



引用格式:金涌.绿色创新:轻工产业持续发展的金钥匙[J].轻工学报,2016,31(1):1-5.
中图分类号:TS0 文献标识码:A
DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.001
文章编号:2096-1553(2016)01-0001-05

绿色创新——轻工产业持续发展的金钥匙

Green innovation—the golden key of the sustainable development of light industry

金涌

JIN Yong

清华大学 化学工程系,北京 100084

关键词:

轻工业;绿色生产;生态产业;科技创新

Key words:

light industry; green production; ecological industry; science and technology innovation

摘要:随着我国社会经济发展进入新常态,人们越发感到资源、能源约束趋紧,环境污染严重,生态系统退化,发展与人口、资源、环境之间的矛盾日益突出,这已成为我国经济社会可持续发展的瓶颈。轻工产业是生产方式绿色化与消费方式绿色化的桥梁,更要始终坚持“绿色化”方针,注重绿色创新。我国政府的环保力度逐步加大,绿色生产理念不断升级,已由污染的尾端控制与达标排放层次、污染物回收与循环利用层次、“源头”治理层次,上升到“全生命周期”清洁生产层次和生态产业层次,并对制糖、造纸、食品等行业的生态产业园区建设提出了参考模式。今后的轻工制造业必将是个性化的、模块化的,加强绿色生产的顶层设计,以绿色创新驱动产业发展,是轻工业的发展方向。

作者简介:金涌(1935—),男,北京市人,中国工程院院士,清华大学化学工程系教授、博士研究生导师,化工科学与技术研究院院长;担任社会学术领导职务有工业生态经济与技术专业委员会主任、中国化工学会常务理事、中国颗粒学会常务理事等,主要从事高速流态化的多相流体力学、传热、传质、反应动力学、数模以及反应器分析、设计和开发,清洁化工工艺和粉体技术等研究,为我国化工领域中流态化技术的发展以及循环经济理论的提出和推广做出了重要贡献。所研究的气固循环流化床、气固超短接触催化反应器,移动床重整反应器、大型节能干燥装置等,已成功应用于工业过程,在生态化工工程与工艺、产品工程、亚微米与纳米粉体技术研究与应用方面也取得了重要突破。

Abstract: With Chinese social and economical development entering new normal, the constraints of resources and energy, the seriousness of environmental pollution, the degradation of ecosystem, the increasing contradiction between development and population, resource and environment became the bottleneck of the sustainable development of Chinese society and economy. Light industry, as the link between green production mode and green consumption mode, was required to adhere to the "green" principle and emphasize green innovation. Chinese government took great efforts on environmental protection. Green production notion changed from the end control of pollution and emission on standard, pollutant recovery and recycling, "source" governance to "life cycle" clean production and ecological industry. The mode was designed as reference to zones of industries such as sugar production, paper making and food production. The future light manufacturing industry is personalized and modularized green top design. Green cultivation driving industry development is the main direction in the future.

随着我国经济社会发展进入新常态,人们越发感到资源、能源约束趋紧,环境污染严重,生态系统退化,发展与人口、资源、环境之间的矛盾日益突出,这已成为制约我国经济社会可持续发展的瓶颈。2015年4月25日,党中央、国务院在《关于加快推进生态文明建设的意见》中指出,在原来倡导的新型工业化、城镇化、信息化、农业现代化这“四化”的基础上,加入了“绿色化”,从而构成了“五化”目标,要求我们在生产方式和生活方式上坚持“绿色化”方针,提高国民经济“绿色化”程度。这也为当前轻工产业的进步、提升、发展指明了方向。

1 轻工产业是生产方式绿色化与消费方式绿色化的桥梁

轻工产品量大面广,与人们的衣、食、住、行息息相关,在社会生产过程中更要始终坚持“绿色化”方针。在以最少的资源、能源消耗支撑社会持续发展,提升人们的生活水平和生活质量时,必须把资源节约放在优先位置,同时还要加大自然生态和环境的保护力度,所以轻工产业的发展必须以资源节约和环境保护的绿色发展作为基本出发点。

另一方面,轻工产品大多直接成为人们生活消费的必需品和消费的基础,虽说应该为提高人们的生活水平而不断提高产品的质量,但

任何一个成熟的社会都不可能满足人们的过度消费与奢侈消费,过度的商品包装、过多的一次性用品等都不符合“绿色化”要求。

更为重要的是,在进行产品设计时和进入生产过程前就应考虑到,产品在用毕废弃后,如何使其能循环利用从而成为可再生资源。城市中的可再生资源被称为“城市矿山”,轻工产业作为绿色生产环节与绿色消费环节之间的纽带,注重可再生资源开发意义重大。

轻工产品产业链长,许多品种与农、牧业相关联,产品质量、安全要求高,产品种类繁多复杂,有些产业耗水量大,产生的污染物多,如生物制造业,特别是劳动密集型产业,劳保要求高,所以贯彻以资源节约、环境保护为重点的基本国策有很大难度,目前的治污技术尚不能满足绿色发展的要求,需要不断进行技术提升,所以绿色创新技术应特别给予关注。

2 绿色生产理念的升级

我国政府的环保力度逐步加大,对清洁生产的要求,正在经历以下几个层次。

第一层次是污染的尾端控制与达标排放,所考核的是污染的排放浓度。该层次的治污由于对污染排放的总量没有设限,如烟道气排放含尘等超标,往往采用加高烟窗来稀释微尘,显然这一层次的污染治理理念是必须淘汰的。

第二层次是污染物回收,循环利用,以实现微排放甚至零排放. 譬如造纸黑液、褐液中的碱回收再利用,中水回用,母液套用等. 这样虽控制了污染排放的总量,但仍属于“尾端”治理,因为污染物在企业内部依然存在,在非正常操作过程中,仍有泄露的可能.

第三层次是“源头”治理,就是用清洁的原料、催化剂等,替代原来的有害物质,生产工艺过程也是清洁的,把有害物质排除在生产过程之外. 如聚丙烯腈合成纤维的生产过程,原有工艺需要用剧毒的氰氢酸为原料,而如今采用丙烯氨氧化工艺替代,完全实现了清洁生产.

第四层次是“全生命周期”清洁生产. 这要求从产品的设计开始,就考虑到原料、生产过程和产品的无毒无害,而且其废弃物也无害,实现从原材料—生产过程—使用过程—废弃可再生资源—再利用再生产全过程都是清洁的,即从“摇篮”到“坟墓”,从“摇篮”到第二个“摇篮”都是清洁的,形成初步的生态产业. 如十二烷基

苯(十二烷基苯磺酸钠是洗涤剂的重要成分)的生产中,原采用剧毒氢氟酸为催化剂,采用新的分子筛催化剂后,不但消除了生产过程中的污染,而且产品中更多的异构体有利于提高洗涤剂的自然分解能力和洗涤能力,使用量减少,污水改善,实现了全生命周期优化.

第五层次是生态产业. 由于单一生产过程很难完全做到全面清洁生产,当一个地区有产业集群时,可以在一定界区之间规划实现全区物流、能流、废物流、信息流等的最优化配置,使生产过程中产业链纵向延伸、横向耦联,使这个厂的废物成为另一个厂的原料,某一个厂的废热作为下一个厂的能源,总体上达到节能减排的目的. 如造纸厂大多选择与发电厂耦合,将发电厂的中低压蒸汽用于造纸过程,就是一个典型的例子. 为了指导企业构建生态产业园建设,国家曾公布了一些行业的生态产业园区建设的范例. 国务院建议的造纸企业、纺织企业、食品企业等的生态园区建设的参考模式见图 1—图 3.

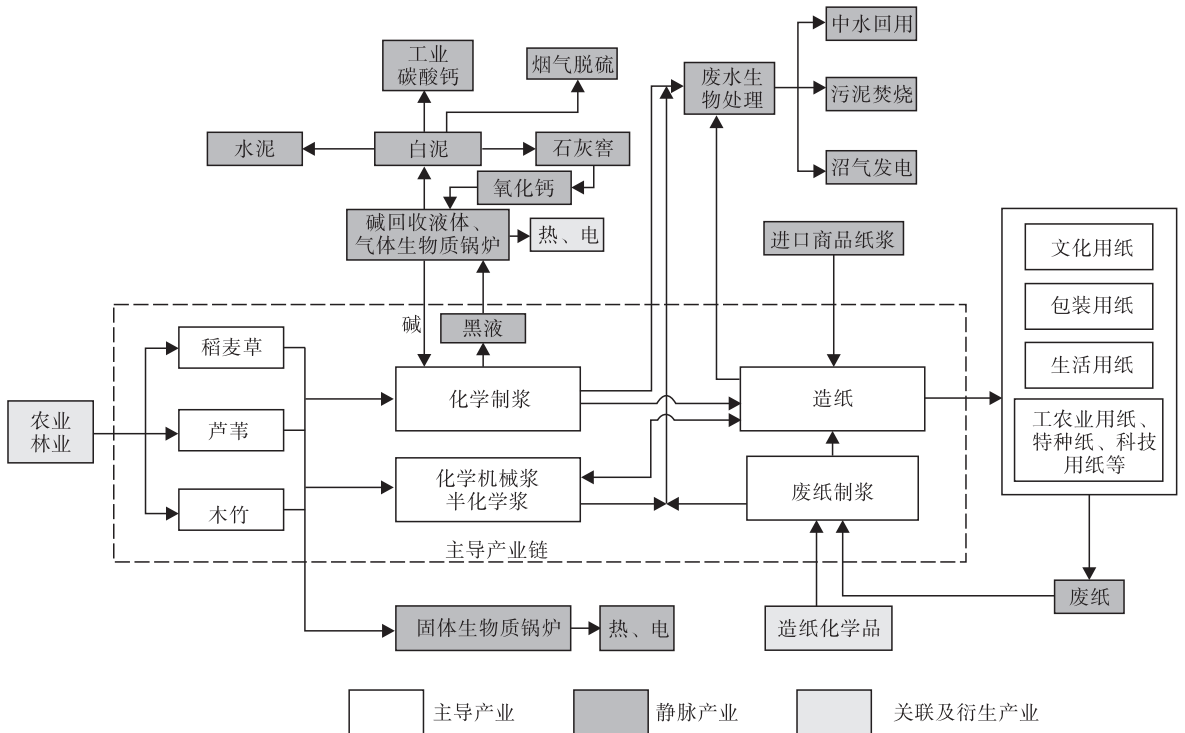


图 1 造纸工业发展循环经济基本模式图

Fig. 1 Basic pattern diagram of paper-making industry in developing recycling economy

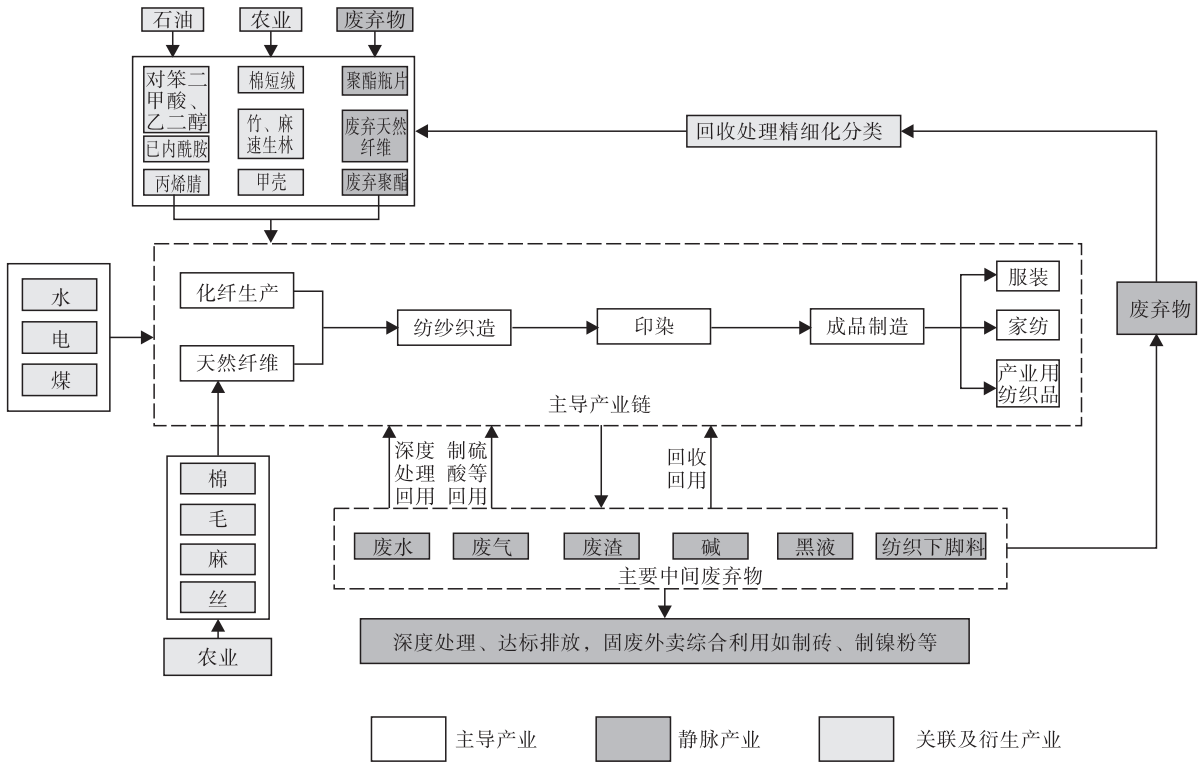


图2 纺织工业发展循环经济基本模式图

Fig. 2 Basic pattern diagram of textile industry in developing recycling economy

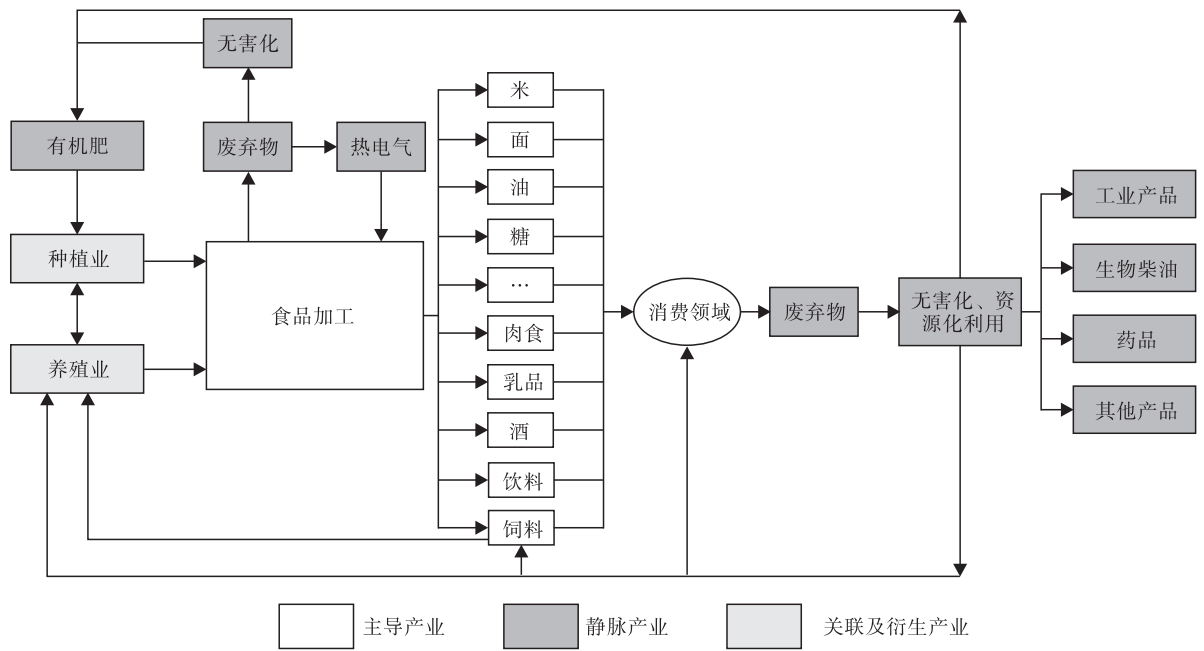


图3 食品工业发展循环经济基本模式图

Fig. 3 Basic pattern diagram of food industry in developing recycling economy

3 绿色生产的顶层设计

对于绿色生产的全面评估和设计是十分重要的,在早年的照明器材的节能环保评估中,曾出现这种情况,即仅从节能节电角度进行评估,这样一来,可能荧光灯是首选的.但若扩大视野,同时考虑节能与环保总效果,则由于荧光灯生产和废弃时会有汞的使用和污染,所以白炽灯似乎更为适合要求.如果再次扩大视野,不少国家和地域,煤中含有少量汞,白炽灯耗电多,发电用煤多,由于燃煤的烟道气中含汞造成的汞污染扩散,将更难于处置,这时荧光灯又重新成为首选.LED灯的出现终结了白炽灯与荧光灯孰优孰劣之争,成为无可争议的优选产品.在可口可乐瓶装材料的选择上也是经过了类似的资源、能源利用优化比选的,最后才以聚酯塑料瓶代替原来使用的玻璃瓶.

据路透社伦敦2015年5月26日报导汤森路透集团发布的《2015年全球创新报告》称,2014年全球专利数量增长仅为3%,与前几年都有近两位数的增幅相比,创出了新低,反映了世界经济整体下行压力.但食品、饮料与烟草行业专利数量增长显著,增幅为21%,化妆品与健康行业专利数量则增长了8%,特别是出现了大量保健食品和药用化妆品等,凸显了轻工业与生物科技行业和制药行业的融合,前者是对健康具有潜在好处的食品和饮料,后者则是化妆品与药品的结合产物,这一发展趋势可能是驱动轻工业发展的强劲动力,值得特别给予关注.

在纺织服装业中,供应链已成为企业的生

命线,我国服装产业的竞争力不如欧、美、日、韩,最根本的差距是产业的供应链“碎片化”现象严重,行业缺乏产业链的配置者.总产能虽然过剩,但优质产品稀缺,而优质产品则依赖于纤维、纺织、印染等原料品质和工艺技术的提升.

我国家用电器产品也面临着更新换代,伴随着标准化、模块化、精益化、自动化水平的不断提升,产品智能化技术改造正向纵深发展,“机器人替人”逐步改变着家电生产企业的面貌,推动产品的品质不断迈上新台阶.

自行车出行节约能源,有益于健康,有利于环保,符合现代人的生活理念.我国曾是自行车王国,但是在技术智能化、设计人性化上,必须应对新需求,设定新的发展坐标.自行车发展趋势应是智能化的,如车上内置传感器,可精确记录骑车数据,能将速度、地图轨迹、爬坡、踏频和骑车者的心率等数据同步显示.自行车骑行发电不仅可以照明,也可为手机、游戏机、相机等数码产品充电等等.

总之,今后的轻工制造业必将是个性化、模块化的,可以满足不同人群的特定需求.3D打印制造技术在这方面已经表现出了显著优势.

根据国际经验,当国家研发投入占该国GDP比重在2%左右的时候,各行业将进入创新的勃发阶段.美国的创新勃发始于1950年代,欧洲始于1960年代,日本始于1970年代.2014年我国研究与开发(R&D)投入资金的比重已达GDP的2%,这意味着我国科技创新、提升产品质量的工作开始进入快车道,而轻工产业应首当其冲.



引用格式:孙宝国,孙金沅,宫俐莉,等. 中国白酒中长期发展趋势与研究重点之管见[J]. 轻工学报,2016,31(1):6-11.

中图分类号:TS261;TQ92 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.002

文章编号:2096-1553(2016)01-0006-06

中国白酒中长期发展趋势与研究重点之管见

Perspectives on the long-term development trend and research emphasis of Chinese Baijiu (Chinese Liquor)

孙宝国^{1,2}, 孙金沅^{1,3}, 宫俐莉³, 孙啸涛^{1,3}

SUN Bao-guo^{1,2}, SUN Jin-yuan^{1,3}, GONG Li-li³, SUN Xiao-tao^{1,3}

1. 北京工商大学 北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048;

2. 北京工商大学 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100048;

3. 北京工商大学 食品学院, 北京 100048

1. *Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;*

2. *Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;*

3. *School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*

关键词:

中国白酒发展趋势;
糖化发酵;功能菌;风味物质数据库

Key words:

development trend of Chinese Baijiu; saccharifying fermentation; functional bacteria; flavor materia database

摘要:中国白酒以其独特的原料、工艺、风味及悠久的历史和丰富的文化内涵享誉海内外。随着中国食品产业的飞速发展,中国白酒现代化势在必行。要实现中国白酒价格亲民、香型创新、关注健康、技术创新、国际化发展,首先要解决白酒酿造过程中的一系列技术问题。在制曲、用曲、糖化发酵、风味和酒体设计、酿酒专用粮食等方面可能出现一系列颠覆性技术,酿酒微生物代谢产物及其菌种库、不同香型白酒自动控温控湿发酵技术、白酒风味物质分析及其数据库、白酒中功能物质和有害物质的调控、白酒标准现代化等将是中国白酒未来研究和发展的重点。

收稿日期:2015-10-09

基金项目:国家自然科学基金项目(31301466);北京市教委科技计划重点项目(KZ201410011015)

作者简介:孙宝国(1961—),男,山东省招远市人,中国工程院院士,北京工商大学教授,博士,香料和食品风味化学专家。现任北京工商大学校长,兼任中国轻工业联合会副会长、中国食品科学技术学会副理事长、中国营养保健食品协会副会长、中国香料香精化妆品工业协会副理事长、中国食品添加剂和配料协会副理事长。目前致力于白酒风味化学和白酒生产现代化技术研究。

Abstract: Chinese Baijiu won its reputation for the unique material, process, special flavor, long history and rich cultural connotation. With the rapid development of Chinese food industry, the modernization of Chinese Baijiu is imperative. The development trend of Chinese Baijiu: reasonable price, flavor innovation, concept innovation, modernization and internationalization were analyzed. Among them, the first thing was to solve a series of scientific problems in Chinese Baijiu brewage. The possible transformative technology in the modernization of Chinese Baijiu, regarding to starter-making, saccharifying fermentation, liquor body design, special grain of wine, etc were dissected. The focus of future research and development of Baijiu containing ismicrobial metabolites with strain library, automatic temperature and humidity control technology of fermentation, flavor analysis and library, regulation of functional and hazardous substances, modernization of Baijiu standards and so on were indicated.

0 引言

白酒是中国的国酒^[1],以粮食为原料,采用天然微生物自然接种制曲、固态糖化发酵、固态甑桶蒸馏、陶坛储存等工艺流程酿造。中国白酒文化源远流长,早在公元前2世纪,史书《吕氏春秋》就有文字记载“仪狄作酒”,再到汉代成书《黄帝内经》中提到的“醴酪”^[2],有关白酒的典故、诗篇俯拾皆是,千百年来广大人民群众对白酒的喜爱也从未减少。2014年中国白酒产量已达 $1\ 257.13 \times 10^7$ L。

2015年是“十二五”计划的最后一年,站在“十三五”的门口,白酒行业面临新的机遇和挑战。我们的祖先在发明白酒的时候,科学技术还很不发达,祖先们在完全不清楚微生物科学知识的时候,就已经非常好地利用了微生物,用简单的粮食酿造出风味成分复杂的白酒。科学技术发展到今天,尤其是我国的经济发展和科技进步已经到达了很高的水平,我们完全有必要、有能力通过现代科技来促进白酒酿造这一传统产业的发展。白酒科技界、产业界需要解放思想,转变观念,以科技为先导,在传承的基础上,依靠创新驱动白酒产业发展。要明确今后的发展方向,找到目标。只有导向正确,白酒行业才会在调整中得到发展和提升。

1 中国白酒独特的工艺与风味

1.1 中国白酒的生产原料独特

中国白酒采用纯粮或粮谷酿造,高粱是主

要原料,小麦、玉米、大米、糯米、小米也很常见。不同的白酒生产厂家会使用不同的原料,生产不同香型的白酒也会使用不同的原料,采用单粮或复粮的都有,这是中国白酒的一个特点。

1.2 中国白酒的糖化发酵剂独特

酒曲酿酒是中国酿酒的精髓所在,关于酒曲的描述最早可以上溯到周朝著作《书经·说命篇》中的“若作酒醴,尔惟曲蘖”。现在常用的酒曲有大曲、小曲、麸曲和混曲等。传统白酒酿造时,酱香型酒一般采用高温大曲,浓香型酒一般采用中温大曲,清香型酒一般采用低温大曲;小曲清香酒在南方比较普遍。麸曲是现代发展起来的,应该是借由我国1950年代“烟台酿酒法”推广开来的。与传统的大曲、小曲不同,麸曲由纯种霉菌接种得来,在全国白酒行业中应用得非常多,这说明1950年代时白酒行业的思想解放程度还是很高的。另外,现在很多白酒生产厂家使用混曲,将高温大曲、中温大曲、低温大曲、麸曲等酒曲混合起来使用,这也是一个非常大的进步。在制曲、用曲方面,我们绝不能固步自封,不能仅依靠“秘方”,而要有科学的配方,还要有高新技术与装备。

1.3 中国白酒的生产工艺和风味独特

多粮多菌、固态发酵、甑桶蒸馏、陶坛储存,这些独特的生产工艺是中国白酒非常重要的特征元素。悠久的酿造历史和各地原料、工艺及地理环境的区别孕育了中国多种香型的白酒。中国白酒现在已有12种成熟的代表香型,即酱香、浓香、清香、兼香、凤香、特香、米香、豉香、药

香、芝麻香、老白干香和馥郁香,每种香型的白酒都有其独特的生产工艺和风味特征。白酒的品种更是数不胜数,相同香型、不同品牌的白酒风味也各有特色,一酒一味,和而不同。

2 中国白酒的发展趋势

2.1 价格亲民,面向大众

未来10—15年,中国白酒的价格回归到平民消费状态是市场取向的必然。白酒虽不是生活必需品,却是一种文化、情感型消费品。品质优良的白酒如果动辄要几百元、几千元,甚至数万元一瓶,不是普通老百姓日常喝得起的饮品,则必然会淡出百姓日常消费。所以,白酒行业要发展,首先应该回归大众消费。

2014年国庆65周年招待晚会上提供的饮品有红酒、啤酒,却没有白酒,这是非常遗憾的事。因为在国宴上拿得出手的白酒价格都太高,不符合中央“八项规定”的精神。本次招待晚会上提供的燕京啤酒、长城干红也都是国产名牌,而且是平日里普通老百姓喝得起、经常喝的。未来回归国宴的白酒应当是也必定是品质优良、价格亲民的高档白酒,既上得了大雅之堂,也进得了黎民之家。

2.2 香型创新,不拘一格

12种代表性香型的形成对中国白酒的发展具有里程碑意义。但中国白酒发展到今天,不能再拘泥于12种代表性香型,而应以其为基础,进一步开创出老百姓喜欢的、与现有香型有所区别的新香型。实际上,绝大部分普通消费者对白酒的香型并没有清晰的概念和特别的喜好,并不太在乎白酒是什么香型,而是关注好喝不好喝、“上头不上头”。

12种香型中的馥郁香型、凤香型、老白干香型,就是对以往清香型的改进与创新,芝麻香型也是新中国成立后创新的香型。短短几十年间,已经有这么多新香型被开发出来,这表明,随着科学技术的突破,白酒风味的创新必然会有更大的进展。近年来,许多酒厂已经在尝试设计新的香型,劲酒集团的荞香型、国井集团的国

井香型、仰韶集团的陶香型,都不属于传统意义上的12种香型,而是自主打造的特色香型,受到了消费者的好评。

2.3 理念创新,关注健康

健康是人们永恒的追求。随着社会的发展和人民生活水平的提高,老百姓养生意识逐渐增强,对健康的要求也越来越高。干红葡萄酒近年来之所以备受青睐,既与其所含有的白芦藜醇具有防治冠心病的保健功能有关,更受益于强调健康的文化传播。人们常说,适量饮酒有益健康,这个概念自古就有。《黄帝内经·素问》说:酒类,用以治病。《本草纲目》说:适量饮酒可消冷积寒气、燥湿痰、开郁结、止水泻。白酒是我国的国粹,我们应该传承其健康理念并着力创新。近代已有研究表明,我国有些白酒含有健康因子,其效能甚至可保肝护肝,与国外饮酒伤肝的结论正好相反^[3]。最近几年也有一些主打健康理念的新型白酒现身市场,如汾酒中的白玉酒,其中添加了低聚果糖、低聚木糖等;还有毛铺苦荞酒,主要创新是将提取的苦荞多糖加入到毛铺酒中。

2.4 技术创新,逐步现代化

随着人们生活水平的提高,白酒行业发展也要现代化。那种传统手工制酒的车推锹铲、汗流浹背的生产方式应当被大规模工业化生产所取代,而传统工艺则可以作为非物质文化遗产进行适当的保护。从手工操作逐步走向机械化、自动化、智能化、个性化是白酒发展的必然趋势。

目前,很多酒企的制曲已经实现了机械化,灌装实现了自动化。要进一步实现现代化则需要传承的基础上创新,用现代科学技术揭示传统白酒酿造过程中的科学奥秘,引领中国白酒由经验走向科学。揭示白酒科学奥秘的研究从哪里开始呢?应从研究酿酒用粮开始、从研究酒曲生成开始、从研究酿造工艺开始、从研究风味成分开始。

2.5 推动白酒国际化

白酒现代化离不开国际化,而国际化的基

基础和前提是整个国家的国力和影响力的提升。现在国外的蒸馏酒(如威士忌、白兰地等)大量输入中国,正是因为近代以来西方国家的国力强盛,西方文化影响广泛。如今中国的国力也日渐强大,中国文化正快速地传播到其他国家。2014年12月,韩国新闻报道称,高粱酒、二锅头酒等中国传统酒进入韩国市场,自7月份起占到韩国进口酒销售额的54%以上,首次超过日本的清酒^[4]。中国白酒走俏韩国市场,这在一定程度上说明了白酒的国际化趋势。同时也说明中国白酒要广泛走向国际市场,东北亚、东南亚等受中华文化影响较深的地区应是我们关注的重点;中国白酒国际化,在价格定位上也应该适应国际市场。尤为重要,中国白酒行业还要集体在全世界宣传白酒,应采取集体行为而不仅仅是宣传自己的品牌。对于白酒这个中国的国酒,在英文中让外国人记住的不应该是“Chinese Liquor”,而应该是“Chinese Baijiu”,只有外国人认同中国白酒,才会认同其中的某个品牌。

3 中国白酒现代化可能出现的颠覆性技术

3.1 制曲和用曲

制曲要逐步实现由自然接种向纯种培养发展。传统的大曲、小曲均采用微生物自然接种制曲法,而麸曲属于纯种制曲,从自然接种到纯种培养是一个很大的进步。劲酒集团的小曲清香型白酒,传统工艺中使用的酒曲是观音曲。劲酒集团经过技术创新从传统的观音曲中筛选了5株菌用于大规模生产接种制曲,采用转盘制曲机,实现了纯种培养,极大地提高了制曲效率。纯种培养将是未来制曲的发展趋势和对自然制曲的有效补充。此外,从曲的外观形状来看,大部分酒企使用的是自然接种的块状曲。块状曲在制作和储藏时内外环境差异比较大,微生物活力参差不齐,增加了糖化发酵的不确定性。而纯种培养的粉状曲,微生物活力则比较容易整体把握,有利于发酵过程控制。从块状曲向粉状曲发展也是一个重要的方向。

用曲方面要由单一曲向多曲混用发展,即由传统曲向传统曲、纯种曲与功能菌结合发展;将纯种培养的多菌系、商品多酶系与传统大曲、麸曲、小曲结合进行协同糖化发酵,也是未来的发展方向。芝麻香型白酒一开始就使用了一个比较先进的方法,叫大麸结合法,也就是将大曲与纯种麸曲混用。小曲跟麸曲可不可以混用?应该都可以灵活使用,不拘一格。当然,不能纯粹为了混用而混用,而应根据我们对产品的香型要求、功能要求,为了达到更理想的效果来混用。

3.2 糖化发酵

白酒糖化发酵应该从“地下”回到“地上”,不是全部都要回到“地上”,至少有一部分要回到“地上”。传统的发酵是在地下的窖池或地缸中进行,主要目的是保持适宜的温度和湿度。现在,劲酒、衡水老白干、洋河等企业都已经采用不锈钢发酵槽在地上自动控温控湿车间里发酵,这样不仅可以减少用地,也可以降低能耗,减少人工,提升出酒率,使综合成本显著下降。地上自动控温控湿发酵应该是不断完善、普遍推广的白酒发酵方式。

实现白酒生产现代化,白酒发酵将从固态发酵向固态发酵与液态发酵相结合发展。向纯液态发酵发展是目前白酒行业比较忌讳提及的,却是大势所趋,因为液态发酵时间短,效率高,效益更好。固态发酵是我们祖先的重要发明,要继承,并发扬光大,但是绝不能固步自封。我们应该看到,国际上一些主要的酒类产品,不论是蒸馏酒还是非蒸馏酒,使用液态发酵是普遍的做法、是一种国际潮流,当然液态发酵也是纯粮酿造。我们应该在将固态发酵发扬光大的同时,把液态发酵借鉴过来。毛主席说“古为今用,洋为中用”,白酒界也应如此,要解放思想。

3.3 白酒风味和酒体设计

白酒未来所面向的消费人群的年龄、阶层将更加广泛,白酒的风味一定会更多元,香型也会更丰富,同时,口感应该更加柔和;高度酒喝起来没有那么高,低度酒喝起来没有那么低。总

之,酒体整体和谐柔和才能符合未来消费者的需求.

酒体设计还需要科学与艺术相结合. 如果单纯依靠技术人员的经验和技能,酒体设计工作会受到一定的限制. 依目前食品科学发展的程度^[5],已经把每一种酒样中主要的风味成分分析出来,通过计算机对酒体进行辅助设计,这是对酒体设计一种非常好的补充. 实际上,现在有些酒厂在勾兑和储藏过程中已经在使用仪器分析的辅助手段,并且做得非常好,值得推广普及.

3.4 酿酒专用粮食

现在许多酒厂酿酒所用的粮食并不是专用品种,将来肯定要向专用品种发展. 例如葡萄酒的品牌有赤霞珠、解百纳等,其实这两个品牌用的都是葡萄的品种名,不同品种的葡萄所酿造的葡萄酒,风味大不相同. 国内外可作为原料来酿造中国白酒的粮食种类繁多,产地各异. 目前,白酒用粮品种、产地,区分不够精细,随着白酒酿造基础研究的深入,对粮食品种、产地的要求必然会逐步提高,这对于大幅度提高中国白酒的酒质、酒品,创造闻名世界的白酒品牌至关重要. 这也是一个带有颠覆性的思考.

4 白酒产业未来的研究重点

4.1 酿酒微生物及菌种库

传统酒曲中的微生物数量巨大,对酒曲中的微生物进行分离鉴别并构建白酒微生物菌种库,是一项需要长期坚持的、非常重要的基础研究. 筛选和培育白酒功能菌是未来研究的重点. 白酒功能菌的基本功能是除了产生乙醇以外,还能够产生各种高级特征风味物质,如乙酸乙酯、己酸乙酯、 β -苯乙醇、四甲基吡嗪等. 主产乙醇、只产有益物质不产有害物质的微生物也需要加强研究. 白酒工程菌是未来白酒生产难以回避的. 工程菌在以往的白酒研究中是一个很少出现的名词,将工程菌技术应用于白酒酿造的进程可能会很慢,但也可能具有不可估量的价值.

4.2 不同香型白酒自动控温控湿发酵生产工艺的优化

自动化、智能化技术已成为制造业高科技的象征. 随着科学技术的不断进步,白酒发酵生产工艺将进一步向机械化、自动化、智能化方向发展. 目前,已经有部分酒厂在实施自动控温控湿发酵生产工艺的优化. 白酒香型的不同、酿酒原料和工艺的不同,在白酒生产进行自动化升级换代时可能出现的问题也会不同,难度也不一样. 总体来看,自动控温控湿发酵生产工艺在白酒企业的广泛应用,是大势所趋,将进一步提高企业的综合经济效益发挥重要作用.

4.3 白酒风味物质数据库

构建白酒风味物质数据库是为了填补定性分析常用的 NIST 谱库在白酒风味物质方面的空白,为快速准确定性定量分析白酒中的风味物质提供支撑平台. 在白酒风味物质研究过程中,我们发现 NIST 谱库存在一些缺陷: 1) 某些化合物容易被张冠李戴,出现定性错误. 比如戊醛二乙缩醛被误认为是异戊醛二乙缩醛,异丁醛二乙缩醛被误认为是丁醛二乙缩醛. 2) 部分化合物“无冠可戴”. 如白酒当中有的风味成分, NIST 谱库中却没有. 我们自建的白酒风味物质数据库中收入了 1 200 余种风味物质的色谱、质谱信息,其中有十几种物质就是 NIST 库里没有的. 采用自建的谱库,我们首次在中国白酒中发现了乳酸丙酯这一化合物^[6]. 白酒风味物质数据库的构建对白酒的发展具有重大意义,它将是今后研究的一个重点.

4.4 白酒中健康因子及有害物质的调控

探寻白酒中对健康有益的物质(健康因子)一向是白酒业界的研究热点. 白酒中存在许多健康因子,它们的作用机制很可能是协同效应. 白酒中的健康因子一方面可以从白酒中寻找,另一方面也可以酌情向白酒中添加. 前期有研究提出,茅台酒中的四甲基吡嗪具有扩张血管、抗氧化、护肝的功效^[7-8],虽然有人提出异议,但这为研究白酒中的健康因子开了个好头,应该加大这方面的研究,找出白酒中健康因

子的确切成分与含量,弄清楚其生成途径和功能.此外,除了目前有白酒企业尝试添加低聚糖,应该还可以添加其他的物质,但这与当前的白酒标准有些相悖.

白酒中有害物质的生成机理和控制方法也需要重点研究.比如白酒中氨基甲酸乙酯的问题,只有弄清楚它在白酒酿造和陈化过程中产生的机理,才能有效控制它.虽然,目前的研究表明白酒中氨基甲酸乙酯的含量对人体健康没有影响,但是在广大消费者对食品安全问题高度重视的今天,只有提前做好相关的技术储备,企业在面对风险时才能有备无患.

4.5 白酒标准

对于中国白酒,国家标准都对各香型白酒中标志性成分的含量进行了规定,但现行标准中的标志性成分是否具有特征性,其含量的规定是否合理,尚需要更加细致深入的研究.例如3-甲硫基丙醇是芝麻香型白酒国家标准中的标志性成分(高度酒中要求3-甲硫基丙醇含量高于 0.5×10^6 ,低度酒高于 0.4×10^6).我们对国内5家芝麻香白酒骨干企业的18个酒样进行3-甲硫基丙醇含量检测^[1],结果显示:5家企业的原酒中有4家没有检测到3-甲硫基丙醇,唯一检测到的企业原酒中的含量 $< 0.1 \times 10^6$;商品酒中则只有1家达标.这就说明3-甲硫基丙醇与芝麻香型白酒的典型性没有关系,将它定为特征物质,并在芝麻香型白酒标准中规定其含量是不合理的.

未来的白酒国家标准中很可能只有具体的安全标准,而不再进行一些具体风味物质含量的规定,可能会增加对邻苯二甲酸酯类塑化剂、氨基甲酸乙酯这些有害物质限量,甚至农药残留量的规定.2013年,国家卫计委致函对两种邻苯二甲酸酯类塑化剂DEHP和DBP的限量作出规定,要求其在白酒中的含量分别小于 5×10^6 和 1.0×10^6 ,这个规定将来可能会进入国家

标准.

5 结语

距今60 a前,中华人民共和国《1956—1967年科学技术远景规划》将酒精改制白酒的研究与两弹一星研究共同列入科技发展规划^[3],并在1950年代末、1960年代初搞了白酒改革三大试点.这说明前人对液态发酵酿造白酒这一问题的认识是很超前的.持续的科技创新能力是企业的核心竞争力,也是引领中国白酒从“中国制造”到“中国智造”跨越发展的关键.2016年,中国的经济社会发展进入“十三五”阶段,白酒产业也应有一个大跨度的发展.为了实现大发展,白酒界需要解放思想、转变观念,通过先进的科学技术提升白酒这个传统产业,向着现代化、标准化、国际化的方向努力,顺应市场的发展,做出既让普通老百姓消费得起、津津乐道,又能走出国门、享誉全球的中国白酒.

参考文献:

- [1] 孙啸涛,张锋国,董蔚,等.芝麻香白酒中3-甲硫基丙醇的GC-FPD分析[J].食品科学技术学报,2014,32(5):27.
- [2] 余乾伟.传统白酒酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2010.
- [3] 钟国辉,邹海晏,周仁忠.中国白酒现代化和国际化浅见[J].酿酒科技,2012(1):82.
- [4] 中央社.中国酒走俏韩国市场[N].参考消息,2014-12-10(5).
- [5] 孙宝国,曹雁平,李健,等.食品科学研究前沿动态[J].食品科学技术学报,2014,32(2):1.
- [6] 吴继红,李安军,黄明泉,等.30种白酒中乳酸丙酯的发现与研究[J].中国食品学报,2015(3):194.
- [7] 吴建峰.中国白酒中健康功能性成分四甲基吡嗪的研究[J].酿酒科技,2009(1):117.
- [8] 杨涛,李国友,吴林蔚,等.中国白酒健康因子的研究及其产生菌选育和在生产中的应用(I)——中国白酒健康因子的研究[J].酿酒科技,2010(12):65.



引用格式:路福平,杨霁菡,王永帅,等. 蛋白酶水解中药渣制备生物活性肽工艺探讨[J]. 轻工学报,2016,31(1):12-16.

中图分类号:R282;X799 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.003

文章编号:2096-1553(2016)01-0012-05

蛋白酶水解中药渣制备生物活性肽工艺探讨

Process discussion on preparation of bioactive peptide in Chinese medicine residues by protease hydrolysis

路福平,杨霁菡,王永帅,青快,王洪彬

LU Fu-ping, YANG Ji-han, WANG Yong-shuai, QING Kuai, WANG Hong-bin

教育部工业发酵微生物重点实验室 天津科技大学,天津 300457

Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

关键词: 中药渣;生物活性肽;蛋白酶;水解

Key words: Chinese medicine residue; bioactive peptide; protease; hydrolysis

摘要: 以中成药血必净药渣为材料,研究了通过蛋白酶水解从中制备生物活性肽的工艺. 通过考察比较酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶水解药渣的效果,确定了复合蛋白酶的适宜配比;通过比较不同水解时间的蛋白提取率、水解度和 DPPH 自由基清除率等指标,确定了复合蛋白酶适宜的水解时间. 结果为,选用中性蛋白酶与碱性蛋白酶进行复配来水解制备生物活性肽,适宜配比为 3 : 1, 4 h 为复合蛋白酶适宜的水解时间. 在该条件下蛋白质提取率达 81%, DPPH 自由基清除率达 39.8%.

收稿日期:2015-10-19

基金项目:国家高技术研究发展计划项目(2012AA021303);天津市科技特派员项目(15JCTPJC56500)

作者简介:路福平(1967—),男,天津市人,天津科技大学教授,博士,主要研究方向为酶工程.

Abstract: Using the residues of Chinese medicine Xuebijing as materials, bioactive peptide was prepared by protease hydrolysis. The hydrolysis residues effect of acid protease, neutral protease and alkaline protease was investigated. On this basis, the appropriate proportion of compound protease hydrolysis residues was studied, and the suitable hydrolysis time of compound protease was confirmed by comparing the index of different hydrolysis time, such as protein extraction rate, hydrolysis degree and the antioxidant index DPPH free radical clearance rate. The results showed that the neutral protease compounded with alkaline protease was selected to prepare bioactive peptides, appropriate ratio was 3 : 1; the suitable hydrolysis time of complex protease was 4 h, under the condition, the protein extraction rate was 81%, and the antioxidant index DPPH free radical clearance rate was 39.8%.

0 引言

近些年,我国中药现代化产业发展迅速,但同时也产生了规模愈来愈庞大的中药渣废弃物^[1-4]. 统计数据显示,我国每年仅植物类药渣的排放量就已高达数百万吨,目前的处理方式以烧毁、堆放为主,不仅浪费大量的资源,也严重污染环境^[5-6]. 目前已报道的中药渣废弃物综合利用途径包括堆肥化处理、生产食用菌、加工成饲料等,但资源利用率和产品附加值都较低,影响了企业推广应用的积极性. 因此需要探索利用率更高、附加值水平更好的综合利用途径^[7].

由于现在的中药材提取工艺比较单一,尚有许多有益成分残留在药渣中. 高发奎^[8]检测甘草废渣发现,其中含有 18 种氨基酸,含量在 0.07% ~ 0.79% 之间,其中有 8 种是人体必需的氨基酸. 贾伍员等^[9]研究板蓝根药渣中的成分,结果表明,该药渣中含有大量的纤维素、淀粉、粗蛋白、磷、钾等营养成分,可用于制作有机肥. 祖庸等^[10]对太白花药渣中的氨基酸、无机元素及维生素 C 的含量进行了测定,发现总氨基酸含量为 1.985 g/100 g,其中谷氨酸含量最高,达到 0.293 g/100 g,其次为天门冬氨酸和精氨酸,还含有硅、锰、铝、锌、钡、铬、镁、铁等多种无机元素及少量维生素 C. 由此可见,药渣中不仅残留部分药用成分,而且含有丰富的蛋白质、多糖、纤维素和木质素等物质和其他营养

物质,具有很高的再利用价值.

由蛋白质水解生成的生物活性肽由于结构不同而显示出各种独特的生理活性,具有较高的营养价值和丰富的保健功能,如免疫调节、降胆固醇、降血压、抗氧化功能等,是保健功能食品的重要成分. 天津红日药业的中成药血必净由红花、赤芍、川芎、当归和丹参 5 种药材制得. 本文拟采用血必净的药渣作为原料,通过蛋白酶水解制备生物活性肽,以探索中药渣综合利用的新途径.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料:血必净药渣,由天津红日药业提供;酸性蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶,由天津诺奥公司提供;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)(分析纯),购于东京化成工业株式会社;茛三酮(分析纯),购于天津市恒兴化工贸易公司;硫酸、盐酸、硫酸铜、硫酸钾、硼酸,均为试剂纯,购于天津博欧特化工贸易有限公司.

仪器:FE20 型 pH 计、AB204-S 型分析天平,梅特勒-托利多仪器上海公司产;GL20A 型高速冷冻离心机,日本日立有限公司产;SCD-II 型高纯水装置,军事医学科学院卫生装备研究所产;TU-1810 型紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司产;K05A 型自动定氮仪,上海晟声自动化分析仪器有限公司产.

1.2 试剂的配制

1) 茛三酮显色剂:准确移取果糖 0.3 g,茛三

酮 0.5 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 10 g, KH_2PO_4 6 g 混合均匀, 然后定容至 100 mL, 避光保存, 现用现配.

2) 混合指示剂: 甲基红乙醇溶液: 溴甲酚绿乙醇溶液 ($v:v$) = 1:5.

3) DPPH 乙醇溶液: 精密称取 DPPH 19.7 mg, 用无水乙醇溶解于 250 mL 容量瓶中, 摇匀即得 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液, 0~4 °C 避光保存, 备用.

1.3 实验方法

1.3.1 药渣水解制备生物活性肽样品 称取粉碎的药渣 5 g, 用 100 mL 水溶解, 酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶水解前, 将药渣 pH 值分别调整到 5, 7 和 9. 按 800 U/g 添加蛋白酶, 50 °C 水解一定时间后沸水浴灭酶 10 min, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液为生物活性肽样品.

1.3.2 蛋白质含量的测定 采用凯氏定氮法 (GB 5009.5—1985) 测定蛋白质含量.

1.3.3 水解度的测定 水解度测定采用茚三酮比色法^[11-12], 具体步骤如下:

1) 水解度的计算公式

$$DN = \frac{n}{6.25 \times N/h_{\text{tot}}} \times 100\%$$

其中, n 为样品中 $-\text{NH}_2$ 的摩尔含量/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1})$, $6.25 \times N$ 为样品的蛋白含量/ $(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$, h_{tot} 为 1 g 原料中蛋白质的肽键毫摩尔数/ $(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1})$.

2) 标准曲线的绘制: 取 0.1 g 干燥过的甘氨酸, 溶解后定容至 100 mL, 取出 10.00 mL 定容至 100 mL, 得到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甘氨酸溶液. 取此溶液再分别稀释成含量为 20~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 用于标准曲线的绘制. 取出 2.00 mL 测定用稀释液于试管中, 加入 1.00 mL 茚三酮显色剂, 混匀后沸水浴 15 min, 同时做空白实验; 然后冷水冷却, 加入 5.00 mL 40% 乙醇溶液混匀, 放置 15 min 后, 于 570 nm 处测定吸光度.

3) 水解液中 $-\text{NH}_2$ 摩尔含量的测定: 取蛋白水解液 1 mL 定容至 50 mL, 加入 1.00 mL 茚三酮显色剂, 混匀后沸水浴 15 min, 同时做空白实验; 然后冷水冷却, 加入 5.00 mL 40% 乙醇溶液混匀, 放置 15 min 后, 于 570 nm 处测定吸光度.

1.3.4 抗氧化能力的测定^[13-14] 1) 取药渣水解样品 0.5 mL (空白对照取水 0.5 mL), 补加无水乙醇 1.5 mL, 然后加入 1.0 mL DPPH 乙醇溶液, 混匀, 于 37 °C 条件下反应 30 min, 0.2 μm 膜过滤后于 517 nm 处测吸光度.

2) DPPH 自由基清除率

$$Y = (A_c - A_s) / A_c \times 100\%$$

其中, A_s 为加测定样品时的吸光度, A_c 为未加测定样品时空白对照的吸光度.

2 结果与讨论

2.1 蛋白酶制剂的选择

选取酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶 3 种常用微生物源蛋白酶进行水解制备多肽, 图 1 为 3 种蛋白酶水解药渣 3 h 后的蛋白质提取率和水解度.

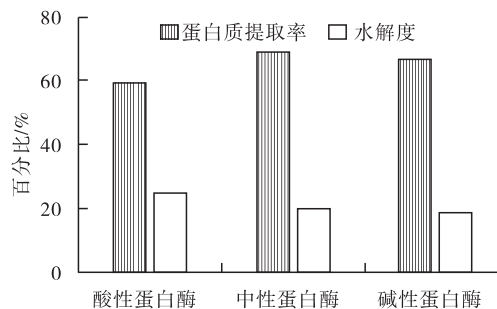


图 1 3 种蛋白酶水解药渣的蛋白质提取率和水解度
Fig. 1 The protein extraction rate and hydrolysis degree of three protease hydrolysis residues

由图 1 可知, 在 3 种酶中, 酸性蛋白酶对药渣蛋白质的水解程度最好, 但是蛋白质提取率最低, 而中性蛋白酶与碱性蛋白酶对药渣蛋白质的提取率较高. 考虑到高蛋白质提取率对原

料利用率至关重要,并且提高水解度可以通过延长水解时间实现,故本文在选择酶制剂进行多肽制备时优先采纳蛋白质提取率这个指标.中性蛋白酶与碱性蛋白酶在蛋白质提取率与蛋白质水解度方面相差不大,且碱性蛋白酶水解时 pH 值会逐渐下降到中性,因此最终选用中性蛋白酶与碱性蛋白酶进行复配来水解药渣制备多肽.

2.2 复合蛋白酶配比的确定

为了确定复合蛋白酶里中性蛋白酶与碱性蛋白酶的合适比例,本研究分别测定了不同比例条件下所得多肽的蛋白质提取率,结果如图 2 所示(水解之前药渣 pH 值调至 9,复合蛋白酶添加量为 800 U/g).

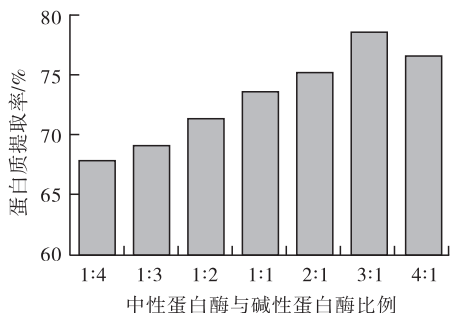


图 2 中性蛋白酶与碱性蛋白酶不同比例条件下的蛋白质提取率

Fig. 2 The protein extraction yield of neutral protease and alkaline protease under the different proportion condition

由图 2 可知,当中性蛋白酶与碱性蛋白酶的比例为 3 : 1 时,复合蛋白酶对药渣蛋白有较高的提取率,对药渣原料的利用更充分,因此选用复合蛋白酶的适宜配比为 3 : 1.

2.3 复合蛋白酶水解时间的确定

理论上不同时间对蛋白质的提取和水解程度不同,进而会导致多肽产物抗氧化能力的变化.复合蛋白酶在不同水解时间(1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h)下的蛋白质提取率和 DPPH 自由基清除率测定结果如图 3 所示.由图 3 可知,蛋白质

提取率随着水解时间的延长而逐渐增加,到 4 h 后,蛋白质提取率趋于稳定;DPPH 自由基清除率所反映出的抗氧化能力呈现先升高后降低的趋势,水解时间为 4 h 时的抗氧化能力最强.综合蛋白质提取率和自由基清除率的测定结果,适宜的水解时间选择 4 h,该条件下蛋白质提取率达到 81%,DPPH 自由基清除率达到 39.8%.

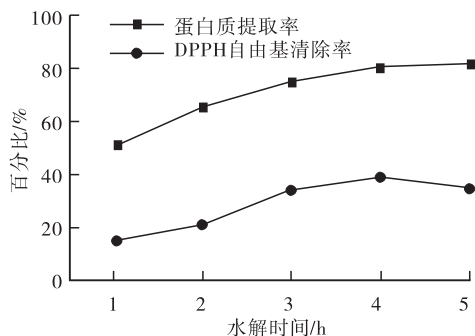


图 3 复合蛋白酶在不同水解时间下的蛋白质提取率和 DPPH 自由基清除率

Fig. 3 The protein extraction rate and eliminating free radicals rate of compound protease under different hydrolysis time

3 结论

本文以符合我国保健品生产要求的中成药血必净药渣为原料,通过蛋白酶水解法制备了生物活性肽.比较了酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶的水解效果,确定选用中性蛋白酶与碱性蛋白酶进行复配来水解制备多肽,适宜配比为 3 : 1.通过考察不同水解时间下的蛋白质提取率、水解度和 DPPH 自由基清除率等指标,确定复合蛋白酶适宜的水解时间为 4 h,在该条件下蛋白质提取率达到了 81%,抗氧化指标 DPPH 自由基清除率达到了 39.8%.本研究成果为用蛋白酶水解中药渣制备高附加值的活性多肽产品做出了有益的探索.

参考文献:

[1] SONG X Y, LI Y D, SHI Y P. Quality control of tradition-

- al Chinese medicines; a review [J]. Chinese journal of natural medicines, 2013, 11(6):596.
- [2] CHUNG V C H, HILLIER S. Referral to and attitude towards traditional Chinese medicine amongst western medical doctors in postcolonial Hong Kong [J]. Social science & medicine, 2011, 72(2):247.
- [3] ZHANG H, TAN C, WANG H Z. Study on the history of traditional Chinese medicine to treat diabetes [J]. European journal of integrative medicine, 2010, 2(1):41.
- [4] LIU H X, WANG S R, LEI Y. Characteristics and advantages of traditional Chinese medicine in the treatment of acute myocardial infarction [J]. Journal of traditional Chinese medicine, 2011, 31(4):269.
- [5] 朱国婷. 酶解补中益气丸药渣制备水不溶性膳食纤维工艺的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2014:11-12.
- [6] 庄毅, 洪净. 药用真菌双向性固体发酵工程与中成药药渣再开发[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22):1918.
- [7] 陈缤, 贾天柱. 中药渣的综合利用[J]. 中成药, 2005, 27(10):1203.
- [8] 高发奎. 甘草废渣提取物中的氨基酸含量[J]. 甘肃环境研究与监测, 1995, 8(4):6.
- [9] 贾伍员, 秦坤, 刘林. 板蓝根药渣成分的测定及其利用研究[J]. 泰山医学院学报, 2010, 38(9):520.
- [10] 祖庸, 刘建利, 雷闰盈. 地衣类植物药渣的饲用价值研究[J]. 饲料研究, 1991(4):15.
- [11] 赵新淮, 冯志彪. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学, 1994, 179(11):65.
- [12] 郭兴凤. 蛋白质水解度的测定[J]. 中国油脂, 2000, 25(6):176.
- [13] YEN W J, CHANG L W, LEE C P, et al. Inhibition of lipid peroxidation and nonlipid oxidative damage by carnosine [J]. JAOCS, 2002, 79(4):329.
- [14] 林诗云, 王炯, 冯桂权, 等. 6种天然药提取物清除自由基和抗氧化活性研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2010, 19(3):204.

我校荣获两项 2015 年度国家科学技术奖

2016年1月8日,2015年度国家科学技术奖励大会在北京人民大会堂隆重举行.党和国家领导人习近平、李克强、刘云山、张高丽出席大会并为获奖代表颁奖.郑州轻工业学院与牵头单位共同完成的“定向转化多元醇的生物催化剂创制及其应用关键技术”和“节能与新能源客车关键技术研发及产业化”两项科研成果分别荣获国家技术发明奖二等奖和国家科学技术进步奖二等奖.

两项奖励的获得,是我校国家级科学技术奖励方面的重大进展,标志着我校科技研发能力、科技创新能力和知识转化能力迈上新台阶,彰显了我校在特色骨干大学建设上的新跨越.

多年来,学校坚持科技兴校战略,以解决国家和地方重大战略需求为导向,以全面提升科技创新能力为目标,立足领域前沿、坚持自主创新,强化原始积累、注重重点培育,并结合科技工作发展需求制定出台了一系列激励政策和保障措施.全校广大教师、科研人员潜心科研,勇于探索,敢于攻坚,厚积薄发,为国家科技发展做出了越来越多、越来越大的贡献.

据了解,全国共有120所高校作为主要完成单位获得了2015年度国家科学技术奖三大奖174项,其中国家技术发明奖二等奖31项,国家科学技术进步奖二等奖98项.河南省今年共有6所高校获得了9项奖励,我校获奖数量在省内高校中位列第二.

(供稿:郑州轻工业学院科技处)



引用格式:白艳红,牛苑文,吴月,等.不同冰温贮藏对鸡胸肉品质变化的影响[J].轻工学报,2016,31(1):17-22.

中图分类号:TS251.5⁺5 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.004

文章编号:2096-1553(2016)01-0017-06

不同冰温贮藏对鸡胸肉品质变化的影响

Effects of quality variations of chicken breast during different ice temperature storage

白艳红^{1,2},牛苑文¹,吴月¹,赵电波^{1,2},栗俊广^{1,2},张华^{1,2},
张相生³,寇文武¹

BAI Yan-hong^{1,2}, NIU Yuan-wen¹, WU Yue¹, ZHAO Dian-bo^{1,2}, LI Jun-guang^{1,2},
ZHANG Hua^{1,2}, ZHANG Xiang-sheng³, KOU Wen-wu¹

1. 郑州轻工业学院 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;

3. 河南大用实业有限公司, 河南 鹤壁 456750

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

2. Collaborative Innovation Center for Food Production and Safety, Zhengzhou 450001, China;

3. He'nan Doyoo Group, Hebi 456750, China

关键词:

鸡胸肉;冰温贮藏;货架期预测模型

Key words:

chicken breast; ice temperature storage; shelf life prediction model

摘要:以4℃冷鲜贮藏条件为对照,设置-0.7℃和-2.4℃两个冰温贮藏条件,贮藏期内定期对鸡胸肉的剪切力、硬度、pH值、挥发性盐基氮、菌落总数和大肠菌群指标进行测定,研究不同贮藏条件下鸡胸肉品质的变化;以贮藏时间为因子、菌落总数对数值为指标,建立不同贮藏温度条件下的货架期预测模型。结果表明:在-0.7℃和-2.4℃条件下贮藏鸡胸肉,随贮藏时间的延长,鸡胸肉的剪切力、pH值、挥发性盐基氮、菌落总数缓慢上升,硬度迅速下降,大肠菌群变化缓慢,货架期分别为13d和19d;在4℃条件下贮藏鸡胸肉,其货架期为6d。由此可见,冰温贮藏可有效延长货架期。

收稿日期:2015-06-01

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2014BAD04B07-02);2014年河南省扶持企业自主创新资金项目

作者简介:白艳红(1975—),女,辽宁省彰武县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为畜产品加工与质量安全控制。

Abstract: The control storage condition was 4 °C, and the two ice temperature storage conditions were set up -0.7 °C and -2.4 °C, respectively, and the indexes of the shear force, hardness, pH, TVB-N, aerobic bacterial counts and coliforms were investigated on a regular way, in order to research the quality change of chicken breast. With storage time as factor and aerobic bacterial counts as an index, shelf life prediction model under the conditions of different storage temperature was established. The results showed that the value of shear force, pH, TVB-N, aerobic bacterial counts increased slowly, the hardness value decreased rapidly, and coliforms changed slowly during the storage time under -0.7 °C and -2.4 °C, besides, the shelf life was 13 d and 19 d respectively. However, the shelf life was 6 d under 4 °C. The ice temperature storage could effectively prolong the time of storage.

0 引言

传统的食品低温贮藏方式主要是冷冻贮藏和冷鲜贮藏。冷冻贮藏可以延长食品的货架期,但是解冻后食品汁液损失严重,致使营养物质大量流失^[1]。冷鲜贮藏(0~10 °C)可以解决食品冷冻贮藏解冻后汁液损失严重、品质和风味较差等问题^[1-2],但其贮藏食品的货架期较短。

冰温贮藏是指将食品放置在0 °C至冰点温度区间内的贮藏技术,是继冷鲜和冷冻之后的第三代低温贮藏技术^[3-4],可以一并解决冷冻贮藏营养物质流失严重和冷鲜贮藏货架期短的问题^[5-7]。冰温技术起源于日本,在日本、欧洲、美国等发达国家的水产品、农产品、畜禽肉制品贮藏上得到了广泛的应用,并且已经发展到超冰温、无水活鱼冰温运输、冰温干燥等水平^[8-10]。M. SIVERTSVIK等^[11]研究表明,大西洋鲑鱼在4 °C条件下贮藏7 d后变质,而在-2 °C条件下贮藏,感官货架期为21 d。在国内,冰温贮藏技术尚处在试验研究阶段。胡焯等^[12]研究表明,在4 °C条件下,大黄鱼在第14 d时保持二级鲜度,而在冰温条件下可保持同样鲜度到第22 d。张瑞宇等^[13]指出,在冰温条件下,新鲜猪肉贮藏至14 d仍然保持良好的鲜度,而冷鲜贮藏至第8 d就会腐败变质。冰温贮藏技术对温度精度要求极高,而食品的冰温带往往过窄,需要拓宽,目前可以通过添加冰点调节剂的方法扩宽食品的冰温带^[14-16],以便于

食品在冰温条件下贮藏。

目前,鸡肉的低温贮藏方式主要是冷冻贮藏和冷鲜贮藏,本文拟针对这两种贮藏方式存在的缺陷,对鸡胸肉在-0.7 °C冰温处理组、-2.4 °C复合冰点调节剂处理冰温处理组、4 °C冷鲜贮藏对照组3种不同贮藏条件下的品质变化进行分析,以期为鸡肉低温贮藏提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

鸡购于河南某鸡厂,宰杀、分割、冷却排酸后装入无菌袋内立即运到实验室,途中温度始终保持在0~4 °C范围内,到达实验室后在无菌条件下用无菌自封袋分装,备用。

1.2 主要试剂及仪器

1.2.1 主要试剂 平板计数琼脂培养基,北京双旋微生物培养基制品厂产;伊红美蓝琼脂培养基,北京奥博星生物技术有限责任公司产;轻质氧化镁(分析纯),湘中化学试剂有限公司产;盐酸(分析纯),烟台市双双化工有限公司产;硼酸(分析纯),天津市永大化学试剂有限公司产;无碘食盐(NaCl,食品级),中盐皓龙盐化有限责任公司产;山梨糖醇(食品级),华北制药华盈有限公司产;麦芽糊精(食品级),河南华森食品配料有限公司产。

1.2.2 主要仪器 K9840自动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司产;SHP-250智能生

化培养箱,上海鸿都电子科技有限公司产; LX - C35L 型立式自动电热压力蒸汽灭菌器,合肥华泰医疗设备有限公司产;LRH - CL 低温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司产;SW - CJ - 1FD 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司产;TA. XT. Plus 质构分析仪,英国 Stable Micro System 公司产;PHS - 3C 型雷磁 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司产.

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理 根据前期研究结果,鸡胸肉的冰点为 $-0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$,经复合冰点调节剂(5.42% NaCl + 7.36% 山梨糖醇 + 10.36% 麦芽糊精)处理后鸡胸肉的冰点为 $-2.4\text{ }^{\circ}\text{C}$,以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷鲜贮藏为对照组,将分装好的鸡胸肉随机均分成 3 组,分别置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-2.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏.其中, $-2.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏的鸡胸肉用复合冰点调节剂进行处理.

1.3.2 样品采集 在以上 3 种贮藏温度下,分别于第 0 d, 2 d, 4 d, 6 d, 8 d, 10 d, 13 d, 16 d, 19 d, 22 d 采样,进行剪切力、硬度、pH 值、挥发性盐基氮、菌落总数和大肠菌群指数的检测.

1.3.3 样品的测定方法

1.3.3.1 剪切力、硬度的测定 沿鸡胸肉肌纤维方向取 $3.0\text{ cm} \times 2.0\text{ cm} \times 2.0\text{ cm}$ 大小的肉块,待测.每次实验重复 5 次,取平均值. TA. XT. Plus 质构分析仪测试条件如下.

剪切力:测试探头 HDP/BSK;测前、测中速度 2 mm/s ,测后速度 5 mm/s ;测试距离 30 mm .

硬度:测试探头 P/35 圆柱形探头;测前、测中、测后速度分别为 2.0 mm/s , 1.0 mm/s , 5.0 mm/s ;压缩比 40%.

1.3.3.2 pH 值的测定 按照《GB/T 9695.5—2008 肉与肉制品 pH 值测定》^[17] 方法,采用 pH 计测定.

1.3.3.3 挥发性盐基氮的测定 参考《GB/T 5009.44—2003 肉与肉制品卫生标准的分析方

法》^[18] 中挥发性盐基氮(TVB-N)的测定方法,采用自动凯氏定氮仪对样品进行测定.

1.3.3.4 菌落总数和大肠菌群的测定 按照《GB/T 4789.2—2010 食品微生物学检验菌落总数测定》^[19] 对菌落总数进行测定.

按照《GB/T 4789.2—2003 食品微生物学检验大肠菌群测定》^[20] 对大肠菌群进行测定.

1.3.3.5 鸡胸肉货架期的预测 以贮藏时间为变化因子(X),以菌落总数对数值为指标(Y),采用 DPS 7.5 软件和 Excel 2007 软件进行一元非线性回归模型和规划求解分析,建立预测模型,进而对 3 种贮藏温度下鸡胸肉的货架期进行预测分析.

2 结果与讨论

2.1 剪切力、硬度的变化分析

剪切力大小可以反映肉的嫩度,剪切力越小,嫩度越大.图 1 为不同贮藏温度条件下鸡胸肉剪切力的变化.从图 1 可以看出,随着贮藏时间的延长,鸡胸肉在 3 种贮藏条件下的剪切力不断增大.在同一贮藏时间内,与 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏相比,冰温条件下贮藏的鸡胸肉剪切力值都较低,这可能是因为低温降低了内源性酶的活性及微生物的活动,延缓了蛋白质组织的降解,从而使鸡胸肉保持了较好的嫩度^[21].

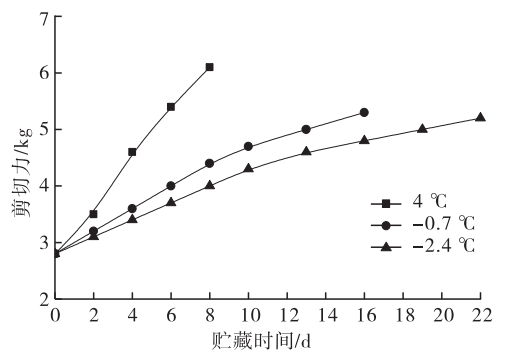


图 1 不同贮藏温度条件下鸡胸肉剪切力的变化
Fig. 1 Change in shear force of chicken breast at different storage temperatures

硬度是使鸡胸肉达到一定形变所需要的力的表征. 图2为不同贮藏温度条件下鸡胸肉硬度值的变化. 从图2可以看出, 随着贮藏时间的延长, 3种贮藏条件下鸡胸肉的硬度不断下降. 与4℃条件下的情况相比, 冰温条件下贮藏鸡胸肉硬度值下降趋势较缓, 这可能是因为低温可以抑制微生物和ATP酶的活性, 延缓了蛋白质的降解, 从而使肌肉硬度的下降速度减慢^[21-22].

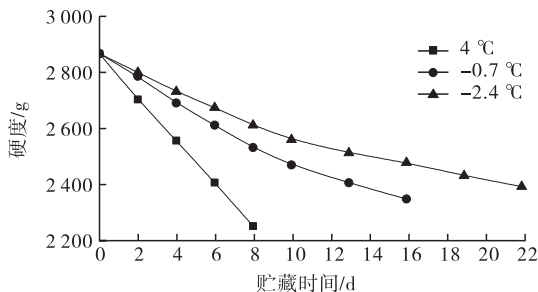


图2 不同贮藏温度条件下鸡胸肉硬度值的变
Fig. 2 Change in hardness of chicken breast at different storage temperatures

2.2 pH值的变化分析

参照文献^[23]的pH值评价标准: 一级鲜度pH值 $\leq 5.8 \sim 6.2$, 二级鲜度pH值 $\leq 6.3 \sim 6.6$, 腐败变质肉pH ≥ 6.7 . 图3为不同贮藏温度条件下鸡胸肉pH值的变化. 从图3可以看出, 在4℃条件下, pH值随着贮藏时间的延长迅速升高, 贮藏至第8d, pH值升至6.68, 几乎腐败变质; 在-0.7℃条件下, 贮藏至第16d时, pH值为6.44, 尚在二级鲜度范围内; 在-2.4℃条件下, 贮藏至第22d时, pH值为6.53, 仍在二级鲜度范围内. 可见, 贮藏温度对鸡胸肉pH值的变化有显著影响. 与4℃冷鲜贮藏相比, 冰温贮藏条件能够显著延缓鸡胸肉pH值的上升, 这可能是因为低温条件下, 鸡胸肉中微生物的增殖和影响糖酵解等物质能量代谢的酶活性均受到一定程度的抑制, 致使产酸反应减弱, 同时, 蛋白质和氨基酸被代谢会产

生碱性基团和胺类物质, 致使其pH值上升^[23].

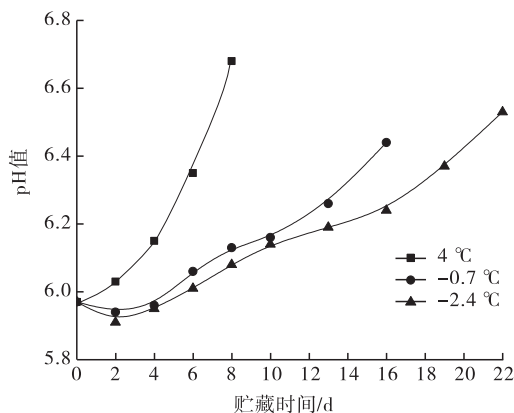


图3 不同贮藏温度条件下鸡胸肉pH值的变化
Fig. 3 Change of pH of chicken breast at different storage temperatures

2.3 TVB-N值的变化分析

图4为不同贮藏温度条件下鸡胸肉TVB-N值的变化. 从图4可以看出, 4℃贮藏条件下, 随贮藏时间延长, 鸡胸肉的TVB-N值迅速增加, 贮藏至第8d, TVB-N值为22.37 mg/100g, 已经超过《GB 16869—2005 鲜、冻禽产品》^[24]标准中规定的限值15 mg/100g; -0.7℃下贮藏至第13d, TVB-N值为14.78 mg/100g, 未超过标准要求; -2.4℃下贮藏至第22d才刚刚超过15 mg/100g. 与4℃冷鲜贮藏相比, 冰温条件下TVB-N值上升缓慢, 这可能是因为TVB-N值的变化与蛋白质的降解有关, 在贮藏过程中, 低温可以抑制相关酶的活性和微生物的增殖, 从而延缓酶和微生物对蛋白质的分解作用^[23], 使鸡胸肉的新鲜度在冰温条件下可以保持较长的时间.

2.4 菌落总数和大肠菌群的变化分析

图5为不同贮藏温度条件下鸡胸肉菌落总数的变化. 从图5可以看出, 在4℃条件下, 菌落总数增长迅速, 到第8d时, 菌落总数达 7.9×10^6 CFU/g, 超过《GB 16869—2005 鲜、冻禽产品》^[24]标准中规定的限值 1×10^6 CFU/g, 已经腐败变质; 在冰温条件下, 鸡胸肉的菌落总

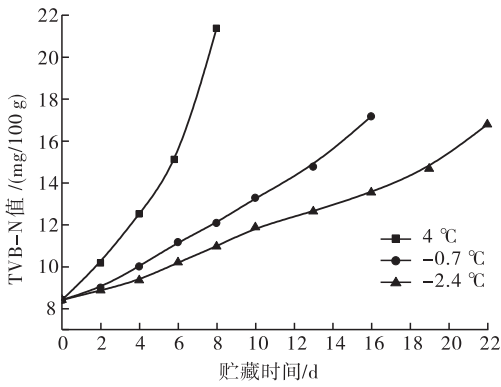


图4 不同贮藏温度条件下鸡胸肉TVB-N值的变化

Fig. 4 Change of TVB-N of chicken breast at different storage temperatures

数增长缓慢, $-0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 贮藏至第 13 d, 菌落总数才升至 $2.2 \times 10^5\text{ CFU/g}$; $-2.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 贮藏至第 19 d, 菌落总数为 $4.8 \times 10^5\text{ CFU/g}$, 仍未腐败变质. 从上述实验结果可知, 相对于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷鲜贮藏, 冰温条件能够很好地抑制微生物的生长, 这可能是因为冰温条件下, 水分子排布有序, 可供微生物利用的自由水含量较少, 微生物的生长繁殖受到抑制^[4].

图 6 为不同贮藏温度条件下鸡胸肉大肠菌群的变化. 从图 6 可以看出, 在贮藏过程中, 3 种温度条件下贮藏, 鸡胸肉大肠菌群均未超出《GB 16869—2005 鲜、冻禽产品》^[24] 标准中规定的限值 $1 \times 10^4\text{ MPN/100g}$. 与 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷鲜贮藏相比, 冰温条件下贮藏, 大肠菌群增长更缓慢, 说明冰温带温度对其生长产生了较好的抑制作用.

以贮藏时间为因子 (X), 菌落总数对数值为指标 (Y), 作鸡胸肉在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Y_1), $-0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Y_2), $-2.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Y_3) 条件下货架期的预测模型, 可以计算出菌落总数达到国标限值时的贮藏时间. 建模结果如下:

$$Y_1 = 8.2159 \times (1 - 0.612738 \times \exp(-0.020787 \times X_1 \times X_1))$$

其中, 相关系数 $R^2 = 0.9980$, 显著水平 $P < 0.01$.

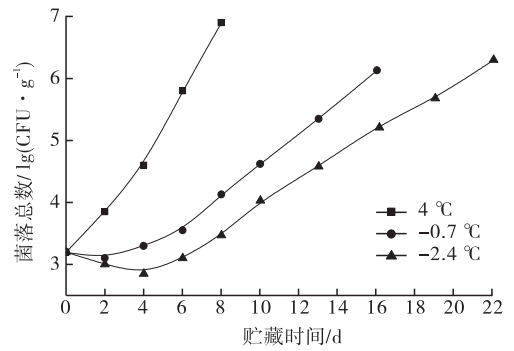


图5 不同贮藏温度条件下鸡胸肉菌落总数的变化

Fig. 5 Change of microbial counts of chicken breast at different storage temperatures

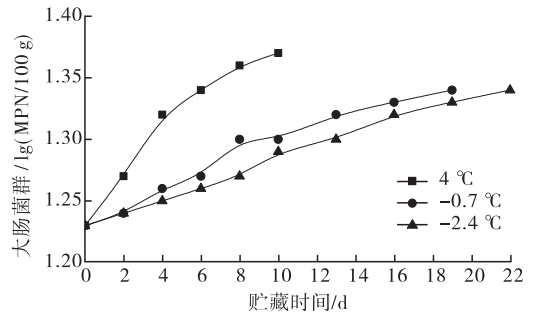


图6 不同贮藏温度条件下鸡胸肉大肠菌群的变化

Fig. 6 Change of coliforms of chicken breast at different storage temperatures

$$Y_2 = 11.5733 \times (1 - 0.742134 \times \exp(-0.002177 \times X_2 \times X_2))$$

其中, 相关系数 $R^2 = 0.9820$, 显著水平 $P < 0.01$.

$$Y_3 = 8.7325 \times (1 - 0.674006 \times \exp(-0.001856 \times X_3 \times X_3))$$

其中, 相关系数 $R^2 = 0.9787$, 显著水平 $P < 0.01$.

在这 3 个回归方程中, 相关系数 R^2 均大于 0.95, P 值均显著, 表明建立的回归方程具有很好的相关性, 能够准确地反应菌落总数的变化趋势. 根据《GB 16869—2005 鲜、冻禽产品》^[24] 规定的菌落总数限值 $1 \times 10^6\text{ CFU/g}$, 取对数后分别代入上述 3 个方程, 得出 3 种贮藏温度下鸡胸肉的货架期, 结果见表 1. 从表 1 可知, 相对误差均在 $\pm 10\%$ 以内, 说明根据此模型可以较准确地预测这 3 种贮藏条件下鸡胸肉的货架期.

表1 不同贮藏条件下鸡胸肉货架期
实测值和预测值结果

Table 1 Predicted and observed shelf life of chicken breast at different storage temperatures

贮藏温度/℃	货架期实测值/d	货架期预测值/d	相对误差/%
4	6.0	5.9	1.67
-0.7	13.0	14.1	8.46
-2.4	19.0	20.3	6.84

3 结论

本文以鸡胸肉为研究对象,以4℃冷鲜贮藏条件为对照,设置-0.7℃和-2.4℃两个冰温贮藏条件,通过定期对鸡胸肉的剪切力、硬度、pH值、TVB-N值、菌落总数和大肠菌群指标进行测定,研究不同贮藏条件下鸡胸肉品质的变化,得到以下结论。

1)在4℃贮藏条件下,剪切力,pH,TVB-N值,菌落总数随着贮藏时间的延长迅速上升,大肠菌群变化较快,硬度值迅速下降,鸡胸肉腐败变质速率较快。在-0.7℃和-2.4℃这两种冰温贮藏条件下,剪切力,pH,TVB-N值,菌落总数随着贮藏时间的延长上升速率缓慢,大肠菌群变化缓慢,硬度值下降速率缓慢,可以较好地保持鸡胸肉的品质。

2)以菌落总数为判断标准,经DPS 7.5和Excel 2007软件分析,在4℃,-0.7℃,-2.4℃这3种贮藏条件下的货架期预测模型分别为

$$Y_1 = 7.957 \times (1 - 0.585964 \times \exp(-0.021957 \times X_1 \times X_1))$$

$$Y_2 = 6.5052 \times (1 - 0.561565 \times \exp(-0.007937 \times X_2 \times X_2))$$

$$Y_3 = 8.6974 \times (1 - 0.668227 \times \exp(-0.001943 \times X_3 \times X_3))$$

由上式可知,4℃条件下鸡胸肉的货架期为6d,-0.7℃时为13d,-2.4℃时为19d,冰温贮藏条件有效地延长了鸡胸肉的货架期。

参考文献:

- [1] 王艳芳,林捷,郑华. 冷冻鸡肉品质的研究进展[J]. 肉类研究,2013,27(2):28.
- [2] 池泽玲. 冷却肉保鲜技术的研究进展[J]. 肉类研究,2008(7):17.
- [3] 申江,王晓东,王素英,等. 冰温技术应用实验研究[J]. 制冷学报,2009,30(4):40.
- [4] 张娟,姜永江. 冰温技术及其在食品保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发,2007,27(8):150.
- [5] KAALE L D, EIKEVIK T M, RUSTAD T, et al. Superchilling of food: a review[J]. Journal of food engineering, 2011,107:141.
- [6] OLAFSDOTTIR G, LAUZON H L, MARTINSDÓTTIR E, et al. Evaluation of shelf life of superchilled cod (*Gadus morhua*) fillets and the influence of temperature fluctuations during storage on microbial and chemical quality indicators[J]. Journal of food science,2006,71(2):97.
- [7] SHAO X L, LI Y F. Quality control of fresh sweet corn in controlled freezing-point storage[J]. African journal of biotechnology,2011,10(65):14534.
- [8] 朱志强,张平,任朝晖,等. 国内外冰温保鲜技术研究与应用[J]. 农产品加工·学刊,2011(3):4.
- [9] 孙天利,武俊瑞,岳喜庆. 冰温技术在食品领域中的应用研究[J]. 农业科技与装备,2013(2):54.
- [10] 周菲菲,肖更生,傅曼琴,等. 四种肉类保鲜新技术的研究现状与展望[J]. 食品安全质量检测学报,2014,5(2):586.
- [11] SSVERTSVIK M, ROSNES J T, KLEIBERG G H. Effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and sensory quality of atlantic aalmon (*Salmo salar*) fillets[J]. Journal of food science,2003,68(4):1467.
- [12] 胡焯. 大黄鱼冰温保藏关键技术研究及应用[D]. 舟山:浙江海洋学院,2013.
- [13] 张瑞宇,殷翠茜. 新鲜猪肉冰温保鲜的研究[J]. 食品科技,2006(2):113.
- [14] 吴汶飞,余小林,胡卓炎,等. 鲜切荔枝果肉冰点调节工艺[J]. 食品与发酵工业,2011,37(10):198.
- [15] 韩利英,张慇. 鲫鱼块冰点调节剂的研究[J]. 食品与生物技术学报,2009,28(6):759.
- [16] 宋秀香,鲁晓翔,李江阔. 绿芦笋冰点调节剂的研究[J]. 食品工业,2013,34(1):89.



引用格式:纵伟,付玉洁,张康逸,等. 红枣多糖水解工艺优化及其产物吸湿性能、保湿性能研究[J]. 轻工学报,2016,31(1):23-28.

中图分类号:TS255.3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.005

文章编号:2096-1553(2016)01-0023-06

红枣多糖水解工艺优化及其产物吸湿性能、保湿性能研究

Optimization of jujube polysaccharide hydrolysis technology and study on hygroscopicity, moisture retention of products

纵伟^{1,2}, 付玉洁^{1,2}, 张康逸^{2,3}, 张丽华^{1,2}, 董宇^{1,2}, 刘梦培^{1,2}

ZONG Wei^{1,2}, FU Yu-jie^{1,2}, ZHANG Kang-yi^{2,3}, ZHANG Li-hua^{1,2}, DONG Yu^{1,2}, LIU Meng-pei^{1,2}

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;

2. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001;

3. 河南省农业科学院, 河南 郑州 450000

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

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

3. He'nan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450000, China

关键词:

红枣多糖; 水解产物;
吸湿性; 保湿性

Key words:

jujube polysaccharide;
hydrolysis product;
hygroscopicity; moisture
retention

摘要:以还原糖得率为指标,研究了水解时间、水解温度和硫酸浓度对红枣多糖水解的影响,在单因素试验的基础上采用正交试验优化红枣多糖水解的工艺条件;对水解产物的吸湿性能和保湿性能进行研究,并考察主要水解产物还原糖含量与其吸湿性能和保湿性能之间的相关性.结果表明:红枣多糖水解的最佳工艺条件为水解时间120 min,水解温度70℃,硫酸浓度0.15 mol/L,在此条件下还原糖得率为97.56%;红枣多糖水解产物具有较强的吸湿性和保湿性,相同条件下与甘油差异不显著;水解产物的吸湿性能、保湿性能与还原糖含量均呈正向线性相关,且线性相关系数分别为0.905和0.919.红枣多糖水解产物在食品、化妆品生产领域有很好的应用前景.

收稿日期:2015-08-07

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD36B07);河南省高等学校食品加工与安全重点学科开放实验室开放基金项目(2013);国家大学生创业训练计划项目(201410462025);郑州轻工业学院大学生创新实验项目(2014DC025)

作者简介:纵伟(1965—),男,安徽省萧县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为功能食品.

Abstract: Using reducing sugar yield as index, the effect of hydrolysis time, hydrolysis temperature and sulfuric acid concentration on jujube polysaccharide hydrolysis was studied. Based on single factor test, orthogonal test was used to optimize the jujube polysaccharide hydrolysis conditions. Then the hygroscopicity, moisture retention of hydrolysis product were studied. And the correlation between the reducing sugar content of hydrolysis product and its hygroscopicity and moisture retention was investigated. The results showed that the optimization conditions of jujube polysaccharide hydrolysis were as follows: hydrolysis time 120 min, hydrolysis temperature 70 °C, sulfuric acid concentration 0.15 mol/L. Under this condition, the reducing sugar yield was 97.56%. The jujube polysaccharide hydrolysis products had good hygroscopicity and moisture retention, no significant difference than that of glycerol in the same conditions. The hygroscopicity and moisture retention of hydrolysis product had positively linear correlation with reducing sugar content, and the linear correlation coefficient were 0.905 and 0.919, respectively. The jujube polysaccharide hydrolysis products had a good application prospect in the field of food and cosmetics production.

0 引言

红枣营养丰富,红枣多糖为红枣的主要功效成分,具有抗氧化、增强免疫力和降血糖等保健作用^[1-2]。近年来的研究发现,多糖进行水解后的低聚糖具有许多独特的生物学活性,具有如活化增殖双歧杆菌、预防胃溃疡、降血糖、降血脂和降血压等功能作用^[3-4],且水解后水溶性较好。因此,将大分子的植物多糖水解为低聚糖,遂成为研究热点。其中既有多种植物多糖的水解研究^[5-6],还有对植物多糖水解得到低聚糖的功能特性的研究^[7-8]。而对红枣多糖水解和水解得到低聚糖特性的研究,目前还鲜见报道。鉴于此,本文拟采用酸法水解制备红枣低聚糖,并对红枣低聚糖的特性进行研究,以期对红枣多糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

主要材料:红枣为灰枣,无病虫害,无霉变,由好想你枣业股份有限公司提供。

主要试剂:甘油、葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸(DNS)、浓硫酸、氢氧化钠、无水乙醇等,均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司产。

主要仪器:101-2型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司产;XY-FD-18型

真空冷冻干燥机,上海欣渝仪器有限公司产;752型紫外可见分光光度计,上海菁华科技有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 红枣多糖的制备 将红枣挑拣清洗后,去核,按料液比为1:4(w/v)加入去离子水,在80 °C的水浴锅中浸提4 h,5 000 r/min离心30 min后收集上清液,再次用同样的方法将枣渣浸提、离心,收集上清液,合并两次的上清液后,浓缩,加入3倍体积的无水乙醇,搅拌30 min,将混合物放在4 °C的冰箱中冷藏静置24 h后取出,5 000 r/min离心10 min后,分离出下层的醇沉物,冷冻干燥机干燥后作为红枣多糖样品,置于干燥箱中干燥备用^[9]。

1.2.2 红枣多糖的水解 取10 g红枣多糖放在烧杯中,加入50 mL的0.05~0.25 mol/L硫酸溶液,混合均匀后置于40~80 °C的水浴中水解30~180 min,用0.5 mol/L的氢氧化钠溶液中和,至pH=7,测定还原糖含量。

1.2.3 红枣多糖水解条件的正交试验优化 先进行红枣多糖水解的单因素试验,根据单因素试验的结果,对影响红枣多糖水解还原糖得率的水解时间(A),水解温度(B),硫酸浓度(C),通过 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验设计,空列(D)用于误差分析。正交试验的因素、水平

表见表 1.

表 1 正交试验的因素、水平表

Table 1 The factors level table of orthogonal test

水平	A/min	B/°C	C /(mol · L ⁻¹)	D
1	100	50	0.05	1
2	120	60	0.10	2
3	140	70	0.15	3

1.2.4 还原糖得率的计算 取 10 g 红枣多糖,采用苯酚-硫酸法^[10]测定其中纯多糖含量 W_1 . 将多糖水解后,根据 DNS 法测定还原糖质量 W_2 ^[11],其中反映并描述葡萄糖浓度 y /(mg · mL⁻¹)与吸光度 x 之间关系的方程为 $y = 0.3727x + 0.0066$, $R^2 = 0.9997$. 则还原糖得率

$$Y = (W_2/W_1) \times 100\%$$

1.2.5 水解产物的吸湿进程 将一定量的水解产物(W_1)经冷冻干燥后,置于干燥器中,采用饱和硫酸钠溶液维持干燥器的相对湿度为 43% RH,水解产物在干燥器中分别放置 6 h, 12 h, 24 h, 36 h 后,称量其质量(W_2),吸湿率 $X = (W_2 - W_1)/W_1 \times 100\%$,同时,在相同的条件下测定甘油的吸湿率作为对照^[12].

1.2.6 水解产物的保湿进程 称取一定量的水解产物(W_1),经冷冻干燥后置于干燥器中,并且用变色硅胶维持无水干燥条件,分别加入质量分数为样品量 10% 的水分,添加水分量记为 H_0 ,分别放置 0 h, 6 h, 12 h, 24 h, 36 h 后,称量其质量(H_n),水分残存率 $R = (H_n - W_1)/H_0 \times 100\%$,在相同条件下测定甘油的水分残存率作为对照^[13].

1.2.7 还原糖含量对水解产物吸湿性能、保湿性能的影响 取 10 g 还原糖含量不同的多糖水解产物,分别测定相对湿度为 43% RH,放置 12 h 的吸湿率和干燥情况下放置 12 h 的水分残存率,然后计算还原糖含量与吸湿率、水分残

存率之间的相关性.

1.2.8 数据处理 每组数据平行测定 3 次,采用 SPSS 软件进行数据分析.

2 结果与讨论

2.1 红枣多糖水解的单因素试验

2.1.1 时间对红枣多糖水解的影响 取 10 g 红枣多糖置于烧杯中,加入 50 mL 的 0.1 mol/L 硫酸溶液,混合均匀后置于 80 °C 的水浴中水解 30 ~ 180 min,用 0.5 mol/L 的氢氧化钠溶液中和,至 pH = 7,测定还原糖含量,计算还原糖得率,结果如图 1 所示.

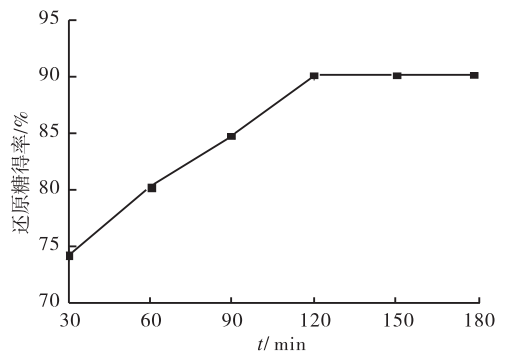


图 1 水解时间对红枣多糖水解后还原糖得率的影响

Fig. 1 Effect of hydrolysis time on the reducing sugar yield after jujube polysaccharide hydrolysis

由图 1 可知,随着水解时间的延长,还原糖得率也逐渐增加,在 120 min 时达到了最大值而后趋于平稳. 因此,为了节约成本,水解时间控制在 120 min 左右为宜.

2.1.2 温度对红枣多糖水解的影响 取 10 g 红枣多糖置于烧杯中,加入 50 mL 的 0.1 mol/L 硫酸溶液,混合均匀后置于 40 ~ 80 °C 的水浴中水解 120 min,用 0.5 mol/L 的氢氧化钠溶液中和,至 pH = 7,测定还原糖含量,计算还原糖得率,结果如图 2 所示.

由图 2 可知,随着水解温度的升高,多糖水解后还原糖得率呈先增加后减少的趋势,在

60 ℃时达到最大值. 当温度超过 60 ℃时, 得率略有下降, 这可能是温度较高时, 还原糖与粗多糖中的杂质发生了反应. 因此, 水解温度控制在 60 ℃左右为宜.

2.1.3 硫酸浓度对红枣多糖水解的影响 取 10 g 红枣多糖置于烧杯中, 加入不同浓度的硫酸溶液 (0.05 ~ 0.25 mol/L), 混合均匀后置于 60 ℃的水浴中水解 120 min, 用 0.5 mol/L 的氢氧化钠溶液中和, 至 pH = 7, 测定还原糖含量, 计算还原糖得率, 结果如图 3 所示.

由图 3 可知, 随着硫酸浓度的不断增加, 还原糖得率呈先增加后减少的趋势. 当硫酸浓度为 0.10 mol/L 时, 还原糖得率达到最大值, 因

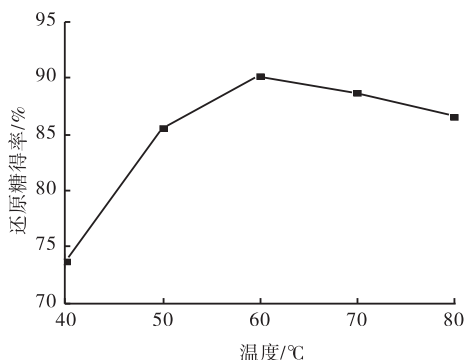


图 2 水解温度对红枣多糖水解后还原糖得率的影响

Fig. 2 Effect of hydrolysis temperature on the reducing sugar yield after jujube polysaccharide hydrolysis

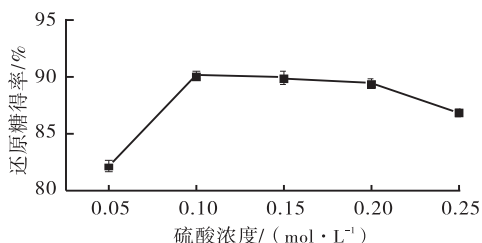


图 3 硫酸浓度对红枣多糖水解后还原糖得率的影响

Fig. 3 Effect of sulfuric acid concentration on the reducing sugar yield after jujube polysaccharide hydrolysis

此硫酸浓度控制在 0.10 mol/L 为宜.

2.2 红枣多糖水解条件的正交试验优化

红枣多糖水解条件的正交试验优化结果见表 2.

表 2 红枣多糖水解条件的正交试验优化结果表
Table 2 The orthogonal test optimization results table of jujube polysaccharide hydrolysis conditions

编号	A/min	B/℃	C/(mol·L ⁻¹)	D	还原糖得率/%
1	1	1	1	1	86.25
2	1	2	2	2	87.49
3	1	3	3	3	90.88
4	2	1	1	1	86.25
5	2	2	2	2	94.47
6	2	3	3	3	97.49
7	3	1	2	3	88.51
8	3	2	3	1	87.58
9	3	3	1	2	83.41
γ_1	88.207	87.003	90.440	88.043	
γ_2	92.737	89.847	85.717	91.163	
γ_3	86.500	90.593	91.287	88.237	
R	6.237	3.590	5.570	3.120	

由表 2 可知, 3 个因素对红枣多糖水解影响的主次关系分别为 $A > C > B$, 表明红枣多糖水解的最佳条件为 $A_2B_3C_3$, 即水解时间 120 min, 水解温度 70 ℃, 硫酸浓度 0.15 mol/L, 在该优化条件下进行 3 次平行验证试验, 还原糖得率可达 97.56%.

对各因素对还原糖得率的影响进行方差分析, 结果见表 3. 由表 3 可知, 水解时间和水解温度对还原糖得率的影响达到了显著水平, 其他因素对还原糖得率的影响不显著.

表 3 方差分析结果表

Table 3 The table of variance analysis results

因素	平方和	自由度	F 比	显著性
A	62.330	2	1.596	显著
B	21.530	2	0.551	不显著
C	54.052	2	1.384	不显著
D	18.337	2	0.469	不显著
误差	156.25	8		

2.3 红枣多糖水解产物的吸湿性能和保湿性能

红枣多糖水解产物的吸湿进程和保湿进程分别如图4和图5所示.由图4可以看出,红枣多糖水解产物在43% RH条件下,吸湿率随着时间的延长而增加,表明其具有较好的吸湿性能,相同条件下与甘油的吸湿率差异不显著.由图5可以看出,在有硅胶的干燥环境下,随着时间的延长,红枣多糖水解产物放置48 h后,水分残存率仍然为42.2%,表明其具有较强的保湿性能,并且与相同条件下甘油水分残存率差异不显著.

2.4 还原糖含量对红枣多糖水解产物的吸湿性能、保湿性能影响

本试验采用的红枣多糖是通过水提取和乙醇沉淀得到的粗红枣多糖,其中除含有多糖成

分外,还含有蛋白质、多酚等杂质,水解产物的吸湿性能、保湿性能与还原糖含量密切相关.还原糖含量对红枣多糖水解产物的吸湿性能、保湿性能影响见图6和图7.

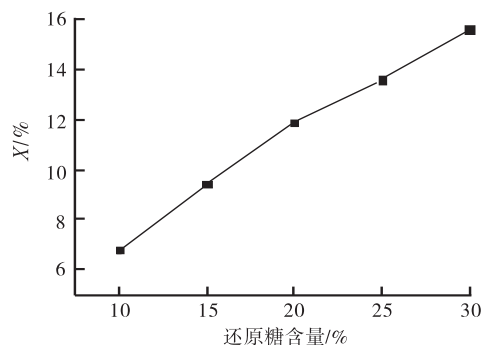


图6 还原糖含量对红枣多糖水解产物吸湿性能影响

Fig. 6 The effect of reducing sugar content on the hygroscopicity of jujube polysaccharide hydrolysis products

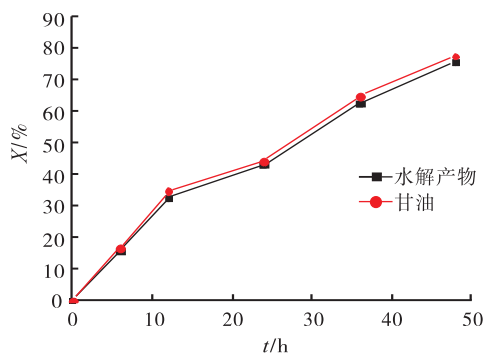


图4 红枣多糖水解产物的吸湿进程

Fig. 4 The hygroscopicity process of jujube polysaccharide hydrolysis products

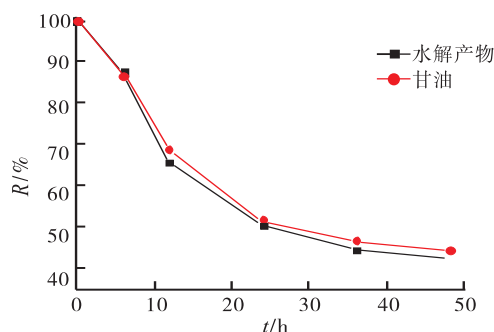


图5 红枣多糖水解产物的保湿进程

Fig. 5 The moisture retention process of jujube polysaccharide hydrolysis products

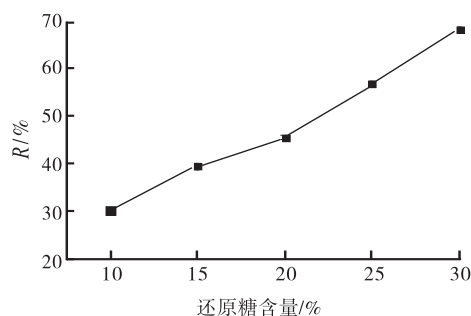


图7 还原糖含量对红枣多糖水解产物保湿性能影响

Fig. 7 The effect of reducing sugar content on the moisture retention of jujube polysaccharide hydrolysis products

由图6和图7可以看出,红枣多糖水解产物吸湿性能、保湿性能与还原糖含量呈正向线性相关,其线性相关系数分别为0.905和0.919.这表明吸湿性能、保湿性能主要是由于多糖水解产物的作用.

3 结论

本文以还原糖得率为指标,通过单因素试

验和正交试验优化,考察了水解时间、水解温度和硫酸浓度对红枣多糖水解的影响,得到了红枣多糖水解的最佳工艺条件:水解时间120 min,水解温度70 ℃,硫酸浓度0.15 mol/L,在该优化条件下进行3次平行试验得到的还原糖得率为97.56%。对红枣多糖水解产物的吸湿性能和保湿性能进行研究,结果表明,红枣多糖水解产物具有较强的吸湿性和保湿性,其效果与相同条件下甘油差异不显著。研究主要水解产物还原糖含量与其吸湿性能和保湿性能之间的相关性,得到二者与还原糖含量均呈正向线性相关,且线性相关系数分别为0.905和0.919。上述结果表明,红枣多糖水解产物在食品、化妆品中都具有很好的应用前景。

参考文献:

[1] 孟君,任向莉,蒋玲.用 ICP-AES 法测定不同地域枣中铁含量[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2010, 25(4):32.
 [2] 纵伟,张丽华,张沙沙,等.胶体磨处理对鲜枣浆黏度特性的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2014, 29(6):25.
 [3] 余钰骢,古扎努尔,应铁进.灵芝结构多糖水解物的生物活性及提取工艺研究[J]. 中国食品学报,2014, 14

(3):40.

[4] 刘锐,邬许晨,史春悦,等.枸杞多糖及其水解产物的抗氧化活性研究[J]. 中国果菜,2014, 34(4):1.
 [5] 陈萍,苗晓燕,何富强.芦荟多糖提取及酸水解动力学研究[J]. 北方园艺,2014 (12):110.
 [6] 孙元琳,申瑞玲,汤坚,等.当归多糖的水解特征及其水解产物分析[J]. 分析化学,2008,36(3):348.
 [7] 游丽君,刘钧发,冯梦莹,等.酶法水解金针菇多糖及其产物特性分析[J]. 现代食品科技, 2013, 29(7): 1486.
 [8] 梁敏,邹东恢,郭宏文,等.复合酶法提取金针菇多糖及光谱分析[J]. 湖北农业科学,2012,51(6):1210.
 [9] 张耀雷,黄立新,张彩虹,等.壶瓶枣干燥预处理及提取工艺对其多糖得率的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2014,26(5):721.
 [10] 王文平,郭祀远,李琳,等.苯酚-硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究[J]. 食品科学,2007,28(4):276.
 [11] 王影影,李雪梅,殷向晨.马铃薯全粉中还原糖测定方法比较[J]. 济宁学院学报,2011,32(3):33.
 [12] 李咏梅,宁正祥.羧甲基低聚果糖的吸湿保湿和抗氧化性质研究[J]. 现代食品科技,2008, 24(11):1121.
 [13] KENNEDY J, AUCLAIR K, KENDREW S G, et al. Modulation of polyketide synthase activity by accessory proteins during lovastatin biosynthesis [J]. Science, 1999, 284:1368.

(上接第22页)

[17] 全国食品工业标准化技术委员会肉禽蛋制品分技术委员会.信息与文献 肉与肉制品 pH 值测定:GB/T 9695.5—2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
 [18] 中华人民共和国卫生部.信息与文献 肉与肉制品卫生标准的分析方法:GB/T 5009.44—2003[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
 [19] 中华人民共和国卫生部.信息与文献食品微生物学检验菌落总数测定:GB/T 4789.2—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
 [20] 中华人民共和国卫生部.信息与文献 食品微生物学检验大肠菌群测定:GB/T 4789.2—2003[S]. 北京:中国

标准出版社,2003.

[21] 孙天利.冰温保鲜技术对牛肉品质的影响研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2013.
 [22] 李立杰.南美白对虾贮藏时质构和色差的变化研究[D]. 天津:天津商业大学,2014.
 [23] 肖红,谢晶.不同贮藏温度下冷却肉品质变化的实验研究[J]. 制冷学报,2009,30(3):40.
 [24] 全国食品工业标准化技术委员会、卫生部卫生标准技术委员会食品卫生标准专业委员会.信息与文献 鲜、冻禽产品:GB 16869—2005[S]. 北京:中国标准出版社,2005.



引用格式:申瑞玲,张文杰,董吉林.酶-热水浸提法提取藜麦麸水溶性非淀粉多糖工艺研究[J].轻工学报,2016,31(1):29-34.

中图分类号:TS210.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.006

文章编号:2096-1553(2016)01-0029-06

酶-热水浸提法提取藜麦麸水溶性非淀粉多糖工艺研究

Extraction process of water-soluble non-starch polysaccharides from *Chenopodium quinoa* willd bran by enzyme-water method

申瑞玲,张文杰,董吉林

SHEN Rui-ling, ZHANG Wen-jie, DONG Ji-lin

郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

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

关键词:

藜麦麸;水溶性非淀粉多糖;酶-热水浸提法

Key words:

Chenopodium quinoa willd bran; water-soluble non-starch polysaccharide; enzyme-water method

摘要:以藜麦麸为原料,采用酶-热水浸提法对藜麦麸水溶性非淀粉多糖(NSP)提取工艺进行研究.利用苯酚-硫酸法测定NSP的得率,通过单因素试验和正交试验确定最佳提取工艺条件:料液比(w/v)为1:16,复合多糖酶添加量为2.0 mg/g,浸提温度为90℃,浸提时间为100 min.该试验条件下藜麦麸水溶性NSP得率为7.55%.与其他提取方法相比,该法提取水溶性NSP的得率较高,对藜麦麸的利用更加充分,且浸提溶剂为水,在提取过程中没有强酸强碱性废液产生,不会造成环境污染.

收稿日期:2015-08-28

基金项目:国家自然科学基金项目(31271854);郑州轻工业学院研究生科技创新基金项目(2014025)

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

Abstract: Using *Cheopodium quinoa* willd bran, the extraction process of water-soluble non-starch polysaccharides (NSP) was studied by enzyme-water method. Phenol-sulfate method was used to measure the yield of NSP. The optimal extraction conditions were determined through single factor assay and orthogonal assay. The results showed that the optimal extraction conditions were material-liquid ratio (w/v) 1 : 16, the addition of viscozyme 2.0 mg/g, extraction temperature 90 °C, extraction time 100 min. Under the experiment conditions, the yield of NSP was 7.55%. Compared with other extraction methods, the extraction yield of water-soluble NSP was higher, to the use of *Cheopodium quinoa* willd bran more fully. And because extraction solvent was water, there was no strong acid alkali waste liquid generated in extraction process, which would not cause environmental pollution.

0 引言

藜麦(*Chenopodium quinoa* willd)属于苋科藜属假谷物,是目前联合国国际粮农组织(FAO)确认的唯一能满足人体基本营养需求的单体植物,已被正式推荐为最适宜人类的完美“全营养食品”^[1]。藜麦因其丰富的营养价值和健康功效成为了研究的热点,我国对“超级谷物”藜麦的研究还处于种植和初级加工阶段^[2]。藜麦麸是藜麦籽粒最外层的表皮,是藜麦初级加工过程的副产物,但其膳食纤维含量高达40%。藜麦非淀粉多糖(NSP)是藜麦膳食纤维的主要成分,包括水溶性组分和水不溶性组分。谷物麸多用作动物饲料,早期的研究认为,谷物麸中的部分水溶性黏性多糖会抑制动物的正常消化功能,妨碍动物对营养物质的吸收。但是越来越多的研究表明,水溶性多糖具有预防癌症、调节免疫力、保护胃肠道黏膜等多种保健作用^[3-4],是人体需要的重要营养成分。L. M. LAMOTHE 和 L. M. C. CORDEIRO 等^[5-6]研究发现,藜麦膳食纤维富含果胶多糖、木聚糖和阿拉伯聚糖,表现出良好的保护黏膜、抗击肠道溃疡的活性,这引起了学者们的关注。

藜麦麸皂苷含量高,味道苦涩,若作为原料直接添加到食物中制成高纤维产品,则口感较差^[7]。为了研究藜麦 NSP 对人体的保健作用,充分利用藜麦麸,本文拟以藜麦麸为主要原料,

采用酶-热水浸提法进行藜麦麸水溶性 NSP 的提取,并对其工艺进行优化,以期对藜麦膳食纤维类功能产品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

主要材料与试剂:藜麦麸,由山西亿隆藜麦开发有限公司提供,经测定麦麸水溶性膳食纤维含量为10.45%;复合多糖酶(*Viscozyme L*),丹麦 Novo Nordisk 公司产;高峰 α -淀粉酶、糖化酶,上海源叶生物科技有限公司产;D-葡萄糖标准对照品(纯度 $\geq 99.5\%$),美国 Sigma 公司产;乙醚、无水乙醇、苯酚、氢氧化钠,均为分析纯,天津市富宇精细化工有限公司产;硫酸、盐酸,均为分析纯,开封市芳晶化学试剂有限公司产。

主要仪器:TU-1810型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司产;YFS30 \times 8新国标型圆形筛粉筛,杭州大成光电仪器有限公司产;HWS26型电热恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司产;RE-52AA型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂产;TD5A-WS型台式低速离心机,户湘仪有限公司产;FD-LA-50型冷冻离心机,北京博医康实验仪器有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 原料预处理 \rightarrow 复合多糖酶作用 \rightarrow 灭酶 \rightarrow 热水浸提 \rightarrow 过滤 \rightarrow 耐

热 α -淀粉酶作用 \rightarrow 灭酶 \rightarrow 糖化酶作用 \rightarrow 灭酶 \rightarrow 等电点沉淀法去蛋白质 \rightarrow 过滤 \rightarrow 真空浓缩 \rightarrow 4倍体积乙醇沉淀 \rightarrow 过滤 \rightarrow 取沉淀 \rightarrow 洗涤 \rightarrow 冷冻干燥 \rightarrow 粗多糖NSP.

1.2.2 操作要点 1)原料预处理:将藜麦麸粉碎过51目筛,用乙醚回流脱脂($w/v=1:7$)两次,常温风干过夜.

2)复合多糖酶作用:将脱脂藜麦麸与水按料液比(w/v) $=1:8\sim 1:24$ 的比例调配,添加 $0.5\sim 2.5\text{ mg/g}$ 的复合多糖酶,于 $45\text{ }^\circ\text{C}$,pH值为3.5的条件下处理30 min.

3)灭酶:复合多糖酶处理后,于 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下灭酶10 min.

4)热水浸提:灭酶后冷却,调节料液pH值为 $7.0\sim 11.0$,在温度 $75\sim 95\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下,热水浸提 $60\sim 140\text{ min}$.

5)过滤:热水提取后的样品离心过滤,取上清液.

6)耐热 α -淀粉酶作用:离心过滤后上清液加入适量耐热 α -淀粉酶除去淀粉,用碘试剂检测淀粉是否已除去,直到碘试剂不变蓝.

7)糖化酶作用:加入 100 u/g 原料的糖化酶,在 $60\text{ }^\circ\text{C}$,pH值为4.5条件下,处理30 min.

8)等电点沉淀法去蛋白质:分别在藜麦蛋白质等电点pH值为4.0和9.0时将蛋白沉淀去除.

9)洗涤:乙醇沉淀离心过滤后,用95%乙醇洗涤沉淀3次.

1.2.3 藜麦可溶性NSP得率的测定 采用苯酚-硫酸法测定NSP得率.以葡萄糖为标准对照,配制 $10\sim 60\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度范围的葡萄糖标准溶液, y 为吸光度值, x 为葡萄糖浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-1})$,得到标准曲线 $y=0.0087x+0.0093(R^2=0.9973)$.

$$\text{NSP得率} = \frac{\text{提取液中NSP含量}}{\text{藜麦麸质量}} \times 100\%$$

1.3 单因素试验

料液比:称取30 g藜麦麸,经过预处理,以料液比(w/v)分别为 $1:8, 1:12, 1:16, 1:20, 1:24$ 的配比加水,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中复合多糖酶添加量为 2.0 mg/g ,热水提取步骤中溶液pH值为7.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$,时间100 min.

复合多糖酶添加量:称取30 g藜麦麸,经过预处理,在料液比(w/v) $1:16$,温度 $45\text{ }^\circ\text{C}$,pH值为3.5条件下,复合多糖酶添加量分别为 $0.5\text{ mg/g}, 1.0\text{ mg/g}, 1.5\text{ mg/g}, 2.0\text{ mg/g}, 2.5\text{ mg/g}$,水解30 min.然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中热水提取步骤中溶液pH值为7.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$,时间100 min.

浸提液pH值:称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比(w/v) $1:16$,复合多糖酶添加量为 2.0 mg/g ,热水浸提步骤中分别调溶液pH值为 $7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0$,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$,时间100 min.

浸提温度:称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比(w/v) $1:16$,复合多糖酶添加量为 2.0 mg/g ,热水浸提温度分别为 $75\text{ }^\circ\text{C}, 80\text{ }^\circ\text{C}, 85\text{ }^\circ\text{C}, 90\text{ }^\circ\text{C}, 95\text{ }^\circ\text{C}$,pH值为7.0,热水提取时间100 min.

浸提时间:称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比(w/v) $1:16$,复合多糖酶添加量为 2.0 mg/g ,热水浸提步骤中溶液pH值为9.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$,热水浸提时间分别为 $60\text{ min}, 80\text{ min}, 100\text{ min}, 120\text{ min}, 140\text{ min}$.

1.4 正交试验优化

在单因素试验的基础上,选取料液比(A)、复合多糖酶添加量(B)、热水浸提温度(C)、热水浸提时间(D)4个主要影响因素,以NSP得率为指标,进行正交试验(见表1),以确定最佳

提取工艺.

表1 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	A(w/v)	B/(mg·g ⁻¹)	C/°C	D/min
1	1:12	1.5	80	80
2	1:16	2.0	85	100
3	1:20	2.5	90	120

1.5 数据处理

采用 Origin 8.6.0 和 SPASS 17.0 统计分析软件对数据进行分析.

2 结果与讨论

2.1 各因素对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

2.1.1 料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 1 所示.由图 1 可知,随着料液比的增大,NSP 得率先升高后降低,当料液比(w/v)达到 1:16 时,NSP 得率达到最大值 7.31%.这可能是由于料液比较低时,多糖溶出不充分;料液比(w/v)从 1:8 增大到 1:16 的过程中,有更多的溶剂渗透到物料中,多糖与溶剂的接触面积增大,有利于提取,同时,添加的复合多糖酶能够与料液中的底物充分反应,因此提高了 NSP 的得率;当料液比继续增大,料液中多糖浓度和酶浓度均被稀释,反应不彻底,此外,在后续真空浓缩过程中损耗较多,使得 NSP 得率降低.因此,将料液比(w/v)的水平范围定为 1:12~1:20.

2.1.2 复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 2 所示.由图 2 可知,复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响非常显著.随着复合多糖酶添加量的增大,NSP 得率明显升高,当酶添加量为 2.0 mg/g 时,NSP 得率达最高,为 7.32%,此后再增加酶的添加量,NSP 得率开始降低.这是因为 NSP 属于细胞壁多糖,复合多糖

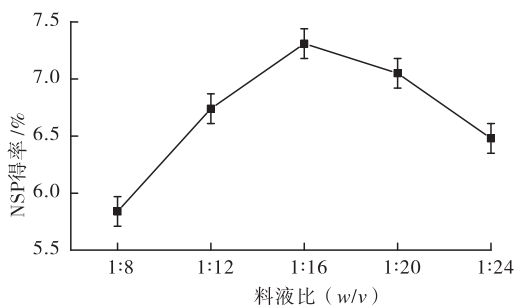


图 1 料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on the yield of NSP

酶能够将藜麦麸细胞壁纤维组织分解,有助于可溶性 NSP 的溶出.当酶的添加量较低时,细胞壁组织分解不完全,当酶的添加量高于适合浓度时,复合多糖酶会将已经溶出的 NSP 继续分解成小分子糖,使其在醇沉淀过程中因无法沉淀而被除去,造成 NSP 得率降低^[8].因此,将复合多糖酶添加量的水平范围定为 1.5~2.5 mg/g.

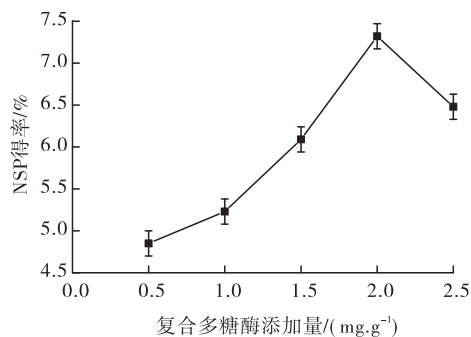


图 2 复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

Fig. 2 Effect of viscozyme concentration on the yield of NSP

2.1.3 浸提液 pH 值对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同浸提液 pH 值对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 3 所示.由图 3 可知,在浸提液 pH 值从 7.0 升至 11.0 的过程中,NSP 得率呈先增大后减小的趋势,当 pH 值为 9.0 时,NSP 得率最高,但是 pH 值在 9.0~11.0 之间时 NSP 得率变化幅度较小,说明在弱

碱条件下,pH值对NSP得率的影响不显著.因此,选取浸提工艺的适宜pH值为9.0.

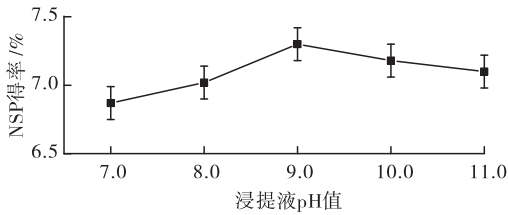


图3 浸提液pH值对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 3 Effect of pH value on the yield of NSP

2.1.4 热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响 考察不同热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响,结果如图4所示.由图4可知,热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响较大.随着热水浸提温度的升高,NSP得率也随之增大,但是当温度升高到90℃之后,NSP得率又显著减小.这是因为随着温度的升高,料液对物料的穿透能力提高,多糖在料液中的溶解度增加,从而使多糖更容易被浸提出来,但是当温度继续升高时,多糖水解成小分子糖的速率也随之增高,从而导致NSP得率减小.此外,温度越高,提取的能耗越大.综合考虑,将热水浸提温度的水平范围定在80~90℃.

2.1.5 热水浸提时间对藜麦麸水溶性NSP得率的影响 考察不同热水浸提时间对藜麦麸水

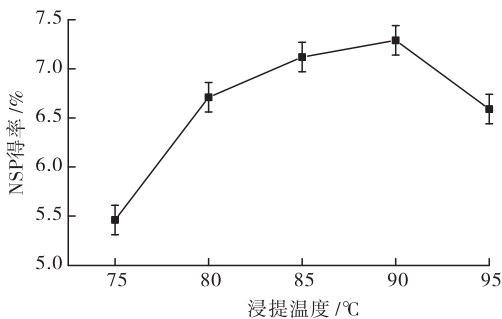


图4 热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 4 Effect of temperature on the yield of NSP

溶性NSP得率的影响,结果如图5所示.由图5可知,随着浸提时间的增加,藜麦麸水溶性NSP得率先增大后缓慢减小.当热水浸提时间为80min时,NSP得率为7.30%;当热水浸提时间为100min时,NSP得率为7.37%.这表明,一般情况下,浸提时间越长,反应越充分,NSP得率愈高;但浸提时间过长,尤其是在高温条件下,NSP会发生降解,反而导致其得率减少.因此,将热水浸提时间的水平范围定为80~120min.

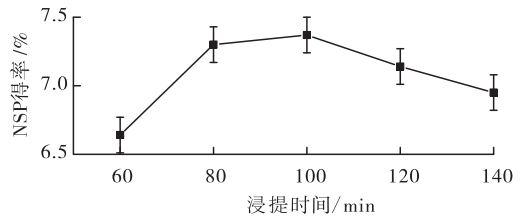


图5 热水浸提时间对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 5 Effect of hydrolysis time on the yield of NSP

2.2 提取藜麦麸水溶性NSP的正交试验优化 在上述单因素试验的基础上,对藜麦麸水溶性NSP的提取进行正交试验优化,结果见表2.从表2极差分析结果可知,各因素对藜麦

表2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

序号	A	B	C	D	得率/%
1	1	1	1	1	5.32
2	1	2	2	2	6.81
3	1	3	3	3	6.37
4	2	1	2	3	6.22
5	2	2	3	1	7.46
6	2	3	1	2	6.59
7	3	1	3	2	6.26
8	3	2	1	3	6.57
9	3	3	2	1	5.04
k_1	6.17	5.93	6.22	5.94	
k_2	6.76	7.01	6.02	6.55	
k_3	6.02	6.00	6.70	6.45	
R	0.74	1.07	0.67	0.61	

麸水溶性 NSP 得率影响的主次顺序为 $B > A > C > D$, 即复合多糖酶添加量对得率的影响 $>$ 料液比对得率的影响 $>$ 浸提温度对得率的影响 $>$ 浸提时间对得率的影响; 水溶性 NSP 最佳提取工艺为 $A_2B_2C_3D_2$, 即料液比 (w/v) 为 $1:16$, 复合多糖酶添加量为 2.0 mg/g , 浸提温度为 $90 \text{ }^\circ\text{C}$, 浸提时间为 100 min . 由于正交试验表中没有 $A_2B_2C_3D_2$ 组合, 采用该最佳条件进行验证试验, 得藜麦麸水溶性 NSP 得率为 7.55% .

3 结论

本文采用酶-热水浸提法对藜麦麸水溶性 NSP 的提取工艺进行了研究, 以 NSP 得率为指标, 在单因素试验的基础上通过正交试验优化提取工艺条件, 所得最佳工艺条件为: 料液比 (w/v) $1:16$, 复合多糖酶添加量 2.0 mg/g , 浸提温度 $90 \text{ }^\circ\text{C}$, 浸提时间 100 min . 在此条件下 NSP 得率为 7.55% . 与其他提取方法相比, 该法提取水溶性 NSP 的得率较高, 对藜麦麸的利用更加充分, 且浸提溶剂为水, 在提取过程中没有强酸强碱性废液产生, 不会造成环境污染. 本文的研究结果可为藜麦麸的充分利用及加快我国藜麦膳食纤维类功能产品的开发提供理论参考.

参考文献:

[1] ALAN B. Quinoa, an ancient crop to contribute to world

food security[R]. 37th FAO Conference, [S. L. : s. n.], 2011.

- [2] 肖正春, 张广伦. 藜麦及其资源开发利用[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(2):62.
- [3] 王梅, 赵凤敏, 刘威, 等. 米糠多糖的提取、分析及应用[J]. 中国食物与营养, 2010(2):40.
- [4] ZEVALLOS V F, HERENCIA L I, CHANG F J, et al. Gastrointestinal effects of eating quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in celiac patients[J]. American journal of gastroenterology, 2014, 109(2):270.
- [5] LAMOTHE L M, SRICHUWONG S, REUHS B L, et al. Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans[J]. Food chemistry, 2015, 167(1):490.
- [6] CORDEIRO L M C, REINHARDT V D, BAGGIO C H, et al. Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity[J]. Food chemistry, 2012, 130(4):937.
- [7] Vega-Gálvez A, MIRANDA M, VERGARA J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd), an ancient Andean grain: a review [J]. Sci Food Agric, 2010, 90(15):2541.
- [8] 申瑞玲, 董吉林, 马婧, 等. 燕麦麸非淀粉多糖提取工艺的研究[J]. 粮油加工, 2008(1):108.

本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品、万方数据资源系统、维普网等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:许春平,曾颖,汪洁,等.水松纸通风度对卷烟主流烟气中常规成分及香味成分的影响[J].轻工学报,2016,31(1):35-39.

中图分类号:TS41 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.007

文章编号:2096-1553(2016)01-0035-05

水松纸通风度对卷烟主流烟气中常规成分及香味成分的影响

Influence of permeability of the tipping paper on the conventional compositions and aroma components in mainstream cigarette smoke

许春平^{1,2},曾颖¹,汪洁¹,孙斯文¹,郝辉³

XU Chun-ping^{1,2}, ZENG Ying¹, WANG Jie¹, SUN Si-wen¹, HAO Hui³

1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;

2. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 河南 郑州 450001;

3. 河南中烟工业有限责任公司 技术中心, 河南 郑州 450000

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

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

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

关键词:

水松纸; 通风度; 主流烟气; 香味成分

Key words:

tipping paper; permeability; mainstream cigarette smoke; aroma components

摘要:选用5种不同通风度(0 CU, 100 CU, 400 CU, 800 CU, 1 200 CU)水松纸制备卷烟样品,考察不同卷烟样品主流烟气常规成分和17种香味成分的释放量及气相物/粒相物分配比,并对不同卷烟样品进行感官评吸。结果表明:卷烟主流烟气中常规成分释放量和香味成分的总释放量均随着水松纸通风度的增加而降低;香味成分的气相物/粒相物分配比随着水松纸通风度的增加几乎都逐渐升高;因此,在实际生产中选择水松纸,以通风度400 CU为宜。

收稿日期:2015-11-20

基金项目:国家人社部“留学人员科技项目择优支持计划”项目(豫留学函(1010)16号)

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

Abstract: The released amount and the gas/particle phase distribution ratio of the conventional components and 17 aroma components in cigarette mainstream smoke of the cigarettes with tipping paper permeability (0 CU, 100 CU, 400 CU, 800 CU and 1 200 CU) were investigated and the sensory taste of the samples was evaluated. The results showed that both the conventional components and the total released amount aroma components in mainstream cigarette smoke release amount decreased with increasing of tipping paper permeability; the gas/particle phase distribution ratio of almost aroma components raised gradually with the increase of tipping paper permeability; Therefore the cigarette with tipping paper permeability of 400 CU was more suitable in the actual production.

0 引言

随着现代科学技术的高速发展,降低卷烟烟气中焦油及其他有害成分的研究也不断深入,农业技术、工业技术、生物技术、物理和化学技术等各种技术的综合利用在降焦减害领域中的研究和应用方兴未艾^[1-4]. 工业技术在降焦减害中的应用最为广泛,其中滤嘴通风稀释、使用高通风度和静燃速度快的卷烟纸,均可有效降低卷烟焦油含量^[5]. 在滤嘴通风稀释技术中,水松纸通风度是一个重要指标. 水松纸通风度受许多因素影响,包括成型纸通风度、水松纸透气度、打孔位置、滤嘴吸阻等. 目前,国内外关于滤嘴通风稀释技术对卷烟烟气成分影响的研究多集中于主流烟气常规成分、粒相物中的香味成分^[6-10],而对主流烟气气相物中香味成分的影响研究较少.

在卷烟燃吸过程中,香味成分中气相物和粒相物分配比例的改变会对卷烟的感官品质产生影响^[11-14],只有掌握卷烟主流烟气中香味成分的气相物/粒相物变化规律,才能根据分配比例的变化,采取有效的方法,既有针对性地降低卷烟烟气中的有害成分,又有选择性地加香加料,来解决因降低卷烟焦油量而使烟气稀释、香味变淡等问题. 利用改变水松纸通风度来改善卷烟烟气成分是一个重要的方法. 本文选用5个规格通风度的水松纸,通过实验系统地研究水松纸通风度对卷烟主流烟气成分、香味成分及感官品质的影响,分析水松纸通风度变化对卷烟

主流烟气气相物和粒相物中碱性成分和中性成分的影响,以期为卷烟产品设计提供技术支持.

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

卷烟样品:选取5个规格通风度的水松纸(0 CU, 100 CU, 400 CU, 800 CU, 1 200 CU),卷烟滤棒吸阻 4 000 Pa,卷烟纸通风度 60 CU,密度 28 g/cm²,采用相同烟丝配方卷制成5个样品.

材料:剑桥滤片,郑州烟草研究院产;无水乙醇(分析纯),天津市德思化学试剂有限公司产;二氯甲烷(色谱纯),天津市光复精细化工研究所产;乙酸苯乙酯(纯度 > 98.0%),梯希爱上海化成工业发展有限公司产.

仪器:RM20H 转盘吸烟机,德国 Borgwaldt-KC 公司产;LA-230S 型电子天平,北京赛多斯天平有限公司产;KBF240 恒温恒湿箱,德国 Binder 公司产;KQ-700DB 超声波振荡器,昆山超声仪器公司产;红外卷烟 CO 分析仪 Kane SGA91,英国凯恩公司产;Agilent 6890-5975 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),美国 Agilent 公司产;XAD-2 吸附管,上海安谱科学仪器有限公司产.

1.2 实验方法

1.2.1 卷烟主流烟气常规成分的测定 采用烟草行业标准 YC/T 29—1996^[15] 测定卷烟主流烟气常规成分总粒相物(TPM)、水分、烟碱、焦油和 CO.

1.2.2 卷烟主流烟气香味成分的测定 所用

卷烟样品按照 GB/T 16447—2004《烟草及烟草制品调节和测试的大气环境》规定的环境条件平衡,并按照质量 ± 200 mg,吸阻 ± 50 Pa 分选样品.按照 GB/T 16450—2004《常规分析用吸烟机定义和标准条件》规定的条件,用转盘吸烟机抽吸 20 支卷烟,用 XAD-2 吸附管捕集主流烟气气相物^[16](吸附剂 10 mL 0.01% 三乙胺/二氯甲烷溶液),用剑桥滤片捕集卷烟主流烟气颗粒物^[17];抽吸结束后,将捕集气相物的吸附管中的吸附剂转移至 20 mL 锥形瓶中,再加入 10 mL 0.01% 三乙胺/二氯甲烷溶液;取出捕集颗粒物的剑桥滤片,将其放入 50 mL 锥形瓶后加入 30 mL 二氯甲烷;各加入 1 mL 内标乙酸苯乙酯(浓度 0.376 5 mg/mL,溶剂二氯甲烷),室温下超声萃取 30 min,静置 5 min^[18].萃取后的溶液在 60 °C 恒温水浴锅中浓缩至 1~2 mL 后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液移入 2 mL 色谱瓶,于 0~4 °C 下避光保存待用.

用 GC-MS 分析烟气中香味成分含量,每种卷烟进行 3 次重复实验,结果取 3 次平均值. GC-MS 分析条件为:色谱柱为 DB-5 型毛细管柱(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样口温度为 250 °C;升温程序为 50 °C (1 min) $\xrightarrow{2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 220 °C (30 min);进样量为 2 μL ;分流比为 10:1;载气为 He;流速为 1.0 mL/min;传输线温度为 280 °C;电离方式为 EI;电离能量为 70 eV;离子源温度为 230 °C;四极杆温度为 150 °C;扫描方式为 SIM 模式.

定性定量分析:选择化合物的特征离子为定量离子,以定量离子面积和内标定量离子面积之比计算其相对含量.

1.2.3 感官品质评价 以 5 种通风度的水松纸(其他辅材及参数相同),制成 5 个样品,按照国标 GB 5606—2005 要求^[19],在温度(22 \pm 2) °C,相对湿度(60 \pm 5)% 的恒温恒湿箱中平衡 24 h.按现行评吸标准,对卷烟进行感官品质

评吸鉴定和评价.

2 结果与讨论

2.1 水松纸通风度对卷烟主流烟气常规成分释放量的影响

对不同水松纸通风度的卷烟主流烟气中常规成分的测定结果见表 1.由表 1 可知,卷烟主流烟气常规成分释放量随着水松纸通风度的增加出现不同程度的减少;随着水松纸通风度的增加,烟碱、焦油和 CO 这 3 种主流烟气释放量呈线性减少趋势.烟碱释放量回归方程为 $y = -0.109\ 0x + 1.131\ 0$, $R^2 = 0.987\ 5$;焦油释放量回归方程为 $y = -1.520\ 0x + 14.220$, $R^2 = 0.983\ 9$;CO 释放量回归方程为 $y = -2.022\ 0x + 16.416$, $R^2 = 0.980\ 0$.从回归方程的斜率看,CO 释放量减少的速度最快,烟碱和焦油次之,这说明水松纸通风度的变化对于 CO 释放量的影响大于对烟碱和焦油释放量的影响.

表 1 不同水松纸通风度卷烟主流烟气常规成分一览表(单支卷烟)

Table 1 List of conventional components from mainstream cigarette smoke by using different tipping paper (single cigarette)

水松纸通风度/CU	TPM /(mg·支 ⁻¹)	水分 /(mg·支 ⁻¹)	烟碱释 放量/mg	焦油释 放量/mg	CO 释 放量/mg
0	15.90	2.23	1.03	12.64	14.35
100	14.47	2.03	0.92	11.52	12.79
400	11.91	1.67	0.79	9.45	10.12
800	9.83	1.38	0.67	7.78	7.71
1 200	8.74	1.22	0.61	6.91	6.78

2.2 水松纸通风度对卷烟主流烟气香味成分释放量的影响

2.2.1 主流烟气中碱性香味成分含量及气相物/颗粒物分配比的比较 卷烟样品主流烟气中气相物/颗粒物中的碱性香味成分含量见表 2.由表 2 可知,在其他条件不变的情况下,

随着水松纸通风度的增加,卷烟主流烟气中粒相物和气相物中碱性香味成分的含量均逐渐降低,而气相物/粒相物分配比几乎都逐渐增加.

2.2.2 主流烟气中中性香味成分(酮类)含量及气相物/粒相物分配比的比较 卷烟样品主流烟气中气相物/粒相物中的中性香味成分(酮类)含量见表3.由表3可知,在其他条件不变的情况下,随着水松纸通风度的增加,卷烟主流烟气中粒相物和气相物中酮类的含量逐步降低,气相物/粒相物分配比逐步增加.

2.2.3 主流烟气中中性香味成分(呋喃类)含量及气相物/粒相物分配比的比较 卷烟样品主流烟气气相物/粒相物中的中性香味成分(呋喃类)含量见表4.由表4可知,在其他条件不变的情况下,随着水松纸通风度的增加,卷烟主流烟气中粒相物和气相物中呋喃类的含量逐步降低,气相物/粒相物分配比逐渐增加.这是因为随着水松纸通风度的增加,烟气经通风稀释后,相当于用低于标准抽吸容量抽吸非通风卷烟,因此卷烟抽吸时消耗的烟丝减少,阴燃时消耗的烟丝增多,所以卷烟主流烟气中香味成

分的释放量也相应减少.表4还表明,碱性香味成分和中性香味成分(酮类、呋喃类)的气相物/粒相物分配比都随着水松纸通风度的增加逐渐增加.这是因为随着水松纸通风度的增加,烟气经通风稀释后,香味成分气相物和粒相物的释放量都降低,但是两者的降低率不同,大多数香味成分的气相释放量降低率低于其粒相释放量降低率,从而使主流烟气经稀释后,其香味成分的气相物/粒相物分配比升高.

2.3 感官品质评吸结果

对不同通风度水松纸制成的卷烟感官品质综合统计见表5.由表5可知,随着水松纸通风度的提高(0~400 CU),烟支的香气透发性增强,杂气减少,余味变干净,这是因为水松纸通风度增大后,每口抽吸进去的空气量增加,因此刺激性和杂气降低,干净程度变好^[20].水松纸通风度提高到800 CU以上后,香气量欠缺,卷烟的吸味变差,刺激性逐渐减小,杂气、干净程度上升,原因是水松纸通风度过高会导致香气量和烟气浓度下降.因此,水松纸通风度的选择以400 CU为宜.

表2 卷烟样品主流烟气中气相物/粒相物中的碱性香味成分含量

Table 2 Alkaline aroma components of vapor phase/particulate matter in the mainstream of cigarette samples mg/支

水松纸通风度/ CU	吡啶			2-甲基吡啶			3-甲基吡啶			3,5-二甲基吡啶			3-乙炔基吡啶		
	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比
0	2.32	2.47	1.06	1.43	0.56	0.39	2.58	1.35	0.52	1.95	0.92	0.47	1.9	0.75	0.39
100	2.17	2.37	1.09	1.28	0.50	0.39	2.47	1.27	0.51	1.81	0.83	0.46	1.74	0.67	0.39
400	1.60	1.93	1.21	0.72	0.36	0.50	1.14	0.67	0.59	1.31	0.62	0.47	1.71	0.65	0.38
800	1.40	1.83	1.31	0.63	0.35	0.56	1.04	0.65	0.63	1.19	0.61	0.51	1.13	0.52	0.46
1 200	1.29	1.68	1.30	0.30	0.20	0.67	0.43	0.39	0.91	0.82	0.42	0.51	0.99	0.49	0.49

表3 卷烟样品主流烟气中气相物/粒相物中的中性香味成分(酮类)含量

Table 3 Neutral aroma constituents (ketone) of vapor phase/particulate matter in the mainstream of cigarette samples mg/支

水松纸通风度/ CU	羟基丙酮			1-羟基-2-丁酮			环己酮			2-环戊烯-1,4-二酮			2-甲基-2-环戊烯-1-酮			3-甲基-2-环戊烯-1-酮			2,3-二甲基-2-环戊烯-1-酮			3,4-二甲基-2-环戊烯-1-酮		
	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比
0	6.53	2.99	0.46	1.74	0.92	0.53	1.77	0.98	0.55	1.76	0.65	0.37	3.16	2.35	0.74	2.81	1.46	0.52	1.05	0.63	0.60	2.94	0.16	0.05
100	5.65	3.01	0.53	0.98	0.58	0.59	1.07	0.64	0.60	1.46	0.68	0.47	2.92	2.26	0.77	2.53	1.48	0.58	0.9	0.53	0.59	1.58	0.09	0.06
400	5.06	2.92	0.58	0.98	0.56	0.57	0.82	0.61	0.74	0.83	0.49	0.59	2.44	1.97	0.81	2.25	1.29	0.57	0.84	0.57	0.68	0.75	0.06	0.08
800	2.84	2.24	0.79	0.82	0.49	0.60	0.75	0.57	0.76	0.73	0.44	0.60	2.15	1.78	0.83	2.15	1.23	0.57	0.66	0.46	0.70	0.51	0.04	0.08
1 200	2.79	2.13	0.76	0.64	0.46	0.72	0.72	0.59	0.82	0.61	0.42	0.69	1.29	1.1	0.85	1.52	1.03	0.68	0.55	0.45	0.82	0.16	0.02	0.13

表4 卷烟样品主流烟气气相物/粒相物中的中性香味成分(呋喃类)含量

Table 4 Neutral aroma constituents (furan compounds) of vapor phase/particulate matter in the mainstream of cigarette samples

水松纸通风度/CU	糠醛			糠醇			2-乙酰基呋喃			5-甲基糠醛		
	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比	粒相物	气相物	气/粒比
0	10.44	8.02	0.77	13.36	2.56	0.19	3.47	1.06	0.31	5.52	0.28	0.05
100	8.03	6.78	0.84	12.86	2.45	0.19	2.43	1.06	0.44	4.53	0.24	0.05
400	5.19	4.73	0.91	8.09	1.76	0.22	1.12	0.78	0.70	3.99	0.23	0.06
800	3.77	3.60	0.95	5.27	1.09	0.21	0.91	0.63	0.69	2.58	0.21	0.08
1 200	2.90	3.34	1.15	0.81	0.68	0.84	0.27	0.25	0.93	1.49	0.18	0.12

表5 不同水松纸通风度卷烟的感官品质评吸结果

Table 5 The sensory evaluation of cigarettes with different ventilation of tipping paper

水松纸通风度/CU	评吸结果
0	香气难以透发出来,劲头强,协调性不好,刺激性大,烟气发散,成团性不好,口腔有残留,有明显干燥感
100	香气开始散发出来,劲头减小,协调性增加,刺激性减小,干燥感得到改善,口腔有残留,有苦涩感
400	香气量较饱满,劲头适中略减小,协调性增加,余味干净,杂气减少,刺激性略减少,口腔基本无残留
800	香气量减少,劲头减小,协调性增加,余味干净,杂气减小,刺激性明显减小,口腔基本无残留,但吸味变差
1 200	香气量欠缺,劲头小,刺激性较小,协调性增加,余味干净,无明显杂气,干净程度变好,但吸味很差

3 结论

本文选用0 CU,100 CU,400 CU,800 CU,1 200 CU这5种通风度的水松纸制备卷烟样品,通过实验系统研究水松纸通风度对卷烟主流烟气常规成分、香味成分及感官品质的影响,得到如下结论:

随着水松纸通风度的增加,卷烟主流烟气常规成分释放量出现不同程度的降低,烟碱、焦油和CO这3种主流烟气的释放量呈线性减少趋势,CO释放量斜率绝对值最高,这说明水松纸通风度的变化对于气相成分的影响大于粒相成分.随着水松纸通风度的增加,碱性香味成分和中性香味成分(酮类、呋喃类)在气相物和粒

相物中的总释放量都逐渐减少.

感官评析表明,由于每口抽吸掉的卷烟烟丝减少,而每口烟气中又含有部分空气,因此必然会影响烟支的感官品质,而综合各指标评吸结果,在实际生产中选择水松纸通风度400 CU为宜.本研究对通过改变水松纸通风度来设计卷烟产品提供了技术支持.

参考文献:

- [1] 郑新章,张仕华,邱纪青.卷烟降焦减害技术研究进展[J].烟草科技,2003(11):8.
- [2] BRANDY F. Reducing Risk[J]. Tobacco, 2000(6):56.
- [3] 王英,沈彬,朱建华.选择性去除香烟烟气中亚硝酸胺的研究[J].环境化学,2000,19(3):277.
- [4] WIERNIK A, CHRISTAKOPOULOS A, JOHANSSON I. Effects of air-curing on the chemical composition of tobacco[J]. Res Adv Tob Sci,1995(21):39.
- [5] 彭桂新,于建春.降低卷烟焦油量的技术措施研究[J].烟草科技,1997(4):7.
- [6] DWYER R, IHRIG A M, IRELAND M S, et al. The effect of tip dilution on the filtration efficiency of upstream and downstream segments of cigarette filter[J]. Beitr Tabakforsch Int,1984(12):178.
- [7] BAKER R R. The effect of ventilation on cigarette combustion mechanism[J]. Rec Adv Tob Sci, 1984(10):88.
- [8] PARRISH M E, HARWARD C N, VILCINS G. Simultaneous monitoring of filter ventilation and a gaseous component in whole cigarette smoke using tunable diode laser infrared spectroscopy[J]. Beitr Tabakforsch Int,1986(13):169.



引用格式:李文伟,赵海娟,李青青,等. 基于 Impinger 5 box 捕集方式的主流烟气 pH 值测定方法[J]. 轻工学报,2016,31(1):40-45.

中图分类号:TS45 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.008

文章编号:2096-1553(2016)01-0040-06

基于 Impinger 5 box 捕集方式的主流烟气 pH 值测定方法

Determination of mainstream cigarette smoke pH value based on Impinger 5 box trapping method

李文伟¹,赵海娟¹,李青青²,杨靖²,王建民²,程传玲²

LI Wen-wei¹, ZHAO Hai-juan¹, LI Qing-qing², YANG Jing², WANG Jian-min², CHENG Chuan-ling²

1. 河南中烟工业有限责任公司 安阳卷烟厂,河南 安阳 455004;

2. 郑州轻工业学院 烟草科学与工程学院,河南 郑州 450001

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

2. College of Tobacco Science and Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

关键词:

卷烟主流烟气; pH 值测定; Impinger 5 box 捕集方式

Key words:

mainstream cigarette smoke; pH value determination; Impinger 5 box trapping method

摘要:为提高卷烟主流烟气 pH 值的测定精密度,提出了一种基于 Impinger 5 box 捕集方式同时收集烟气粒相物和气相物的主流烟气 pH 值测定方法,并对测定条件进行了优化. 最优测定条件为抽吸烟支数 10 支,萃取剂体积 90 mL,振荡时间 30 min. 在该条件下对 5 种不同牌号卷烟样品进行验证试验,结果表明, RSD 在 0.302% ~ 0.562% 之间,主流烟气 pH 值的平均差值 ≥ 0.030 的样品之间表现出了显著差异性. 该方法可在不改变吸烟机抽吸参数的情况下进行卷烟抽吸和烟气捕集,测定方法简单、方便,测定结果精密度较高,重复性较好.

收稿日期:2015-08-21

基金项目:河南中烟工业有限责任公司科技计划项目(HNZY052014005)

作者简介:李文伟(1970—),男,河南省安阳市人,安阳卷烟厂高级工程师,主要研究方向为卷烟工艺.

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

Abstract: In order to improve the measurement results precision of cigarette mainstream smoke pH, a method which based on Impinger 5 box trapping method of the pH value of particulate matter and vapor phase matter of cigarette mainstream smoke was established, and the measurement conditions were optimized. The best measurement conditions were: the cigarette number was 10, extraction solvent volume was 90 mL and the shaking extraction time was 30 min. Under the condition, the pH value of 5 different kinds verification of cigarette samples was tested with the method and the result indicated that the *RSD* of the method was 0.302% ~ 0.562%, the average difference of the mainstream smoke pH value which was greater than or equal to 0.030 showed a significant difference. This method could be used without changing the smoking machine pumping parameters and it was simple, convenient and the determination results had high precision and better repeatability.

0 引言

卷烟主流烟气 pH 值与卷烟感官品质之间存在密切关系,研究两者间的关系对卷烟产品设计及产品质量的稳定性评价均有指导意义,但要求测定方法具有足够的准确度和灵敏度,能有效区分不同品牌、批次卷烟主流烟气 pH 值的差异性。20 世纪中后期国外围绕卷烟主流烟气 pH 值的测定进行了较多研究^[1],并形成了两类方法:一类是直接将烟气导向 pH 电极表面,以测定每口烟气的 pH 值;另一类是将烟气导入某种溶液中进行吸收,然后测定吸收液的 pH 值。进入 21 世纪后国内才出现了相关研究报道^[2-7]。龙君等^[8]提出了一种测定每一口主流烟气 pH 值的新方法,类似国外的第一类研究。顾永波等^[9]用冷阱捕集方式对卷烟主流烟气通过 3 种吸收液进行捕集,然后测定吸收液的 pH 值,并比较了不同吸收液对测定结果的影响,类似国外的第二类研究;谢玉龙等^[10]研究了不同植物多糖对卷烟主流烟气 pH 值的影响,但主流烟气 pH 值是利用 T. BRAUMANN 等^[11]的经验关系式、由主流烟气粒相物 pH 值测定结果转化得到的。除此之外,国内关于烟气 pH 值的研究主要集中于主流烟气粒相物 pH 值方面。可见,国内关于卷烟主流烟气 pH 值的研究不仅起步晚,而且不够普及和深入。另外,如文献[1]所述,第二类测定主流烟气 pH 值的

方法仍然存在一些问题,例如,由于烟气粒相和气相成分均直接进入吸收液,因此存在烟气能否被充分吸收和需要改变吸烟机抽吸条件等问题。鉴于此,本文拟提出一种基于 Impinger 5 box 捕集方式的主流烟气 pH 值测定方法,对抽吸烟支数、萃取液体积和振荡时间等进行优化,以期提高测定结果的精密度。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

材料:“红旗渠”(硬金红)卷烟,河南中烟工业责任有限公司产;5 种不同牌号国产卷烟; $\varphi 44$ mm 剑桥滤片,德国 Borgwaldt KC 公司产;pH 标准缓冲剂为 0.05 mol/L 邻苯二甲酸氢钾水溶液(pH = 4.00),0.025 mol/L 磷酸二氢钾和磷酸氢二钠混合溶液(pH = 6.86),上海雷磁创益仪器仪表有限公司产;异丙醇(AR),天津市凯通化学试剂有限公司产。

仪器:RM20H 转盘式吸烟机,德国 Borgwaldt KC 公司产;KBF240 恒温恒湿箱,德国 Binder 公司产;THZ - C 型恒温回旋振荡器,江苏太仓市华美生化仪器厂产;PHS - 3C 型精密 pH 计,上海雷磁仪器厂产。

1.2 方法

1.2.1 样品准备 样品在温度(22 ± 1) °C,相对湿度(60 ± 3)%的环境下平衡 48 h,剑桥滤片也在相同环境中平衡 12 h 以上^[12]。该试验测

试样品的挑选和抽吸环境条件按国际标准规定进行^[13]。

1.2.2 主流烟气 pH 值测定方法 选择 RM20H 转盘式吸烟机 Impinger 5 box 的捕集方式,按标准抽吸条件^[14]抽吸卷烟样品,采用剑桥滤片捕集颗粒物,用装有浓度为 50% 异丙醇溶液的吸收瓶收集通过剑桥滤片的气相物。抽吸完毕后空吸 5 口。取出滤片放入 150 mL 锥形瓶中,用脱脂棉擦净烟支夹持器,并放入锥形瓶中;取下吸收瓶将吸收液合并到 150 mL 锥形瓶中。恒温振荡后静置 10 min,用 pH 计测定萃取液的 pH 值。

1.2.3 优化试验方法

1.2.3.1 单因素试验 分别选择抽吸烟支数、萃取液(异丙醇)体积和振荡时间为试验因素,每个因素选取 4 个水平,以重复试验结果的平均值和相对标准偏差(*RSD*)为指标,研究各因素对主流烟气 pH 值测定结果和精密度的影响。

1.2.3.2 正交试验 在单因素试验结果基础上,选用 $L_9(4^3)$ 正交表进行三因素三水平正交试验,分别选择 *RSD* 和绝对误差为试验指标,进一步优化试验条件。

其中绝对误差是指测定结果与真实值之差的绝对值。由于无法测到样品主流烟气 pH 值的真实值,利用单因素试验中 48 个试验数据的平均值(5.996)作为真实值的估计值。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果及分析

2.1.1 抽吸烟支数对主流烟气 pH 值测定结果的影响 根据参考文献[15]的测定条件,保持异丙醇体积(90 mL)和振荡时间(30 min)不变,考察不同抽吸烟支数对主流烟气 pH 值测定结果的影响,结果见表 1。由表 1 可知,抽吸烟支数对平均值有极显著影响,抽吸烟支数为

5 支时平均值最高,抽吸烟支数为 10 支、15 支和 20 支时的平均值差异不显著。不同抽吸烟支数时测定结果的 *RSD* 在 0.285% ~ 0.351% 之间波动,且无明显规律性。

综上所述,选择抽吸烟支数 10 支、15 支、20 支这 3 个水平进行正交试验,进一步优化试验条件。

表 1 不同抽吸烟支数对主流烟气 pH 值的影响

Table 1 Effect of different numbers of cigarettes on the pH value of mainstream smoke

烟支数 /支	主流烟气 pH 值				平均值	<i>RSD</i> /%
	1	2	3	4		
5	6.03	6.06	6.02	6.02	(6.033 ± 0.030) ^A	0.315
10	6.00	5.98	5.97	5.95	(5.975 ± 0.033) ^B	0.351
15	5.98	5.95	5.99	5.98	(5.975 ± 0.028) ^B	0.285
20	5.99	6.01	5.96	5.98	(5.985 ± 0.033) ^B	0.351

注:表格中 1,2,3,4 表示平行测定 4 次试验结果,下同;不同大写英文字母表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著,下同。

2.1.2 异丙醇体积对主流烟气 pH 值测定结果的影响 根据参考文献[15]的测定条件,保持抽吸烟支数(10 支)和振荡时间(30 min)不变,考察不同异丙醇体积对主流烟气 pH 值测定结果的影响,结果见表 2。由表 2 可知,异丙醇体积为 90 mL 和 100 mL 间的差异显著,随着异丙醇体积增大,测定结果的 *RSD* 在 0.351% ~ 0.483% 之间变化,总体呈升高趋势。

综上所述,选择 80 mL,90 mL,100 mL 这 3 个水平进行正交试验,进一步优化试验条件。

表 2 异丙醇体积对主流烟气 pH 值的影响

Table 2 Effect of isopropanol volume on the pH value of mainstream smoke

异丙醇体 积/mL	主流烟气 pH 值				平均值	<i>RSD</i> /%
	1	2	3	4		
80	5.96	5.99	5.98	6.01	(5.985 ± 0.033) ^{ab}	0.351
90	6.00	5.98	5.97	5.95	(5.975 ± 0.033) ^b	0.351
100	5.99	6.04	6.01	6.03	(6.018 ± 0.035) ^a	0.366
110	6.02	5.96	6.02	5.99	(5.998 ± 0.046) ^{ab}	0.483

注:不同小写英文字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著,下同。

2.1.3 振荡时间对主流烟气 pH 值测定结果的影响 根据参考文献[15]的测定条件,保持抽吸烟支数(10支)和异丙醇体积(90 mL)不变,考察不同振荡时间对主流烟气 pH 值测定结果的影响,结果见表3。由表3可知,振荡时间为20 min与30 min间的差异显著(故下一步试验应加入两者的中间值25 min)。随振荡时间延长测定结果的RSD在0.166%~0.484%之间变化,总体也呈先降低后升高趋势。

表3 不同振荡时间对主流烟气 pH 值的影响

Table 3 Effect of different oscillation time on the pH value of mainstream smoke

振荡时间/min	主流烟气 pH 值				平均值	RSD/%
	1	2	3	4		
15	6.01	6.03	6.03	5.98	(6.013 ± 0.038) ^a	0.399
20	6.03	6.02	6.03	6.01	(6.023 ± 0.015) ^a	0.166
30	6.00	5.98	5.97	5.96	(5.978 ± 0.027) ^b	0.284
40	6.00	6.03	5.96	5.99	(5.995 ± 0.046) ^{ab}	0.484

综上所述,选择20 min,25 min,30 min 这3个水平进行正交试验,进一步优化试验条件。

2.2 正交试验结果及分析

2.2.1 试验因素对 RSD 的影响 设正交试验因素为抽吸烟支数 A /支,异丙醇体积 B /mL,振荡时间 C /min,空列 D 。正交试验结果及对 RSD 进行极差和方差分析,结果见表4。由表4可知,3个因素对 RSD 的影响均不显著(见表中 P 值);按极差大小排序为 $C > A > B$,即振荡时间对 RSD 的影响最大。各因素的优水平组合为 $A_1B_2C_3$,即当抽吸烟支数取10支、异丙醇体积取90 mL,振荡时间取30 min时的 RSD 最小。

2.2.2 试验因素对绝对误差的影响 根据表4试验结果计算绝对误差的估计值,结果见表5。由表5可知,3个因素对绝对误差的影响均不显著(见表中 P 值);按极差大小排序为 $B > C = A$,即异丙醇体积对绝对误差的影响最大。各因素的优水平组合为 $A_3B_2C_1$,即当抽吸烟支数取20支,异丙醇体积取90 mL,振荡时间取20 min时的绝对误差最小。

2.2.3 最优试验条件确定 由于按照 RSD 的

表4 正交试验结果和 RSD 的极差分析及方差分析结果

Table 4 Results of orthogonal test and analysis results of RSD range and variance

试验号	A /支	B /mL	C /min	D	主流烟气 pH 值				RSD/%
					1	2	3	4	
1	1(10)	1(80)	1(20)	1	5.96	5.94	5.92	5.98	0.434
2	1(10)	2(90)	2(25)	2	5.91	5.94	5.93	5.88	0.447
3	1(10)	3(100)	3(30)	3	5.92	5.91	5.91	5.93	0.162
4	2(15)	1(80)	3(30)	2	5.89	5.86	5.88	5.83	0.451
5	2(15)	2(90)	1(20)	3	5.96	5.98	5.94	5.95	0.287
6	2(15)	3(100)	2(25)	1	5.99	6.00	6.03	5.99	0.315
7	3(20)	1(80)	2(25)	3	5.93	5.92	5.95	5.97	0.373
8	3(20)	2(90)	3(30)	1	5.97	6.00	6.01	6.01	0.316
9	3(20)	3(100)	1(20)	2	5.93	5.91	5.96	5.99	0.588
K_{1j}	1.043	1.258	1.309						
K_{2j}	1.053	1.050	1.136						
K_{3j}	1.277	1.066	0.928						
优水平	A_1	B_2	C_3						
R_j	0.078	0.070	0.127						
P 值	0.866	0.853	0.757						
主次顺序	$C > A > B$								

要求与按照绝对误差最小的要求与分别得到的因素水平组合不完全一致,主要表现在抽吸烟支数和振荡时间两个因素上,因此需要通过综合平衡确定最优条件. 振荡时间对两项指标的影响均不显著,但极差分析结果表明振荡时间是影响 *RSD* 的首要因素,需重点考虑,应取 C_3 为优水平. 抽吸烟支数对两项指标的影响均不显著,且均为相对次要因素,同时考虑检测工作量和样品消耗等因素,选择 A_1 为优水平.

综上所述,将 $A_1B_2C_3$ 组合作为卷烟主流烟气 pH 值测定的最优条件,该条件与按照 *RSD* 最小所优化得到的条件一致.

2.3 验证试验

按照上述条件分别对黄鹤楼、双喜、云烟、

红塔山、利群 5 个品牌卷烟样品的主流烟气 pH 值进行了 6 次重复测定,结果见表 6. 由表 6 可知: 1) 主流烟气 pH 值的 *RSD* 在 0.302% ~ 0.562% 范围内变化,除红塔山外其余 4 个样品的 *RSD* 均小于 0.5%. 2) 5 个样品的平均 pH 值在 5.96 ~ 6.05 之间变化,虽然极差只有 0.09 (6.05 - 5.96 = 0.09),但方差分析及 LSD 多重比较结果表明,5 个样品的 pH 值存在显著差异,表现为红塔山 > 云烟 > (双喜、黄鹤楼、利群)的规律性. 在极差较小的情况下样品间仍能表现出显著差异性,这说明该方法的精密度较高,能够较好地地区分不同卷烟样品主流烟气 pH 值的差异性. 3) LSD 多重比较结果表明,红

表 5 正交试验结果和绝对误差的方差分析及极差分析结果

Table 5 Results of orthogonal test and absolute error of range and variance

试验号	A/支	B/mL	C/min	D	绝对误差				平均值
					1	2	3	4	
1	1(10)	1(80)	1(20)	1	0.036	0.056	0.076	0.016	0.046
2	1(10)	2(90)	2(25)	2	0.086	0.056	0.066	0.116	0.081
3	1(10)	3(100)	3(30)	3	0.076	0.086	0.086	0.066	0.078
4	2(15)	1(80)	3(30)	2	0.106	0.136	0.116	0.166	0.131
5	2(15)	2(90)	1(20)	3	0.036	0.016	0.056	0.046	0.038
6	2(15)	3(100)	2(25)	1	0.006	0.004	0.034	0.006	0.012
7	3(20)	1(80)	2(25)	3	0.066	0.076	0.046	0.026	0.054
8	3(20)	2(90)	3(30)	1	0.026	0.004	0.014	0.014	0.014
9	3(20)	3(100)	1(20)	2	0.066	0.086	0.036	0.006	0.048
K_{1j}	0.206	0.230	0.133						
K_{2j}	0.182	0.134	0.147						
K_{3j}	0.117	0.139	0.224						
优水平	A_3	B_2	C_1						
R_j	0.030	0.032	0.030						
P 值	0.125	0.061	0.098						
主次顺序	$B > C = A$								

表 6 不同牌号卷烟主流烟气的 pH 值

Table 6 Mainstream smoke pH value of different brands of cigarette

样品	主流烟气 pH 值						均值	<i>RSD</i> /%
	1	2	3	4	5	6		
红塔山	5.98	6.07	6.06	6.07	6.06	6.05	(6.05 ± 0.035) ^{Aa}	0.562
双喜	5.98	5.96	6.01	5.97	5.93	5.99	(5.97 ± 0.029) ^{Bc}	0.452
云烟	6.00	6.01	6.03	6.02	5.97	5.99	(6.00 ± 0.023) ^{Bb}	0.366
利群	5.95	5.98	5.94	5.98	5.95	5.99	(5.96 ± 0.022) ^{Bc}	0.352
黄鹤楼	5.94	5.98	5.96	5.99	5.96	5.97	(5.97 ± 0.018) ^{Bc}	0.302

塔山与其余 4 个样品间达到极显著差异,平均差值 ≥ 0.045 ,双喜与云烟、云烟与利群和黄鹤楼间达到显著差异,平均差值 ≥ 0.030 ,这在一定程度上表征了方法的精密度,即主流烟气 pH 值的平均差值达到 0.030 ~ 0.045 以上的样品能够有效地被区分。

3 结论

本文提出了一种基于 Impinger 5 box 捕集方式同时收集烟气粒相物和气相物的主流烟气 pH 值测定方法,并对测定条件进行了优化,得到如下结论。

1) 单因素试验结果表明,抽吸烟支数、萃取液(异丙醇)体积和振荡时间对主流烟气 pH 值测定结果均有极显著或显著影响;随着萃取液体积增大, *RSD* 升高,随振荡时间延长, *RSD* 先降低后升高。上述结果说明 3 个因素对测定方法的精确度和精密度均有影响。

2) 分别以 *RSD* 和绝对误差为指标,运用正交试验方法对试验条件进行优化,结果表明当抽吸烟支数为 10 支,异丙醇体积为 90 mL,振荡萃取时间为 30 min 时,测定结果的精密度较高。

3) 利用 5 个卷烟样品进行验证试验,结果表明,该方法的 *RSD* 在 0.302% ~ 0.562% 之间,且主流烟气 pH 值平均差值 ≥ 0.030 的样品之间的差异性达到了显著水平,说明该方法具有较高的精密度,可用于分析、比较不同卷烟样品的主流烟气 pH 值。

该方法可在不改变吸烟机抽吸参数的情况下进行卷烟抽吸和烟气捕集,测定方法简单、方便,测定结果精密度较高,重复性较好。

参考文献:

[1] 卢斌斌,刘惠民,谢剑平. 卷烟烟气 pH 值的测定及其

与烟碱存在状态的关系综述[J]. 烟草科技,2002(5):19.

[2] 陈建潭,李世杰,王明锋,等. 卷烟烟气粒相物的 pH 值、游离烟碱含量与卷烟劲头的关系[J]. 烟草科技,2000(6):20.

[3] 卢斌斌,谢剑平,刘惠民. 卷烟烟气 pH 与烟气总粒相物中游离烟碱的关系[J]. 中国烟草学报,2005,11(6):7.

[4] 程传玲,张勇,师东方. 吸烟条件对卷烟主流烟气粒相物 pH 值的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版),2008,23(4):70.

[5] 李孟华,卢丽娟,徐玉琼,等. 卷烟主流烟气 pH 值的测定研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(29):13991.

[6] 金永灿,贺兵,缪思铭,等. 卷烟烟气粒相物 pH 值的测定方法研究[J]. 烟草科学研究,2006(3):110.

[7] 彭斌,金征宇,翁昔阳,等. 碳酸钾对卷烟主流烟气焦油、烟碱、游离烟碱、pH 值及劲头的影响[J]. 烟草科技,2007(7):8.

[8] 龙君,杨钦兰,雷德安,等. 卷烟主流烟气 pH 值测定方法的研究[J]. 化学研究与应用,2014,26(4):586.

[9] 顾永波,肖作,刘强,等. 卷烟主流烟气 pH 值的测定及其与感官评吸的相关性研究[J]. 食品工业,2011(2):97.

[10] 谢玉龙,朱先约,翟玉俊,等. 6 种西北地区植物多糖对卷烟主流烟气水分含量及 pH 的影响[J]. 食品工业科技,2012(22):189.

[11] BRANMANN T, ELMENHORTS M. The pH of mainstream smoke[C]//TCRC. Richmond Virginia:TCRC,1989.

[12] 中国国家标准化管理委员会. 烟草及烟草制品 调节和测试的大气环境:GB/T 16447—2004[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[13] 中国国家标准化管理委员会. 常规分析用吸烟机 定义和标准条件:GB/T 16450—2004[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[14] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟 用常规分析用吸烟机测定 总粒相物和焦油:GB/T 19609—2004[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[15] 牟定荣,林文强,程传玲,等. 卷烟主流烟气粒相物和气相物 pH 值的测定[J]. 烟草科技,2009(11):40.



引用格式:贾春晓,何峰,马宇平,等.西柏烯类化合物研究进展[J].轻工学报,2016,31(1):46-54.

中图分类号:TS41⁺3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.009

文章编号:2096-1553(2016)01-0046-09

西柏烯类化合物研究进展

Research advance in cembranoid compounds

贾春晓¹,何峰¹,马宇平²,陈芝飞²,毛多斌¹

JIA Chun-xiao¹, HE Feng¹, MA Yu-ping², CHEN Zhi-fei², MAO Duo-bin¹

1. 郑州轻工业学院 烟草科学与工程学院,河南 郑州 450001;

2. 河南中烟工业有限公司 技术中心,河南 郑州 450000

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

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

摘要:对西柏烯类化合物的分离鉴定与含量分析、生物合成与降解、化学合成等方面的研究进展进行了综述. 纵观目前出现的分离与分析方法、烟草中西柏烯类化合物的形成与降解等方面的研究发现,柱层析和 HPLC 法可用于这类化合物的分离与定性定量分析,而 GC 和 GC-MS 方法对这类半挥发性化合物的分析灵敏度较低;烟草中西柏烯类化合物的形成与降解一般认为与光照、氧化和生物催化有关,并进行了大量的研究,但该问题目前尚无定论. 未来对西柏烯类化合物的研究应集中在以下几个方面:建立更直接、准确和快速的分离与分析方法;深入开展烟草中西柏烯类化合物经过生物降解形成香味物质的方法研究和该类化合物的形成机制和降解机理研究.

关键词:

西柏烯;分离;鉴定;
生物降解;生物合成

Key words:

cebranoids; separation;
certification; bio-degradation;
bio-synthesis

收稿日期:2015-01-07

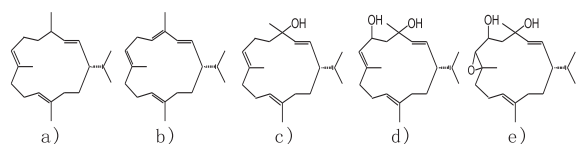
基金项目:烟草行业烟草工业生物技术重点实验室专项(中烟办[2014]334号)

作者简介:贾春晓(1965—),女,河南省南阳市人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为天然产物分析.

Abstract: The research progresses on cembranoids, such as separation, identification, qualitative and quantitative analysis, bio-synthesis and bio-degradation as well as chemical synthesis, have been reviewed. Based on the current available separation and analysis methods as well as studies on the formation and degradation of cembranoids in tobacco, column chromatography and HPLC methods have shown good performance on separating and analyzing cembranoids both qualitatively and quantitatively whereas the procedures based on GC and GC-MS methods showed a relatively lower sensitivity to this kind of semi-volatile chemicals. The formation and degradation of cembranoids in tobacco were generally considered to be related to illumination, oxidation and biocatalysis. Many research works done on this aspect, however, no final conclusion has been made. Future research is expected to focus on the following directions: development of more straightforward, accurate and faster analysis methods; in-depth methodological research on biological degradation of cembranoids in tobacco to flavor components; mechanism studies on the formation and degradation of cembranoids.

0 引言

西柏烯 (cembranoids) 类化合物也称类黑松烯 (thunbergen) 或杜法烯 (duvatriene) 化合物, 化学结构属于大环双萜类. 该类物质主要存在于烟叶中, 也存在于烟草种子和烟草花^[1]、松节油、乳香等天然植物^[2], 以及少数海洋生物^[3]和少数动物^[4-5]中. 据相关文献报道^[6], 烟草中存在的西柏烯类化合物超过 50 种, 按照官能团进行分类, 西柏烯类化合物可以分为西柏烯、西柏烯醇类、西柏烯环氧化物等. 其代表性物质的分子结构见图 1.



a) 西柏-2,7,11-三烯 b) 西柏-2,4,7,11-四烯

c) 西柏-2,7,11-三烯-4-醇

d) 西柏-2,7,11-三烯-4,6-二醇

e) 西柏三烯-4,6-二醇的7,8-环氧化物.

图 1 典型西柏烯类化合物的分子结构

Fig. 1 Molecule structures of typical cembranoid compounds

西柏烯类化合物是烟草中一类重要的香味前体物质^[7]. 在烟草生长过程中, 该类物质经表面腺毛代谢转化存在于烟叶表面, 在烟草老化期(特别是在调制过程中), 西柏烯类化合物发

生降解, 此后的陈化期降解缓慢. 相关研究表明, 烟草中由西柏烯类化合物降解产生的香味化合物数量超过 60 种^[8], 烟草中的茄酮、茄呢味喃、降茄二酮等许多重要香味成分都是西柏烯类化合物的降解产物. 由此可见, 该类化合物降解转化对烟草香味的产生具有十分重要的作用. 因此, 在烟草调制、陈化及加工过程中, 有效利用西柏烯类化合物降解途径以产生烟草香味成分、充分挖掘烟草自身潜质, 对于提高烟叶品质及使用价值、增加卷烟香气、凸显卷烟风格特征和提高卷烟安全性具有重要价值. 本文拟综述西柏烯类化合物的分离鉴定与含量分析、生物合成与生物降解、化学合成研究现状, 展望烟草西柏烯类化合物物质化学及生物化学研究方向与研究途径, 为提升卷烟香味品质和凸显卷烟风格研究提供参考.

1 西柏烯类化合物的分离鉴定与含量分析

1.1 西柏烯类化合物的分离鉴定

西柏烯类化合物被人类所认知是从 A. J. HAAGEN-SMIT 等^[2]发现西柏烯开始的, 他们首次从美国白皮松的油性树脂中分离得到西柏烯, 随后多种西柏烯类化合物逐渐从海洋珊瑚中^[3]被发现. 直到 1962 年, D. L. ROBERTS 等^[9]首次报道了该类化合物, 他们通过正己烷

浸提成熟白肋烟新鲜烟叶表面腺毛分泌物,提取物经浓缩、硅胶色谱柱、氧化铝色谱柱分离和结晶等步骤,得到了 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇;并用NMR,IR和经典的有机化学分析技术对产物结构进行了表征,其分析结果显示两种化合物分别占烟叶干重的0.010%和0.005%,该类物质不但存在于白肋烟中,而且在烤烟和香料烟中也存在。随后R. L. ROWLAND等^[10]采用相同的方法从成熟的烤烟和白肋烟中提取分离出了新的西柏烯醇类化合物,经鉴定分别为 α -西柏三烯-4,8-二醇和 β -西柏三烯-4,8-二醇。1963年,R. L. ROWLAND等^[11]又从烟草和烟气中分离出了新的西柏烯醇类化合物,经鉴定为西柏三烯-4-醇的环氧化合物。

然而,由于分析技术的局限,以上分离鉴定得到的西柏烯醇类化合物虽经过NMR及有机分析技术的鉴定,但是都未能够对其绝对构型予以阐明。直至1975年,J. P. SPRINGER等^[12]和A. J. AASEN等^[13]分别采用X-光单晶衍射方法和臭氧化方法才对上述西柏烯类化合物的绝对构型予以确证。此后,通过X-光衍射法证实该类物质结构成为一种模式,例如,D. BEHR等^[14]从希腊香料烟中分离出了两种西柏烯环氧化合物,经结构鉴定为在4-号位碳存在R型和S型异构体的8,11-环氧-2,6-西柏二烯-4,6-二醇。I. WAHLBERG等^[15]从希腊香料烟中分离出了3种西柏烯类化合物,采用X-光衍射法确定了3种化合物结构分别为(1S,2E,4S,6R,7E,11S)-2,7,12(20)-西柏三烯-4,6,11-三醇、(1S,2E,4S,6R,7E,10E,12S)-2,7,10-西柏三烯-4,6,12-三醇和(1S,2E,4S,6R,7E,11S,12S)-11,12-环氧-西柏二烯-4,6-二醇。A. M. EKLUND等^[16]则从希腊香料烟草花中分离出了一种结构特殊的

西柏烯类化合物,通过X-射线晶体衍射方法,确证为(1S,3R,4S,6R,7R,8R,11Z)-4,6,8-西柏三烯-2,10-二酮。

关于西柏三烯醇类的分离纯化,国内相关研究人员也开展过类似工作。2007年,丁丽^[17]提出了二萜类物质的提取工艺:将新鲜烟叶经二氯甲烷浸提后,通过减压蒸馏浓缩、液-液萃取、凝胶(GPC)色谱柱分离后,再用碱性氧化铝层析柱分离得 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇;然后分别用正戊烷热溶后,-15℃冷冻析晶。孙文梁等^[18]则于2010年提出了从新鲜烟叶中提取、分离和纯化 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的新方法,即通过高效液相色谱(HPLC)法,该方法先将新鲜烟叶经氯仿浸提、减压蒸馏浓缩、液-液萃取后,再经硅胶色谱柱和氰基色谱柱分离除杂,最后通过反相C18色谱柱分离纯化得到 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇。

1.2 西柏烯类化合物含量的测定

作为烟草表皮腺毛分泌物的西柏烯类化合物,其在烟草中含量的测定有很多报道。1976年,S. Y. CHANG等^[19]研究表明,鲜烟叶中西柏三烯-4,6-二醇相对含量较高,占烟叶鲜重的0.7%,占烟叶表面总类脂物的50%。R. F. SEVERSON等^[20]研究表明,烟叶表面分泌物的主要成分包括双萜类及C25—C36直链和支链脂肪族化合物,这些成分约占烤烟表面成分气相色谱分离物的95%。V. A. COURT等^[21]研究表明,2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇是烟草中西柏烯类化合物的主要成分,其含量可以达到烤烟烟叶质量的0.23%。而A. COLLEDGE等^[22]研究指出该类物质含量可占烟叶腺毛分泌物的0.5%~10%。

从已有的报道来看,西柏烯类物质在烟草

中含量的分析方法各有不同. 西柏三烯及其环氧化合物为半挥发性成分, 在研究烟草挥发性成分时, 往往被同时分析检出. 1990年, J. H. LOUGHRIN等^[23]对5种烟草花的顶空成分进行了研究, 采用GC-MS法分析了包括西柏三烯在内的挥发性和半挥发性成分. J. C. LEFFINGWELL等^[24]采用动态和静态顶空分析法, 结合GC-MS法测定了500多种烟草成分, 其中包括(3Z)-Cembrene A. 2004年, F. M. PENG等^[25]采用GC-MS法, 对比研究了水蒸汽蒸馏、同时蒸馏萃取和顶空共蒸馏提取方法对烟草挥发性和半挥发性共408种成分的测定结果, 其中, 西柏三烯在3种方法的测定结果分别为0.78 $\mu\text{g/g}$, 0.75 $\mu\text{g/g}$ 和 1.61 $\mu\text{g/g}$, 3种方法测定的RSD分别为6.33%, 4.73%和6.09%. K. M. NAMARA等^[26]采用多维GC-MS分析技术, 对10种精油的挥发性萜类成分进行了分析测定, 其中包括西柏三烯和西柏三烯-E. S. HAMM等^[27]采用GC-MS法测定了几个乳香样品中的西柏烯环醚及其酯类化合物, 它们分别为(1S, 2R, 5E, 9E, 12R)-1, 5, 9-三甲基-12-(异丙基)-15-氧杂二环[10.2.1]十五-5, 9-二烯-2-醇(Incensole, 乳香素)、乳香素+异乳香素乙酸酯、乳香素乙酸酯、乳香素氧化物、乳香素氧化物乙酸酯.

对于西柏烯醇类物质的分析多采用衍生化后的GC-MS分析法. S. Y. CHANG等^[28]从新鲜白肋烟蜡质中分离出了西柏三烯-4, 6-二醇, 采用丁基硼酸衍生化法对烟叶中该化合物含量进行了测定及GLC分析和质谱鉴定, 测定结果显示, 生长老熟烟叶蜡质中该类物质含量大约是未熟期烟叶含量的一半. 2004年由谢剑平主持的国家烟草专卖局科技项目《烟草表面重要二萜类物质与烟草品质特征关系的研究》提出了利用N, O-双三甲基三氟乙酰胺(BSTFA)衍生化分析 α -2, 7, 11-西柏三烯-

4, 6-二醇和 β -2, 7, 11-西柏三烯-4, 6-二醇的GC-MS分析方法.

2 西柏烯类化合物的生物合成与生物降解

2.1 西柏烯类化合物的生物合成

业已证实, 生物体内萜类物质的形成起源于生物体内乙酰辅酶A或乙酰丙酸, 其经过甲羟戊酸或脱氧木酮糖磷酸酯生物合成途径形成. 然而, 大环双萜西柏烯类物质在烟草表皮腺毛中的形成途径尚未确证. 西柏烯类物质不仅存在于烟叶腺毛中, 也存在于松节油树脂等体系, neo-西柏三烯(西柏三烯-A)是金合欢基焦磷酸酯(GGPP)A类型环合最简单的代表. 理论上讲, 该化合物由GAPP经过3, 7, 11-西柏三烯分子上15-号位碳正离子, 再异构为2, 7, 11-西柏三烯分子上4-号位碳正离子而生成. 作为西柏三烯-4-醇和西柏三烯-4, 6-二醇的母体化合物(1S)-2, 4, 7, 11-西柏四烯, 可经过类似的碳正离子过程而形成. 然而, 目前既没有这些步骤的实验证据, 也没有从(1S, 3R)-蓖麻子烯(casbene)的(1R, 3S)-对映体形成(1S)-西柏三烯假设的证据^[29].

相关研究小组开展了西柏三烯-4, 6-二醇的生物合成研究, L. CROMBIE等^[30]使用切除的烟草花萼将[2-¹⁴C]标记的金合欢醇和(1R, S)-西柏三烯转化成相应标记的4 α -西柏三烯-4, 6-二醇和4 β -西柏三烯-4, 6-二醇. 相反, Z. GUO等^[31]使用不含植物细胞的烟草腺毛将[1-³H]标记的焦磷酸金合欢酯转化为 α -2, 7, 11-西柏三烯-4-醇和 β -2, 7, 11-西柏三烯-4-醇, 证实了烟草腺毛中催化焦磷酸金合欢酯转化的酶是一种分子量58 kDa的水溶性酶, 并推测了烟草中含量较高的西柏三烯-4, 6-二醇源于细胞色素P450依赖的单加氧酶(cytochrome P450 dependent monooxygen-

ase)催化氧化西柏三烯-4-醇的结果.而C. R. ENZELL等^[7]则推测西柏三烯-4-醇来源于2,4,7,11-西柏四烯.

2.2 西柏烯类化合物的生物降解

关于烟草西柏烯类化合物的降解,一般认为有两种起始模式:一种是单线态氧氧化,这种途径可以在光或氧化剂作用下进行;另一种是酶催化,例如在脂肪氧化酶作用下完成.起始氧化步骤完成后,经过一系列的后续化学转化,西柏烯类物质(主要是西柏三烯-4,6-二醇)可以转化为C8—C18不同碳原子数的香味成分.

V. A. RALDUGIN等^[32]研究了使用CrO₃分别在硫酸水溶液中(Jones试剂)和丙酮水溶液中氧化西柏三烯的反应,得到的主要产物是降西柏-2,7,11-三烯-4-酮、降茄二酮、(3E,8E)-5-异丙基-8-甲基十三(碳)-3,8-二烯-2,12-二酮和其他5种氧化产物.与Jones试剂氧化比较,在丙酮水溶液中的氧化作用对西柏三烯11,12-双键没有影响.进一步的研究表明,CrO₃在丙酮水溶液介质中主要氧化西柏三烯4,5-号位双键,其主要产物是西柏-2,7,11-三烯-4,5-二醇^[33].此后,该团队研究了使用过氧化苯甲酸和过氧化苯乙酸对西柏三烯每一个双键的立体专一性的环氧化反应,分别获得了4S,5R-,7S,8R-和11S,12S-单环氧化产物,研究结果显示环氧化更容易发生在11,12-号位双键上^[34].该团队还研究了光催化单线态氧氧化西柏烯的立体选择性反应,反应产物的立体化学结构与过氧酸氧化西柏烯结果类似;四氢硼酸钠处理后,从光氧化产物中分离得到了4种烯丙基醇类化合物,其主要成分的双键均为反式结构^[35].

J. ARNARP等^[36-38]采用生物催化方法研究了西柏三烯-4,6-二醇的降解:首先采用来源于雷公藤(*Tripterygiumwilfordii*)的植物细胞作为催化剂,研究了不同时期和不同细胞龄条

件下,西柏三烯-4,6-二醇的主要降解产物,研究表明,11,12-位双键容易被环氧化,10-,12-和13-号位的羟基化作用可以产生西柏三烯三醇产物;接着,该团队采用来源于美花烟草(*Nicotianasyvestris*)的植物细胞、细胞均质体、无细胞提取物和细胞小球分别作为生物转化体系催化剂,对产物的分析结果显示,西柏三烯-4,6-二醇的11,12-位双键环氧化是主要产物,10-,12-和13-号位的羟基化作用产物为次要微量产物.这些产物结构与烟草天然存在的结构一致.由上述研究可知,生物转化(1S,2E,4S,6R,7E,11E)-2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇所形成的4种降解产物:11S,12S-环氧化产物(①)、11S,12S-二羟基化产物(②)、(3E,7E,11S,12E)-4,8-二甲基-11-异丙基-3,7,12-十五(碳)三烯-2,14-二酮(③)、(4E,6R,8S,9E,11S)-4,8-二甲基-11-异丙基-6,8-二羟基-14-氧代十五(碳)4,9-二烯醛(④).经美花烟草细胞组织培养或细胞均质体催化作用,由化合物①形成它的异丙烯基叔碳羟基化产物;由化合物②形成8,12-环氧化(四氢呋喃)和8,12-环氧化(六氢吡喃环)产物;由化合物③形成7,8-环氧化产物;由化合物④形成醛基被还原的相应醇及一种四氢呋喃产物.

I. WAHLBERG等^[6]认为,大多数西柏烯类物质来源于西柏三烯-4,6-二醇的生物降解,其途径经过了氧化、脱水、酸碱重排和消除反应过程,随后的研究似乎支持了该观点.R. ARNDT等^[39]从希腊烟草花中分离并鉴定了5种西柏烯类化合物,分别是(1S,2E,4S,6R,7R,11S)-2,8(19),12(20)-西柏三烯-4,6,7,11-四醇及其立体差向异构体;(1S,2E,4S,8S,11S)-4,8,11-三羟基-2,12(20)-西柏二烯-6-酮及相应的(8R)-差向异构体;(1S,2E,4S,6S,7E,11S,12R)-2,7-西柏二烯

-4,6,11,12-四醇.采用光氧化对相关化合物的试验研究推测,这些化合物可能来源于西柏三烯-4,6-二醇的氧化作用.

3 西柏烯类化合物的化学合成

随着西柏烯类化合物在自然界逐渐被发现,一些具有抑菌、植物生长生理活性调节和抗肿瘤活性作用的化合物也被发掘出来,基于西柏烯类化合物生物活性的研究目的,国内外不少学者开展了对该类化合物的化学合成研究.1985年A. PAUL等^[40]以(+)-香芹酮为原料,先用35%的甲醇-硫酸溶液将异丙基上的双键进行衍生化保护,卤化后,与1,4-丁二烯进行加成反应,再经闭环等八步反应成功合成了西柏烯-A,并用¹H NMR和¹³C NMR,以及IR等对目标产物和合成路线中的中间产物结构进行了确认.李卫东等^[41-43]以香叶醇(醛)和香叶基丙酮为原料,氧化、还原、羟基保护后,再将香叶基丙酮进行选择氯化,并用乙二醇保护酮羰基,最后通过相转移催化反应和低温钛诱导二羰基化合物进行分子内环化偶联反应,合成了西柏烯-A,收率为17%;目标产物经柱层析纯化后,用IR和NMR技术进行了结构鉴定.其间,他们还用相同的方法成功地完成了西柏三烯-C和1-异丙基-4,8,12-三甲基-1,3,7,11-西柏四烯-13-醇前体化合物的合成.J. E. MCMURRY等^[44]则以金合欢醛为原料,在低温条件下利用钛诱导2-异丙基-5,9,13-三甲基-2,4,8,12-十四(碳)四烯-1,14-二醛进行分子内环化偶联反应,合成得到1-异丙基-4,8,12-三甲基-1,3,7,11-西柏四烯-13,14-二醇,并通过X-射线晶体衍射方法确认了其立体结构.

J. A. MARSHALL等^[45-46]以(2*E*,6*E*,10*E*)-12-[氧-(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-3,7,11-三甲基-2,6,10-十二(碳)三烯

-1-醇(醛)为原料,完成了 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的合成,并采用¹H NMR和¹³C NMR,以及IR和经典分析技术对其结构进行确认,同时还指出该类化合物在抑制烟草侧枝生长和抗肿瘤特性方面有重要贡献.2008年,K. A. SAYED等^[47]通过半合成和生物转化的方法对烟草中 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇进行研究,采用酯化、氧化、卤化等衍生化处理,以及生物霉菌进行生物转化处理,分别对衍生化后化合物的生物活性进行研究,结果表明,(1*S*,2*E*,4*S*,6*R*,7*E*,11*E*,13*R*)-2,7,11-西柏三烯-4,6,13-三醇-6-*O*-醋酸酯、(1*S*,2*E*,4*S*,6*R*,7*E*,11*E*,13*S*)-2,7,11-西柏三烯-4,6,13-三醇-6-*O*-醋酸酯和(1*S*,2*E*,4*S*,7*Z*,11*E*)-2,7,11-西柏三烯-4-醇-6-酮3种西柏烯类衍生物对于乳腺上皮细胞恶性生长具有抑制作用.2004年,H. FAHMY等^[48]进行了7,8-环氧-西柏-1,3,11-三烯-15*R*(α),16-二醇的合成研究,结果证明了西柏三烯二醇类化合物具有抑制肿瘤活性的作用.

2011年,H. N. BARAKA等^[49]从烟叶中分离得到新西柏烯类化合物(1*S*,2*E*,4*S*,6*E*,8*S*,11*E*)-2,6,11-西柏三烯-8-*O*-甲基-4,8-二醇和西柏烯类化合物(1*S*,2*E*,4*R*,6*R*,7*E*,11*E*)-2,7,11-西柏三烯-4-*O*-甲基-4,6-二醇.他们证明了(1*S*,2*E*,4*R*,6*R*,7*E*,11*E*)-2,7,11-西柏三烯-4-*O*-甲基-4,6-二醇对前列腺癌细胞的扩散有很好的抑制作用,通过对该物质一系列真菌和霉菌的微生物转化代谢研究发现,从*Cunninghamella* NRRL 5695和*Mucorramannianus* ATCC 9628代谢产物中分离得到两种未知的和两种已知的西柏烯衍生物,采用¹H NMR和¹³C NMR技术分别鉴定了其结构.同时,该团队对这些物质分别进行酯

化、铬酸氧化、金属催化环氧化,以及与 Lawson 试剂反应等衍生化处理,共得到 8 种新的西柏烯衍生物:其中,在金属催化环氧化反应过程中,得到的西柏烯衍生物用¹H NMR 和¹³C NMR,以及 IR 等分析技术进行结构确认,确定为(1*S*, 2*E*, 4*R*, 6*R*, 7*S*, 8*S*, 11*E*) - 7, 8 - 环氧 - 2, 11 - 西柏二烯 - 4 - *O* - 甲基 - 4, 8 - 二醇;而在¹³C NMR谱的解析过程中,通过比对分析碳的化学位移,以及 C - 6, C - 7, C - 8 的 *J* 值变化,确认为(1*S*, 2*E*, 4*R*, 6*S*, 7*S*, 8*S*, 11*E*) - 7, 8 - 环氧 - 2, 11 - 西柏二烯 - 4 - *O* - 甲基 - 4, 6 - 二醇。随后该团队通过对(1*S*, 2*E*, 4*R*, 6*R*, 7*E*, 11*E*) - 2, 7, 11 - 西柏三烯 - 4 - *O* - 甲基 - 4, 6 - 二醇各衍生物作用于细胞的生长研究发现,(1*S*, 2*E*, 4*R*, 6*R*, 7*E*, 11*E*) - 2, 7, 11 - 西柏三烯 - 4 - *O* - 甲基 - 4, 6 - 二醇和(1*S*, 2*E*, 4*R*, 6*S*, 7*S*, 8*S*, 11*E*) - 7, 8 - 环氧 - 2, 11 - 西柏二烯 - 4 - *O* - 甲基 - 4, 6 - 二醇生物活性最为明显。

4 展望

西柏烯类化合物一直是烟草化学研究的重要内容,也是烟草科学关注的重点。从目前国内外有关西柏烯类化合物化学研究成果可以看出,学界已对西柏烯类化合物的分离鉴定与含量分析、生物合成与生物降解、化学合成等方面进行了大量的研究,随着烟草科学与技术的不断发展,迫切需要对西柏烯类化合物的化学研究与生物学研究不断深化。未来需要深入研究的主要问题如下:

1) 建立更直接、准确和快速的西柏烯类化合物分离与分析方法。西柏烯类化合物在烟草生长过程中的累积规律、在不同类型和等级烟叶中的存在及分布规律,以及在烟草加工不同阶段的降解规律等方面的研究,都需要西柏烯类化合物的分离与分析技术作为支撑,而目前广泛采用的 GC 和 GC-MS 方法对这类半挥发性

化合物的分析灵敏度较低,如果衍生之后再进行分析 GC-MS 分析则是一个间接的分析方法。因此,进一步研究并建立更直接、准确和快速的分离与分析方法(如 UHPLC-MS-MS 方法)是未来西柏烯类化合物研究的重点内容之一。

2) 深入开展烟草中西柏烯类化合物经过生物降解形成香味物质的方法研究。尽管国内外对此已有一定报道,但在降解手段和方法研究上仍较缺乏。西柏烯类化合物氧化降解是烟草产生香味的重要途径,而目前利用植物细胞对西柏烯类化合物进行生物降解还不能得到烟草致香成分,所以,对生物降解进行深入研究,如进一步研究在陈化和加工过程中烟叶表面微生物分泌的某些酶对西柏烯类化合物能产生生物降解作用,增加卷烟香气,提高卷烟品质其意义是不言而喻的。

3) 深入开展烟草西柏烯类化合物形成机制和降解机理研究。在天然植物体内西柏烯类化合物的形成机理及其影响因素是西柏烯类化合物尚不明确、需要解决的基础科学问题,该问题的阐明对于卷烟生产具有重要价值,然而,该问题目前尚无定论,需要通过生物学和化学等学科与现代技术有机结合、体系内与体系外相结合的方法加以解决,以便进一步研究烟草西柏烯类化合物形成机制和降解产生茄酮、降茄二酮等烟草关键致香成分的反应机理。

参考文献:

- [1] ENZELL C R, WAHLBERG I, AASEN A J. Isoprenoids and alkaloids of tobacco[M]. Vienna: Springer, 1977, 34:1 - 79.
- [2] HAAGEN-SMIT A J, WANG T H, MIROV N T. Composition of gum tumentines of pines. XIII. A report on pinus-albicaulis[J]. J Am Pharm Assoc, 1951, 40(11): 557.
- [3] 李国强, 张艳玲, 林文翰. 西松烷二萜类海洋活性成分研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2006, 36(3): 370.
- [4] WIEMER D F, MEINWALD J, PRESTWICH G D, et al.

- Cembrene A and (3*Z*)-cembrene A: diterpenes from a Termite Soldier (Isoptera:Termitidae:Termitinae) [J]. J Org Chem, 1979, 44(22): 3950.
- [5] MATTERN D L, SCOTT W D, MCDANIEL C A, et al. Cembrene A and a congeneric ketone isolated from the paracloacal glands of the Chinese Alligator (Alligator sinensis) [J]. J Nat Prod, 1997, 60(8): 828.
- [6] WAHLBERG I, ENZELL C R. Tobacco isoprenoids [J]. Nat Prod Rep, 1987, 4(3): 237.
- [7] ENZELL C R, WAHLBERG I. Tobacco isoprenoids-precursors of important aroma constituents [J]. Pure & Appl Chem, 1990, 62(7): 1353.
- [8] 叶荣飞, 赵瑞峰. 烟草香气物质来源 [J]. 广东农业科学, 2011(5): 51.
- [9] ROBERTS D L, ROWLAND R L. Macrocyclicditerpenes α and β -4,8,13-*duvatriene*-1, 3-diols from tobacco [J]. J Org Chem, 1962, 27(11): 3989.
- [10] ROWLAND R L, ROBERTS D L. Macrocyclicditerpenes isolated from tobacco. α and β -3,8,13-*duvatriene*-1, 5-diols [J]. J Org Chem, 1963, 28(5): 1165.
- [11] ROWLAND R L, RODGMAN A, SCHUMACHER J N, et al. Macrocyclicditerpenehydroxy ethers from tobacco and cigarette smoke [J]. J Org Chem, 1964, 29(1): 16.
- [12] SPRINGER J P, CLARDY J, COX R H, et al. The structure of a new type of plant growth inhibitor extracted from immature tobacco leaves [J]. Tetrahedron Lett, 1975, 16(32): 2737.
- [13] AASEN A J, JUNKER N, ENZELL C R, et al. Tobacco chemistry 36. Absolute configuration of tobacco thunberganoids [J]. Tetrahedron Lett, 1975, 16(30): 2607.
- [14] BEHR D, WAHLBERG I, AASEN A J, et al. Tobacco chemistry 44. (1*S*,2*E*,4*R*,6*E*,8*R*, 11*S*,12*R*)-and (1*S*, 2*E*,4*S*, 6*E*, 8*R*, 11*S*, 12*R*)-8, 11-epoxy-2, 6-thunbergadiene-4,12-diol. two new diterpenoids of Greek tobacco [J]. Acta Chem Scand, 1978, B32: 221.
- [15] WAHLBERG I, WALLIN I, NARBONNE C, et al. Tobacco chemistry 55. Three new cembranoids from Greek tobacco. The stereochemistry of (1*S*, 2*E*, 4*S*, 6*R*, 7*E*, 11*E*)-2, 7, 11-cembratriene-4, 6-diol [J]. Acta Chem Scand, 1982, B36(3): 147.
- [16] EKLUND A M, BERG J E, WAHLBERG I. Tobacco chemistry. 73. 4,6,8-Trihydroxy-11- capnosene-2,10-dione, a new cembrane-derived bicyclic diterpenoid from tobacco [J]. Acta Chem Scand, 1992, 46(1): 367.
- [17] 丁丽. 香料烟叶表面物质中糖酯和二萜的研究 [D]. 大连: 中国科学院大连化学物理研究所, 2007.
- [18] 孙文梁, 高伟. 一种分离纯化烟草中两种致香前体物的方法: CN 201010617666.3 [P]. 2010-12-30.
- [19] CHANG S Y, GRUNWALD C. Duvatrienediol alkanes and fatty acids in cuticular wax of tobacco leaves of various physiological maturity [J]. Phytochemistry, 1976, 15(6): 961.
- [20] SEVERSON R F, ARRENDALE R F, CHORTYK O T, et al. Quantitation of the major cuticular components from green leaf of different tobacco types [J]. J Agr Food Chem, 1984, 32(3): 566.
- [21] COURT V A, HENDEL J G, POCS R. Influence of transplanting and harvesting date on the agronomic and chemical characteristics of flue-cured tobacco [J]. Tob Sci, 1993, 37: 59.
- [22] COLLEDGE A, REID W W, RUSSELL R. Diterpenoids of Nicotiana species and their potential technological significance [J]. Chem Ind-London, 1975, 13: 570.
- [23] LOUGHRIN J H, HAMILTON-KEMP T R, ANDEMEN R A, et al. Headspace compounds from flowers of Nicotiana tabacum and related species [J]. J Agr Food Chem, 1990, 38(2): 455.
- [24] LEFFINGWELL J C, ALFORD D E, LEFFINGWELL D, et al. Identification of the volatile constituents of Cyprian Latakia tobacco by dynamic and static headspace analyses [J]. Leffingwell reports, 2013, 5(2): 1.
- [25] PENG F M, SHENG L Q, LIU B Z, et al. Comparison of different extraction methods: steam distillation, simultaneous distillation and extraction and headspace codistillation, used for the analysis of the volatile components in aged flue-cured tobacco leaves [J]. J Chromatogr A, 2004, 1040(1): 1.
- [26] NAMARA K M, HOWELL J, HUANG Y, et al. Analysis of gin essential oil mixtures by multidimensional and one-dimensional gas chromatography/mass spectrometry with spectral deconvolution [J]. J Chromatogr A, 2007, 1164(1): 281.
- [27] HAMM S, BLETON J, CONNAN J, et al. A chemical investigation by headspace SPME and GC-MS of volatile and semi-volatile terpenes in various olibanum samples [J]. Phytochemistry, 2005, 66(12): 1499.

- [28] CHANG S Y, GRUNWALD C. Duvatrienediols in cuticular wax of burley tobacco leaves[J]. *J Lipid Res*, 1976, 17(1):7.
- [29] MACMILLAN J, BEALE M H. Diterpenebiosynthesis [J]. *Comprehensive natural products chemistry*, 1999, 2:217.
- [30] CROMBIE L, MCNAMARA D, FIRTH D F, et al. Biosynthetic precursors for α - and β -cembrene diol formation in tobacco[J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(6):1685.
- [31] GUO Z, WAGNER G J. Biosynthesis of cembratrienols in cell-free extracts from trichomes of *Nicotiana glauca* [J]. *Plant Sci*, 1995, 110(1):1.
- [32] RALDUGIN V A, FEDOROV V K, PENTEGOVA V A. Oxidative transformations of cembranediterpenoids I. Oxidation of cembrene with chromium trioxide [J]. *Chem Nat Compd*, 1976, 12(3): 278.
- [33] RALDUGIN V A, REZVUKHIN A I, KOROTKIKH L Y, et al. Oxidative transformations of cembranediterpenoids. II. Cembra-2, 7, 11-triene-4, 5-diols [J]. *Chem Nat Compd*, 1977, 13(1): 46.
- [34] RALDUGIN V A, REZVUKHIN A I, KOROTKIKH L Y, et al. Oxidative transformations of cembranediterpenoids III. Epoxycembrenes [J]. *Chem Nat Compd*, 1977, 13(4):439.
- [35] RALDUGIN V A, SALENKO V L, YAROSHENKO N I, et al. Oxidative transformations of cembranediterpenoids IV. Photooxidation of cembrene [J]. *Chem Nat Compd*, 1981, 17(1):54.
- [36] ARNARP J, CHU W L A, ENZELL C R, et al. Cheminform abstract tobacco chemistry. Part 76. Biotransformations of tobaccoisoprenoids using plant cell cultures of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Acta Chem Scand*, 1993, 47: 683.
- [37] ARNARP J, CHU W L A, ENZELL C R, et al. Cheminform abstract: tobacco chemistry. Part 77: Biotransformations of a major tobacco cembratrienediol using plant cell cultures of *Nicotiana glauca* [J]. *Acta Chem Scand*, 1993, 47(7): 689.
- [38] ARNARP J, CHU W L A, ENZELL C R, et al. Cheminform abstract: tobacco chemistry. Part 77: Biotransformations of tobacco cembranoids using plant cell cultures of *Nicotiana glauca* [J]. *Acta Chem Scand*, 1993, 47: 793.
- [39] ARNDT R, BERG J E, WAHLBERG I. Tobacco Chemistry. 71. Structure determination and biomimetic studies of five new tobacco cembranoids [J]. *Acta Chem Scand*, 1990, 44(8): 814.
- [40] WENDER P A, HOLT D. A. Macroexpansion methodology. 3. eight-step synthesis of (-)-(3*Z*)-cembrene A [J]. *J Am Chem Soc*, 1985, 107(25):7771.
- [41] 李卫东, 李瀛, 李裕林. 大环二萜类化合物的研究-VI. (\pm)-Cembrene-A 全合成新途径 [J]. *中国科学 (B 辑)*, 1993, 23(1):15.
- [42] 毛建民, 李瀛, 侯自杰, 等. 大环二萜类化合物的研究(III)-Cembrene-C 的全合成 [J]. *中国科学 (B 辑)*, 1991, 21(7):686.
- [43] 李裕林, 李卫东, 李瀛. 大环二萜类化合物的研究(IV)-Isosarcophytol-A 前体化合物的合成 [J]. *高等学校化学学报*, 1992, 13:947.
- [44] MCMURRY J E, RICO J G, SHIH Y N. Synthesis and stereochemistry of sarcophytol B: An anticancer cembranoid [J]. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30(10):1173.
- [45] MARSHALL J A, ROBINSON E D. Enantioselective total synthesis of (+)- α -2, 7, 11-cembratriene-4, 6-diol (α -CBT) [J]. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30(9):1055.
- [46] MARSHALL J A, ROBINSON E D, LEBRETON J. Synthesis of the tumor-inhibitory tobacco constituents α and β -2, 7, 11-cembratriene-4, 6-diol by diastereoselective [2, 3] Wittig ring contraction [J]. *J Org Chem*, 1990, 55(1):227.
- [47] EL SAYED K A, LAPHOOKHIEO S, YOUSAF M, et al. Semisynthetic and biotransformation studies of (1*S*, 2*E*, 4*S*, 6*R*, 7*E*, 11*E*)-2, 7, 11-cembratriene-4, 6-diol [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(1):117.
- [48] FAHMY H, KHALIFA S I, KONOSHIMA T, et al. An improved synthesis of 7, 8-epoxy-1, 3, 11-cembratriene-15*R* (α), 16-diol, a cembranoid of marine origin with a potent cancer chemopreventive activity [J]. *Marine Drugs*, 2004, 2(1):1.
- [49] BARAKA H N, KHANFAR M A, WILLIAMS J C, et al. Bioactive natural, biocatalytic and semisynthetic tobacco cembranoids [J]. *Planta Med*, 2011, 77:467.



引用格式:崔光照,王茜,张俊亚,等.基于DNA链置换反应的圆环形逻辑门设计[J].轻工学报,2016,31(1):55-60.

中图分类号:TP331;Q811.4 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.010

文章编号:2096-1553(2016)01-0055-06

基于DNA链置换反应的圆环形逻辑门设计

Design of circular logic gate based on DNA strand displacement reaction

崔光照,王茜,张俊亚,张勋才,王子成,王延峰

CUI Guang-zhao, WANG Xi, ZHANG Jun-ya, ZHANG Xun-cai, WANG Zi-cheng,
WANG Yan-feng

郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002

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

关键词:

DNA链置换反应;圆
环形DNA;逻辑门

Key words:

DNA strand displacement
reaction; circular
DNA; logic gate

摘要:利用DNA链置换技术反应进程的可编程性和DNA链动力学特征的可预测性,基于DNA链置换反应,以圆环形DNA为基本单元,构造出与非门和或非门逻辑计算模型.该模型以单链DNA分子为输入信号,利用圆环形DNA分子包含的多个DNA识别区域和小支点区域,通过探测荧光信号精确识别其输出信号,来确保DNA分子逻辑门输出结果的正确性与广泛适用性.

收稿日期:2015-11-19

基金项目:国家自然科学基金项目(61472371, 61472372, 61572446);河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300413214);河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目(2013GGJS-106);河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(15HASTIT019)

作者简介:崔光照(1957—),男,河南省洛宁县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物计算与信息安全.

Abstract: Using the DNA strand displacement technology that the reaction progress was programmable and the DNA strand dynamics was predictable, two logic computational models (logic NAND gate and NOR gate) with circular DNA as a basic work unit were designed based on DNA strand displacement reaction. In these models, single-stranded DNA was regarded as the system input. Using many DNA recognition domains and toehold domains which were contained in circular DNA molecule, the output signal was accurately identified by detecting specific fluorescent signal to ensure the correctness and extensive applicability of these DNA logic gate models.

0 引言

电子技术的快速发展要求计算机的电子器件和整个电路系统朝着更小、更冷、更快的方向发展。然而,随着科学技术的发展,集成电路技术愈来愈趋近所能容许的极限:电子通道的布线过密就会使得电路的线宽过小,当电路的线宽远小于光刻技术中所用光谱的波长时,光刻技术将无法使用;密实的电路布设在更小的硅芯片上,会使电路产生过多的热量从而损坏芯片,进而引发一系列问题,致使系统瘫痪;此外,它还受到来自功率耗损、制造成本等诸多方面的限制。鉴于此,人们开始探索新的计算模式,以适应科技发展的需要。

到目前为止,研究人员已经开发出了诸如生物计算、量子计算等新一代的计算方法^[1-12]。生物分子具有纳米级的尺度优势与强大的识别能力和信号传导能力,加之,现代技术赋予生物分子的可操作性,多方面的优势造就了生物分子元件组装成生物计算机的可能性。作为生物信息的载体,DNA分子根据碱基互补配对原则形成双螺旋结构,使分子行为的可预测成为可能。而分子计算是以DNA分子作为基本材料,并结合现代分子生物技术来求解复杂计算问题和构建新的计算装置。因此,分子计算又被称为“DNA计算”。

DNA作为一种生物材料,精确的识别特性和良好的分子特性赋予其用于分子结构构建的可能性,且已被广泛应用于分子逻辑计算。早在2000年,C. MAO等^[1]首次利用刚性三交叉

DNA Tile通过自组装实现了累积异或(XOR)运算操作。笔者所在课题组利用改进的刚性三交叉DNA Tile实现了累积布尔逻辑门和逻辑电路操作^[2-5]。B. M. FREZZA等^[6]设计出基于DNA链置换的逻辑门——与门、或门和与非门,并组合这些逻辑门应用于XOR电路。DNA链置换反应是在适当环境下,引入单链DNA分子,通过分子间的匹配与替代,改变DNA双链分子结构,从而释放目标DNA单链过程的^[7]。目前已被应用于DNA纳米装置的构建,例如分子镊子、DNA步行者和分子蜘蛛等^[8-10]。然而这些纳米设备大多采用短的线性DNA作为基本材料,结构比较单一,阻碍了复杂的分层DNA模型的构建。近期,研究人员利用圆环形DNA分子来构建计算模型^[11-12],为DNA在未来的研究和应用开辟了新的视角。

本文拟基于DNA链置换反应构建圆环形DNA与非门和或非门。在该逻辑系统中,圆环形DNA模型被用作基本单元,线性单链DNA分子作为输入输出信号,在圆环形DNA结构中具有DNA识别区域和小支点区域,使得DNA链置换反应能够顺利进行,再结合荧光标记技术实现对输入、输出信号精确检测。

1 DNA链置换技术与圆环形DNA模型

1.1 DNA链置换技术

DNA链置换技术因其反应进程的可编程性和DNA链动力学特征的可预测性等优点,在生物计算领域受到越来越多的关注。目前已在DNA逻辑门、生化逻辑电路、纳米机器等的构

建中得到广泛应用.

DNA 链置换技术是指 DNA 单链与部分互补双链发生结构反应,替代并释放出原有结构中与被约束的单链,从而生成新双链结构的过程.当互补链的长度变化时,形成双螺旋结构的结合力也有所不同.当 DNA 分子在杂交系统中,逐渐过渡到熵不断增加、自由能趋于稳定的状态,从而实现结合力较强的输入链替换结合力较弱的被约束的单链,最后,被替代的单链作为输出信号,实现分子逻辑运算功能.

DNA 链置换反应(见图 1)根据反应过程的可逆性分为不可逆反应和可逆反应.不可逆反应的基本过程如图 1a)所示.作为输入信号的单链 ab 与部分双链结构发生链置换反应,首先区域 a 与区域 a* 通过一定的结合力形成互补双链,输入单链的识别区域 b 会逐渐替代原绑定链 b,直到完全替代并释放链 b,即输出信号产生,系统达到稳定,完成链置换反应.

通过 DNA 分子结构的巧妙设计可以实现 DNA 链置换反应的可逆反应,如图 1b)所示.作为输入信号的单链 ab 可以与部分双链结构发生链置换反应,置换出单链 bc,之后,由于小支点区域由 a* 转变为 c*,被置换出的单链 bc 又可以与新生成的部分双链结构发生反应,重新置换出单链 ab.直到反应溶液中各分子浓度达到一定比例,反应处于动态平衡状态.

1.2 圆环形 DNA 模型

2006 年,周康等^[12]提出了圆环形 DNA 模型.该模型的圆环 DNA 分子的结构灵活性,丰富了可供选择的生化实验,也保证了对 DNA 分子长度的控制,这为 DNA 计算的深入应用创造了条件.2010 年,C. ZHANG 等^[13]基于 DNA 链置换反应构建出圆环形 DNA 逻辑门模型.在该逻辑系统中,圆环形 DNA 模型被用作基本的单元,线性单链 DNA 分子作为输入输出信号,在圆环形 DNA 结构中具有 DNA 识别区域和小支点区域,使得 DNA 链置换反应能够顺利进行,分子逻辑门能够产生正确的输出信号.

图 2 为圆环形 DNA 模型构建“YES”门示意图,它有 1 个输入信号和 1 个输出信号,是最简单的逻辑门模型.当输入信号为逻辑值 1 时,输出信号为逻辑值 1;当输入信号为逻辑值 0 时,输出信号为逻辑值 0.在分子 YES 门计算模型中,当向溶液中加入输入信号 A₁ 链后,A₁ 链与圆环形 DNA 链中的 A 链结合,并向两个方向同时进行分支迁移活动,直到链 B 和链 C 从原来的圆环形模型中脱落下来,链 B 和链 C 分离开来,有荧光信号产生,即输出结果为逻辑值 1.

2 圆环形 DNA 逻辑门设计

2.1 与非门设计

逻辑与非门是一种基本逻辑电路,是与门

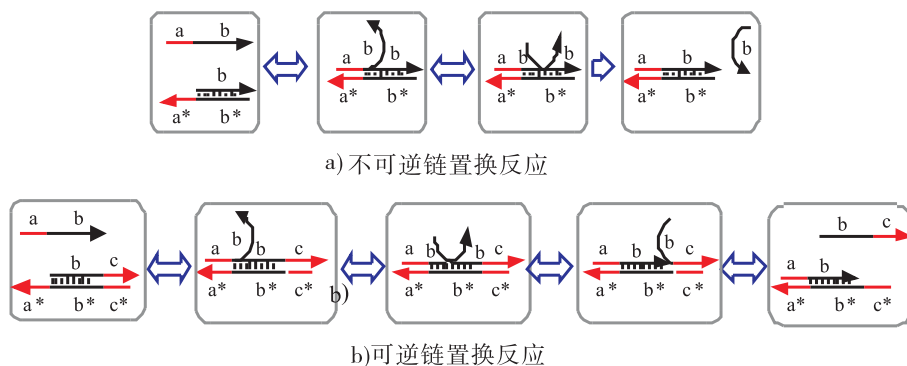


图 1 DNA 链置换反应

Fig. 1 DNA strand displacement reactions

和非门的结合,输入信号先进行与运算,再进行非运算得到输出信号. 圆环形 DNA 逻辑与非门操作机理如图 3 所示.

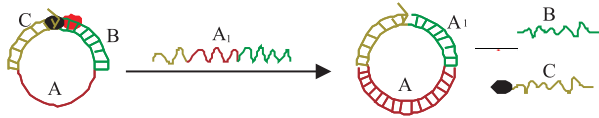


图 2 圆环形 DNA 模型构建 YES 门示意图

Fig. 2 Mechanisms of circular DNA logic gate YES operation

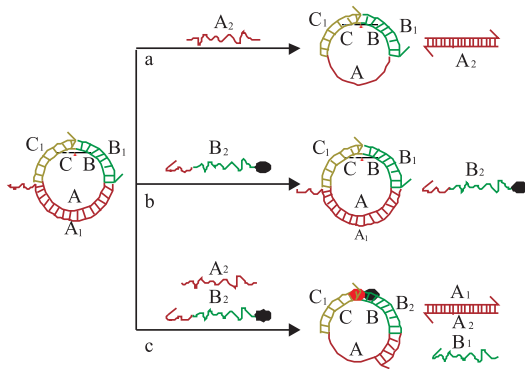


图 3 圆环形 DNA 逻辑与非门操作机理

Fig. 3 Mechanisms of circular DNA logic gate NAND operation

在分子与非门的设计中,其初始状态由圆环形 DNA 构建. 圆环链 ABC 由 63 个碱基组成,链 A 包含识别区域,可以与链 A₂ 和链 B₂ 部分互补. 链 A₁, 链 B 和链 C 分别与链 A₂, 链 B₁ 和链 C₁ 互补. 逻辑计算初始化可以通过加入输入链到溶液中实现. 在荧光试验操作阶段,链 C₁ 的 3' 端用 TAMRA 荧光基团进行修饰,链 B₂ 的 5' 端用 BHQ 荧光猝灭基团进行修饰. 在荧光基团和荧光猝灭基团结合以后,溶液中荧光的浓度会相应地减少. 在该系统中,输入信号是单链 DNA,通过对荧光信号的检测来判断输出结果,反应结束后,若能检测到荧光信号,表明输出结果为逻辑值 1, 否则输出结果为逻辑值 0.

在上述分子逻辑操作中,只有当两个输入

信号都存在时,没有荧光信号出现. 与非门的操作有 3 种方式:

1) 当链 A₂ 被单独加入到溶液中后,先与链 A₁ 的小支点区域结合,经过分支迁移过程置换出链 A₁, 链 B₁ 和链 C₁ 仍旧依附在 DNA 圆环上. 因为没有荧光猝灭基团和链 C₁ 上的荧光基团结合,因此荧光信号依然存在,逻辑输出结果为 1.

2) 当链 B₂ 被单独加入到溶液中后,因为在链 A 的另一侧没有暴露的小支点存在,因此溶液中没有生化反应发生,圆环形分子模型没有发生变化,荧光信号依然存在,逻辑输出结果为 1.

3) 当链 A₁ 和链 B₂ 同时加入到溶液中后,链 A₂ 基于 DNA 链置换反应与链 A₁ 结合,随后,圆环形 DNA 模型中的小支点区域暴露出来,链 B₂ 将链 B₁ 从圆环形结构中置换出来并导致荧光基团和荧光猝灭基团结合,荧光信号随之消失,逻辑输出结果为 0.

2.2 或非门设计

逻辑或非门是或门和非门的结合,输入信号先进行或运算,再进行非运算得到输出信号. 或非门可以有多个输入端,但只有 1 个输出端.

在分子或非门的系统设计中,其初始状态依然由圆环形 DNA 链 ABC 和链 C₁ 自组装而成. 圆环形 DNA 逻辑或非门操作机理如图 4 所示.

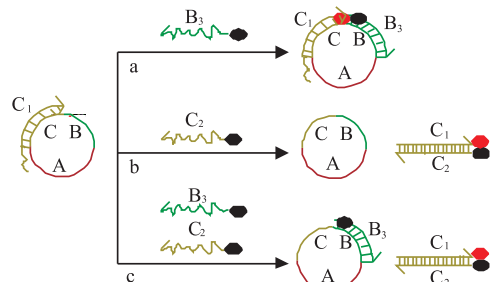


图 4 圆环形 DNA 逻辑或非门操作机理

Fig. 4 Mechanisms of circular DNA logic gate NOR operation

逻辑计算初始化可以通过加入输入链到溶液中实现. 在荧光试验操作阶段, 链 C_1 的 3' 端用 TAMRA 荧光基团进行修饰, 链 B_3 和链 C_2 的 5' 端都用 BHQ 荧光猝灭基团进行修饰.

在上述分子逻辑操作中, 若无输入信号, 逻辑值为 1; 只要有输入信号存在, 荧光信号消失, 逻辑值为 0. 与非门的操作有 3 种方式:

1) 当输入链 B_3 单独加入到溶液中时, 链 B 与链 B_3 结合形成互补双链结构, 最终导致链 C_1 上荧光基团和链 B_3 上荧光猝灭基团结合, 不再有荧光信号发出, 逻辑输出结果为 0.

2) 当输入链 C_2 单独加入到溶液中时, 链 C_2 先与链 C_1 上的小支点区域结合, 逐步通过分支迁移过程, 链 C_1 从 DNA 圆环上脱落下来, 和链 C_2 形成互补双链, 荧光基团熄灭, 逻辑输出结果为 0.

3) 当链 B_3 和链 C_2 同时加入到溶液中后, 上述两个反应会同同时发生, 无荧光信号发出, 逻辑输出结果为 0.

基于 DNA 链置换反应, 以圆环形 DNA 为基本单元的分子逻辑与非门和或非门具有很强的可行性. 分子逻辑门的实验操作以溶液作为中间媒介, 需要有标准的 DNA 序列设计, 选择合适的小支点长度和实验温度, 准确计算溶液的配比. 这些对于实验能否顺利进行都是至关重要的. 但受目前生物实验操作局限性的影响, 相关实验验证有待进一步研究. 综上所述, 圆环形 DNA 逻辑门的设计具备以下特征:

1) 圆环形 DNA 模型经过特异性识别, 进行独特的分支迁移活动, 最终实现逻辑计算功能;

2) 基于 DNA 圆环形结构的设计, 一条长的 DNA 链能够从两个方向进行链置换反应;

3) 与线性 DNA 自组装相似, 不同环形 DNA 子链的结合能为二次功能性绑定提供更好的支架^[14]. 对于这样的分层 DNA 支架, 纳米颗粒、生物分子和染料在此结构下可以得到精

确的固定和控制^[15].

3 结语

基于 DNA 链置换反应, 以圆环形 DNA 分子为基本单元, 构建了逻辑与非门和或非门, 并应用荧光标记技术对输入、输出信号进行检测分析. 圆环形 DNA 分子包含多个 DNA 识别区域和小支点区域, 且具有高精确的识别性, 确保了 DNA 分子逻辑门输出结果的正确性及广泛适用性.

进一步, 若把与非门和或非门级联构建完整的逻辑电路, 仍然具有一定的困难性, 因为并非每个反应的输出结果均是单链 DNA. 因此, 该研究还需要进一步地改进和提高. 尽管如此, 以小支点为媒介的 DNA 链置换反应的圆环形结构设计依然展示了 DNA 计算的巨大进步.

参考文献:

- [1] MAO C, LABEAN T H, REIF J H, et al. Logical computation using algorithmic self-assembly of DNA triple-cross-over molecules[J]. *Nature*, 2000, 407(6803):493.
- [2] WANG Y F, SUN J W, CUI G Z, et al. Basic logical operations using algorithmic self-assembly of DNA molecules[J]. *Journal of nanoelectronics and optoelectronics*, 2010, 5(1):30.
- [3] WANG Y F, SUN J W, ZHANG X C, et al. Half adder and half subtractor operations by DNA self-assembly[J]. *Journal of computational and theoretical nanoscience*, 2011, 8(7):1288.
- [4] WANG Y F, SUN J W, ZHANG X C, et al. Full adder and full subtractor operations by DNA self-assembly[J]. *Advanced science letters*, 2011, 4(2):383.
- [5] WANG Y F, SUN J W, CUI G Z, et al. Logical NAND and NOR operations using algorithmic self-assembly of DNA molecules[J]. *Physics procedia*, 2012, 33:954.
- [6] FREZZA B M, COCKROFT S L, GHADIRI M R. Modular multi-level circuits from immobilized DNA-based logic gates[J]. *Journal of the american chemical society*, 2007, 129(48):14875.

- [7] ZHANG D Y, SEELIG G. Dynamic DNA nanotechnology using strand-displacement reactions [J]. *Nature chemistry*, 2011, 3(2): 103.
- [8] MITEHDL J C, YURKE B. DNA Scissors [C] // *DNA Computing: 7th International Workshop on DNA-Based Computers*, Heidelberg: Springer, 2002: 258 - 268.
- [9] SHIN J S, PIERCE N A. A synthetic DNA walker for molecular transport [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(35): 10834.
- [10] LUND K, MANZO A J, DABBY N, et al. Molecular robots guided by prescriptive landscapes [J]. *Nature*, 2010, 465(7295): 206.
- [11] LI W, YANG Y, YAN H, et al. Three-input majority logic gate and multiple input logic circuit based on DNA strand displacement [J]. *Nano letters*, 2013, 13(6): 2980.
- [12] 周康, 王延峰, 刘文斌, 等. 基于闭环 DNA 的边着色问题 DNA 算法 [J]. *华中科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(9): 25.
- [13] ZHANG C, YANG J, XU J. Circular DNA logic gates with strand displacement [J]. *Langmuir*, 2010, 26(3): 1416.
- [14] WANG Z G, WILNER O I, ITAMAR W. Self-assembly of aptamer-circular DNA nanostructures for controlled biocatalysis [J]. *Nano letters*, 2009, 9(12): 4098.
- [15] WEIZMANN Y, BRAUNSCHWEIG A B, WILNER O I, et al. A polycatenated DNA scaffold for the one-step assembly of hierarchical nanostructures [J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2008, 105(14): 5289.

(上接第 39 页)

- [9] 景延秋, 洗可法. 不同滤嘴稀释度对卷烟主流烟气中重要香味成分输送量的影响 [J]. *中国烟草学报*, 1999, 5(2): 7.
- [10] 李炎强, 宗永立, 屈展, 等. 通风稀释、加长滤嘴对卷烟主流烟气粒相挥发性、半挥发性中性成分释放量的影响 [J]. *中国烟草学报*, 2008, 14(6): 19.
- [11] DUBE M F, GREEN C R. Methods of collection of smoke for analytical purposes [J]. *Rec Adv Tob Sci*, 1982(8): 42.
- [12] ZELDES S G, HORTON A D. Trapping and determination of labile compounds in the gas phase of cigarette smoke [J]. *Anal Chem*, 1978, 50: 779.
- [13] 谢复炜, 赵阁, 夏巧玲, 等. 卷烟主流烟气中挥发性有机化合物的捕集装置: ZL200720091565.0 [P]. 2008-06-11.
- [14] 朱晓兰, 刘百战, 朱青林, 等. 卷烟烟气中挥发性组分的毛细管气相色谱分析 [J]. *分析测试学报*, 2001, 20(5): 38.
- [15] 中国国家标准化管理委员会. 卷烟 用常规分析用吸烟机测定总粒相物和焦油: YC/T 29—1996 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [16] 韩冰, 刘惠民, 谢复炜, 等. 卷烟主流烟气中挥发和半挥发性成分分析 [J]. *烟草科技*, 2009(10): 32.
- [17] 洪华俏, 郭紫明, 易克, 等. 卷烟主流烟气的中性和碱性香气成分分析 [J]. *湖南农业科学*, 2008(3): 140.
- [18] 庞永强, 王菲, 陈再根, 等. 不同捕集方式下卷烟主流烟气成分的 GC/MS 分析 [J]. *质谱学报*, 2009, 30(2): 124.
- [19] 中国国家标准化管理委员会. 《卷烟》系列国家标准宣贯教材: GB 5606—2005 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [20] 许宗保. 通风技术对卷烟内在质量的影响 [J]. *芜湖职业技术学院学报*, 2004, 6(2): 90.



引用格式:牛莹,张勋才,韩栋,等.一种基于DNA序列运算的信息隐藏方案[J].轻工学报,2016,31(1):61-66.

中图分类号:TP309;TP18 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.011

文章编号:2096-1553(2016)01-0061-06

一种基于DNA序列运算的信息隐藏方案

An information hiding scheme based on DNA sequence operation

牛莹,张勋才,韩栋,王燕,崔光照,王子成

NIU Ying, ZHANG Xun-cai, HAN Dong, WANG Yan, CUI Guang-zhao,
WANG Zi-cheng

郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002

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

关键词:
信息隐藏;DNA 密码;
DNA 序列

Key words:
information hiding;
DNA cryptography;
DNA sequence

摘要:为减少DNA加密算法中的生物操作,提出一种基于DNA序列运算的信息隐藏方案.该方案将海量DNA序列作为天然的DNA密码本,结合DNA数字编码规则,将待加密的信息与参考序列进行异或运算后转换为DNA序列,再通过混入冗余序列来实现信息的隐藏.对该方案性能和安全性分析与验证结果表明,该方案不需要生物操作,成本低,易于传输,有较强的安全性.

收稿日期:2014-12-31

基金项目:国家自然科学基金项目(61472371, 61472372, 61076103);河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300413214);河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目(2013GGJS-106);河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(15HASTIT019)

作者简介:牛莹(1982—),女,河南省洛阳市人,郑州轻工业学院讲师,硕士,主要研究方向为智能信息处理与控制.

通信作者:崔光照(1957—),男,河南省洛宁县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为生物计算与信息安全.

Abstract: In order to reduce the biological operation of mass DNA cryptography algorithm, an information hiding sequence was proposed based on DNA sequence operation. Using DNA sequence database as a natural DNA password, combining with the DNA digital encoding rules, the information to be encrypted and reference sequences was converted to DNA sequence by an XOR operation. Then, by mixing with redundant sequences information hiding was achieved. The performance and security analysis of the scheme results showed that the sequence did not need the biological operation, had the character of low cost, was easy to transport and had strong security.

0 引言

随着社会信息化程度的不断提高,危害信息安全的事件与日俱增,如数据泄露、“棱镜门”事件等,这些充分说明信息安全是任何组织和个人都必须重视的问题,甚至关涉国家安全战略^[1]. 信息安全已经成为并将继续成为信息时代的重大课题,其中,密码技术是核心信息安全技术. 如今,计算机的飞速发展使得基于数学困难问题的传统密码学面临新的挑战^[2-3]. 在非传统密码理论与技术研究领域,视觉密码、量子密码、DNA 密码已成为密码学研究的新方向^[4-6].

DNA 密码学的发展是随着 DNA 计算^[7]研究的不断深入产生的. DNA 计算引入了崭新的数据结构和计算方法,提供了分子级的并行处理能力,对传统的信息安全提出了挑战^[7-8]. 1996年, D. BONEH 等^[8]首次用 DNA 计算来破解传统的加密标准 DES. 1999年, C. T. CELLAND 等^[9]利用 DNA 作为信息载体实现了信息的隐藏,并把二战中著名的“June 6 invasion: Normandy”信息隐藏到 DNA 微点中. 2003年, B. SHIMANOVSKY 等^[10]利用冗余密码子将信息隐藏在 mRNA 序列中,并提出利用算术编码进行信息嵌入的隐写方法. 2004年, A. GEHANI 等^[11]借助 DAN 作为信息载体,利用生化技术在 DNA 分子上实现了“一次一密”的传统加密算法. 2005年, K. TANAKA 等^[12]利用 DNA 解决了密钥分配问题. 2009年, 崔光照等^[13]利用 DNA 合成技术、PCR 扩增技术及 DNA 数字编

码技术,结合传统密码学提出了一种基于 DNA 技术的加密方法. 2010年, H. SHIU 等^[14]提出了插入法、互补配对法和替代法 3 种数据隐藏方案. 2012年, C. GUO 等^[15]提出了一种基于 DNA 序列的信息隐藏方案,该方案具有较低的修改率和较高的嵌入容量. 2013年, G. C. L. GOFF 等^[16]将 DNA 微粒技术与热缩片结合,把 DNA 聚合物固定在聚乙烯热缩片上,形成尺寸在 100 μm 内的三维 DNA 水凝胶微粒阵列,实现了三维(微粒阵列)加密模型. 2014年,张勋才等^[17]给出了一种基于 RNA 二级结构的信息隐藏方案,把编码为 RNA 序列的明文嵌入到参考 RNA 序列,以自由能作为约束条件,通过预测软件和设置条件实现信息的隐藏和提取. 同年, X. W. FANG 等^[18]提出了一种基于 DNA 芯片的信息隐藏方案,将信息分为普通信息 M_o 和秘密信息 M_s ,其中 M_s 被嵌入到芯片中,当发送信息后,只有预期的收件人能够读取 M_s ,其他人员在没有密钥的情况下,只能读取 M_o . 对于秘密信息和普通信息而言,相应的 DNA 微阵列可以是相同的,因此统计隐写分析无法检测一个给定的 DNA 芯片是否包含秘密信息.

总之, DNA 密码是利用 DNA 的生物特性,借助于生化反应来实现信息的加密与解密,故其安全性不依赖于数学困难问题,具有一些潜在的、独特的优良特性. 但是,现有的 DNA 加密方法需要借助于生物操作在实验室完成,成本较高且耗时;加密后的信息也无法通过现有的计算机网络进行有效传输,仅适合在一些特殊

领域里应用. 为此, 本文拟从 DNA 数据库中大量的 DNA 序列出发, 充分利用 DNA 数据库中海量序列的优势来设计信息隐藏方案, 以确保信息安全, 减少耗时的生物操作, 降低成本.

1 DNA 序列数据库

DNA 序列数据库是所有已知核酸信息集合的一个数据资料库, 它包含核酸的核苷酸序列, 单核苷酸多态性、结构、性质、相关描述等内容. 它的建立不但极大地方便了生物研究人员的科研工作, 而且还具有更深层的生物学意义. 目前国际上比较重要的核酸(含蛋白质)一级数据库有美国国家生物技术信息中心的 GenBank, 欧洲生物信息学研究所的 EMBL 和日本国立遗传学研究院的 DDBJ, 这些数据库是同步更新的. 其中, 美国 GenBank 数据库中最常用的是序列文件, 其基本单位是序列条目, 由核苷酸碱基排列顺序和注释两部分组成. 目前, 该数据库文件可以从生物信息资源中心通过计算机网络获得. 序列在数据库中的 ID 号被称为序列代码, 它具有唯一性和永久性, 用户可以通过序列查询系统从数据库中检索和获取序列数据及相关信息.

DNA 序列数据库的规模正在以指数方式增长, 平均不到 9 个月就增加 1 倍. 1998 年 1 月, EMBL 中收录了 15 500 个物种的序列, 其序列数目已超过百万, 其中 50% 以上为模式生物的序列^[19]. 随着测序技术的快速发展, DNA 序列数据库中序列信息的增长速度变得更快, 到目前为止能够公开获取的 DNA 序列超过 1.63 亿条^[14]. 如此巨大规模的 DNA 序列, 相当于一个天然的密码本.

2 隐藏方案设计

本文利用 DNA 数据库中大量的 DNA 序列作为密码本, 选取某一条作为参考序列, 通过相

应的序列提取原则并结合 DNA 数字编码规则, 设计相应的算法来实现信息的隐藏.

2.1 DNA 序列提取原则

DNA 序列数据库中的 DNA 序列数量庞大, 且具有永久性和唯一性, 为我们提供了巨大的信息处理资源, 如同“一次一密”中的密码本. 只要确定选择的序列 ID 号, 这条序列的信息就被唯一锁定. 因此, 只要根据信息隐藏要求, 结合算法需要, 随机从数据库中选取合适的 DNA 序列即可.

2.2 DNA 数字编码规则

在计算机信息中, 最基本的编码方式是二进制编码, 即用 0 或 1 以及它们的组合状态来对任一事件进行编码. 数字编码易于进行数值运算和数据处理, 便于存储和查询. 而 DNA 分子用 A, T, G, C 这 4 种碱基进行字符编码来实现信息的存储, 虽然有其优势, 但不便于进行数值运算和处理. 为便于处理, 这里用 00, 01, 10, 11 对 DNA 序列中的 4 种碱基进行数字编码^[20]. 显然这种编码格式共有 24 种组合方式. 如果从生物学角度考虑 A 与 T 配对, G 与 C 配对, 则转换后若 $A = 00$, 则 T 只能选择 11, 那么最终只能在这 24 种组合方式中保留 8 种编码规则^[21]. 从数学的角度出发, 转化后若 $A = 00$, 则 T 可以从 01, 10, 11 中任意选择其中的一个.

2.3 信息隐藏模型

信息隐藏模型见图 1. 模型中二进制字符串是将明文信息转换成对应的 ASCII 码的二进制表示; 参考序列为基因数据库中的 DNA 序列; 密钥 $K = (R, p, r, q)$, 其中 R 是 DNA 数字编码规则, p 为事先商定的参考 DNA 序列 ID 号, r 是一个随机数, q 为引物信息. r 的选取所遵循的原则: 从 r 开始选取的碱基都必须在序列 p 中, 否则重新生成. 例如: AC168908 序列含 218 028 个碱基对, 如果从中选取 100 个碱基, 则 $r = 218 020$, 显然此时只能从中取出 9 个碱

基,剩余的91个碱基无法继续获取,故 r 无效,需要重新生成.

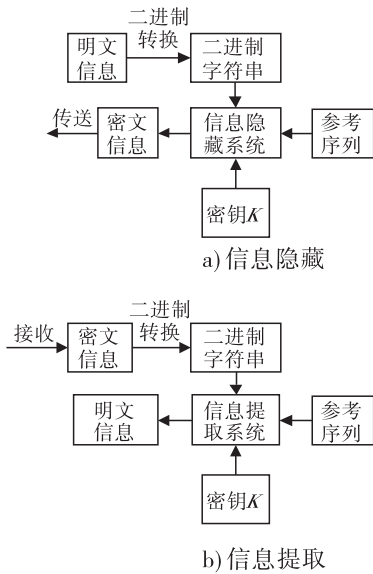


图1 信息隐藏模型

Fig. 1 Model of information hiding

2.4 信息隐藏算法

基于前面的隐藏模型,信息隐藏及提取流程见图2.

信息隐藏算法设计如下.

输入:密钥 $K = (R, p, r, q)$,明文信息 W , ASCII 码标准 I 表.

输出:隐藏秘密信息的 DNA 序列 M_s .

步骤1 将待隐藏的明文信息 W 转换成对应的 ASCII 码二进制字符串 B_1 .

步骤2 确定密钥 $K = (R, p, r, q)$.

步骤3 根据 p 代表的参考 DNA 序列,开始信息隐藏: 1) 将二进制字符串 B_1 中的数据每 2 位 1 组,分为 n 组; 2) 由随机数 r 在参考序列 p 中找到开始进行信息隐藏的碱基,从该碱基开始依次取出 n 个碱基,组成新的 DNA 序列 S ,然后通过 DNA 数字编码规则 R 将该序列转换为二进制字符串 B_2 ; 3) 将 B_1 和 B_2 进行二进制异或运算得到二进制字符串 B_3 ,再通过规则 R 将 B_3 转换为序列 M .

步骤4 将引物信息 q 加到序列 M 两端生

成密文序列 M_s ,并加入冗余序列,公开传送.

信息提取过程是信息隐藏过程的逆过程,其算法设计如下.

输入:密文信息 M_s ,密钥 K ,ASCII 码标准 I 表.

输出:明文信息 W .

步骤1 接收密文信息,通过引物信息 q ,规则 R 将密文序列转换为二进制字符串 B_3 .

步骤2 由密钥 K 指导下载参考 DNA 序列,开始信息提取: 1) 由随机数 r 在参考序列中找到开始进行信息隐藏的碱基,从该碱基开始依次取出与密文序列相同个数的碱基,组成新的 DNA 序列 S ,然后通过规则 R 将该序列转换为二进制字符串 B_2 ; 2) 将 B_3 和 B_2 进行二进制异或运算,得到二进制字符串 B_1 .

步骤3 根据 ASCII 码标准 I 表,将二进制字符串 B_1 恢复成相对应的明文信息 W .

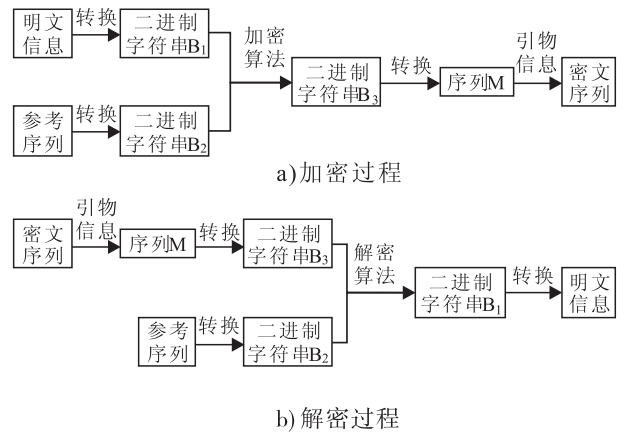


图2 信息隐藏及提取流程图

Fig. 2 Flow diagram of information hiding and extraction

2.5 算法仿真

假设要隐藏的信息为 Zhengzhou,将其转换为二进制字符串的密文序列见表1.选择的密钥 K 如下.

$R: A=00, C=11, G=01, T=10;$

$p: M90100;$

$r:1\ 029;$

q :前引物 5'-TCATGCTCAGCATTGGTCGTAT-GG-3',后引物 5'-CCCACGGTTGATAGGTTGAT-GCTC-3'

表 1 密文序列生成表

Table 1 Generation of cipher text

明文信息	B_1	序列 S	B_2	B_3	序列 M
Z	01011010	ATGA	00011000	01000010	TCAC
h	01101000	GCAG	10110010	11011010	ATGG
e	01100101	TTGT	01011001	00111100	GCCG
n	01101110	TCCA	01111100	00010010	CGGG
g	01100111	GACA	10001100	11101011	CCAC
z	01111010	AGCA	00101100	01010110	GGTC
h	01101000	GGCT	10101101	11000101	ATTT
o	01101111	AATA	00000100	01101011	TCTA
u	01110101	CTGA	11011000	10101101	TACT

事先商定的参考 DNA 序列为人环氧化酶-2 的 mRNA 序列,该序列在 GenBank 数据库中的 ID 号为 M90100,包含 3 387 个碱基对.该序列的碱基信息如下(部分碱基被省略,其中小写的碱基即为算法中用到的碱基,第 1 个碱基 a 所在位置数即为 1 029):

5'-GTCCAGG...atgagcagttgtccagacaagcag-gctaataactga...AAAAAAAAAAG-3'

随机确定该序列中起始碱基位置数为 1 029,则生成的密钥 $K = (R, M90100, 1\ 029, q)$.接收者通过公共信道获得密文后,经过简单的处理便可恢复明文信息.运行信息隐藏算法后得到的密文信息序列为 5'-TCATGCTCAG-CATTGGTCGTATGGTCACATGGGCCGCGGGCC-ACGGTCATTTTCTAT-ACTCCCACGGTTGATAG-GTTGATGCTC-3'.

3 分析与讨论

目前,对于 DNA 密码系统的安全性分析理论尚未成熟^[22].这里仅从性能(容量、负载、嵌入容量)^[14]和安全性两方面对本方案进行

讨论.

3.1 性能(容量、负载和嵌入容量)分析

根据文献[14]中关于性能的评价指标,通过容量、负载和嵌入容量对该隐藏方案进行性能评价.容量是指嵌入秘密信息后 DNA 序列的总长度,负载是指取出参考 DNA 序列后剩余的序列长度,嵌入容量是指每一个碱基嵌入的比特数.表 2 为本方案的嵌入方法与文献[14]中 3 种方法的性能比较,其中,记引物 DNA 序列的长度为 $|S|$,秘密信息 DNA 序列的长度为 $|M|$.从表 2 可以看出,该方案与文献[14]中的插入法类似,但是该方法有更好的隐蔽性.

表 2 本方案的嵌入方法与文献[14]中 3 种方法的性能比较

Table 2 Comparisons among three schemes in the literature[14] and the proposed scheme

方法	容量	负载	嵌入容量
插入法	$ S + \frac{ M }{2}$	$\frac{ M }{2}$	$\frac{ M }{ S + \frac{ M }{2}}$
互补对法	$ S + M (k+35)$	$ M (k+35)$	$\frac{ M }{ S + M (k+35)}$
替换法	$ S $	0	$\frac{ M }{ S }$
本方案	$ S + M $	$ M $	$\frac{ M }{ S + M }$

3.2 安全性分析

首先,攻击者可能会试图寻找用来进行信息隐藏的参考 DNA 序列,但只能通过搜索 DNA 序列数据库来找出发送者所采用的 DNA 序列.到目前为止,可以公开获取的 DNA 序列超过 1.63 亿条,攻击者要想从如此巨大规模的数据库中确定 1 条 DNA 序列是非常困难的,这种暴力破解成功的概率只有 1.63×10^{-8} .

其次,如果攻击者对密文 DNA 序列进行暴力破解,序列中的每个碱基都有 5 种可能:隐藏后的 00,01,10,11 或者没有隐藏信息,那么攻击者进行序列攻击的破解概率是 $1/5^n$.

序列攻击破解概率曲线如图 3 所示.由

图3可以看出,随着序列长度的增加,进行序列攻击破解的概率逐渐趋于0.

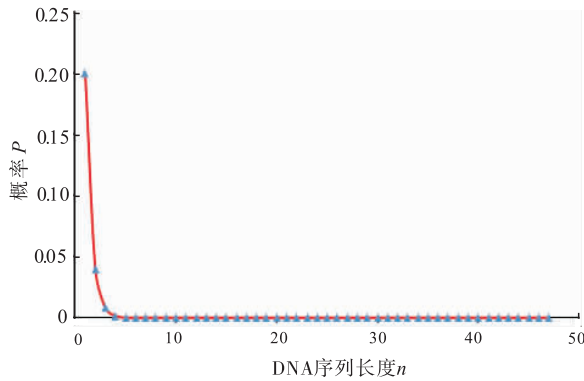


图3 序列攻击破解概率曲线

Fig. 3 Probability curve of sequence attack

攻击者要想进一步提高破译密文的概率,还必须确定密钥 K 中的随机数 r ,从而确定参考 DNA 序列中开始隐藏信息的位置. 一条 DNA 序列可能有几千到几十亿个碱基对,文中采用的参考 DNA 序列含 3 387 个碱基对,可想而知,攻击者获得正确随机数 r 的几率也是很小的.

最后,将明文信息隐藏后得到的密文 DNA 序列呈现杂乱状态,这些杂乱的 DAN 序列要经过两次转换后才能最终获得明文信息. 第 1 次转换是通过 DNA 数字编码规则实现的,第 2 次转换是通过算法实现的. 最终,转换前跟转换后呈现出一对多映射的假象. 本文中密文 DNA 序列含 84 个碱基对,而转换为明文信息的有效序列含 36 个碱基对. 如果攻击者锁定了有效碱基的位置,那么破译的概率是 4^{-36} . 实际情况下,对于攻击者,在没有引物信息 p 的前提下无法确定有效碱基. 因此对于攻击者而言,即使他获得了密文 DNA 序列信息,成功破译密文的概率仍然很低.

总之,该方案的实现减少了耗时的生物操作,降低了所需成本. 加密后的信息也可以通过现有的计算机网络进行有效传输.

4 结语

本文以 DNA 序列数据库中大量的 DNA 序列为出发点,研究了基于 DNA 序列的信息隐藏方案,设计了相应的信息隐藏算法,并从方案的性能和安全性两方面进行了分析. 结果表明:本方案不需要生物操作,成本低,易于传输,有较强的安全性,有助于 DNA 资源的有效利用,是对 DNA 密码学发展的有益探索.

参考文献:

- [1] 王延峰,韩琴琴,韩栋,等. 基于核酸的信息安全技术研究现状及发展建议[J]. 中国科学院院刊,2014,29(1):83.
- [2] WANG X Y, YU H B. How to break MD5 and other hash functions[J]. Lectrue notes in computer science, 2005, 3494:19.
- [3] WANG X Y, YIN Y Q L, YU H B. Finding collisions in the full SHA-1[J]. Lectrue notes in computer science, 2005, 3621:17.
- [4] NAOR M, SHAMIR A. Visual cryptography[J]. Lectrue notes in computer science, 1995, 950:1.
- [5] EKERT A K. Quantum cryptography based on Bell's theorem[J]. Physical review letters, 1991, 67(6):661.
- [6] 肖国镇,卢明欣,秦磊,等. 密码学的新领域——DNA 密码[J]. 科学通报, 2006, 51(10):1139.
- [7] ADLEMAN L M. Molecular computation of solutions to combinatorial problems[J]. Science, 1994, 266(5187):1021.
- [8] BONEH D, DUNWORTH C, LIPTON R J. Breaking DES using a molecular computer[J]. DNA based computers, 1996, 27:37.
- [9] CELLAND C T, RISCA V, BANCROFT C. Hiding messages in DNA microdots[J]. Nature, 1999, 399(6736):533.
- [10] SHIMANOVSKY B, FENG J, POTKONJAK M. Hiding data in DNA[C]. Lectrue notes in computer science, 2003, 2578:373.
- [11] GEHANI A, LABEAN T, REIF J. DNA-based cryptography[J]. Lectrue notes in computer science, 2004, 2950:167.



引用格式:张勋才,孙军伟,王茜,等.基于DNA分子的信息安全技术研究综述[J].轻工学报,2016,31(1):67-74.

中图分类号:TP309;TP18 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.012

文章编号:2096-1553(2016)01-0067-08

基于DNA分子的信息安全技术研究综述

Research summary on information security technology based on DNA molecule

张勋才,孙军伟,王茜,崔光照

ZHANG Xun-cai, SUN Jun-wei, WANG Xi, CUI Guang-zhao

郑州轻工业学院 电气信息工程学院,河南 郑州 450002

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

关键词:

DNA分子;DNA密码;
DNA计算;信息安全
技术

Key words:

DNA molecule; DNA
cryptography; DNA
computing; information
security technology

摘要:作为一种新的加密方法,DNA密码以DNA为信息载体,充分利用DNA分子所具有的超高存储密度、超低能量消耗、超大规模并行计算潜力等优点,可实现加密、认证及签名等密码学功能。目前基于DNA分子的加密方法与认证技术、DNA计算对传统密码学的破译与分析等研究从各方面发展了信息安全技术,但仍处于起步阶段。打破现有实验条件的限制,建立基于DNA分子信息安全技术的相对完备的理论体系,突破破译分析中的数据复杂度和计算复杂度,将是未来的研究方向。

收稿日期:2015-11-30

基金项目:国家自然科学基金项目(61472371,61472372,61572446);河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300413214);河南省高等学校青年骨干教师资助计划项目(2013GGJS-106);河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(15HASTIT019)

作者简介:张勋才(1981—),男,河南省郸城县人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为生物信息处理与智能控制。

Abstract: As a new encryption method, DNA cryptography was based on DNA molecule as the information carrier. Using the ultra-high storage density, ultra-low energy consumption and very large scale parallel computing ability of DNA molecule, encryption, authentication and signature and other cryptographic functions could be achieved. At present, the information security technology was developed from various aspects, such as the encryption method based on DNA, the authentication technology, and the decipher analysis of the traditional cryptography based on DNA computing. However, the research in DNA cryptography was still in infancy. Breaking the limit of existing experimental conditions and building a relatively complete theoretical system based on DNA molecular information security technology, breaking through the data complexity and computational complexity of the analysis would be the future research direction.

0 引言

计算机的面世推动了世界信息化的加速发展. 随着信息的传输和获取更加便捷, 信息安全成为一个不容忽视的问题. 而信息安全的核心问题是密码问题. 公元前5世纪, 密码器械“天书”被成功地应用于战场. 经过两千多年的发展, 如今密码学的应用已经渗透到各个领域. 传统密码学是基于数学难题, 只要攻击者具有足够强的计算能力, 攻击对象所设置的密码就能被破解. 在计算机飞速发展的今天, 人们在瞬间就可以完成海量数据的计算, 这使传统密码学面对前所未有的挑战. 因此, 新型加密方法的研究势在必行.

脱氧核糖核酸(DNA)是一种高分子聚合物. 1960年代, R. P. FEYNMAN提出分子计算的概念^[1]. 1994年美国加州大学的L. M. ADLEMAN^[2]首次利用DNA计算方法解决了“七顶点Hamilton路径”问题, 实现了DNA分子计算. DNA分子计算是利用DNA双螺旋结构和碱基互补配对原则对信息进行编码, 把将要运算的对象映射成DNA分子链. 通过生物酶的作用, 生成各种数据池. 而特定的酶可充当“软件”来完成所需的各种信息处理工作. 之后再按照一定的规则将原始问题的数据运算高度并行地映射成DNA分子链的可控的生化反应过程. 最后, 利用分子生物技术(如聚合链反应PCR, 聚合重叠放大技术POA, 超声波降解, 亲

和层析, 克隆, 诱变, 分子纯化, 电泳, 磁珠分离等)读取运算结果^[3-4].

DNA分子计算拥有独有的数据存储和计算机制, 以全新的视角来解决传统的困难问题, 成功解决NP完全问题后也为密码学开创了全新领域, 为信息安全带来了新的机遇. 随着DNA计算方法的日益成熟, DNA密码学理论应运而生. 其主要原理是以现代生物技术为工具, 以DNA为数据载体, 通过挖掘DNA分子本身所具有的高并行性和高存储密度, 实现加密、隐写、认证及签名等密码学功能^[5]. DNA计算与DNA密码自身所具有的发展和应用潜力, 将在信息安全领域引发一场新的技术革命. 本文拟对基于DNA分子的加密、认证及DNA计算对传统密码技术的破译与分析等研究进展予以综述, 并给出研究展望.

1 基于DNA分子的加密方法

自L. M. ADLEMAN^[2]利用DNA计算解决NP完全问题之后, 由DNA计算衍生出的DNA密码学无论是在理论上还是在实践中都取得了飞速的发展. 1999年, A. GEHANI等^[6]以DNA序列为载体提出了包括替代法和异或法两种“一次一密”的密码方案. 2000年, A. LEIER^[7]利用DNA二进制序列加密信息, 实现了两种密码方案的信息隐藏. 2003年, J. CHEN^[8]构建了一种基于DNA分子序列的密码体系. 2004年, 饶妮妮^[9]提出了一种基于DNA重组技术的密

码方案. 2008 年, X. C. ZHANG 等^[10] 给出了破译 NTRU 的非确定性方案. 2009 年, 崔光照等^[11] 进一步提出了基于 DNA 分子技术的加密方案. 2013 年, G. C. L. GOOF 等^[12] 将 DNA 微粒子技术与热缩片结合, 实现了粒子阵列加密模型. 2014 年, 王延峰等^[13] 综述了基于核苷酸的信息安全现状, 并对我国今后在该领域的发展提出了一些建议. 随着科技的进步, 密码分析的方法越来越先进, 研制新型的加密方法势在必行. DNA 密码学作为信息安全的一个新兴领域, 有望与传统密码学、量子密码学一并成为密码学的三大分支^[11].

1.1 基于 DNA 计算的“一次一密”加密方法

“一次一密”是指在流密码中使用与消息长度等长的随机密钥, 密钥本身只使用一次, 其安全性主要取决于密钥的随机生成和不重复使用. 若攻击者没有“一次一密”密码本, 即使有再大的计算能力也无法破译“一次一密”. 这种算法在理论上是绝对安全的.

DNA 具有体积小特点, 同时具有传统信息存储媒介望尘莫及的信息存储能力. 其作为信息载体可较好地解决庞大密码本生成和存储问题^[14-15]. 1999 年, 美国杜克大学的 A. GEHANI 等^[16] 利用 DNA 设计了映射替代法和 DNA 芯片异或法两种方案, 实现了“一次一密”的加密方式. 映射替代法是根据定义的映射表将固定长度的 DNA 明文序列单元替换成对应的 DNA 密文序列. 图 1 为“一次一密”密码本 DNA 序列, 其中可重复单元由一套来自密码字母集的序列字母 C_i , 来自明文字母的序列字母 P_i 和聚合酶“终止”序列三部分组成. 异或法是采用光刻技术和荧光标记技术进行 DNA 明文序列与密码本序列的异或操作, 图 2 为利用 DNA 瓦片进行异或运算的过程. 随后, J. CHEN^[8] 提出了基于 DNA 计算的分子密码设计. 利用 DNA 引物扩增反应进行二进制数的模 2 加法运算,

以及利用 DNA 计算的并行性实现了“一次一密”的加密方式. DNA 加密技术是通过可控 DNA 杂交反应实现的加密和解密.

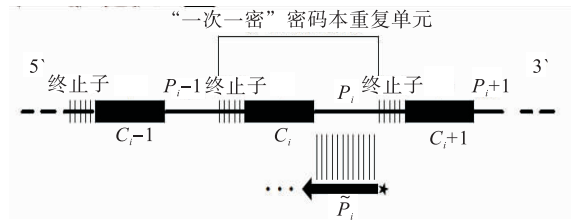


图 1 “一次一密”密码本 DNA 序列^[15]

Fig. 1 One-time-pad codebook DNA sequences^[15]

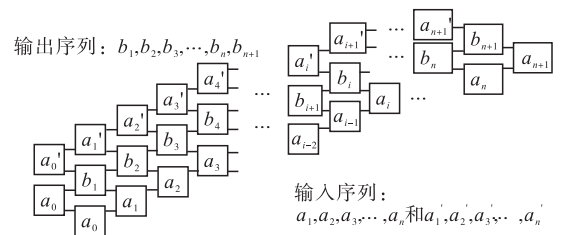


图 2 利用 DNA 瓦片进行异或运算过程示意图^[15]

Fig. 2 XOR computation by the use of DNA tiles^[15]

另外, 以 DNA 分子变性和复性为前提的 DNA 杂交反应包括特异性杂交反应和非特异性杂交反应. 其中, 特异性杂交反应在不考虑各类约束条件的前提下, 随机生成的 DNA 单链组成一个个 DNA 微点, 每个 DNA 微点包含全部的 DNA 单链. 每个 DNA 微点就是一个“一次一密”密码本, 生成密码本之后就可以进行“一次一密”的加密. 加密的主要过程包括数据处理、密钥分配、异或运算和信息传输. 这种加密方式可准确获得加密和解密的结果. 然而在实际生化操作过程中, 如何快速地分离出所需的密钥、如何对 DNA 密码本进行纠错和长期保存等问题, 都需要进一步研究.

1.2 基于 DNA 微点技术的加密方法

微点运用作为另一种隐藏信息的方法. 微点是一个粘贴在铅字某一点上被无限缩小的图片. DNA 微点技术是 DNA 分子与微点技术成功结合的产物, 它实现了数据在分子水平上的

双重隐写功能. 其主要思路是将密文 DNA 链隐藏在大量无关的 DNA 链中, 随后以微点的形式进行传输, 使攻击者难以确定正确的 DNA 片段. 只有指定的接收者才能根据事先双方约定的引物找到正确的 DNA 片段, 并解密隐藏的信息.

1999年, C. T. CLELLANG等^[3]将一条二战中著名的信息“June 6 Invasion: Normandy”成功地进行了DNA隐写, 并最终将其提取出来. 他们首先定义了一种可以把字符转化成碱基的映射表, 表中用若干个碱基表示1个字符, 并按照该映射表将明文映射成DNA片段, 同时用特定引物序列加以标记. 然后将被标记的DNA分子和与其结构相同但碱基排列顺序不同的其他DNA分子相混合, 喷到信纸上形成无色的微点. 这样就可以通过正常非保密途径进行信息的传输. 接收者收到信件以后, 从中提取DNA混合溶液, 并用引物放大含有明文信息的DNA序列, 同时采用PCR通过分离、纯化等技术手段从DNA微点中分离出被标记的DNA分子. 最后, 用编码的方式对被合成的DNA序列进行解码, 从而得到明文信息.

该信息隐藏方案具有3层安全性. 其一, DNA微粒无色无味, 不易被察觉. 但安全性相对较弱, 若破译者具有破译隐形药水的技术便可破解这一信息隐藏方案. 其二, 未知的DNA溶液是由含有明文信息的DNA链和大量与其物理相似的其他DNA链混合而成的. 这些混合溶液被分成众多微点, 每个微点中都包含数以万计的DNA分子, 攻击者想要从这些DNA链中找到标有明文信息的那一条犹如大海捞针, 着实困难. 其三是数学安全性. 若攻击者成功地确认了被标记的DNA链, 接下来的问题就是将标有明文信息的DNA序列还原成明文. 而在此信息隐藏方案中采用的是3位核苷酸表示1个字母的编码方式, 如“GGC”表示的是明文中的字母“E”, 但在英文中字母“E”和“I”出现的频

率较高, 攻击者很容易把关键词作为PCR扩增的引物来进行攻击^[7,16].

引物序列的安全性在DNA微点技术中起着举足轻重的作用. 若攻击者知道正确的引物序列, 那么从DNA微点中分离出存储有明文信息的DNA分子就相当于从未知的溶液中提取特定的DNA分子, 仅通过PCR就可完成. 这样就完全失去了加密的意义. 针对这一点, 卢明欣等^[17]分析了文献[3]提出的信息隐藏方案的安全性问题, 提出了保密增强的算法, 以有效阻止以关键词为引物的攻击. 该算法利用微点技术, 结合DNA数字编码规则和补充规则, 借助多引物的概念, 设计出一种较好的信息隐藏方案. 其流程图与结果分析如图3所示.

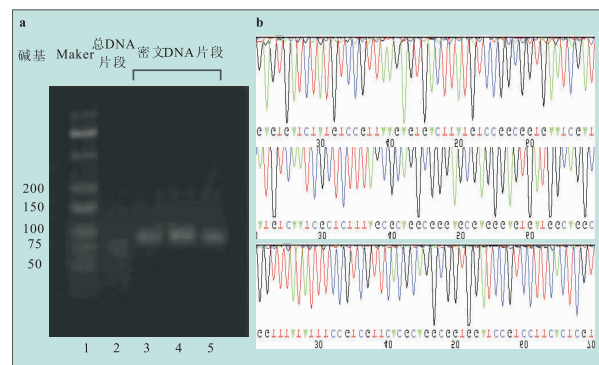
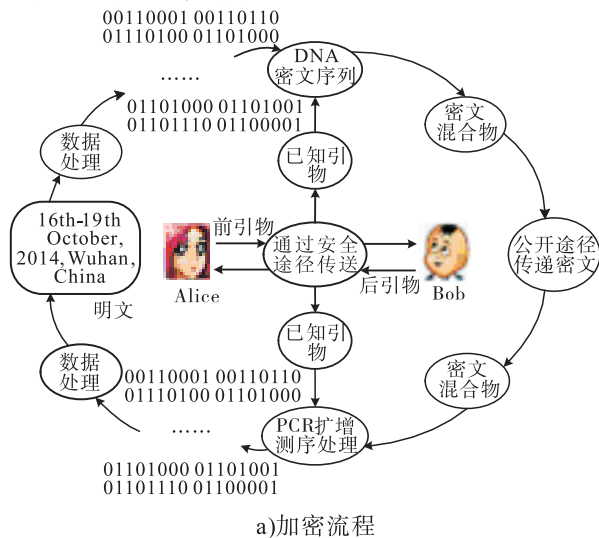


图3 保密增强的加密流程及结果分析^[17]
Fig. 3 The encryption process and result analysis of privacy amplifications^[17]

然而引物序列的安全性却很难实现.若每次引物的序列都不同,虽然这样安全性很高,却管理困难,每次传输信息的时候需要额外发送关于引物序列的信息;若引物序列不变,虽然管理变得容易,却大大降低了其安全性.目前,单凭 DNA 微点技术很难保证信息的安全传递,必须综合考虑其他方法.如何使用 DNA 微点技术安全、有效地传输明文信息还需要进一步的探索与研究.

1.3 基于重组 DNA 技术的加密方法

随着人类基因组计划的完成,DNA 技术已不再单纯地属于生物学范畴.密码分析者开始利用 DNA 技术攻击现有的密码.而密码学研究者则利用重组 DNA 技术天然的加密与解密过程,设计新型密码^[9].那么研究者是如何利用重组 DNA 自身的优势来对明文进行加密与解密的呢?首先,发送者按照一定的规则将明文信息编码成碱基序列;然后根据映射规则将编好的碱基序列嵌入参考 DNA 序列当中;随后,将隐藏有明文信息的 DNA 序列重组到 DNA 质粒载体中并植入受体细胞内;最后,将隐藏有明文信息的机体与其他大量无关的机体混合在一起发送给接收者.接收者收到机体后可通过参考序列、生物酶、选择性标记等密钥来破解明文信息.

基于重组 DNA 技术的加密方法可以很好地使接收双方成功地隐藏和提取明文信息,使攻击者成功恢复信息的概率非常小,并且该方法对主动攻击和恶意攻击有较好的稳定性、鲁棒性和安全性.

1.4 基于 DNA 分子的混合加密算法

前面提到的 DNA 加密算法,能对文本信息进行有效加密,但还不能很好地应用于数字图像信息加密.要更有效地加密图像信息,可以通过融合已有的图像加密算法来实现,如混沌加密算法和视觉加密算法.基于混沌的图像加密

是目前国内外研究的热点,然而传统的基于混沌的图像加密算法大多是基于一维的混沌系统,利用单一混沌映射实现的图像加密算法存在安全性较低、混沌序列易破译、密钥空间小等缺点.针对这些不足,2010年,薛香莲^[18]提出了一种基于 DNA 序列与多混沌映射的数字图像加密算法,该算法利用 DNA 序列,融合 Cubic 映射、Logistic 映射加密图像,但是加密后图像的像素相关性高,安全性差,物理实现过程复杂.2014年,徐光宪等^[19]提出了一种基于混沌映射的 DNA 图像加密算法.2015年,张健等^[20]采用混沌索引和 DNA 互补编码相结合的方法,提出一种数字图像加密技术.混沌理论与 DNA 计算在信息科学领域中的应用给信息安全领域带来了新的挑战和机遇.未来将重点融合混沌系统同步^[21-24]和 DNA 计算发展新型的保密通信技术.

视觉加密技术是 M. NAOR 等^[25]提出的一种有趣的视觉秘密共享机制.该机制通过编码系统将信息(图像、文本、图表)加密,而信息解密通过肉眼即可,不需要执行计算机操作.笔者所在课题组在 DNA 芯片技术的基础上,结合视觉加密技术,构造了基于 DNA 芯片的图像隐藏算法,并以郑州轻工业学院校徽为实例,实现图像的加密与解密,流程如图 4 所示^[26].

2 基于 DNA 分子的认证技术

信息认证的主要目的无非是两个:一是实体认证,即验证信息的发送者是否具备合法身份,包括信源的认证与识别和信宿的认证与识别;二是验证信息的完整性,也就是验证数据在传输和存储的过程中是否被重放、篡改等.严格地来讲,DNA 认证技术很少涉及 DNA 计算,它是利用生物个体 DNA 序列的特殊性和亲缘关系较近的生物体之间 DNA 序列的相似性准确地认证出生物个体的身份,现已广泛地应用于

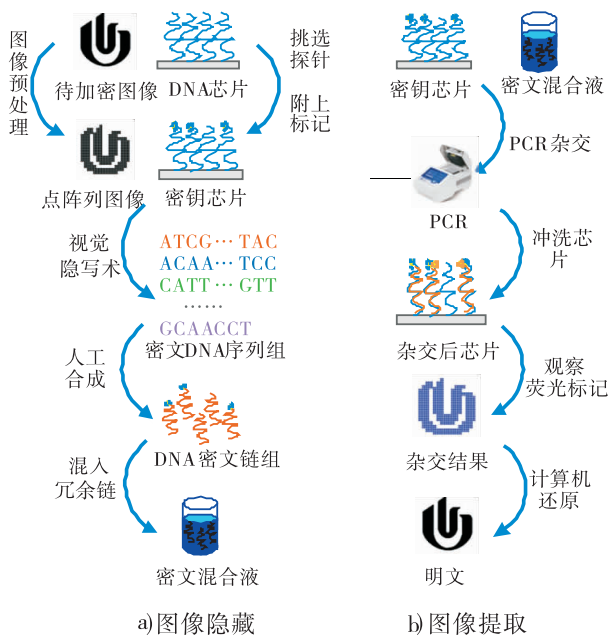


图4 基于DNA计算与视觉算法的
图像加密解密流程图^[26]

Fig. 4 Flow diagram of image encryption algorithm based on DNA computing and visual cryptography^[26]

司法、金融等领域。

2000年,加拿大的DNA Technology公司将文献[3]的信息隐藏方法成功应用于悉尼奥运会商品的商标认证中。从T恤到咖啡杯,所有商品均用一种含有某位未知运动员DNA的特殊墨水做标记。鉴定者利用便携式扫描仪便可通过标记中的DNA信息来鉴别纪念品的真伪^[27]。这一防伪标识不仅比普通商标更为便宜,而且想要伪造出这种随机抽取的DNA信息也非常困难。

利用DNA加密算法开发基于DNA的水印技术,不但可以把DNA水印印刷在物体上,还可以植入活体内^[28],通过辨别DNA认证信息来验证用户身份或者版权信息。目前,DNA认证技术在基于核算的信息安全技术中的发展已相当成熟,应用也很普遍。若将DNA隐写用于基于核算的识别或鉴定方面,则可以进行更为广泛的信息认证。

3 DNA计算对传统密码技术的破译与分析

3.1 破译背包密码

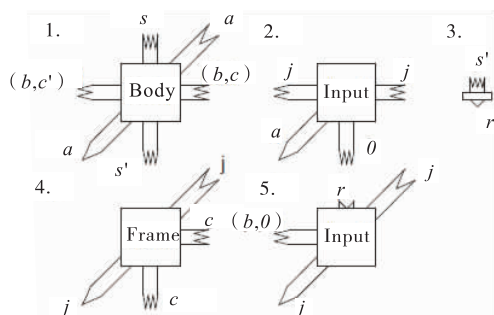
背包密码是运筹学中一个典型的优化难题,它在预算控制、材料切割和货物装载等实践中都有着重要的应用,也常被作为其他问题的子问题进行研究。石晓龙等^[29]曾利用DNA计算求解整数背包问题。他首先设计分子运算用以筛选出所有的可能解,随后在所有的可能解中筛选出最优解。在搜索最优解的设计中,充分利用DNA计算的并行特点,将带有同位素标记的DNA探针同之前的反应结果进行杂交,来实现最优解的搜索。随后,M. DAREHMIRAKI等^[30]利用DNA计算的高度并行性在试管中求解0—1背包问题。通过编码技术,将所要求解的问题映射成DNA序列集合,并使其在试管中形成初始空间解,然后利用分离、合并等技术手段删除不满足约束条件的不可行解所对应的DNA链,最后求出每条可行性解链所对应的目标函数值,经比较得到最优解。

3.2 破译NTRU密码系统

NTRU被认为是21世纪最有前途的公钥密码体制,它因速度快、安全性强等特点,被广泛应用于数据加密、数字签名等领域。O. PELLETIER等^[31]利用自组装的思想,通过定义相应的分子瓦结构(见图5),实现了NTRU中所需的卷积计算,并借助于暴力破解的方法,对所有可能的密钥进行卷积计算,再根据NTRU的特点找到密钥。但是该方案只能从理论上证明其可行性。X. C. ZHANG等^[10]提出了一种用基于DNA自组装破译NTRU公钥密码系统的非确定性算法,该算法可以并行地测试每个可能的密钥,以高概率输出正确密钥。

3.3 破译椭圆曲线密钥交换算法

椭圆曲线密码系统问题于1985年提出。该

图5 DNA 分子瓦结构^[31]Fig.5 The structure of DNA tiles^[31]

系统是利用椭圆曲线有限群代替基于有限域上离散对数问题公钥密码中的有限循环群所得到的一类密码体制。基于椭圆曲线密码体制自身的优点,特别是在移动通信安全领域的加速推动下,这种密码体制逐步成为密码学的重要分支。它所具有的商业价值、军用价值正在被越来越多的人所关注。

K. L. LI 等^[33]给出了基于 DNA 计算模型求解椭圆曲线离散对数的算法,Z. CHENG^[34]给出了利用 DNA 自组装模型求解有限域 $GF(2^n)$ 乘法逆元和除法运算算法,Diffie-Hellman 密钥交换破译算法^[35]等。在破译公钥密码方面,随着计算量的与日俱增,DNA 计算模型在空间上的复杂度显著增加^[36]。再者,利用 DNA 计算进行大量复杂计算还存在以下两个问题:一个是误差随着实验进行传递放大;另一个是所需的 DNA 分子随着计算规模呈指数增长。因此,就目前情况来看,DNA 计算还不能对传统加密算法构成实质性的威胁。

4 结论及展望

基于 DNA 分子的信息安全技术是伴随着 DNA 计算的研究与发展而出现的。DNA 密码学作为生命学和密码学的交叉学科,具有传统密码学所不具备的优势,其巨大的开发潜力有望突破破译分析中的数据复杂度和计算复杂度。但是基于 DNA 分子的信息安全技术的研究尚

处于起步阶段,尚未建立起相应的理论、知识和方法等完备的理论体系。但 DNA 分子所具有的高安全性、高存储容量和高并行性,对当前的信息安全技术既是挑战也是机遇。现阶段 DNA 密码系统因受投入成本的限制还不能大范围的推广,但其在某些特殊的领域仍然是现有数学密码的有益补充。随着科学家们对现代生物技术的进一步研究,DNA 密码学必将对信息安全领域产生巨大的影响。

参考文献:

- [1] FEYNMAN R P. There's plenty of room at the bottom [J]. Resonance, 2011, 16(9): 890.
- [2] ADLEMAN L M. Molecular computation of solution to combinational problems [J]. Science, 1994, 266(5187): 1021.
- [3] CLELLAND C T, RISCA V, BANCROFT C. Hiding messages in DNA microdots [J]. Nature, 1999, 399(6736): 533.
- [4] COX J P L. Long-term data storage in DNA [J]. TRENDS in biotechnology, 2001, 19(7): 247.
- [5] 肖国镇, 卢明欣, 秦磊, 等. 密码学的新领域——DNA 密码 [J]. 科学通报, 2006, 51(10): 1139.
- [6] GEHANI A, LABEAN T, REIF J. DNA-based cryptog-raphy [C] // Aspects of Molecular Computing, Heidelberg: Springer, 2004: 167.
- [7] LEIER A, RICHTER C, BANZHAF W, et al. Cryptography with DNA binary strands [J]. Biosystems, 2000, 57(1): 13.
- [8] CHEN J. A DNA-based biomolecular cryptography design [C] // Proceedings of the 2003 International Symposium on Circuits and Systems, Piscataway: IEEE, 2003: 822.
- [9] 饶妮妮. 一种基于重组 DNA 技术的密码方案 [J]. 电子学报, 2004, 32(7): 1216.
- [10] ZHANG X C, NIU Y, GUI G Z, et al. Breaking the NTRU public-key cryptosystem using self-assembly of DNA tilings [J]. Chinese journal of computers, 2008, 31(12): 2129.
- [11] 崔光照, 秦利敏, 王延峰, 等. 基于 DNA 技术的加密方案 [J]. 计算机工程与应用, 2009, 45(8): 104.

- [12] GOFF G C L, BLUM L J, MARQUETTE C A. Shrinking hydrogel-DNA spots generates 3D microdots arrays[J]. *Macromolecular bioscience*, 2013, 13(2):227.
- [13] 王延峰, 韩琴琴, 韩栋, 等. 基于核酸的信息安全技术研究现状及发展建议[J]. *中国科学院院刊*, 2014, 29(1):83.
- [14] 崔光照, 秦利敏, 王延峰, 等. DNA 计算中的信息安全技术[J]. *计算机工程与应用*, 2007, 43(20):139.
- [15] 张勋才, 韩琴琴, 王燕, 等. 一种基于 RNA 二级结构的信息隐藏方案[J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2014, 29(1):1.
- [16] 王敏翔, 黄永峰. 基于 DNA 序列的信息隐藏模型研究[C]//第九届全国信息隐藏暨多媒体信息安全学术大会会议论文集, [S. L. :s. n.], 2010:81-86.
- [17] 卢明欣, 傅晓彤, 秦磊, 等. DNA 信息隐藏方法的安全性分析和保密增强方法[J]. *西安电子科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 33(3):448.
- [18] 薛香莲. 基于 DNA 序列与多混沌映射的数字图像加密技术研究[D]. 大连:大连大学, 2010.
- [19] 徐光宪, 郭晓娟. 基于混沌系统的 DNA 图像加密算法[J]. *计算机应用*, 2014, 34(11):3177.
- [20] 张健, 房东鑫. 应用混沌映射索引和 DNA 编码的图像加密技术[J]. *计算机工程与设计*, 2015, 36(3):614.
- [21] SUN J W, YIN Q, SHEN Y. Compound synchronization for four chaotic systems of integer order and fractional order[J]. *EPL(europhysics letters)*, 2014, 106(4):40005.
- [22] SUN J, CUI G, WANG Y, et al. Combination complex synchronization of three chaotic complex systems[J]. *Nonlinear dynamics*, 2014, 79(2):953.
- [23] WEI Q, WANG X Y, HU X P. Inverse optimal control for permanent magnet synchronous motor[J]. *Journal of vibration and control*, 2015, 21(4):801.
- [24] SUN J W, SHEN Y, YIN Q, et al. Compound synchronization of four memristor chaotic oscillator systems and secure communication[J]. *Chaos*, 2013, 23(1):013140.
- [25] NAOR M, SHAMIR A. Visual cryptography[C]// *Advances in Cryptology-EUROCRYPT 94*, Berlin: Springer, 1995:1-12.
- [26] ZHANG X C, WANG Y, SHEN C N, et al. An image encryption algorithm based on DNA microarray[J]. *Journal of computational and theoretical nanoscience*, 2015, doi: 10.1166/jctn.2015.4553.
- [27] 肖国镇, 卢明欣. DNA 计算与 DNA 密码[J]. *工程数学学报*, 2006, 23(1):1.
- [28] HEIDER D, BARNEKOW A. DNA-based watermarks using the DNA-crypt algorithm[J]. *BMC bioinformatics*, 2007(8):176.
- [29] 石晓龙, 许进. DNA 计算与背包问题[J]. *计算机工程与应用*, 2004, 39(27):44.
- [30] DAREHMIRAKI M, NEHI H M. Molecular solution to the 0-1 knap-sack problem based on DNA computing[J]. *Applied mathematics and computation*, 2007, 187(2):1033.
- [31] PELLETIER O, WEIMERSKIRCH A. Algorithmic self-assembly of DNA tiles and its application to cryptanalysis[C]// *Proceedings of the Genetic and Evolutionary Computation Conference*, N. Y. USA: Morgan Kaufmann, 2002:139-146.
- [32] MILLER V. Use of elliptic curves in cryptography[J]. *Lecture notes in computer science*, 1985, 85:417.
- [33] LI K L, ZOU S T, XV J. Fast parallel molecular algorithms for DNA-based computation: solving the elliptic curve discrete logarithm problem over $GF(2^n)$ [J]. *Journal of biomedicine and bio-technology*, 2008, 2008:1.
- [34] CHENG Z. Arithmetic computation of multiplicative inversion and division in $GF(2^n)$ using self-assembly of DNA tiles[J]. *Journal of computational and theoretical nanoscience*, 2012, 9(3):336.
- [35] CHENG Z. Nondeterministic algorithm for breaking diffie hell-man key exchange using self-assembly of DNA tiles[J]. *International journal of computers, communication and control*, 2012, 7(4):616.
- [36] 陈智华, 石晓龙, 程珍. DNA 计算在信息安全领域的影响与应用[J]. *中国科学院院刊*, 2014, 29(1):70.



引用格式:方金云.基于 AFM/STM 技术的离子液体表/界面性质及结构研究之进展[J].轻工学报,2016,31(1):75-88.

中图分类号:O647.11 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.013

文章编号:2096-1553(2016)01-0075-14

基于 AFM/STM 技术的离子液体表/界面性质及结构研究之进展

Research progress of the surface/interfacial properties and structures of ionic liquids based on AFM/STM techniques

方金云

FANG Jin-yun

中国科学院 理化技术研究所,北京 100190

Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

关键词: AFM; STM; 离子液体; 表/界面性质; 表/界面结构

Key words:

AFM; STM; ionic liquid; surface/interfacial property; surface/interfacial structure

摘要: AFM/STM 技术对于离子液体表/界面性质与结构的研究非常重要. 目前, 使用 AFM/STM 技术直接观察离子液体薄膜、离子液体混合物、负载离子液体的结构及性质以及原位观察反应过程离子液体结构及性质变化等研究不断涌现, 尤其在原位观察离子液体表/界面性质与结构变化方面, AFM/STM 技术得到了很好的应用. 未来应主要加强离子液体不同阴阳离子结构、性质对离子液体与气体、离子液体与固体界面影响的研究, 进而形成系统化的理论, 为离子液体吸收气体及催化反应的应用提供理论支持, 并进一步构建模型, 指导离子液体的设计.

收稿日期:2015-05-20

作者简介:方金云(1965—),女,河南省林州市人,中国科学院理化技术研究所高级工程师,主要研究方向为化学分析、仪器分析用于化学、材料等方面.

Abstract: AFM/STM techniques are very important in the surface/interfacial properties and structures of ILs. At present, the research of using AFM/STM techniques to directly observe the structures and properties of ILs membrane, ILs mixtures, load ILs, and the structures and properties of ILs in the reaction process by in situ observation was made. Especially in the changes of surface/interfacial properties and structures of ILs by in situ observation, AFM/STM techniques got very good application. In the future, the research on ILs with different anion and cation structures, the effects of properties for ILs and gases, ILs and solid interface should be mainly strengthened, and then a system of chemical theory is to be formed which provides theory support for the application of ILs absorbing gas and catalytic reaction, and further the model is to be built to guide the design of ILs.

0 引言

近年来,具有低熔点的室温离子液体(ILs)引起了业界广泛的关注. 与其他固体或液体材料相比,离子液体的液态性质和离子存在形式使其展现出独特的理化性质及特有的功能,是一类很有前途的新型介质或“软”功能材料^[1]. 不同结构阴、阳离子的结合导致 ILs 物化性质复杂多变,为此,研究人员针对 ILs 的物化性质(黏度、密度、热容、极性 etc)、协同效应等方面展开了深入的研究^[2-3]. 基于 ILs 这些特有的性质,ILs 在有机催化、绿色化学、化工分离、色谱分析和电化学等领域的应用也愈加广泛^[4-8]. 随着对 ILs 研究的不断深入及离子液体应用的日益广泛,ILs 表面或与其相(液、固)界面的性质,如表面张力、润湿性和热、质传递特征等,被认为是介观尺度下界面区域上物质的吸附和传递、分散与混合过程的重要因素,对过程效率有显著影响. 因此,ILs 的表/界面性质与特征是 ILs 在多相复杂体系应用中的关键问题之一. 离子液体在结构上具有带电荷、不对称、离子尺寸较大、多官能团等特点,这也是其表/界面性质与结构有不同于常规溶剂液体或液体体系特性和规律的原因.

当前纳米科学技术正在飞速发展,为了满足对纳米材料在纳米尺度下进行观测、研究的特殊需求,分析仪器的精度越来越高. 原子力显微镜(AFM)可以对各种材料和样品进行纳米区域物理性质及形貌的探测,对微观结构的表

征具有高分辨率和非破坏性的特点. 扫描隧道显微镜(STM)具有比 AFM 更高的分辨率,可以观察和定位单个原子,并且可以用于晶体结构分析,尤其适合对一些物理、化学现象进行原位观察. 借助 AFM/STM 技术对离子液体进行研究,可以从微、介观尺度对离子液体的表/界面结构进行表征,为离子液体表/界面性质的理论研究提供直观的科学依据. 目前,有关离子液体表/界面性质和结构的研究已较多,基于 X 射线光电子能谱(XPS)方面的综述性文章已见诸文献^[9],但基于 AFM/STM 等直观分析技术的综述性文章尚未见报道. 鉴于此,本文以国内外近期相关研究为基础,对基于 AFM/STM 技术直接观察离子液体表/界面性质及结构的研究进展进行综述,并指出其未来的发展方向.

1 基于 AFM/STM 技术研究离子液体表/界面性质及结构

1.1 离子液体薄膜的研究

离子液体的典型应用是作为反应、萃取溶剂和作为燃料电池的电解质. 随着研究的不断深入和应用的不断扩展,离子液体凭借非挥发性或超低蒸气压、一般不可燃、化学和热力学稳定性高、熔点低、液相范围宽、与有机聚合物可控的相容性,以及制备过程简单、种类多、选择与可设计性强等诸多优点,已成为润滑剂界“新宠”,尤其是在真空、高温环境下表现出来的优良的稳定性,更能满足高效润滑剂的需求,正逐渐成为新一代润滑剂或润滑剂添加剂. 润

滑材料的性能由润滑材料的成分、分子结构及其与摩擦表面的相互作用来决定,因此使用 ILs 作为润滑剂或添加剂就必须对 ILs 的结构和机械性能进行深入研究,依据摩擦化学的原理合理设计离子液体型润滑材料,这涉及薄膜的表面形貌、薄膜厚度、纳米摩擦性能(粘滞力等)、润湿性等。

C. F. YE 等^[10]率先发现离子液体具有优良的抗磨和减摩性能,其润滑性能远超传统润滑剂,并提出将离子液体用作性能优异的润滑剂。由于传统有机润滑剂的通用性并不理想,而 ILs 作为润滑剂可通用于钢/钢、钢/铝、钢/铜、钢/单晶硅、钢/二氧化硅、钢/陶瓷、陶瓷/二氧化硅及陶瓷/陶瓷等不同接触面,且均表现出优良的摩擦学性能,因此对 ILs 作为润滑剂的研究已全面展开^[11]。在对润滑材料进行评估时,通常采用球盘式或针盘式摩擦磨损试验机,得到宏观的试验数据。然而微/纳米级的粘附和摩擦性能与宏观上所体现出的粘附和摩擦性能相差甚远,微/纳米级摩擦学性能的优化对于将 ILs 拓展到微/纳机电系统(MEMS/NEMS)等高端应用非常重要。AFM 正是通过检测待测样品表面和一个微型力敏感元件之间极微弱的原子间相互作用力来研究物质表面结构及性质的,可满足测量微/纳米尺度上物质之间的粘附力和摩擦力。B. BHUSHAN 等^[11-12]首次用 AFM 成功

地在微/纳米尺度上对 Si(100) 表面 BMIM-Oct-SO₄ 和 BMIM-PF₆ 离子液体的粘附性能(直接测量)、摩擦和磨损性能(通过表面电势和扩散电阻的测量进行评估)进行研究,分析了 ILs 为何具有优异的润滑性能。他们基于 AFM 技术在不同测量模式下分别获得 ILs 膜厚、膜表面电势和扩散电阻,进而对薄膜润滑机理进行研究。其测试原理示意图见图 1。图中 a) 为 MultiMode 系列 AFM 工作原理,左图是轻敲模式,用于测试表面高度,右图是抬起模式,用于测试表面电势;图 b) 为 Dimension 系列 AFM 工作原理,使用接触模式可用于测试表面高度,电阻通过施加的 DC 偏压测量。

另一方面,他们根据 AFM 测得薄膜的表面高度、粘附力、摩擦力等数据,将这两种离子液体与全氟聚醚 Z-TETRAOL 润滑剂的性能进行对比,指出:BMIM-OctSO₄ 和 BMIM-PF₆ 离子液体内部的静电键促进了 ILs 在硅基底上的附着,成膜均一,润滑性好,比传统润滑剂的性能更优异,可直接或作为添加剂用于润滑剂。

然而,离子液体的润滑性能与其本身结构密切相关。文献[13-14]借助 AFM 技术,分别研究了 ILs 中不同阴、阳离子对 ILs 超薄薄膜的形貌、粘附力(见图 2)及微/纳摩擦性质的影响。他们通过 AFM 的接触模式表征镀在硅基底上 ILs 薄膜的纳米摩擦行为,通过监测悬臂的

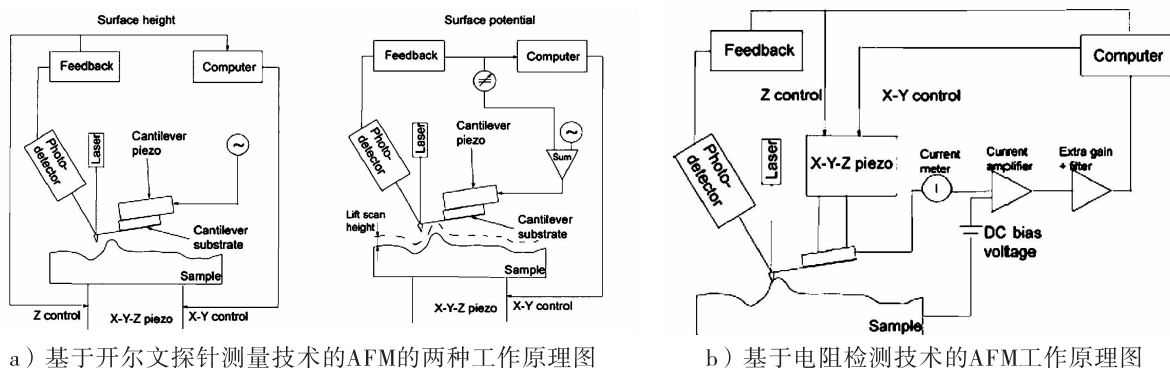


图 1 基于 AFM 技术的 ILs 测试原理示意图^[11-12]

Fig. 1 The test principle schematic of ILs based on AFM technique^[11-12]

横向扭转,测得输出电压,可直接用作相对摩擦力计算的依据.

他们研究发现,以 BF_4^- 为阴离子,阳离子分别为 1-丁基-3-甲基咪唑(L-B104)、己基三正丁基膦(I-P)、N-丁基吡啶(I-N)的 ILs 润滑剂性能研究中,阳离子为 L-B104 的耐磨性最好. 他们认为,纳米尺度上的摩擦力取决于润滑剂的弹性和表面自由能,而在微米尺度上,ILs 润滑剂的刚性环状结构和柔性链结构均起重要作用. 在用同样方法研究阴离子对 ILs 润滑剂摩擦性能影响时发现,以 L-B104 为共同阳离子,分别以 PF_6^- , BF_4^- , ClO_4^- , NO_3^- 为阴离子的几种 ILs,都能均一、平整地覆盖在硅片上(见图 3),其中以 [Bmim] PF_6 的耐磨性最好,说明 ILs 润滑剂的减阻、抗粘滞、耐磨损性能与离子液体的阴离子结构密切相关,在纳米尺度上 ILs 的摩擦性能与其表面自由能密切相关,而在减阻和耐用性上则主要取决于其阴离子^[14].

离子液体的润滑性能与薄膜层状结构及表

面组成也密切相关. A. ELBOURNE 等^[15] 用 AFM 测得二氧化硅 - PAN (Propyl-ammonium nitrate) - 云母间的法向力曲线,数据分析表明 ILs 在二氧化硅表面和近表面吸附的离子层结构决定着 PAN 的纳米摩擦性能,剪切力测试曲

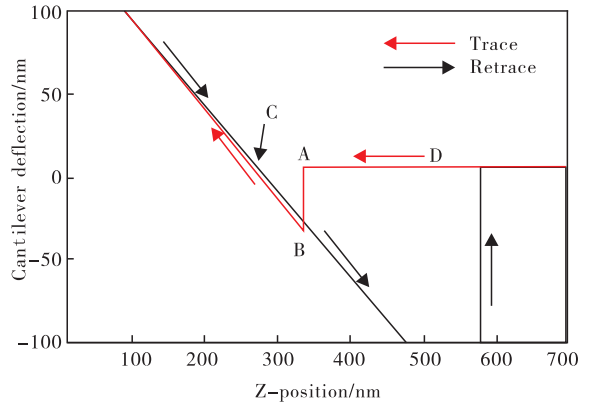


图 2 ILs 研究中典型的力 - 距离图以及粘附力计算原理示意图^[13-14]

Fig. 2 A typical force-distance plot and schematic illustration for adhesion force calculation in the study of ILs^[13-14]

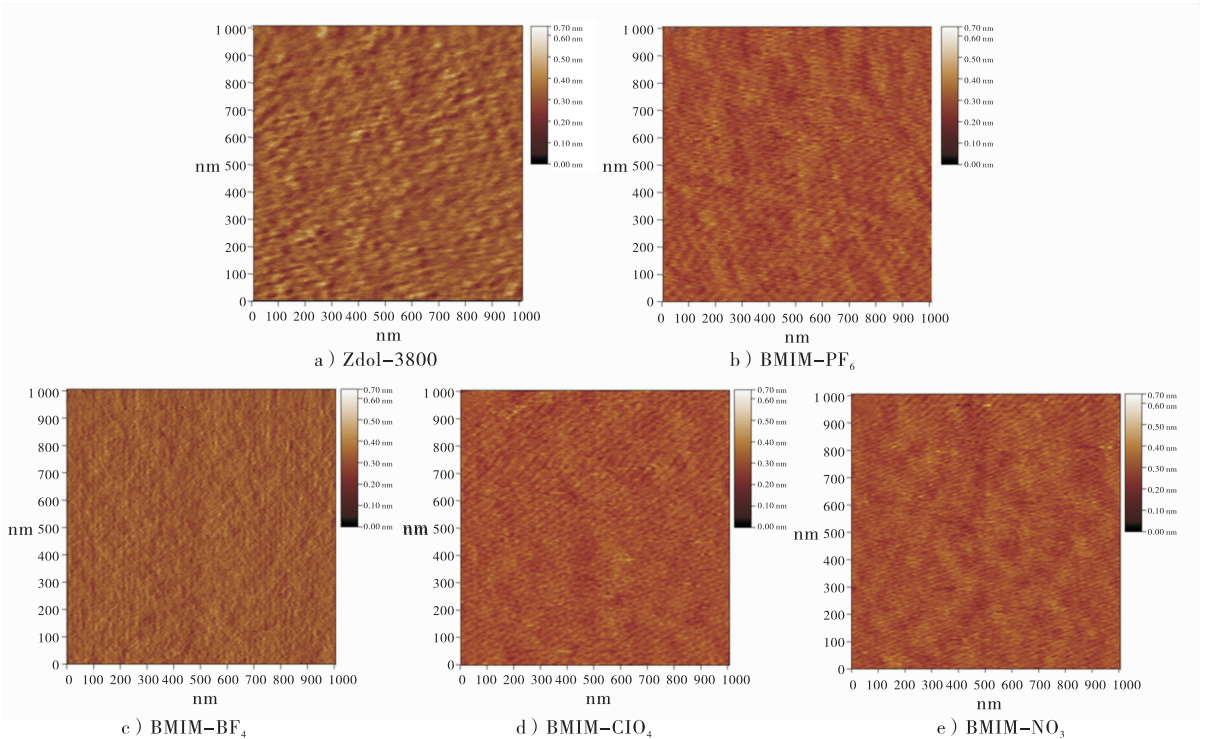


图 3 以 L-B104 为共同阳离子时不同阴离子的几种 ILs 的 2D AFM 图像^[14]

Fig. 3 2D AFM images several different anion ILs with L-B104 as common cationic

线表明界面润滑性随着离子层数和横向结构的改变而改变.

离子液体薄膜的润滑性还受温度的影响. 利用 AFM 技术对硅片表面 ILs 薄膜形貌的表征(见图 4, 其中 a) 和 b) 为 IL-OH 膜; c) 和 d) 为 60 °C 下的 IL-OH 膜; e) 和 f) 为 120 °C 下的 IL-OH 膜; g) 和 h) 为丙酮冲洗过表面的 120 °C 下的 IL-OH 膜) 和粘附力的测量(见图 5) 结果表明: 1,3-二羟乙基-咪唑六氟磷酸盐在羟基化硅片表面的摩擦力随温度升高而上升, 但始终低于没有 ILs 的空白硅片表面的摩擦力, 说明

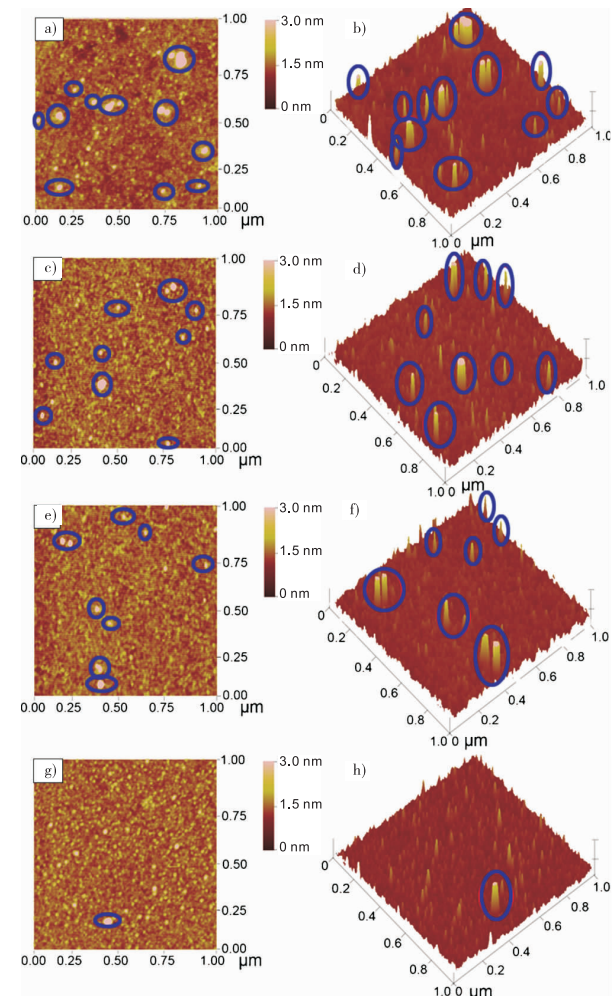


图 4 不同 ILs 薄膜的 2D 及 3D AFM 图像^[16]

Fig. 4 2D and 3D AFM images of film of IL-OH(a, b), film IL-OH-60(c, d), film IL-OH-120(e, f), film IL-OH-120-clean(g, h) with the same Z-scale (0 ~ 3 nm)^[16]

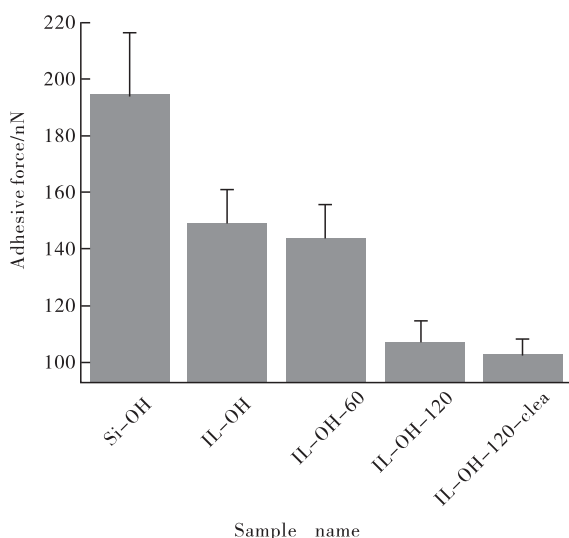


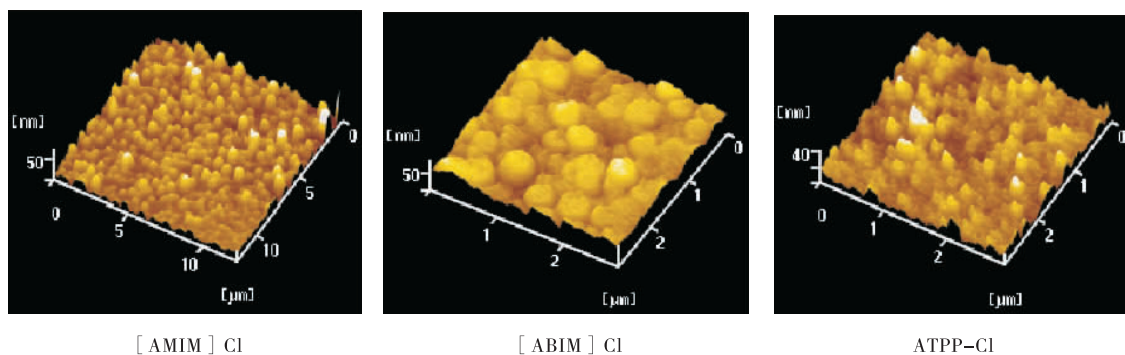
图 5 不同 ILs 薄膜的粘附力曲线^[17]

Fig. 5 Adhesion force curves of the different ILs films^[17]

温度明显影响 ILs 的摩擦性能^[16-17].

AFM 在双层超薄 ILs 薄膜的润滑性能研究中也应用, 双层离子液体膜通过化学键键合能改善润滑性能, 通过丰富的氢键能提高持久耐用性^[18].

亲/疏水性也是离子液体薄膜的一个重要性质参数. 杨武和张洁等^[19-20] 将 1-烯丙基-3-甲基咪唑氯化物([AMIM]Cl), 1-烯丙基-3-丁基咪唑氯化物([ABIM]Cl) 及烯丙基三苯基膦氯化物(ATPP-Cl) 3 种离子液体作为单体在硅片表面制得对应聚合物薄膜. AFM 测试表明: 聚合离子液体表面致密、形貌规整有序, 依次为圆形凸体、圆球状包块和细小锥状突出物, 突起的形貌说明聚合离子液体成功地接枝到了基底表面, 聚合物接枝密度较高且分布较为均匀, 具有合适的粗糙度(见图 6). 基体表面接枝上聚合薄膜后, 静态水在 3 种离子液体薄膜上的接触角分别为 53°, 73° 和 52.8°, 表现为亲水表面. 当用 NH_4PF_6 分别将 3 种离子液体中的 Cl^- 置换为 PF_6^- 时, 水接触角依次升至 106.4°, 107.9° 和 100.2°, 均从亲水表面转换到疏水表面.

图6 3种离子液体聚合物薄膜的AFM图像^[19-20]Fig. 6 AFM images of 3 kinds of ionic liquid polymer films^[19-20]

关于 ILs 在支撑体表面形成薄膜的机理研究,借助于 AFM 原位观察技术也得以开展. F. H. RIETZLER 等^[21] 使用电喷雾离子化沉积法 (ESID) 首次在云母支撑的 Au(111) 晶膜表面分别制得 $[C_8C_1Im][Tf_2N]$ 和 $[C_8C_1Im]Cl$ 的离子液体超薄膜,避免了 PVD 法过程中 ILs 产生热分解,研究发现: $[C_8C_1Im][Tf_2N]$ 薄膜是通过层层自组装方式形成的,而 $[C_8C_1Im]Cl$ 形成岛状生长模式,推测可能是由于 Cl^- 比 Tf_2N^- 有更强的协调强度, Cl^- 更易成核形成岛状结构. S. BOVIO 等^[22] 的研究也表明,与 $[C_8C_1Im][Tf_2N]$ 具有相同阴离子的 $[Bmim][Tf_2N]$ 在 Si(110)、云母及无定型二氧化硅表面形成的薄膜均是层状结构. 此外,AFM 测试结果还表明在薄膜垂直方向上出现有序的固体表面,且高度均一,与 Ballone 模拟计算获得的数值结果高度一致^[22].

离子液体薄膜的厚度直接影响薄膜的结构. X. GONG 等^[23] 利用 AFM 跟踪表征不同厚度 (0.39 ~ 1.01 nm) 的 DMPIIm/Si 离子液体薄膜结构,当薄膜很薄 (< 0.62 nm) 时,形成一种阴离子在顶部的层状光滑薄膜,随着厚度增至 0.70 ~ 0.86 nm,发生反润湿现象,形成液滴状形貌,进一步增厚形成海绵状结构. 造成这一变化的原因可能在于:随着厚度增加,离子液体阴阳离子间的凝聚力逐步代替基底的吸引力. 这

说明随着膜厚度增加,为了降低自身表面自由能而达到相对稳定的状态,薄膜倾向于形成液滴状或海绵状结构,而不再是层状结构.

2.2 离子液体混合溶液及混合物研究

在离子液体实际使用过程中,通常会与有机溶剂、添加剂或水混合,或者使两种或两种以上彼此间具有协同作用的离子液体混合,用于化工萃取分离等. 因而研究离子液体混合物的性质也非常重要,特别是混合物的密度、黏度、电导率、表面张力和界面现象、团聚等行为在化工应用中具有非常重要的意义.

在离子液体的阴阳离子上引入官能团,即形成离子功能化的 ILs. ILs 功能团会影响 ILs 在水溶液中的理化性质. R. KAMBOJ 等^[24] 分别将 $[C_{12}AMim][Cl]$, $[C_{12}AMorph][Cl]$, $[C_{12}APip][Cl]$ 及 $[C_{12}APyr][Cl]$ 这 4 种离子液体阳离子烷基链进行氨基化,氨基化的离子液体疏水性降低,热稳定性也降低,水溶液临界胶束浓度可降低 3 ~ 4 倍,表现出良好的表面活性,通过 AFM 观测到了较多胶团的存在 (见图 7),直观印证了动态光散射 (DLS) 的测试结果.

ILs 内部的聚集最终会影响其粗糙度,并直接决定接触角. G. H. TAKAOKA 等^[25-26] 借助场发射的方法,使用 $[BMIM]PF_6$ 离子液体作为正、负离子束,得到了 $[BMIM]PF_6$ 离子液体在硅片表面的簇离子 (见图 8). 簇离子相对分子

量高达 5 000 左右,AFM 测得离子液体表面粗糙度 R_a 随引出电压的升高而增大,引出电压为 6 kV 时 $R_a = 0.53$ nm,高于玻璃基底的 0.4 nm. 这可能是由于电压升高,得到的团簇离子增大,加强了表面的粗糙程度. 基底上溅射得到的阴、阳簇离子膜的接触角分别为 50° 和 40° ,与离子液体溶剂的接触角基本相等.

中性无机微粒通常表现出较弱的表面吸附和分子间相互作用,而在离子液体这种强离子环境下,中性无机微粒则会产生一些新的结构和现象. Y. C. FU 等^[27]为了充实这类研究,引入

STM 技术原位观察到在 [BMIM]BF₄ 氛围中, SbCl₃(BiCl₃)与 Au 电极表面间局部电荷转移,使分子-界面产生交互作用,为分子吸附提供了驱动力. 通过 STM 对膜层表面施加不同电压, SbCl₃(BiCl₃)会在 Au 电极表面形成不同的超分子聚集形态(见图 9—图 11,其溶液均为 0.01 mol/L SbCl₃的 BMIBF₄溶液).

2.3 负载离子液体研究

离子液体与气体、溶剂等物质组成的多相体系为吸收、萃取、两相催化等技术的发展提供了新的平台. 由于环境各向异性引发力的不平

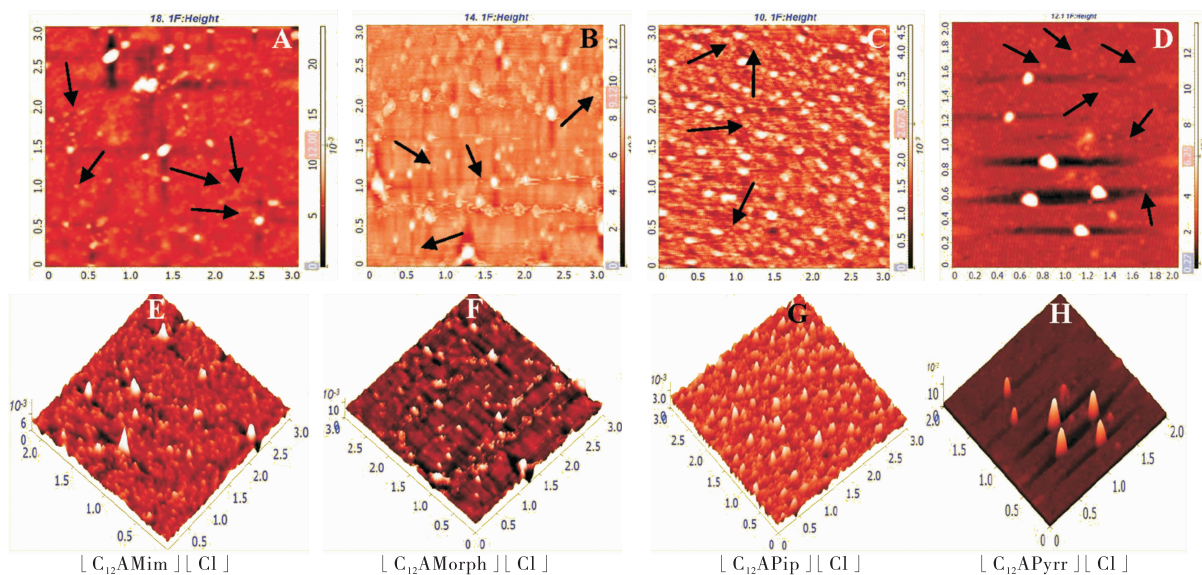


图 7 298.15 K 下 4 种离子液体的 AFM 的高度剖面图与 3D AFM 图像^[24]

Fig. 7 AFM height profile of 4 kinds ILs as well as corresponding 3D AFM images of these 4 kinds of ILs at 298.15 K^[24]

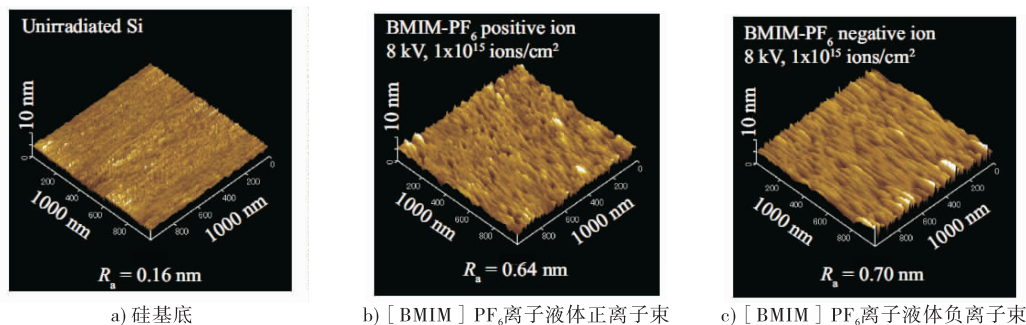


图 8 [BMIM]PF₆ 离子液体在 Si 片表面的簇离子的 AFM 图像^[25-26]

Fig. 8 AFM images of the cluster ions of [BMIM]PF₆ ILs on the surface of the silicon^[25-26]

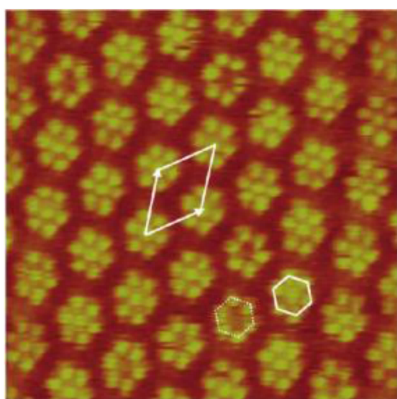


图9 在 Au(111)表面形成有序的超分子结构的 SbCl₃^[27]

Fig. 9 Ordered array of supramolecular structures of SbCl₃ on Au(111)^[27]

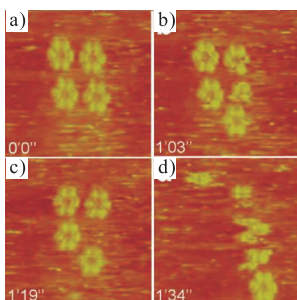


图10 在 Au(111)表面 SbCl₃ 胚晶形成及溶解快照^[27]

Fig. 10 Snapshots of the formation and dissociation of SbCl₃ cluster embryos on Au(111)^[27]

衡,直接导致离子液体近表面区域的化学组成及表面的分子排布与离子液体本体的较大不同,这使得在分子水平上研究离子液体表面/界面性质尤为重要,成为含离子液体多相体系的重要科学问题. 科研工作者对离子液体在锂电池、超级电容器、电化学传感器等方面的应用进行了大量研究. 在这些电化学体系的研究中均会涉及离子液体/金属的界面现象,如界面双电层的结构及性质等.

G. B. PAN 等^[28]采用 STM 在真空条件下观察了当电极电势为 -0.2 V (Pt 为参比电极)时, [Bmim][PF₆]/Au(111)界面上 PF₆ 阴离子

吸附层发生的 2D 相结构转变,即由平整梯田结构逐渐变成了云条纹状图案(见图 12). 而且,随着电极电势变得更负,观测到的吸附层结构也会逐渐改变,在 -0.45 V 时出现 $\sqrt{3} \times \sqrt{3}$ 相(见图 13),有平整的梯田结构,但云条纹图案一直会共存在其中. 这些吸附层结构的形成可能与 PF₆ 阴离子在水溶液和离子液体中溶解能力不同有关.

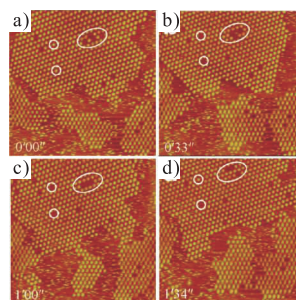
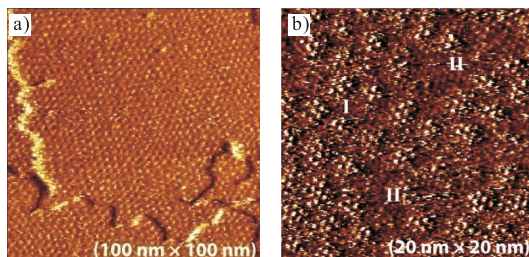


图11 SbCl₃ 晶簇在 Au(111)表面的解体及自组装^[27]

Fig. 11 Escape and recapture of SbCl₃ clusters from the assembly on Au(111)^[27]



a)典型的大范围STM图像 b)高分辨STM图像

图12 PF₆ 在 Au(111)表面的特性^[28]

Fig. 12 Patterns of PF₆ on Au(111)^[28]

R. ATKIN 等^[29]用 AFM 的 Si₃N₄ 探针逐步接近 ILs, 接触到 ILs 时会有力地响应,由此发现穿过或刺破不同离子液体层面所需力的大小不同(见图 14,其中,蓝色和红色分别表示 AFM 针尖逼近、远离离子液体[EMIIm]TFSA 和[BMP]TFSA 中 Au(111)表面). 对于穿过离子液体[EMIIm]TFSA 在 Au(111)表面附着层的层数增加所需力依次增大,从 0.5 nN 到 1.3 nN 再到最内层 5.5 nN

后,力响应值逐渐恒定,表明已到达 Au 晶面,当探针撤回时,力的响应值与之对应,并测到最外层(第 4 层)的存在.由内向外穿破力的减小表明当层面远离基底时,层面的有序性下降,直到接近 ILs 本体混乱程度.同时发现,延长阳离子链长会增加其憎溶作用,探针需要更大的力刺破对应的层面.

此外,R. ATKIN 等^[29]还用 STM 原位观察了 ILs/Au 电极的界面形貌.在开路电势时,STM 的形貌能与 AFM 的形貌对应.对于 [BMP]TFSA 离子液体,当 STM 的电势差增强时(-0.4 ~ -1.0 V)金电极表面不像水溶液电化学体系那样呈现平整的阶梯结构,而是形成强烈的蠕虫状图案(见图 15 和图 16).随着电势更负,蠕虫状结构逐渐消失,直到 -2.2 V

时,由于界面上金结构重组,出现梯田结构.而 [EMIm]TFSA 离子液体则没有经历如此强烈的结构重组,始终没有出现蠕虫状结构.由 AFM 的结果可知,两种离子液体产生上述差异的原因在于其阳离子[BMP]⁺比[EMIm]⁺具有更强的相互作用力.

除此之外,该研究组还使用相同的 AFM/STM 方法研究了离子液体[Py1,4]FAP 与 Au(111)界面的性质,观察到了类似的层状变化现象(见图 17)^[30].

J. J. SEGURA 等^[31]采取 AFM 轻敲模式研究了吸附在云母表面质子型 EAN(乙胺硝酸盐)(见图 18,其中,a)为 AFM 针尖逼近沉浸在 EAN 离子液体中的云母表面的力曲线图;b)为图像 d)中箭头部分的高度剖面图;c)为 EAN

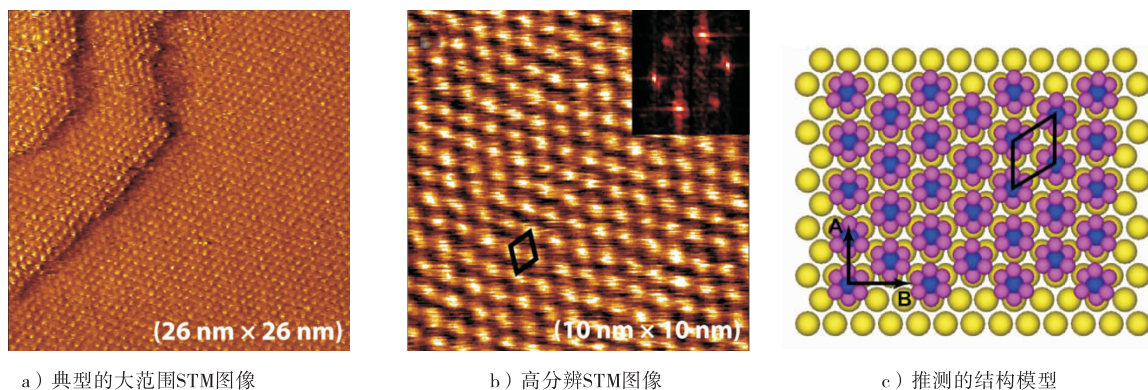


图 13 PF₆⁻ 离子在 Au(111) 表面上 ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$) 相结构^[28]

Fig. 13 ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$) structure of PF₆⁻ on Au(111)^[28]

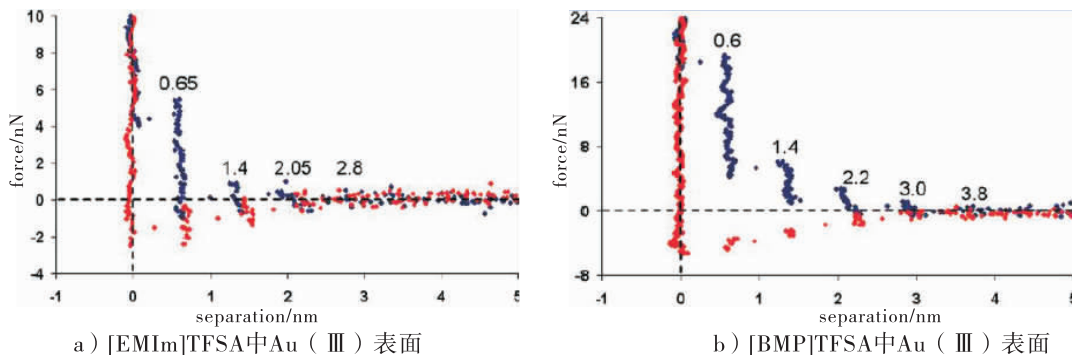


图 14 Si₃N₄ 探针接触 ILs 时的力 - 距离曲线^[29]

Fig. 14 Force versus distance profile for an AFM tip approaching (blue) and retracting from (red) Au(111) surface in [EMIm]TFSA and [BMP]TFSA when Si₃N₄ probe contacts ILs^[29]

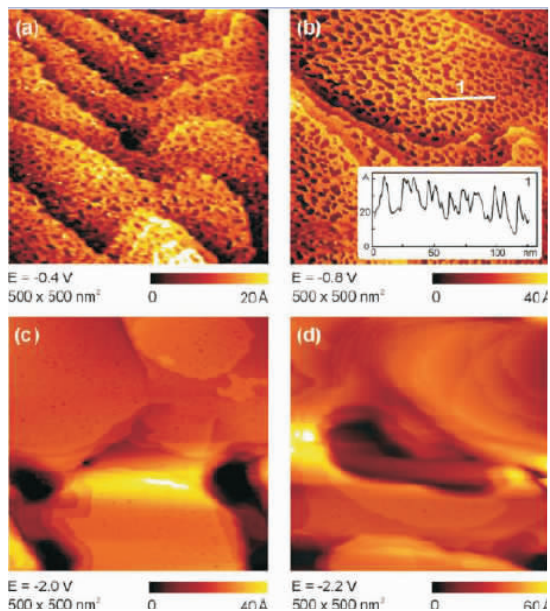


图 15 不同电压条件下,纯离子液体[BMP]TFSA在 Au(111)表面的 STM 图像(其中 b)图中的插图为高度剖面图)^[29]

Fig. 15 STM images in pure [BMP]TFSA on a Au(111) surface at different potentials(The inset of the STM image in part b shows a height profile)^[29]

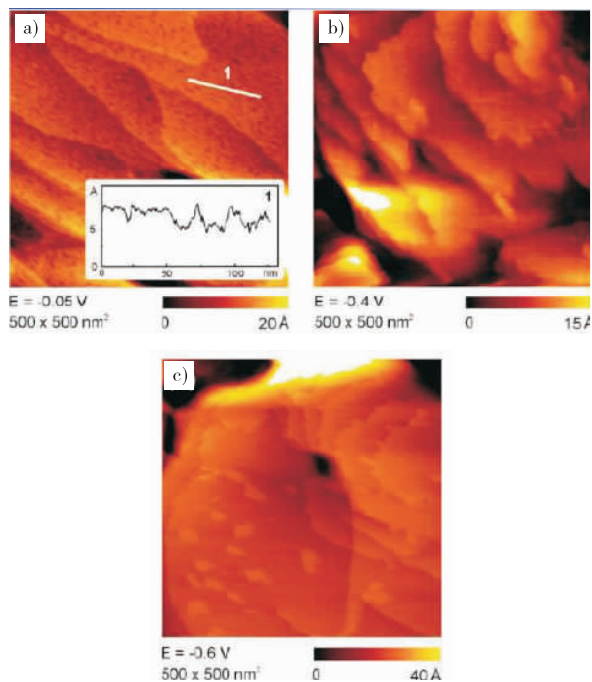


图 16 不同电压条件下,纯离子液体[EMIm]TFSA在 Au(111)表面的 STM 图像^[29]

Fig. 16 STM images in pure [EMIm]TFSA on a Au(111) surface at different potentials^[29]

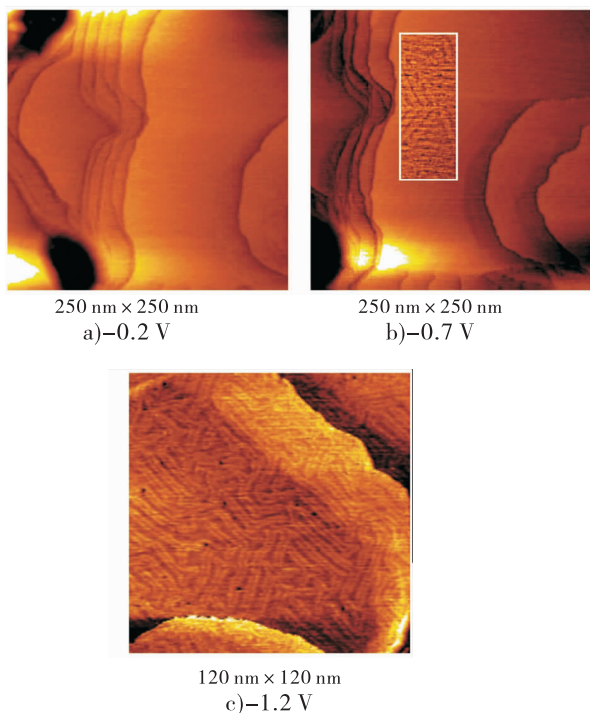


图 17 在不同电极电位条件下,[Py1,4]FAP 离子液体在 Au(111)表面的原位 STM 图像^[30]

Fig. 17 In situ STM images of the Au(111) surface in [Py1,4]FAP at different electrode potentials^[30]

最深层吸附在云母上的软接触 AFM 图像;d)为 AFM 针尖从最深层移动到接近表层时的软接触 AFM 图像)和非质子型 [Emim]TFSA(见图 19)两种离子液体的表面结构.观测结果表明:质子型 EAN 离子液体易形成海绵状结构的纳米相,且局部有蠕虫状结构;而对于 [Emim]TFSA 离子液体,阳离子在云母表面呈孤立排状分布.作者认为,质子型 EAN 离子液体在固体表面形成蠕虫状结构,主要是因为其含有最小的自组装聚集体.

Y. Z. SU 等^[32-33]利用原位 STM 手段研究了咪唑翁盐阳离子烷基链长对 ILs/Au(100)界面上双电层的结构影响.咪唑盐离子如胶束状/微团状一样吸附在 Au 电极表面,微团的大小随阳离子链长增长而增大,且其分布均有双列平行排布的特征.对于在 Au 电极表面的 OMI⁺

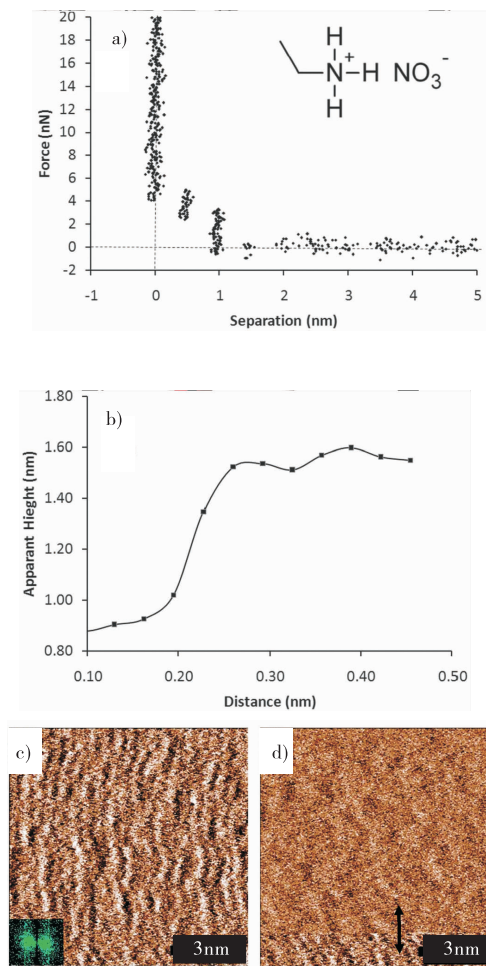


图 18 吸附在云母表面质子型 EAN 离子液体的表面结构^[31]

Fig. 18 The structure of EAN ionic liquid adsorbed on the surface of mica surface^[31]

阳离子吸附层在持续的负电势作用下,可形成有序-紊乱结构之间的相互转换,这可能是由阳离子更长的侧链及与 Au(100) 基底更强的相互作用引起的. 研究表明:双电层中致密区域的研究采用 STM 分析时会受限,但借助 AFM 测试的研究还在进行中.

F. BUCHNER 等^[34]将 STM 测试和理论计算相结合,观察到在 [BMP][TFSA]/Ag(111) 界面上,阴、阳离子严格按照 1:1 的比例吸附在 Ag 表面(与理论计算一致). 在不同的温度条件下,可以形成不同吸附层,如在室温下是易变的 2D 液相,在 100 K 下,又可以生成 2D 固

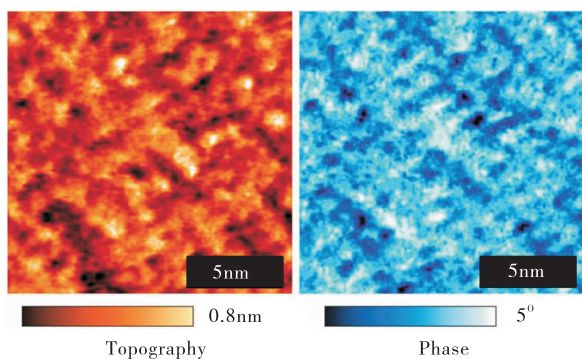


图 19 使用极软悬臂测试的 EMIIm TFSI 离子液体过渡区表面的振幅图和相图^[31]

Fig. 19 Imaging of an outer EMIIm TFSI transition zone layer using a particularly soft cantilever^[31]

相(见图 20,其中 a)图是在亚单原子层有 4 个 Ag 阶梯,在大的 Ag 阶梯上出现有序的 2D 晶体相,在小的 Ag 阶梯(宽度约为 10 nm)出现无序的 2D 玻璃相. 图 b)是在单层上,大的 Ag 阶梯上有有序的 2D 晶体相,而小的 Ag 阶梯上有无序的 2D 玻璃相). 由图 20 可以看出,在 100 K 时,出现 4 层梯田结构,分别为 2D 晶体相、2D 液体相、2D 液体相和玻璃相的混合相,以及 2D 玻璃相.

2.4 原位过程监测

在 AFM 测试过程中都用到悬臂,它常被用来检测原子之间力量的变化. 当针尖与样品之间产生相互作用后,由于样品表面的形貌会使悬臂发生形变,通过感应检测形变量的大小可以得到样品表面的信息. K. KAISEI 等^[35]则拓展了悬臂的作用,他们利用 AFM 的悬臂进行纳米喷墨打印(见图 21),将离子液体 [BMIM]BF₄点到 4 nm 厚的 Pt 薄膜上,Pt 薄膜是通过磁控溅射在 Al₂O₃(0001) 表面得到的.

通过改变脉冲时间,可以得到不同聚集形态的 ILs 液滴(见图 22),用 AFM 观察离子液体液滴形貌时发现,脉冲时间在 0.2 ~ 1.0 s 之间时,脉冲时间越长,液滴越宽;脉冲时间在 0.2 ~ 0.5 s 之间时,液滴的厚度均在 2.5 nm 左

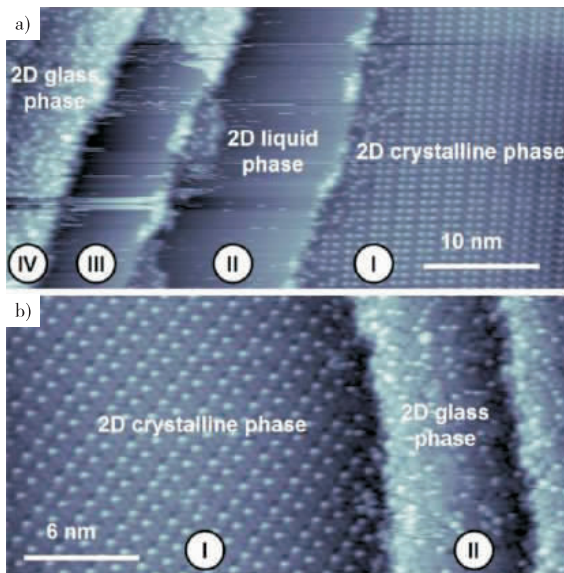


图 20 在 ~100 K 温度下,离子液体

[BMP][TFSA]在 Ag(111) 表面的恒流 STM 图像^[34]

Fig. 20 Constant-current STM images of

[BMP][TFSA] on Ag(111) recorded at ~100 K^[34]

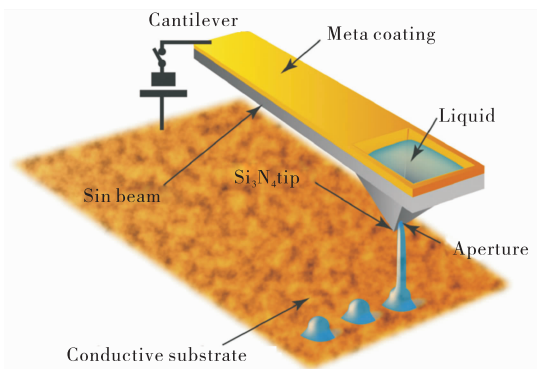


图 21 利用 AFM 悬臂进行纳米尺寸
喷墨打印方法原理图^[35]

Fig. 21 Schematic of nanoscale inkjet
printing method by AFM cantilever^[35]

右,但是当脉冲时间延长至 1.0 s 时,液滴的厚度可达 4.0 nm. 由于液滴间距离很近,液滴很容易连接成膜,这种纳米喷墨打印技术可以应用于在设定区域内制备所需厚度的离子液体薄膜,使得在纳米尺度上研究离子液体结构性质成为可能.

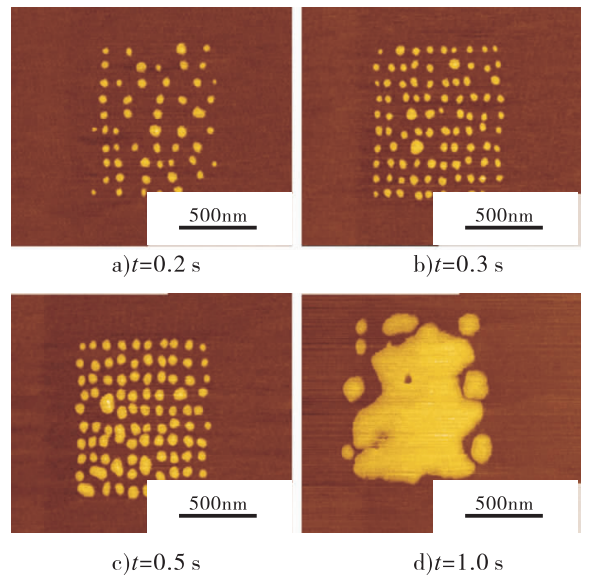


图 22 在较短脉冲时间 ILS 液滴沉积时
表面 AFM 图像^[35]

Fig. 22 Topographic AFM images of the droplets
deposited with shorter pulse durations^[35]

3 结论与展望

具有低熔点的室温离子液体是一种新型的结构可调变的多功能液体材料,在有机催化、绿色化学、化工分离、色谱分析和电化学等领域具有广泛的应用,为构建绿色化学化工反应过程提供了新途径. 离子液体的表/界面性质与结构是离子液体催化反应/分离体系的重要基础科学问题,可在微/介观尺度下影响反应和分离过程的效率. 本文综述表明,AFM/STM 技术在离子液体薄膜、离子液体混合物、负载离子液体结构及性质方面都有很好的应用,尤其是在 AFM/STM 原位观察离子液体表/界面性质与结构变化方面. 但是,目前 AFM/STM 技术在离子液体方面的研究尚处于开始阶段,许多研究有待深入开展,应主要加强离子液体不同阴阳离子结构、性质对于离子液体与气体、离子液体与固体界面的影响等研究,从而形成系统化的理论,为离子液体吸收气体及催化反应的应用提

供理论支持,并进一步构建模型,指导离子液体的设计.

参考文献:

- [1] 顾彦龙,石峰,邓友全. 室温离子液体:一类新型的软介质和功能材料[J]. 科学通报,2004,49(6):515.
- [2] NANDA R, RAI G, KUMAR A. Interesting viscosity changes in the aqueous urea-ionic liquid system; effect of alkyl chain length attached to the cationic ring of an ionic liquid[J]. J Solution Chem, 2015, 44(3):742.
- [3] ZHANG X C, HUO F, LIU X M, et al. Influence of microstructure and interaction on viscosity of ionic liquids [J]. Ind Eng Chem Res, 2015, 54(13):3505.
- [4] DUPONT J, DE SOUZA R F, SUAREZ P A Z. Ionic liquid (molten salt) phase organometallic catalysis [J]. Chem Rev, 2002, 102(10):3667.
- [5] ZAKRZEWSKA M E, BOGEL-ŁUKASIK E, BOGEL-ŁUKASIK R. Ionic liquid-mediated formation of 5-hydroxymethylfurfurals-A promising biomass-derived building block[J]. Chem Rev, 2011, 111(2):397.
- [6] ZHANG Q H, SHREEVE J M. Energetic Ionic liquids as explosives and propellant fuels: A new journey of ionic liquid chemistry[J]. Chem Rev, 2014, 114(20):10527.
- [7] PÂRVULESCU V I, HARDACRE C. Catalysis in ionic liquids[J]. Chem Rev, 2007, 107(6):2615.
- [8] HALLETT J P, WELTON T. Room-temperature ionic liquids: solvents for synthesis and catalysis. 2 [J]. Chem Rev, 2011, 111(5):3508.
- [9] LOVELOCK K R J, VILLAR-GARCIA I J, FLORIAN M, et al. Photoelectron spectroscopy of ionic liquid-based interfaces[J]. Chem Rev, 2010, 110(9):5158.
- [10] YE C F, LIU W M, CHEN Y X, et al. Room-temperature ionic liquids: a novel versatile lubricant [J]. Chem Commun, 2001(21):2244.
- [11] PALACIO M, BHUSHAN B. A review of Ionic liquids for green molecular lubrication in nanotechnology [J]. Tribol Lett, 2010, 40(2):247.
- [12] BHUSHAN B, PALACIO M, KINZIG B. AFM-based nanotribological and electrical characterization of ultrathin wear-resistant ionic liquid films [J]. J Colloid Interf Sci, 2008, 317(1):275.
- [13] ZHAO W J, MO Y, PU J B, et al. Effect of cation on micro/nano-tribological properties of ultra-thin ionic liquid films [J]. Tribol Int, 2009, 42(6):828.
- [14] ZHAO W J, ZHU M, MO Y F, et al. Effect of anion on micro/nano-tribological properties of ultra-thin imidazolium ionic liquid films on silicon wafer [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects, 2009, 332(2/3):78.
- [15] ELBOURNE A, SWEENEY J, WEBBER G B, et al. Adsorbed and near-surface structure of ionic liquids determines nanoscale friction [J]. Chem Commun, 2013, 49:6797.
- [16] ZHAO W J, WANG Y, WANG L P, et al. Influence of heat treatment on the micro/nano-tribological properties of ultra-thin ionic liquid films on silicon [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects, 2010, 361(1/3):118.
- [17] ZHAO W J, HUANG D M, PU J B, et al. Effect of heat treatment on the nano-tribological properties of ionic liquid films [C] // Technical Sessions—Proceedings of CIST2008 & ITS-IFTtoMM2008, Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2008:505–506.
- [18] PU J B, HUANG D M, WANG L P, et al. Tribology study of dual-layer ultrathin ionic liquid films with bonded phase: Influences of the self-assembled underlayer [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects, 2010, 372(1/3):155.
- [19] 杨武, 张洁, 郭昊, 等. 表面自由基链转移反应制备润湿性可控聚合离子液体薄膜 [J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2010, 46(5):50.
- [20] 张洁. 几种润湿性可控聚合离子液体薄膜的制备与表征 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2011.
- [21] RIETZLER F H, PIERMAIER M, DEYKO A, et al. Electrospray ionization deposition of ultrathin ionic liquid films: $[C_8C_1Im]Cl$ and $[C_8C_1Im][Tf_2N]$ on Au(111) [J]. Langmuir, 2014, 30(4):1063.
- [22] BOVIO S, PODESTÀ A, LENARDI C, et al. Evidence of extended solidlike layering in $[Bmim][NTf_2]$ ionic liquid thin films at room-temperature [J]. J Phys Chem B, 2009, 113(19):6600.
- [23] GONG X, FRANKERT S, WANG Y J, et al. Thickness-

- dependent molecular arrangement and topography of ultra-thin ionic liquid films on a silica surface[J]. *Chem Commun*, 2013, 49(71):7803.
- [24] KAMBOJ R, BHARMORIA P, CHAUHAN V, et al. Effect of cationic head group on micellization behavior of new amide-functionalized surface active ionic liquids[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2014, 16(47):26040.
- [25] TAKAOKA G H, TAKEUCHI M, RYUTO H, et al. Production and irradiation of ionic liquid cluster ions[J]. *Nucl Instrum Meth B*, 2013, 307:257.
- [26] TAKAOKA G H, HAMAGUCHI T, TAKEUCHI M, et al. Surface modification using ionic liquid ion beams[J]. *Nucl Instrum Meth B*, 2014, 341:32.
- [27] FU Y C, SU Y Z, WU D Y, et al. Supramolecular aggregation of inorganic molecules at Au(111) electrodes under a strong ionic atmosphere[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(41):14728.
- [28] PAN G B, FREYLAND W. 2D phase transition of PF₆ adlayers at the electrified ionic liquid/Au(111) interface[J]. *Chem Phys Lett*, 2006, 427:96.
- [29] ATKIN R, ABEDIN S Z E, HAYES R, et al. AFM and STM studies on the surface interaction of [BMP] TFSA and [EMIm] TFSA ionic liquids with Au(111)[J]. *J Phys Chem C*, 2009, 113(30):13266.
- [30] ATKIN R, BORISENKO N, DRÜSCHLER M, et al. An in situ STM/AFM and impedance spectroscopy study of the extremely pure 1-butyl-1-methylpyrrolidinium tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate/Au(111) interface: potential dependent solvation layers and the herringbone reconstruction[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2011(13):6849.
- [31] SEGURA J J, ELBOURNE A, WANLESS E J, et al. Adsorbed and near surface structure of ionic liquids at a solid interface[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2013, 15(9):3320.
- [32] SU Y Z, FU Y C, YAN J W, et al. Double layer of Au(100)/ionic liquid interface and its stability in imidazolium-based ionic liquids[J]. *Angew Chem*, 2009, 48(28):5148.
- [33] SU Y Z, YAN J W, LI M G, et al. Electric double layer of Au(100)/imidazolium-based ionic liquids interface: effect of cation size[J]. *J Phys Chem C*, 2013, 117(1):205.
- [34] BUCHNER F, FORSTER-TONIGOLD K, UHL B, et al. Toward the microscopic identification of anions and cations at the ionic liquid|Ag(111) interface: a combined experimental and theoretical investigation[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(9):7773.
- [35] KAISEI K, KOBAYASHI K, MATSUSHIGE K, et al. Fabrication of ionic liquid thin film by nano-inkjet printing method using atomic force microscope cantilever tip[J]. *Ultramicroscopy*, 2010, 110:733.

(上接第66页)

- [12] TANAKA K, OKAMOTO A, SAITO I. Public-key system using DNA as a one-way function for key distribution[J]. *Biosystems*, 2005, 81(1):25.
- [13] 崔光照, 秦利敏, 王延峰, 等. 基于DNA技术的加密方案[J]. *计算机工程与应用*, 2009, 45(8):104.
- [14] SHIU H J, NG K L, FANG J F, et al. Data hiding methods based upon DNA sequences[J]. *Information of science*, 2010, 180(11):2196.
- [15] GUO C, CHANG C C, WANG Z H. A new data hiding scheme based on DNA sequence[J]. *International journal of innovative computing information & control*, 2012, 8(1):1.
- [16] GOFF G C L, BLUM L J, MARQUETTE C A. Shrinking hydrogel-DNA spots generates 3D microdots arrays[J]. *Macromolecular bioscience*, 2013, 13(2):227.
- [17] 张勋才, 韩琴琴, 王燕, 等. 一种基于RNA二级结构的信息隐藏方案[J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2014, 29(1):1.
- [18] FANG XW, LAI XJ. DNA-chip-based information hiding scheme[J]. *Communications in computer and information science*, 2014, 472:123.
- [19] ATTWOOD T K, PARRY-SMITH D J. 生物信息学概论[M]. 罗静初译. 北京: 北京大学出版社, 2002:83.
- [20] 饶妮妮. 一种基于重组DNA技术的密码方案[J]. *电子学报*, 2004, 32(7):1216.
- [21] 陈惟昌, 陈志华. 遗传密码和DNA序列的高维空间数字编码[J]. *生物物理学报*, 2000, 16(4):760.
- [22] AMOS M, PAUN G, ROZENBERG G, et al. Topics in the theory of DNA computing[J]. *Theoretical computer science*, 2002, 287(1):3.



引用格式: 绪连彩, 张智强, 彭琼阳, 等. 脯氨酸离子液体催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯机理的密度泛函理论研究[J]. 轻工学报, 2016, 31(1): 89-96.

中图分类号: O643.12 文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.014

文章编号: 2096-1553(2016)01-0089-07

脯氨酸离子液体催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯 机理的密度泛函理论研究

Density functional theory studies on the mechanism of the synthesis propylene carbonate by CO_2 catalyzed proline ionic liquids

绪连彩, 张智强, 彭琼阳, 毛明, 邵晨, 蒋玲, 王国庆

XU Lian-cai, ZHANG Zhi-qiang, PENG Qiong-yang, MAO Ming, SHAO Chen,
JIANG Ling, WANG Guo-qing

郑州轻工业学院 材料与化学工程学院, 河南 郑州 450001

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

关键词:

密度泛函理论; 脯氨酸离子液体; CO_2 催化; 碳酸丙烯酯

Key words:

density functional theory; proline ionic liquids; CO_2 catalytic; propylene carbonate

摘要: 用密度泛函理论研究了脯氨酸离子液体催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯的可能反应路径. 在 M06/6-31+G(d) 理论水平上优化反应体系的平衡态和过渡态的几何结构、通过频率分析验证平衡态和过渡态的结构、通过内禀坐标分析确认过渡态与平衡态的连接关系后, 在 M06/6-311++G(2d,p) 理论水平上计算了各点的单点能. 结果表明, 脯氨酸负离子可以活化催化剂前体 2,4-戊二酮, 使其失去亚甲基上的质子而形成碳负离子, 进而催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯; 2,4-戊二酮负离子还可以被 CO_2 羧基化, 羧基化的 2,4-戊二酮负离子催化活性更强, 但是羧基化是热力学不利的过程.

收稿日期: 2015-11-20

基金项目: 国家自然科学基金委河南省联合基金项目(U1204209)

作者简介: 绪连彩(1976—), 女, 山东省临沂市人, 郑州轻工业学院副教授, 博士, 主要研究方向为计算化学.

Abstract: The possible reaction paths of synthesis of propylene carbonate catalyzed by proline ionic liquid were studied by density functional theory (DFT). The geometries of reactants, transition states and products were optimized at M06/6-31 + G(d) theoretical level. All stationary point and transition states were verified according to the number of imaginary frequency through harmonic vibrational analysis, transition states were also confirmed by intrinsic reaction coordinate analysis. Single point energy for each species was recalculated at M06/6-311 + G(2d,p) theoretical level. The results indicated that 2,4-pentanedione was activated by proline anion through a proton transfer reaction to yield 2,4-pentanedione anion which contained a carbon anion. The synthesis of propylene carbonate was catalyzed by the 2,4-pentanedione anion. Alternatively, the 2,4-pentanedione anion was able to be carboxylated by CO₂. The carboxylated 2,4-pentanedione anion showed a higher catalytic activity, however, the carboxylation reaction was a thermodynamic unfavorable process.

0 引言

离子液体具有低熔点、高热稳定性、不易挥发、高导电性、能溶解多种有机物和无机物等特点,被誉为环境友好型绿色溶剂. 离子液体具有阴阳离子结构,它不仅可以作为反应介质使用,而且还可以作为催化剂使用^[1-2]. 近年来,CO₂ 由于廉价、丰富、无毒且可以为一些有机合成提供 C1 原料而引起了人们的关注. 然而,CO₂ 热力学性质稳定,在有机合成中如果利用 CO₂ 作为 C1 原料,需要用到催化剂. 催化 CO₂ 合成环状碳酸酯(见图 1)是将 C1 作为原料的意义重大的课题,近年来对该反应所使用之催化剂的研究较多^[3-5].

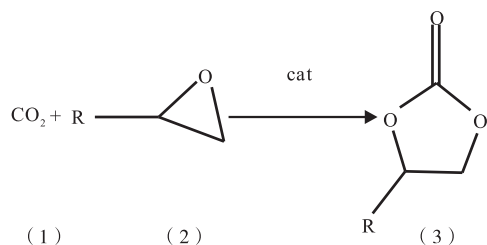


图 1 CO₂ 与环氧烷基化合物催化合成环状碳酸酯的反应方程式

Fig. 1 The synthesis reaction equation of cyclic carbonate from CO₂ and epoxy alkyl compounds

大量研究发现^[6-8],在 CO₂(物质 1,为便于理解,本文将不同物质用不同数字表示,下同)与

环氧烷基化合物(物质 2)合成环状碳酸酯(物质 3)的反应中,金属配合物催化剂表现出较高的催化活性和选择性,但金属配合物催化剂与产物分离困难,且比较昂贵. 在多相催化剂中,金属氧化物和碱性分子筛催化剂虽然易于分离,热稳定性好,但是催化活性较差. 离子液体催化剂通过非化学键吸附在载体上,能使产物的立体选择性得到显著提高.

然而,目前发现的离子液体催化剂,还不能同时满足广泛应用于工业化所应达到的高活性、高循环性、高选择性和反应条件温和等要求,其反应机理大多不清楚,为了更好地寻找优良的离子液体催化剂,理解其催化机理很重要. 天然脯氨酸由于具有手性、催化选择性较好等特点,常常被用作非对称合成的催化剂. 而脯氨酸离子液体由于环境友好,且具有手性选择性、回收率高而被用于各种类型的非对称有机合成中^[9-10]. 本文拟采用密度泛函理论(DFT)研究脯氨酸离子液体催化 CO₂ 环状碳酸酯的反应机理,为设计和寻找环境友好的催化剂提供理论线索.

1 计算方法

本研究所有物质(包括平衡态和过渡态)的几何结构都是在 M06/6-31 + G(d) 理论水平上进行优化的,之后又在 M06/6-311 + G(2d,p) 理论水平上重新计算它们的单点能

(E_{electron}) 以提高计算精度. 每种物质气体下的吉布斯自由能 G_{gas} 按照①式进行计算:

$$G_{\text{gas}} = E_{\text{electron}} + E_{\text{dispersion}} + ZEP + G_{\text{correction}} \quad (1)$$

其中, $E_{\text{dispersion}}$ 为色散力校正项, 色散力校正采用 Grimme 的 D3 参数^[11] 计算得到; ZEP 为零点能校正项; $G_{\text{correction}}$ 为吉布斯自由能的热校正项. ZEP 和 $G_{\text{correction}}$ 两项是通过物质优化后的分子结构进行简正频率分析得到的. 频率分析在 M06/6-31+G(d) 理论水平上, 298.15K, 1 个标准大气压条件下完成. 简正频率分析也可以验证平衡态和过渡态的几何结构的正确性, 所有平衡态没有虚频, 所有过渡态有且仅有 1 个虚频. 过渡态在频率分析之后, 还须进行内禀反应坐标(IRC)分析, 以确认与平衡态的连接关系, 从而确保各基元反应过程的合理性. 具体的计算方法参见本课题组之前所做的氮杂磷酸盐催化合成环状碳酸酯机理研究^[5]. 由于缺少必要的溶剂化参数, 本文仅计算各物质气态下的 G_{gas} , 未涉及溶解吉布斯自由能. 所有计算都由量子化学计算软件 Gaussian 09 Revision D.01 完成.

2 结果与讨论

脯氨酸离子液体催化 CO₂ 合成环状碳酸酯的反应可以分为两个阶段. 第一阶段是脯氨

酸负离子(物质4)活化 2,4-戊二酮(物质5)得到 2,4-戊二酮负离子(物质6), 脯氨酸负离子质子化后得到内盐型的脯氨酸(物质7). 第二阶段是 CO₂ 与环氧基化合物在第一阶段生成的 2,4-戊二酮负离子的催化作用下, 合成环状碳酸酯, 存在两条可能的路径.

2.1 第一阶段: 戊二酮在脯氨酸作用下去质子化生产含碳负离子的戊二酮负离子

此反应为基元反应, 首先物质4与物质5形成反应复合物4-5, 而5的活泼亚甲基上的H转移至物质4的N原子上, 经过过渡态TS₅₋₆得到复合物6-7, 最后物质6与7分离. 上述各物质的几何结构如图2所示(结构优化是在 M06/6-31+G(d) 理论水平上完成的, 图中的数值为键长, 单位为 Å). 第一阶段的反应势能面如图3所示(图中相对能量为吉布斯自由能, 分子结构中除了关键位置上的H以外, 其他的H已被略去), 物质4与物质5形成复合物是放热过程, 释放出约 42.5 kJ·mol⁻¹ 的热量, 质子转移对应的反应活化能约为 42.0 kJ·mol⁻¹. 该反应也是一个放热反应, 释放出约 1.2 kJ·mol⁻¹ 的热量, 质子转移之后, 产物复合物6与7的分离是强烈的吸热过程, 需要吸收约 104.0 kJ·mol⁻¹ 的热量. 物质6与7分离所导

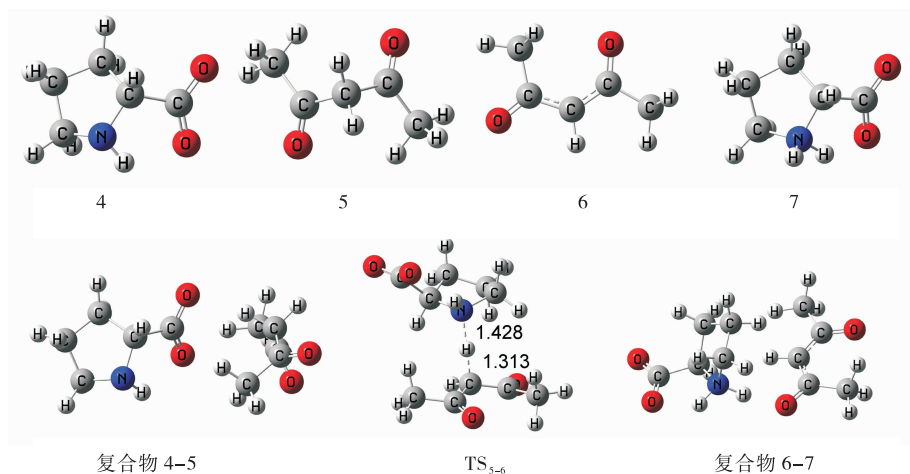


图2 物质4—7和TS₅₋₆的几何结构

Fig. 2 The geometric constructions for complex 4-7 and transition state TS₅₋₆

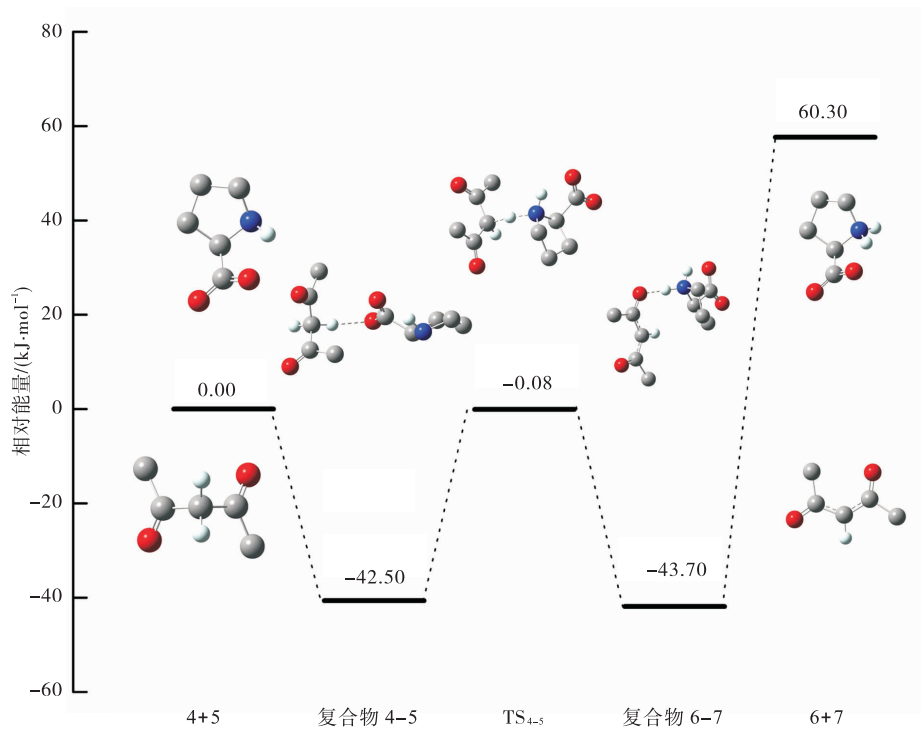


图3 戊二酮与脯氨酸质子转移反应势能面

Fig. 3 Potential energy surface profiles for the proton transfer reaction between 2,3-pentanedione and proline

致的强烈吸热,主要是因为C负离子与铵正离子之间的库仑作用,而上述分离过程没有考虑离子液体咪唑阳离子对物质6与7分离的影响.在实际的离子液体环境中,物质6与7的分离可能不需要吸收这么多的热量.在脯氨酸离子液体中,物质5失去活泼亚甲基上的质子生成相应的C负离子是热力学允许的过程,实验上也验证了这一点^[10].

2.2 第二阶段:戊二酮负离子催化CO₂合成碳酸丙烯酯反应路径一

第一条路径中各中间体和过渡态的结构如图4所示(几何结构优化是在M06/6-31+G(d)理论水平上完成的,图中的数值为键长,单位为Å),反应势能面见图5(图中相对能量为吉布斯自由能,分子结构中除了关键位置上的H以外,其他的H已被略去).该路径中,物质6首先与2形成复合物2-6,此过程为吸热过程,吸收热量9.7 kJ·mol⁻¹,之后6的C负离子攻击2的亚甲基,与之形成共价键,导致环

氧烷开环,经过过渡态TS₂₋₈,得到中间体8.此反应的反应活化能约为92.0 kJ·mol⁻¹,是吸热反应,需要吸收4.8 kJ·mol⁻¹的热量.物质8含有O负离子,非常活泼,可以直接攻击1的C,与之形成共价键,得到中间体9,生产中间体9的过程是热力学自发过程,释放约8.0 kJ·mol⁻¹的热量.中间体9吸收约23.0 kJ·mol⁻¹的能量异构化得到中间体10,中间体10经过过渡态TS₁₀₋₃发生成环反应,得到复合物3-6.成环反应的活化能约为123.0 kJ·mol⁻¹,反应是吸热过程,吸收热量约0.1 kJ·mol⁻¹.最后是复合物3-6的分离,得到游离的催化剂6和最终产物3,分离过程需要吸热41.0 kJ·mol⁻¹.路径一的总包反应是放热反应,反应放热约0.4 kJ·mol⁻¹,反应的决速步骤是中间体10的成环反应,决速步骤的活化能为123.0 kJ·mol⁻¹.尽管反应的能垒较高,但是如果反应是在较高温度下进行,如100℃左右,反应也是可以发生的.

2.3 第二阶段:戊二酮负离子催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯反应路径二

戊二酮负离子催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯反应路径二中中间体、过渡态的几何结构见图 6(几何结构优化是在 M06/6-31+G(d) 理论水平上完成的,图中的数值为键长,单位为 Å),反应势能面见图 7(图中相对能量为吉布斯自由能,分子结构中的 H 已被略去).与路径一

不同,物质 6 不是最终的催化剂,而是催化剂的前体.6 首先与 1 形成 1-6 复合物,6 的 C 负离子攻击 1 的 C,经过过渡态 TS₆₋₁₁,生成活性中间体 11,反应为吸热反应,需要吸热 15.0 kJ·mol⁻¹,而反应活化能约为 24.0 kJ·mol⁻¹. 中间体 11 在路径二中起催化剂的作用. 11 首先与 2 形成复合物 2-11,此过程吸热 8.3 kJ·mol⁻¹,之后,11 的羧基 O 负离子攻击 2 的亚甲基,导致 2 的

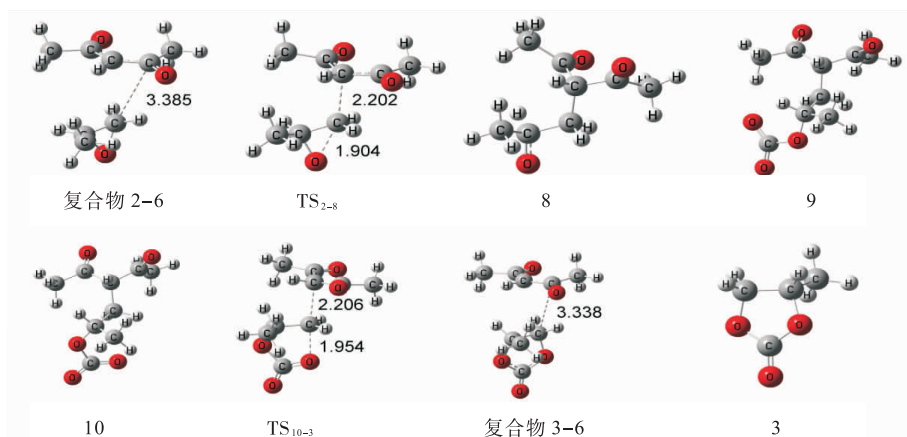


图 4 戊二酮负离子催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯反应路径一中中间体、过渡态的几何结构

Fig. 4 The geometric constructions for intermediate, transition state of the reaction path one for the synthesis of propylene carbonate from CO₂ catalyzed by the anion of 2,3-pentanedione

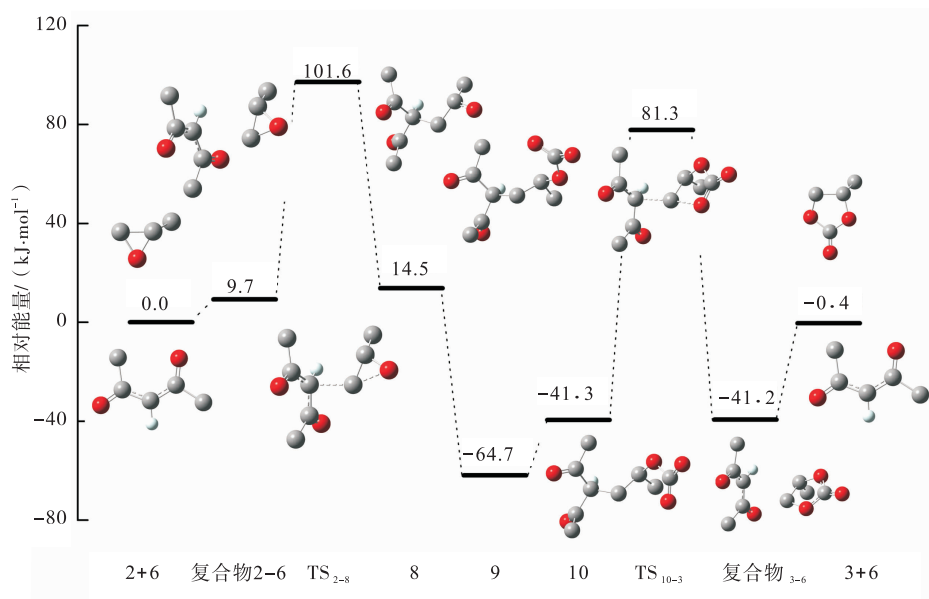


图 5 戊二酮负离子催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯路径一的反应势能面

Fig. 5 Potential energy surface profiles for the reaction path one of the synthesis of propylene carbonate from CO₂ catalyzed by the anion of 2,3-pentanedione

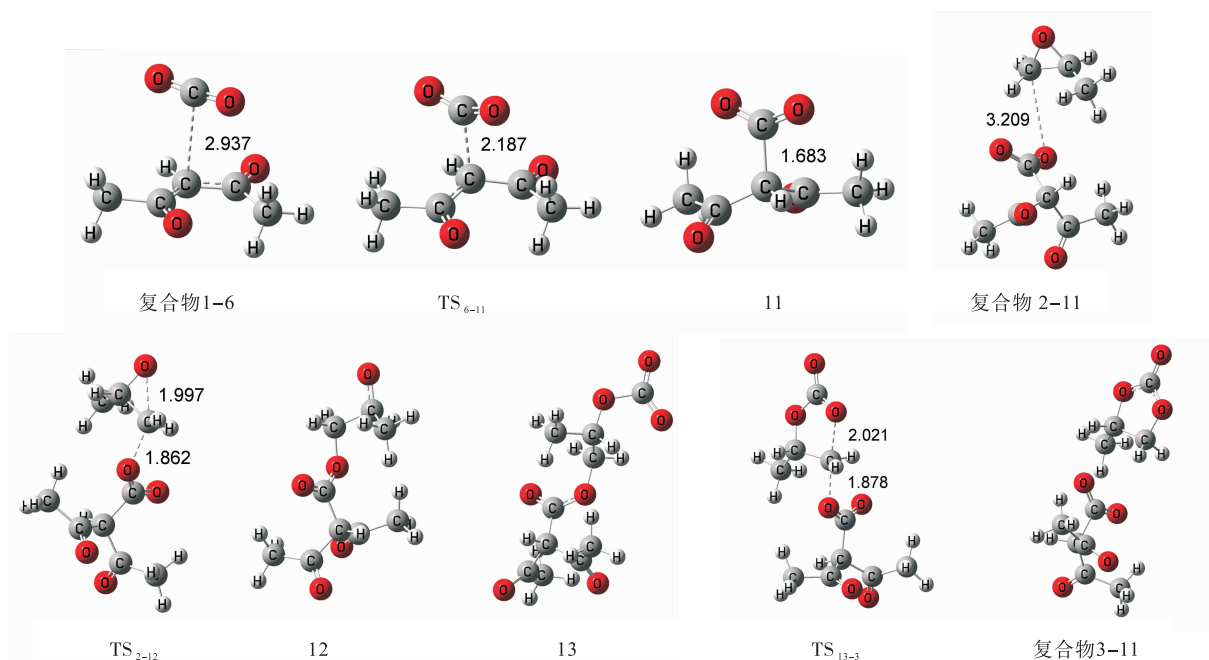


图 6 戊二酮负离子催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯反应路径二中中间体、过渡态的几何结构

Fig. 6 The geometric constructions for intermediate, transition state of the reaction path two for the synthesis of propylene carbonate from CO_2 catalyzed by the anion of 2,3-pentanedione

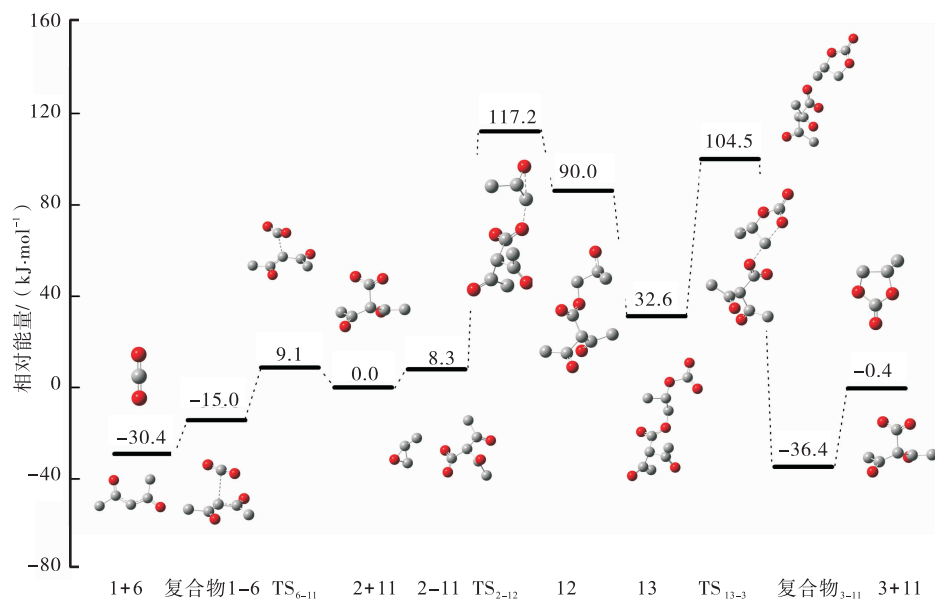


图 7 戊二酮负离子催化 CO_2 合成碳酸丙烯酯路径二的反应势能面

Fig. 7 Potential energy surface profiles for path two of the synthesis of propylene carbonate from CO_2 catalyzed by the anion of 2,3-pentanedione.

环氧环开环,经过渡态 TS₂₋₁₂生成中间体 12,反应活化能约为 110.0 kJ · mol⁻¹,生成 12 的反应需吸热约 81.7 kJ · mol⁻¹. 物质 12 与 8 的性质相似,其分子结构中的 O 负离子非常活泼,可以直接与 1 形成共价键,经过无能垒过程得到中间体 13,并释放出 57.4 kJ · mol⁻¹的能量. 中间体 13 很容易发生自身的关环反应,经过渡态 TS₁₃₋₃,得到中间体 11 和最终产物 3 的复合物 3-11,反应能垒约为 72.0 kJ · mol⁻¹,而关环反应释放出约 70.0 kJ · mol⁻¹的热量. 最后,复合物 3-11 吸收约 37.0 kJ · mol⁻¹的能量,解离为游离的最终产物 3 和催化剂 11. 路径二总包反应的决速步骤是生成中间体 12 的反应,即 2 在 11 攻击下的开环反应,决速步骤的活化能约为 108.0 kJ · mol⁻¹,较路径一决速步骤的活化能 123.0 kJ · mol⁻¹低了约 15.0 kJ · mol⁻¹,因此,路径二是动力学有利的过程,但是,路径二的催化剂 11 是路径一中催化剂 6 与 1 的加成产物,而生成 11 的反应是热力学不利的过程,需要吸热约 30.0 kJ · mol⁻¹. 根据化学平衡常数的计算,在反应体系中,[11]:[6]约为 0.002,但是考虑到路径一和路径二决速步骤的反应能垒都在 60.0 kJ · mol⁻¹以上,所以路径二仍是一种可能的反应路径.

3 结论

本文使用密度泛函理论方法,从理论上预测了脯氨酸离子液体能够催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯,并发现了两种可能的反应路径. 研究表明,脯氨酸负离子首先活化催化剂前体 2,4-戊二酮,使其失去亚甲基上的活泼氢,生成含有碳负离子的 2,4-戊二酮负离子. 进一步研究表明,2,4-戊二酮负离子催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯有两种可能的路径:路径一是 2,4-戊二酮直接催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯;路径二是 2,4-戊二酮负离子首先与 CO₂ 发生亲核加成,生成羧基化的 2,4-戊二酮负离子,之

后再催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯. 在第二条路径中,羧基化的 2,4-戊二酮负离子表现出更高的催化活性,但是羧基化过程是热力学不利的过程. 该研究为实验上使用脯氨酸离子液体催化 CO₂ 合成碳酸丙烯酯提供了重要线索.

参考文献:

- [1] 张锁江,刘晓敏,姚晓倩,等. 离子液体的前沿、进展及应用[J]. 中国科学:B辑,2009,39(10):1134.
- [2] 孙剑,王金泉,王蕾,等. 基于离子液体的绿色催化过程[J]. 中国科学:化学,2014,44(1):100.
- [3] 魏伟,孙予罕,闻霞,等. 二氧化碳资源化利用的机遇与挑战[J]. 化工进展,2011,30(1):216.
- [4] 靳治良,钱玲,吕功煊. 二氧化碳化学——现状及展望[J]. 化学进展,2010,22(6):1102.
- [5] ZHANG Z Q, XU L C, FENG W K. Intermolecular proton transfer in cyclic carbonate synthesis from epoxide and carbon dioxide catalyzed by azaphosphatranes; a DFT mechanistic study [J]. RSC advances, 2015, 5(16):12382.
- [6] 陈梁锋,肖含,何文军. 二氧化碳与环氧烷反应制备环状碳酸酯催化剂研究进展[J]. 化学反应工程与工艺,2012,28(6):564.
- [7] 张媛媛,罗胜联,尹双凤. 离子液体催化 CO₂ 与环氧化物合成环状碳酸酯[J]. 化学进展,2012,24(5):674.
- [8] JANG D Y, JANG H G, KIM G R. Synthesis of chiral propylene carbonate via asymmetric ring opening of racemic propylene oxide by carbon dioxide on immobilized cobalt salen catalyst[J]. Catal today, 2012, 185(1):306.
- [9] BARTOK M. Advances in immobilized organocatalysts for heterogeneous asymmetric direct aldol reactions[J]. Catalysis reviews: science & engineering, 2015, 57(2):192.
- [10] SONG H B, YU Y H, CHEN X W, et al. 2-Pyrrolidinecarboxylic acid ionic liquid catalyzed Knoevenagel condensation [J]. Chinese journal of catalysis, 2012, 33(4):666.
- [11] GRIMME S, ANTONY J, EHRlich S, et al. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu[J]. J Chem Phys, 2010, 132(15):154104.



引用格式:梁崇佳,郭川磐,冯孝中,等.基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器用于 Cu^{2+} 痕量检测的研究[J].轻工学报,2016,31(1):96-104.

中图分类号:TB332 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.015

文章编号:2096-1553(2016)01-0096-09

基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器用于 Cu^{2+} 痕量检测的研究

Research on Cu^{2+} trace detection of electrochemical biosensor based on composites of gold nanoparticles/reduced graphene oxide

梁崇佳^{1,3},郭川磐¹,冯孝中¹,王明花^{1,2},张治红^{1,2}

LIANG Chong-jia^{1,3},GUO Chuan-pan¹,FENG Xiao-zhong¹,

WANG Ming-hua^{1,2},ZHANG Zhi-hong^{1,2}

1. 郑州轻工业学院 材料与化学工程学院,河南 郑州 450001;

2. 郑州轻工业学院 环境污染治理与生态修复河南省协同创新中心,河南 郑州 450001;

3. 河南省体育运动学校,河南 郑州 450045

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

2. He'nan Collaborative Innovation Center of Environmental Pollution Control and Ecological Restoration, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

3. He'nan Sports School, Zhengzhou 450045, China

关键词:

AuNPs/rGO 复合材料;电化学生物传感器; Cu^{2+} 痕量检测

Key words:

composites of AuNPs/rGO; electrochemical biosensor; Cu^{2+} trace detection

摘要:采用液相化学共还原法制备 AuNPs/rGO 复合材料,再利用 XRD 和 SEM 对其晶型和表面形貌进行考察,通过 XPS 对其固定 DNA 前后的化学组成进行分析,采用电化学交流阻抗法对其用于 Cu^{2+} 痕量检测过程中电化学性能变化进行测试.结果表明,所制备的 AuNPs/rGO 复合材料结晶性良好,与氧化石墨烯(GO)的表面形貌相比,AuNPs/rGO 复合材料表面呈现出褶皱现象,并且表面包裹了许多金纳米颗粒.XPS 分析表明 DNA 可成功地固定在 AuNPs/rGO 复合材料表面.基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器对 Cu^{2+} 的最低检测限为 0.02 nmol/L,比其他检测手段更加灵敏,且具有优良的选择性和重复性.

收稿日期:2015-11-20

基金项目:国家自然科学基金项目(51173172);河南省科技开放合作项目(132106000076);河南省高等学校重点科研项目(15A610024)

作者简介:梁崇佳(1986—),女,山西省平遥县人,郑州轻工业学院硕士研究生,河南省体育运动学校助教,主要研究方向为功能高分子材料.

通信作者:张治红(1975—),女,河南省周口市人,郑州轻工业学院副教授,博士,主要研究方向为功能高分子材料和生物传感器.

Abstract: The composites of gold nanoparticles/reduced graphene oxide (AuNPs/rGO) was synthesized by liquid phase one-step co-reduction method. The crystal structure and the surface morphology were characterized by XRD and SEM. XPS was employed to characterize the chemical components before and after DNA absorbed on AuNPs/rGO composites. Additionally, electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was used to measure the electrochemical property changes of Cu^{2+} detection. The results showed that the AuNPs/rGO composites had good crystal structure. Comparing with graphene oxide, there were wrinkles and gold nanoparticles on the AuNPs/rGO composites surface. The XPS spectra showed that DNA was immobilized on the AuNPs/rGO composites surface successfully. And the developed electrochemical biosensor exhibited high sensitivity toward the determination Cu^{2+} with a low detection limit of 0.02 nmol/L. This biosensor also showed high selectivity and reusability.

0 引言

铜离子(Cu^{2+})作为一种氧化还原活性营养物质,对生物反应的电子传递过程十分重要^[1].然而,浓度过高的 Cu^{2+} 会对人体造成伤害,长时间积存在体内会对肝脏和肾脏造成损害^[2].目前, Cu^{2+} 检测的主要方法有原子吸收/发射光谱、电感耦合等离子毛细管电泳等^[3-5].此类检测方法用到的仪器价格昂贵,操作复杂,限制了它们的应用.因此,研发一种灵敏、快速、便携、选择性好的 Cu^{2+} 检测传感器非常重要.近年来,DNA生物传感器用于重金属离子检测的研究引起了人们的广泛关注^[6].

石墨烯具有良好的理化性能,如超速电子流动性、高比表面积和热力学稳定性等,这些优异性能使得石墨烯在场效应晶体管、气敏传感器、超级电容器和生物传感器等领域被广泛地应用^[7-12].石墨烯具有大面积芳香型的2D结构,使其成为固定吸收生物分子的理想基体. DNA在石墨烯表面的固定可以有多种形式,使用共价键或非共价键的化学结合、利用石墨烯表面的缺陷等,都可以固定有标记或无标记的DNA.除此之外,石墨烯作为生物传感器敏感膜在重金属离子检测方面也得到了广泛的关注.例如,Y. Q. WEN等^[13]采用石墨烯作为敏感膜,制备出检测 Ag^+ 的DNA生物传感器,其表

现出较高的检测灵敏度和选择性. S. WANG等^[14]采用电化学沉积法制备石墨烯/金纳米复合材料,并采用阳极溶出伏安法痕量检测 Cu^{2+} ,其最低检测限可达0.028 nmol/L. J. M. GONG等^[15]制备了一种基于石墨烯/金纳米复合材料的 Hg^{2+} 检测传感器,对 Hg^{2+} 的检测限达到了 6×10^{-12} .

另一方面,金纳米是一种优异的纳米材料,生物相容性较好,且金纳米粒子与蛋白和核酸等生物大分子尺寸相近,这为它们之间进行基于生物识别的自组装奠定了基础.近年来,金纳米广泛应用于生物传感器的研究,经常被用于重金属离子的检测.例如,Y. KIM等^[16]利用11-巯基十一酸改性的金纳米检测重金属离子,其中 Pb^{2+} 的最低检测限可达25 $\mu\text{mol/L}$. Z. WANG等^[17]利用DNA改性金纳米检测 Pb^{2+} ,最低检测限为3 nmol/L. B. C. YE等^[18]用金纳米/胸腺嘧啶复合材料检测 Hg^{2+} ,其最低检测限可达 0.2×10^{-9} .为了提高金纳米的功能性,经常将金纳米与其他纳米材料的复合材料进行复合.例如,B. Kim等^[19]将碳纳米管与金纳米复合,并对其结构进行了表征. R. J. TSENG等^[20]将聚苯胺纳米纤维与金纳米复合用于新型的数字记忆器件. W. J. HONG等^[21]将金纳米与石墨烯复合用于检测尿酸的生物传感器材料.然而,关于金纳米/石墨烯复合材料

(AuNPs/rGO)作为DNA生物传感器材料,并用于检测 Cu^{2+} 的研究却鲜有报道.本文拟采用液相化学共还原法来制备AuNPs/rGO复合材料,利用其优良的电化学性能和AuNPs的信号扩大作用,作为电化学生物传感器敏感膜材料,用于去离子水中 Cu^{2+} 的痕量检测.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂:石墨(分析纯),天津市风船化学试剂科技有限公司产;氯金酸(分析纯),上海三爱思试剂有限公司产;柠檬酸钠(分析纯),天津市恒兴化学试剂制造有限公司产;高锰酸钾、乙二胺四乙酸(EDTA),均为分析纯,天津市化学试剂三厂产;DNA(生化试剂),北京赛百盛基因技术有限公司产,其序列如下:

Cu^{2+} -DNA: 5'-SH-TTCTAATACGATTTAGA-ATAAATCTGGGCCTCTTTTTAAGAAC-3'

主要仪器:KQ-100E型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司产;H2050R型高速调温台式离心机,湖南湘仪有限公司产;InVia型拉曼光谱仪,Renishaw公司产;D8 Advance型X-射线衍射仪,德国Bruker产;AXISULTRA型X-射线光电子能谱仪(XPS),英国Kratos公司产;JSM-6490LV型扫描电子显微镜,日本电子公司产;CHI600D型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产.

1.2 实验

1.2.1 氧化石墨烯(GO)的制备 采用氧化还原的方法制备GO:称取天然石墨1g,亚硝酸钠(NaNO_2)0.5g,量取30mL 98%(质量分数)浓硫酸加入250mL三颈瓶中,冰浴搅拌.称取3g高锰酸钾,缓慢加入上述混合液中,搅拌,在35℃下加热30min;加入50mL去离子水搅拌15min,再加入40mL 60℃的水,8mL H_2O_2 搅拌2h后静置,取上清液,离心水洗得

到GO,干燥、研磨,备用.

1.2.2 AuNPs/rGO 复合材料的制备 取4mL GO水分散液(1mg/mL),加入25mL氯金酸溶液(0.2mg/mL)中,置于磁力搅拌器搅拌1h后,逐滴加入940 μL 的柠檬酸钠(0.2mol/L);然后将混合液在80℃的水浴中加热2h;离心分离(转速10000r/min),用乙醇和去离子水清洗3~5次并分散在去离子水中,室温下真空干燥,即得到AuNPs/rGO产品.

1.2.3 溶液的配制 将1.44g Na_2HPO_4 , 0.24g KH_2PO_4 , 8g NaCl和0.2g KCl溶于800mL去离子水中,用HCl调节溶液的pH值至7.4,然后加去离子水定容至1000mL,配制出0.01mol/L的磷酸盐缓冲溶液(PBS).再分别称取1.65g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和2.11g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$,然后溶解于1000mL PBS缓冲液中,配制成5mmol/L的铁氰化钾电解液.

1.2.4 AuNPs/rGO 复合材料在金电极上的固定及 Cu^{2+} 检测 将AuNPs/rGO复合材料滴涂到抛光的金电极表面,自然风干,然后测其电化学性能.配制不同浓度的 Cu^{2+} -DNA溶液(0.01nmol/L,0.1nmol/L,1nmol/L,10nmol/L,100nmol/L和200nmol/L),将固定有复合材料的金电极放入 Cu^{2+} -DNA溶液中12h,使复合材料与 Cu^{2+} -DNA结合,然后在30 $\mu\text{mol/L}$ 抗坏血酸溶液中,从低浓度向高浓度依次检测.

1.3 性能表征与测试

采用拉曼光谱仪对GO进行分析,扫描范围200~3000 cm^{-1} ;利用XRD对AuNPs/rGO复合材料的晶型进行测试,Cu靶 $\text{K}\alpha$ 射线;选用XPS对AuNPs/rGO复合材料的化学组成和元素种类进行分析;通过SEM对AuNPs/rGO复合材料的表面形貌进行考察;采用CHI600D型电化学工作站对DNA固定和 Cu^{2+} 检测过程进行电化学测试:电化学交流阻抗(EIS)和循

环伏安 (CV) 测试均采用三电极体系, Ag/AgCl 电极为参比电极, Pt 片为辅助电极, 金电极作为工作电极, $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (含有 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$) 的溶液为电解液; EIS 测试范围为 $1 \text{ mHz} \sim 1 \text{ MHz}$, EIS 图谱采用 Zview 2 软件进行模拟; CV 测试速率为 100 mV/s .

2 结果与讨论

2.1 GO 的拉曼光谱分析

拉曼光谱可以识别碳原子中 (在石墨、金刚石型碳、金刚石、多芳烃化合物、富勒烯或碳纳米管中) 的 sp^2 杂化和 sp^3 杂化. 碳的同素异形体在拉曼光谱下电子能带的变化有各自独特的特征, 通常 D, G 和 2D 峰的位置分别在 1350 cm^{-1} , 1580 cm^{-1} 和 2700 cm^{-1} 附近. 从这些特征峰可以确定石墨烯的层数、应变效应、掺杂量、温度效应和缺陷. 在 1580 cm^{-1} 附近的 G 峰是因为 sp^2 轨道碳原子的面内振动产生的, D 峰的出现主要是由于石墨烯原子排列紊乱或存在边缘效应、褶皱和电荷漩涡. 图 1 是 GO 的拉曼光谱图. 由图 1 可知, GO 在 1590 cm^{-1} (G 峰) 和 1349 cm^{-1} (D 峰) 处有明显的吸收峰, I_D/I_G 强度比值为 0.935, 这说明石墨被氧化后, 结构中部分 sp^2 杂化的碳原子转化成 sp^3 杂化结构.

2.2 AuNPs/rGO 复合材料的晶型分析

GO 和 AuNPs/rGO 复合材料的 XRD 图见图 2. 在 $2\theta = 11^\circ$ 处的强衍射峰是 GO (001) 面衍射峰. 经过化学剥离后生成的 GO 的面衍射峰变宽, 强度减弱, 说明 GO 的层间距变大, 石墨原有的结构被破坏. 为了证明所得复合材料中负载的颗粒为金纳米颗粒, 对 AuNPs/rGO 复合材料进行了 XRD 测试. 由图 2 中曲线 ii) 可以看出, 5 个明显的特征衍射峰分别对应于金的 (111), (200), (220), (311), (222) 晶面, 表

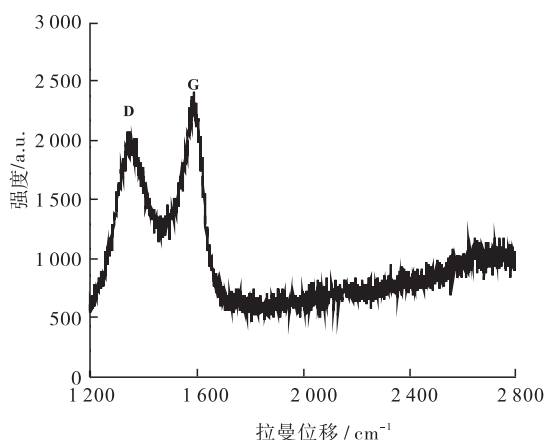


图 1 GO 的拉曼光谱图

Fig. 1 The Raman spectrum of GO

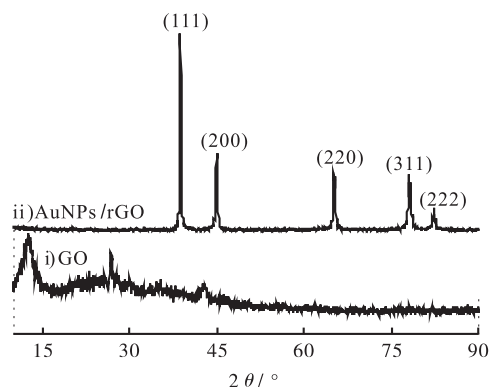


图 2 GO 和 AuNPs/rGO 复合材料的 XRD 图

Fig. 2 The XRD spectrum of GO and AuNPs/GO composites

明所制得的复合材料中含有金纳米颗粒, 且谱图中没有其他物质的特征峰存在, 这说明所制 AuNPs/rGO 复合材料中的金纳米含量较高, 峰形尖锐, 结晶情况良好.

2.3 GO 和 AuNPs/rGO 的表面形貌分析

GO 和 AuNPs/rGO 复合材料的 SEM 图见图 3. 由图 3a) 可以看出, GO 呈现出二维的片层结构, 且在片层上有许多褶皱. 由图 3 b) 可以看出, 与 GO 的表面形貌相比, AuNPs/rGO 复合材料中的石墨烯表面呈现出褶皱现象, 并且表面包裹了许多金纳米颗粒, 纳米粒子大小均一, 粒径约为 $(30 \pm 5) \text{ nm}$.

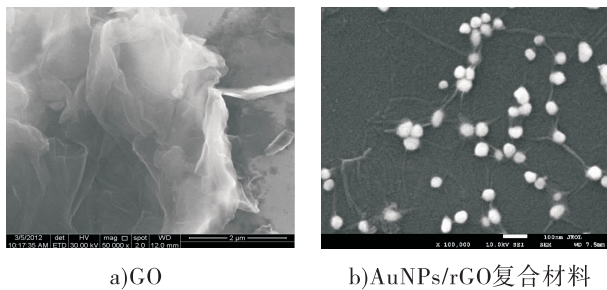


图3 GO和AuNPs/rGO复合材料的SEM图

Fig. 3 The SEM images of GO and AuNPs/rGO composites

2.4 AuNPs/rGO复合材料固定DNA前后化学组成分析

图4为AuNPs/rGO复合材料的C 1s和Au 4f的XPS谱图。由图4a)可以看出,C 1s峰出现在284.6 eV处,对应于C 1s的C—C基团,这是由于GO被还原后,其含氧基团的量会明显减小。由图4b)可以看出,AuNPs/rGO复合材料的Au 4f的XPS图谱出现两个峰,分别为84.0 eV处的 $4f_{7/2}$ 和87.6 eV处的 $4f_{5/2}$ 。由图4 XPS数据可知,样品中含有碳元素和金元素,为石墨烯和金纳米二者的复合。

图5为固定有DNA的AuNPs/rGO复合材料的XPS谱图。与图4a)相比,图5a)中的C 1s可以分为5个峰,在284.6 eV处为C—C基团,285.7 eV处为C—N基团,286.2 eV处为C—O基团,287.7 eV处为C=O基团,288.8 eV处为—N—C=O基团。DNA固定在复合材料上后,出现了明显的N元素和P元素的信号。由图5b)可知,N 1s可以分为3个峰,即399.14 eV处为—NH基团,400.14 eV处为N—C=O基团和401.2 eV处的—N⁺—基团。同时,P元素的存在(见图5c))证明了DNA成功地固定在复合材料表面。

2.5 DNA在AuNPs/rGO复合材料上的固定及Cu²⁺检测的电化学分析

图6为基于AuNPs/rGO复合材料的电化

学生物传感器对Cu²⁺检测过程中的CV图和EIS图。其中,a表示裸金电极,b表示Au-AuNPs/rGO电极,c表示Au-AuNPs/rGO-DNA电极,d为检测Cu²⁺后的曲线,所测试的Cu²⁺浓度为50 nmol/L;图b)中的插图是裸金电极的放大图。由图6a)可以看出,金电极的CV曲线上有明显的氧化峰,曲线包围面积最大,说明金电极有很强的电化学活性;采用AuNPs/rGO复合材料对裸金电极进行改性后,其CV曲线所包围的面积减小,这说明AuNPs/rGO复合材料降低了金电极的电化学活性;而当DNA固定在AuNPs/rGO复合材料上后,CV曲线的面积进一步减小,且对Cu²⁺进行检测后,CV曲线所包围的面积继续减少,这说明DNA分子和其与Cu²⁺的络合物均充当了阻挡层,阻碍了电荷的自由流动,使得电极的电化学活性变差。

为了进一步探明DNA在AuNPs/rGO复合材料上的固定及检测Cu²⁺的电化学过程,笔者又采用EIS法对生物传感器形成过程中的界面电荷转移电阻的变化进行了分析,并采用Zview软件拟合数据,结果如图6b)所示。图6b)中的圆弧反映了电荷转移的过程,圆弧后的曲线反映了离子扩散的过程,圆弧半径大小表示界面电荷转移电阻 R_{ct} ,其大小代表电荷传递的难易程度。由图6b)可以看出,裸金电极的电性能活性较强,模拟出 $R_{ct} = 0.095 \text{ k}\Omega$ 。而当AuNPs/rGO复合材料在裸金电极进行改性后, R_{ct} 值增加至 $0.93 \text{ k}\Omega$;接着,探针DNA在AuNPs/rGO复合材料的表面上固定后, R_{ct} 值继续增大到 $1.42 \text{ k}\Omega$;在抗坏血酸存在下,采用上述生物传感器对Cu²⁺(浓度50 nmol/L)检测后,电极的 R_{ct} 值又明显增大至 $4.4 \text{ k}\Omega$ 。这一过程说明Cu²⁺与DNA所形成的络合物在AuNPs/rGO复合材料表面充当了绝缘层,阻碍了电荷在电解质溶液和电极表面之间的转移,所以增大了其 R_{ct} 值^[22]。

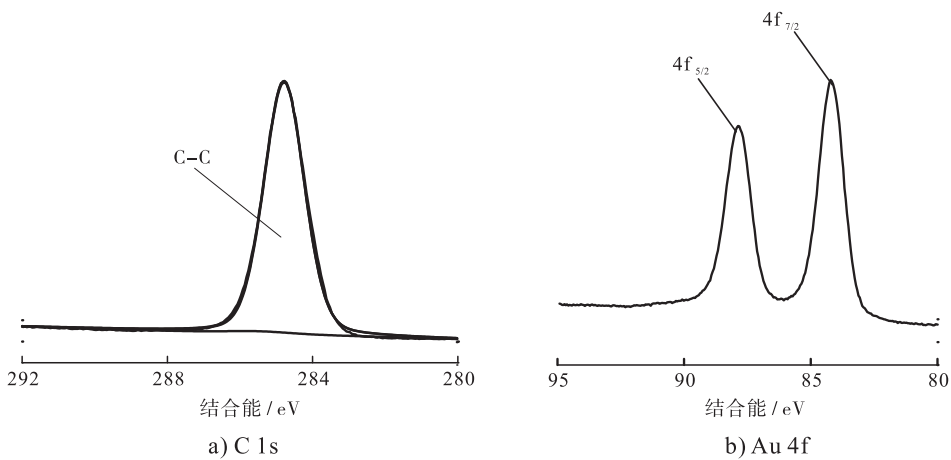


图 4 AuNPs/rGO 复合材料的 C 1s 和 Au 4f 的 XPS 谱图

Fig. 4 The XPS spectrum core level of C 1s and Au 4f on the surface of AuNPs/rGO composites

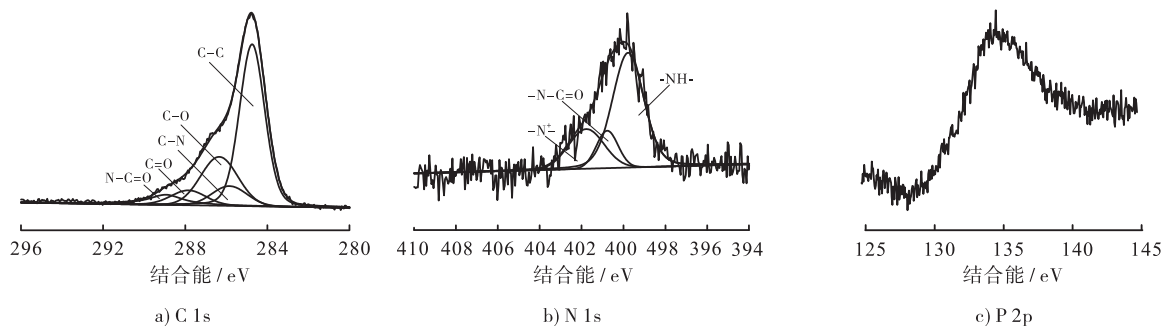


图 5 固定有 DNA 的 AuNPs/rGO 复合材料的 C 1s, N 1s 和 P 2p XPS 谱图

Fig. 5 The XPS spectrum core level of C 1s, N 1s and P 2p after DNA immobilized on the surface of AuNPs/rGO composites

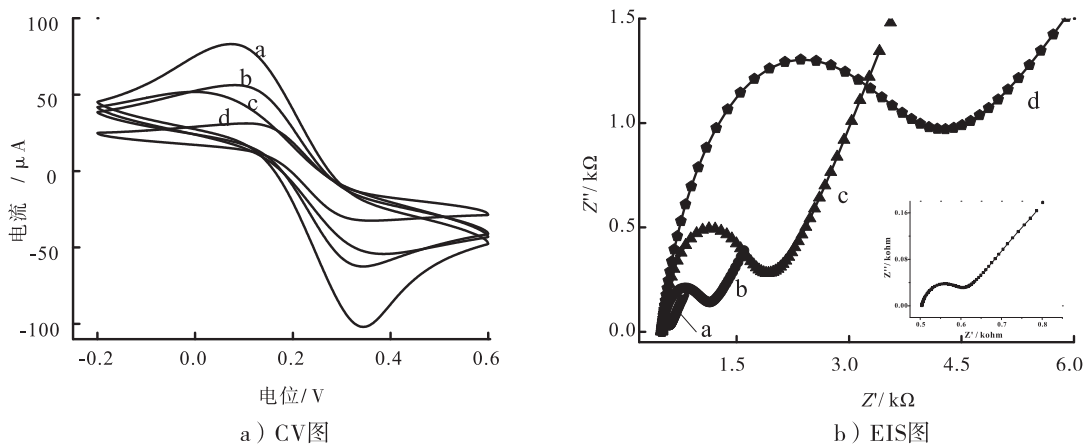


图 6 基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器对 Cu²⁺ 检测过程中的 CV 图和 EIS 图

Fig. 6 The CV and EIS graph of the process based on AuNPs/rGO composites

2.6 基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器的敏感性能测试

采用制备的电化学生物传感器对不同浓度的 Cu^{2+} 进行检测,可确定其灵敏度和最低检测限.图 7 a)为 DNA 在 AuNPs/rGO 复合材料上固定后检测 Cu^{2+} 不同浓度梯度的 EIS 图.由图 7a)可知,随着组装 Cu^{2+} 浓度的增大,EIS 图中的圆弧半径不断增大,所对应的 R_{ct} 值也不断增大.图 7 b) 为 ΔR_{ct} 值与 Cu^{2+} 浓度对数的线性关系图,即以 ΔR_{ct} 为纵坐标对 Cu^{2+} 浓度对数作图,可得线性关系 $Y = 1\ 993.8 + 1\ 141 \log X$ (其中 X 为 Cu^{2+} 浓度, Y 为 ΔR_{ct} , R 为 0.97),从而得到最低检测限为 0.02 nmol/L.表 1 为各种测试手段所测得的 Cu^{2+} 最低检测限.从表 1 可看出,与这些手段相比,本文所制备的基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器对 Cu^{2+} 的检测更加灵敏.

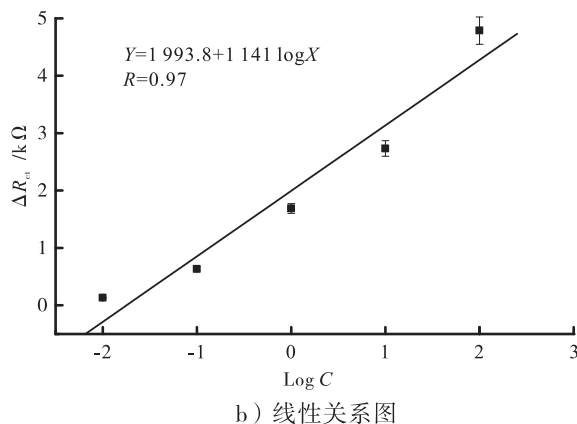
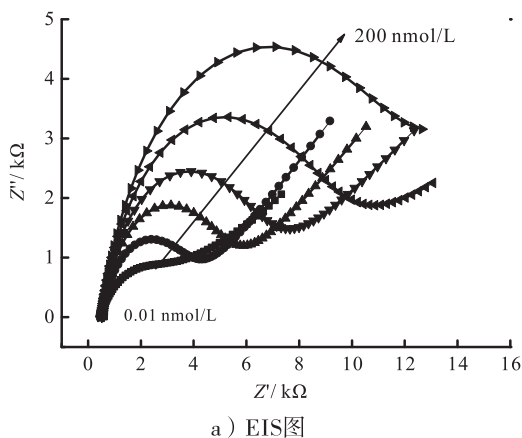


图 7 DNA 在 AuNPs/rGO 复合材料上固定后检测 Cu^{2+} 浓度梯度的 EIS 图和 ΔR_{ct} 值与 Cu^{2+} 离子浓度对数的线性关系图

Fig. 7 The EIS image for the detection of Cu^{2+} based on DNA immobilized on AuNPs/rGO composites and linear relationship between ΔR_{ct} and the logarithm of Cu^{2+} concentration

表 1 各种检测手段对 Cu^{2+} 最低检测限对比表

Table 1 The contrast table of all kinds of detection methods for the minimum detection limit of Cu^{2+}

敏感膜材料	检测技术	线性范围/(nmol · L ⁻¹)	最低检测限/(nmol · L ⁻¹)	参考文献
SiO_2 纳米颗粒	荧光光谱	100 ~ 800	10	[23]
Ag 纳米簇	荧光光谱	10 ~ 200	8	[24]
Au/Ag 核/壳纳米晶	紫外可见光谱	0 ~ 200	5	[25]
GO	荧光光谱	100 ~ 101 000	58	[26]

2.7 基于 AuNPs/rGO 复合材料的电化学生物传感器对 Cu^{2+} 的选择性和重复性测试

图 8 a)为 DNA 在 AuNPs/rGO 复合材料上固定后的电化学生物传感器对干扰离子(如 Co^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} 和 Mg^{2+})和 Cu^{2+} 检测的 R_{ct} 变化对比图.其中,干扰离子的浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$,所用 Cu^{2+} 浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$.由图 8a)可知,用该电化学生物传感器对 Cu^{2+} 进行检测后,其 R_{ct} 值的变化远远超出检测其他干扰离子时的变化,这说明该电化学生物传感器对 Cu^{2+} 的选择性非常强.在对 Cu^{2+} 检测后,采用 EDTA 溶液对该电化学生物传感器进行再生处理,结果见图 8b).由图 8 b)可以看出,几乎所有的 Cu^{2+} 都从该电化学生物传感器上脱去,该电化学生物传感器在重复再生 10 次之后并没有出现 R_{ct} 值剧烈变化或敏感性降低的情况,说明其具有良好的重复性.

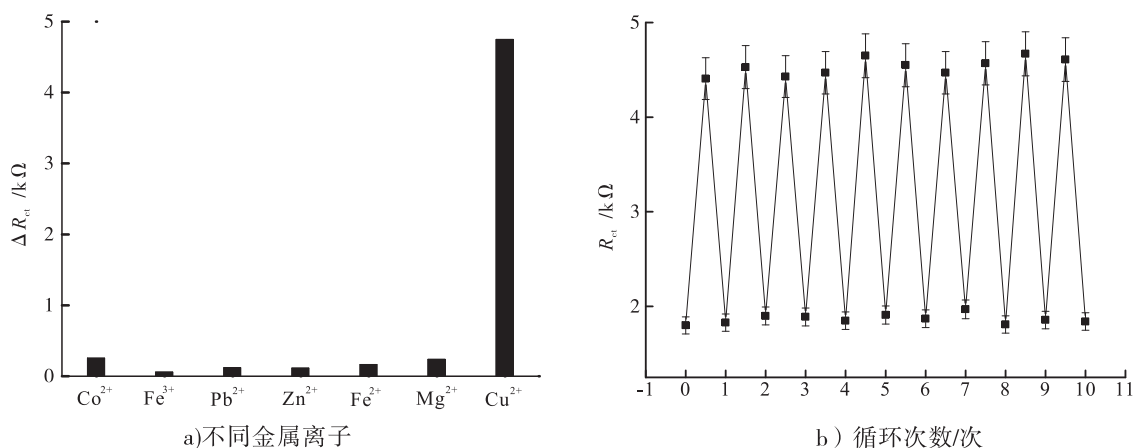


图8 DNA在AuNPs/rGO复合材料上固定后的电化学生物传感器对干扰离子和 Cu^{2+} 检测的 R_{ct} 变化对比图和采用EDTA溶液对进行再生前后的循环次数

Fig. 8 The R_{ct} change contrast figure of interference ions and Cu^{2+} detected by Au-AuNPs/rGO-DNA electrode and the cycle numbers of Au-AuNPs/rGO-DNA electrode before and after regenerated with EDTA solution

3 结论

本文采用液相化学共还原法制备了AuNPs/rGO复合材料,以该复合材料作为电化学生物传感器敏感膜材料,将单链DNA固定在AuNPs/rGO复合材料表面,从而实现了对 Cu^{2+} 的痕量检测.电化学测试结果表明,基于AuNPs/rGO复合材料的电化学生物传感器对 Cu^{2+} 的最低检测限低至0.02 nmol/L,比其他检测手段更加灵敏,且具有优良的选择性和重复性.这说明,所制备的AuNPs/rGO复合材料可用于电化学生物传感器敏感膜材料,且有望用于水样和环境样品中 Cu^{2+} 的检测.

参考文献:

- [1] LIU M, ZHANG Q, ZHAO H, et al. Controllable oxidative DNA cleavage-dependent regulation of graphene/DNA interaction[J]. Chemical communications, 2011, 47 (14): 4084.
- [2] WANG Y, LI Z, HU D, et al. Aptamer/graphene oxide nanocomplex for in situ molecular probing in living cells [J]. Journal of the american chemical society, 2010, 132 (27): 9274.
- [3] GONZALES A P S, FIRMINO M A, NOMURA C S, et al. Peat as a natural solid-phase for copper preconcentration and determination in a multicommuted flow system coupled to flame atomic absorption spectrometry[J]. Analytica chimica acta, 2009, 636(2): 198.
- [4] BECK N G, FRANKS R P, BRULAND K W. Analysis for Cd, Cu, Ni, Zn, and Mn in estuarine water by inductively coupled plasma mass spectrometry coupled with an automated flow injection system[J]. Analytica chimica acta, 2002, 455(1): 11.
- [5] TANYANYIWA J, HAUSER P C. High-voltage contactless conductivity detection of metal ions in capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis, 2002, 23(21): 3781.
- [6] WEI X P, YANG F, DING F, et al. An electrochemiluminescence biosensor for determination of Pb^{2+} based on G-quadruplex of aptamer probe[J]. Chinese journal of analytical chemistry, 2014, 42(7): 942.
- [7] GEIM A K, NOVOSELOV K S. The rise of graphene [J]. Nature materials, 2007, 6(3): 183.
- [8] XIA F N, FARMER D B, LIN Y M, et al. Graphene field-effect transistors with high on/off current ratio and large transport band gap at room temperature[J]. Nano letters, 2010, 10(2): 715.
- [9] KANIYOOR A, JAFRI R I, AROCKIADOSS T, et al.

- Nanostructured Pt decorated graphene and multi walled carbon nanotube based room temperature hydrogen gas sensor[J]. *Nanoscale*, 2009, 1(3):382.
- [10] LIU C G, YU Z N, NEFF D, et al. Graphene-based supercapacitor with an ultrahigh energy density[J]. *Nano letters*, 2010, 10(12):4863.
- [11] KUILA T, BOSE S, KHANRA P, et al. Recent advances in graphene-based biosensors. *Biosens bioelectron* [J]. *Biosensors and bioelectronics*, 2011, 26(12):4637.
- [12] HUANG Y, DONG X, SHI Y, et al. Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene [J]. *Nanoscale*, 2010, 2(8):1485.
- [13] WEN Y Q, XING F F, HE S J, et al. A graphene-based fluorescent nanoprobe for silver (I) ions detection by using graphene oxide and a silver-specific oligonucleotide [J]. *Chem Commun*, 2010, 46(15):2596.
- [14] WANG S, WANG Y, ZHOU L H, et al. Fabrication of an effective electrochemical platform based on graphene and AuNPs for high sensitive detection of trace Cu^{2+} [J]. *Electrochimica acta*, 2014, 132:7.
- [15] GONG J M, ZHOU T, SONG D D, et al. Monodispersed Au nanoparticles decorated graphene as an enhanced sensing platform for ultrasensitive stripping voltammetric detection of mercury (II) [J]. *Sensors and actuators B: Chemical*, 2010, 150(2):491.
- [16] KIM Y, JOHNSON R C, HUPP J T. Gold nanoparticle-based sensing of "spectroscopically silent" heavy metal ions[J]. *Nano letters*, 2001, 1(4):165.
- [17] WANG Z, LEE J H, LU Y. Label-Free colorimetric detection of lead ions with a nanomolar detection limit and tunable dynamic range by using gold nanoparticles and DNAzyme[J]. *Advanced materials*, 2008, 20(17):3263.
- [18] YE B C, YIN B C. Highly sensitive detection of mercury (II) ions by fluorescence polarization enhanced by gold nanoparticles [J]. *Angewandte chemie international edition*, 2008, 47(44):8386.
- [19] KIM B, SIGMUND W M. Functionalized multiwall carbon nanotube/gold nanoparticle composites [J]. *Langmuir*, 2004, 20(19):8239.
- [20] TSENG R J, HUANG J, OUYANG J, et al. Polyaniline nanofiber/gold nanoparticle nonvolatile memory[J]. *Nano letters*, 2005, 5(6):1077.
- [21] HONG W J, BAI H, XU Y X, et al. Preparation of gold nanoparticle/graphene composites with controlled weight contents and their application in biosensors[J]. *The journal of physical chemistry C*, 2010, 114(4):1822.
- [22] ZHU A W, LIU Y, RUI Q, et al. Selective and sensitive determination of hydroxyl radicals generated from living cells through an electrochemical impedance method[J]. *Chem Commun(Camb)*, 2011, 47(14):4279.
- [23] ZONG C H, AI K, ZHANG G, et al. Dual-emission fluorescent silica nanoparticle-based probe for ultrasensitive detection of Cu^{2+} [J]. *Analytical chemistry*, 2011, 83(8):3126.
- [24] LAN G Y, HUANG C C, CHANG H T. Silver nanoclusters as fluorescent probes for selective and sensitive detection of copper ions [J]. *Chemical communications*, 2010, 46(8):1257.
- [25] GUI R J, JIN H. Aqueous synthesis of human serum albumin-stabilized fluorescent Au/Ag core/shell nanocrystals for highly sensitive and selective sensing of copper (II) [J]. *The analyst*, 2013, 138(23):7197.
- [26] ZHOU L, SHEN Q P, ZHAO P, et al. Fluorescent detection of copper (II) based on DNA-templated click chemistry and graphene oxide [J]. *Methods*, 2013, 64(3):299.



引用格式:秦浩, 尤佳, 刘智敏, 等. 常温电化学氧气传感器寿命测试分析[J]. 轻工学报, 2016, 31(1): 105 - 108.

中图分类号: TP212.2 文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.016

文章编号: 2096-1553(2016)01-0105-04

常温电化学氧气传感器寿命测试分析

Test analysis of the life of room temperature electrochemical oxygen sensor

秦浩^{1,2}, 尤佳¹, 刘智敏¹, 徐振忠¹, 张巍¹, 祁欣¹, 周明军¹
QIN Hao^{1,2}, YOU Jia¹, LIU Zhi-min¹, XU Zhen-zhong¹, ZHANG Wei¹,
QI Xin¹, ZHOU Ming-jun¹

1. 中国电子科技集团公司 第四十九研究所, 黑龙江 哈尔滨 150001;

2. 哈尔滨工程大学 材料科学与化学工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150001

1. *The 49th Research Institute, China Electronic Technology Group, Harbin 150001, China;*

2. *College of Materials Science and Chemical Engineering, Harbin Engineering University, Harbin 150001, China*

关键词:

电化学氧气传感器;
传感器寿命; 加速寿命
试验

Key words:

electrochemical oxygen
sensor; sensor life; ac-
celerated life test

摘要:选取温度、低气压、振动三个应力因素, 通过恒定应力加速寿命试验分析不同应力因素对常温电化学氧气传感器寿命的影响. 结果表明: 温度对传感器寿命影响较大, 当温度由 40 ℃ 上升为 50 ℃ 时, 传感器寿命便由 6 个月缩短为 3 个月; 低气压对传感器寿命的影响较温度应力弱, 当绝对压力由 50 kPa 降至 10 kPa, 传感器寿命缩短 1/3; 振动应力对传感器寿命影响极小. 因此, 研制开发耐高温及耐低气压的低挥发高稳定新型电解液材料将成为常温电化学氧气传感器发展的重要方向.

收稿日期: 2015-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(51402065)

作者简介: 秦浩(1983—), 男, 江苏省徐州市人, 中国电子科技集团公司高级工程师, 哈尔滨工程大学博士研究生, 主要研究方向为化学量传感器技术.

Abstract: The influence of different stress factors such as temperature, vacuum and vibration on room temperature electrochemical sensor life was analyzed by constant stress accelerated test. The results showed that the temperature was the maximum stress, and when the temperature raised from 40 °C to 50 °C, the life of sensors shortened from 6 months to 3 months. Influence of low environment pressure on the life reliability of the sensor was weaker than the temperature stress. And when the absolute pressure decreased from 50 kPa to 10 kPa, life expectancy was shortened by 1/3. The results also showed that vibration stress had little effect on the reliability of sensor life. Research and development of new type of low volatile and high stability electrolyte material which could resist high temperature and low environment pressure was the main direction of the development of room - temperature electrochemical oxygen sensor.

0 引言

随着常温电化学氧气传感器应用越来越广泛,人们对常温电化学氧气传感器越来越重视.常温电化学氧气传感器在非正常环境条件下使用中暴露出了诸多问题,其中,以其寿命问题最为严重,对其开展寿命研究于是成为常温电化学氧气传感器应用研究的重点^[1-2].本文拟基于常温电化学氧气传感器原理,选取环境应力,通过恒定应力加速寿命试验进行考核,以期对传感器使用环境条件提出科学依据.

1 传感器加速寿命试验

1.1 应力因素分析

常温电化学氧气传感器利用电解液与氧气之间的电化学反应来实现对氧气的检测,其结构示意图如图 1 所示.根据传感器结构及工作原理,对传感器故障(失效)进行分析,绘制传感器故障树如图 2 所示.根据传感器工作原理,以及传感器在实际应用过程中出现的寿命问题,提炼出影响传感器寿命的应力因素,主要包括温度、低气压和振动^[3-4].

1.2 实验剖面设计

按照实验应力的升高应以不改变产品在正常工作条件下的失效机理为准则^[5],根据应力分析结果,选择温度、低气压、振动作为分析应力,进行恒定应力加速寿命试验.每组 6 个样本,温度选取 40 °C 和 50 °C,低气压选取绝对压

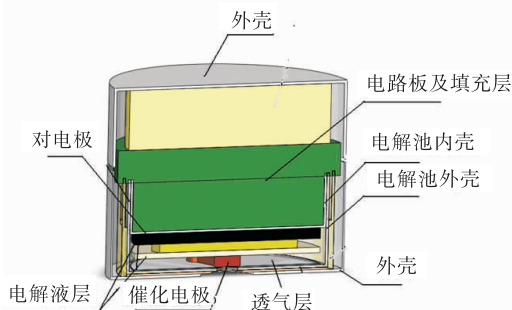


图 1 常温电化学氧气传感器结构示意图

Fig. 1 Structure of room temperature electrochemical oxygen sensor

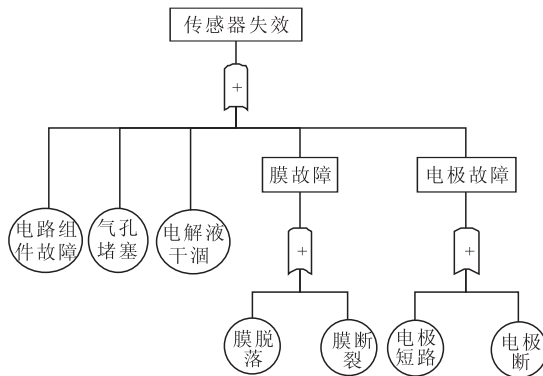


图 2 传感器故障树

Fig. 2 Fault tree of sensor

力 50 kPa 和 10 kPa, 振动条件选取 2 倍量值进行实验, 采用完全寿命试验法, 传感器失效则记录为传感器寿命.

1.3 失效判据

根据常温电化学氧气传感器工作特性, 采用最小二乘法计算传感器工作直线方程, 并计算传感器的非线性指标, 非线性指标 $\geq 2\%$ FS

(FS 为满量程输出)或响应时间 $\tau_{90} \geq 60$ s 时 (τ_{90} 为传感器输出由零点上升至 FS 值 90% 的时间),判定传感器失效. 另外,在实验过程中,传感器若出现破裂、裂纹和机械损伤也判定为传感器失效^[6].

2 结果与分析

2.1 温度实验结果

按照 1.2 的实验剖面进行常温电化学氧气传感器温度环境下寿命试验. 每实验 1 个月对传感器进行 1 次非线性指标及响应时间测试, 40 °C 条件下的实验结果见表 1.

根据传感器原理可知,温度条件对传感器电解液影响最大. 在 40 °C 条件下,电解液挥发,当电解液量降低到一定程度时,传感器非线性指标及响应时间不能满足要求. 由表 1 可知:实验进行 6 个月后,5[#]传感器响应时间不能满足要求;实验进行 7 个月后,6 只样品中仅 3[#]样品非线性指标和响应时间都能够满足要求,而其他样品响应时间均超出范围,判定传感器失效. 根据数据统计及处理原则,可以认定在 40 °C 条件下,传感器寿命为 6 个月.

在 50 °C 条件下,对传感器进行同样考核,经过对实验数据的分析判断,得出在 50 °C 条件下传感器寿命为 3 个月.

2.2 低气压实验结果

按照 1.2 的实验剖面进行常温电化学氧气

传感器低气压环境下寿命试验. 每实验 2 个月对传感器进行 1 次非线性指标及响应时间测试. 将传感器放入容积为 5 L 的真空容器中,抽气速度为 500 mL/min,利用真空表对容器压力进行监测,50 kPa 条件下的实验结果见表 2.

由表 2 可知:实验进行 12 个月后,1[#]传感器非线性指标不能满足要求;实验进行 14 个月后,6 只样品中仅 17[#]样品非线性指标和响应时间都能够满足要求,而其他样品响应时间均超出范围,判定传感器失效. 根据数据统计及处理原则,可以认定在 50 kPa 条件下,传感器寿命为 12 个月. 在 10 kPa 条件下,对传感器进行同样的考核,经过对实验数据的分析判断,得出该条件下传感器寿命为 8 个月.

2.3 随机振动实验结果

传感器随机振动实验条件见表 3,实验前后测试传感器非线性指标及响应时间,并在 50 倍显微镜下对传感器外观进行检查,共进行 10 次振动实验,结果见表 4.

由表 4 可知,传感器在经历 10 次随机振动实验后,传感器非线性指标、响应时间变化不大,仍可满足要求,且外观几乎没有变化,表明传感器没有失效. 虽然随机振动实验没有做到理想状态的全寿命周期测试,但也可以说明振动环境对传感器寿命的影响极小.

综合上述实验结果可知:温度是影响传感器寿命最大的应力因素,在 40 °C 条件下传感器

表 1 40 °C 条件下传感器寿命试验结果

Table 1 Test results with 40 °C of sensor life

样本 编号	0 个月		1 个月		2 个月		3 个月		4 个月		5 个月		6 个月		7 个月	
	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s	非线性指 标/%FS	τ_{90}/s
1 [#]	0.9	29	1.0	35	1.0	34	1.0	32	1.2	33	1.4	32	1.5	35	2.0	78
2 [#]	0.9	32	0.9	33	1.0	30	1.1	35	1.3	33	1.3	35	1.5	39	1.6	60
3 [#]	0.9	30	0.9	32	0.9	33	1.2	34	1.2	29	1.5	33	1.4	39	1.6	44
4 [#]	1.0	25	1.1	26	1.2	29	1.1	29	1.4	36	1.2	35	1.4	53	1.8	66
5 [#]	0.9	29	0.8	34	1.0	30	1.2	29	1.5	33	1.5	36	1.5	65	1.6	85
6 [#]	1.0	20	1.2	22	1.2	25	1.1	30	1.2	28	1.4	35	1.6	44	1.6	90

表2 50 kPa 条件下传感器寿命试验结果

Table 2 Test results with 50 kPa atmospheric pressure of sensor life

样本编号	0个月		2个月		4个月		6个月		8个月		10个月		12个月		14个月	
	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s
13 [#]	1.1	30	1.2	32	1.2	32	1.4	33	1.5	38	1.7	42	2.0	55	2.1	77
14 [#]	1.2	30	1.2	30	1.1	33	1.3	35	1.6	35	1.5	44	1.6	51	1.6	69
15 [#]	1.1	29	1.0	33	1.2	34	1.1	29	1.3	33	1.5	39	1.6	44	1.5	76
16 [#]	1.0	28	1.1	29	1.3	29	1.2	30	1.3	35	1.4	49	1.8	55	2.0	88
17 [#]	1.2	30	1.1	28	1.2	25	1.3	33	1.3	40	1.5	42	1.6	44	1.6	58
18 [#]	0.9	26	1.1	33	1.3	31	1.3	38	1.5	39	1.7	44	1.6	44	1.6	90

表3 传感器随机振动实验条件

Table 3 Random vibration condition of sensor

频域/Hz	分频斜率/ (dB · oct ⁻¹)	功率谱密度/ (g ² · Hz ⁻¹)	总均方根 加速度值	实验持 续时间
10 ~ 250	6	—		
250 ~ 1 000	—	0.12	12.04 grms	120 s
1 000 ~ 2 000	-9	—		

表4 传感器随机振动实验结果

Table 4 Test results with random vibration of sensor

样本编号	实验前		实验后	
	非线性指标/%FS	τ_{90}/s	非线性指标/%FS	τ_{90}/s
25 [#]	1.0	28	1.0	30
26 [#]	0.9	33	1.0	31
27 [#]	1.1	30	1.0	31
28 [#]	1.2	25	1.1	28
29 [#]	1.0	27	1.1	28
30 [#]	0.9	35	1.0	32

寿命为6个月,而在50℃条件下为3个月,温度增长10℃,寿命缩短1/2;低气压对传感器寿命的影响较温度应力因素弱,绝对压力由50 kPa降至10 kPa后,寿命缩短1/3;而振动实验结果表明,振动应力因素对传感器寿命影响极小。

常温电化学氧气传感器利用电解液与氧气间的电化学反应实现对环境中氧气的检测.因此电解液含量是影响传感器寿命的最直接因素,而电解液含量与环境的温度、真空度有极大的关系.因此在高温及低气压条件下受到的影响最大,寿命损耗也最大,这与上述寿命试验结

果吻合。

3 结论

本文针对常温电化学氧气传感器特性,选择温度、低气压、振动作为传感器寿命试验的应力因素,采用恒定应力加速寿命试验方法,研究了3个应力因素对传感器寿命的影响.结果表明,常温电化学氧气传感器对温度及低气压应力因素极为敏感.因此在实际使用中应避免传感器长期工作在高温或低气压环境中,针对常温电化学氧气传感器这一缺点,研制开发耐高温及耐低气压等恶劣环境的低挥发高稳定新型电解液材料将成为未来常温电化学氧气传感器发展的重要方向之一。

参考文献:

- [1] 孙青. 电子元器件可靠性工程[M]. 北京:电子工业出版社,2002:10.
- [2] 张洪泉. 电化学式氧传感器寿命特征分析[J]. 哈尔滨理工大学学报,2000,5(1):9.
- [3] 祁欣. 电化学氧传感器空间在轨应用寿命评估方法[C]//第二届全国载人航天环境控制与生命安全保障技术研讨会,深圳:[出版社不详],2014:124-128.
- [4] 陆俭国. 电器可靠性理论及其应用[M]. 北京:机械工业出版社,1995:110.
- [5] 刘广泉. 基于LNG气体传感器的可靠性评估分析研究[D]. 太原:中北大学,2010.
- [6] 刘鹏飞. 气体传感器电应力可靠性试验与分析[J]. 液压与气动,2011(1):21.