高于水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料, 这可能是由于在溶剂热法中, 电解质离子在活性材料中的扩散和迁移运动, 改善了复合材料的电化学性能^[20].

图 6 为样品的 EIS 曲线. 在低频区, 与频率相关的离子会从电解液中扩散到电极表面, 即样品的 EIS 曲线斜率越小, 阻抗值越小, 表明该样品具有更理想的电容行为. 由图 6 可以看出, 用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的阻抗值较小, 对电流的阻碍作用较小, 这也说明添加 RGO 后, ZnMn_2O_4 的电化学性能得到了较好的改善.

图 7 为样品的循环寿命曲线(电流密度为 2 A/g , 充放电循环 500 次). 由图 7 可以看出, 在电流密度为 2 A/g 的条件下, 溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的初始比电容值为 763.4 F/g , 经过 500 次充放电循环后, 其比电容值为 647.7 F/g , 电容保持率为 84.9% . 水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的初始比电容值为 127.8 F/g , 经过 500 次充放电循环后, 其比电容值为 105.4 F/g , 电容保持率为 83.0% . 这表明两种方法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料均具有良好的循环性能. 这可能是因为 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的

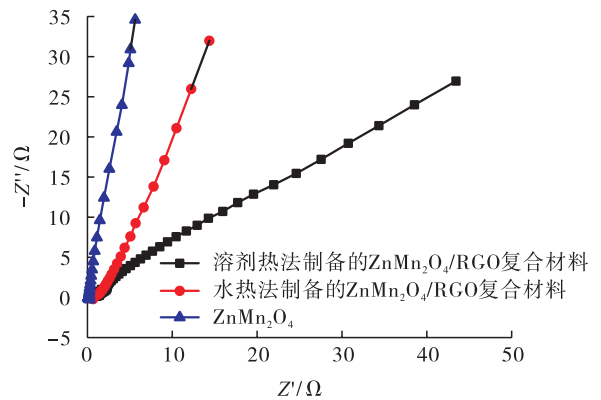


图 6 样品的 EIS 曲线

Fig. 6 The EIS curves of samples

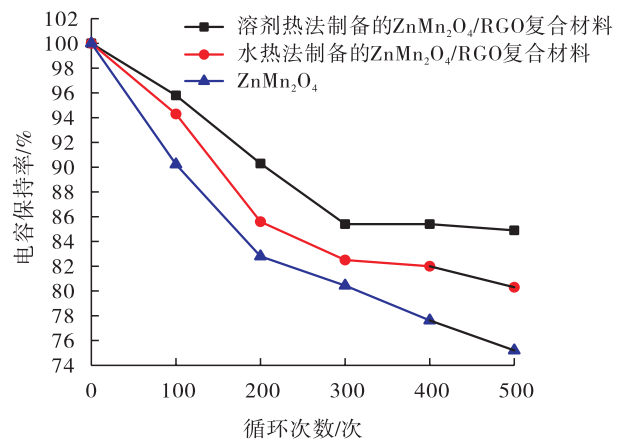


图 7 样品的循环寿命曲线

Fig. 7 The cycle life curves of the samples

特殊结构, 即石墨烯与 ZnMn_2O_4 的复合形成了球孔结构, 这不仅提高了 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的导电性, 而且改善了界面电子的传输速率和传质速率, 使其具有更高的接触面积, 从而具有良好的循环稳定性.

3 结论

本文以乙酸锌、乙酸锰和自制氧化石墨烯为原料, 分别采用溶剂热法和水热法制备了 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料, 通过对比其电化学性能可知: 二元材料的复合可有效提高电极材料的综合电化学性能, RGO 的加入提供了更多的负载位点, 也为 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比

表面积提供了较大的贡献;相比较而言,用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的综合性能更好,在电流密度为 2 A/g 的条件下,用溶剂热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值高达 763.4 F/g ,用水热法所制备的 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的比电容值为 127.8 F/g ;经 500 次充放电循环实验后,这两种方法所制备的复合材料的电容保持率分别为 84.9% 和 83.0% . 本研究制备 $\text{ZnMn}_2\text{O}_4/\text{RGO}$ 复合材料的两种方法均工艺简单,易于实现产业化生产,作为超级电容器电极材料,均具有较好的应用潜力,有望广泛应用于新能源汽车、轨道交通、升降设备等生产领域.

参考文献:

- [1] 梁启超,乔芬,杨健,等. 太阳能电池的研究现状与进展[J]. 中国材料进展,2019,38(5):505.
- [2] 张雪. CdS 基光催化材料的制备及其光催化制氢性能的研究[D]. 新乡:河南师范大学,2018.
- [3] 谢金磊. 基于 NiCo_2S_4 复合材料的柔性固态超级电容器器件制备与储能性能研究[D]. 杭州:浙江理工大学,2019.
- [4] 周恩民,程正富,田亮亮,等. 介孔 NiO 纳米片/泡沫镍复合电极的构建及其在超级电容中的应用[J]. 电子元件与材料,2019,38(1):16.
- [5] 张宇帆. 多孔碳纳米复合材料电化学传感器制备及应用研究[D]. 长春:东北师范大学,2015.
- [6] 周晖. 基于超级电容器的石墨烯-氢氧化物复合材料制备、性能及机理研究[D]. 南京:南京理工大学,2013.
- [7] 陈贵靖,邱孝涛,邱宇涵,等. 电化学沉积制备氧化石墨烯/聚吡咯复合材料及其用于超级电容器的研究[J]. 化学研究与应用,2019,31(1):101.
- [8] 郭娜. ZnMn_2O_4 微/纳米结构的制备及其特性研究[D]. 济南:济南大学,2016.
- [9] 陈爱莲. 含锰金属氧化物介孔负极材料的制备和锂电性能研究[D]. 济南:山东大学,2015.
- [10] 宋文涛. $\text{ZnFe}_2\text{O}_4(\text{Zn}_2\text{SnO}_4)/$ 石墨烯复合负极材料制备表征及掺杂提高磷酸铁锂低温性能[D]. 杭州:浙江大学,2014.
- [11] 李莹,苏钰,李军,等. 石墨烯/金属氧化物在超级电容器中的应用[J]. 人工晶体学报,2019,48(5):794.
- [12] SIM C K, RAZALI S A, MAJID S R, et al. Synthesis and characterization of ternary mesoporous carbon/ ZnMn_2O_4 for supercapacitor application[J]. J Electron Mater,2019(10):1007.
- [13] ZHANG T, YUE H J, QIU H L, et al. Synthesis of graphene-wrapped ZnMn_2O_4 hollow microspheres as high performance anode materials for lithium ion batteries[J]. Rsc Adv, 2015, 5(120):99107.
- [14] SARANYA P E, SELLADURAI S. Efficient electrochemical performance of ZnMn_2O_4 nanoparticles with rGO nanosheets for electrodes in supercapacitor applications[J]. J Mater Sci-Mater El,2018,29(4):3326.
- [15] 陈元峻,陈学法,李斌. ZnMn_2O_4 的水热法合成及其在锂离子电池中的性能[J]. 广州化工,2013,41(2):79.
- [16] 郭娜. ZnMn_2O_4 微/纳米结构的制备及其特性研究[D]. 济南:济南大学,2016.
- [17] 廖健铭. 抗菌防水纸基功能材料的制备与性能研究[D]. 广州:华南理工大学,2018.
- [18] 潘启亮,赵建国,邢宝岩,等. 孔状氧化锌/石墨烯复合材料制备及其电化学性能研究[J]. 应用化工,2016,45(8):1434.
- [19] 田戈,贾明波,李娟,等. 钒液流电池在不同温度下的充放电特性[J]. 当代化工,2014,43(11):2228.
- [20] 王思琼. 多孔炭的制备及其在不同电解质体系的电容性能研究[D]. 大连:大连理工大学,2016.



引用格式:朱贝贝,蔡持,耿宗泽,等. 烟用爆珠干燥前处理工艺的研究[J]. 轻工学报,2020, 35(3):52-59.

中图分类号:TS49 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.007

文章编号:2096-1553(2020)03-0052-08

烟用爆珠干燥前处理工艺的研究

Study on pre-drying treatment technology of breakable capsules in cigarette

朱贝贝¹,蔡持²,耿宗泽¹,费翔²,罗诚¹,杨本刚²,尹嵩²,李东亮¹
ZHU Beibei¹, CAI Chi², GENG Zongze¹, FEI Xiang², LUO Cheng¹, YANG Bengang²,
YIN Song², LI Dongliang¹

关键词:

烟用爆珠;干燥前处理;钙化;爆珠粒径;爆珠压碎强度

1. 四川中烟工业有限责任公司 技术中心,四川 成都 610066;
2. 四川三联新材料有限公司,四川 成都 610000

1. Technology Center, China Tobacco Sichuan Industrial Co., Ltd., Chengdu 610066, China;
2. Sichuan Sanlian New Materials Co., Ltd., Chengdu 610000, China

Key words:

breakable capsule
in cigarette; pre-drying
treatment; calcification;
particle size
of breakable capsule;
crushing strength of
breakable capsule

摘要:采用水清洗、乙醇清洗、钙化处理后水清洗、钙化处理后乙醇清洗4种工艺分别对爆珠进行干燥前处理,从中筛选出适宜的前处理工艺,在此基础上分析钙化浓度对爆珠粒径和压碎强度的影响,确定爆珠干燥前钙化处理中的钙化浓度.结果表明:钙化处理后水清洗为适宜的爆珠干燥前处理工艺,0.3%为适宜的钙化浓度.采用该爆珠干燥前处理工艺和钙化浓度,可以缩短湿爆珠干燥时间、减少能耗,提高生产效率和成品爆珠产品质量的一致性.

收稿日期:2019-12-27

基金项目:成都市科技项目(2018-YF05-00344-GX)

作者简介:朱贝贝(1991—),女,河南省商丘市人,四川中烟工业有限责任公司助理工程师,主要研究方向为烟草化学、烟用材料.

通信作者:李东亮(1973—),男,山西省平遥市人,四川中烟工业有限责任公司研究员,主要研究方向为卷烟生产、卷烟加香、烟用材料.

Abstract: Four kinds of pre-drying treatment technology: water cleaning, ethanol cleaning, water cleaning after calcification treatment and ethanol cleaning after calcification treatment, were used to dry the breakable capsule and select the appropriate pre-drying treatment technology. The influence of calcification concentration on the particle size and crushing strength of the breakable capsule was analyzed, and the calcification concentration in the process of calcification before the breakable capsule drying was determined. The results showed that the water cleaning after calcification treatment was the appropriate pre-drying treatment technology for breakable capsule, and 0.3% was the appropriate calcification concentration. The use of the pre-drying treatment technology and calcification concentration could shorten the drying time of wet breakable capsule, reduce energy consumption, and improve the production efficiency and the consistency of finished breakable capsule products.

0 引言

烟用爆珠俗称胶囊、香珠,里面包裹了由香精香料、中草药提取物和适量溶剂调制成的特色香味液体,在卷烟中添加爆珠是卷烟加香的一种原味补偿技术^[1]。烟用爆珠中添加不同性质的内容物,可以丰富卷烟香气、改善卷烟吃味、降低卷烟有害成分^[2]。近年来,随着爆珠卷烟在国内外市场的迅速发展,烟草企业逐渐加大了对卷烟爆珠的研究。相比国外,国内烟草行业对卷烟爆珠研究的起步较晚,现阶段主要集中在爆珠芯材的溶剂^[3-4]、壁材中的添加剂^[5]、爆珠对卷烟主流烟气的影响等检测分析方面^[6-7],而对其生产工艺的研究却鲜有报道。

目前,爆珠制备产业化常用的方法是同心成膜法:滴制机的同心喷头将壁材溶液和芯材溶液按不同速度喷出;壁材将一定量的芯材包裹后滴入另一种不相溶的冷却液中凝固成型;经后续固化和干燥制得成品爆珠^[1]。爆珠滴制冷却液的主要成分是一种油溶性溶剂,需通过干燥前处理用水或乙醇清洗将其去除。由于滴制后油溶性的冷却液包裹在爆珠表面,并且湿爆珠壁材含水率在90%以上,硬度低,导致出现干燥时间较长(约8 h)、外观圆整度较差、产品质量一致性差异较大等问题。如何快速高效地去除湿爆珠壁材中的水分,提高湿爆珠的硬度,进而提高爆珠的生产效率和品质,是爆珠生产过程中急需解决的问题。爆珠壁材的主要成

分是海藻酸钠,这是一种成膜性很强的多糖类线型聚合物^[2],海藻酸钠G单元上的 Na^+ 与 Ca^{2+} 发生离子交换反应可生成结构致密的海藻酸钙^[8-10]。而引入 Ca^{2+} 后, Ca^{2+} 可以与海藻酸钠G单元上的多个O原子发生螯合作用,使海藻酸钠链间进行交联,生成结构更致密的海藻酸钙凝胶,从而在制备海藻酸钙药用胶囊中能够较好地保持胶囊原有的形状^[9],但钙化过程对卷烟爆珠制备的影响尚不清楚。

鉴于此,本文拟采用水清洗、乙醇清洗、钙化处理后水清洗、钙化处理后乙醇清洗4种工艺对爆珠进行干燥前处理,以筛选出适宜的前处理工艺,并分析钙化浓度对爆珠粒径和压碎强度的影响,以期实现缩短爆珠干燥时间、改善产品质量、提高生产效率、节约生产成本的目的,为烟用爆珠工业化生产提供一定的参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂:胶粉(混合物,主要成分为海藻酸钠)、甘油(质量分数99.5%),云南巴菰生物科技有限公司产;MTC芯材(质量分数99%),上海陆安生物科技有限公司产;1886.220着色剂,上海爱普生物科技有限公司产; CaCl_2 (质量分数99%),广州穗欣化工有限公司产;乙醇(质量分数99%),成都海俊化工有限公司产。

主要仪器:304材质150L化胶罐、双锐孔液中点滴式无缝滴丸机、304材质防爆4风道

干燥转笼,云南巴菰生物科技有限公司产; ZL23 烟用爆珠综合测试仪,成都瑞拓科技股份有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 钙化液的配制 将水、甘油和着色剂按照 10 000 : 50 : 3 的质量比混合,制备钙化液。分别准确称取水 10 000 g,甘油 50 g,着色剂 3 g,加入不锈钢桶内,然后加入一定量的 CaCl_2 ,搅拌溶解,配制成 CaCl_2 质量分数分别为 0.1%、0.3%、0.6%、0.9% 的钙化液。

1.2.2 湿爆珠的制备 爆珠生产工艺流程(如图 1 所示)为:将胶粉加入经去离子水稀释的体积分数为 1% 的甘油中,在化胶罐中,于温度为 75 ℃,转速为 50 r/min 的条件下充分溶解,配制成一定质量浓度的胶粉溶液;使用无缝滴丸机将胶粉溶液和芯材按一定比例滴制成直径为 (3.1 ± 0.2) mm 的湿爆珠,严格控制 10 粒湿爆珠壁材的重量为 (46.5 ± 1.5) mg;将湿爆珠清洗后进行干燥,将干燥好的爆珠使用乙醇二次清洗,以去除干燥过程中因破损爆珠香精外露而包裹在其他爆珠表面的香精,然后放置平衡间平衡,经筛选后,进行外观检测。

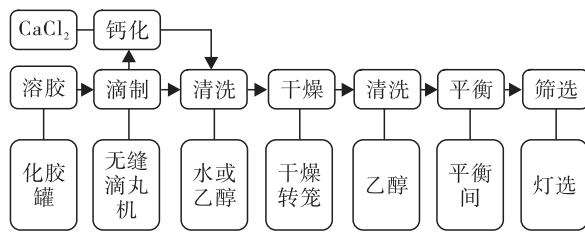


图 1 爆珠生产工艺流程图

Fig. 1 Production process of breakable capsules

1.2.3 烟用爆珠干燥前处理工艺的筛选 将滴制的湿爆珠随机分组,每份 7 kg,分别采用水清洗、乙醇清洗、钙化处理后水清洗和钙化处理后乙醇清洗 4 种不同工艺进行干燥前预处理。其中,钙化处理即将湿爆珠浸泡在 0.6% 的钙化液中处理 30 min。然后将处理过的湿爆珠分

别转入同一个转笼中,在温度 29 ℃,湿度 34%,转速 30 r/min 的条件下进行干燥,干燥至爆珠壁材最终含水率为 0.8% 左右,记录所用干燥时间。经二次清洗、平衡、筛选后获得成品爆珠。随机取 150 粒成品爆珠,使用爆珠综合测试仪在施压速度为 25 cm/min 条件下,测定成品爆珠的粒径和压碎强度。使用 Spss 20.0 数据处理软件进行数据分析。研究不同的干燥前处理工艺对湿爆珠干燥时间、爆珠粒径、爆珠压碎强度的影响,确定最佳的干燥前处理工艺。

1.2.4 烟用爆珠干燥前处理工艺中钙化浓度的确定 选用已确定的最佳干燥前处理工艺,进一步研究钙化浓度(本文用钙化液中 CaCl_2 的质量分数表征钙化浓度)对爆珠物理指标的影响。将滴制的湿爆珠随机分组,每份 7 kg,将湿爆珠浸泡在钙化浓度分别为 0.1%、0.3%、0.6%、0.9% 的钙化液中处理 30 min。经二次清洗、平衡、筛选后获得成品爆珠。随机取 150 粒成品爆珠,使用爆珠综合测试仪在施压速度为 25 cm/min 条件下,测定爆珠的粒径和压碎强度。使用 Spss 20.0 数据处理软件进行数据分析。研究钙化浓度对爆珠粒径、爆珠压碎强度的影响,确定最佳的钙化浓度。

2 结果与讨论

2.1 烟用爆珠干燥前处理工艺的筛选结果

2.1.1 干燥前处理工艺对湿爆珠干燥时间的影响 采用不同的干燥前处理工艺,湿爆珠干燥时间分别为水清洗 8 h,乙醇清洗 6 h,钙化处理后水清洗 5.5 h,钙化处理后乙醇清洗 4.5 h。乙醇清洗湿爆珠的干燥时间与水清洗相比,干燥效率提高了 25%,乙醇可以缩短湿爆珠的干燥时间,提高干燥效率,这是由于乙醇具有脱水作用^[14],且乙醇的极性小于水的极性,不仅可以使湿爆珠表面脱水,还可以更好地清除湿爆珠表面包裹的油性溶剂,使爆珠中的水分更容

易挥发,进而提高湿爆珠的干燥效率.钙化处理后水清洗湿爆珠的干燥时间缩减到 5.5 h,干燥效率与单独水清洗相比提高了 31.25%.而钙化处理后乙醇清洗湿爆珠的干燥时间缩减到 4.5 h,干燥效率与单独乙醇清洗相比提高了 43.75%.由此可以看出,钙化处理也可以缩短湿爆珠的干燥时间.这可能是由于湿爆珠壁材的主要成分是海藻酸钠,在钙化过程中,壁材中的海藻酸钠与溶液中的 Ca^{2+} 发生离子交换反应(反应过程如图 2 所示),生成结构致密的海藻酸钙^[9],从而使爆珠壁材的含水率下降,干燥时间缩短,干燥效率提高.

2.1.2 干燥前处理工艺对爆珠粒径的影响

粒径是根据烟支规格、感官要求和滤棒加工工艺等指标而规定的爆珠的直径,粒径分布可以表征爆珠大小的一致性,可以间接反映爆珠产品质量的一致性.干燥前处理工艺对爆珠粒径的影响如图 3 所示.从图 3 可以看出,乙醇清洗对爆珠粒径均值 MV 和标准差 SD 影响较小;钙化处理对爆珠粒径均值影响也较小,但使粒径分布范围减小,粒径标准差降低.这可能是由于

钙化过程中生成了结构致密的海藻酸钙凝胶壁材,使湿爆珠的硬度增加,在干燥过程中爆珠能够较好地保持其原有的形状,干燥后粒径分布较为均匀,产品质量一致性较好.

2.1.3 干燥前处理工艺对爆珠压碎强度的影响

压碎强度是在规定条件下对爆珠进行挤压,爆珠被挤压爆裂(破碎)时承受的压力,是衡量爆珠性能的关键物理指标,不仅可以反映爆珠的制造工艺水平,还对爆珠在滤棒中的添加和消费者感官体验有直接影响.干燥前处理工艺对爆珠压碎强度的影响如图 4 所示.从图 4 可以看出,钙化处理对爆珠压碎强度均值影响较小,但使压碎强度标准差增大,分布范围增大.这可能是由于在钙化过程中,当钙化浓度较低时,海藻酸钠分子链上的位点无法被完全占据,交联密度较低,湿爆珠钙化不完全;当钙化浓度过高时,交联速度过快,交联过程不易控制,这两种情况都可能得到交联不均的海藻酸钙爆珠壁材^[10-12],因此,钙化可使爆珠压碎强度标准差增大.而乙醇清洗对爆珠压碎强度均值影响较小,但使爆珠压碎强度标准差增大,这

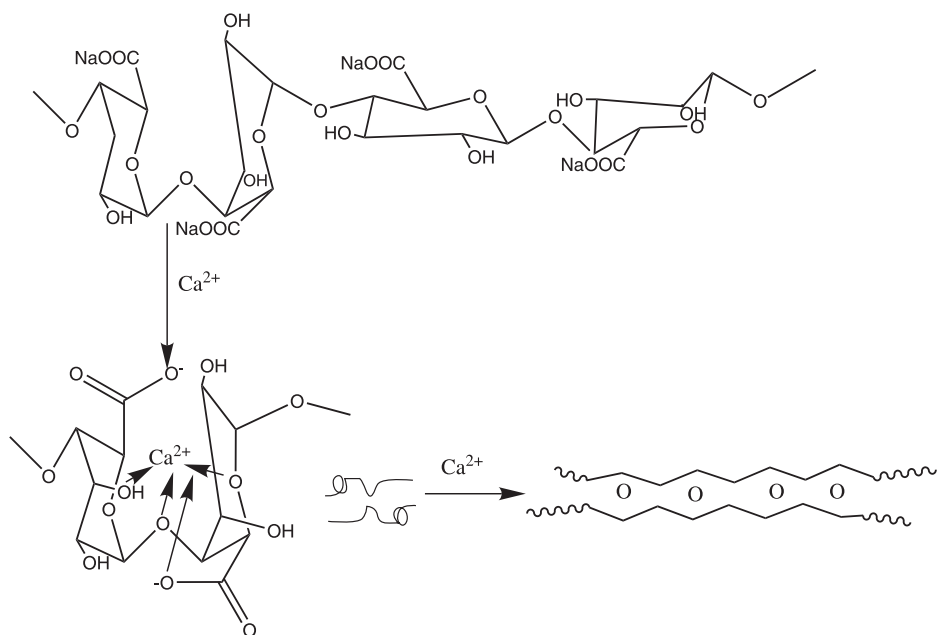


图 2 海藻酸钠与 Ca^{2+} 离子交换反应

Fig. 2 Sodium alginate and Ca^{2+} ion exchange reaction

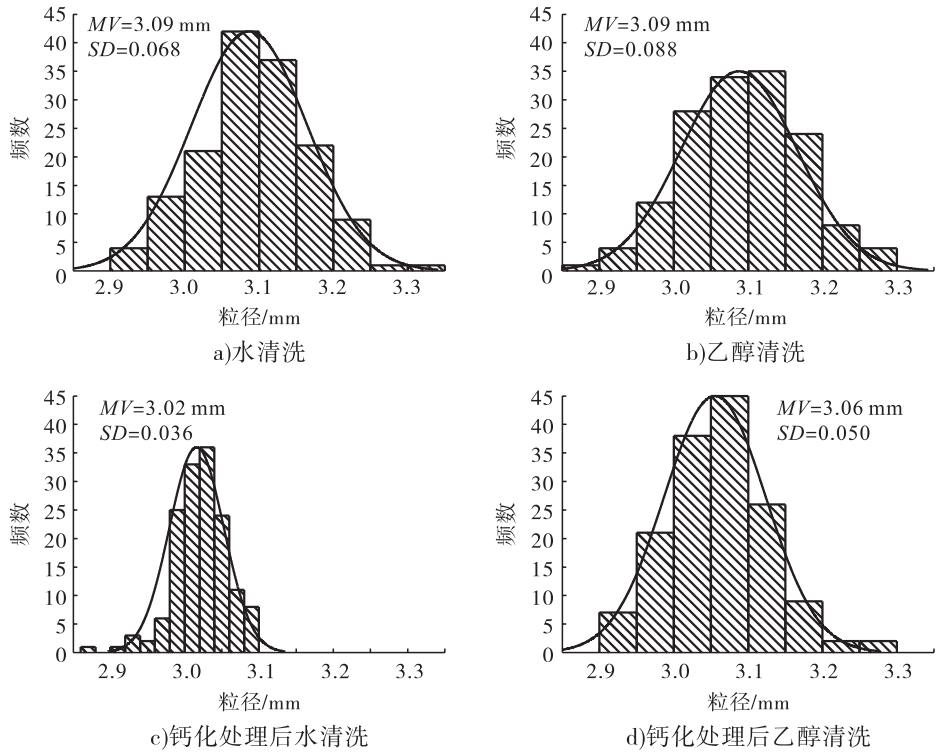


图3 干燥前处理工艺对爆珠粒径的影响

Fig. 3 Effect of pre-drying treatment technology on the particle size of breakable capsule

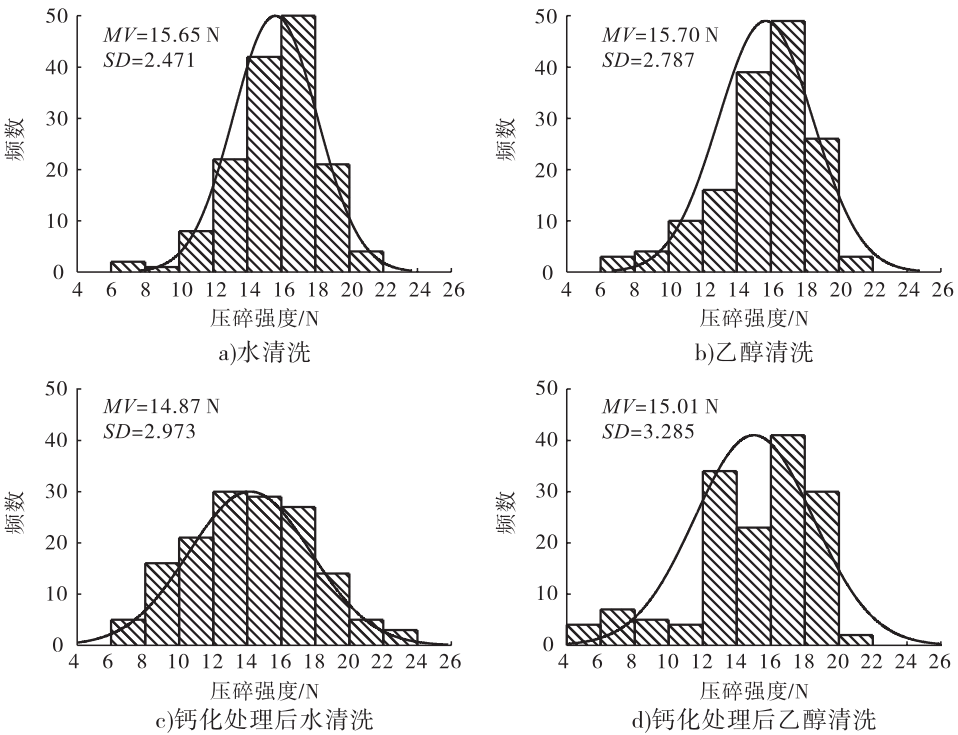


图4 干燥前处理工艺对爆珠压碎强度的影响

Fig. 4 Effect of pre-drying treatment technology on the crushing strength of breakable capsule

可能是由于乙醇可以使生物材料表面快速脱水^[13],而脱水较快又导致脱水不均匀,进而使产品质量一致性差异增大。

综上所述,钙化处理可以缩短湿爆珠的干燥时间,使粒径分布范围减小,粒径标准差降低,并且对爆珠压碎强度均值影响较小,因此干燥前处理工艺适合使用钙化处理。同时,相比水清洗,乙醇清洗虽然可以相对缩短爆珠的干燥时间,但却使爆珠压碎强度标准差增加,导致产品质量一致性差异较大,因此,干燥前处理工艺适合选用水清洗。综合考虑,适宜的干燥前处理工艺为:先钙化处理,再进行水清洗。

2.2 烟用爆珠干燥前处理工艺中钙化浓度的确定结果

2.2.1 钙化浓度对爆珠粒径的影响 钙化浓

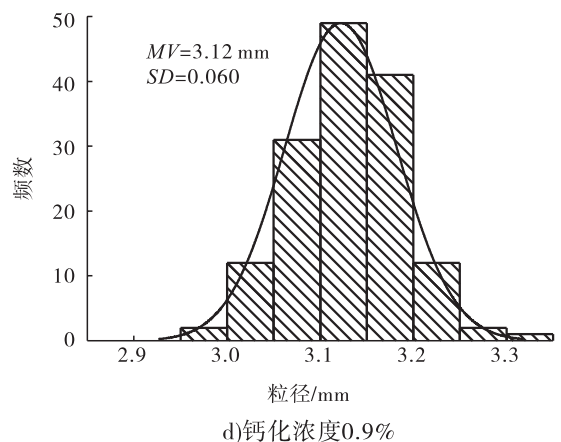
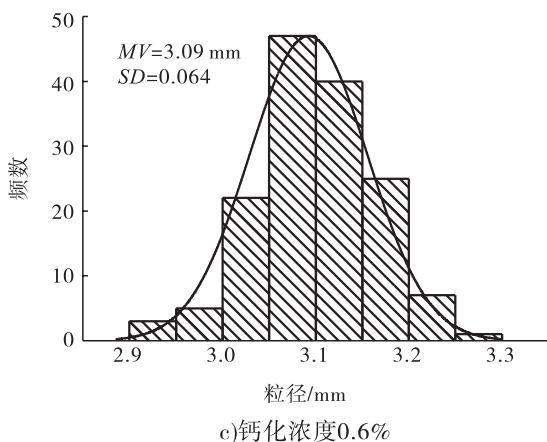
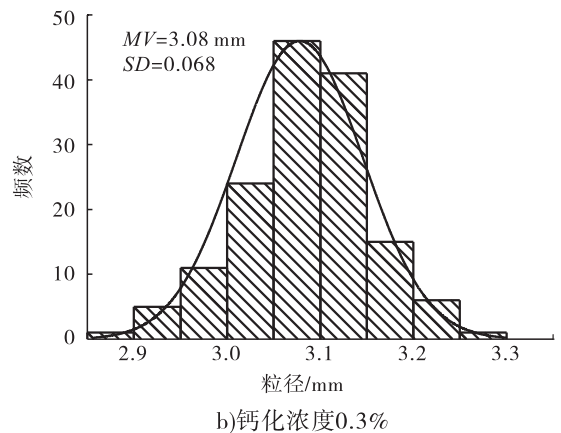
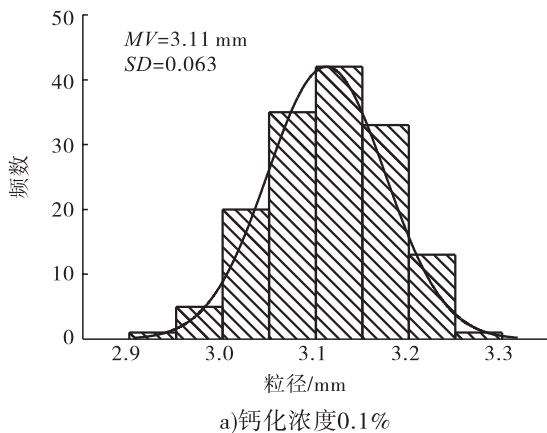


图5 钙化浓度对爆珠粒径的影响

Fig. 5 Effect of calcification concentration on the particle size of breakable capsule

度对爆珠粒径的影响如图5所示。从图5可以看出,随着钙化浓度的升高,爆珠粒径均值、标准差均无明显变化。这表明钙化浓度对爆珠粒径影响较小。

2.2.2 钙化浓度对爆珠压碎强度的影响 钙化浓度对爆珠压碎强度的影响如图6所示。从图6可以看出,钙化浓度对爆珠压碎强度均值无显著影响,但随着钙化浓度的增大,压碎强度标准差先减小后增大,压碎强度分布范围也呈先减小后增大的趋势。当钙化浓度为0.3%时,爆珠压碎强度标准差最小,产品质量一致性最好。这可能是由于 Ca^{2+} 与爆珠海藻酸钠壁材发生交联反应,当钙化浓度较低时,湿爆珠钙化不完全;当钙化浓度过高时,导致交联速度太快,交联时间太短,使与钙化液接触的表面过于迅

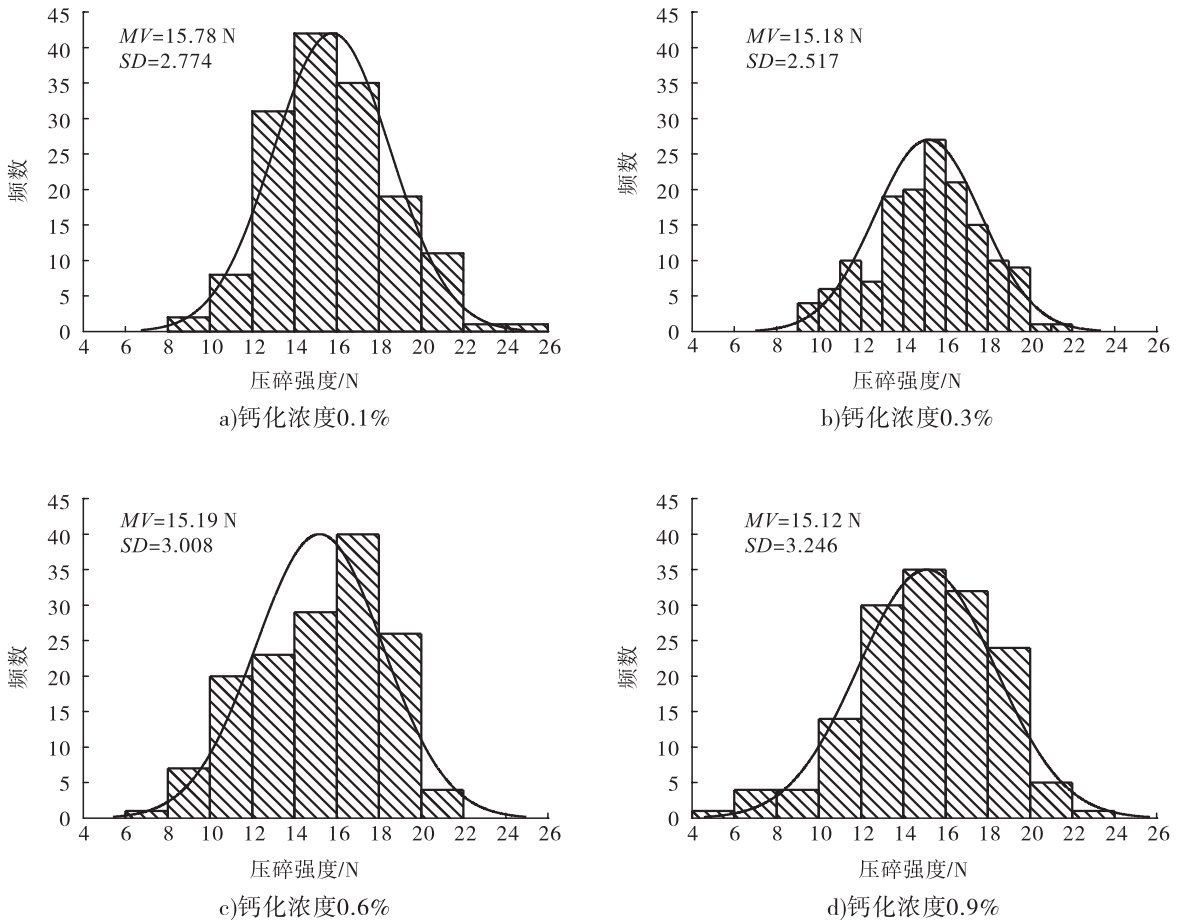


图6 钙化浓度对爆珠压碎强度的影响

Fig.6 Effect of calcification concentration on the crushing strength of breakable capsule

速钙化,形成致密的交联结构,阻碍了 Ca^{2+} 向内部扩散,而靠近芯液的湿爆珠壁材未能充分钙化,易得到交联不均匀的凝胶结构^[10,14-15]. 这两种情况都可能导致钙化不完全,不完全钙化的湿爆珠在干燥脱水的过程可能因脱水不均匀而导致产品质量一致性差异较大.

综上所述,钙化浓度对爆珠粒径影响较小,对爆珠压碎强度均值无显著影响;但随着钙化浓度的增大,压碎强度标准差先减小后增大,压碎强度分布范围也呈先减小后增大的趋势.当钙化浓度为 0.3% 时,爆珠压碎强度标准差最小,产品质量一致性最好.综合考虑,适宜的钙化浓度为 0.3%.

3 结论

本研究分别采用水清洗、乙醇清洗、钙化处

理后水清洗、钙化处理后乙醇清洗 4 种工艺对爆珠进行干燥前处理,从中筛选出适宜的前处理工艺.在此基础上分析钙化浓度对爆珠粒径和压碎强度的影响,得到如下结论:1) 钙化处理可以缩短湿爆珠干燥时间,减少粒径分布范围,降低粒径标准差,并且对爆珠压碎强度均值影响较小,而乙醇清洗会使爆珠压碎强度标准差增加,产品质量一致性差异较大,适宜的爆珠干燥前处理工艺为钙化处理后水清洗;2) 钙化浓度对爆珠粒径影响较小,其为 0.3% 时爆珠压碎强度标准差最小,产品质量一致性最好.

参考文献:

[1] 洪广峰,邱纪青,李国政,等. 国外爆珠卷烟研究进展[J]. 中国烟草学报,2019,25(4):124.

- [2] 崔春,孟祥士,纪朋,等. 陈皮爆珠对卷烟常规理化指标和感官品质的影响[J]. 轻工学报, 2019,34(5):40.
- [3] 何媛,彭军仓,吕娟,等. GC/MS 指纹图谱及系统聚类分析用于烟用爆珠内含物的测定[J]. 烟草科技,2018,51(7):54.
- [4] 席辉,柴国璧,张启东,等. 卷烟爆珠溶剂中链甘油三酯的分离与鉴定[J]. 烟草科技,2018,51(7):61.
- [5] 刘秀明,张健,刘亚,等. 高效液相色谱法同时测定爆珠壁材中8种水溶性着色剂[J]. 中国测试,2018,44(3):48.
- [6] 朱凤鹏,李雪,罗彦波,等. 爆珠破碎对主流烟气有害成分释放量和滤嘴截留的影响[J]. 烟草科技,2017,50(4):37.
- [7] 朱瑞芝,詹建波,蒋薇,等. GC-MS/MS 法分析爆珠关键成分在卷烟中的转移行为[J]. 烟草科技,2018,51(6):58.
- [8] XIE Z P, WANG X, JIA Y, et al. Ceramic forming based on gelation principle and process of sodium alginate[J]. Materials Letters, 2003, 57(9):1635.
- [9] 张东. 褐藻胶植物肠溶空心硬胶囊制备技术[D]. 青岛:中国海洋大学,2010.
- [10] 郭庆. 毫米级海藻酸钙基大胶囊的可控制备、囊壁改性及其性能[D]. 武汉:武汉纺织大学,2018.
- [11] 王康,何志敏. 海藻酸钠与钙或锌离子凝胶动力学过程研究[J]. 离子交换与吸附, 2004(5):424.
- [12] 许加超,卢伟丽,高昕,等. 氯化钙体系制备的褐藻酸钙凝胶特性的研究[J]. 渔业科学进展, 2010,31(1):100.
- [13] KLEMM W R. Dehydration: A new alcohol theory[J]. Alcohol, 1990, 7(1):49.
- [14] 张青,许加超,付晓婷,等. 钙化条件对海藻酸钙空心硬胶囊成型性的影响[J]. 中国海洋药物, 2012(5):11.
- [15] PATHAK T S, YUN J H, LEE J, et al. Effect of calcium ion (cross-linker) concentration on porosity, surface morphology and thermal behavior of calcium alginates prepared from algae (*Undaria pinnatifida*) [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(3):633.



引用格式:周维,杜红毅,孙兰茜,等. 重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分分析[J]. 轻工学报, 2020,35(3):60-71.

中图分类号:TS422 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.008

文章编号:2096-1553(2020)03-0060-12

重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分分析

Analysis of flavor components in flue-cured tobacco leaves of suitable storage period in Chongqing tobacco-growing areas

周维¹,杜红毅¹,孙兰茜¹,戴亚¹,张燕²,汪长国¹,吴德军³,
黎洪利¹

ZHOU Wei¹,DU Hongyi¹,SUN Lanxi¹,DAI Ya¹,ZHANG Yan²,WANG Changguo¹,
WU Dejun³,LI Hongli¹

1. 重庆中烟工业有限责任公司技术中心,重庆 400060;

2. 云南省烟草质量监督检测站,云南 昆明 650106;

3. 烟台中海钧台生物技术开发有限公司,山东 烟台 264003

1. Technology Center, China Tobacco Chongqing Industrial Co., Ltd., Chongqing 400060, China;

2. Tobacco Quality Supervision and Inspection Station in Yunnan Province, Kunming 650106, China;

3. Yantai Zhonghai Diaotai Biotechnology Development Co., Ltd., Yantai 264003, China

关键词:

重庆烟区; 适宜贮存期; 主成分分析; 聚类分析; 烟叶致香成分

Key words:

Chongqing tobacco-growing area; suitable storage period; principle component analysis; cluster analysis; flavor component in flue-cured tobacco leave

摘要:采用 SDE-GC-MS 对重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分含量进行测定,对测定的致香成分进行描述性统计分析;利用主成分分析法筛选致香成分特征指标,并对其进行差异显著性分析、多重比较和聚类分析.结果表明:烟叶中检出的 63 种致香成分含量差异较大,上部烟叶和中部烟叶致香成分变异系数的范围分别为 12.12%~59.97% 和 10.41%~73.25%;烟叶产地、年份、品种、等级四因素对致香成分的影响差异较大,不同因素对致香成分的影响程度依次为产地>年份>品种>等级,而相同部位不同等级的烟叶致香成分几乎无显著性差异;上部烟叶致香成分特征指标含量丰都较高,涪陵其次,武隆最低,中部烟叶致香成分特征指标含量黔江较高,南川其次,武隆最低;上部烟叶和中部烟叶均划分为 3 类,上部烟叶第一类包含丰都、南川,第二类包含武隆、彭水、黔江,第三类为涪陵,中部烟叶第一类包括丰都、南川、黔江,第二类为武隆、涪陵,第三类为彭水,类别间差异显著性高.

收稿日期:2019-12-16

基金项目:重庆中烟工业有限责任公司科技项目(HX2017004)

作者简介:周维(1974—),女,重庆市人,重庆中烟工业有限责任公司助理工程师,主要研究方向为烟草检验.

通信作者:汪长国(1977—),男,安徽省安庆市人,重庆中烟工业有限责任公司研究员,主要研究方向为烟草、烟气化学及生物技术应用.

Abstract: SDE-GC-MS was used to determine the content of flavor components in flue-cured tobacco leaves of suitable storage period in Chongqing tobacco-growing areas, and descriptive statistical analysis was carried out for the determined flavor components. Principal component analysis was used to screen the characteristic indexes of flavor components, and the difference significance analysis, multiple comparison and cluster analysis were carried out for the selected characteristic indexes. The results showed that there were significant differences in the content of 63 flavor components in tobacco leaves, and the variation coefficients of flavor components in upper and middle tobacco leaves were 12.12% ~ 59.97% and 10.41% ~ 73.25% respectively. There were significant differences in the region, aged time, cultivar, and grade of tobacco leaves, and the influence degree of different factors were region > aged time > cultivar > grade, but there was almost no significant difference among the grades within the position. Characteristic index content of flavor components in upper tobacco leaves of Fengdu was higher, Fuling was the second, Wulong was the lowest. Characteristic index content of flavor components in middle tobacco leaves of Qianjiang was higher, Nanchuan was the second, Wulong was the lowest. The upper and middle tobacco leaves were divided into three categories. The first category of upper tobacco leaves includes Fengdu and Nanchuan, the second category includes Wulong, Pengshui and Qianjiang, the third category is Fuling. The first category of middle tobacco leaves includes Fengdu, Nanchuan and Qianjiang, the second category includes Wulong and Fuling, and the third category includes Pengshui, with high significant differences between categories.

0 引言

醇化是烟叶从农产品到卷烟工业原料之间的一个重要环节,也是提高烟叶品质的重要步骤^[1-2]。在烟叶醇化过程中,经过调制、复烤的烟叶在外部环境的影响下,其内部物质发生了一系列生理生化变化,大分子化合物分解为小分子物质,降低了刺激性、青杂气,增添了香气,改善了口感,从而提高了卷烟的品质。随着卷烟工业对烟叶醇化过程的日趋重视,关于烟叶醇化的研究逐渐增多,烟叶醇化的理论、技术成果促进了卷烟原料品质的提升,为卷烟品质的提高作出了积极贡献^[3-15]。卷烟工业生产所用烟叶为醇化后烟叶,即适宜贮存期烟叶,烟叶的醇化品质与烟叶产区、部位、醇化环境密切相关^[14-16]。烟叶致香成分作为烟草化学成分的重要组成部分,对烟叶品质有重要影响^[17-24],醇化后的烟叶致香成分变化较大,而有关适宜贮存期烟叶致香成分的分析鲜有报道。

烟叶致香成分种类繁多,利用全部的指标进行分析评价,任务繁琐、工作量大,因此,如

何筛选出适宜贮存期烟叶致香成分的特征指标,既能保留大部分原始信息,同时又能快速利用少量指标对适宜贮存期烟叶品质及时进行分析评价,非常重要。常见的指标筛选方法主要有变异系数法、相关分析法、指标聚类法等客观统计方法,以及德尔菲法等主观方法^[25],而主成分分析是理论上较为成熟的一种多元统计方法,通过降维和主成分函数表达式来实现评价指标间冗余信息的去除、综合评价及指标筛选^[26-27],将主成分分析法与聚类分析法相结合可以更好地对烟叶化学成分进行评价^[28-30]。

目前,有关重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分差异分析的研究未见报道,鉴于此,本研究采用 SDE-GC-MS 对重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分含量进行测定,在描述性统计分析的基础上,采用主成分分析法筛选出重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分特征指标,据此对烟叶致香成分进行不同差异性分析、多重比较和聚类分析,以实现适宜贮存期烟叶致香成分特征分析、多指标综合评价与分类,为提高重庆烟区

烟叶品质、促进卷烟工业的发展提供参考与借鉴.

1 材料与amp;方法

1.1 材料和仪器

适宜贮存期烟叶:选取重庆烟区乌江流域和武陵山区6个代表性产地的适宜贮存期^[1,16]的48个烤烟复烤片烟(重庆中烟工业有限责任公司提供)为研究材料,其中,上部烟叶24个、中部烟叶24个,均采用同一醇化条件,且存放于同一仓库.适宜贮存期烟叶样品信息如表1所示.

试剂:NaCl,无水Na₂SO₄,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司产;二氯甲烷,色谱

表1 适宜贮存期烟叶样品信息

Table 1 Information of flue-cured tobacco leaves samples in suitable storage period

产地	年份	品种	等级	产地	年份	品种	等级
丰都	2014	云烟87	B3F	彭水	2013	云烟97	B2F
	2015	云烟87	B2F		2013	云烟97	B3F
	2015	云烟87	B4F		2015	云烟97	B4F
	2015	云烟87	B3F		2015	云烟97	B2F
	2014	云烟87	C3F		2013	云烟97	C4F
	2015	云烟87	C3F		2014	云烟97	C4F
	2015	云烟87	C4F		2015	云烟97	C2F
	2015	云烟87	C2F		2013	云烟97	C3F
涪陵	2015	云烟87	B2F	黔江	2014	云烟85	B4F
	2015	云烟87	B4F		2015	云烟85	B3F
	2014	云烟87	B3F		2014	云烟85	B3F
	2015	云烟87	B3F		2015	云烟85	B2F
	2013	云烟87	C2F		2015	云烟85	C4F
	2015	云烟87	C4F		2015	云烟85	C3F
	2014	云烟87	C3F		2014	云烟85	C4F
2015	云烟87	C3F	2014	云烟85	C3F		
南川	2014	云烟97	B3F	武隆	2013	云烟97	B2F
	2015	云烟97	B3F		2014	云烟97	B4F
	2015	云烟97	B4F		2013	云烟97	B3F
	2015	云烟97	B2F		2015	云烟87	B3F
	2014	云烟97	C3F		2013	云烟97	C2F
	2015	云烟97	C2F		2014	云烟97	C2F
	2015	云烟97	C4F		2014	云烟97	C3F
	2015	云烟97	C3F		2015	云烟87	C2F

纯,美国TEDIA公司产;乙酸苯乙酯,色谱纯,德国Sigma-Aldrich公司产.

仪器:FD115烘箱,德国BINDER公司产;Perten3100粉碎机,瑞典Perten仪器公司产;AX504电子分析天平(感量0.0001g),瑞士梅特勒公司产;同时蒸馏萃取仪,安徽省天长市金桥分析仪器厂产;R-205旋转蒸发器,瑞士Buchi公司产;SSY-H恒温水浴,上海三申医疗器械有限公司产;SXKW-1000电热套,北京中兴伟业仪器有限公司产;Agilent7890B/5977BMSD气质联用(GC-MS)分析仪,美国安捷伦科技公司产.

1.2 样品处理

烟叶切丝后,取适量烟丝样品置于40℃烘箱中干燥处理2h,粉碎,过40目筛,准确称取25.0g烟末样品,放入同时蒸馏萃取(SDE)装置一端的1000mL圆底烧瓶中,加入350mL饱和NaCl溶液和一定量的内标化合物(乙酸苯乙酯),用电热套加热;装置的另一端为盛有40mL二氯甲烷的100mL圆底烧瓶,在60℃条件下水浴加热,同时蒸馏萃取3h;蒸馏萃取完成后,向萃取液中加入适量无水Na₂SO₄,干燥过夜;在40℃条件下减压浓缩至1mL,即得样品浓缩液.

1.3 致香成分检测

取适量浓缩液,采用气质联用分析仪进行分析,所得图谱经计算机谱库(NIST14)检索定性,并用内标法计算适宜贮存期烟叶致香成分的相对含量.

GC-MS分析条件:色谱柱为HP-5MS(30m×0.25mm×0.25μm)毛细管色谱柱;载气He;流速1.0mL/min;进样口温度250℃;升温程序为50℃,保持2min,以3℃/min的速度升至200℃,保持2min,再以6℃/min的速度升至260℃,保持5min;进样体积1.0μL;分流比10:1;接口温度280℃;溶剂延迟时间

为 2 min;质谱数据采集速度为 5 Hz;离子源为 EI 源;电子能量 70 eV;离子源温度 230 ℃;质量数范围 35 ~ 450 amu.

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 DPS17. 10^[31] 软件进行数据处理与统计分析,并对测定的致香成分进行描述性统计分析;采用主成分分析法进行致香成分特征指标筛选,利用广义线性模型对筛选出的特征指标进行差异显著性分析,通过类平均数法对致香成分进行聚类分析^[26,32].

2 结果与分析

2.1 重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分的描述性统计分析

烟叶品质的优劣在很大程度上取决于烟叶中的致香成分^[33],遗传和生态因素是影响烟叶

致香成分的主要因素.其中,遗传因素影响香气物质的性质和种类,生态因素则影响香气物质的含量和组分比例^[34].采用 GC-MS 方法对重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分进行描述性统计分析,结果见表 2.由表 2 可知,上部和中部烟叶均检出 63 种致香成分,其含量差异较大,其中新植二烯的含量均最高,分别为 2 742.99 μg/g 和 3 413.02 μg/g,异丁酸含量均最低,分别为 0.27 μg/g 和 0.61 μg/g;63 种致香成分变异系数的范围分别为 12.12% ~ 59.97% 和 10.41% ~ 73.25%,其中 6-甲基-5-(1-甲基亚乙基)-6,8-壬二烯-2-醛变异系数均最小,上部烟叶以螺岩兰草酮变异系数最大,而中部烟叶以(+)-香柏酮变异系数最大.总体上,不同产地、不同年份、不同品种、不同部位的

表 2 适宜贮存期烟叶致香成分描述性统计结果

Table 2 Descriptive statistical results of flavor components of flue-cured tobacco leaves in suitable storage period

因子	致香成分	上部烟叶				中部烟叶			
		平均值 /(μg·g ⁻¹)	最小值 /(μg·g ⁻¹)	最大值 /(μg·g ⁻¹)	变异 系数/%	平均值 /(μg·g ⁻¹)	最小值 /(μg·g ⁻¹)	最大值 /(μg·g ⁻¹)	变异 系数/%
x ₁	异戊醇	3.44	1.64	6.68	38.21	1.97	1.07	3.10	25.04
x ₂	异丁酸	1.42	0.27	2.73	39.82	1.02	0.61	1.55	27.51
x ₃	己醛	4.37	2.96	5.73	16.31	4.02	3.10	4.96	14.13
x ₄	面包酮	11.90	6.95	18.07	21.51	16.09	8.48	24.54	26.90
x ₅	3-呋喃甲醇	3.49	2.21	5.15	21.00	3.38	1.94	4.74	20.23
x ₆	糠醛	212.66	130.38	285.33	21.32	217.73	135.07	274.88	23.35
x ₇	糠醇	139.90	93.15	182.89	15.64	121.40	91.12	169.81	14.77
x ₈	4-环戊烯-1,3-二酮	61.01	43.90	77.79	16.77	63.03	47.92	81.84	15.10
x ₉	2(5H)-呋喃酮	49.69	33.26	73.90	19.78	37.78	22.61	49.35	17.38
x ₁₀	5-甲糠醇	11.14	7.63	15.60	19.50	11.22	7.70	15.47	21.88
x ₁₁	苯甲醛	3.47	2.12	5.45	27.29	3.11	0.66	5.91	41.12
x ₁₂	5-甲基糠醛	27.77	13.94	40.36	19.54	17.96	13.38	24.22	12.48
x ₁₃	甲基庚烯酮	10.59	5.10	19.90	37.80	13.88	7.74	22.80	30.84
x ₁₄	3-吡啶甲醛	8.75	5.99	11.74	21.34	8.52	5.48	12.53	22.04
x ₁₅	2-吡咯甲醛	15.05	8.21	20.79	24.11	12.66	5.52	17.29	25.50
x ₁₆	甲基环戊烯醇酮	5.88	3.78	7.92	19.13	6.50	3.57	10.62	25.98
x ₁₇	苯甲醇	165.87	105.23	226.29	20.00	129.37	64.34	170.97	21.77
x ₁₈	苯乙醛	106.60	68.14	136.34	19.75	86.40	48.89	121.68	19.39
x ₁₉	2-乙酰吡咯	97.81	75.39	118.78	13.30	92.42	53.87	145.00	21.62
x ₂₀	2-甲基-1,4-苯二酚	57.06	31.09	79.37	29.29	60.68	35.13	78.25	25.21
x ₂₁	愈创木酚	7.48	5.51	10.17	17.80	6.30	4.88	10.27	20.54
x ₂₂	芳樟醇	18.18	9.73	26.98	24.08	17.60	8.99	25.62	21.53
x ₂₃	3-乙酰基吡啶	18.16	9.83	26.28	20.25	14.97	10.91	18.57	15.32
x ₂₄	苯乙醇	144.51	93.56	206.27	19.93	102.96	61.40	141.08	19.72

表2(续)

因子	致香成分	上部烟叶				中部烟叶			
		平均值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	最小值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	最大值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	变异 系数/%	平均值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	最小值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	最大值 $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	变异 系数/%
x_{25}	N-甲基-2-吡咯甲醛	9.21	6.33	14.29	20.65	8.14	5.95	16.39	28.95
x_{26}	茶香酮	6.53	4.13	7.83	15.69	5.46	3.66	7.40	14.53
x_{27}	alpha-松油醇	6.44	3.67	9.62	26.75	5.50	2.44	7.86	29.84
x_{28}	2,3-二氢苯并呋喃	33.40	16.13	53.03	30.28	30.97	14.00	43.08	30.59
x_{29}	3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮	30.07	23.92	40.22	14.97	27.59	20.15	34.32	14.31
x_{30}	吡啶	31.94	19.59	48.99	24.76	24.14	13.24	32.99	20.83
x_{31}	对乙炔基愈创木酚	120.62	62.25	191.35	34.25	112.28	40.08	170.83	33.13
x_{32}	烟碱	6.87	3.06	11.40	29.42	6.07	3.44	8.65	27.54
x_{33}	茄酮	506.04	186.15	669.98	22.72	363.47	204.54	521.19	21.22
x_{34}	突厥酮	216.62	155.84	269.27	14.22	256.32	125.93	337.44	22.31
x_{35}	6-甲基-5-(1-甲基亚乙基)-6,8-壬二烯-2-醛	201.41	158.95	239.18	12.12	191.91	144.57	230.03	10.41
x_{36}	香叶基丙酮	62.29	42.21	91.77	21.10	58.57	43.07	79.72	16.64
x_{37}	β -紫罗兰酮	24.62	15.54	36.08	23.19	20.65	11.32	27.72	24.75
x_{38}	2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮	82.46	23.36	134.46	31.10	68.34	23.80	105.91	26.81
x_{39}	5-羟基-3-甲基-2,3-二氢-1-茛酮	76.34	45.60	103.59	25.59	74.52	27.90	108.38	34.25
x_{40}	二氢猕猴桃内酯	243.25	171.36	356.56	20.01	216.87	154.15	276.44	18.07
x_{41}	巨豆三烯酮 A	104.58	81.88	129.83	14.65	85.12	66.66	106.25	14.48
x_{42}	3-叔丁基-4-羟基苯甲醚	128.90	96.64	157.92	12.57	132.07	99.50	171.78	16.48
x_{43}	巨豆三烯酮 B	471.44	312.23	653.84	20.04	364.53	255.62	538.12	20.38
x_{44}	巨豆三烯酮 C	69.22	50.52	91.74	18.04	53.35	39.09	75.23	16.70
x_{45}	4-羟基- β -二氢大马酮	211.85	167.22	294.41	17.93	239.36	171.32	333.09	18.82
x_{46}	巨豆三烯酮 D	373.23	244.74	499.77	19.53	292.63	199.18	423.01	18.50
x_{47}	9-羟基-4,7-巨豆二烯-3-酮	133.47	83.57	246.07	27.98	141.42	91.19	196.01	16.40
x_{48}	(+)-香柏酮	35.87	7.37	91.89	54.78	13.90	1.88	50.47	73.25
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	231.92	99.41	350.86	29.00	141.72	60.25	211.69	33.08
x_{50}	螺岩兰草酮	36.27	10.79	109.67	59.97	18.87	6.16	42.28	46.23
x_{51}	甲基丙烯酸2-乙基己酯	161.46	82.96	287.39	28.80	87.00	41.67	122.63	24.60
x_{52}	木香烯内酯	463.74	235.82	753.87	28.61	238.35	101.44	386.39	29.73
x_{53}	新植二烯	1 998.03	1 528.74	2 742.99	16.69	2 394.29	1 839.91	3 413.02	17.16
x_{54}	植酮	33.05	16.76	49.05	21.81	24.61	13.22	33.29	25.11
x_{55}	法尼基丙酮	59.08	38.01	75.33	18.04	72.16	60.33	87.82	11.04
x_{56}	棕榈酸甲酯	143.40	69.41	227.15	26.16	180.50	119.33	286.77	24.93
x_{57}	棕榈酸	597.87	374.61	811.19	19.79	761.01	529.34	1 036.72	19.09
x_{58}	1,5,9-三甲基-12-(1-甲乙基)-4,8,13-环十四烷三烯-1,3-二醇	817.91	403.91	1 233.47	28.08	792.31	441.46	991.66	14.82
x_{59}	正三十七醇	210.28	118.30	327.51	26.62	236.40	122.92	333.14	19.52
x_{60}	亚油酸甲酯	180.83	94.62	255.16	26.01	216.73	143.06	369.05	28.94
x_{61}	亚麻酸甲酯	529.40	230.52	824.82	33.65	569.61	185.32	758.48	23.12
x_{62}	香叶基香叶醇	393.58	168.64	704.49	35.95	412.57	200.32	566.61	21.29
x_{63}	别香树烯	646.38	365.71	1216.58	38.61	662.53	345.92	962.63	21.34

适宜贮存期烟叶样品中致香成分种类基本相同,但含量和比例却不尽一致,这也是形成不同产地烟叶独特风格的重要因素^[35-37].该结论与周坤等^[33-37]的研究结果相同.

2.2 重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分特征指标筛选与分析

2.2.1 致香成分特征指标筛选结果

采用主成分分析法对适宜贮存期烟叶样品进行致香成分特征指标筛选,即把贡献最小的特征向量中的最大分量所对应的评价指标剔除,一次剔除一个变量,然后利用剩余变量再进行主成分分析,经过逐次剔除,最终保留 10 个指标^[25-26],即为致香成分特征指标:上部烟叶分别为糠醛、4-环戊烯-1,3-二酮、甲基庚烯酮、2-吡咯甲醛、苯乙醛、3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮、茄酮、突厥酮、9,10-脱氢-异长叶烯、亚油酸甲酯;中部烟叶分别为 3-呋喃甲醇、糠醛、甲基环戊烯醇酮、芳樟醇、3-乙酰基吡啶、茄酮、2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮、巨豆三烯酮 B、9,10-脱氢-异长叶烯、棕榈酸甲酯.其中,除 2-吡咯甲醛外,其余

特征指标均与刘建利等^[35]的研究结果不同,究其原因,本研究分析的是醇化后烟叶,同时是分部位进行的分析,而刘建利等^[35]的研究对象为初烤烟叶,分析时未分部位.这表明:一方面,醇化后可能会弱化相关成分的差异;另一方面,烟叶部位间差异明显也会导致指标间差异显著,而且,卷烟配方中用的是醇化后烟叶.因此,本文的研究方法与结果,对生产实践更具有针对性和实效性.

2.2.2 致香成分特征指标差异显著性分析

为明确重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分特征指标的差异,对不同产地、年份、品种和等级的烟叶样品进行了致香成分差异显著性分析,结果见表 3.

由表 3 可知,对于上部烟叶,不同产地间所有成分均达到显著性差异,其中苯乙醛、茄酮的差异可达到显著性水平,其他 8 种成分的差异均达到极显著性水平;不同年份间所有成分也均达到显著性差异,其中苯乙醛、3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮、茄酮和突厥酮的差异达到显著性水平,其他 6 种成分的差异

表 3 不同产地、年份、品种和等级烟叶样品致香成分特征指标差异显著性分析

Table 3 The significance analysis of characteristic indexes of flavor components in tobacco samples from different regions, aged time and cultivars

因子	致香成分	上部烟叶				因子	致香成分	中部烟叶			
		产地	年份	品种	等级			产地	年份	品种	等级
x_6	糠醛	<0.001**	0.002**	0.003**	0.851	x_5	3-呋喃甲醇	0.036*	<0.001**	0.122	0.241
x_8	4-环戊烯-1,3-二酮	<0.001**	0.009**	<0.001**	0.882	x_6	糠醛	<0.001**	<0.001**	0.018*	0.275
x_{13}	甲基庚烯酮	<0.001**	0.006**	0.003**	0.949	x_{16}	甲基环戊烯醇酮	0.002**	0.085	0.059	0.975
x_{15}	2-吡咯甲醛	<0.001**	<0.001**	0.005**	0.799	x_{22}	芳樟醇	0.059	0.012*	0.015*	0.039*
x_{18}	苯乙醛	0.014*	0.012*	0.164	0.334	x_{23}	3-乙酰基吡啶	0.008**	0.007**	0.476	0.367
x_{29}	3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮	<0.001**	0.027*	0.005**	0.729	x_{33}	茄酮	<0.001**	0.995	0.005**	0.073
x_{33}	茄酮	0.020*	0.034*	0.002**	0.803	x_{38}	2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮	<0.001**	0.395	0.023*	0.120
x_{34}	突厥酮	0.003**	0.015*	0.031*	0.349	x_{43}	巨豆三烯酮 B	0.031*	0.044*	0.020*	0.469
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	<0.001**	0.005**	0.001**	0.835	x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	0.001**	<0.001**	0.567	0.377
x_{60}	亚油酸甲酯	0.001**	0.001**	0.009**	0.673	x_{56}	棕榈酸甲酯	0.011*	0.337	0.096	0.450

注:*和**分别表示 0.05 和 0.01 水平差异显著.下同.

均达到极显著性水平;不同品种间除了苯乙醛的差异未达到显著性水平,突厥酮的差异达到显著性水平,其他8种成分的差异均达到极显著性水平;不同等级间10种成分的差异均无显著性差异.对中部烟叶而言,不同产地间除了芳樟醇的差异未达到显著性水平外,3-呋喃甲醇、巨豆三烯酮B和棕榈酸甲酯的差异均达到显著性水平,其他6种成分的差异均达到极显著性水平;不同年份间除甲基环戊烯醇酮、茄酮、2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮、棕榈酸甲酯的差异未达到显著性水平外,芳樟醇、巨豆三烯酮B均达到显著性水平,其他4种成分均达到极显著性水平;不同品种间仅茄酮的差异达到极显著性水平,糠醛、芳樟醇、2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮和巨豆三烯酮B的差异达到显著性水平,其他5种成分均无显著性差异;不同等级间除芳樟醇的差异达到显著性水平外,其他9种成分均无显著性差异.

综上可知,上部烟叶和中部烟叶醇化后,产地、年份与品种间的差异均大于相同部位不同等级的差异,产地、年份和品种对烟叶致香成分

的含量有重要影响,且影响程度依次为产地>年份>品种>等级,相同部位不同等级对致香成分的影响不显著,这一结论未见相关报道.其中,产地间的差异程度大于品种间的差异程度,这与李玲燕等^[38-39]的研究结果一致,虽然他们的研究对象是初烤烟叶,但是结论具有一致性.

2.2.3 致香成分特征指标多重比较结果 为比较重庆烟区适宜贮存期各产地间烟叶样品致香成分含量,对不同产地醇化后的上部和中部烟叶的致香成分特征指标含量进行了多重比较,结果见表4和表5.

由表4可知,糠醛含量丰都最高,丰都、涪陵与南川间无显著性差异,且显著高于其他产地,武隆最低,武隆、彭水与黔江间无显著性差异;4-环戊烯-1,3-二酮含量涪陵最高,且显著高于其他产地,丰都、南川、彭水与黔江间无显著性差异,武隆最低,且武隆、彭水与黔江间无显著性差异;甲基庚烯酮含量涪陵最高,且显著高于其他产地,丰都、南川间无显著性差异,丰都、彭水与黔江间无显著性差异,武隆最低,且武隆、彭水与黔江间无显著性差异;2-吡咯甲醛含量南川最高,南川、涪陵与丰都间无显著

表4 不同产地上部烟叶致香成分特征指标含量多重比较结果

Table 4 Multiple comparison results of characteristic index contents of flavor components in upper tobacco leaves from different regions $\mu\text{g/g}$

因子	致香成分	产地					
		丰都	武隆	涪陵	南川	彭水	黔江
x_6	糠醛	255.956 ^a	169.166 ^b	239.467 ^a	248.648 ^a	185.424 ^b	177.295 ^b
x_8	4-环戊烯-1,3-二酮	65.207 ^b	50.865 ^c	75.741 ^a	64.148 ^b	56.434 ^{bc}	53.649 ^{bc}
x_{13}	甲基庚烯酮	10.874 ^{bc}	7.318 ^d	17.152 ^a	12.530 ^b	8.023 ^{cd}	7.671 ^{ed}
x_{15}	2-吡咯甲醛	17.178 ^a	11.938 ^b	18.351 ^a	18.411 ^a	12.292 ^b	12.115 ^b
x_{18}	苯乙醛	117.345 ^{ab}	95.329 ^{bc}	114.765 ^{ab}	129.844 ^a	89.762 ^c	92.545 ^c
x_{29}	3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮	29.055 ^{bc}	26.880 ^c	38.414 ^a	31.229 ^b	27.606 ^c	27.243 ^c
x_{33}	茄酮	626.811 ^a	387.776 ^c	571.612 ^{ab}	523.059 ^{ab}	488.741 ^{bc}	438.258 ^{bc}
x_{34}	突厥酮	226.863 ^{ab}	195.176 ^{bc}	244.472 ^a	246.476 ^a	192.747 ^c	193.961 ^c
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	286.563 ^a	159.030 ^b	303.311 ^a	281.172 ^a	187.942 ^b	173.486 ^b
x_{60}	亚油酸甲酯	222.479 ^a	136.460 ^b	207.980 ^a	221.016 ^a	152.557 ^b	144.509 ^b

注:表中同一行间凡标有相同字母者,表示差异不显著($P > 0.05$);无相同字母而有相邻字母者,表示差异显著($P < 0.05$);字母既不相同也不相邻者,表示差异极显著($P < 0.01$).下同.

表5 不同产地中部烟叶致香成分特征指标含量多重比较结果

Table 5 Multiple comparison results of characteristic index contents of flavor components in middle tobacco leaves from different regions

因子	致香成分	产地					
		丰都	武隆	涪陵	南川	彭水	黔江
x_5	3-呋喃甲醇	3.778 ^a	3.139 ^{ab}	3.418 ^a	3.685 ^a	2.505 ^b	3.782 ^a
x_6	糠醛	257.607 ^a	180.832 ^{cd}	210.863 ^{bc}	251.222 ^{ab}	144.041 ^d	261.795 ^a
x_{16}	甲基环戊烯醇酮	7.135 ^a	7.358 ^a	7.280 ^a	6.167 ^a	3.736 ^b	7.313 ^a
x_{22}	芳樟醇	19.430 ^{ab}	15.531 ^b	16.644 ^b	16.426 ^b	15.454 ^b	22.108 ^a
x_{23}	3-乙酰基吡啶	15.522 ^{abc}	13.324 ^c	13.950 ^{bc}	17.690 ^a	13.060 ^c	16.276 ^{ab}
x_{33}	茄酮	383.972 ^{bc}	277.536 ^d	314.107 ^{cd}	338.944 ^{bcd}	396.911 ^{ab}	469.354 ^a
x_{38}	2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮	83.541 ^{ab}	42.390 ^d	59.100 ^c	70.502 ^{bc}	65.312 ^c	89.169 ^a
x_{43}	巨豆三烯酮B	277.481 ^c	440.249 ^a	364.139 ^{abc}	365.284 ^{abc}	397.789 ^{ab}	342.249 ^{bc}
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	163.773 ^{ab}	112.100 ^{cd}	134.956 ^{bc}	197.950 ^a	83.751 ^d	157.764 ^{abc}
x_{56}	棕榈酸甲酯	213.971 ^a	146.449 ^b	173.055 ^{ab}	200.585 ^a	133.074 ^b	215.856 ^a

性差异,且显著高于其他产地,武隆最低,且武隆、彭水与黔江间无显著性差异;苯乙醛含量南川最高,南川、丰都与涪陵间无显著性差异,且显著高于彭水和黔江,彭水最低,彭水与黔江间无显著性差异;3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮含量涪陵最高,且显著高于其他产地,武隆最低,丰都、武隆、彭水与黔江间无显著性差异;茄酮含量丰都最高,丰都、涪陵与南川间无显著性差异,且显著高于武隆、彭水和黔江,武隆最低,武隆、彭水与黔江间无显著性差异;突厥酮含量南川最高,丰都、涪陵与南川间无显著性差异,且显著高于武隆、彭水和黔江,彭水最低,武隆、彭水与黔江间无显著性差异;9,10-脱氢-异长叶烯含量涪陵最高,涪陵、丰都与南川间无显著性差异,且显著高于武隆、彭水和黔江,武隆最低,武隆、彭水与黔江间无显著性差异;亚油酸甲酯含量丰都最高,丰都、南川与涪陵间无显著性差异,且显著高于武隆、彭水和黔江,武隆最低,武隆、彭水与黔江间无显著性差异。从以上分析可知,致香成分特征指标含量丰都较高,其次是涪陵,而武隆最低。

由表5可知,3-呋喃甲醇含量丰都最高,丰都、武隆、涪陵、南川与黔江间无显著性差异,且丰都、涪陵、南川和黔江显著高于彭水,彭水

最低,武隆与彭水间无显著性差异;糠醛含量黔江最高,黔江、丰都与南川间无显著性差异,且显著高于武隆、涪陵和彭水,武隆、涪陵间无显著性差异,彭水最低,彭水、武隆间无显著性差异;甲基环戊烯醇酮含量彭水最低,且显著低于其他5个产地,其他5个产地间无显著性差异,武隆最高;芳樟醇含量黔江最高,丰都、黔江间无显著性差异,且显著高于武隆、涪陵、南川和彭水,彭水最低,丰都、武隆、涪陵、南川与彭水间无显著性差异;3-乙酰基吡啶含量南川最高,丰都、南川与黔江间无显著性差异,且显著高于武隆、涪陵和彭水,彭水最低,丰都、武隆、涪陵与彭水间无显著性差异;茄酮含量黔江最高,彭水、黔江间无显著性差异,且显著高于丰都、武隆、涪陵和南川,丰都、南川与彭水间无显著性差异,武隆最低,武隆、涪陵与南川间无显著性差异;2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮含量黔江最高,丰都与黔江间、丰都与南川间均无显著性差异,且显著高于武隆、涪陵、南川和彭水,涪陵、南川与彭水间无显著性差异,武隆最低,且显著低于其他产地;巨豆三烯酮B含量武隆最高,武隆、涪陵、南川与彭水间无显著性差异,且显著高于丰都和黔江,以丰都最低,丰都、黔江间无显著性差异;9,10-脱氢-

异长叶烯含量南川最高,丰都、南川与黔江间无显著性差异,且显著高于武隆、涪陵和彭水,彭水最低,武隆、彭水间无显著性差异;棕榈酸甲酯含量黔江最高,丰都、涪陵、南川与黔江间无显著性差异,且显著高于武隆和彭水,彭水最低,武隆、涪陵与彭水间无显著性差异.从以上分析可知,致香成分特征指标含量黔江较高,其次是南川,而武隆最低.

2.3 重庆烟区适宜贮存期烟叶致香成分的聚类分析

为明确重庆烟区不同产地间适宜贮存期烟叶致香成分含量的相似性和差异性,利用筛选后的致香成分特征指标,采用类平均数法分别对上部和中部烟叶致香成分进行聚类分析,分析结果如图1和图2所示.上部烟叶和中部烟叶均划分为3类.上部烟叶第一类包含丰都、南川,第二类包含武隆、彭水、黔江,第三类为涪陵;中部烟叶第一类包括丰都、南川、黔江,第二类为武隆、涪陵,第三类为彭水.从分类结果来看,上部烟叶和中部烟叶有较大差异,说明不同产地对不同部位烟叶的致香成分影响较大,因此,在研究产地对烟叶品质的影响时应分部位进行分析.

为明确上部烟叶和中部烟叶3个类别间致香成分的差异,对不同类别间烟叶致香成分含量进行差异显著性分析,结果见表6和表7.

由表6可知,类别间所有致香成分均达到极显著性差异,以第三类含量最高,其次是第一类,第二类最低.第二类中所有致香成分含量均

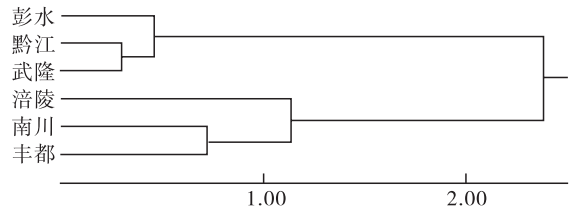


图1 适宜贮存期上部烟叶致香成分聚类分析

Fig.1 Clustering analysis results of flavor components in upper tobacco leaves of suitable storage period

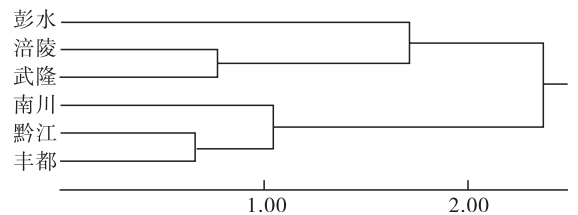


图2 适宜贮存期中部烟叶致香成分聚类分析

Fig.2 Clustering analysis results of flavor components in middle tobacco leaves of suitable storage period

表6 适宜贮存期上部烟叶类别间致香成分含量差异显著性分析

Table 6 The significance analysis on the content of flavor components among categories of upper tobacco leaves in suitable storage period

因子	致香成分	P 值	第一类	第二类	第三类
x_6	糠醛	<0.001 **	252.30 ^a	177.29 ^b	239.47 ^a
x_8	4-环戊烯-1,3-二酮	<0.001 **	64.68 ^b	53.65 ^c	75.74 ^a
x_{13}	甲基庚烯酮	<0.001 **	11.70 ^b	7.67 ^c	17.15 ^a
x_{15}	2-吡咯甲醛	<0.001 **	17.79 ^a	12.11 ^b	18.35 ^a
x_{18}	苯乙醛	<0.001 **	123.59 ^a	92.55 ^b	114.77 ^a
x_{29}	3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮	<0.001 **	30.14 ^b	27.24 ^c	38.41 ^a
x_{33}	茄酮	0.009 **	574.93 ^a	438.26 ^b	571.61 ^a
x_{34}	突厥酮	<0.001 **	236.67 ^a	193.96 ^b	244.47 ^a
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	<0.001 **	283.87 ^a	173.49 ^b	303.31 ^a
x_{60}	亚油酸甲酯	<0.001 **	221.75 ^a	144.51 ^b	207.98 ^a

μg/g

表7 适宜贮存期中部烟叶类别间致香成分含量差异显著性分析

因子	致香成分	P 值	第一类	第二类	第三类	μg/g
x_5	3-呋喃甲醇	<0.001**	3.75 ^a	3.28 ^a	2.51 ^b	
x_6	糠醛	<0.001**	256.87 ^a	195.85 ^b	144.04 ^c	
x_{16}	甲基环戊烯醇酮	<0.001**	6.87 ^a	7.32 ^a	3.74 ^b	
x_{22}	芳樟醇	0.075	19.32 ^a	16.09 ^{ab}	15.45 ^b	
x_{23}	3-乙酰基吡啶	<0.001**	16.50 ^a	13.64 ^b	13.06 ^b	
x_{33}	茄酮	<0.001**	397.42 ^a	295.82 ^b	396.91 ^a	
x_{38}	2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮	<0.001**	81.07 ^a	50.75 ^b	65.31 ^b	
x_{43}	巨豆三烯酮 B	0.050	328.34 ^a	402.19 ^a	397.79 ^a	
x_{49}	9,10-脱氢-异长叶烯	<0.001**	173.16 ^a	123.53 ^b	83.75 ^c	
x_{56}	棕榈酸甲酯	<0.001**	210.14 ^a	159.75 ^b	133.07 ^b	

显著低于第一类和第三类;第一类中除4-环戊烯-1,3-二酮、甲基庚烯酮、3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮与第三类有显著性差异外,其他均无显著性差异。

由表7可知,除芳樟醇和巨豆三烯酮B外,类别间所有致香成分均达到极显著性差异,以第一类含量最高,其次是第二类,第三类最低。第三类中3-呋喃甲醇、糠醛、甲基环戊烯醇酮和9,10-脱氢-异长叶烯均显著低于第一类和第二类,而第一类和第二类中3-呋喃甲醇、甲基环戊烯醇酮无显著性差异,第一类中糠醛和9,10-脱氢-异长叶烯均显著高于第二类。第一类中芳樟醇显著高于第三类,与第二类间无显著性差异,第二类和第三类中芳樟醇无显著性差异。第一类中3-乙酰基吡啶、棕榈酸甲酯和2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮均显著高于第二类和第三类,而第二类和第三类中这3种物质无显著性差异。第二类中茄酮显著低于第一类和第三类,第一类和第三类中茄酮无显著性差异。巨豆三烯酮B在三个类别间无显著性差异。

3 结论

本文采用SDE-GC-MS对重庆烟区适宜贮

存期烟叶致香成分含量进行测定,并对测定的致香成分进行描述性统计分析;采用主成分分析法筛选特征致香成分指标,对筛选出的特征指标进行差异显著性分析和多重比较,并通过类平均数法对致香成分进行聚类分析,得到如下结论。

1)重庆烟区适宜贮存期烟叶所测定的致香成分种类相同,但含量和比例不尽一致,上部烟叶和中部烟叶所测定的63种致香成分含量差异较大,变异系数的范围分别为12.12%~59.97%,10.41%~73.25%,均以6-甲基-5-(1-甲基亚乙基)-6,8-壬二烯-2-醛变异系数最小,上部烟叶以螺岩兰草酮变异系数最大,而中部烟叶以(+)-香柏酮变异系数最大。

2)筛选出致香成分特征指标,上部烟叶为糠醛、4-环戊烯-1,3-二酮、甲基庚烯酮、2-吡咯甲醛、苯乙醛、3-乙基-4-甲基-1H-吡咯-2,5-二酮、茄酮、突厥酮、9,10-脱氢-异长叶烯、亚油酸甲酯;中部烟叶为3-呋喃甲醇、糠醛、甲基环戊烯醇酮、芳樟醇、3-乙酰基吡啶、茄酮、2,3-二甲基-(3-氧代丁基)-环己酮、巨豆三烯酮B、9,10-脱氢-异长叶烯、棕榈酸甲酯;不同产地、年份、品种、等级间

差异较大,不同因素的影响程度依次为产地 > 年份 > 品种 > 等级,而相同部位内不同等级间几乎无显著性差异。

3) 上部烟叶致香成分特征指标含量丰都较高,涪陵其次,武隆最低;中部烟叶致香成分特征指标含量黔江较高,南川其次,武隆最低。

4) 重庆烟区适宜贮存期上部烟叶和中部烟叶均划分为3类,其中,上部烟叶第一类包含丰都、南川,第二类包含武隆、彭水、黔江,第三类为涪陵,中部烟叶第一类包括丰都、南川、黔江,第二类为武隆、涪陵,第三类为彭水,类别间差异显著性较高。

参考文献:

- [1] 范坚强,宋纪真,陈万年,等. 醇化过程中烤烟片烟化学成分的变化[J]. 烟草科技,2003(8):19.
- [2] 于建军. 卷烟工艺学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [3] 郭俊成,程晓蕾. 烤烟陈化期间理化变化对品质影响的初探[J]. 安徽烟草科技,1993(2):29.
- [4] 朱大恒,韩锦峰,张爱萍,等. 自然醇化与人工发酵对烤烟化学成分变化的影响比较研究[J]. 烟草科技,1999(1):3.
- [5] 陈万年,宋纪真,范坚强,等. 福建和云南烤烟烟片的最佳醇化期及适宜贮存时间[J]. 烟草科技,2003(7):9.
- [6] 宋纪真,张增基,陈永龙,等. 贮存条件对烤烟片烟醇化质量的影响[J]. 烟草科技,2003(9):6.
- [7] 胡有持,牟定容,李炎强,等. 云南和河南陈化的复烤片烟质量的差异[J]. 烟草科技,2004(9):33.
- [8] 于建军,李琳,庞天河,等. 烟叶发酵研究进展[J]. 河南农业大学学报,2006,40(1):108.
- [9] 赵铭钦,王豹祥,邱立友,等. 不同陈化时期烤烟叶片中酶活性及其相关化学成分分析[J]. 中国农业大学学报,2006,11(4):7.
- [10] 卓思楚,郑湖南,齐凌峰,等. 国内烤烟烟叶醇化机理及技术研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(10):91.
- [11] 汪长国,李宁,寇明钰,等. 复烤烟叶异地醇化过程中生物活性的变化[J]. 中国农业大学学报,2013,18(2):105.
- [12] 王鹏,戴亚,唐杰,等. 重庆地产烟叶最佳醇化期的常规化学成分分析[J]. 贵州农业科学,2018,46(10):37.
- [13] 张允政. 烤烟片烟醇化过程中化学成分变化及与醇化质量的关系研究[D]. 武汉:华中农业大学,2008.
- [14] 刘登乾,李章海,毛化贤,等. 陈化对不同产地烤烟品质和香气质量的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(22):9585.
- [15] 司辉,闫铁军,张环宇,等. 不同生态产区烤烟片烟化学成分在醇化中的变化规律研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(22):13328.
- [16] 刘磊,王涛,史绍新,等. 复烤片烟自然醇化过程中品质变化研究进展[J]. 河南农业科学,2015,44(8):7.
- [17] 赵铭钦,赵辉,王文基,等. 不同基因型烤烟化学成分和致香物质间的相关和通径分析[J]. 中国烟草科学,2009,30(3):7.
- [18] 于建军,杨寒文,毕庆文,等. 烤烟中性致香成分与香气质量的典型相关分析[J]. 甘肃农业大学学报,2009,44(2):72.
- [19] 王能如,李章海,王东胜,等. 烤烟香气成分与其评吸总分和香味特征的相关性[J]. 安徽农业科学,2009,37(6):2567.
- [20] 胡建军,周冀衡,李文伟,等. 烤烟香味成分与其感官质量的典型相关分析[J]. 烟草科技,2007(3):9.
- [21] 于建军,庞天河,章新军,等. 鄂西南烤烟吸食质量与致香物质的关系[J]. 华中农业大学学报,2006,25(4):355.

- [22] 于建军,庞天河,任晓红,等. 烤烟中性致香物质与评吸结果关系研究[J]. 河南农业大学学报,2006,40(4):346.
- [23] 黄静文,段焰青,杨金奎,等. 烟叶主要致香成分和烟叶等级以及醇化时间的对比分析[J]. 江西农业大学学报,2010,32(3):440.
- [24] 杨宗灿,王鹏飞,许衡,等. 陈化对烟叶常规化学成分、中性致香物质含量和评吸质量的影响[J]. 河南农业大学学报,2017,51(5):615.
- [25] 张辉,赵秋红. 基于主成分分析基本原理的经济指标的筛选方法[J]. 山东财政学院学报,2013,124(2):52.
- [26] 赵丽萍,许维军. 综合评价指标的选择方法及实证分析[J]. 宁夏大学学报(自然科学版),2002,23(2):144.
- [27] 王晓鹏,曾永年,曹广超,等. 基于多元统计和AHP的青藏高原牧区可持续发展评价模型与应用[J]. 系统工程理论与实践,2005(6):139.
- [28] 李国栋,胡建军,周冀衡,等. 基于主成分和聚类分析的烤烟化学品质综合评价[J]. 烟草科技,2008(12):5.
- [29] 肖雅,马继良,曹凡宝,等. 云南烤烟品种 K326 化学成分分析及聚类评价[J]. 西南农业学报,2012,25(1):44.
- [30] 马京民,刘国顺,时向东,等. 主成分分析和聚类分析在烟叶质量评价中的应用[J]. 烟草科技,2009(7):57.
- [31] TANG Q Y,ZHANG C X. Data processing system (DPS) software with experimental design, statistical analysis and data mining developed for use in entomological research[J]. Insect Science,2013,20(2):254.
- [32] 李玲燕,徐宜民,王程栋,等. 贵州烟区烤烟烟叶香气物质分析[J]. 中国烟草科学,2016,37(1):37.
- [33] 周坤,周清明,胡晓兰,等. 烤烟香气物质研究进展[J]. 中国烟草科学,2008,29(2):56.
- [34] 张强,董高峰,和智君,等. 云南主产烟区烤烟中性致香物质含量的差异分析[J]. 江苏农业科学,2012,24(7):80.
- [35] 刘建利,陈涛,朱晓伟,等. 基于致香成分的重庆主要烟草种植区溯源特征研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(8):93.
- [36] 汪耀富,高华军,刘国顺,等. 不同基因型烤烟叶片致香物质含量的对比分析[J]. 中国农学通报,2005,21(5):117.
- [37] 刘培玉,王新发,汪健,等. 不同生态地区烤烟主要致香物质含量的变化[J]. 浙江农业学报,2010,22(2):239.
- [38] 李玲燕,徐宜民,王程栋,等. 贵州烟区烤烟烟叶香气物质分析[J]. 中国烟草科学,2016,37(1):37.
- [39] 左天觉,朱尊权. 烟草的生产,生理和生物化学[M]. 上海:上海远东出版社,1993.



引用格式:孟祥士,崔春,纪朋,等.增香保润特种滤棒研究与应用进展[J].轻工学报,2020,35(3):72-81.

中图分类号:TS45 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.009

文章编号:2096-1553(2020)03-0072-10

增香保润特种滤棒研究与应用进展

Progress in research and application of special filter rods for flavoring and moisturizing

孟祥士,崔春,纪朋,胡少东,楚文娟,杨帆,李禄成,顾亮,
李明哲,高明奇

MENG Xiangshi, CUI Chun, JI Peng, HU Shaodong, CHU Wenjuan, YANG Fan,
LI Lucheng, GU Liang, LI Mingzhe, GAO Mingqi

河南中烟工业有限责任公司技术中心,河南 郑州 450000

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

摘要:对基于外加材料(香线、爆珠、凝胶和颗粒)和原材料(三醋酸甘油酯、成型纸和二醋酸纤维丝束)分别进行添加制得的增香保润滤棒,以及其他增香保润滤棒的研究与应用现状进行综述,指出,基于外加材料添加的增香保润滤棒助剂负载量较多且可控性较好,但对其增香保润的原理,以及对卷烟品质的整体影响仍缺乏系统性的研究;基于原材料添加的增香保润滤棒制备工艺较为简单,成本较低,但存在增香保润助剂负载量小且易挥发的缺点,更适合作为一种辅助的增香保润手段;其他增香保润滤棒通过优化滤棒结构、在其他载体上添加增香保润助剂,赋予了滤棒更多的功能性和更好的可控性,但是存在结构复杂、生产成本低和质量控制难的缺点.鉴于上述增香保润滤棒存在生产工艺不完善、产品品质控制不够稳定、生产成本偏高等问题,未来的研究可对现有技术手段进行整合,采用多元滤棒结构等方式来有效提升滤棒的增香保润性能;同时可对滤棒的生产工艺进行调整、优化,降低生产成本,提高滤棒质量的稳定性.

关键词:

增香保润;特种滤棒;
香线;爆珠;三醋酸甘油酯;成型纸

Key words:

flavoring and moisturizing;
special filter rod;
fragrance line;capsule;
triacetin;wrap paper

收稿日期:2019-12-25

基金项目:河南中烟工业有限责任公司科技项目(YN201706,YN201815)

作者简介:孟祥士(1993—),男,河北省南宫市人,河南中烟工业有限责任公司技术中心助理工程师,主要研究方向为卷烟材料.

通信作者:高明奇(1984—),男,河南省新乡市人,河南中烟工业有限责任公司技术中心工程师,主要研究方向为卷烟材料.

Abstract: The research and application status of flavoring and moisturizing filter rods based on addition of additional materials (fragrance line, capsules, gel and particles) and raw materials (triacetin, wrap paper and acetate tow), and other flavoring and moisturizing filter rods were reviewed. It was pointed out that the flavoring and moisturizing filter rods based on addition of additional materials had more loading capacity and better controllability, but the principle of flavoring and moisturizing as well as the overall impact on cigarette quality were still lack of systematic research. The preparation process of the flavoring and moisturizing filter rods based on addition of raw materials was simple and the cost was low, but the loading capacity of the additive was small and it was easy to volatilize. So it was suitable to be an auxiliary means of flavoring and moisturizing. By optimizing the structure of the filter rod and adding the auxiliary agent to the other carriers, the other flavoring and moisturizing filter rods had more function of the filter rod and better controllability. However the structure was complex, the production cost was high and the quality control was difficult. These flavoring and moisturizing filter rods had some problems, such as imperfect production technology, unstable product quality control and high production cost. The future research can integrate the existing technical means and adopt the multi-element filter rod structure to effectively improve the fragrance and moisture retention performance of the filter rod. At the same time, It can also optimize the production process of filter rod to reduce the production cost and improve the quality stability of filter rod.

0 引言

随着国内外市场对卷烟消费需求的日益多样化和细分化,消费者的消费需求已成为引导烟草行业发展的主导力量^[1-3]. G. F. Wayne等^[4]和 S. Soldz等^[5]以美国市场为例的研究发现,消费者对烟草的偏好已经在很大程度上影响了烟草行业的发展方向,增香型烟草制品更受消费者的欢迎^[6-7]. 在国内卷烟市场中,增香型卷烟的市场份额也在逐渐增加. 卷烟增香可在卷烟原辅材料和成品生产的不同阶段实现,包括烟叶种植和烘烤阶段^[8-11]、烟叶储存阶段^[12-13]、制丝阶段^[14-15]和滤棒生产阶段^[16-17]. 滤棒加香(在滤棒生产阶段对其进行增香)具有以下几点好处:一是避免卷烟储存和燃吸过程中香精香料的逸失和热解;二是避免卷烟静燃期间香精香料的损失;三是减少烟丝、滤嘴等对香精香料的截留,增加转移效率;四是可同时实现增香多元化和外观个性化等目的,提升卷烟的创新性.

针对烟支保润问题,目前业界已经开展了

较多的保润技术研究工作^[18-20]. 传统的卷烟保润方式是向烟丝中添加保润剂,但保润效果并不理想^[21-22]. 马骥等^[23]研究发现,提高卷烟滤棒的物理保润性能可以更有效地提高卷烟的物理保润性能.

传统滤棒的生产首先通过开松二醋酸纤维素束以消除丝束卷曲,然后通过施加三醋酸甘油酯以提高滤棒的硬度和加工性能,再通过施加打口胶和内黏结胶将成型纸包裹在外侧,最后按一定长度分切成特定规格的滤棒. 通过改造设备,在滤棒生产过程中添加具有增香保润功能的外加材料,或在现有滤棒原材料中加入具有增香保润功能的添加剂,从而实现卷烟的增香保润. 在此基础上,本文拟通过对基于外加材料(香线、爆珠、凝胶和颗粒)添加的增香保润滤棒和基于原材料(三醋酸甘油酯、成型纸和二醋酸纤维素束)添加的增香保润滤棒相关文献进行梳理,对不同增香保润技术手段的原理、应用现状和优缺点进行述评,以期对增香保润特种滤棒的研究、设计和应用提供参考.

1 基于外加材料添加的增香保润滤棒

在滤棒生产过程中添加具有增香保润功能的外加材料(如香线、爆珠、凝胶和颗粒),能够制得香线滤棒、爆珠滤棒、凝胶滤棒和颗粒滤棒。

1.1 香线滤棒

在滤棒中添加香线制备香线滤棒是一种被广泛采用的增香保润方式^[24-26],其操作方式是:在滤棒成型时,通过特殊装置将浸渍香精香料的香线包裹于滤棒丝束中,从而达到滤棒加香的目的。沈靖轩等^[24]的研究表明,香线滤棒香气的转移主要通过热传递实现,烟气温度随抽吸逐渐上升,具有一定温度的烟气流经香线滤棒,促使香味物质逐渐转移到主流烟气中。S. W. Bynre 等^[27]把吸附香精香料的香线置于滤棒中心以实现香精香料的释放,同时,色彩鲜明的香线可改善滤棒的外观。红云红河烟草(集团)有限责任公司^[28]将枣花蜜香提取后制成蜜香香线,并将其包裹进滤嘴,可明显增加卷烟润感,改善卷烟抽吸时的刺燥感,增加舒适度,提高消费者的感官感受。类似的蜜香香线^[29-33]还有油菜花蜜、龙眼花蜜、甘菊花蜜等,所制成的香线滤棒均可以对卷烟起到增香保润的作用。为了延伸香线的功能,近年来,不同形式的香线滤棒及其应用已成为业内研究热点。河南中烟工业有限责任公司^[34]利用复合滤棒的形式,将负载香精的香线滤棒置于近烟丝端,使其在增香的同时有效延缓香气的散失,也可避免香线香精直接接触口腔带来的不净感。甘肃烟草工业有限责任公司^[35]制备了香线型空腔复合滤棒,可避免空腔接触,在稳定增香的同时也可提升外观的视觉效果。

香线滤棒可以吸附不同种类的香精香料和保润剂,为卷烟提供增香保润效果。目前,国内卷烟行业有部分品牌已经采用了香线滤棒,其

增香保润作用和新颖外观也得到了消费者的认同。香线滤棒对香味物质要求低,供选择的香味物质较多,对卷烟香气可起到良好的补充作用。同时,香线滤棒还能给消费者带来个性化的外观感受,对卷烟起到一定的防伪作用。但是,香线滤棒在生产过程中尚存在中心度差的问题,即香线与滤棒轴线重合度不佳,这不仅影响滤棒外观,还可能造成滤棒爆口,影响卷烟感官品质。此外,香线滤棒在储存过程中也会因香气成分挥发造成香气损失,影响卷烟存放周期和感官品质。总体上,在实际应用中,采用香线滤棒进行增香保润的方式仍存在一定的缺陷,需要围绕增香稳定性、香线滤棒结构、提升成型质量等方面持续进行研究、改进的优化。

1.2 爆珠滤棒

爆珠是指利用惰性多聚的天然高分子材料或合成高分子材料,将香精香料包裹其中而形成的一种有色或透明的球形囊状物。爆珠滤棒是在滤棒成型过程中,将一粒或多粒爆珠置于丝束中,以实现在卷烟抽吸过程中人为可控的特色香味释放的一种滤棒^[36]。国外开始爆珠的研究较早,1967年,美国烟草公司便推出了加入维生素A水溶剂的爆珠产品。但早期的爆珠产品并没有引起市场的关注,直到近些年,爆珠产品才逐渐受到消费者认可^[37-38]。伴随爆珠滤棒卷烟的快速发展,爆珠内香精香料的种类也日渐丰富^[39],国内研究者更是充分利用我国中草药的独特优势,制备了很多中草药香味爆珠。河南中烟工业有限责任公司^[40-43]先后制作了板蓝根、芦荟、枸杞、山药等中草药爆珠,为卷烟提供了独特的香味。爆珠的添加对卷烟理化指标也具有一定影响。朴洪伟等^[44]的研究表明,甜橙香爆珠滤棒可减少焦油和7种烟气有害成分的释放量,降低卷烟危害性指数,而甜橙香爆珠具有清甜香、甜橙香,可使烤烟型卷烟转变为外香型卷烟,且烟香谐调。朱瑞芝等^[45]研究了

爆珠中关键成分在卷烟中的转移行为,结果显示所选取的10种爆珠关键成分向主流烟气粒相的转移率为2.84%~14.57%,且醇类单体香料向主流烟气粒相的转移率整体高于酯类单体香料,同时,10种爆珠关键成分在滤嘴中的截留率为64.03%~95.52%,表明在爆珠破碎后,大部分香料留在卷烟滤嘴中,仅有较小部分迁移至烟气中.单独具有保润功能的爆珠相对较少.C. Lesser等^[46]将焦谷氨酸钠等保湿剂装入爆珠制成爆珠滤棒,这种滤棒在捏碎爆珠后,烟气的润感和卷烟感官品质都得到了提升.另外,随着消费者消费需求的日趋多样化,基于爆珠的各种特种滤棒被研发出来,如空管爆珠二元复合滤棒^[47]、颗粒爆珠二元复合滤棒^[48]等,为滤棒赋予新颖外观结构的同时兼具增香保润功能.总之,爆珠滤棒在卷烟产品中得到了广泛的应用^[56].

与其他增香手段相比,爆珠滤棒的增香具有以下特点:1)爆珠中装载的香精香料可以为卷烟提供较好的增香保润效果;2)在爆珠储存、运输和生产过程中,香精香料不易挥发,持香能力较强;3)爆珠滤棒卷烟在抽吸过程中,消费者可选择捏破或不捏破爆珠,具有一定的趣味性.目前,爆珠滤棒的生产制造技术日益成熟,但烟草行业主要采用“水包油”工艺进行爆珠的制备,即水溶性壁材包裹油溶性溶剂,容易造成爆珠容易受环境温湿度影响而出现变形、破损等问题,且部分水溶性香味物质难以包裹成爆珠,因此对香精香料的性质具有特殊要求.另外,有关爆珠滤棒对卷烟吸味和主流烟气的影响研究还不够深入,需要研究者进一步地开展系统研究.

1.3 凝胶滤棒

在卷烟生产中,凝胶一般是指在一定温度下可发生相变,进而释放其所包裹香精香料的高分子聚合物,在室温下为固态,温度升高后融

化,其负载物得以释放.凝胶以其突出的增香性能够获得越来越多研究者的关注.通常,凝胶滤棒的结构与香线滤棒类似,是在滤棒中轴线位置添加一条凝胶线,凝胶线内可以包裹香精香料或保润剂.在卷烟燃烧过程中,具有一定温度的烟气可以促进凝胶内部香精香料或保润剂的释放,从而达到增香保润的效果.

凝胶滤棒的研究开始较早,1977年,H. Grossman^[49]便设计了一种以甲基硅包含水的凝胶,并将其加入滤棒,在卷烟燃烧过程中,具有一定温度的烟气使凝胶中的水分子释放,使得卷烟感官品质显著提升.随着研究的深入,新型凝胶种类逐渐得以应用.云南中烟工业有限责任公司^[50]设计制造了一种聚丙烯酸气凝胶,这种凝胶为多孔网络结构,具有较高的比表面积,有利于香精香料的吸附,抽吸时烟气与凝胶接触充分,利于香气释放.如湖北中烟工业有限责任公司^[51]利用凝胶滤棒缓释薄荷香料,结果表明其产品中薄荷香料装载量较高,将其应用于卷烟中,加香效果稳定,薄荷清凉特征明显,余味干净舒适,抽吸过程中香味释放均匀,留香持久,有效地解决了薄荷卷烟持香能力较弱的问题.

综上所述,凝胶滤棒具有以下优点:1)通过负载香精香料和保润剂,可以提高卷烟的感官品质;2)可供选择的凝胶种类相对较多,可根据香精香料或保润剂的种类选择合适的凝胶;3)常温下,吸附香精香料后的固态凝胶挥发性相对较弱,生产运输和储存更加方便;4)在抽吸过程中,具有较高温度的烟气经过凝胶滤棒使得凝胶发生相变,进而释放储存于凝胶中的香味物质和保润组分,这种释放方式具有较好的可控性.目前,在滤棒中添加凝胶的工艺技术仍不够成熟,可能造成凝胶在滤棒中的位置发生偏移,影响烟支美观;此外,凝胶的增香保润技术存在香味物质和保润组分释放不完全

的缺点,这增加了卷烟设计的难度.整体而言,凝胶滤棒增香保润技术还属于新生事物,尚需要深入研究,不断优化.

1.4 颗粒滤棒

颗粒滤棒是先选择植物、淀粉、高分子聚合物、硅酸盐等不同材质、自身具有香气或易吸附香精香料的颗粒,而后将其加入过滤材料中成型为颗粒增香滤棒.在滤棒中添加具有增香保润功能的颗粒是一种常见的增香保润方式^[52],可改善卷烟的感官品质. T. A. Perfetti 等^[53]利用环糊精包裹烟叶颗粒,将其置入滤棒中,使得香烟在抽吸过程中的烟草香气更加丰富.蒋举兴等^[54]将大豆蛋白颗粒加入滤棒中,与传统滤棒相比,该复合滤棒减少了卷烟主流烟气中的焦油和有害物质,并且增强了卷烟的甜润感.王猛等^[55]将所制备的多孔葛根颗粒添加到卷烟滤棒中,可改善其风格特征中的甜香指标.吴家灿等^[56]通过流化床造粒工艺开发了赋香型麦冬颗粒,并将其应用于卷烟滤棒以改善抽吸舒适性,提升烟气在口腔中的津润感和甜感,降低主流烟气的燥热感,从而强化卷烟产品的清、甜、香风格特征.颗粒材料可供选择的种类较多. W. S. Schlotzhauer 等^[57]将多孔颗粒材料壳多糖加入到滤棒中,壳多糖通过负载多种香精香料和保润剂达到增香保润的目的. C. Lesser 等^[58]将醋酸纤维、棉花、纸和离子交换材料制成多孔基底材料,并将焦谷氨酸钠作为保润剂加入到所制备的基底材料中成型为颗粒滤棒,实现了滤棒的保润功能.此外,活性炭、多孔树脂等材料^[59]也可通过颗粒添加的方式赋予滤棒增香保润的功能.

颗粒滤棒具有以下优点:1)可选的颗粒种类繁多,无论是本身具有增香保润功能的植物颗粒或是具有空隙结构的可吸附增香保润助剂的颗粒,均可实现卷烟的增香保润功能;2)对增香保润助剂的兼容性较好,可负载多种香精

香料或保润剂;3)可以选择性吸附烟气中的部分有害成分.但增香颗粒需具有良好的热稳定性和化学稳定性,以避免对卷烟感官带来负面影响,同时,颗粒滤棒存在颗粒脱落进入主流烟气中影响消费者体验的可能,具有一定的安全风险,因此颗粒滤棒一般采用二元或多元复合的方式,避免滤棒中的颗粒直接与唇段接触.

2 基于原材料添加的增香保润滤棒

在现有滤棒原材料(如三醋酸甘油酯、成型纸和二醋酸纤维丝束)中加入具有增香保润功能的添加剂,能够制得三醋酸甘油酯添加剂滤棒、成型纸添加剂滤棒和二醋酸纤维丝束添加剂滤棒.

2.1 三醋酸甘油酯添加剂滤棒

三醋酸甘油酯是制作滤棒的主要原材料,在滤棒成型过程中起提高硬度和加工性能的作用,同时也可用作香料固定剂^[60].通过在三醋酸甘油酯中添加香精香料或保润剂,可使滤棒具有增香保润功能.

云南中烟工业有限责任公司^[61]以三醋酸甘油酯为提取剂提取香叶天竺葵三醋酸甘油酯,再以三醋酸甘油酯为溶剂与香叶天竺葵三醋酸甘油酯配制溶液,均匀喷洒到滤棒丝束上,结果显示:该提取物可使卷烟香气更加丰富,透发性增强,余味更干净,有效提升抽吸舒适性.此外,该公司以大枣、滇橄榄、香荚兰豆、党参、黄芪和夏枯草^[62-64]为原料,通过选择不同的原料组合制备了具有增香保润功能的滤棒,可根据卷烟设计需求赋予卷烟特定的香气,同时可增加烟气的润感,实现保润功能.

利用三醋酸甘油酯增香保润的特种滤棒,其生产工艺与普通滤棒类似,不需要进行特殊的设备调整改造,能够以较低的成本进行生产,但其存在负载量不够、负载不均匀等缺点,适宜作为辅助性的增香保润方式.但是,通过三醋酸

甘油酯添加剂的形式增香保润,香精香料和保润剂会从丝束表面迁移到内部或挥发损失,同时,选用的香精香料要求能与三醋酸甘油酯溶合.鉴于选择香精香料的要求比较严格,因此,可供选择的香精香料种类较少.

2.2 成型纸添加剂滤棒

成型纸是滤棒的重要组成部分,在滤棒中主要起支撑的作用,同时可作为实现增香保润的载体.利用成型纸实现增香保润功能,主要是通过涂布工艺在成型纸上施加香精香料或保润剂来实现.黄海群等^[65]研究表明,添加在成型纸上的香味物质的转移率相对较高.刘雯等^[66]通过将铁观音茶提取物涂布到滤棒成型纸上制得的卷烟,烟气刺激性降低,柔和、甜润增加,卷烟抽吸品质明显改善.成型纸添加的香精香料或保润剂的挥发,会导致其增香保润效果减弱,为此,云南中烟工业有限责任公司^[67]开发了一种可控释放香料的增香型成型纸,通过拉伸后端嘴棒,使硬质透气加香纸暴露在烟气流中,从而实现香味物质的可控释放.沈妍等^[68]通过在成型纸上添加包含增香保润助剂的微胶囊,以减少成型纸中香精香料的挥发,实现香精香料的可控释放.

综上所述,在成型纸上添加增香保润助剂所制备的滤棒具有增香保润功能.成型纸增香保润技术的工艺相对简单,一般通过增加涂布工序即可实现,无需对现有设备进行改造,成本较低.但是由于成型纸对增香保润助剂的负载量较小,使得采用该方式的滤棒增香保润功能较弱,且在成型纸中负载的增香保润助剂容易挥发流失,进一步降低了其增香保润效果,因此该方式可以作为一种辅助性的增香保润手段.

2.3 二醋酸纤维丝束添加剂滤棒

二醋酸纤维丝束是滤棒中最重要的原材料,过滤性能好且成本低.在二醋酸纤维丝束中加入适量的添加剂,同样可以实现卷烟的增香

保润功能.1984年,I. Ohizumi等^[69]将不同种类的吸水性聚合物材料,包括丙烯酸钠淀粉共聚物盐、丁烯二酸酐共聚物盐、苯乙烯/马来酸酐共聚物盐、交联聚丙烯酸钠、聚乙烯/丙烯醇、乙炔羧酸酯及其衍生物的造化聚合物等,分别加入到滤棒的丝束中,可使滤棒具有较好的保润能力.H. Taniguchi等^[70]和H. Kiyoshi^[71]也开展了类似研究,通过在丝束中添加改性剂也可以实现保润功能.王涛等^[72]在纺丝油剂段中添加天然保润剂、壳聚糖和PDS保润剂进行改性,所制得的改性二醋酸纤维丝束具有较好的保润效果,其中,由壳聚糖改性的二醋酸纤维丝束能将卷烟主流烟气水分含量提高10.9%.此外,通过在丝束油剂中添加增香保润助剂同样可赋予其增香保润功能.河南中烟工业有限责任公司^[73]在丝束生产的油剂段添加苹果香油,得到了具有苹果果香的醋纤丝束,赋予了卷烟以苹果果香,提升了卷烟香气的丰富性.王俊等^[74]设计开发了利用专门装置将液体香精香料直接添加到滤棒(丝束)中的加香技术,实现了液体香精香料的直接添加,丝束包裹同时,可减少香气的散失.宋晓梅等^[75]采用在纺丝乳液中添加增香保润助剂的方式,与对照丝束卷烟相比,添加增香保润助剂的改性丝束卷烟样品的感官品质有所提升,但烟气过滤效率略有下降.

在二醋酸纤维丝束中直接添加香精香料或保润剂可以赋予卷烟特定的香味并提高润感,有效提升卷烟的增香保润效果,该方式同样无需对设备进行较大改动,成本优势比较明显.但在二醋酸纤维丝束中添加增香保润助剂可能会对丝束的物理性能产生一些消极影响,进而影响卷烟吸阻的稳定性,影响抽吸体验;此外,通过二醋酸纤维丝束增香保润,存在储存过程中香精香料易损失的问题,且可能造成烟支出现油斑,影响烟支外观,需要作进一步的优化改进.

3 其他增香保润滤棒

在常规增香保润滤棒的基础上,越来越多的研究者和企业开始尝试探索新型增香保润方式.刘绍华等^[76]挖掘了丙纶滤棒的潜力,以罗汉果为主要原料研制出一种新型丙纶滤棒添加剂,并将其添加到丙纶滤棒中,可显著降低丙纶滤嘴卷烟在口腔和喉部出现的灼热感和刺辣感,降低卷烟杂气,提升烟香.钱发成等^[77]进一步在丙纶滤棒中测试了数十种天然香料的增香保润效果.云南中烟工业有限责任公司^[78]则将枸杞、金银花等提取物添加到接装纸上,有效改善了烟气品质,提高了烟气的润感.为了能够让消费者自主选择香气类型和香气量,G. I. Patron等^[79]则设计了一种可转动滤嘴,一部分装有吸附了不同香精的吸附剂,另一部分是一种管状结构,通过旋转可以实现对香气的自主选择和

控制.上述几种增香保润滤棒,通过优化改进滤棒结构及在其他载体上添加增香保润助剂,赋予了滤棒以特殊功能,实现了增香保润功能的可控性,使消费者拥有自主选择权.但是这些增香保润滤棒结构复杂,生产成本低,质量控制难,目前尚难以推广应用.

4 总结和展望

本文对基于外加材料(香线、爆珠、凝胶和颗粒)添加的增香保润滤棒和基于原材料(三醋酸甘油酯、成型纸和二醋酸纤维丝束)添加的增香保润滤棒进行了综述.认为基于外加材料添加的增香保润滤棒助剂负载量较多且可控性较好,但目前相关的研究仍然不够深入,其具体的增香保润原理,以及对卷烟品质的整体影响仍缺乏系统性的研究.

基于原材料添加剂的增香保润滤棒制备工艺较为简单,成本较低,但存在增香保润助剂负

载量小且易挥发的缺点,因此适合作为一种辅助的增香保润手段.其他增香保润滤棒通过改进优化滤棒结构,以及在其他载体上添加增香保润助剂赋予了滤棒功能性,实现了增香保润功能的可控性,增加了消费者的自主选择权,但是存在结构复杂、生产成本低和质量控制难的缺点.

鉴于上述增香保润滤棒存在生产工艺不完善、产品品质控制不够稳定、生产成本低等问题,制约了其推广和应用.未来的发展方向应对现有的技术手段进行整合、采用多元滤棒结构等方式有效提升滤棒的增香保润性能,同时对滤棒的生产工艺进行优化调整,降低生产成本低,提高滤棒质量的稳定性,从而实现增香保润滤棒的推广和应用.

参考文献:

- [1] 吴凡,吴文利,张霞.卷烟客户购买行为及消费偏好研究[J].企业界,2012(6):82.
- [2] 田昊庭,赵砚棠.卷烟消费者需求层次类型及差异化营销策略构建[J].中国烟草科学,2008,29(2):50.
- [3] 周冀衡,张一扬,赵百东,等.近期影响我国卷烟消费需求变化趋势的主要因素分析[J].作物研究,2009,23(S1):182.
- [4] WAYNE G F, CONNOLLY G N. How cigarette design can affect youth initiation into smoking: Camel cigarettes 1983-93[J]. Tobacco Control, 2002,11(S1):i32.
- [5] SOLDZ S, DORSEY E. Youth attitudes and beliefs toward alternative tobacco products: Cigars, bidis, and kreteks [J]. Health Education & Behavior, 2005,32(4):549.
- [6] FEIRMAN S P, LOCK D, COHEN J E, et al. Flavored tobacco products in the United States: A systematic review assessing use and attitudes [J]. Nicotine & Tobacco Research, 2016, 18

- (5):739.
- [7] CARPENTER C M, WAYNE G F, PAULY J L, et al. New cigarette brands with flavors that appeal to youth: Tobacco marketing strategies [J]. Health Affairs, 2005, 24(6):1601.
- [8] 孙伟峰. 利用酶法和外加香料法对下部烟叶的增香提质研究[D]. 无锡:江南大学, 2013.
- [9] 中国烟草总公司福建省公司. 一种密集烤房烟叶提质增香烘烤工艺参数设置: 201510220571.0[P]. 2016-12-07.
- [10] 赵高坤, 张晓海, 崔国民, 等. 烤烟提质增香烘烤工艺与三段式烘烤工艺对比研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(12):312.
- [11] 韩锦峰. 烟叶香气与栽培技术的关系[J]. 农村科学实验, 1994(3):12.
- [12] 彭玉富, 王根发, 刘茂林, 等. 不同陈化条件对烤烟烟叶香气成分变化的影响[J]. 河南农业大学学报, 2009, 43(4):349.
- [13] 赵铭钦, 刘国顺, 杜绍明. 香料烟陈化过程中烟叶香气成分释放与消长规律研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8):53.
- [14] 杨贵波. 制丝线加香加料系统的问题及改进方法[J]. 自动化应用, 2012(6):34.
- [15] 吉雄, 段宁东, 张宗盛, 等. 制丝掺配加香工序的系统革新与应用[C]//中国烟草学会. 中国烟草学会工业专业委员会 2011 年烟草工艺学术研讨会论文集. 杭州:[出版者不详], 2012:248-255.
- [16] 郑素珍, 赵生. 介质浸渍法滤嘴加香工艺生产薄荷烟的尝试[J]. 烟草科技, 1989(6):21.
- [17] 朱亚峰, 胡军, 唐荣成, 等. 卷烟滤嘴加香研究进展[J]. 中国烟草学报, 2011, 17(6):104.
- [18] 梁淼, 侯佩, 李晓, 等. 卷烟保润材料及作用机理研究进展[J]. 江西农业学报, 2016(10):46.
- [19] 殷春燕, 徐志强, 汪华, 等. 贮藏过程中不同保润剂对烟丝保润效果及水分散失动力学的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014(1):96.
- [20] 张安丰, 刘春波, 陕绍云, 等. 烟草保润性的研究进展[J]. 轻工科技, 2016, 32(1):56.
- [21] 郭俊成, 吴达, 程晓蕾, 等. 保润剂对烟草吸湿特性的影响研究[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(4):22.
- [22] 阮晓明, 王青海, 徐海涛, 等. 新型天然保润剂 PDS 在卷烟中的应用[J]. 烟草科技, 2006(9):8.
- [23] 马骥, 崔凯, 陈芝飞, 等. 滤嘴对卷烟物理保润性能的影响[J]. 烟草科技, 2016, 49(3):68.
- [24] 沈靖轩, 肖维毅, 何雪峰, 等. 卷烟抽吸过程中香线滤棒内含致香成分逐口转移的研究[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(15):2931.
- [25] 赵海娟, 王卫江, 李文伟, 等. 香烟滤棒香料线定位技术的改进[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2014, 29(1):70.
- [26] 何书杰, 邓永, 费翔, 等. 滤棒添加香线的加香量和中心度控制技术[C]//中国烟草学会. 中国烟草学会 2006 年学术年会论文集. 广州:[出版者不详], 2007.
- [27] BYNRE S W, TOMPKINS B J, HAYES E B. Production of tobacco smoke filters:US 4281671 [P], 1981-08-04.
- [28] 红云红河烟草(集团)有限责任公司. 一种利用枣花蜜制备蜜香卷烟香线的方法: 201610025134.8[P]. 2016-06-22.
- [29] 云南中烟工业有限责任公司. 一种香料线复合滤棒及其制作方法:201610505505.2[P]. 2016-09-28.
- [30] 红云红河烟草(集团)有限责任公司. 一种利用油菜花蜜制备蜜香卷烟香线的方法: 201610025697.7[P]. 2016-05-04.
- [31] 红云红河烟草(集团)有限责任公司. 一种利用枇杷花蜜制备蜜香卷烟香线的方法: 201610026891.7[P]. 2016-05-25.
- [32] 红云红河烟草(集团)有限责任公司. 一种利用龙眼花蜜制备蜜香卷烟香线的方法: 201610024982.7[P]. 2016-05-04.

- [33] 红云红河烟草(集团)有限责任公司. 一种利用柑橘花蜜制备蜜香卷烟香线的方法: 201610025019.0[P]. 2016-05-04.
- [34] 河南中烟工业有限责任公司. 一种细支滤棒中香线用茴香香精及其应用: 201710846803.2 [P]. 2018-02-09.
- [35] 甘肃烟草工业有限责任公司. 香线型空腔复合滤棒: 201420341623.0[P]. 2014-12-03.
- [36] 安裕强. 爆珠添加技术发展历史和当前国内应用现状与展望[C]//中国烟草学会. 中国烟草学会2016年度优秀论文汇编——烟草经济与管理主题. 北京: [出版者不详], 2016.
- [37] MORGAN C, CONSTANCE D, KARLES G, et al. Flavour capsule for enhanced flavour delivery in cigarettes: AU20170203804[P]. 2019-06-20.
- [38] DUBE M F, SMITH K W, BARNES V B. Filtered cigarette incorporating a breakable capsule: US20030600712[P]. 2003-06-23.
- [39] KARLES G, GARTHAFNER M, JUPE R, et al. Flavor capsule for enhanced flavor delivery in cigarettes: JP20160104232[P]. 2016-08-18.
- [40] 河南中烟工业有限责任公司. 一种卷烟爆珠用板蓝根香精及其在卷烟中的应用: 201710287954.9[P]. 2017-09-05.
- [41] 河南中烟工业有限责任公司. 一种卷烟爆珠用芦荟香精及其在卷烟中的应用: 201710287353.8[P]. 2017-08-11.
- [42] 河南中烟工业有限责任公司. 一种卷烟爆珠用山药味香精及其在卷烟中的应用: 201710287352.3[P]. 2017-09-05.
- [43] 河南中烟工业有限责任公司. 一种卷烟爆珠用枸杞香精及其在卷烟中的应用: 201710288603.X[P]. 2017-09-08.
- [44] 朴洪伟, 金勇华, 金钟国, 等. 甜橙香胶囊滤棒对烟气有害成分及卷烟香气特性的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2015, 30(3/4): 48.
- [45] 朱瑞芝, 詹建波, 蒋薇, 等. GC-MS/MS法分析爆珠关键成分在卷烟中的转移行为[J]. 烟草科技, 2018, 51(6): 58.
- [46] LESSER C, BORSTEL R W V. Tobacco smoke filter for removing toxic compounds: US19960648314 [P]. 1997-05-14.
- [47] 河南中烟工业有限责任公司. 一种空管爆珠二元复合细支卷烟滤棒: 201720968740.3 [P]. 2018-03-27.
- [48] 四川三联卷烟材料有限公司. 爆珠二元复合滤棒及应用其的滤嘴: 201521122780.3 [P]. 2016-08-17.
- [49] GROSSMAN H. Cigarette and filter for tobacco smoke: US4037607[P]. 1977-07-26
- [50] 云南中烟工业有限责任公司. 一种聚丙烯酸气凝胶滤嘴香料棒及其制备方法: 201510042977.4 [P]. 2015-05-06.
- [51] 湖北中烟工业有限责任公司. 一种滤棒中线胶及其制备工艺: 201510209765.0 [P]. 2015-09-16.
- [52] BOLT A J N, SADD J S. Smoking articles: US4881555A [P]. 1989-11-21.
- [53] PERFETTI T A, WORRELL G W. Smoking article with improved means for delivering flavorants: EP0342538 [P]. 1989-11-23.
- [54] 蒋举兴, 李景权, 温光和, 等. 大豆蛋白颗粒在卷烟滤嘴中的应用[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(8): 1913.
- [55] 王猛, 凌军, 韦克毅, 等. 多孔葛根颗粒的制备及其在卷烟中的应用[J]. 轻工学报, 2017, 32(1): 50.
- [56] 吴家灿, 廖头根, 王猛, 等. 赋香型麦冬颗粒的制备及在卷烟滤棒中的应用[J]. 化学研究与应用, 2016, 28(11): 1639.
- [57] SCHLOTZHAUER W S, CHORTYK O T, AUSTIN P R. Pyrolysis of chitin, potential tobacco extender [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 24(1): 177.
- [58] LESSER C, VON BORSTEL R W. Cigarette fil-

- ter containing a humectant: US19950543050 [P]. 1995 - 10 - 13.
- [59] WOODS D K, ROBERTS D L. Microporous materials in cigarette filter construction: US19850798227 [P]. 1986 - 11 - 13.
- [60] 杨厚民. 滤嘴的理论与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [61] 云南中烟工业有限责任公司. 一种香叶天竺葵三醋酸甘油酯提取物及其在卷烟中的应用: 201610154707.7 [P]. 2016 - 05 - 18.
- [62] 云南中烟工业有限责任公司. 一种大枣三醋酸甘油酯提取物及其在卷烟中的应用: 201510336314.3 [P]. 2015 - 11 - 04.
- [63] 云南中烟工业有限责任公司. 一种滇橄榄三醋酸甘油酯提取物及其在卷烟中的应用: 201510336532.7 [P]. 2015 - 11 - 11.
- [64] 云南中烟工业有限责任公司. 一种植物组合三醋酸甘油酯提取物及其在卷烟中的应用: 201510336787.3 [P]. 2015 - 11 - 11.
- [65] 黄海群, 刘琳, 肖维毅, 等. 成型纸上香料单体在卷烟主流烟气中的转移率研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2015, 37(S1): 75.
- [66] 刘雯, 李桂珍, 何雪峰, 等. 铁观音茶提取物在卷烟成型纸中的应用[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(8): 1916.
- [67] 云南中烟工业有限责任公司. 一种可加香的伸缩卷烟滤嘴: 201510692875.7 [P]. 2015 - 12 - 30.
- [68] 沈妍, 徐兰兰, 尧珍玉, 等. 微胶囊在卷烟用纸上的应用评价[J]. 中国造纸, 2017, 36(7): 36.
- [69] OHIZUMI I, OKAYASU H. Tobacco filter: EP19840302230 [P]. 1984 - 10 - 10.
- [70] TANIGUCHI H, NISHIMURA K. Tobacco filters and production process there of: EP19960115558 [P]. 1996 - 09 - 27.
- [71] KIYOSHI H. Tobacco filter: JP20030106746 [P]. 2004 - 03 - 06.
- [72] 王涛, 温光和, 曹建华, 等. 改性二醋酸纤维丝束对卷烟保润性能的影响[J]. 应用化工, 2011, 40(8): 1382.
- [73] 河南中烟工业有限责任公司. 一种苹果香味醋纤丝束及其在细支卷烟中的应用: 201611127329.X [P]. 2017 - 05 - 31.
- [74] 王俊, 李文逢, 梁源, 等. 滤棒直接加香装置的研究及应用[J]. 中国设备工程, 2017(21): 98.
- [75] 宋晓梅, 杨春强, 陈昀等. 增香保润剂对二醋酸纤维素纺丝乳液及丝束性能的影响[J]. 烟草科技, 2016, 49(7): 77.
- [76] 刘绍华, 黄泰松, 邹克兴, 等. 罗汉果提取物在丙纶滤棒中应用的研究[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(3): 17.
- [77] 钱发成, 江文伟, 李国栋, 等. 丙纤滤棒成型助剂与加香助剂的研究[J]. 烟草科技, 1999(2): 9.
- [78] 云南中烟工业有限责任公司. 一种复合烟支卷烟及其加工方法: 201710026815.0 [P]. 2017 - 05 - 10.
- [79] PATRON G I, NICHOLS W A, GAUVIN P N, et al. Filter cigarette: US19870119047 [P]. 1988 - 11 - 08.



引用格式:张果,郭会师,蒋晶,等.角窗塑件注射压缩成型工艺数值模拟研究[J].轻工学报,2020,35(3):82-87.

中图分类号:TG76 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.010

文章编号:2096-1553(2020)03-0082-06

角窗塑件注射压缩成型工艺数值模拟研究

Numerical simulation research on injection-compression molding process of corner window plastic parts

张果¹,郭会师¹,蒋晶²,李倩²

ZHANG Guo¹, GUO Huishi¹, JIANG Jing², LI Qian²

1. 郑州轻工业大学 材料与化学工程学院,河南 郑州 450001;

2. 郑州大学 微纳成型技术国际联合研究中心,河南 郑州 450001

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

2. National Center for International Joint Research of Micro-Nano Moulding Technology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

关键词:

注射压缩成型;残余应力;正交试验;数值模拟

Key words:

injection-compression molding; residual stress; orthogonal experiment; numerical simulation

摘要:利用 Moldflow 软件结合正交试验的数值模拟方法,研究了聚碳酸酯角窗塑件 3 处典型位置厚度方向上脱模后残余应力的分布情况,优化了角窗塑件注射压缩成型工艺,在此基础上,选取主要因素考察了主要工艺参数对制品残余应力的影响规律.结果表明:制品 3 处典型位置厚度方向上脱模后残余应力的分布呈现拉-压-拉的三区域分布规律;最佳工艺参数组合为模具温度 105 ℃,熔体温度 315 ℃,注射时间 3 s,压缩力 882 kN,压缩距离 1.0 mm,压缩速度 5 mm/s,延迟时间 0 s;熔体温度、延迟时间、压缩距离是影响制品残余应力的主要工艺参数,且塑件次表层和中心层的残余应力随熔体温度升高而减小,而塑件厚度方向各层的残余应力随延迟时间、压缩距离的增加而增大.

收稿日期:2019-12-17

基金项目:国家自然科学基金项目(51802290)

作者简介:张果(1987—),女,河南省南阳市人,郑州轻工业大学实验师,主要研究方向注塑成型 CAE.

通信作者:李倩(1962—),女,广东省化州市人,郑州大学教授,博士,主要研究方向聚合物加工技术.

Abstract: Through numerical simulation method which combined Moldflow software with orthogonal experiment, the residual stress distribution after demoulding in the thickness direction of three typical positions of polycarbonate corner window plastic parts was studied, and the injection compression molding process of corner window plastic parts was optimized. On the basis, the main factors were selected to investigate the influence of the main process parameters on the residual stress of the product. The results showed that the residual stress distribution after demoulding in the thickness direction of three typical locations of the product conforms to the three-region distribution of tension-compression-tension. The optimum combination of process parameters was that the mold temperature was 105 °C, the melt temperature was 315 °C, the injection time was 3 s, the compression force was 882 kN, the compression distance was 1.0 mm, the compression speed was 5 mm/s, and the delay time was 0 s. Melt temperature, delay time, compression distance were the main process parameters that affect the residual stress of the product, and the residual stress of the subsurface layer and the center layer of the plastic part decreased with the increase of the melt temperature, while the residual stress of each layer in the thickness direction of the plastic part increased with delay time and compression distance.

0 引言

注射压缩成型是一种将注射成型与压缩成型两者优势相结合的新型塑料加工技术. 注射压缩成型是在模具没有完全闭合的情况下进行注射充填,待注射完成后,压缩阶段启动,模具进一步闭合,保持恒定均匀的压缩力对熔体进行保压,最后冷却顶出制品. 注射压缩成型可以降低注射压力,减小分子取向和残余应力,均匀的压缩力所提供的保压作用可以降低不均匀收缩、翘曲变形和密度分布,提高制品尺寸的精度,因此,注射压缩成型常用于生产尺寸精度要求较高和残余应力较小的塑料制品^[1-2].

角窗塑件是一类常用于局限空间的透光塑料制品,良好的力学性能和光学特性是保证该类塑件功能发挥的前提. 采用注射压缩成型工艺有助于获得残余应力小、力学性能稳定、双折射和角偏差现象弱的光学塑料制品. 众多学者采用数值模拟的方法研究了注射压缩成型工艺对角窗塑件加工性能的影响^[3-8],结果表明,注射速度、注射时间、压缩速度、充模压力、冷却时间、压缩距离等多项工艺参数均会对制品的力学性能和光学特性产生影响. 杜遥雪等^[3]对LED透镜的注射压缩成型过程进行数值模拟分

析后发现,增大压缩速度和减小注射速度可降低LED透镜内部的残余应力和折射率,从而提高其光学性能. J. O. Hwa等^[7]在不同压缩间隙条件下,对PMMA薄壁制品在注射压缩成型过程中残余应力的分布情况进行数值模拟,发现制品表面残余应力会随压缩间隙的增加而减小. 沈洪雷等^[8]利用Moldflow软件研究了厚壁塑件成型中工艺参数对制品质量的影响,获得了压缩力、熔体温度、压缩距离等主要工艺参数对制品缩痕、收缩、翘曲等质量指标的影响趋势.

上述研究对象多为平板产品,而角窗塑件因多应用于受限空间而具有一定的弧度,制品曲率的存在会对脱模后的残余应力分布产生影响. 鉴于此,本文拟以聚碳酸酯(PC)角窗塑件为研究对象,利用Moldflow软件结合正交试验的数值模拟方法,研究角窗制品在注射压缩成型过程中残余应力的分布情况,优化其注塑压缩成型工艺,考察主要工艺参数对制品残余应力的影响规律,以期提升曲面造型塑件的注塑成型工艺质量提供参考.

1 模型建立与试验设计

1.1 角窗塑件模型建立与网格划分

以拱形角窗塑件为研究对象,其壁厚均匀

(6 mm),长、高、宽的最大尺寸分别为 100 mm, 100 mm, 50 mm. 基于 UG 平台建立注塑件模型,以 STL 文件格式导入 Moldflow 软件对其进行中型面网格划分,角窗塑件几何模型如图 1 所示. 产品材料选取美国 SABIC 公司生产的 PC,牌号为 Lexan EXL 1414T, Moldflow 软件的材料数据库提供其性能参数为:熔融指数 10 g/10 min, 最大剪切应力 0.5 MPa, 固体密度 1.181 g/cm³, 熔体温度 295 ~ 315 °C, 模具温度 70 ~ 95 °C, 顶出温度 142 °C.

1.2 评价指标

根据角窗塑件残余应力与光学性能间的关系,本文采用望小特征信噪比作为制品稳健性的评价指标. 信噪比由损失函数推导而得,其形式依赖于目标函数的类型. 信噪比计算公式^[9]为

$$S/N = -10 \cdot \lg\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2\right)$$

其中, n 为样本数, y_i 为第 i 次试验结果. 本文以网格尺寸大小对试验结果的影响为噪音,采用 2.0 mm 和 2.3 mm 两种网格尺寸对模型进行网格划分,因此 $n = 2$.

1.3 正交试验设计

根据熔体充填流动路径,选取浇口附件、塑件中部和充填末端这 3 处典型位置的残余应力为研究对象,典型位置点分布如图 2 所示,其中 3 处典型位置点依次标注为 X, Y, Z, 其对应的



图 1 角窗塑件几何模型

Fig. 1 The geometric model of corner window plastic parts

网格单元分别为 T5103, T9900, T4350. 以角窗塑件的残余应力为指标,依据 PC 成型特性和成型工艺参数范围、Moldflow 软件成型工艺窗口推荐数值范围,确定每个因素(工艺参数)所选取的水平值,据此设计 L₁₈(3⁷) 正交试验,考察模具温度(A)、熔体温度(B)、注射时间(C)、压缩力(D)、压缩距离(E)、压缩速度(F)、延迟时间(G)这 7 个因素对制品残余应力的影响. 正交试验因素和水平如表 1 所示.

以正交试验结果为基础,选取 3 个主要因素进行试验,以寻找、分析其对角窗塑件制品残余应力的影响规律.

2 结果与分析

2.1 角窗塑件 3 处典型位置的残余应力分布

结合脱模后塑件的应力自平衡及其自身力矩平衡,脱模后残余应力等于模内残余应力减去各层模内残余应力后的平均值^[10]. 利用 Moldflow

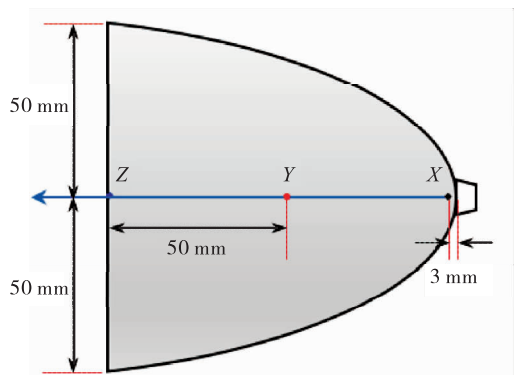


图 2 典型位置点分布

Fig. 2 Distribution of inspection point

表 1 正交试验因素和水平表

Table 1 Factors and levels table of orthogonal experiment

水平	因素						
	A/°C	B/°C	C/s	D/kN	E/mm	F/(mm · s ⁻¹)	G/s
1	85	295	2.0	686	1.0	1	0.0
2	95	305	2.5	882	1.5	3	0.5
3	105	315	3.0	1078	2.0	5	1.0

软件分析 X, Y, Z 位置点处厚度方向上脱模后残余应力的分布情况,结果如图 3 所示.由图 3 可以看出,制品在这 3 处的残余应力均表现出拉-压-拉的三区域分布规律,表层和中间层存在较小的拉应力,而次表层表现出较大的压应力,并且残余应力主要集中于制品充填末端.其原因可能是:由于熔体前沿温度随着充填过程逐渐降低,压缩阶段较低的末端温度冻结了大量的残余应力,且充填末端的翘曲变形量相对于浇口处小,残余应力释放量较小,因而末端处残余应力较大.

2.2 正交试验结果分析

根据选取的因素和水平值,采用 $L_{18}(3^7)$ 正交试验表进行试验安排,正交试验结果如表 2 所示,方差分析结果如表 3 所示.

由表 2 可知,熔体温度和延迟时间的极差

较大,表明两者对制品脱模后残余应力的影响较大,为主要影响因素.熔体温度越高,信噪比越大,制品脱模后残余应力越小;延迟时间越长,信噪比越小,制品脱模后残余应力越大.根据

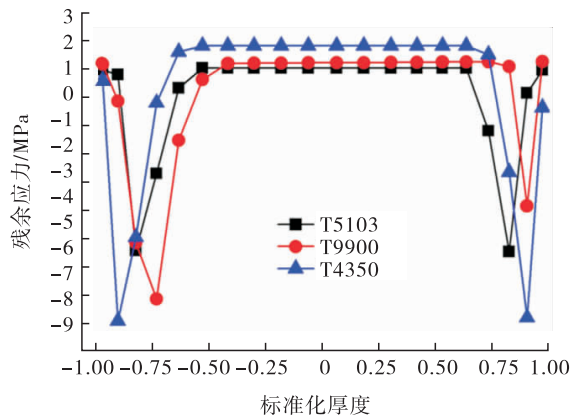


图 3 注塑件厚度方向上的残余应力分布

Fig. 3 Residual stress distribution in the thickness direction of injection molded parts

表 2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal test

试验号	因素							残余应力/MPa		S/N
	A	B	C	D	E	F	G	模型 1	模型 2	
1	1	1	1	1	1	1	1	-8.020	-7.838	-17.985
2	1	2	2	2	2	2	2	-8.136	-8.014	-18.143
3	1	3	3	3	3	3	3	-6.769	-6.324	-16.326
4	2	1	1	2	2	3	3	-13.408	-13.074	-22.439
5	2	2	2	3	3	1	1	-7.439	-7.352	-17.379
6	2	3	3	1	1	2	2	-5.929	-5.794	-15.360
7	3	1	2	1	3	2	3	-8.817	-8.105	-18.556
8	3	2	3	2	1	3	1	-2.818	-2.426	-8.398
9	3	3	1	3	2	1	2	-6.193	-6.069	-15.752
10	1	1	3	3	2	2	1	-7.375	-6.755	-16.991
11	1	2	1	1	3	3	2	-7.754	-7.217	-17.490
12	1	3	2	2	1	1	3	-6.047	-5.909	-15.531
13	2	1	2	3	1	3	2	-8.060	-7.287	-17.711
14	2	2	3	1	2	1	3	-7.571	-7.442	-17.509
15	2	3	1	2	3	2	1	-5.539	-5.301	-14.682
16	3	1	3	2	3	1	2	-5.940	-8.941	-17.605
17	3	2	1	3	1	2	3	-6.586	-6.144	-16.081
18	3	3	2	1	2	3	1	-5.558	-5.689	-15.001
k_1	-17.078	-18.548	-17.405	-16.984	-15.178	-16.960	-15.072			
k_2	-17.513	-15.833	-17.053	-16.133	-17.639	-16.636	-17.010			
k_3	-15.232	-15.442	-15.365	-16.707	-17.006	-16.227	-17.740			
极差 R	2.281	3.106	2.040	0.851	2.461	0.733	2.668			

表3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

因素	自由度	偏差平方和	均方	F 值	贡献率/%
A	2	17.603	8.801	2.277	14.185
B	2	34.331	17.166	4.441	27.665
C	2	14.275	7.137	1.847	11.503
D	2	2.258	1.129	0.292	1.820
E	2	19.605	9.803	2.536	15.799
F	2	1.618	0.809	0.209	1.304
G	2	22.811	11.405	2.951	18.381
误差	3	11.595	2.865		9.344
总体	17	124.097			100.000

表2中的极差大小和表3中各因素对制品残余应力的影响贡献率排序可知,各因素对制品脱模后残余应力的影响大小依次为:熔体温度 > 延迟时间 > 压缩距离 > 模具温度 > 注射时间 > 压缩力 > 压缩速度. 根据信噪比越大制品性能越稳定的规律,可得制品最优成型工艺参数组合为 $A_3B_3C_3D_2E_1F_3G_1$, 即模具温度为 $105\text{ }^\circ\text{C}$, 熔体温度为 $315\text{ }^\circ\text{C}$, 注射时间为 3 s , 压缩力为 882 kN , 压缩距离为 1.0 mm , 压缩速度为 5 mm/s , 延迟时间为 0 s . 对该最优工艺参数组合进行验证试验, 所得信噪比为 -7.494 , 大于表2中18组试验的信噪比, 说明采用最佳工艺参数组合可以获得残余应力最小的制品, 从而验证了正交试验设计的可行性.

2.3 主要因素对制品残余应力的影响

由上述分析可知, 熔体温度、延迟时间、压缩距离对角窗塑件残余应力贡献率较大, 为成型过程中的主要影响因素. 为进一步探讨熔体温度、延迟时间、压缩距离对角窗塑件残余应力的影响, 以最佳工艺参数组合 $A_3B_3C_3D_2E_1F_3G_1$ 为基准, 在其他工艺参数设置保持不变的条件下, 设置熔体温度 ($295\text{ }^\circ\text{C}$, $300\text{ }^\circ\text{C}$, $305\text{ }^\circ\text{C}$, $310\text{ }^\circ\text{C}$, $315\text{ }^\circ\text{C}$)、延迟时间 (0 s , 0.25 s , 0.50 s , 0.75 s , 1.00 s) 和压缩距离 (1.0 mm , 1.5 mm , 2.0 mm , 2.5 mm , 3.0 mm), 采用网格尺寸为 2.3 mm 的模型进行数值模拟试验, 结果分别如图4—6所示.

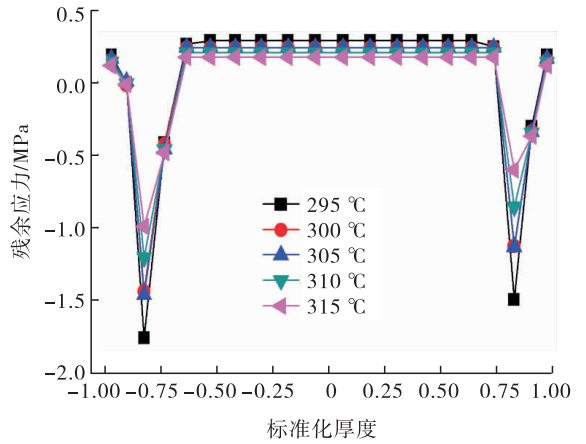


图4 熔体温度对制品残余应力的影响

Fig. 4 The effect of melt temperature on residual stress of products

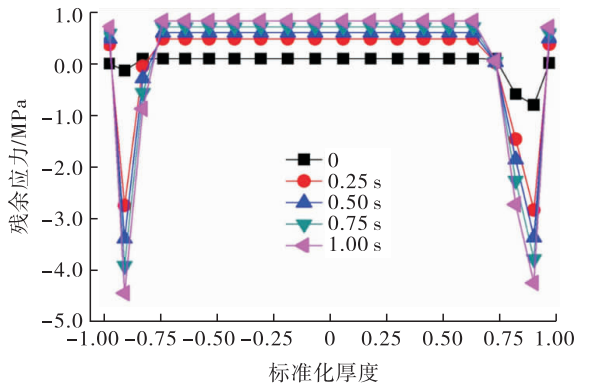


图5 延迟时间对制品残余应力的影响

Fig. 5 The effect of delay time on residual stress of products

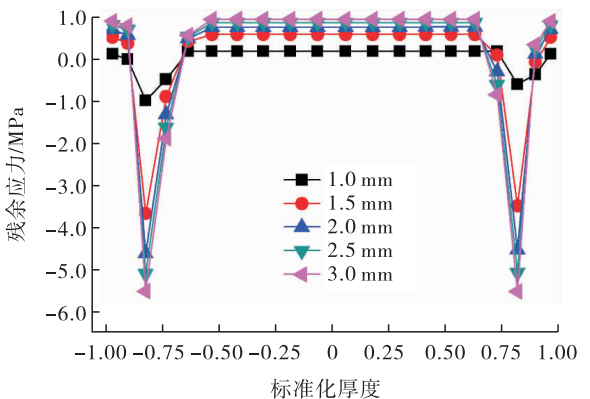


图6 压缩距离对制品残余应力的影响

Fig. 6 The effect of compression distance on residual stress of products

由图4可以看出,随着熔体温度的提高,塑件表层残余应力变化不明显,而次表层和中心层(标准化厚度介于 $-0.80 \sim 0.80$ 之间)残余应力逐渐减少.这可能是因为相同的模具温度下,熔体温度越高,带入模腔的热量越多,减弱了制品厚度方向上的温度梯度,有利于制品收缩变形的一致性,从而减小了热残余应力.另一方面,PC属于热敏性材料,熔体温度越高,黏度越小,流动性越好,分子取向程度越低,也越有利于减小残余应力.此外,熔体温度越高,冷却缓慢固化时间越长,越有利于分子链的充分解取向,能够在一定程度上减小流动残余应力.

由图5可以看出,在整个标准化厚度范围内,制品残余应力随延迟时间的增加而增大,这可能是由于延迟时间的增加导致冷凝层变厚,从而增加了充填流动阻力,使得在压缩速度控制阶段需要较大的压缩力,进而增加了熔体分子取向和内应力,最终造成残余应力增大.

由图6可以看出,在压缩距离由 1.0 mm 增加到 3.0 mm 的过程中,制品沿厚度方向上的各层残余应力逐渐增大.一般而言,当压缩速度相同时,随着压缩距离的增加,压缩力作用在熔体中的时间较长,增加了熔体的流动取向和内应力,进而引起残余应力的增大.

3 结论

本文以PC角窗塑件的残余应力为指标,利用Moldflow软件结合正交试验的数值模拟方法,考察了制品注射压缩成型工艺参数对残余应力的影响,确定了主要工艺参数和最佳工艺组合.结果表明:角窗塑件厚度方向上的残余应力分布呈现拉-压-拉三区域分布规律,制品末端残余应力较大,且压应力大于拉应力;注射压缩成型最优工艺条件为模具温度 $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$,熔体温度 $315 \text{ }^{\circ}\text{C}$,注射时间 3 s ,压缩力 882 kN ,压缩距离 1.0 mm ,压缩速度 5 mm/s ,延迟时间 0 s ;残余应力随熔体温度的升高而减小,随延

迟时间、压缩距离的增加而增大.

本研究结果可为减小PC角窗塑件注射压缩成型过程的残余应力,以及提高角窗塑件成型质量提供参考.

参考文献:

- [1] 肖九梅. 浅述塑料注射压缩成型技术及应用[J]. 塑料包装, 2018, 28(5): 54.
- [2] 安紫娟, 何继敏, 王国俨, 等. 注射压缩模具及注射压缩成型技术研究进展[J]. 现代塑料加工应用, 2019, 31(6): 60.
- [3] 杜遥雪, 史智, 周阳, 等. 注射压缩成型LED透镜光学性能分析[J]. 中国塑料, 2018, 32(5): 103.
- [4] YOUNG I K, YOUNG S S. Application of injection compression molding to thin-walled polymeric parts[J]. Korea-Australia Rheology Journal, 2018, 30(3): 161.
- [5] 李小林, 洪剑城. Moldflow在注射压缩成型中的应用[J]. 工程塑料应用, 2012, 40(3): 49.
- [6] KABANEMI K, VAILLANCOURT H, WANG H, et al. Residual stresses, shrinkage, and warpage of complex injection molded products: Numerical simulation and experimental validation [J]. Polym Eng Sci, 2004, 38(1): 21.
- [7] HWA J O, YOUNG S S. Enhanced impact strength of injection-compression molded parts by controlling residual stress distribution [J]. Korea-Australia Rheology Journal, 2019, 31(1): 35.
- [8] 沈红雷, 袁毅, 薛露. 注射压缩工艺参数对厚壁塑件成型质量的影响[J]. 机床与液压, 2018, 46(4): 9.
- [9] OLIAEI E, HEIDARI B S, DAVACHI S M, et al. Warpage and shrinkage optimization of injection-molded plastic spoon parts for biodegradable polymers using Taguchi, ANOVA and artificial neural network methods [J]. Journal of Materials Science & Technology, 2016, 32(8): 710.
- [10] 韩健, 李刚, 陈静波, 等. 注塑件残余应力影响因素的模拟实验研究[J]. 塑料工业, 2007(2): 23.



引用格式:宛宇,张春燕,朱锦翊,等. 基于螺旋理论的多模式移动 3-RSR 并联机构奇异性分析[J]. 轻工学报,2020,35(3):88-98.

中图分类号:TH112 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.011

文章编号:2096-1553(2020)03-0088-11

基于螺旋理论的多模式移动 3-RSR 并联机构奇异性分析

Singularity analysis of multi-mode mobile 3-RSR parallel mechanism based on screw theory

宛宇,张春燕,朱锦翊,陈致,蒋新星,平安

WAN Yu,ZHANG Chunyan,ZHU Jinyi,CHEN Zhi,JIANG Xinxing,PING An

上海工程技术大学 机械与汽车工程学院,上海 201620

School of Mechanical and Automotive Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620, China

关键词:

并联机构;多模式移动;螺旋理论;空间线性几何理论;奇异性

Key words:

parallel mechanism;
multi-mode mobile;
screw theory;
space linear geometry theory;
singularity

摘要:针对 3-RSR 并联机构在运动过程中的奇异位形,提出了一种基于螺旋理论、几何代数法和空间线性几何理论的新方法,对 3-RSR 并联机构的全姿态多运动模式进行奇异性分析.该方法首先运用螺旋理论求出 3-RSR 并联机构的完整雅克比矩阵,然后通过代数法和几何作图法表示出机构各分支的反螺旋,再结合空间线性几何理论分析反螺旋相关性,得出固定模式下机构的奇异性图解,由此对全姿态多运动模式进行奇异性分析.结果表明,该方法能够更加简洁、直观地表示出 3-RSR 并联机构在两种运动模式下的奇异位形,且不需要大量计算,也适用于其他多模式移动并联机构的奇异位形求解.

收稿日期:2019-12-13

基金项目:上海市研究生科研创新基金项目(18KY0122)

作者简介:宛宇(1994—),男,湖北省黄冈市人,上海工程技术大学硕士研究生,主要研究方向为机器人机构设计.

通信作者:张春燕(1980—),女,安徽省淮北市人,上海工程技术大学教授,博士,主要研究方向为 CAD/CAM 机电一体化及机器人机构设计.

Abstract: Aiming at the singular configuration of 3-RSR parallel mechanism in the process of motion, a new method based on the theory of screw, geometric algebra and space linear geometry theory was proposed to analyze the singularity of 3-RSR parallel mechanism in the full-attitude and multi-motion mode. The method first used screw theory to find the 3-RSR complete Jacobin matrix of parallel mechanism, and then represented the anti-screw of each branch of the mechanism by algebraic method and geometric mapping method. The singularity diagram of the mechanism in the fixed mode was obtained to make the singularity analysis of the full-attitude and multi-motion mode, combining with the space linear geometry theory to analyze the anti-screw correlation. The results showed that this method could more concisely and intuitively represent the singular configuration of 3-RSR parallel mechanism in two motion modes, and it did not need a lot of calculation. It was also suitable for solving the singular configuration of other multi-mode mobile parallel mechanisms.

0 引言

并联机构^[1]具有承载力高、精度高等优点,被普遍应用于加工、制造、检测、物流等行业,近年来多应用于移动机构或作为移动机器人的腿部机构,形成“移动的并联机构”^[2-3].国内比较具有代表性的移动并联机构主要包括:一个或多个支链^[4]直接作为移动机构或移动机器人的腿的并联机构;以田耀斌^[5]为代表提出的全姿态多模式移动并联机构.由于并联机构自身的结构特点,在工作过程中会不可避免地出现各种不利于机构运动的奇异位形^[6],不能实现所要求的自由度.为了在机构设计过程中尽量避免奇异位形的出现,国内外研究人员提出了各种奇异位形分析方法^[7-16].但这些方法大多是根据雅克比矩阵行列式的值是否为零或雅克比矩阵是否降秩来判断机构是否具有奇异性,对于比较复杂的雅克比矩阵,计算繁琐,工作量大,不具有普遍适用性.文献[17]首次将线几何法应用于并联机构的研究,该方法无需计算雅克比矩阵行列式的秩,计算量小,判断直观、简便,但并未涉及机构的奇异性分析.文献[5]分析了具有全姿态多模式移动 3-RSR 并联机构的不同运动模式,但仅研究了机构多模式移动的方式,并未涉及机构多模式移动过程中驱动的选择和控制,以及奇异位形问题.

鉴于此,本文拟采用螺旋理论、几何代数法

与空间线性几何理论相结合的方法^[16],求解机构在固定模式下的奇异性图解,并以此为依据进行 3-RSR 并联机构全姿态多运动模式的奇异性分析,旨在指导机构设计中驱动的选择与控制,规避或利用奇异位形点,同时为机构步态规划提供理论依据.

1 机构描述与自由度分析

1.1 机构描述

图 1 为具有缩放平台的 3-RSR 并联机构简图.由 P 副组成的两个可缩放等边三角形构成该机构的上下平台,每个平台均由 3 个“V”形连杆通过 P 副相连形成一个等边三角形.上平台和下平台通过 3 个完全相同的 RSR 支链连接,且支链中两个转动副的轴线平行.当机构作为传统模式并联机构时,下平台固定作为基础平台,上平台作为动平台;当机构作为多运动模式并联机构时,上下平台交替与地面接触,形成全姿态多模式移动并联机构.

1.2 自由度分析

当下平台作为基础平台时,由于平台的缩放运动与支链的运动是分离的,因此机构的整体自由度即为固定平台的 3-RSR 并联机构的自由度加上两个平台的自由度.

当上下平台移动副锁定时,3-RSR 并联机构为非过约束机构^[17],其自由度为

$$M = d(n - g - 1) + \sum_{i=1}^g f_i + v - \xi$$

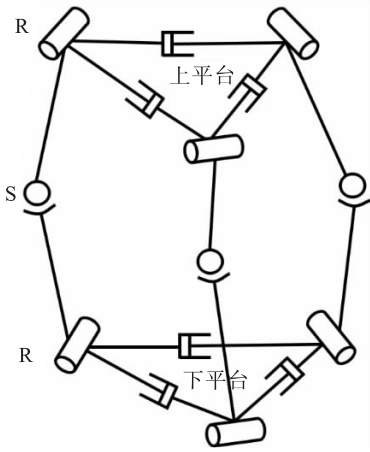


图1 3-RSR 并联机构简图

Fig.1 3-RSR parallel mechanism schematic diagram

其中, M 表示机构的自由度, n 表示包括机架的构件数目, g 表示运动副的数目, f_i 表示第 i 个运动副的自由度, v 表示并联冗余约束, ξ 表示局部自由度. 根据图 1 代入相应的数据计算, 机构此时的自由度为 3. 上下平台的移动副在实际工况中为同步缩放, 故上下平台总的自由度为 2, 机构总体自由度为 5.

2 机构奇异性分析方法

螺旋理论是建立机构雅克比矩阵的一种常用理论, 也是一种方法, 本文通过螺旋理论求出机构雅克比矩阵后, 将雅克比矩阵进行抽象的代数表达, 转化为空间线图, 再通过线性几何理论判断其奇异性.

2.1 3-RSR 并联机构完整螺旋雅克比矩阵的构建

传统固定模式下, 运用螺旋理论建立的具有缩放平台的 3-RSR 并联机构的运动螺旋如图 2 所示, 其中, 球铰 G_i 等同于 3 个相交不共面的旋转副(轴线 $\$_{2,i}, \$_{3,i}, \$_{4,i}$), P_i 点处和 Q_i 点处的旋转副轴线分别用 $\$_{1,i}$ 和 $\$_{5,i}$ 表示. 3 条支链都是由 5 个单自由度的旋转副组成的关节链, 动平台的瞬时螺旋可以表示为 5 个瞬时螺旋的线性组合:

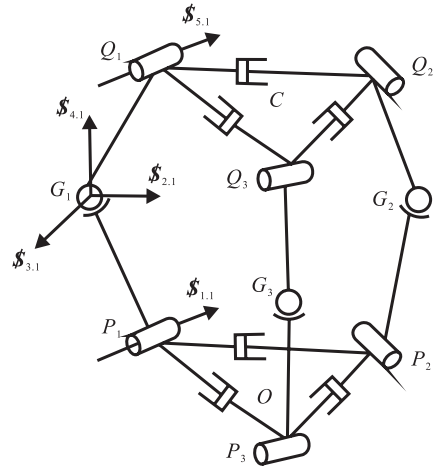


图2 3-RSR 并联机构的运动螺旋

Fig.2 Motion spiral of 3-RSR parallel mechanism

$$\$c = \beta_{1,i} \$1,i + \beta_{2,i} \$2,i + \beta_{3,i} \$3,i + \beta_{4,i} \$4,i + \beta_{5,i} \$5,i \quad i = 1, 2, 3 \quad \textcircled{1}$$

其中, $\beta_{j,i} (j = 1, 2, \dots, 5)$ 表示第 i 条支链第 j 个旋转副的角速度大小; $\$_{j,i}$ 表示一个单位螺旋. 则第 i 条支链的螺旋可以表示为

$$\$1,i = [s_{1,i}; \overline{CP}_i \times s_{1,i}]$$

$$\$2,i = [s_{2,i}; \overline{CG}_i \times s_{2,i}]$$

$$\$3,i = [s_{3,i}; \overline{CG}_i \times s_{3,i}]$$

$$\$4,i = [s_{4,i}; \overline{CG}_i \times s_{4,i}]$$

$$\$5,i = [s_{5,i}; \overline{CQ}_i \times s_{5,i}]$$

其中, $s_{1,i}$ 表示螺旋的原部, 是一个线矢量. 用 $\$_{r,1,i}$ 表示 $\$1,i, \$2,i, \$3,i, \$4,i, \$5,i$ 五螺旋系的一个反螺旋, 反螺旋系的维数为 1. 根据共面的两线矢互为反螺旋、螺旋的相逆性与坐标系选择无关的原则^[18], 通过两线矢量交点方法求各分支的约束反螺旋.

2.1.1 约束子矩阵 由空间几何关系可知, 各支链的反螺旋为一个通过球铰 G_i 的线矢量 $\overline{G_i D_{Di}}$ (节距为零), 且让它和过 P_i 的矢量 $s_{1,i}$ (方向为 $Unit(\overline{P_{i+2} P_{i+1}})$, 表示矢量 $\overline{P_{i+2} P_{i+1}}$ 的单位矢量)、过 Q_i 的矢量 $s_{5,i}$ (方向为 $Unit(\overline{Q_{i+2} Q_{i+1}})$) 相交. D 点为矢量 $s_{1,i}$ 与矢量 $s_{5,i}$ 间

的交点,具体求解线矢量 $\overline{\mathbf{G}_i\mathbf{D}_{D_i}}$ 的过程参见文献[16].

基于上述求解方法可以得到反螺旋 $\mathcal{S}_{r,1,i}$,其表达式为

$$\mathcal{S}_{r,1,i} = [\text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_i\mathbf{D}_{D_i}}); \overline{\mathbf{C}_i\mathbf{G}_i} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_i\mathbf{D}_{D_i}})] \quad (2)$$

$\mathcal{S}_{r,1,i}$ 是一个线矢量,用 $\mathcal{S}_{r,1,i}$ 作式①两边的互易积,得:

$$\mathcal{S}_{r,1,i} \circ \mathcal{S}_c = 0$$

根据反螺旋理论,上式对每一个支链产生一个等式(反螺旋):

$$\mathbf{J}_A \mathcal{S}_c = 0$$

其中, \mathbf{J}_A 是一个 3×6 的矩阵,称为约束雅克比矩阵:

$$\mathbf{J}_A = \begin{bmatrix} (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_1} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{D}_{D_1}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{D}_{D_1}})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_2} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{D}_{D_2}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{D}_{D_2}})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_3} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{D}_{D_3}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{D}_{D_3}})^T \end{bmatrix}$$

其中, \mathbf{J}_A 的每一行代表一个支链的关节施加一个单位的约束力螺旋.

2.1.2 驱动子矩阵 当锁住机构的每条驱动关节 P_i 副,每条支链变成只有4个自由度的旋转副组成的关节链,反螺旋系的维数为2,且式②表示的 $\mathcal{S}_{r,1,i}$ 为反螺旋系的子集,可求另外一个反螺旋 $\mathcal{S}_{r,2,i}$,即该机构的驱动力螺旋. $\mathcal{S}_{r,2,i}$ 与 $\mathcal{S}_{1,1}, \mathcal{S}_{2,1}, \mathcal{S}_{3,1}, \mathcal{S}_{4,1}, \mathcal{S}_{5,1}$ 的互易积为零,但与 $\mathcal{S}_{1,i}$ 的互易积不能为零.让该螺旋通过点 G_i 和 Q_i 即可,即:

$$\mathcal{S}_{r,2,i} = [\text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_i\mathbf{Q}_i}); \overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_i} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_i\mathbf{Q}_i})]$$

$\mathcal{S}_{r,2,i}$ 是一个线矢量,用 $\mathcal{S}_{r,2,i}$ 作式①两边的互易积,得:

$$\mathcal{S}_{r,2,i} \circ \mathcal{S}_c = \beta_{1,i} \mathcal{S}_{r,2,i} \circ \mathcal{S}_{1,i} \quad (3)$$

式③对每一个支链产生一个等式:

$$\mathbf{J}_x \mathcal{S}_c = \mathbf{J}_q \dot{q} \quad (4)$$

其中:

$$\mathbf{J}_q = \begin{bmatrix} \mathcal{S}_{r,2,1} \circ \mathcal{S}_{1,1} & 0 & 0 \\ 0 & \mathcal{S}_{r,2,2} \circ \mathcal{S}_{1,2} & 0 \\ 0 & 0 & \mathcal{S}_{r,2,3} \circ \mathcal{S}_{1,3} \end{bmatrix}$$

$$\dot{q} = [\beta_{1,1} \quad \beta_{1,2} \quad \beta_{1,3}]^T$$

式④左右两边同乘以 \mathbf{J}_q^{-1} ,得:

$$\dot{q} = \mathbf{J}_a \mathcal{S}_c$$

其中:

$$\mathbf{J}_a = \mathbf{J}_q^{-1} \mathbf{J}_x =$$

$$\begin{bmatrix} (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_1} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1})^T / \mathcal{S}_{r,2,1} \circ \mathcal{S}_{1,1} \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_2} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2})^T / \mathcal{S}_{r,2,2} \circ \mathcal{S}_{1,2} \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_3} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3})^T / \mathcal{S}_{r,2,3} \circ \mathcal{S}_{1,3} \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{J}_x = \begin{bmatrix} (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_1} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_2} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_3} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3})^T \end{bmatrix}$$

\mathbf{J}_x 是一个 3×6 的矩阵,称为驱动雅克比矩阵,是动平台的线速度和角速度到驱动关节之间的映射.

2.1.3 螺旋及其空间表达 机构的约束子矩阵和驱动子矩阵可以写成一个完整的 6×6 矩阵,即机构的完整雅克比矩阵螺旋表达式为

$$\mathbf{J}_w = \begin{bmatrix} (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_1} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{D}_{D_1}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{D}_{D_1}})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_2} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{D}_{D_2}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{D}_{D_2}})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_3} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{D}_{D_3}}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{D}_{D_3}})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_1} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_1\mathbf{Q}_1})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_2} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_2\mathbf{Q}_2})^T \\ (\overline{\mathbf{C}\mathbf{G}_3} \times \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3}))^T & \text{Unit}(\overline{\mathbf{G}_3\mathbf{Q}_3})^T \end{bmatrix} \quad (5)$$

2.2 机构奇异性判断

并联机构发生奇异的根本原因是,机构的各个分支作用在操作末端的力螺旋矢量线性相关,从而不能实现所要求的自由度.通过上面的分析,可以将机构的完整雅克比矩阵进行空间线图表达,而空间线性几何理论是研究空间矢量的线性相关性的系统理论^[7],可以判定机构在不同姿态下螺旋矢量表达的相关性.

当3-RSR 并联机构上下平台的转动轴线

不相互平行时,依据空间线性几何理论,用作图法可以表示出机构在运动过程一般位置时某一支链的约束反螺旋和驱动反螺旋(见图3和图4).

该方法使机构奇异性的空间表达更加直观,避免了繁琐的计算过程.同时,也为找出具有多种移动模式的并联机构在运动过程中的奇异性提供了一种新的思路.

3 固定模式下具有缩放平台的3-RSR 并联机构奇异性图解

根据式⑤画出机构约束反螺旋和驱动反螺旋在空间上的矢量表达.约束反螺旋可以看成

是节距 $h = 0$ 的线矢量,表示对机构的约束力;驱动反螺旋可以看成节距 $h = \infty$ 的偶量,表示对机构的约束力偶.根据文献[18]螺旋的相关性和相逆性结论,可得到3-RSR 并联机构在固定模式下5种情况(一般位置、3个球副完全重合、连接杆和上平台在同一平面、连接杆在空间两两平行、连接杆和驱动杆轴线重合)的约束反螺旋和驱动反螺旋的相关性,即机构的约束奇异和驱动奇异.5种情况的机构空间螺旋的表达如图5—9所示,具体分析过程如下.

情况一:当机构处于一般位置时,根据空间

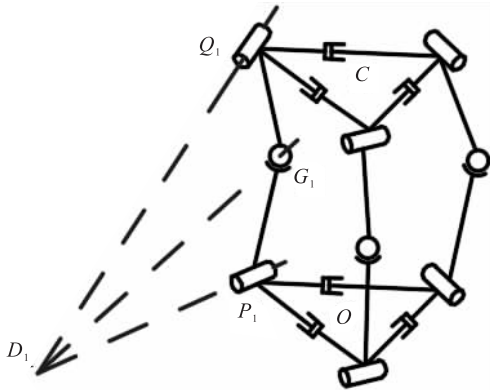


图3 约束反螺旋空间几何表达

Fig.3 The geometric representation of the constrained reciprocal screw space

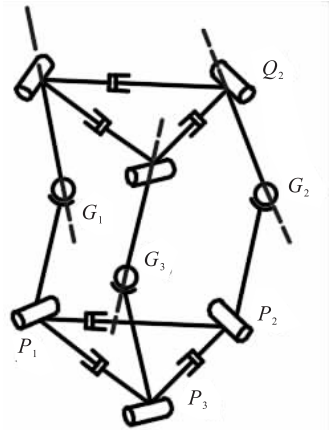
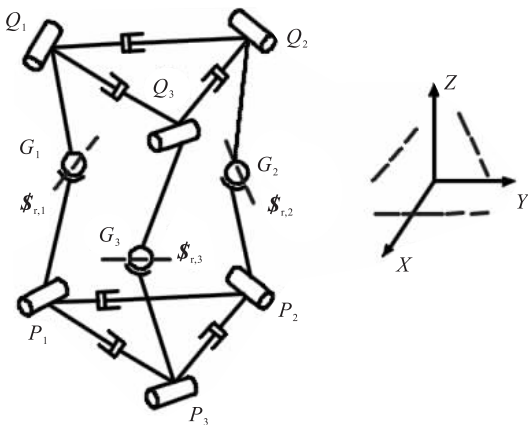
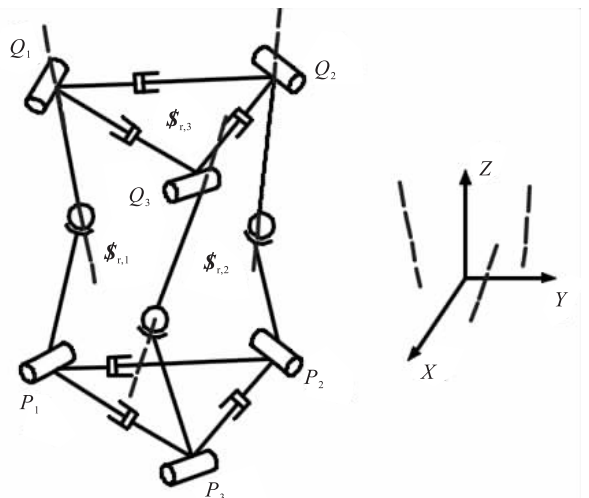


图4 驱动反螺旋空间几何表达

Fig.4 The geometric representation of the driving reciprocal screw space



a) 约束反螺旋空间表达



b) 驱动反螺旋空间表达

图5 一般位置下机构空间螺旋的表达

Fig.5 The expression of the space screw of the mechanism at a general position

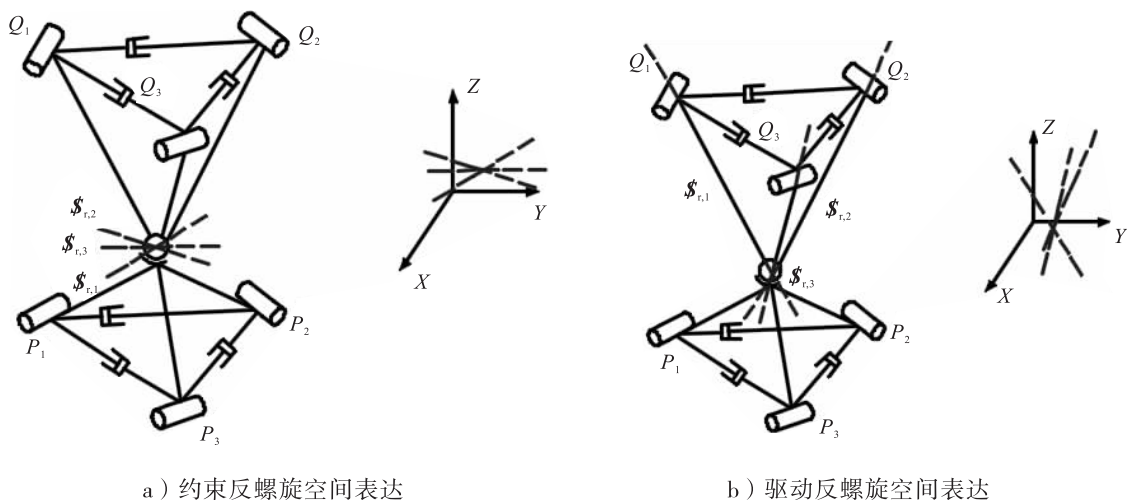


图6 3个球副完全重合时机机构空间螺旋的表达

Fig. 6 The expression of the space screw of the mechanism when the three spherical pairs are completely overlapped

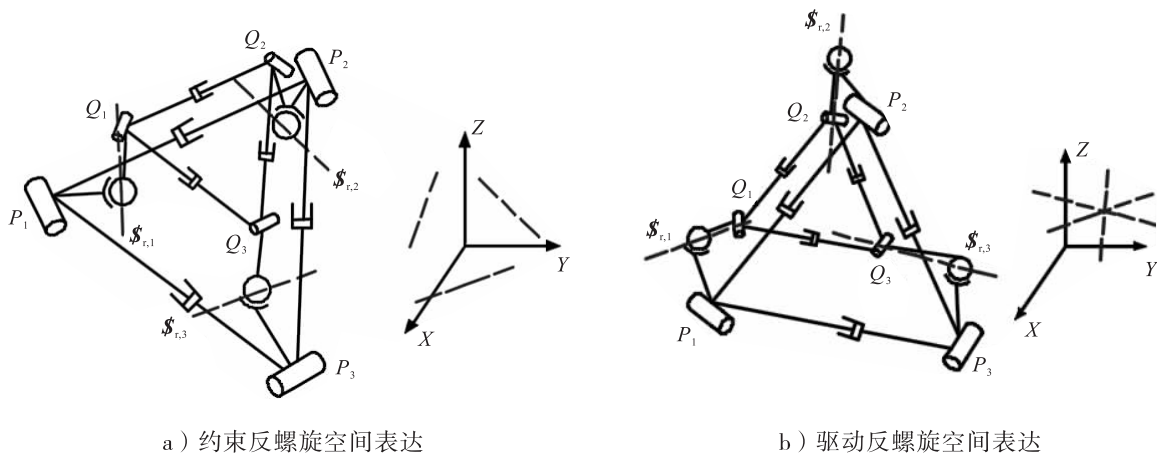


图7 连接杆和上平台在同一平面时机机构空间螺旋的表达

Fig. 7 The expression of the space screw of the mechanism when connecting rod and upper platform are in the same plane

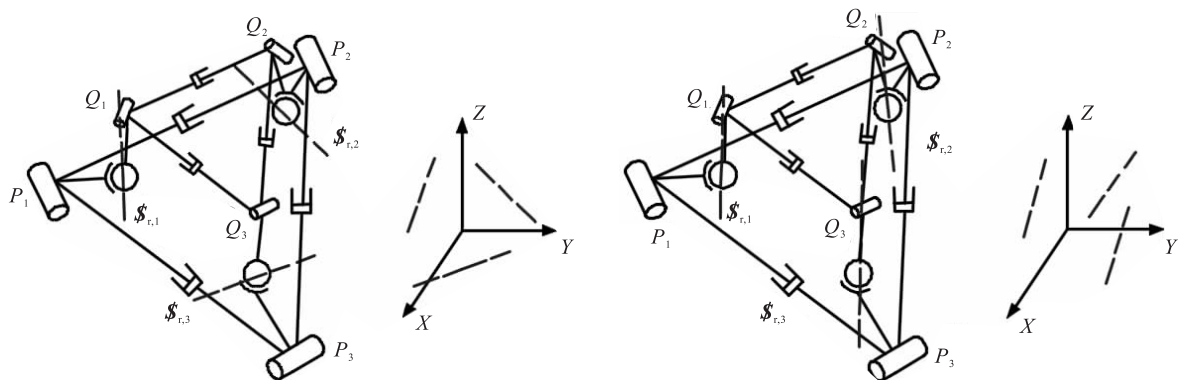


图8 连接杆在空间两两平行时机机构空间螺旋的表达

Fig. 8 The expression of the space screw of the mechanism when the connecting rod is parallel to each other

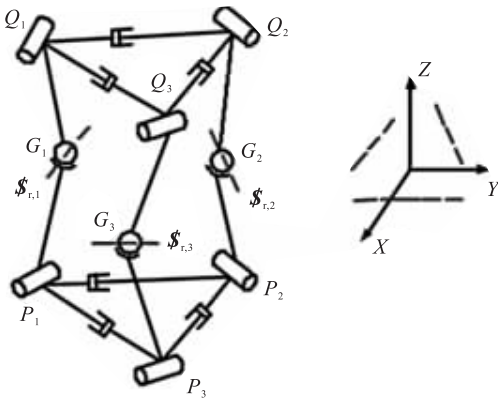


图9 驱动杆和连接杆轴线重合时机构空间螺旋的表达

Fig. 9 The expression of the space spiral of the mechanism when the axes of the driving rod and the connecting rod coincide

线性几何理论,空间线矢的最大线性无关数为3,偶量在空间任意情况的最大线性无关数为3.由图5可知,在一般模式下,机构的约束反螺旋和驱动反螺旋都线性无关,机构不存在约束奇异和结构奇异.

情况二:当机构的3个球副完全重合时,根据空间线性几何理论,空间3条线矢共面汇交一点,此时的最大线性无关数为2.由图6可知,3条约束反螺旋线性相关,产生约束奇异;3条驱动反螺旋为偶量,最大线性无关数为3,无结构奇异.

情况三:当3-RSR 并联机构连接杆和上平台在同一平面时,根据线几何理论,空间线矢的最大线性无关数为3,空间同一平面内的偶量最大线性无关数为2.由图7可知,机构3条支链的驱动反螺旋线性相关,机构不存在约束奇异,但存在结构奇异.

情况四:当机构的连接杆在空间两两平行时,根据空间线性几何理论,空间3条偶量相互平行的最大线性无关数为1.由图8可知,机构3条支链的驱动反螺旋线性相关,机构存在结构奇异,但不存在约束奇异.

情况五:当机构的驱动杆与连接杆轴线重合时,根据空间线性几何理论,空间线矢的最大线性无关数为3,此时机构不存在约束奇异;机构分支的驱动反螺旋不存在,机构存在结构奇异.

4 全姿态多运动模式移动 3-RSR 并联机构奇异性分析

在移动机构和移动机器人的设计中,充分利用并联机构平台与支链的运动关系,结合并联平台多操作模式的思想^[19],集成多种运动模式在一个移动并联机构上,让支链与平台均参与机构的滚动、步行、自穿越等运动,可形成全姿态多运动模式移动并联机构.

本文提出的全姿态多运动模式移动 3-RSR 并联机构由于自身结构特点,可实现多方向滚动、自穿越等模式^[5],但机构在实现这些运动模式时,驱动的选择与机构的奇异性尚不明确.机构在实现滚动运动和自穿越运动的过程中,每一次步态的转变可以把与地面相连接的杆件所形成的面看成是静平台,同时机构其他杆件的运动可以看成是动平台运动.基于这一思想,上文求出的 3-RSR 并联机构的 5 种奇异位形,可以为机构在全姿态移动过程中的每一次步态转换规避或利用奇异时选择最合适的关节或驱动杆提供理论依据.

4.1 滚动模式奇异性分析

图10为3-RSR 移动并联机构在滚动模式下一个周期的运动步态.根据上下平台在滚动过程中的位置,一个滚动周期可以分为7个位姿.其中 I—II, III—IV, V—VI 的位姿转换可以看作是固定模式下机构的运动.在 II—III, IV—V, VI—VII 的位姿转换中,机构结构保持不变,只有重心移动,在这个过程中没有奇异位形.

从步态1到步态2的运动过程如图11所

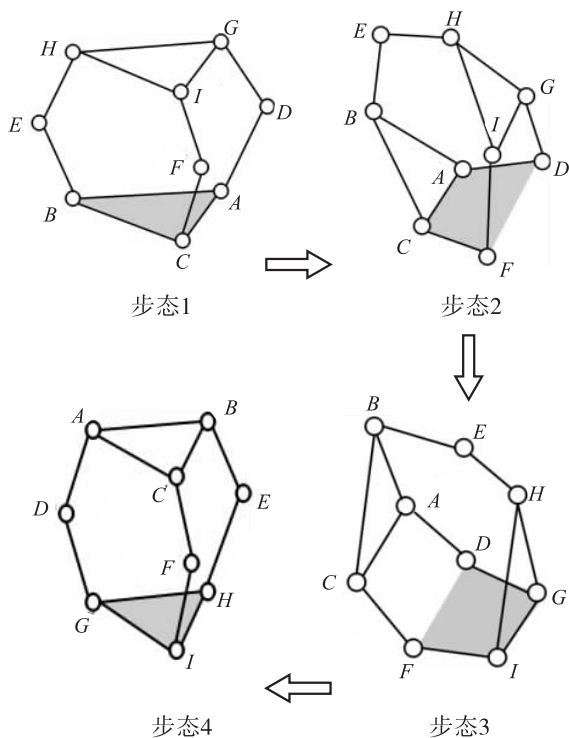


图 10 3-RSR 移动并联机构在滚动模式下
一个周期的运动步态

Fig. 10 One cycle motion gait of 3-RSR
moving parallel mechanism in rolling model

示.由图 11 可知,在步态 1 到步态 2 的运动过程中,机构在位姿 I 时以 A, B, C 3 点形成的平面为定平台,通过驱动杆 AD 和 CF 使得机构重心在地面上的投影落在平面 ABC 外.在重力作用下,机构滚动到位姿 II;锁定机构各杆,在重力作用下,机构保持固定形态,以 AC 杆为转动轴线,到达位姿 III.根据 3-RSR 并联机构在固定模式下的奇异位形分析可知,机构在图 11 的运动过程中无奇异位形.

步态 2 到步态 3 的运动过程如图 12 所示.由图 12 可知,在步态 2 到步态 3 的运动过程中,机构在位姿 III 时以 $ADCF$ 四点形成的平面为定平台,通过驱动杆 GD 和 IF 使得机构重心在地面上的投影落在平面 $ACFD$ 外,到达位姿 IV.在这个过程中,机构可能出现杆 BE 和杆 EH 共线的情况,从而出现奇异位形(见图 13).

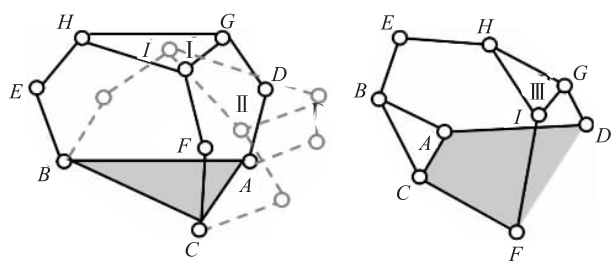


图 11 步态 1 到步态 2 的运动过程图

Fig. 11 Movement process diagram of gait 1 to gait 2

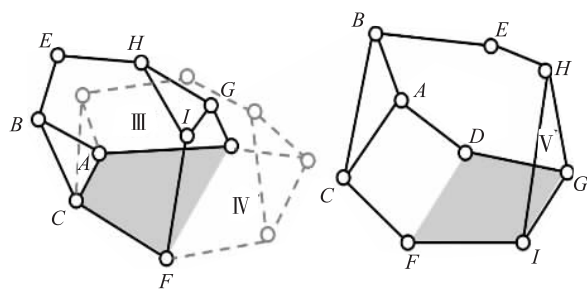


图 12 步态 2 到步态 3 的运动过程图

Fig. 12 Movement process diagram of gait 2 to gait 3

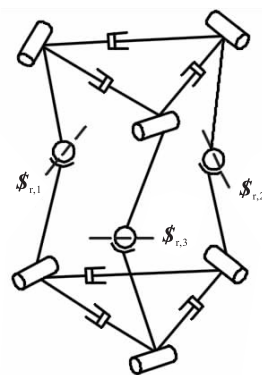


图 13 步态 2 到步态 3 出现的约束奇异位形

Fig. 13 Constraint singular configuration of gait 2 to 3

因此在这一过程中,选择杆 BE 和杆 EH 的电机作驱动,转动一定角度到达位姿 IV,然后锁定各驱动电机,机构以固定形态在重力的作用下绕杆 DF 转动到达位姿 V.

步态 3 到步态 4 的运动过程如图 14 所示.由图 14 可知,在步态 3 到步态 4 的运动过程中,机构在位姿 V 时以 $DFIG$ 四点形成的平面为定平台,通过驱动杆 AD 和 CF 上的电机,使机构重心在地面的投影落在平面 $DFIG$ 外,到

达位姿VI. 整个过程中未出现奇异位形,之后机构在重力的作用下绕着杆GI转动,到达位姿VII.

基于上述机构滚动模式中一个周期变化的分析可以发现,全姿态多模式移动3-RSR并联机构的滚动运动基于ZMP原理,即通过改变机构构型实现重心移动来实现某一方向的滚动.

每一个步态转换的实现可分为两个阶段:机构构型重心改变阶段和翻滚阶段. 在重心改变阶段,机构的一个平台与地面接触,此时机

构的上平台相对于下平台的运动可以看作传统固定平台下的机构运动模式,因此3-RSR并联机构在固定模式下的各种奇异位形在此运动模式下均适用;在因转移实现翻滚的阶段,机构构型是发生变化的,但重心相对于机构自身未发生改变,因此,在滚动模式中只需分析机构重心前移的过程. 分析滚动模式下可能出现的各种奇异位形,可为机构在全姿态移动过程中驱动电机的选择与利用提供理论依据.

4.2 自穿越模式奇异性分析

自穿越模式下一个周期的运动步态如图15所示. 该过程可以看作是上下平台的交替过程,选择合适的关节来驱动,以避免机构可能出现的奇异位形. 根据3-RSR并联机构在固定模式下的分析可知,自穿越模式下的奇异位形如图16所示.

步态1时机构处于图16a)所示的奇异位形,此时选择驱动杆BE,CF,AD的3个电机作

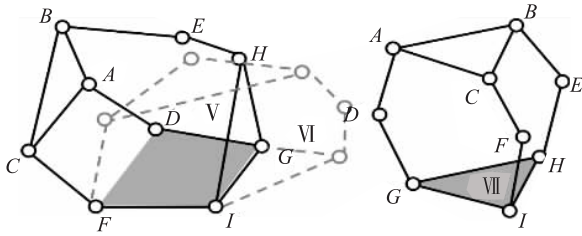


图14 步态3到步态4的运动过程图

Fig. 14 Movement process diagram of gait 3 to gait 4

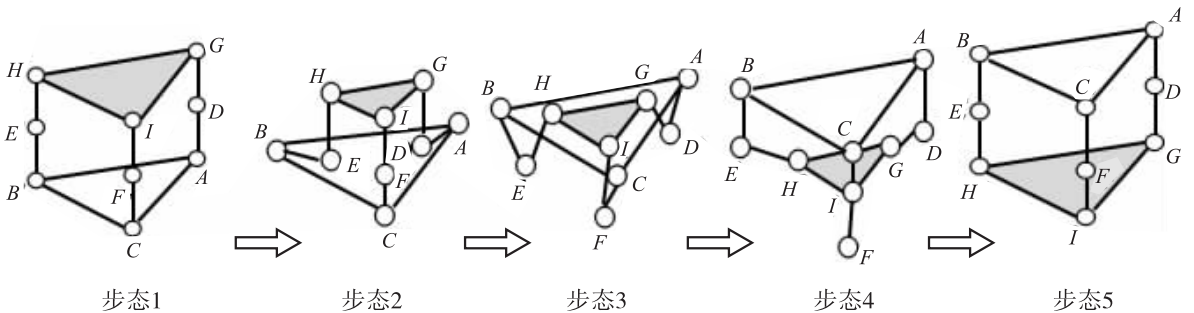


图15 自穿越模式下一个周期的运动步态

Fig. 15 A cycle motion gait in self-traversing mode

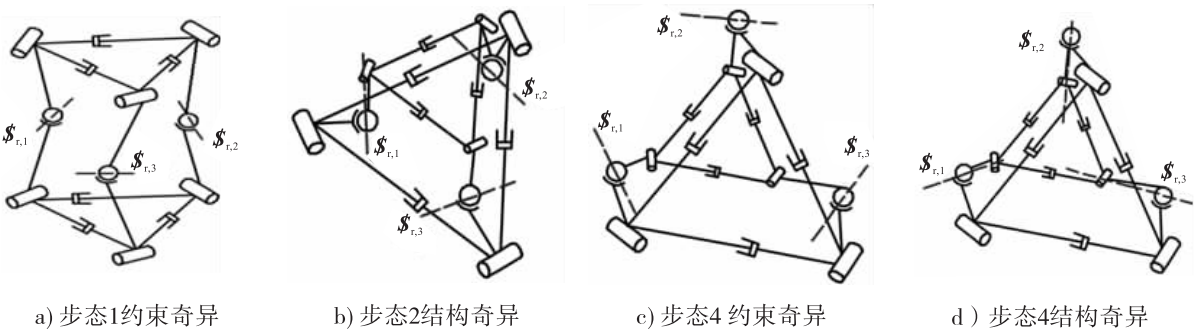


图16 自穿越模式下的奇异位形

Fig. 16 Singular configuration in the self-traversal mode

为驱动电机,上平台电机工作,同步收缩驱动杆 BE,CF,AD 向中心方向同步转动.其他杆件驱动锁定不变,机构可以很好地由步态1到达步态2.

在步态2时,机构处于结构奇异状态(见图16b)),此时选择驱动杆 BE,CF,AD 的3个电机工作,上下平台的电机和连杆电机均不工作,机构可从步态2到达步态3.

当机构运动到步态3时,根据3-RSR并联机构在固定模式下的各种奇异图解可知,机构无奇异位形,选择驱动杆 BE,CF,AD 的3个电机工作,上下平台的电机和连杆电机均不工作.

当机构运动到步态4时,机构产生约束奇异(见图16c)),此时由于驱动奇异,机构产生结构奇异(见图16d)).机构出现物理意义上的卡死现象,此时改变机构驱动,驱动杆3个电机锁死,选择连接杆 EH,FI,GD 的3个电机工作,上平台收缩到最小状态,此时机构通过连接杆的驱动到达步态5.

当机构运动到步态5时,由3-RSR并联机构在固定模式下的各种奇异图解可知,此时机构处于奇异位形,需要锁定所有的驱动,避免机构在此位形失稳.

在该模式下,机构的自穿越过程可以看成是上下平台交替与地面接触转换的过程.每一次当一个平台与地面接触、另一平台作相对运动时,机构的奇异位形与3-RSR并联机构在固定模式下的各奇异位形均可一一对应.机构在自穿越整个运动过程中,均需要利用特殊点的奇异位形,因而选择每一步态的驱动电机很关键,因为驱动电机的选择与分时控制均会影响到每一步态的实现.在自穿越运动的过程中,每一次姿态转换均需要考虑图16中列出的可能奇异位形.此外,通过选择机构驱动器和规划运动步态,还可以避免或利用这些奇异位形.

5 结语

本文采用螺旋理论、几何代数法和空间线性几何理论相结合的方法,对多模式移动3-RSR并联机构在运动过程中的奇异位形进行探索.通过几何代数法推导出机构的完整雅克比矩阵,结合空间线性几何理论的相关知识,对机构全姿态移动模式下的奇异位形进行分析,得出两种运动模式下机构奇异位形图.这种将机构雅克比矩阵运动螺旋进行空间线图表示,再通过线几何判断运动螺旋线图的相关性来确定机构奇异位形的方法,与其他研究方法相比,更加简便、直观,不需要大量计算,为机构驱动的选择与电机的分时控制提供了理论依据.更重要的是,该方法建立了并联机构拓扑机构与奇异位形的联系,通过适当的拓扑机构优化,可以得到主动避免奇异位形的并联机构,对改进奇异位形的并联机构设计具有指导意义.

参考文献:

- [1] 张帆. 并联机构特性分析与综合研究[D]. 上海: 东华大学, 2008.
- [2] PATNAIK L, UNHAND L. Kinematics and dynamics of Jansen leg mechanism: A bond graph approach[J]. *Simulation Modelling Practice & Theory*, 2016, 60:160.
- [3] RUSSO M, HERRERO S, ALTUZARRA O, et al. Kinematic analysis and multi-objective optimization of a 3-UPR parallel mechanism for a robotic leg[J]. *Mechanism & Machine Theory*, 2018, 120:192.
- [4] 苗志怀, 姚燕安, 孔宪文. 基于2-UPU+2-UU并联机构的两足步行机器人[J]. *机械工程学报*, 2014, 50(5):208.
- [5] 田耀斌. 多模式移动连杆机构理论研究[D]. 北京: 北京交通大学, 2015.
- [6] 高征, 高峰. 新型并联机器人的奇异位形分析

- [J]. 机械工程学报, 2008, 44(1): 133.
- [7] SODHI R S. A review of kinematic geometry of mechanisms[J]. Mechanism & Machine Theory, 1984, 19(2): 275.
- [8] MERLET J P. Singular configurations of parallel manipulators and grass Mann geometry [J]. International Journal of Robotics Research, 1988, 8(5): 194.
- [9] COLLINS C L, LONG G L. The singularity analysis of an in-parallel hand controller for force-reflected teleoperation[J]. IEEE Transactions on Robotics and Automation, 1995, 11(5): 661.
- [10] GOSSELIN C, ANGELES J. Singularity analysis of closed-loop kinematic chains[J]. IEEE Transactions on Robotics and Automation, 1990, 6(3): 281.
- [11] KUMAR V. Instantaneous kinematics of parallel-chain robotic mechanisms [J]. Journal of Mechanical Design, 1992, 114(3): 349.
- [12] VOGLEWEDE P A, EBERT-UPHOFF I. Over-arching framework for measuring closeness to singularities of parallel manipulators [J]. IEEE Transactions on Robotics, 2005, 21(6): 1037.
- [13] COLLINS C L, MCCARTHY J M. The quartic singularity surfaces of planar platforms in the Clifford algebra of the projective plane [J]. Mechanism & Machine Theory, 1998, 33(7): 931.
- [14] PARK F C, KIIVI J W. Singularity analysis of closed kinematic chains[J]. Journal of Mechanical Design, 1999. 121: 32.
- [15] PENDAR H, MANAMA M, ZOHOOR H. Singularity analysis of parallel manipulators using constraint plane method[J]. Mechanism & Machine Theory, 2011, 46(1): 33.
- [16] 陈文凯. 3-RSR 并联机器人运动学和动力学建模与仿真[D]. 上海: 华东交通大学, 2006.
- [17] MERLET J P. Singular configurations of parallel manipulators and Grassmann geometry [J]. Int Robotics Research, 1989, 8(5): 45.
- [18] 黄真, 赵永生, 赵铁石. 高等空间机构学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2014.
- [19] REFAAT S, HERVÉJ M, NAHAVANDI S, et al. Two-mode over-constrained three-dof rotational-translational linear-motor-based parallel-kinematics robot for machine tool applications[J]. Robotica, 2002, 25(4): 461.



引用格式:李云龙,罗国富,文笑雨,等. 基于混合遗传算法的云制造环境下柔性作业车间调度方案[J]. 轻工学报,2020,35(3):99-108.

中图分类号:F416.2;TH165 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.012

文章编号:2096-1553(2020)03-0099-10

基于混合遗传算法的 云制造环境下柔性作业车间调度方案

Flexible job shop scheduling in cloud manufacturing environment based on hybrid genetic algorithm

李云龙,罗国富,文笑雨,李凯,杨幸博,张俊豪

LI Yunlong, LUO Guofu, WEN Xiaoyu, LI Kai, YANG Xingbo, ZHANG Junhao

郑州轻工业大学 机电工程学院/河南省机械装备智能制造重点实验室,河南
郑州 450002

College of Mechanical and Electrical Engineering/He'nan Provincial Key Laboratory of Intelligent Manufacturing of Mechanical Equipment, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China

关键词:

云制造; 剩余能力; 柔性作业车间调度; 混合遗传算法

Key words:

cloud manufacturing;
surplus capacity;
flexible job shop
scheduling; hybrid
genetic algorithm

摘要:针对云制造环境下柔性作业车间调度产生的离散型加工设备的空闲时间利用及其冲突问题,提出了一种基于混合遗传算法的云制造环境下柔性作业车间调度方案:在保证车间任务顺利完成的前提下,对车间剩余能力进行界定后封装发布到云平台上;以最小惩罚总成本为目标,结合车间生产调度实际情况选择云订单任务一起加工;采用遗传变邻域混合算法求解云任务工件最优调度顺序.基准算例测试结果表明,该方案实现了车间自身生产任务和云平台任务协同生产,提高了企业的收益和资源利用率.

收稿日期:2019-08-30

基金项目:国家自然科学基金项目(51905494);郑州轻工业大学硕士科技创新基金项目(2018015)

作者简介:李云龙(1993—),男,河南省周口市人,郑州轻工业大学硕士研究生,主要研究方向为数字化设计与制造.

通信作者:罗国富(1963—),男,河南省禹州市人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为CAD/CAM,敏捷制造,企业信息集成,MRP II/ERP/MES软件开发等.

Abstract: Aiming at the problem of idle time utilization and conflict of discrete processing equipment generated by flexible job shop scheduling in cloud manufacturing environment, a flexible job shop scheduling scheme in cloud manufacturing environment based on hybrid genetic algorithm was proposed. Under the premise of ensuring the smooth completion of workshop tasks, the residual capacity of the workshop was defined and then packaged and released to the cloud platform. Taking the minimum penalty total cost as the goal, combined with the actual situation of workshop production scheduling, the cloud order tasks were selected to process together, and the genetic variable neighborhood hybrid algorithm was used to solve the optimal scheduling sequence of cloud tasks, and the optimal scheduling scheme was formulated. The benchmark test results showed that the scheme realized the collaborative production of workshop production tasks and cloud platform tasks, and improved the enterprise's revenue and resource utilization.

0 引言

云制造是一种新兴的面向服务的业务模型,它集成了分布式制造资源,将其转换为制造服务,并集中管理服务^[1].它利用信息技术将制造资源集中,为需求者和资源提供者建立了一个公共资源服务平台^[2],允许多个用户将其需求任务提交到云制造平台,同时请求服务.

对大多数云制造企业而言,企业的生产任务不仅包括车间正在进行的生产任务,还包括从云平台选择接受的生产任务.与大多数制造企业生产特点相同,云制造生产任务同样具有多品种、小批量的特点,云制造环境下也多涉及柔性作业车间问题.由于柔性作业车间的离散型生产特点,车间生产任务在进行生产计划安排和初始调度后,车间的生产设备会存在空闲时间段,此时的机器设备处于等待下一个工件加工的待机空闲状态,这种车间生产加工的剩余能力,不可避免地给企业造成一定的生产资源浪费^[3].于是,如何将车间本身的生产任务与接受的云平台任务进行合理调度,充分利用车间设备的剩余能力,使企业利益最大化,便成为云制造企业亟待解决的问题^[4].

目前,国内外的业内专家对于云制造的研究大多集中在云平台的制造资源分类和优化匹配等方面,而对于云制造环境下企业车间级的生产调度问题鲜有人研究.文献[4]提出了一

种确定工序加工时间序列的方法,以设计更新策略求解具有空闲时间段的车间调度问题,在进行基于工件的编码设计时,采用精简编码方法,以改进二阶粒子群算法来求解工件最优调度顺序.但该方法只针对作业车间最基本的调度情况,对于复杂的柔性作业车间的调度问题探讨得不够深入.文献[5]针对柔性作业车间调度问题提出了一种染色体编码方法,有效地改进了遗传算法求解柔性作业车间的调度问题,但该方法仅适用于车间级的生产情况,并没有考虑云制造复杂环境下具有空闲时间段的车间调度问题.文献[6]基于工序的编码设计,提出了一种新的POX交叉算子,该方法通过改进传统的遗传算法能够更有效地求解作业车间调度问题,较其他交叉算子更高效.但是该方法局限性较强,面向对象比较单一,对于柔性作业车间问题的考虑不够全面.文献[7]通过传统蚁群算法来求解车间剩余能力,试图解决云制造企业车间空闲设备的利用问题,但得出的优化结果不够理想,不易获得高质量的调度解.

鉴于此,本文拟在分析云制造环境下柔性作业车间调度问题新特点的基础上,针对云制造企业生产车间剩余能力的利用问题,提出一种基于混合遗传算法的云制造环境下柔性作业车间调度方案,以期在保证车间初始调度任务顺利进行的同时,充分利用生产设备的空闲时间段,为云制造企业车间生产的科学调度与资

源的合理利用提供技术参考。

1 云制造环境下柔性作业车间调度问题描述

1.1 问题特点

在云制造环境下,企业在进行车间自身生产任务的同时,将车间机器设备的剩余能力封装发布到云平台上,以寻求更多合适的生产任务,提高企业本身的收益和设备利用率.云制造服务平台的虚拟资源池中不仅有生产企业提供的制造资源,还有客户提出的服务请求.云平台根据企业的生产能力和客户的服务需求进行供需智能匹配调度,并将匹配的结果反馈给企业和客户,使企业的柔性作业车间能够对云平台反馈的结果进行生产调度.

但是云制造企业在调度来自云平台的生产任务时,还需考虑车间本身正在进行的调度任务,这种云制造环境下柔性作业车间调度产生的新特点,给传统的车间生产调度带来了新的问题.柔性作业车间生产特点如图1所示.传统制造企业的柔性作业车间在开始进行生产任务之前,机器都处于空闲状态,可以在任意时刻选择相应机器进行加工任务,只要能够保证完成生产任务即可.但是选择接受云平台的任务订

单后,企业在进行车间本身生产任务的同时还要安排云平台订单,这就要考虑两种调度任务产生的机器冲突、时间冲突等问题,从图1所示云制造企业柔性作业车间可以看到,机器 M_1 , M_2 , M_3 在阴影部分时间内要进行车间本身的生产任务,那么从云平台接受的生产任务就不能在这些被锁定的时间段内进行,这就给传统的柔性作业车间的调度带来了新的挑战.

1.2 问题分析

云制造企业将车间设备的剩余能力封装发布到云平台上,接受云平台反馈的客户订单任务,将其与车间本身下达的任务一起安排加工,虽然提高了企业设备资源的利用率,但是也很可能会导致云平台的任务无法按时完成,产生惩罚成本.

不同车间任务加工甘特图如图2所示(图中阴影部分为已经被车间生产任务占用的时间段).由图2b)可以看出,由于车间任务的工序占用加工机器,当进行云任务加工时,在加工机器 M_1 和 M_3 上的开始时间和结束时间不能落在已经被车间本身任务锁定的时间区间内,需满足云平台任务加工工序的开始时间大于被锁定时间区域的结束时间,或者云任务加工工序的结束时间小于被锁定的时间区域的开始时间.

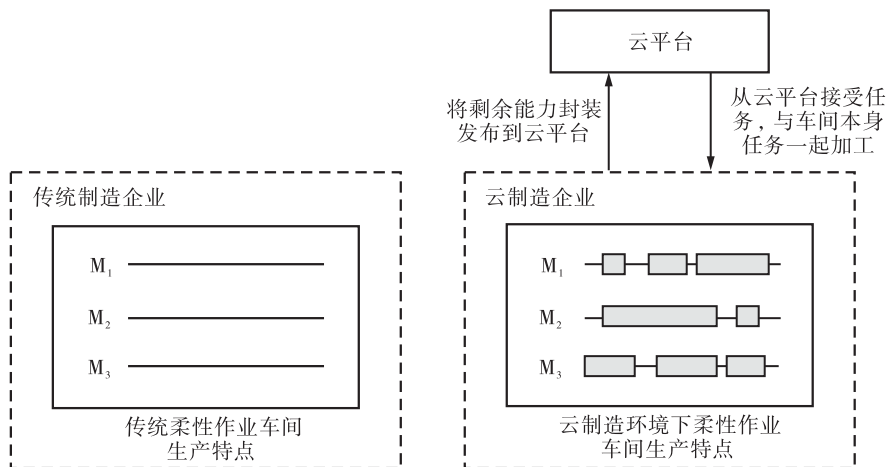


图1 柔性作业车间生产特点

Fig. 1 Characteristics of flexible job shop production

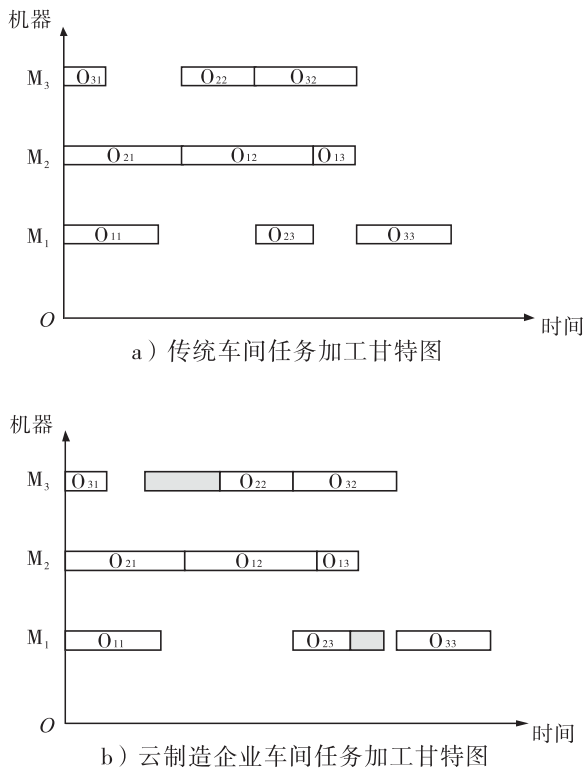


图2 不同车间任务加工甘特图

Fig.2 Gantt chart of different workshop task processing

这样,云平台任务最后的完工时间会延后甚至拖期.但若接受云平台任务最后的收益大于惩罚成本,那么企业仍存在收益,这对企业的经济增长和资源的合理利用具有一定意义^[7].

1.3 问题的数学模型

建立云订单的拖期惩罚成本目标函数:

$$G = \min \left[e_i \sum_{i=1}^n \max(0, c_i - d_i) \right]$$

其中, e_i 为惩罚系数, c_i 为完工时间, d_i 为交货期, n 为工件个数.

云制造环境下柔性作业车间调度问题描述为:车间本身正在进行的加工任务,有 n 个工件,要在 m 台机器上进行加工,每个加工工件都包括一道或多道加工工序,而每道工序都能够不止一台加工机器上进行,但是不同机器加工同一道工序所需的加工时间不同^[8].求解该问题时还需要以下假设条件:

- 1) 一台机器在同一时刻仅可以处理一道工序;
- 2) 各个工件之间具有一样的优先级;
- 3) 各个工件的工序彼此不存在相互制约的关系;
- 4) 每个工件的工序都是确定的,且有先后约束,即任意一道工件的前一道工序加工完成后,才能进行下一道工序的加工;
- 5) 在云平台上接受的订单任务的最后收益要大于因拖期而产生的惩罚成本;
- 6) 云平台接受任务的各个工序在相应加工机器上的开始时间和结束时间均不能落在已经被车间自身任务锁定的时间区间内^[7].

2 云制造环境下柔性作业车间调度问题解决方案

基于以上分析,本文提出云模式下面向车间级的调度框架,对车间剩余能力进行界定后封装发布到云平台上,并选择接受合适的云订单.根据车间本身正在进行的生产任务确定云订单生产任务各工序的开始时间和结束时间,得出合理而高效的调度方案,最后提出遗传变邻域混合算法来求解工件最优调度顺序.

2.1 调度框架构建

对云平台任务进行合理调度的前提是优先保证车间自身任务顺利完成,基于该原则,构建云制造企业柔性作业车间调度框架(如图3所示),具体步骤如下.

步骤1 云制造企业按照柔性作业车间自身的生产任务制定初始调度方案,并通过对机器设备的能力分析和调度分配,确定车间的剩余生产能力,将其封装发布到云平台上^[4].

步骤2 云平台接收并储存云制造企业车间设备的生产能力后,结合已上传云订单的需求方任务要求进行匹配和调度,得到符合供需双方要求的匹配结果.

步骤3 云制造企业接受云订单任务后,

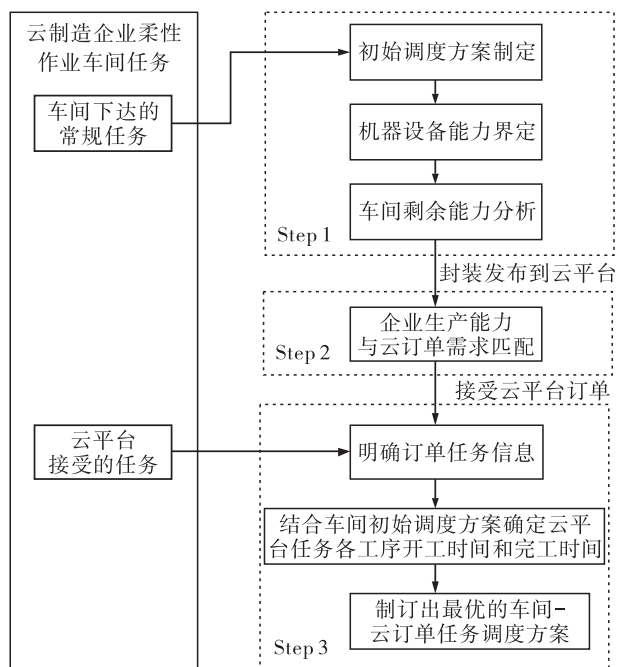


图3 云制造企业柔性作业车间调度框架

Fig.3 Flexible job shop scheduling framework of cloud manufacturing enterprise

明确工件调度顺序与各工序开工时间和完工时间,结合车间自身正在进行的常规生产任务调度方案,制订出最优的车间-云订单任务调度方案^[8]。

2.2 邻域结构确定

柔性作业车间调度问题 FJSP (flexible job shop scheduling problem) 是较为复杂的 NP-hard 问题,求解难度比较大。目前,多采用遗传算法、变邻域搜索算法等启发式算法来求解柔性作业车间调度优化问题。遗传算法通过选择、交叉、变异等操作,实现对调度解的全局搜索,但其本身也容易陷入局部解和早熟。而变邻域搜索算法在搜索过程中,通过采用不同的邻域结构,使算法具有较强的局部搜索能力,可以避免最终的结果陷入局部最优解,但全局搜索能力不及遗传算法。采用单一的算法求解柔性作业车间调度问题都有一定的局限性,不易获得高质量的调度解。本文将变邻域搜索算法嵌入遗传算法中,使混合算法同时具有较强的全局搜索能

力和局部搜索能力,以提高求解柔性作业车间调度问题的速度和调度解的质量。

邻域结构为变邻域搜索算法提供搜索的方向,在搜索过程中采用不同的邻域结构可以有效地避免陷入局部最优解,是实现变邻域搜索算法的关键。

2.2.1 关键路径 由于关键路径的长短决定了最大完工时间,因此,大多数邻域结构都是基于关键路径设计的。关键路径的确定方法^[9]为:从完工时间最大的工序开始向前查找相连接的工序,当某一工序 w 的开工时间与工序前续工序 $JP[w]$ 和机器前续工序 $JS[w]$ 的完工时间相等时,取工序 w 的工序前续工序 $JP[w]$ 为关键工序,最后得到调度解的关键路径。

2.2.2 跨机器移动工序的邻域结构 本文采用基于机器空闲时间的关键工序移动策略,在空闲时间段 $[c^E(JP[w]), s^L(JS[w])]$ 内,关键工序 w 的机器空闲时间有两种情况:一是关键工序 w 在其他可选加工机器上的空闲时间;二是关键工序 w 在已选加工机器上的空闲时间。而本文采用的跨机器移动工序是对第一种机器空闲时间的利用。对关键工序 w 的跨机器邻域操作如图4所示,其中, x 和 y 为相邻的两道工序,关键工序 w 可以选择 x 和 y 所在的机器进行加工,且关键工序 w 在该机器上的加工时间为 $t(w)$ 。关键工序 w 跨机器移动后,最大完工时间是否缩短,与工序组 (x, y) 的空闲时间有关。工序组 (x, y) 的空闲时间段 $[c^E(x), s^L(y)]$ 与关键工序 w 的空闲时间段 $[c^E(JP[w]), s^L(JS[w])]$ 的交集大于 $t(w)$ 时,关键工序 w 跨机器移动到工序组 (x, y) 之间,才能缩短最大完工时间^[10],即关键工序 w 的跨机器移动条件为

$$[c^E(x), s^L(y)] \cap [c^E(JP[w]), s^L(JS[w])] > t(w)$$

由图4可知, $t(w) = 2$, $[c^E(x), s^L(y)] \cap [c^E(JP[w]), s^L(JS[w])] = 3 > t(w)$,说明可

以将关键工序 w 移动到工序组 (x, y) 之间. 对于工序组 (a, b) , 有:

$$[c^E(a), s^L(b)] \cap [c^E(JP[w]), s^L(JS[w])] = 2 = t(w)$$

对于工序组 (e, f) , 有:

$$[c^E(e), s^L(f)] \cap [c^E(JP[w]), s^L(JS[w])] = 1 < t(w)$$

因此, 无论是将关键工序 w 移动到工序组 (a, b) , 还是工序组 (e, f) , 都不能缩短最大完工时间.

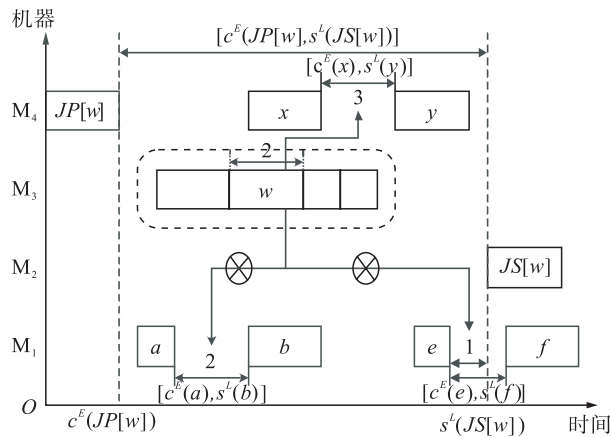


图4 跨机器移动工序邻域操作示意图

Fig. 4 Schematic diagram of neighborhood operation of cross-machine moving process

2.2.3 同机器移动工序的邻域结构 对于同一台机器上的工序移动, 本文采用邻域结构, 该结构同样是基于关键路径上的关键块进行操作的, 具体的操作步骤如图5所示^[11]. 由图5可以看出, 若第一个关键块有两道以上的关键工序, 那么仅交换块尾的两道工序; 若最后一个关键块有两道以上的关键工序, 那么仅交换块首的两道工序; 若它们只有两道关键工序, 那么仅交换这两道工序; 其他的关键块既要交换块首的两道工序, 又要交换块尾的两道工序; 若进行交换的两道工序属于同一个工件, 则不进行任何操作; 若关键块中只有一道关键工序, 则不进行任何操作.

2.3 混合遗传算法设计

2.3.1 染色体编码和解码 遗传算法实现过程中首先要解决的问题是编码方式的选用, 本文采用文献[12]的染色体编码方法, 由工序排序和机器选择两部分共同构成一条染色体, 工序排序部分确定工件的工序排列顺序, 机器选择部分确定每道工序对应的加工机器. 云制造环境下柔性作业车间调度问题的染色体编码如图6所示, 其中染色体长度是12, 前部分染色体为工序排列, 后部分染色体为机器选择, 染色体长度为总工序数的2倍. 工序染色体为[2 3 3 1 2 1], 其中2个“1”表示工件的两个工序, 第一个“1”表示工件 I_1 的工序 O_{11} , 第二个“1”表示工件 I_1 的工序 O_{12} , 因此, 每个工件的工序加工顺序为 $O_{21} \rightarrow O_{31} \rightarrow O_{32} \rightarrow O_{11} \rightarrow O_{22} \rightarrow O_{12}$; 机器染色体为[3 5 2 4 1 2], 表示工序 O_{11} 的加工机器是 M_4 , 工序 O_{12} 的加工机器是 M_6 , 工序 O_{21} 的

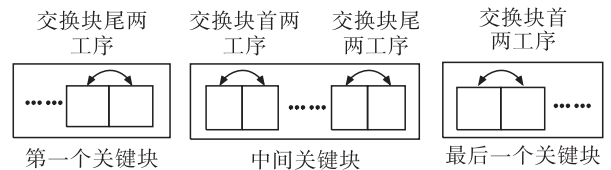


图5 同一机器移动工序邻域操作示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the neighborhood operation of the same machine moving process

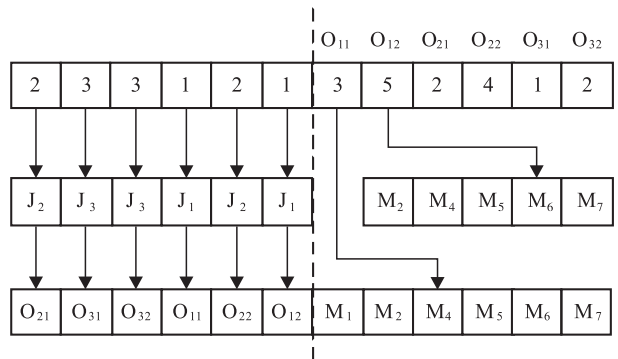


图6 云制造环境下柔性作业车间调度问题的染色体编码方案

Fig. 6 Chromosome coding scheme for flexible job shop scheduling in cloud manufacturing environment

加工机器是 M_2 , 工序 O_{22} 的加工机器是 M_5 , 工序 O_{31} 的加工机器是 M_2 , 工序 O_{32} 的加工机器是 M_5 .

本文采用一种插入式贪婪解码方法进行求解^[13]:先按照染色体上工序顺序安排和加工机器选择结果进行解码,加工染色体上的第一道工序;再确定已选加工机器的最佳开始时间,将染色体上的第二道工序插入其中;以此类推,将染色体上的所有工序都插入到合适位置.

2.3.2 适应度函数选取 适应度函数一般由目标函数线性变换得到,它直接影响算法性能的好坏.本文采用基于排序的适应度分配规则(ranking 函数)分配适应度值,最大完工时间(C_{max})越小,个体的适应度值越大.

2.3.3 选择操作 选择操作是将适应度值高的个体以一定的概率遗传到子代,其作用是避免有效基因的缺失,使高性能的基因遗传到子代的概率更大,从而提高算法的全局收敛能力和运算效率.本文采用轮盘赌法(rws 函数)来进行选择操作,假设种群的个数为 N ,个体 i 的适应度值为 f_i ,则个体 i 的选择概率为

$$P_i = f_i / \sum_{k=1}^N f_k$$

在确定了个体的选择概率后,被选择的个体由产生 $[0, 1]$ 之间的均匀随机数来决定.个体的选择概率大,就会有更多的机会被多次选中,那么这些个体的遗传基因就会在种群中扩大;个体的选择概率小,则会增大被淘汰的概率.

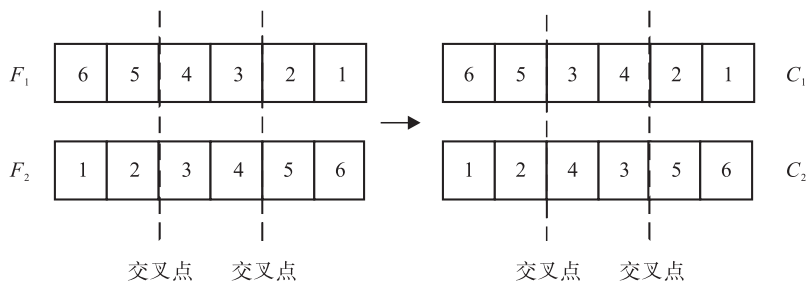


图8 机器选择部分的交叉操作结果

Fig.8 Cross operation results of machine selection part

2.3.4 交叉操作 交叉操作在遗传算法中的作用非常重要,交叉操作可以挑选种群中质量较好的基因并将其保留下来;通过基因的交叉重组同样能够产生新的个体,令遗传算法具备较好的全局搜索能力.本文采用两种交叉方式:一是基于工序排序的交叉操作;二是基于机器选择的交叉操作.

工序排序部分的交叉操作如图7所示,其过程描述^[14]为:首先随机将工件集合分成两个子集 G_1 和 G_2 ;然后将父代 F_1 中包含的子集 G_1 复制到子代 C_1 中相同的位置,将父代 F_2 中包含的子集复制到子代 C_2 中相同的位置;最后将父代 F_1 中包含的子集 G_1 填充到子代 G_2 中空缺的位置,父代 F_2 中包含的子集 G_2 复制到子代 C_1 中空缺的位置,基因顺序不变.

机器选择部分的交叉操作如图8所示,其过程包括^[15]:先随机选定机器染色体中的两个交叉点,再将父代 F_1, F_2 相对应位置的染色体基因相互交换,保持其他机器的工序加工顺序不变,直到整个交叉操作全部完成.

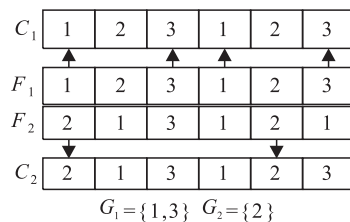


图7 工序排序部分的交叉操作

Fig.7 Cross operation of operation sequencing

2.3.5 变异操作 本文采用一种简单有效的染色体变异方式,变异操作分两步^[16]:第一步,在工序排序部分的染色体中随机选取多个基因并将其互换位置,工序排序部分染色体的编码方式可以避免变异后无效解的产生;第二步,在机器选择部分的染色体中随机选取要变异的基因,集中在相应工序的可选加工机器中,替换原来的加工机器,并且保证选取的机器与原来的加工机器不同。

2.3.6 混合遗传算法流程 混合遗传算法流程如图9所示,其具体步骤如下。

步骤1 进行参数设置。

步骤2 进行初始化,随机产生 N 个个体。

步骤3 主动解码,计算和评价种群中个体的适应度值。

步骤4 若迭代次数达到设定的值,则终止运算并输出结果;否则执行步骤5。

步骤5 执行选择操作,用轮盘赌的方法产生子代种群。

步骤6 执行交叉操作。

步骤7 执行变异操作。

步骤8 主动解码,计算和评价个体适应度值,确定关键工序和关键路径。

步骤9 对种群中20%的个体进行变邻域搜索求得较优解,将较优的个体取代当前较差的个体;否则,保持原本个体不变。

步骤10 生成新种群,再执行步骤3。

3 实验结果与分析

为了验证本文混合遗传算法的有效性,采用 C++ 编程语言编写了算法的实现代码,运行环境:处理器为 Intel(R) Core(TM) i5-4590 CPU @ 3.30 GHz,内存(RAM)为 8.00 GB. 实验参数设置如下:初始种群规模 400—1200;最大迭代次数 200—800;交叉概率 0.8;变异概率 0.02~0.3;选取 Brandimarte 标准算例和 Kacem 标准算例(共 16 个标准算例)进

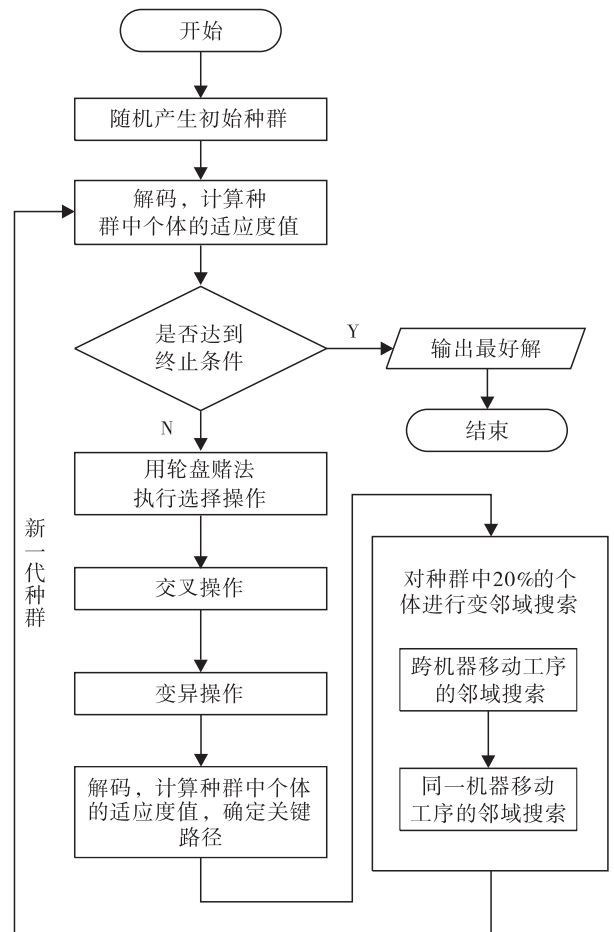


图9 混合遗传算法流程图

Fig. 9 Flow chart of hybrid genetic algorithm

行测试;安排 n 个工件在 m 台机器上进行加工($n = 4, 5, \dots, 20, m = 4, 5, \dots, 15$);为防止完工时间过早或过晚而产生滞留惩罚成本或拖期惩罚成本,设置合适时间上下限. 将本文算法与文献[4]算法、文献[6]算法和文献[7]算法进行对比,它们的 Brandimarte 和 Kacem算例结果见表1.

由表1可知,本文算法在求解 MK1—MK16 这 16 个算例时,结果更为理想,最大完工时间 C_{\max} 接近或达到历史最优解,其中 MK1—MK3 和 MK8—MK16 这 12 个算例达到历史最优解;MK4—MK7 这 4 个算例接近历史最优解,与其他 3 种算法相比,本文算法的平均相对误差最小,仅为 1.34%. 这表明,本文算法优化效果更为明显,容易求得最优解。

表1 不同算法的 Brandimarte 和 Kacem 算例结果

Table 1 Example results of Brandimarte and Kacem of different algorithms

算例	n 个工件 \times m 台机器	时间下 限/min	时间上 限/min	$C_{best}/$ min	文献[4]算法		文献[6]算法		文献[7]算法		本文算法	
					$C_{max}/$ min	相对 误差/%	$C_{max}/$ min	相对 误差/%	$C_{max}/$ min	相对 误差/%	$C_{max}/$ min	相对 误差/%
MK1	10 \times 6	36	42	40	40	0.0	40	0.0	40	0	40	0.0
MK2	10 \times 6	24	32	26	26	0.0	26	0.0	27	3.7	26	0.0
MK3	15 \times 8	204	211	204	204	0.0	214	4.9	204	0	204	0.0
MK4	15 \times 8	48	81	60	68	13.0	65	8.3	64	6.7	62	3.0
MK5	15 \times 4	168	186	173	172	0.0	179	3.9	175	1.8	174	1.1
MK6	10 \times 15	33	86	58	60	5.3	58	1.8	65	14.0	63	5.0
MK7	20 \times 5	133	157	144	139	0.0	145	4.3	144	3.6	145	4.3
MK8	20 \times 10	523	625	523	523	0.0	523	0.0	523	0	523	0.0
MK9	20 \times 15	299	369	307	307	0.0	307	0.0	309	0.7	307	0.0
MK10	20 \times 15	165	296	198	206	9.6	197	4.2	234	23.8	198	0.0
MK11	4 \times 6	17	17	17	17	0.0	17	0.0	17	0	17	0.0
MK12	6 \times 6	33	33	33	33	0.0	33	0.0	33	0	33	0.0
MK13	6 \times 10	44	44	44	44	0.0	44	0.0	44	0	44	0.0
MK14	8 \times 8	14	14	14	14	0.0	14	0.0	14	0	14	0.0
MK15	10 \times 10	7	7	7	7	0.0	7	0.0	7	0	7	0.0
MK16	15 \times 10	11	11	11	11	0.0	11	0.0	11	0	11	0.0
平均相对 误差/%						1.74		1.71		3.39		1.34

为了验证应用本文算法求解云制造环境下的柔性作业车间调度产生的新问题的有效性,设定调度的初始时间从0开始,即车间从时间0开始加工工序,并设定5~10 min时间段内,机器 M_2 被车间常规任务锁定,不能用于加工云订单任务;在时间段20~30 min内,机器 M_4 被车间常规任务锁定.实验参数设置交货期时间为90 min,云平台上的收益 $P=0.5$,拖期惩罚成本 $C=0.1$,工件数为10,工序数为6,机器数为6.分别运行本文算法、文献[12]算法和文献[13]算法100次后,得到实验平均解分别为101 min,105 min,103 min,得到最优解分别为96 min,100 min,98 min.由此可见,用本文算法求解云制造环境下柔性作业车间问题更为高效,且有效解决了对云订单进行生产调度安排需要避开被锁定时间段的问题,虽然云订单任务完工时间大于给定的交货期,但云订单上的收益 P 大于惩罚成本 C ,表明企业是有收益的.

4 结语

本文针对云制造环境下柔性作业车间调度产生的离散型加工设备的空闲时间利用及自身任务与云平台任务冲突问题,构建云制造作业车间调度框架,建立了以云订单拖期产生的最小惩罚成本为优化目标的数学模型,设计了最小拖期惩罚成本的目标函数,提出了一种基于混合遗传算法求解机器被占用情况的车间调度方法.该方法将云平台上接受的生产任务与车间下达的常规任务一起进行,采用了基于工序排序的编码方法和基于机器选择的编码方法,在进行云任务调度设计时避开被车间自身任务所占用的时间段,求解工件最优调度顺序,保证云订单收益大于拖期产生的惩罚成本.通过基准算例进行测试,验证了所提方法的可行性和高效性.

该研究充分利用机器设备的空闲时间,合

理调度接受的云平台生产任务,实现车间自身生产任务和云平台任务协同生产,提高了企业的收益和资源利用率,为云制造环境下柔性作业车间调度问题提供了一种新的解决思路,对云制造企业的经济增长和资源合理利用具有重要意义.今后将会考虑加入多个目标函数研究云制造环境下柔性作业车间调度问题,并进一步改进算法设计出更有效的多目标优化方法.

参考文献:

- [1] 许春安,李芳.面向云制造服务的制造资源优化配置研究[J].工业工程,2019,22(3):44.
- [2] 李鹏飞,李海波.云制造环境下基于功能需求的资源发现方法[J].微型机与应用,2014,33(8):71.
- [3] XU X. From cloud computing to cloud manufacturing [J]. Robotics and Computer-Integrated Manufacturing,2012,28(1):75.
- [4] 王贞,张纪会,齐元青.具有空闲时间的云制造作业车间调度方法[J].控制与决策,2017,32(5):811
- [5] 张国辉,石杨.基于改进遗传算法求解柔性作业车间调度问题[J].机械科学与技术,2011,30(11):1890.
- [6] 张超勇,饶运清,刘向军,等.基于POX交叉的遗传算法求解Job-Shop调度问题[J].中国机械工程,2004(23):83.
- [7] 何林燕.云制造环境下柔性作业车间调度算法的研究[D].哈尔滨:哈尔滨理工大学,2017.
- [8] 王超.基于混合遗传禁忌搜索算法的多目标柔性作业车间调度问题研究[D].重庆:重庆大学,2012.
- [9] NORMAN B A, BEAN J C. Random keys genetic algorithm for job-shop scheduling[J]. Engineering Design & Automation,1997,3(2):145.
- [10] 刘志虎.基于改进蚁群算法的柔性车间调度研究[D].芜湖:安徽工程大学,2016.
- [11] 杜文丽,原亮.遗传算法的特点及应用领域研究[J].科技信息(科学教研),2008(10):31.
- [12] 高亮,张国辉,王晓娟.柔性作业车间调度智能算法及其应用[M].武汉:华中科技大学出版社,2012.
- [13] GEN M, TSUJIMURA Y, KUBOTA E. Solving job-shop scheduling problems by genetic algorithm [C] // Proceeding of IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics. Piscataway: IEEE Conference Publications, 1994:1577.
- [14] 王岚.基于自适应交叉和变异概率的遗传算法收敛性研究[J].云南师范大学学报(自然科学版),2010,30(3):32.
- [15] ALTER T B, BLANK L M, EBERT B E. Genetic optimization algorithm for metabolic engineering revisited[J]. Metabolites,2018,8(2):33.
- [16] ZOBOLAS G I, TARANTILIS C D, IOANNOU G. A hybrid evolutionary algorithm for the job shop scheduling problem[J]. The Journal of the Operational Research Society, 2009, 60(2):221.