

- 中国科技论文统计源期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 《中国期刊网》、《中国学术期刊（光盘版）》全文收录期刊
- 《中国学术期刊综合评价数据库》全文收录期刊
- 《中文科技期刊全文数据库》收录期刊
- 《中国核心期刊（遴选）数据库》收录期刊
- 《中国科技论文在线》全文收录期刊
- 美国《化学文摘》（CA）收录期刊
- 俄罗斯《文摘杂志》（AJ）收录期刊
- 美国《史蒂芬斯全文数据库》（EBSCOhost）收录期刊
- 美国《乌利希国际期刊指南》（UPD）收录期刊
- 英国《食品科技文摘》（FSTA）收录期刊

陕西科技大学学报

Shaanxi Keji Daxue Xuebao
(双月刊 1982年创刊) 第38卷 第1期 2020年2月25日出版

Journal of Shaanxi University of Science & Technology

(Bimonthly Started in 1982)
Vol. 38 No. 1 Feb. 2020

主管单位：陕西省教育厅
主办单位：陕西科技大学

Competent Authorities The Education Department of Shaanxi Province
Sponsor Shaanxi University of Science & Technology

主 编：黄剑锋
副 主 编：杨 军

Chief Editor Huang Jian-feng
Associate Editor Yang Jun

编辑出版：《陕西科技大学学报》编辑部
国内发行：天津市大寺泉集北里别墅17号
联订服务部（邮政编码300385）
国外发行：中国国际图书贸易集团有限公司
北京市海淀区车公庄西路35号
（邮政编码100048）

Edited By Editorial Board of Journal of Shaanxi
University of Science & Technology

Distributed Abroad By China International Book Trading Corporation
35, Chegongzhuang Xilu, P.O. Box 399,
Beijing 100048, China

通信地址：陕西省西安市未央大学园区
邮政编码：710021
电 话：（029）86168067
电子邮箱：xbbjb@sust.edu.cn

Address Weiyang University Park, Xi'an, Shaanxi, China
Postcode 710021
Telephone (029) 86168067
E-mail xbbjb@sust.edu.cn

印 刷：西安创维印务有限公司
国内定价：15.00元
国外定价：15.00美元

Printed By Xi'an Chuangwei Printing Co., Ltd.

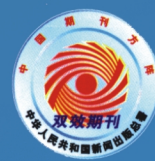
中国标准连续出版物号：ISSN 2096-398X
CN 61-1080/TS



陕西科技大学学报

第三十八卷 第一期（总第188期）

二〇二〇年二月



- 中国期刊方阵“双效期刊”
- 中国科技核心期刊
- 陕西省优秀科技期刊

CN 61-1080/TS
ISSN 2096-398X
CODEN SKDXAE

陕西科技大学学报

JOURNAL OF SHANXI UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY

SHANXI KEJI DAXUE XUEBAO

第38卷 第1期
VOL. 38 NO. 1

2020

陕西科技大学主办



目 次

· 轻工技术与工程 ·

- 缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的合成与性能…… 徐群娜,仇瑞杰,马建中(1)
- $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{RGO}/$ 纤维素复合膜的制备及其催化性能研究 … 侯 晨,李 豪,张素凤,等(7)
- 共沉淀法制备 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 及其鞣制性能研究 …………… 杨晓燕,马建中,石佳博,等(12)
- 微波-机械联合破碎剩余污泥的机制研究 …………… 亓雪菲,王杰峰,张雨笛,等(18)
- 超声强化芬顿法对金尾矿中金浸出及淋洗液毒性研究 ……………
- …………… 郭军康,任 倩,于生慧,等(25)
- 硫化钠在缓解菰蓝幼苗镉胁迫中的作用 …………… 贾红磊,刘华欣,马佩云,等(32)
- 不同生境对棕鞭藻自絮凝的影响 …………… 张 波,刘少卓,张安龙,等(38)

· 食品科学与生物工程 ·

- 枸杞多糖及其硫酸化产物的免疫调节活性 …………… 孙玉姣,高润凝,崔湘怡,等(44)
- 茯茶多糖提取工艺优化及其体外抗氧化和对益生菌生长的影响 ……………
- …………… 汪梦雯,刘文婷,任雪宁,等(50)
- 盐胁迫鼠李糖乳杆菌富硒工艺研究 …………… 徐 颖,杨玉洁,何成艳,等(58)
- 植物源活性物质对鲁氏接合酵母抑菌活性评价及抑菌机制研究 ……………
- …………… 王虎玄,张淑晴,廖 川,等(64)
- 羊乳中牛乳成分的可视化环介导等温扩增检测方法 …… 澹台玮,徐秦峰,张文娟,等(71)
- 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的安全性初探 …… 李晓霞,王志萍,蒋雅娴,等(76)

· 化学与化学工程 ·

基于 β -环糊精改性的水溶性茚酰亚胺的合成及其 pH 响应性研究	杨 靖,白 阳,安 娜,等(81)
基于 3-羟基黄酮的 pH 荧光探针合成及线粒体靶向荧光成像	王 超,杨方舟,吉鹏博,等(88)
EPDM/NR 复合发泡材料的结构与性能研究	邵 亮,许 冉,王晨阳,等(93)
4-HBA/E-51/有机氟硅多重改性水性聚氨酯	刘 筱,来水利,葛茹月,等(98)
· 材料科学与工程 ·	
偏高岭土对天然水硬石灰净浆力学强度和水化反应的影响	王 芬,贺 鹏,朱建锋,等(104)
细菌纤维素基氮掺杂石墨烯柔性电极材料的制备及其应用	张素凤,周 浩,刘丽娜,等(109)
TEMPO 氧化纤维素纳米纤维在膜材料中的研究进展	戴 磊,程 婷,王 岩,等(115)
PLA/杨木粉木塑复合材料的配方优化与力学性能研究	葛正浩,邹辛祺,陈 威,等(124)
· 机械、电气工程与信息技术 ·	
装配生产线建模方法及资源优化研究	任工昌,董钰颖,何 舟,等(131)
基于改进型双闭环滑模控制的三相 PWM 整流器研究	康家玉,王安琦,刘甲琛,等(136)
基于双有源桥的三端口变换器回流功率优化控制	史永胜,李 雷,丁恩松,等(142)
PSO-BP 神经网络在开关柜设备温度预测中的应用	郭文强,董 瑶,李清华,等(149)
基于广义 II 型模糊聚类的图像分割算法	陈景文,徐 鑫,雷 涛,等(154)
层聚合的对抗机器翻译模型的方法研究	杨 云,王 全(164)
· 物理与数学科学 ·	
基于周期间歇策略的复杂网络随机同步定	马慧慧,何秀丽(171)
线性回归模型系数变点的在线监测	秦瑞兵,孙 丽,宋冠仪(175)



Journal of Shaanxi University of Science & Technology

Published on Feb. 25, 2020

Vol. 38

No. 1

Sum No. 188

CONTENTS

Synthesis of Casein-based microcapsule emulsion for sustained-release antimildew and self-cleaning performance	XU Qun-na , QIU Rui-jie , MA Jian-zhong (1)
Study on preparation of Fe_3O_4 /RGO/cellulose composite membrane and its catalytic performance	HOU Chen , LI Hao , ZHANG Su-feng , et al (7)
Study on preparation of $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ by co-precipitation and its tanning properties	YANG Xiao-yan , MA Jian-zhong , SHI Jia-bo , et al (12)
Study on the mechanism of microwave-mechanical combination in crushing excess sludge	QI Xue-fei , WANG Jie-feng , ZHANG Yu-di , et al (18)
Study on leaching of gold from gold tailings by ultrasound enhanced Fenton method and toxicology of leaching solution	GUO Jun-kang , REN Qian , YU Sheng-hui , et al (25)
Effect of sodium hydrosulfide on alleviating cadmium stress in <i>Isatis indigotica</i> seedlings	JIA Hong-lei , LIU Hua-xin , MA Pei-yun , et al (32)
Effects of different ecological habitation on the auto-flocculation of <i>Ochromonas</i> sp.	ZHANG Bo , LIU Shao-zhuo , ZHANG An-long , et al (38)
The immunoregulatory activity of <i>Lycium barbarum</i> polysaccharides and their sulfated products	SUN Yu-jiao , GAO Run-ning , CUI Xiang-yi , et al (44)
Optimization of extraction process of polysaccharides from Fu Brick tea and its antioxidation in vitro and effect on growth of probiotics	WANG Meng-wen , LIU Wen-ting , REN Xue-ning , et al (50)
Study on selenium enrichment process of <i>Lactobacillus rhamnosus</i> under salt stress	XU Ying , YANG Yu-jie , HE Cheng-yan , et al (58)
Evaluation of the antimicrobial activity of plant-derived active substances against <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> and study on the antimicrobial mechanism	WANG Hu-xuan , ZHANG Shu-qing , LIAO Chuan , et al (64)
Establishment of visual loop-mediated isothermal amplification method for detection of bovine milk components in goat milk	TAN TAI-Wei , XU Qin-feng , ZHANG Wen-juan , et al (71)
Study on safety evaluation of shiyifang cataplasma and the combination of shiyifang cataplasma and graphene fomentation	LI Xiao-xia , WANG Zhi-ping , JIANG Ya-xian , et al (76)

Study on synthesis of β -cyclodextrin based water-soluble perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic acid bisimides derivatives and its pH responsive property	YANG Jing , BAI Yang , AN Na , et al (81)
Synthesis and application of a 3-hydroxyflavone fluorescent pH probe for intracellular mitochondria targeted imaging	WANG Chao , YANG Fang-zhou , JI Peng-bo , et al (88)
Study on structures and properties of foamed EPDM/NR composites	SHAOLiang , XURan , WANG Chen-yang , et al (93)
4-HBA/E-51/organofluorosilicon multi-modified waterborne polyurethane	LIU Xiao , LAI Shui-li , GE Ru-yue , et al (98)
Effect of metakaolin on mechanical strength and hydration reaction of natural hydraulic lime grouts	WANG Fen , HE Peng , ZHU Jian-feng , et al (104)
Preparation and application of bacterial cellulose-based nitrogen-doped graphene flexible electrode material	ZHANG Su-feng , ZHOU Hao , LIU Li-na , et al (109)
TEMPO-oxidized cellulose nanofibers in film materials:A review	DAI Lei , CHENG Ting , WANG Yan , et al (115)
Research on formula optimization and mechanical properties of PLA/Poplar Powder Wood-Plastic Composites	GE Zheng-hao , ZOU Xin-qi , CHEN Wei , et al (124)
Research on modeling and resource optimization of assembly production lines	REN Gong-chang , DONG Yu-ying , HE Zhou , et al (131)
Research on three-phase PWM rectifier based on improved double closed-loop sliding mode control	KANG Jia-yu , WANG An-qi , LIU Jia-chen , et al (136)
Optimal control of return power of three-port converter based on dual active bridge	SHI Yong-sheng , LI Lei , DING En-song , et al (142)
Application of PSO-BP neural network in temperature prediction for switchgear equipment	GUO Wen-qiang , DONG Yao , LI Qing-hua , et al (149)
Image segmentation algorithm based on general type-2 fuzzy clustering	CHEN Jing-wen , XU Xin , LEI Tao , et al (154)
Research on the method of layer aggregation adversarial machine translation model	YANG Yun , WANG Quan (164)
Stochastic synchronization of complex networks based on periodic intermittent control	MA Hui-hui , HE Xiu-li (171)
Sequential monitoring coefficient change in linear regression model	QIN Rui-bing , SUN Li , SONG Guan-yi (175)

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0001-06

缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的合成与性能

徐群娜^{1,2,3}, 仇瑞杰^{1,2}, 马建中^{1,2}

(1. 陕西科技大学 轻工科学与工程学院 轻化工程国家级实验教学示范中心, 陕西 西安 710021; 2. 陕西农产品加工技术研究院, 陕西 西安 710021; 3. 陕西省轻化工助剂化学与技术协同创新中心, 陕西 西安 710021)

摘要:以高分子胶束为模板,以酪素为基材,通过原位水解二氧化钛前驱体,在胶束亲疏水链段界面处生成纳米 TiO₂ 壳层;同时在微胶囊内核中引入疏水性防霉剂小分子,通过调控聚合参数,获得结构规整的缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液.实验结果表明:双功能酪素基微胶囊乳液粒径为 75 nm 左右.乳液具有良好的防霉性,且在一周之后仍有防霉效果;由于 TiO₂ 的存在,在紫外光照射条件下,涂膜对油污具有明显的自清洁效果.涂饰应用结果表明:将复合乳液应用到皮革涂饰后,革样的机械性能较好.将为高附加值涂层材料的开发提供指导和借鉴思路.

关键词:酪素;微胶囊;缓释;防霉性;自清洁

中图分类号:TS513 **文献标志码:**A

Synthesis of casein-based microcapsule emulsion for sustained-release antimildew and self-cleaning performance

XU Qun-na^{1,2,3}, QIU Rui-jie^{1,2}, MA Jian-zhong^{1,2}

(1. College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. Shaanxi Research Institute of Agricultural Products Processing Technology, Xi'an 710021, China; 3. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Industrial Auxiliary Chemistry & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Using polymer micelle as the template and casein as the substrate, nano-TiO₂ shell layer was formed at the interface between hydrophilic segment and hydrophobic segments through in-situ hydrolysis of the precursor. Meanwhile, hydrophobic mildew inhibitors were encapsulated within the inner core. By regulating polymerization parameters, the as-prepared hybrid microcapsule appeared well-defined structure, which showed sustained-release antimildew and self-cleaning performance. The results showed that particle size of the dual functional microcapsule was about 75 nm. The emulsion was shown having a good antimildew effect, since it still remained antimildew behavior after one week's releasing. The obtained film had

* 收稿日期:2019-09-03

基金项目:国家“十三五”重点研发计划项目(2017YFB0308602);陕西省创新人才推进计划青年科技新星项目(2019KJXX-011);陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20180416);陕西省轻化工助剂化学与技术协同创新中心开放基金项目(XTKF-2019-02)

作者简介:徐群娜(1987—),女,陕西西安人,副教授,硕士生导师,研究方向:天然产物基有机/无机纳米复合材料

obvious self-cleaning effect on oil stains under UV light due to the presence of TiO_2 . The application results suggested that leather finished with hybrid emulsion had expected mechanical performance. This research will provide guidance and reference ideas for the development of high value-added coating materials.

Key words: casein; microcapsules; sustained-release; anti-mildew performance; self-cleaning

0 引言

酪素作为一种天然蛋白质,具有较好的耐熨烫、耐打光、耐高温和良好的粘合力,并且能保持皮革特有的卫生性能,因此,它作为成膜剂在皮革涂饰材料中一直占据着主导地位。然而,单纯的酪素存在成膜硬脆、不耐湿擦、易生霉等缺陷。为克服酪素类涂饰剂的缺陷,工业应用中常常需要在其中添加防霉剂。但是,常规的物理添加方法无法保证防霉效果的稳定性和长期性,在这种情况下,为获得长期防霉效果,缓释技术不失为一种有效途径。微胶囊技术是众多缓释技术中一种应用最为广泛且简便易行的方法^[1-3]。

微胶囊技术是利用壁材将芯材包覆,形成一层连续包裹层的技术,具有防止芯材物质变性、挥发,延长芯材物质的存期等功能。在现代工业中,将防霉剂、香料香精、抗菌剂等包裹于壁材中,可以实现这些物质的缓慢持久释放^[4-6]。由于微胶囊具有这些特殊的功能,因而被广泛应用于许多领域,如制药、食品、农药、饲料、涂料、化妆品等多个领域,发展前景十分乐观^[7,8]。然而,截至目前,关于微胶囊技术在皮革中的研究仅涉及在整理剂方面,作为皮革涂饰剂中的成膜组分的研究未见公开报道。

课题组前期采用 SiO_2 、 ZnO 等纳米粒子通过原位聚合的方式对酪素进行改性,有效地改善了酪素成膜硬脆、易发霉等缺点^[9,10]。本文基于课题组前期的研究,采用微胶囊技术和水包油(O/W)型微乳液聚合,拟通过界面聚合法界面水解纳米粒子前驱体的过程,在酪素体系中引入纳米 TiO_2 包覆层,纳米 TiO_2 具有良好的生物相容性和抗菌性,同时它还可以对污物有一定的降解能力,从而达到去污的效果^[11];同时在微胶囊内部引入疏水性防霉剂分子,制备包覆防霉剂的缓释防霉/自清洁双功能型酪素基微胶囊乳液,将其应用于皮革涂饰剂,希望可以进一步提升皮革制品附加值,助力行业技术进步,这将具有十分重要的现实意义。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

1.1.1 主要试剂

酪素(CA),购买自上海川和食品有限公司;钛酸丁酯(TBOT),乙酸,磷酸二氢钾,磷酸氢二钠,购买自天津市科密欧化学试剂有限公司;高分子胶束(F127),购买自美国 SIGMA 公司;乙醇,购买自天津市天力化学试剂有限公司;防霉剂,购买自佛山市丽源化工有限公司;染料罗丹明 B,购买自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;盐酸,购买自西安三浦精细化工厂;高盐察氏培养基,购买自北京奥博星生物技术有限公司。以上试剂的规格,除酪素为优级纯外,其余均为分析纯。

1.1.2 主要仪器

ZS-90 动态激光光散射仪(英国 Malvern); PH070A 型培养箱/干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);QHX-250BS-II 人工气候培养箱(上海新苗医疗器械有限公司);透射电子显微镜(美国 FEI 公司,TEM);TGA Q500 热重分析仪(美国 TA 公司,TG)。

1.2 缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的制备

将一定量的酪素溶解在试剂瓶中,作为溶液 A;取一定量的高分子胶束(F127)、钛酸丁酯、四氢呋喃、防霉剂于试剂瓶中,磁力搅拌 24 h,制得溶液 B;磁力搅拌下采用移液枪注射的方式将溶液 B 以每 10 min 10 μL 的量全部注射至溶液 A 中,继续搅拌 48 h,获得缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液。

1.3 缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液结构表征与性能测试

1.3.1 乳液稳定性

(1)静置稳定性

取 4 mL 制得试样于 5 mL 离心管中,将其垂直静置,48 h 后观察有无沉淀、絮凝或分层等现象。有该类现象之一则视为不稳定,否则视为稳定。或者通过底部沉淀量进行对比,对乳液的稳定性进行判定。

(2)离心稳定性

取 4 mL 制得试样于 5 mL 的离心管中,放置

到离心机中进行离心沉降,速度为 3 000 r/min,时间为 30 min,停机后观察是否有沉淀、絮凝或分层等现象.有该类现象之一则视为不稳定,否则视为稳定.

1.3.2 结构表征

(1)DLS 表征

将酪素基微胶囊乳液稀释至浓度为 0.5%,采用英国 MALVERN 公司的 Nano-ZS90 动态激光散射粒度仪测试乳胶粒粒径.

(2)TEM 表征

将酪素基微胶囊乳液稀释至浓度为 0.5%,吸取少量测试液于铜网上,采用磷钨酸对其进行染色,然后在美国 FEI 公司的 Tecnai G2 F20 S-TWIN 透射电子显微镜(TEM)下观察待测样品的微观结构.

(3)TG 测试

将酪素基微胶囊乳液进行冷冻干燥,形成干燥的粉末;再将样品在 Q500 热重分析仪上进行测试,升温速度为 10 ℃/min,升温范围为 30 ℃~600 ℃,对样品进行热稳定分析.

1.3.3 性能测试

(1)防霉性能

①滤纸片的制备

剪裁直径为 2 cm 的滤纸片若干,用乙醇进行滤纸片表面清洁处理;称取相同质量的酪素基微胶囊乳液并充分浸泡滤纸片,取出浸泡后的滤纸片,待滤纸片干燥后将滤纸片进行紫外灭菌处理,备用.

②防霉实验

称取磷酸氢二钠 0.284 g,磷酸二氢钾 0.136 g,蒸馏水 100 mL,配制成 pH 为 7.2~7.4 的缓冲溶液.称取高盐察氏培养基 110 g,加入 1 000 mL 蒸馏水中,加热煮沸溶解,备用.将防霉性试验所需的仪器和配制的溶液放入高温高压锅中进行灭菌处理,之后在无菌操作台内,趁热倒取培养基,待其凝固,用接种环挑取黑曲霉菌置于 1 mL 缓冲液中,用搅拌棒搅拌数分钟使霉菌完全分散均匀,用针筒向各培养皿中注入一定浓度的黑曲霉菌悬浮液 0.1 mL.将备用的滤纸片置于培养基平板的中央,在 35 ℃,相对湿度大于 95%的条件下培养,观察霉菌生长的情况,通过观察抑菌圈的大小和有无霉菌生长来判断防霉性的效果.

(2)自清洁性能

在自清洁测试中,以菜籽油为模拟污染物进行测试.在制备的涂膜中心滴一滴相同质量的菜籽油,放入紫外灯箱下照射,观察其在紫外灯照射不

同时间后油滴颜色及外观的变化情况并拍照记录.

1.4 皮革涂饰应用试验

1.4.1 应用工艺

(1)取样

将绵羊服装革沿背脊线切开,对称取样作为对照.

(2)涂饰

涂饰工艺配方如表 1 所示,配方中的化工材料均为福益皮尔卡乐公司提供.

将涂饰后的革样按所需测试项目用模刀切取试样后进行空气调节(样品进行空气调节的条件是:温度为(20±2)℃、相对湿度为(65±2)%).涂饰后对革样的物理机械性能进行测试.

表 1 涂饰配方

涂饰材料	底涂	中涂	顶涂
126-URC	80	—	—
248-FLC	50	—	—
086-FLC	30	—	—
251-FL	60	—	—
925-PG	20	—	—
WATER	250	450	100
253-FL	—	60	—
725-PG	—	50	—
119-UR	—	50	—
524W-DS	10	10	10
327-FM	—	—	5
159-AC	—	120	—
酪素	—	50	—
069-PT	—	10	—
361-LW	—	—	100

注:底涂:喷 2 次,烫平 100 ℃/30 kg;中涂:喷 2 次,烫平 100 ℃/30 kg;顶涂:喷 1 次,烫平 110 ℃/30 kg.

1.4.2 机械性能

将涂饰革样按照纵向和横向各裁取 2 个样品,样品规格为哑铃形,全长 80 mm,有效长度 30 mm,中间宽度 5 mm.空气调节 24 h,采用定重式测厚仪对其有效部位测定革样厚度,要求测试三个值.采用 TH-8203SD 型拉力试验机测定抗张强度和断裂伸长率(拉伸速度 100 mm/min,回程速度 100 mm/min)并根据断裂位置进行矫正.

(1)抗张强度

对皮样在拉力机上施加力(F),当皮革断裂后,测量其断裂面积(S)、抗张强度(P)是试样在拉力机上被拉断时,单位截面积上承受的负荷,以 N/mm^2 表示,计算公式如式(1)所示:

$$P=\frac{F}{S}$$

(1)

式(1)中: P —试样的抗张强度, N/mm^2 ; F —试样断裂时断裂截面上所受的力, N ; S —试样断裂面的面积, mm^2 .

(2)断裂伸长率

断裂伸长率(E)是试样被拉断时的伸长长度(L_1)与原长度(L_0)的比值,以百分率表示,计算公式如式(2)所示:

$$E=\frac{L_1-L_0}{L_0} \tag{2}$$

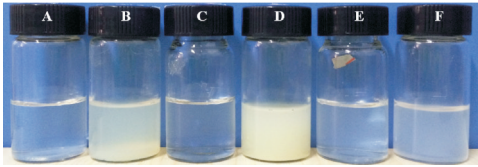
式(2)中: E —断裂伸长率,%; L_1 —试样断裂时受力部分的长度,mm; L_0 —试样原长度,mm.

2 结果与讨论

2.1 乳液稳定性和粒径测试

2.1.1 乳液稳定性

乳液的稳定性是一个重要指标,因此,首先考察反应体系中不同化学试剂的添加对乳液稳定性的影响结果如图 1、表 2 所示.根据图 1 可知,C 最清澈,B 泛白且略混浊,D 泛白且最混浊.



A:无酪素; B:含全部试剂; C:无酪素和防霉剂; D:无防霉剂; E:无 TBOT; F:无酪素和 TBOT

图 1 实验中所用不同化学试剂的添加对乳液稳定性的影响

表 2 不同化学试剂的添加对乳液稳定性的影响

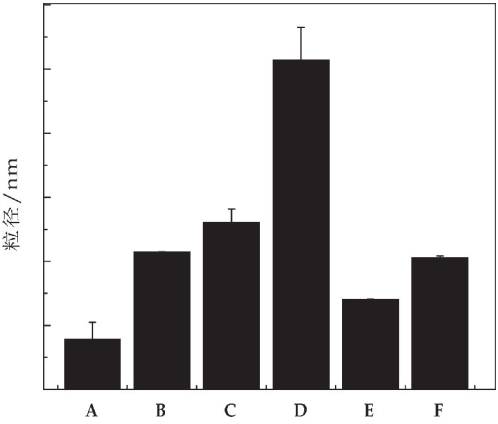
不同种类试剂	静置稳定性	离心稳定性
A	稳定	稳定
B	不稳定	不稳定
C	稳定	稳定
D	不稳定	不稳定
E	稳定	稳定
F	稳定	稳定

这在一定程度上说明,由于所加化学试剂不同,进而导致合成的微胶囊乳液外观不同.乳液泛黄且混浊的原因可能有两个方面:一方面,是因为 TBOT 自身的水解变成乳白色,导致乳液不透明,变混浊;另一方面,是因为酪素溶解液自身呈轻微的乳黄色,溶解于乳液中会使乳液颜色加深.结合图 1、表 2 分别对比 A、B、F 和 B、E、F 可知乳液变混浊主要是由于 TBOT 的自身水解造成的;对比 B、C、D 可以说明防霉剂的添加对微胶囊乳液的稳定性具有一定的促进作用.

2.1.2 乳液粒径

如图 2 所示,不同化学试剂的添加形成的微胶囊粒径不同.将 B 与 D、A 与 C 分别对比,可以看

出,随着防霉剂的加入,乳液的粒径会减小,这主要是由于防霉剂的疏水性使得高分子胶束结构更加紧促,粒径较小;将 A 与 B、C 与 D 分别对比,可以看出,随着酪素的添加,乳液的粒径会增加,这主要是由于酪素作为高分子胶束分布在微胶囊乳液外层使微胶囊粒径增大;将 B、E 对比,可以说明随着 TBOT 的加入,乳液的粒径会增加,这就是说前驱体在界面发生水解作用,生成的纳米 TiO_2 形成微胶囊壳层,使得微胶囊的粒径增大.



A:无酪素; B:含全部试剂; C:无酪素和防霉剂; D:无防霉剂; E:无 TBOT; F:无酪素和 TBOT

图 2 不同化学试剂的添加对乳液粒径的影响

2.2 微胶囊的结构表征

2.2.1 酪素基微胶囊乳液的形貌及尺寸

图 3 为酪素基微胶囊乳液的 TEM 图.如图 3(a)所示,乳液形貌为一个实心球体,乳液粒径约为 75 nm,从图 3(a)中可明显看出,球体内部有明显的黑色物质存在,这主要是由于疏水性防霉剂包覆在微胶囊内部.从图 3(b)可以观察到,经磷酸钨染色后所观察到的乳液具有一定的胶囊结构,胶囊粒径在 70 nm 左右,胶囊外层的浅色部分应为无机材料 TiO_2 ,胶囊内层也含有黑色物质分散其中,由此可知酪素和 TiO_2 主要分布于酪素基微胶囊乳液的外壳层,而加入疏水性的防霉剂包覆于胶囊壳层内部.

对比图 3(a)和图 3(b),可以看到,染色前的酪素基微胶囊乳液的粒径略大于染色后的酪素基微胶囊乳液的粒径,因此可说明作为无机材料的 TiO_2 主要分布在内壳层,这是因为 TiO_2 在胶束亲疏水链段之间发生界面聚合^[12].因此,成功获得了具有双壳层结构的防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液,其中酪素主要分布在胶囊的外壳层, TiO_2 分布在胶囊的中间层,防霉剂位于微胶囊的内部.

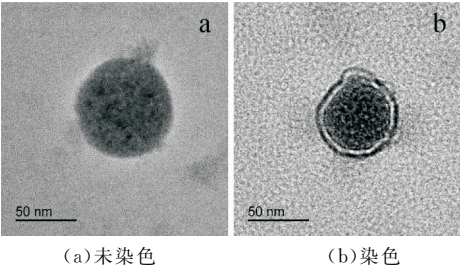


图 3 防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液 TEM 表征结果

2.2.2 TG

为了确认防霉剂是否在体系中包覆,通过对乳液中有无包覆防霉剂的两种乳液进行 TG 测试,结果如图 4 所示.可以看出,两条曲线在 100 ℃ 以内,质量大概都降低 5%,这些质量损失来源于样品中的水分含量;在 100 ℃ 至 400 ℃ 之间,含防霉剂的样品质量减少了约 65%,无防霉剂的样品质量减少了约 60%,由此对比可以得出,防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊对防霉剂有一定的包覆性,并且能够在较高温度下起到相对持久的防霉效果.

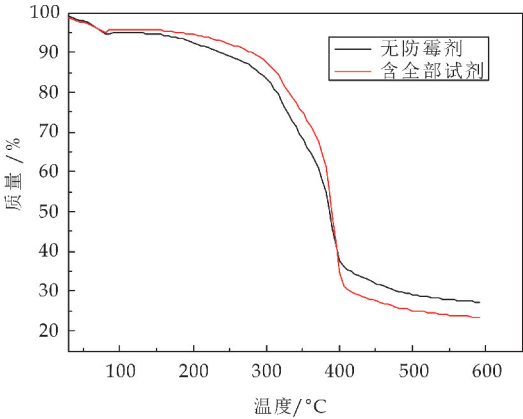


图 4 微胶囊乳液热重曲线图

2.3 乳液性能测试

2.3.1 防霉性能测试

图 5 展示了 TiO_2 前驱体 TBOT 用量对酪素基微胶囊乳液的防霉性能的影响结果. 由图 5 可知,释放初始,乳液均有较好的防霉效果,且 TBOT 用量为 40 μL 时防霉效果相比 30 μL 时较好,是因为当 TBOT 用量增多时,体系中生成的无机抗菌材料 TiO_2 也会增多. 经过一段时间后,样品仍有一定的防霉性,同时发现,TBOT 用量为 40 μL 时乳液的防霉效果更好,这主要原因可能是 TBOT 用量为 40 μL 时,生成的 TiO_2 壳层更为稳定,此时对防霉剂包覆效果好,且有利于赋予乳液良好的持久防霉性^[13]. 另外,纳米粒子也可以和微胶囊内核包覆的防霉剂起到协同抗菌的效果,从而

使乳液防霉性更优.

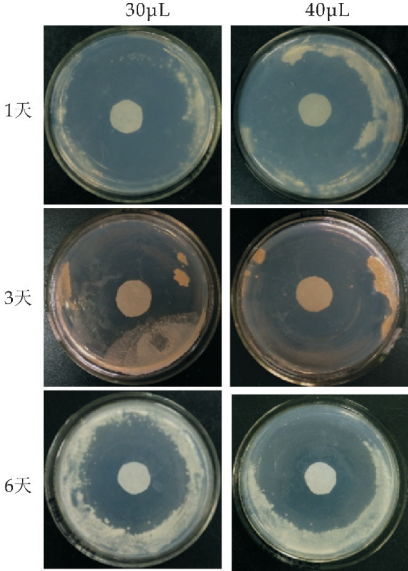


图 5 不同 TBOT 用量的防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的防霉结果

2.3.2 自清洁性能测试

在紫外光照射条件下, TiO_2 作为一种光催化剂可降解涂层表面附着的有机污物,且紫外线能够维持纳米 TiO_2 表面的亲水特性,使其具有长期的自洁去污效应^[14,15]. 图 6 为不同含量 TiO_2 的防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的自清洁结果. 由图 6 可知,随着光催化时间的延长,TBOT 用量为 30 μL 的涂膜上污物状态几乎无变化,在 TBOT 用量增加的情况下,污物的颜色均明显变浅,这说明随着 TBOT 用量的增加,涂膜的自清洁性能逐渐增强,这是由于 TiO_2 在紫外光照射下形成超亲水表面的缘故.

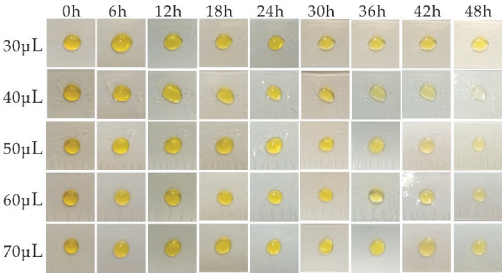


图 6 不同 TBOT 用量的防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液的自清洁结果

2.4 涂饰应用结果

如图 7 所示,制备的酪素基微胶囊乳液涂饰草样 B 的机械性能相比草样 A 的机械性能较优. 这是由于制备的酪素基微胶囊乳液涂饰草样的柔韧性及强度均较优,乳液中有机相与无机相之间的界面作用较强,使得组分间的相容性较好,从而有利于发挥

无机纳米粒子 TiO₂ 对聚合物基体的增强增韧效果.

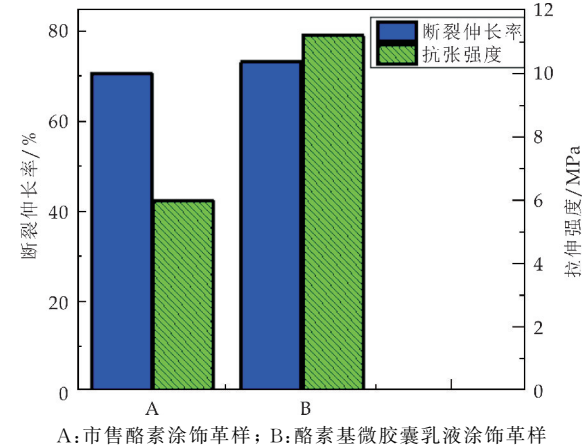


图 7 乳液涂饰草样后的机械性能(参照表 1 涂饰配方)

3 结论

本研究通过界面聚合法成功合成具有双壳层结构的防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液. 该乳液的平均粒径为 75 nm 左右, 尺寸分布较均一; 对疏水性防霉剂具有一定的包覆性; 其涂膜具有良好的防霉效果, 涂膜在防霉剂释放 6 天后仍具有一定的防霉性; 在紫外光照射下, 该乳液在 36 h 时可明显观察到自清洁效果, 且自清洁效果随着 TBOT 用量增大而增强. 将所制备的缓释防霉/自清洁双功能酪素基微胶囊乳液应用于皮革涂饰, 可赋予皮革涂层较好的机械性能.

参考文献

[1] 徐群娜. 酪素基无皂核壳复合乳液的合成、结构与性能研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2013.

[2] Guruprasad Alva, Yaxue Lin, Lingkun Liu, et al. Synthesis, characterization and applications of microencapsulated phase change materials in thermal energy storage: A review[J]. Energy & Buildings, 2017, 72: 128-145.

[3] 曲健健, 但卫华, 林海, 等. 微胶囊技术的研究进展[DB/OL]. [http://www. paper. edu. cn/releasepaper/content/200512-434](http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/200512-434), 2005-12-16.

[4] Francesca Cuomo, Andrea Ceglie, Antonella De Leonar-dis, et al. Polymer capsules for enzymatic catalysis in con-fined environments[J]. Catalysts, 2019, 9 (1): 1-18. .

[5] Abbas Eslami Seyed Ghorban Hossein, Soroush H. M. Shariaty. Stabilization of ammonium azide particles through its microencapsulation with some organic coating agents [J]. Powder Technology, 2011, 208 (1): 137-143.

[6] Oana Pascu, Ricard Garcia Valls, Marta Giamberini. Inter-facial poly-merization of an epoxy resin and carboxylic acids for the synthesis of microcapsules [J]. Polymer In-ternational, 2008, 57 (8): 995-1 006.

[7] 徐炽焕. 微胶囊的制备及其应用[J]. 化工新型材料, 2005, 33(11): 75-78.

[8] Green Barrett K, Lowell Schleicher. Oil-containing micro-scopic capsules and method of making them [P]. US: 36510553A, 1957-07-23.

[9] Fan Zhang, Jianzhong Ma, Qunna Xu, et al. Hollow casein-based polymeric nanospheres for opaque coatings[J]. ACS Applied Materi-als & Interfaces, 2016, 8 (18): 11 739-11 748.

[10] Yanan Wang, Jianzhong Ma, Qunna Xu, et al. Fabrication of antiba-cterial casein-based ZnO nanocomposite for flexible coatings[J]. Materials & Design, 2017, 113 (5): 240-245.

[11] Zipeng Xing, Jiaqi Zhang, Jiayi Cui, et al. Recent advances in floating TiO₂-based photocatalysts for environmental application [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2018, 225: 452-467.

[12] Qianqian Fan, Jianzhong Ma, Qunna Xu, et al. Facile syn-thesis of chitosan-coated silica nanocapsules via interfacial condensation approach for sustained release of vanil-lin[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2018, 57(18): 6 171-6 179.

[13] Yi Cai, Hongen Wang, Xu Zhao, et al. Walnut-like porous core/shell TiO₂ with hybridized phases enabling fast and stable lithium storage[J]. ACS Applied Materials & In-terfaces, 2017, 9(12): 10 652-10 663.

[14] Lujie Zhang, Shuang Yu, Kaile Wang, et al. A cost and time-saving strategy of spraying TiO₂ self-cleaning coat-ings in tubular substrate by air cold plasma[J]. Chemical Physics Letters, 2017, 687: 205-208.

[15] Yuekun Lai, Yuxin Tang, Jiaojiao Gong, et al. Transparent superhy-drophobic/superhydro-philic TiO₂-based coatings for self-cleaning and anti-fogging[J]. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22(15): 7 420-7 426.

【责任编辑: 陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0007-05

Fe₃O₄/RGO/纤维素复合膜的制备 及其催化性能研究

侯 晨, 李 豪, 张素风*, 刘丽娜, 赵梦珂

(陕西科技大学 轻工科学与工程学院 轻化工程国家级实验教学示范中心 陕西省造纸技术及特种纸品开发重点实验室 中国轻工业纸基功能材料重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:通过一锅溶剂热法制备得到 Fe₃O₄/RGO 纳米复合材料,并通过简单的共混再生方法将复合材料引入纤维素膜中,得到 Fe₃O₄/RGO/纤维素复合催化膜,将其作为活化过氧单硫酸盐(PMS)降解染料的催化剂,研究了其对亚甲基蓝(MB)的催化性能.通过 SEM、FT-IR 和 XRD 对样品表征可以看出 Fe₃O₄/RGO 和复合膜的成功制备.催化结果表明,复合膜/PMS 体系具有广泛的 pH 适用范围,在 50 min 可以完成对 MB 的降解且无需调节 MB 溶液的初始 pH,显示出其对于 MB 具有良好的催化降解性能,并且反应结束后复合膜可以高效地从反应体系回收,具有一定的实际应用价值.

关键词:复合膜;亚甲基蓝;催化降解

中图分类号:TS721 **文献标志码:**A

Study on preparation of Fe₃O₄/RGO/cellulose composite membrane and its catalytic performance

HOU Chen, LI Hao, ZHANG Su-feng*, LIU Li-na, ZHAO Meng-ke

(College of Bioresources Chemical and Material Engineering, National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, Shaanxi Province Key Laboratory of Papermaking Technology and Specialty Paper, Key Laboratory of Paper Based Functional Materials of China National Light Industry, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The Fe₃O₄/RGO nanocomposites were prepared by one-pot solvothermal method, and the composites were introduced into the cellulose membrane by simple blending regeneration method to obtain Fe₃O₄/RGO/cellulose composite catalytic membrane, which was used as a catalysis for activating peroxy monosulfate (PMS) to degrade dye. Study on its catalytic performance for methylene blue (MB). Fe₃O₄/RGO and composite membrane were characterized by FT-IR, SEM, XRD, and the results indicated they were successfully obtained. The catalytic results show that the composite membrane has a wide pH range. The degradation of methylene blue can be completed in 50 min without adjusting the initial pH of MB solution,

* 收稿日期:2019-10-11
基金项目:陕西省教育厅重点实验室科研计划项目(17JS016);陕西省生物质化学与材料国际联合研究中心项目(2018GHJD-19)
作者简介:侯 晨(1989—),女,辽宁沈阳人,讲师,博士,研究方向:纤维素基高分子复合材料、纳米材料模拟酶
通讯作者:张素风(1974—),女,山西洪洞人,教授,博士,研究方向:纤维素基功能材料、纸基废弃物资源化利用, zhangsufeng@sust.edu.cn

which shows that it has good catalytic degradation performance for MB, and composite membrane can efficiently recycle from the reaction system at the end of the reaction. Shows it has a certain practical application value.

Key words: composite membrane; methylene blue; catalytic degradation

0 引言

在过去的几十年里,工农业的快速发展给环境造成了巨大的破坏,其中包括水污染问题.研究表明,废水中含有多种有机污染物,尤其是染料污染物,对人类健康造成很大的威胁^[1,2].因此,废水的处理是非常必要的.高级氧化工艺(AOPs)可在室温常压下,产生高氧化性的羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、硫酸根自由基($\text{SO}_4\cdot^-$)等,从而无选择性的高效降解有机污染物,被证明是去除有机污染物的最有前景的方法之一^[3,4].在AOPs中,基于 $\text{SO}_4\cdot^-$ 的高级氧化工艺(SR-AOPs)受到越来越多的关注,因为与基于 $\cdot\text{OH}$ 的AOPs相比:(1) $\text{SO}_4\cdot^-$ 具有更高的氧化电位从而显示出更强的氧化能力;(2) $\text{SO}_4\cdot^-$ 具有更广泛的pH应用范围和更长的半衰期,更适合实际应用^[5].

最近,过氧化单硫酸盐(PMS)作为一种性质稳定且氧化能力强的氧化剂($E_0 = 1.75\text{ V}$),已被广泛用于提供 $\text{SO}_4\cdot^-$.但是其直接与染料反应过慢,因此,催化是有必要的. Fe_3O_4 由于高催化能力,顺磁性和低毒性等独特性质,通常用于SR-AOPs^[6].然而, Fe_3O_4 纳米颗粒在制备过程中由于强磁性和分子间偶极作用, Fe_3O_4 容易聚集从而导致纳米颗粒的分散性降低.将 Fe_3O_4 负载在载体上被证明是提高纳米粒子的分散性的一种有效的方式^[7-10].氧化石墨烯(GO)由于其大的比表面积、良好的电子转移能力且表面含有较多的含氧集团常可作为纳米粒子的成核生长的位点,常被选为载体材料来提高纳米颗粒的分散性^[10,11].另一方面,催化反应结束后, Fe_3O_4 纳米颗粒的回收需要额外的外部条件来实现,回收效率有待提高,因此有必要将 Fe_3O_4 纳米颗粒固定在主体材料中来提高催化剂的回收效率.纤维素由于其来源广泛,价格低廉,可回收利用可用作主体材料来提高纳米粒子的可回收性^[12,13].纤维素膜材料具有多孔的结构、制备简单,并且纤维素膜中的含氧集团可以帮助固定纳米粒子,可作为主体材料来固定纳米粒子,提高催化剂的回收效率,但很少有报道纤维素基膜材料用于SR-AOPs.

基于上述背景,本文将氧化石墨烯(GO)用作

载体,采用一锅溶剂热法,制备得到 Fe_3O_4 /还原氧化石墨烯(RGO)复合材料,提高了 Fe_3O_4 纳米颗粒的分散性.将 Fe_3O_4 /RGO与纤维素溶液共混,再生制备得到复合催化膜.将复合催化膜作为活化PMS的催化剂,并选用亚甲基蓝(MB)作为目标污染物来评价复合膜的催化性能,结果显示催化膜具有较高的催化活性,反应结束后可快速从反应体系分离回收,有一定的应用前景.

1 实验部分

1.1 主要试剂

六水氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$),乙二醇(EG),乙酸钠(NaAc),氢氧化钠(NaOH),尿素,硫脲,亚甲基蓝(MB)均为分析纯,均购自天津大茂化学试剂厂;氧化石墨烯(GO)购自先丰纳米有限公司;过氧化单硫酸盐(PMS)为分析纯,购自麦克林生化有限公司.

1.2 主要仪器

Vega3 SBH型扫描电镜,捷克Tescan公司;Vertex型红外光谱仪,德国布鲁克公司;D8 Advance型X射线衍射仪,德国布鲁克公司;Lambda 25型紫外可见分光光度计,美国Perkinelmer公司.

1.3 Fe_3O_4 /RGO的制备

将40 mg的氧化石墨烯(GO)加入到30 mL乙二醇(EG)中,超声搅拌1 h,得到棕色的分散液,之后将0.987 g的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和1.946 g的乙酸钠(NaAc),加入到棕色分散液中,继续超声搅拌30 min.此后,将混合液转移到聚四氟乙烯内衬的反应釜中,置于200 °C高温,反应8 h.反应结束后,在磁铁作用下,用水和乙醇清洗数次,置于60 °C的真空干燥箱,干燥10 h.

1.4 纤维素的溶解及复合膜的制备

首先,棉纤维在纤维疏解机疏解至纤维分散均匀,干燥备用.然后,将2.0 g干燥的棉纤维加入到100 g碱/尿素/硫脲/水质量比为8:6:8:78溶剂体系中,在-12.5 °C下冷冻2 h,随后在室温下剧烈搅拌30 min.然后获得均匀透明的纤维素溶

液,以 5% 复合添加量复合膜的制备方法为例介绍复合膜的实验步骤.简言之,将 20 g 纤维素溶液和 19.6 mg Fe₃O₄/RGO 混合并在超声下搅拌 30 min.将混合溶液倒入培养皿中,在 80 ℃ 的烘箱中静置 1 h,然后用大量水冲洗再生复合膜,并在冷冻干燥中干燥 2 h 得到最终的复合膜.

1.5 Fe₃O₄/RGO 及复合膜的表征

通过扫描电子显微镜(SEM)对样品的形貌进行表征;通过傅里叶红外光谱仪(FT-IR),采用 KBr 压片技术和 ATR 附件制备样品,在 4 000 ~ 400 cm⁻¹ 范围的波长对样品的化学结构进行表征;通过 X 射线衍射仪对样品的晶体结构进行表征,扫描范围为 5 °~80 °;用 UV-vis 对样品吸光度进行测量,来表征催化降解速率.

1.6 催化性能测试

通过检测 MB 的降解来评价 Fe₃O₄/RGO/纤维素复合催化膜的催化降解活性,所有实验均在 200 mL 的广口锥形瓶中进行.首先将 MB 溶液(100 mg/L,100 mL)和 Fe₃O₄/RGO/纤维素复合催化膜置于广口锥形瓶中,催化反应前震荡 30 min 达到吸附解吸平衡.然后将 PMS 加入到广口锥形瓶中,确保复合膜对于 MB 的去除效果是来自催化降解,而不是吸附去除.每 10 min 收集一次上清液用于吸光度测量,通过 UV-vis 来测定溶液的吸光度.MB 的降解率(η)根据下式计算:

$$\eta = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\% \tag{1}$$

式(1)中: A_0 , A_t 分别代表溶液的初始吸光度值和反应到 t 时刻的吸光度值.

2 结果与讨论

2.1 SEM 形貌表征

Fe₃O₄、Fe₃O₄/RGO、纯纤维素膜和复合膜的 SEM 图如图 1 所示.从图 1(a)可以看出,Fe₃O₄ 呈现出直径约为 200 nm 的球状,但是由于磁性和分子间偶极作用出现了明显的团聚现象.从图 1(b)可以看出,直径约为 200 nm 的 Fe₃O₄ 较为均匀的分布在 RGO 纳米片层上,没有出现明显的团聚现象,分散性得到了很大的提升.纯再生的纤维素膜的 SEM 图可以看出,纯纤维素膜表面较为光滑.与纯纤维素膜相比,复合膜表面较为粗糙,可以明显观察到 Fe₃O₄/RGO 负载在复合膜上,这可能是由于 Fe₃O₄/RGO 和纤维素之间氢键作用帮助纳米颗粒固定在纤维素膜中^[14,15],证明了复合膜的

成功制备.

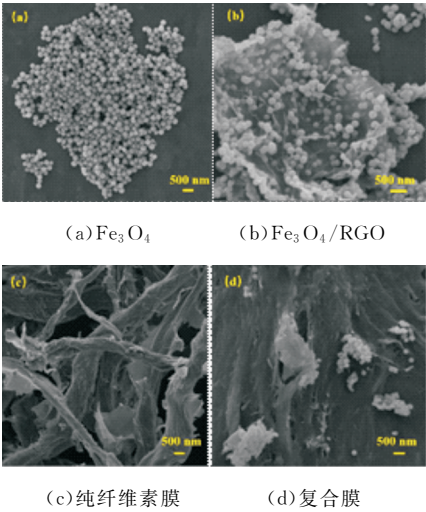


图 1 样品的 SEM 图

2.2 FT-IR 分析

图 2 是复合膜和 Fe₃O₄/RGO 的 FT-IR 图.从图 2 可以看出,纤维素膜 1 370 cm⁻¹ 和 1 100 cm⁻¹ 附近的峰归属于纤维素的特征峰,与纯纤维素膜相比,添加 Fe₃O₄/RGO 的复合膜的谱图在 580 cm⁻¹ 出现了一个新的峰,可归属于 Fe₃O₄ 中的 Fe—O 拉伸振动^[16],从红外图中可以进一步证明复合膜的成功制备.

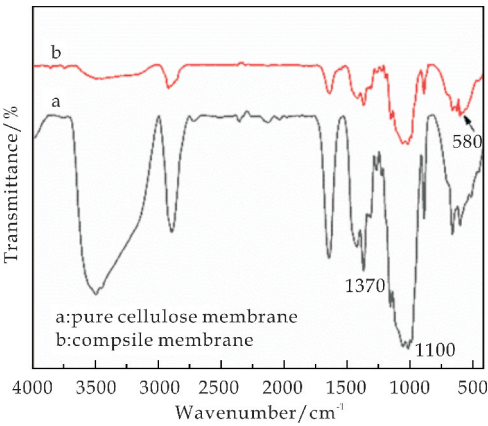


图 2 纯纤维素膜和复合膜 FT-IR 图

2.3 XRD 分析

用 XRD 来鉴定所制备的样品的晶体结构,图 3 是 GO、Fe₃O₄/RGO、纯纤维素膜和复合膜的 XRD 图.从图 3 可看出 GO 在 10.6 °处有一个强峰,但是经过溶剂热制备的 Fe₃O₄/RGO,这一特征峰消失,原因是经过溶剂热反应,乙二醇将 GO 还原成 RGO^[17].纯纤维素膜 XRD 图中 11.8 °、20.3 °、21.9 °处的峰为纤维素晶体结构的特征峰.与纯纤维素膜相比,复合膜的 XRD 图在 30.16 °、35.58 °、43.04 °、56.99 °、62.68 °处的特征峰分别

对应 Fe_3O_4 的面心立方尖晶石结构的 (220)、(311)、(400)、(511)、(440) 晶面^[18-20]. 从 XRD 图中也证明了复合膜的成功制备.

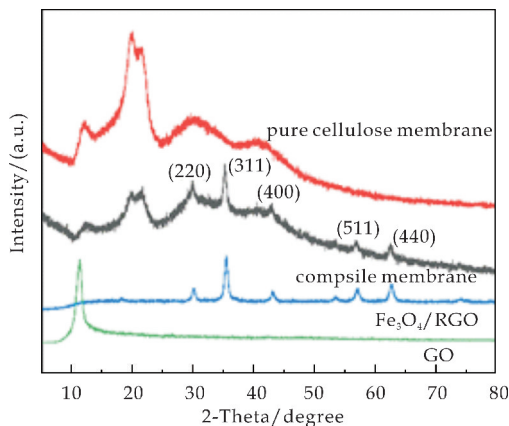


图 3 $\text{GO}/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{RGO}$ 、纯纤维素膜和复合膜的 XRD 图

2.4 复合催化膜的性能测试

以 MB 为目标污染物, 对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{RGO}$ /纤维素复合膜的催化性能进行测试. 测试了不同 pH、不同氧化剂用量和不同氧化剂条件下复合膜的催化降解性能.

2.4.1 不同 pH 条件下的催化降解结果

在实际应用中, 不同的废水染料体系可能呈现不同的 pH, 因此有必要研究不同 pH 条件下复合催化膜的催化降解能力. 本研究中测试了复合催化膜在 pH 为 4、6、7、9 条件下的降解能力, 催化降解结果如图 4 所示. 从图 4 可以看出, 在不同 pH 条件下, 复合催化膜对于染料的降解效果无明显变化, 显示出 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{RGO}$ /纤维素复合膜/PMS 体系在处理染料废水中, 有较广的 pH 适用性. 而且更重要的是 MB 溶液的初始 pH 为 8 左右, 因此后续实验可以在不调节 MB 溶液初始 pH 的条件下进行催化降解实验, 简化了实验步骤.

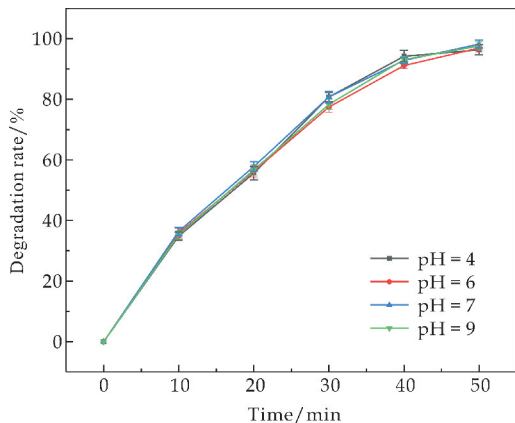


图 4 不同 pH 条件下的催化降解结果

2.4.2 不同氧化剂(PMS)用量下的催化降解结果

在催化降解反应中, 氧化剂用量是影响催化降解性能的主要因素之一. 因此, 本文研究了复合催化膜在不同 PMS 用量下的催化降解性能, 催化降解结果如图 5 所示. 从图 5 可以看出, 在一定范围内, 随着氧化剂用量的提高, 复合催化膜的催化降解性能有了明显的提高, 是因为在一定范围内提高氧化剂的用量, 复合催化膜中的催化剂催化氧化剂产生自由基的数量提高, 从而提高了复合催化膜对 MB 的降解性能. 由于反应体系的复合膜中催化剂用量有限, 因此当氧化剂用量达到一定数值, 提升氧化剂用量, 复合膜对于 MB 的降解提升不明显, 原因是当氧化剂用量过量, 制约催化反应的因素就不再是氧化剂用量. 因此提升氧化剂的用量, 催化性能提升不明显.

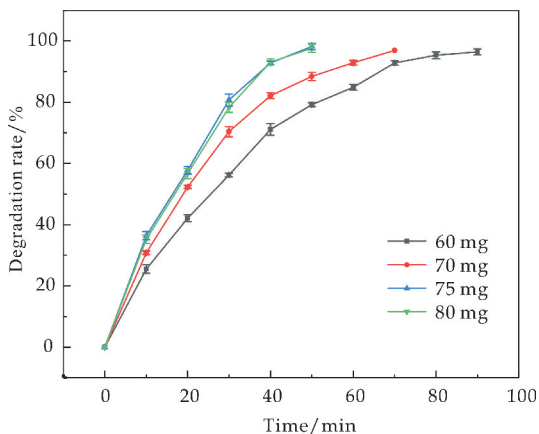


图 5 不同氧化剂(PMS)用量下的催化降解结果

2.4.3 不同催化剂($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{RGO}$)添加量的催化降解结果

催化剂用量是另外一个影响催化降解性能的因素, 本文研究了催化剂添加量分别为 5%、7.5%、10%、12.5% 的复合膜催化降解性能, 催化结果如图 6 所示. 从图 6 可以看出, 当催化剂添加量为 5%~10% 时, 随着催化剂用量的增加, 催化 PMS 产生自由基的催化活性位点增加, 促进了自由基的产生, 从而提高了降解 MB 的性能. 由于反应体系所加入的氧化剂用量一定, 所以催化剂添加量达到一定数值后, 体系产生自由基无明显增加, 因此, 催化效果提升不明显.

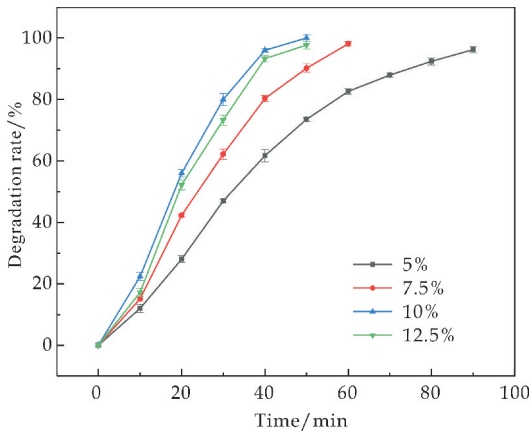


图 6 不同催化剂(Fe₃O₄/RGO)添加量的催化降解结果

2.5 循环使用性能

催化剂的循环使用性能也是来评价催化剂好坏的一个重要标准。当反应结束后,回收复合催化膜,用去离子水清洗复合膜并干燥,用于下一次催化循环使用,结果如图 7 所示。由图 7 可以看出,经过四次循环后,复合膜仍然对 MB 有较高的催化降解性能,说明了所制备的复合膜具有较好的循环使用性能,具有一定的应用前景。

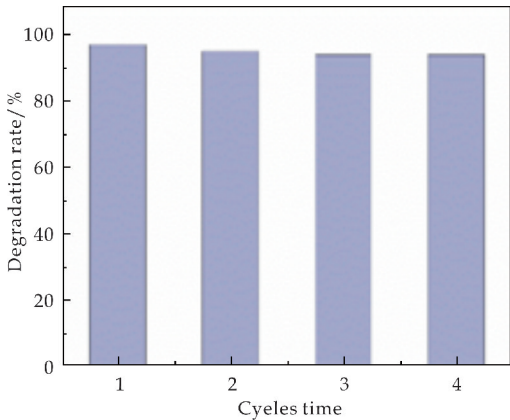


图 7 复合膜降解 MB 的循环实验

3 结论

本研究采用一步溶剂热法制备的 Fe₃O₄/RGO 复合材料,提高了 Fe₃O₄ 的分散性,并将其负载在纤维素膜上,制备得到 Fe₃O₄/RGO/纤维素复合膜,可作为活化 PMS 降解亚甲基蓝的催化剂。催化结果显示,复合催化膜/PMS 的组合对 MB 有较高的催化活性,50 min 可以有效降解 97% 的 MB 且不需要调节 MB 溶液初始 pH。而且反应结束后,复合膜可以容易地从反应体系中分离,从而实现对催化剂的快速回收。此外,复合膜连

续 4 次循环使用后,仍保持了较高的催化活性。因此,本研究所制备的复合膜可作为一种高效易得的催化剂,具有广阔的应用前景。

参考文献

[1] Hu P, Long M. Cobalt-catalyzed sulfate radical-based advanced oxidation: A review on heterogeneous catalysts and applications[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2016, 181: 103-117.

[2] 邢 艳. Fe₃O₄-Au 磁性复合纳米粒子的合成表征及其催化降解有机染料的研究[D]. 西安: 西北大学, 2015.

[3] Gałol M, Przyjazny A, Boczkaj G. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes based on cavitation-a review [J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 338: 599-627.

[4] Boczkaj G, Fernandes A. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes at basic pH conditions: A review[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 320: 608-633.

[5] Ghanbari F, Moradi M. Application of peroxymonosulfate and its activation methods for degradation of environmental organic pollutants[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 310: 41-62.

[6] Liu J, Zhao Z, Shao P, et al. Activation of peroxymonosulfate with magnetic Fe₃O₄-MnO₂ core-shell nanocomposites for 4-chlorophenol degradation [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 262: 854-861.

[7] 尹 飞, 王 翠, 童 少. rGO-Fe₃O₄ 活化过硫酸盐处理酸性红 73[J]. 化工学报, 2019, 70(1): 207-213, 430.

[8] Yan J, Gao W, Dong M, et al. Degradation of trichloroethylene by activated persulfate using a reduced graphene oxide supported magnetite nanoparticle[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 295: 309-316.

[9] Jafari A J, Kakavandi B, Jaafarzadeh N, et al. Fenton-like catalytic oxidation of tetracycline by AC@Fe₃O₄ as a heterogeneous persulfate activator: Adsorption and degradation studies [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2017, 45: 323-333.

[10] Vinothkannan M, Karthikeyan C, Kim A R, et al. One-pot green synthesis of reduced graphene oxide (RGO)/Fe₃O₄ nanocomposites and its catalytic activity toward methylene blue dye degradation[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015, 136: 256-264.

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0012-06

共沉淀法制备 Mg_2Al -LDH 及其鞣制性能研究

杨晓燕, 马建中*, 石佳博, 杨 娜

(陕西科技大学 轻工科学与工程学院 轻化工程国家级实验教学示范中心 教育部轻化工助剂化学与技术重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:采用共沉淀法,通过改变溶液 pH 值制备结晶度高、尺寸大小约为 60 nm 的水滑石 (Mg_2Al -LDH),并将其应用于鞣制山羊皮.通过改变鞣制工艺中的 Mg_2Al -LDH 用量、渗透及结合 pH 值,以收缩温度为考察指标,优化出 Mg_2Al -LDH 用量为 3%、鞣制时间为 2 h、渗透 pH 值为 3.0、结合 pH 值为 4.0 的最佳工艺条件. XRD 及 SEM 结果显示, Mg_2Al -LDH 可以有效分散并渗透在皮胶原纤维内部,在分散皮胶原纤维的同时,可作用到皮胶原纤维束表面及纤维之间.

关键词:水滑石; 鞣制工艺; 皮胶原纤维; 微观结构

中图分类号:TQ943+.1 **文献标志码:** A

Study on preparation of Mg_2Al -LDH by co-precipitation and its tanning properties

YANG Xiao-yan, MA Jian-zhong*, SHI Jia-bo, YANG Na

(College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry, Ministry of Education, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Mg_2Al -Layered Double Hydroxides(Mg_2Al -LDH)with high crystallinity and size of around 60 nm was prepared through changing the pH value of solution according to co-precipitation method. The tanning process based on the as-prepared LDH were further studied by adjusting the dosages of Mg_2Al -LDH,initial and final pH values in terms of the shrinkage temperature of the resulting crust leathers. The optimized tanning system was using 3% LDH for 2 h at initial pH3.0 and final pH4.0. XRD and SEM results showed that Mg_2Al -LDH nanosheets can be well-dispersed and penetrate into collagen fibers dispersing the collagen fibers and bound onto of between the collagen fibrils.

Key words: Mg_2Al -Layered Double Hydroxides; tanning process; collagen fibers; micro-structure

* 收稿日期:2019-11-15

基金项目:国家自然科学基金项目(21838007); 陕西科技大学科研创新团队计划项目(TD12-03)

作者简介:杨晓燕(1994—),女,陕西韩城人,在读硕士研究生,研究方向:水滑石的层板调控及其鞣制性能

通讯作者:马建中(1960—),男,山西沁水人,教授,博士生导师,研究方向:有机/无机纳米杂化材料制备,majz@sust.edu.cn

0 引言

自 21 世纪初以来,随着纳米材料与纳米技术的迅猛发展,国内外制革研究者探索将纳米材料用于皮革制造,以期利用纳米材料独特的结构特性,在提升皮革制品性能和品质的同时,有效减少或消除因传统皮革化学品使用带来的环境污染问题^[1]. 近年来,具有二维纳米片层结构的锂藻土^[2]、蒙脱土^[3]、石墨烯^[4]等因其具有良好的湿热稳定性、物理机械性能和吸附性能等优点而受到广泛关注,制革研究者将它们引入到皮革鞣制^[5]中,一方面将它们与其他有机鞣剂复合制备有机-无机纳米复合助剂或鞣剂,发挥它们作为胶原和有机鞣剂之间的桥梁作用;另一方面,利用它们与皮胶原之间的相互作用制备纳米鞣剂,使其达到改性胶原的目的.

水滑石($Mg_2Al-LDH$)是由镁铝两种金属的氢氧化物构成的一类由带正电荷的双金属氢氧化物片层和层间填充可交换阴离子所构成的层状纳米材料^[6,7]. 该材料安全无毒,具有层板元素可交换性、层间阴离子可交换性、独特的结构记忆效应等特点已被广泛应用于生物材料^[8-10]、水处理^[11,12]和医药领域^[13]等方面.

国外研究者 Mandal S 等^[14]在皮革染色过程引入 $Mg_2Al-LDH$,利用其层板所带正电性来解决皮革染色过程中所产生的败色问题,并对染料和 $Mg_2Al-LDH$ 的添加量和时间进行优化,根据颜色的均匀性进行视觉评估并使用反射分光计来确定 $Mg_2Al-LDH$ 的有效性.

本题组前期采用以二甲基二烯丙基氯化钠、丙烯酸、烯丙基磺酸钠为单体自由基共聚形成的两性乙烯基共聚物与 $Mg_2Al-LDH$ 进行复合,将该纳米复合材料应用于少铬鞣法的预鞣中^[15]. 实验发现,该复合材料中两性聚合物为铬鞣剂提供了更多的活性位点,在减少铬鞣剂 50% 的条件下有效的提高收缩温度;同时 $Mg_2Al-LDH$ 层板的正电性有助于制革过程中后续阴离子型染整化学品的吸收,提高皮革的柔软度,有效解决皮革染色过程中的败色问题,达到加深匀染的效果. 但目前将 $Mg_2Al-LDH$ 引入皮革鞣制的研究未见有文献报道.

本文采用共沉淀法,通过优化溶液 pH 值制备出结晶度高、尺寸适宜的 $Mg_2Al-LDH$;将其应用于鞣制过程,通过优化时间、用量、渗透和结合 pH 值提高 $Mg_2Al-LDH$ 在皮胶原中的渗透与分散,获得该材料鞣制的最佳工艺条件,为探索 $Mg_2Al-LDH$ 在皮革鞣制过程中的应用提供实验基础.

1 实验部分

1.1 实验材料

六水合硝酸镁($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$),分析纯,北京化学公司;九水合硝酸铝($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$),分析纯,北京化学公司;氢氧化钠($NaOH$),分析纯,天津市河东区红岩试剂厂;碳酸钠(Na_2CO_3),分析纯,天津市天利化学试剂有限公司;甲酸($HCOOH$),分析纯,西安福晨化学试剂有限公司;碳酸氢钠($NaHCO_3$),分析纯,天津市天利化学试剂有限公司;山羊皮,实验室自制.

1.2 实验仪器

数显搅拌器,DXS-902,杭州仪表电机有限公司;恒速数显控制器,DXS,杭州仪表电机有限公司;水浴恒温振荡器,SHA-B,常州国华有限公司;数字式皮革收缩温度测定仪,MSW-YD4,陕西科技大学阳光电子研究所.

1.3 $Mg_2Al-LDH$ 的制备及表征

1.3.1 $Mg_2Al-LDH$ 的制备

$Mg_2Al-LDH$ 的制备流程如图 1 所示. 按金属摩尔比为 2 : 1 的比例分别称取硝酸镁、硝酸铝,溶解在 50 mL 超纯水中,制备 $[Mg^{2+}] = 0.05 \text{ mol/L}$ 和 $[Al^{3+}] = 0.025 \text{ mol/L}$ 的金属盐溶液;称取 9.3 g 的碳酸钠溶解在 100 mL 的超纯水中制备浓度为 0.875 mol/L 的碳酸钠溶液;称取 8 g 的氢氧化钠溶解在 100 mL 超纯水中制备出 2 mol/L 的氢氧化钠溶液. 将碳酸氢钠溶液加入三口烧瓶中,金属盐溶液滴加入碳酸钠溶液中,用氢氧化钠将溶液 pH 值维持在 8~12,在 80 °C 的条件下搅拌 2 h,随后保温晶化 8 h. 反应结束后离心、冷冻干燥.

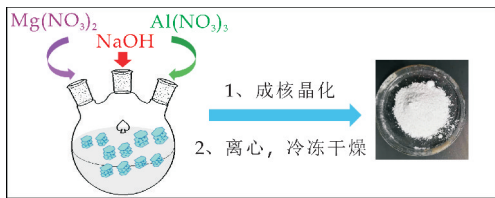


图 1 $Mg_2Al-LDH$ 的制备流程图

1.3.2 $Mg_2Al-LDH$ 的结构表征

X 射线衍射仪(XRD):德国 Bruker 公司的 D8 Advance 型 X-射线衍射分析仪对样品进行扫描. 具体以 X 光光源为 $CuK\alpha 1$ 辐射石墨单色器,管电压为 30 kV,管电流为 35 mA,衍射角(2θ)扫描范围为 $5^\circ \sim 70^\circ$,步长为 0.05° ,扫描速率为 $2^\circ/\text{min}$,曝光时间 10 min,探测器到光源的测量距离为 260 mm.

傅里叶红外光谱仪(FT-IR):美国 Thermo Fisher Scientific 公司的 Nicolet iS5 型衰减全反射傅里叶红外光谱仪对样品进行测试. 扫描范围为 $600 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$,扫描带宽 4 cm^{-1} ,扫描 32 次.

场发射扫描电镜(SEM):日本理学公司 S4800

型场发射扫描电镜观察 $Mg_2Al-LDH$ 的微观形貌,放大倍数为 $\times 500\ 000$ 倍。

1.4 $Mg_2Al-LDH$ 的鞣制工艺

参考文献报道工艺^[16,17],以浸酸山羊皮块为原料,考察鞣剂用量、鞣制时间、渗透及结合 pH 值对鞣革性能的影响。

称重:作为以下材料称重基准。

鞣制:100% 水,温度为 25℃;8% NaCl,10 min;用 1% $HCOOH$ (按质量比为 1:20 稀释)调节浴液不同 pH 值(2.0~4.0),加入不同用量(1%、2%、3%、4%、5%)的 $Mg_2Al-LDH$ 。

调节:继续转动不同时间(1 h、2 h、3 h),用 1%~2% $NaHCO_3$ (按质量比为 1:10 稀释)。

静置过夜,次日转 30 min 测坯革收缩温度 T_s 。

1.5 坯革收缩温度的测定

依据标准测试方法,采用 WSW-YD4 型收缩温度测定仪测试坯革收缩温度。在取样器上横纵方向取 50 mm \times 8 mm 大小皮块各一块,以水为加热介质,以坯革开始发生收缩时收缩温度仪所显示的数值为最终结果,记录并计算平均值。

1.6 广角 X 射线衍射(WAXD)表征

采用同上仪器对 $Mg_2Al-LDH$ 处理前后坯革进行测试,Cu 靶 $K\alpha$ 射线,管电压为 40 kV,管电流为 40 mA,衍射角(2θ)扫描范围为 5°~60°,步长为 0.05°,扫描速率为 4°/min。

1.7 场发射扫描电镜(SEM)表征

场发射扫描电镜(SEM):冷冻切片机上(德国 Leica 公司的 CM1950 型)将皮胶原样品切成厚度为 50 μm 的薄片,之后对样品进行喷金处理。采用日本理学公司 S4800 型场发射扫描电镜观察 $Mg_2Al-LDH$ 处理前后坯革的微观形貌,放大倍数为 $\times 1\ 000$ 倍和 $\times 20\ 000$ 倍。

2 结果与讨论

2.1 $Mg_2Al-LDH$ 的结构表征

图 2 是采用共沉淀法在不同 pH 值条件下,制备所得 $Mg_2Al-LDH$ 的 XRD 谱图。从图 2 可以看出,在 pH 值为 8~12 的条件下制备的 $Mg_2Al-LDH$ 在 2θ 为 12°、23°、35°、62°处出现了 $Mg_2Al-LDH$ 结构特征峰(003)、(006)、(009)、(110),分别代表 $Mg_2Al-LDH$ 的层板间距和晶面特征峰^[18],峰的强度表明制备所得 $Mg_2Al-LDH$ 层板结构的完整度和结晶度。由图 2 可知,随着 pH 值的升高,制备的 $Mg_2Al-LDH$ 的晶面完整度和结晶度均得

到有效地提高。

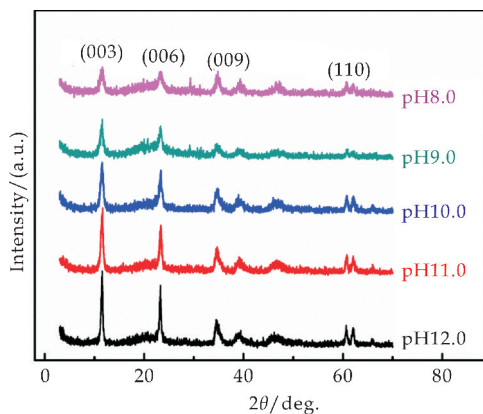
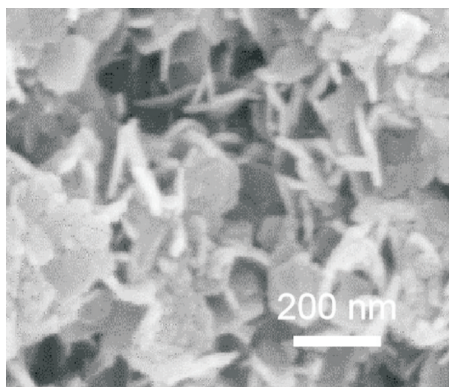
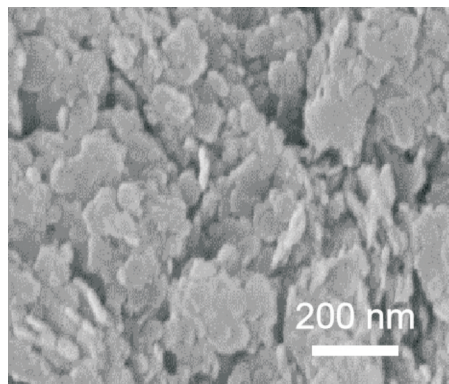


图 2 不同 pH 值条件下制备 $Mg_2Al-LDH$ 的 XRD 谱图

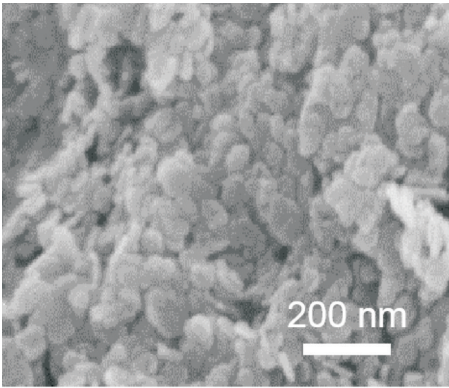
进一步对不同 pH 条件下制备的 $Mg_2Al-LDH$ 进行 SEM 形貌观察,如图 3 所示。可以看出,采用该共沉淀法制备的 $Mg_2Al-LDH$ 具有完整的六边形结构,且随着 pH 值的升高 $Mg_2Al-LDH$ 片层的尺寸明显减小;当 pH 值为 12 时,其片层尺寸约为 60 nm。结合 XRD 及 SEM 的表征结果,最终选取在溶液 pH 值为 12 的条件下所制备的结晶度高、纳米尺寸小的 $Mg_2Al-LDH$ 。此外,EDX 检测结果可知,层板 Mg 元素与 Al 元素与所加入的金属摩尔比一致,表明该方法具有一定的稳定性。



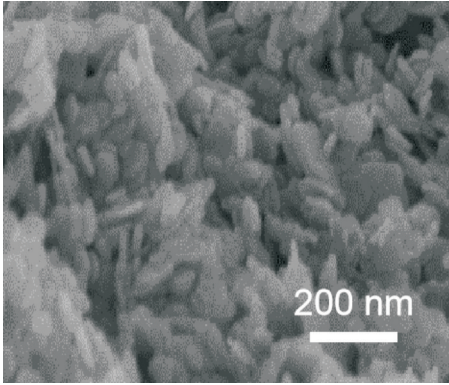
(a)pH 值为 8 时制备的 $Mg_2Al-LDH$



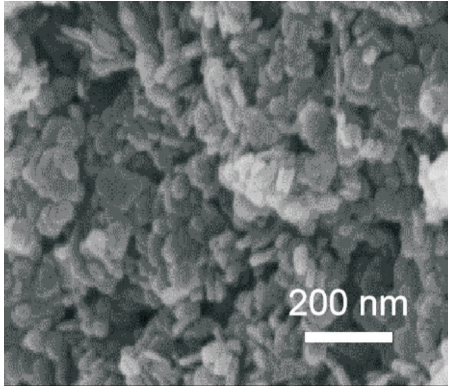
(b)pH 值为 9 时制备的 $Mg_2Al-LDH$



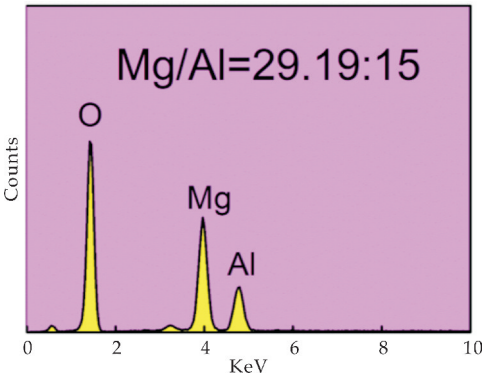
(c)pH 值为 10 时制备的 $Mg_2Al-LDH$



(d)pH 值为 11 时制备的 $Mg_2Al-LDH$



(e)pH 值为 12 时制备的 $Mg_2Al-LDH$



(f)pH 值为 12 时制备的 $Mg_2Al-LDH$

图 3 不同溶液 pH 值条件下制备 $Mg_2Al-LDH$ 的 SEM 图及 EDX 谱图

图 4 为在 pH 值为 12 时所制备的 $Mg_2Al-LDH$ 的 FT-IR 谱图^[19,20]. 由图 4 可知,在 $3\,500\,cm^{-1}$ 左右出现明显吸收峰,属于 $Mg_2Al-LDH$ 层板羟基氢键的伸缩振动峰; $1\,630\,cm^{-1}$ 左右为层板间结晶水的一OH 的伸缩振动峰,说明 $Mg_2Al-LDH$ 层板间及表面有自由水及结合水的存在; $1\,381\,cm^{-1}$ 左右出现的 C=O 不对称峰,说明 $Mg_2Al-LDH$ 层板间 CO_3^{2-} 的规整排列, $600\sim800\,cm^{-1}$ 左右为层板晶格中氧的伸缩振动吸收峰,证实层板结构中 Mg—O 和 Al—O 的形成,表明实验成功制备了 $Mg_2Al-LDH$.

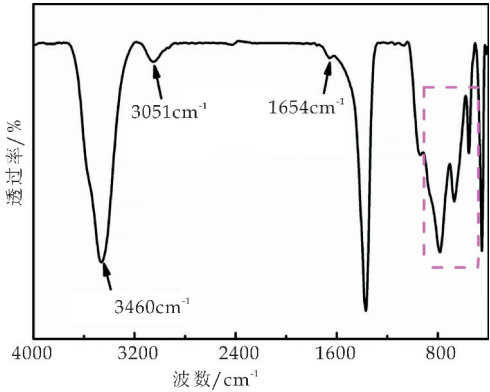


图 4 $Mg_2Al-LDH$ 的 FT-IR 谱图

2.2 $Mg_2Al-LDH$ 的鞣制性能

水滑石在鞣制过程中容易在皮革表面团聚,不利于其在皮革中的分散,从而影响鞣制性能,本文通过优化鞣制工艺提高其分散性.以收缩温度 T_s 为考察指标,考察了不同用量 $Mg_2Al-LDH$ 的鞣制性能,结果如图 5 所示.由图 5 可以看出,随着 $Mg_2Al-LDH$ 用量的增加,坯革的 T_s 有所提升;当用量超过 3% 后,鞣制时间对收缩温度的影响不大.

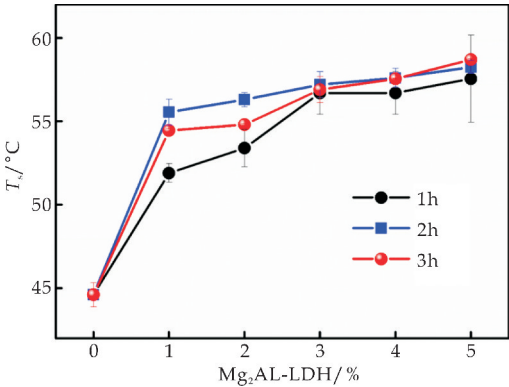
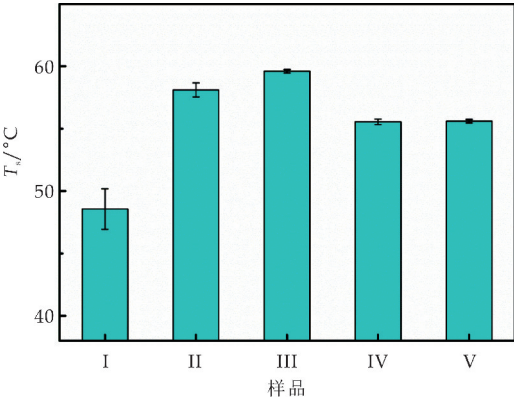


图 5 不同用量 $Mg_2Al-LDH$ 鞣制坯革的 T_s

图 6 为渗透 pH 值对 $Mg_2Al-LDH$ 的鞣制性能的影响.由图 6 可知,坯革 T_s 在初始 pH 为 3.0 时较高.这可能是由于 $Mg_2Al-LDH$ 在酸性条件下具有较高的正电性和良好的分散稳定性,利于其在坯革中渗透分散.



I : 酸皮; II : pH 值为 2.0; III : pH 值为 3.0; IV : pH 值为 4.0; V : pH 值为 5.0

图 6 不同渗透 pH 值下 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制坯革的 T_s

此外,进一步考察了结合 pH 值对 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 的鞣制性能的影响,结果如图 7 所示.由图 7 可以发现,不同用量的 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 在不同结合 pH 的条件下,结合 pH 值为 4.0 时的收缩温度明显高于结合 pH 值为 5.0 时的收缩温度,不同结合 pH 的 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 均在 3% 的条件下达到饱和.因此,确定最佳工艺为 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 的用量为 3%、鞣制时间为 2 h、渗透 pH 值为 3.0 以及结合 pH 值为 4.0.

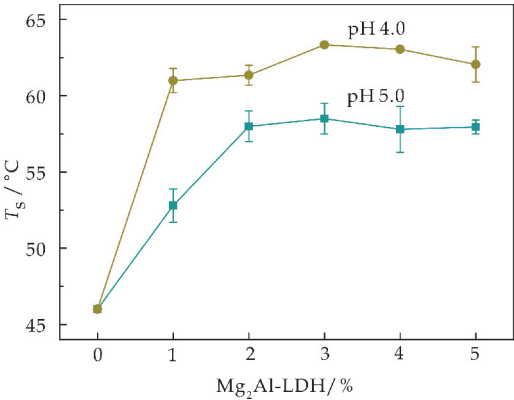


图 7 结合 pH 值为 4.0 和 5.0 条件下不同用量的 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制坯革的 T_s

2.3 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制坯革的 WAXD 分析

图 8 为 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制前后坯革的 WAXD 谱图.由图 8 可以看出,在 1.18 nm 处的衍射峰 I 为胶原分子的间距,0.426 nm 处出现的衍射峰 II 为胶原无定型的非晶区,0.280 nm 处的衍射峰 III 是胶原三股螺旋结构区轴向氨基酸残基平移值.0.241 nm 和 0.20 nm 处的衍射峰 IV 和衍射峰 V 分别是胶原分子 N 端和 C 端氨基酸的轴向平移值.这与之前的报道结果一致^[21].此外, $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制后坯革的衍射峰 I 的峰强度减弱,说明 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 的引入可以起到分散胶原纤维的作用,增大胶原纤维间距,但并没有改变胶原的三股螺旋构象.

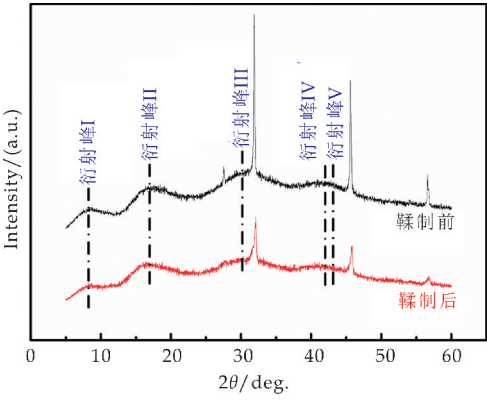
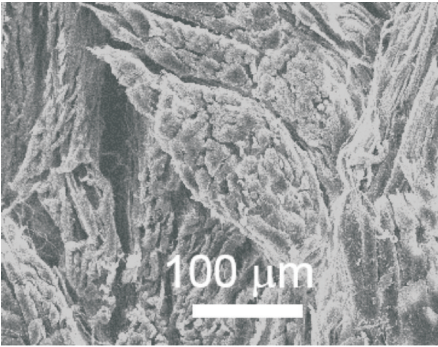


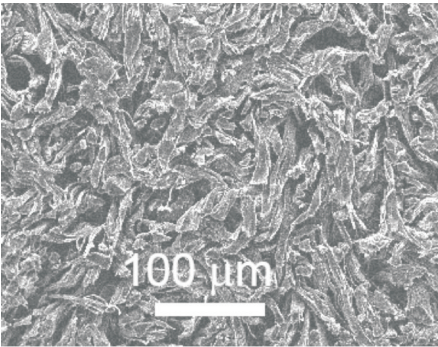
图 8 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制前后坯革的 WAXD 图

2.4 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制坯革的 SEM 观察

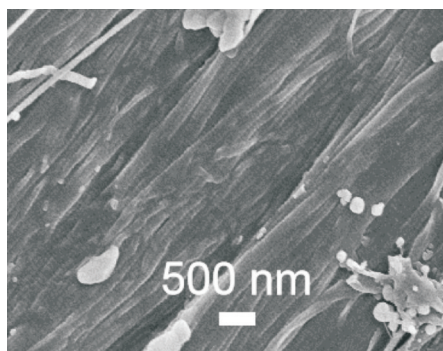
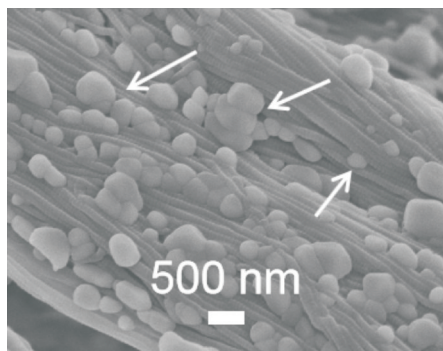
图 9 为 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制前后坯革的 SEM 图.在图 9(a)中,胶原纤维束呈现大部分聚集的状态.在同一倍数下, $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制后的坯革其胶原纤维的分散状态如图 9(b)所示.对比可知, $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 的加入可以分散胶原纤维束,增大胶原纤维间距^[22].在图 9(c)中,未处理的胶原纤维可以看到明暗相间的完整的周期性结构.在图 9(d)中,经 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制后的坯革,可以看到大量的 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 沉积在胶原纤维束上并作用于皮胶原纤维束表面及纤维之间,而且原纤维明暗相间的周期性结构完整,说明 $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 通过氢键、静电等作用与皮胶原中带负电的羧基官能团进行结合,从而起到鞣制效果.



(a) $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制前坯革的 SEM 谱图 $\times 1\,000$



(b) $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ 鞣制后坯革的 SEM 谱图 $\times 1\,000$

(c) $Mg_2Al-LDH$ 鞣制前坯革的 SEM 谱图 $\times 20\ 000$ (d) $Mg_2Al-LDH$ 鞣制后坯革的 SEM 谱图 $\times 20\ 000$ 图 9 $Mg_2Al-LDH$ 鞣制前后坯革的 SEM 谱图

3 结论

(1) 本文采用共沉淀法,通过改变溶液 pH 值对 $Mg_2Al-LDH$ 层板尺寸和层板结构结晶度进行优化,最终确定在溶液 pH 值为 12 的条件下制备出结晶度高、尺寸约为 60 nm 的 $Mg_2Al-LDH$ 。

(2) 通过优化 $Mg_2Al-LDH$ 的鞣制过程中的鞣剂用量,渗透 pH 和结合 pH 等条件,可知,当用量为 3%、鞣制时间为 2 h、渗透 pH 值为 3.0、结合 pH 值为 4.0 时坯革 T_s 最佳。XRD 和 SEM 分析显示, $Mg_2Al-LDH$ 可以有效分散并渗透在皮胶原纤维内部,并作用到皮胶原纤维束表面及纤维之间。

参考文献

[1] Junaid M, Hashmi M Z, Malik R N, et al. Toxicity and oxidative stress induced by chromium in workers exposed from different occupational settings around the globe: A review[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2016, 23(20): 1-17.

[2] Shi J, Wang C, Ngai T, et al. Diffusion and binding of lapomite clay nanoparticles into collagen fibers for the formation of leather matrix[J]. Materials Science Forum, 2018, 694: 103-107.

[3] 鲍艳, 杨宗遂, 马建中, 等. 乙烯基类聚合物/蒙脱土纳米复合鞣剂鞣制机理的研究-复合鞣剂与皮胶原模型物的作用[J]. 中国皮革, 2005, 34(3): 34-37.

[4] Lv S, Zhou Q, Li Y, et al. Tanning performance and environmental effects of nanosized graphene oxide tanning agent[J]. Clean Technologies and Environmental Policy, 2016, 18(6): 1 997-2 006.

[5] 马建中, 侯雪艳, 吕斌, 等. 纳米材料与技术皮革工业中的应用[J]. 中国皮革, 2016, 45(11): 29-35.

[6] He S, An Z, Wei M, et al. Layered double hydroxide-based catalysts: Nanostructure design and catalytic performance[J]. Chemical Communications Royal Society of Chemistry, 2013, 49: 5 912-5 920.

[7] 贾璐, 马建中, 高党鸽, 等. 层状双氢氧化物/聚合物纳米复合材料[J]. 化学进展, 2018, 30(2/3): 295-303.

[8] Castillo R O, Doumer M E, Arizaga, et al. Spectroscopic study of copper adsorption by chitosan and lignin composites containing layered double hydroxides[J]. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 2018, 226: 1-8.

[9] Forano C, Bruna F, Mousty C, et al. Interactions between biological cells and layered double hydroxides: Towards functional materials[J]. The Chemical Record, 2018, 18: 1 150-1 166.

[10] Anna Marzec, Boleslaw Szadkowski, Jacek Rogowski, et al. Eco-friendly alkali-free arginine-assisted hydrothermal synthesis of different layered double hydroxides and their chromate adsorption/reduction efficiency[J]. Energy Technology & Environmental Science, 2017, 2: 10 459-10 469.

[11] Yang S, Wang L, Zhang X, et al. Enhanced adsorption of Congo red dye by functionalized carbon nanotube/mixed metal oxides nanocomposites derived from layered double hydroxide precursor[J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 275: 315-321.

[12] Sheng T, Zhang Z, Hu Y, et al. Adsorption of phosphorus by using magnetic Mg-Al-, Zn-Al- and Mg-Fe-layered double hydroxides: Comparison studies and adsorption mechanism[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26: 7 102-7 114.

[13] Koilraja P, Kalusulingam R, Sasaki Keiko. Arginine and lysine-functionalized layered double hydroxides as efficient sorbents for radioactive Co^{2+} removal by chelate-facilitated immobilization[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 347: 359-369.

[14] Mandal S, Natarajan S, Suresh S, et al. Layered clay aqueous dispersion as a novel dye leveling agent in leather processing: Synthesis, characterization and application studies[J]. Applied Clay Science, 2015, 115: 17-23.

[15] Jia L, Ma J, Gao D, et al. Facile preparation approach of nanocomposite based on water-soluble polymer and layered double hydroxides for the enhancement of leather dyeing[J]. Applied Clay Science, 2018, 152: 22-28.

[16] 石佳博, 周玉玲, 李晓鹏, 等. 单宁酸-凹凸棒土结合鞣法的研究[J]. 中国皮革, 2013, 42(3): 1-5.

[17] Shi J, Puig R, Sang J, et al. A comprehensive evaluation of physical and environmental performances for wet-white leather manufacture[J]. Journal of Cleaner Production, 2016, 139: 1 512-1 519.



* 文章编号:2096-398X(2020)01-0018-07

微波-机械联合破碎剩余污泥的机制研究

亓雪菲¹, 王杰峰², 张雨笛¹, 刘少卓¹, 张安龙¹,
王先宝^{1*}, 马明华³

(1. 陕西科技大学 环境科学与工程学院, 陕西 西安 710021; 2. 中交第一公路勘察设计研究院有限公司, 陕西 西安 710075; 3. 西安市第五污水处理厂, 陕西 西安 710021)

摘要: 剩余污泥破碎可实现溶解性有机物的快速释放, 是解决污水处理厂生物脱氮除磷碳源不足的有效措施, 目前此方面的研究主要集中在机械、微波、超声等单一的方式对污泥破碎程度的影响, 而对于不同破碎方式联合作用的研究相对较少. 开展微波-机械联合作用破碎剩余污泥效果的研究, 实验结果表明, 单独机械破碎剩余污泥 2 min 时, SCOD 产量为 153.78 mg/L, 单独微波作用 6 min 时, SCOD 产量为 795 mg/L. 微波作用与机械破碎具有一定的协同响应, 微波(6 min)-机械(2 min)联合作用下, SCOD 产量达到 1 354 mg/L, 明显高于二者单独作用下 SCOD 产量之和, 同时联合作用下溶解性多糖和蛋白质浓度分别达到 133.3 mg/L 与 69.18 mg/L. 微波-机械联合处理可以达到较好的污泥破解效果, 污泥破碎率达到 84.4%, 从而实现 SCOD 的快速释放与回收.

关键词: 微波-机械处理; 剩余污泥; 污泥破碎

中图分类号: X703

文献标志码: A

Study on the mechanism of microwave-mechanical combination in crushing excess sludge

QI Xue-fei¹, WANG Jie-feng², ZHANG Yu-di¹, LIU Shao-zhuo¹,
ZHANG An-long¹, WANG Xian-bao^{1*}, MA Ming-hua³

(1. School of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. CCCC First Highway Consultants Co., Ltd., Xi'an 710075, China; 3. Xi'an No. 5 Wastewater Treatment Plant, Xi'an 710021, China)

Abstract: Excess sludge crushing can realize the rapid release of dissolved organic matter, which is an effective measure to solve the shortage of biological nitrogen, phosphorus and carbon sources in wastewater treatment plants. At present, the research in this field mainly focuses on the impact of single methods such as machinery, microwave and ultrasound on the degree of sludge crushing, while the study on the combined effect of different crushing methods is relatively less. In this paper, the effect of microwave-mechanical combined action on crushing excess sludge was studied. The experimental results showed that the SCOD output

* 收稿日期: 2019-08-28

基金项目: 陕西省科技厅重点研发计划项目(2017ZDXM-SF-096); 陕西省科技厅自然科学基金项目(2017JQ5097); 陕西省咸阳市科技计划项目(2018k02-32)

作者简介: 亓雪菲(1994—), 女, 陕西西安人, 在读硕士研究生, 研究方向: 污泥处置与资源化利用

通讯作者: 王先宝(1986—), 男, 黑龙江五大连池人, 副教授, 博士, 研究方向: 污水处理理论与技术, wangxianbao1986@qq.com

was 153.78 mg/L when the excess sludge was crushed by mechanical alone for 2 minutes, and 795 mg/L when the excess sludge was crushed by microwave alone for 6 minutes. The output of SCOD reached 1 354 mg/L under the combined action of microwave (6 min) and mechanical (2 min), which was significantly higher than the sum of SCOD output under the combined action of microwave and mechanical, and the concentration of soluble polysaccharide and protein reached 133.3 mg/L and 69.18 mg/L respectively under the combined action of microwave and mechanical. Microwave-mechanical combined treatment can achieve better sludge disintegration effect, sludge breakage rate reached 84.4%, thus achieving the rapid release and recovery of SCOD.

Key words: microwave-mechanical treatment; excess sludge; sludge crushing

0 引言

目前,我国城市污水处理厂在工艺运行过程中主要面临两个问题:首先活性污泥工艺运行过程中产生大量的剩余污泥,一种由有机残留物、细菌菌体、无机颗粒、胶体等组成的复杂非均质体,常规污水处理过程中污泥产生量约占污水总量 0.3%~0.5%(体积),处理处置成本较高^[1],另一方面,进水有机物含量较低,生物处理单元碳源不足直接制约了脱氮除磷效果^[2,3].随着我国污水处理厂出水排放标准的提高,对污水处理厂脱氮除磷提出了更高的要求,碳源不足的问题越发突出^[4].

已有研究表明,剩余污泥的水解酸化产物可有效地为生物脱氮除磷过程提供碳源,减少污泥产量.因此,提高污泥厌氧水解酸化效率是目前研究的热点.但是由于微生物的细胞壁阻碍细胞内有机物质的流出,限制了有机物质与水解酸化细菌作用,使得水解过程成为污泥厌氧发酵产酸的限速步骤^[5,6],因此国内外学者通过在厌氧发酵前对污泥进行预处理,破解污泥从而释放碳源来提高厌氧发酵效率.

目前常用的污泥预处理技术有机械、微波、超声波-Fenton 联用等.常用的联合预处理方法主要有微波与碱联合预处理、热与碱联合预处理、超声波与碱联合预处理、超声波和热联合预处理等,刘东方等^[7]采用机械破碎方法—球磨机对污水处理厂初沉池的污泥进行球磨破解,结果表明,初沉污泥的最佳水解酸化条件为:水解酸化时间 5 d,此时反应后系统 SCOD 从 1 742 mg·L⁻¹增加到 8 256 mg·L⁻¹,污泥水解转化效率为 32.0%.

马妮娜等^[8]研究了在微波辐照功率为 800 W、辐照时间为 110 s、NaOH 添加量为 0.14 g,SS 去除率达到 46%,SCOD 增至 2 487 mg·L⁻¹,比单独微波处理的 190 mg·L⁻¹增加了约 12 倍;采用热—碱

联合处理技术对剩余污泥进行预处理,结果表明:在 pH=12.0,温度为 88.8 ℃条件下处理 73.79 min,能获得理论最大溶胞率 48.1%,最高挥发酸质量浓度(以 COD 计)为 3 269.20 mg·L⁻¹,是对照组的 3.22 倍^[9].

对于微波与机械联合破解污泥的研究目前鲜有报道.因此,本文提出了一种以微波-机械联合技术破碎污泥,使微波作为预处理技术强化机械作用下污泥的碳源释放效率,缩短碳源释放的时间,实现污泥中有机碳源的快速转化与回收.

1 实验部分

1.1 污泥来源

本研究所用污泥取自西安市某污水处理厂二沉池剩余污泥.污泥取回后,经过滤除去大颗粒物质及毛发等杂物,调整污泥浓度为 15 000 mg·L⁻¹,然后将污泥保存在 4 ℃冰箱中备用.实验污泥的主要性质如表 1 所示.

表 1 剩余污泥的主要性质

指标	数值
pH	6.9±0.1
SS/(mg/L)	15 280±250
VSS/(mg/L)	8 097±50
SCOD/(mg/L)	29.8±5
磷酸盐/(mg/L)	0.13±0.01
氨氮/(mg/L)	0.69±0.1
多糖/(mg/L)	2.17±0.15
蛋白质/(mg/L)	5.7±0.2

1.2 实验仪器和试剂

(1)实验仪器

污泥机械破壁装置采用九阳 JYL-Y99 破壁机;微波装置采用美的 MM721NG1-PW/M1-211A 微波炉.

(2)实验试剂

实验过程中的主要药剂如表 2 所示.

表 2 主要实验药剂

序号	药品	规格	生产厂家
1	葡萄糖	分析纯	天津市天力化学试剂有限公司
2	硝酸钠	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
3	硫酸	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
4	碘化钾	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
5	氢氧化钠	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
6	抗坏血酸	分析纯	四川西陇化工有限公司
7	磷酸二氢钾	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
8	酒石酸锶钾	分析纯	天津市天力化学试剂有限公司
9	邻苯二甲酸氢钾	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司

1.3 实验方法

(1)单独微波处理

取 800 mL 剩余污泥置于 1 000 mL 烧杯中,用保鲜膜密封,保持最大功率 700 W 下分别进行微波处理 0 min、2 min、4 min、6 min、8 min 后进行实验分析。

(2)单独机械处理

取 800 mL 剩余污泥置于 1 500 mL 破壁机中,保持最强机械力为 4.8×10^4 g,分别进行机械破壁污泥 0 min、2 min、4 min、6 min、8 min 后进行实验分析。

(3)微波-机械处理

取 800 mL 剩余污泥置于 1 000 mL 烧杯中,用保鲜膜密封,进行最大功率 700 W 最优时间下的微波处理,取出烧杯将污泥置于破壁机中进行机械处理,保持最强机械力为 4.8×10^4 g,分别进行机械破壁污泥 0 min、2 min、4 min、6 min、8 min 后进行实验分析。

1.4 分析指标

pH 采用上海雷兹 PHB-4 型 pH 计测定;挥发性固体含量(VSS)、污泥浓度(SS)采用重量法测定;化学需氧量(COD)、溶解性化学需氧量(SCOD)采用重铬酸盐法测定,SCOD 经离心机 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离 10 min 后取上清液,用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,取滤液进行测定,蛋白质采用苯酚-硫酸法^[10],多糖采用考马斯亮蓝 G250 染色法^[11]测定,氨氮采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法;磷酸盐采用钼酸铵分光光度法测定。

采用溶出率(DD)作为评价污泥破解的指数^[12]。多糖、蛋白质也均可表示污泥破解的效果。溶出率(DD)的计算方法为:

$$DD = (SCOD_1 - SCOD_0) / (TCOD_0 - SCOD_0)$$
 (1)

式(1)中: $SCOD_1$ 表示污泥处理后溶解性 COD 的质量浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $TCOD_0$ 表示污泥样品的总 COD 的质量浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $SCOD_0$ 表示污泥处理前溶解性 COD 的质量浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 污泥上清液 SCOD 产量变化

由图 1 可以看出,随着单独微波时间的增加,SCOD 浓度逐渐增大,在微波 6 min 时,SCOD 产量最大 $795\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,到 6 min 后 SCOD 浓度有所下降,原因是随着微波辐射时间的增加,混合液的温度快速上升,小分子有机物蒸发,从而导致上述情况出现^[13]。因此,本实验微波作为预处理技术处理污泥的最优条件为最大功率 700 W,微波时间为 6 min。

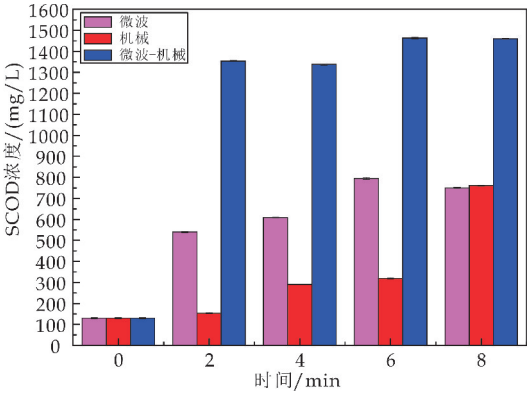


图 1 污泥上清液中 SCOD 浓度的变化

随着单独机械破碎时间的增加,SCOD 浓度逐渐增大,在机械破碎 8 min 时,SCOD 浓度 $761.22\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与未进行机械破碎的原始污泥相比 SCOD 增量为 $631.42\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

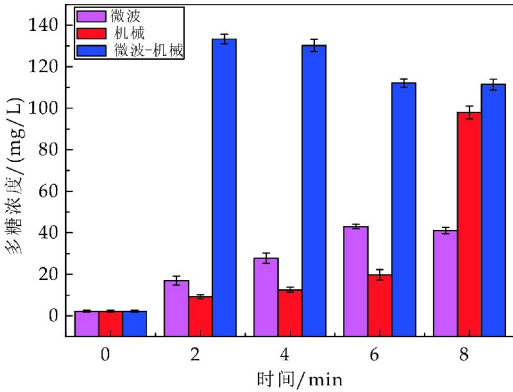
在微波联合机械技术破碎污泥的趋势图中,微波 6 min 作为预处理技术,随着机械破碎时间的增大,SCOD 产量逐渐增加,在破碎时间为 2 min 时,SCOD 增长速率最大,此时污泥上清液中 SCOD 浓度为 $1\,350\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与原始污泥相比,SCOD 增量 $1\,220.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,在 2 min 后 SCOD 浓度基本趋于稳定。分析其原因,微波预处理时辐射作用和热效应使得污泥胞外聚合物和细胞破碎大部分破碎,从而释放出大量有机质^[14]。

实验结果表明:微波联合机械处理剩余污泥效果优于单独微波、机械处理污泥的效果;在 2 min 时,微波单独作用释放的 SCOD 的产量为 $540\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,机械单独作用释放的 SCOD 的产量为 $153.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,联合作用下 SCOD 的产量为 $1\,354\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,单独微波和单独机械作用产生的 SCOD 的产量之和小于联合作用下 SCOD 的产量,因此,微波与机械联合作用下产生了协同作用。而且随着破碎污泥时间的增大,联合作用处理污泥效果增加趋势较小,所以考虑到节能方面,选定最佳的时间为 2 min。

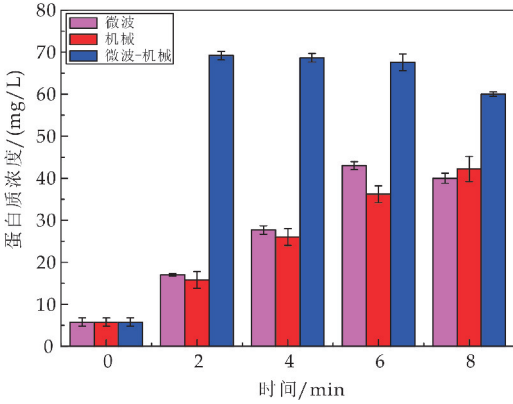
2.2 溶解性多糖、溶解性蛋白质的变化

蛋白质和多糖是污泥胞外聚合物的主要成分,亦是污泥可降解有机质的主要成分,其污泥破解前后浓度的变化亦是表征污泥破解碳源释放效果的重要指标^[15].

由图 2 可知,当只利用微波技术处理污泥时,随着破碎时间的增加,溶解性多糖、溶解性蛋白质的浓度也在逐渐增加,在 6 min 时,溶解性多糖、溶解性蛋白质的产量达到最大,溶解性多糖的浓度为 43 mg · L⁻¹,溶解性蛋白质的浓度 40 mg · L⁻¹,单独机械作用破碎污泥时,多糖和蛋白质的产量逐渐增多,8 min 时多糖和蛋白质的产量分别为:98 mg · L⁻¹和 42.22 mg · L⁻¹;微波 6 min 作为预处理技术联合机械技术破解污泥时,溶解性多糖、蛋白质的溶出在 2 min 后有较明显的提高,在 2 min 时,溶解性多糖、蛋白质的浓度分别为 133.3 mg · L⁻¹,69.18 mg · L⁻¹. 由于在微波时间 6 min,机械破碎 2 min 后,进一步延长机械破碎时间并没有对污泥有机物溶出产生明显影响. 因此,从经济角度考虑,本试验在微波预处理破解污泥 6 min 条件下,最佳机械破碎污泥时间为 2 min.



(a) 破碎时间对多糖的影响



(b) 破碎时间对蛋白质的影响

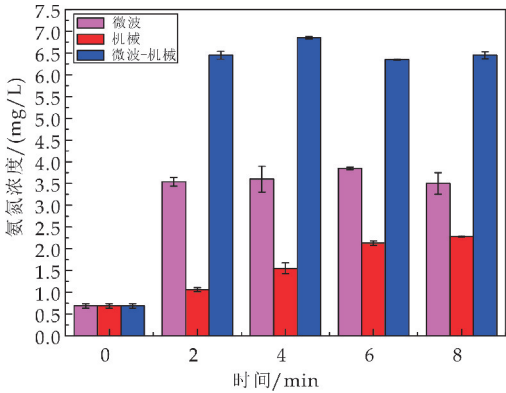
图 2 破碎时间对多糖和蛋白质释放效果的影响

2.3 氨氮、磷酸盐的浓度变化

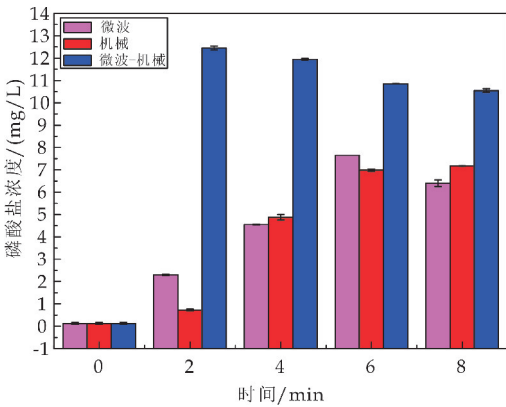
对于氨氮和磷酸盐的溶出效果如图 3 所示. 单

独微波处理污泥 2 min 时氨氮和磷酸盐的浓度增长速率较快,此时的氨氮和磷酸盐的浓度为 3.54 mg · L⁻¹和 2.3 mg · L⁻¹;单独机械作用处理污泥时,污泥的氨氮和磷酸盐的产量随着时间的增大而逐渐增加,氨氮的产量从 0.69 mg · L⁻¹(原始污泥)增加到 2.28 mg · L⁻¹(8 min),磷酸盐的产量从 0.125 mg · L⁻¹(原始污泥)增加到 7.175 mg · L⁻¹(8 min),分析其原因,机械破碎污泥时胞外聚合物、细胞壁经过破裂,胞内物溶出,所含蛋白质发生水解生成氨氮,SCOD 值增加,氨氮值也相应增加,胞外聚合物和细胞结构的破坏,使细胞内的磷迅速释放溶入液相中,从而磷酸盐产量增加^[16].

当微波 6 min 做为预处理技术联合机械技术破解污泥时,随着机械作用时间的增大,氨氮和磷酸盐在 2 min 时增长速率较大后趋于稳定,此时溶液中的氨氮含量为 6.45 mg · L⁻¹,这与溶解性蛋白质溶出效果变化趋势一致;磷酸盐含量为 12.45 mg · L⁻¹. 可以得出,微波与机械联合技术破解污泥过程中,微波预处理 6 min 后随着机械破碎时间的增大,污泥破解程度越高,释放出的含磷物质越多. 微波作为预处理技术联合机械技术破解污泥与单独微波、单独机械技术破解污泥相比释放的氮磷产量更大,与李海兵等^[17]研究相吻合.



(a) 破碎时间对氨氮的影响



(b) 破碎时间对磷酸盐的影响

图 3 破碎时间对氨氮和磷酸盐产量的影响

2.4 联合技术对污泥破碎程度的影响

微波能快速溶解污泥细胞,使固态 COD 转化成溶解态 COD,溶出率 DD 可有效评价微波处理后剩余污泥的有机物释放程度,同时也代表了剩余污泥的水解程度^[18].

从图 4 可知,单独机械破碎污泥,随着破碎时间的增加,破碎程度逐渐增大,在第 8 min 污泥细胞中有机物溶出率最大,污泥破碎率为 43.54%,对比单独机械法,微波作为预处理技术联合机械技术对污泥的有机物溶出效果更显著,在第 0~2 min 时污泥破碎程度突增后趋于稳定,第 2 min 污泥的破碎率为 84.41%,说明微波为预处理技术联合机械技术作用,污泥的破碎程度大大提升,预处理效果明显,有机物的最大溶出率 DD 比机械单独作用提高 47%. 可见,使用微波联合机械技术后,能有效提高后续污泥破碎的效果.

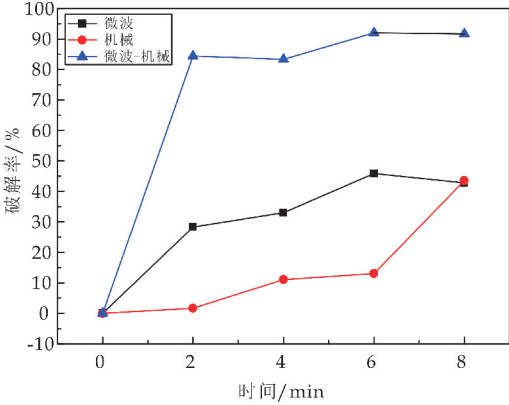
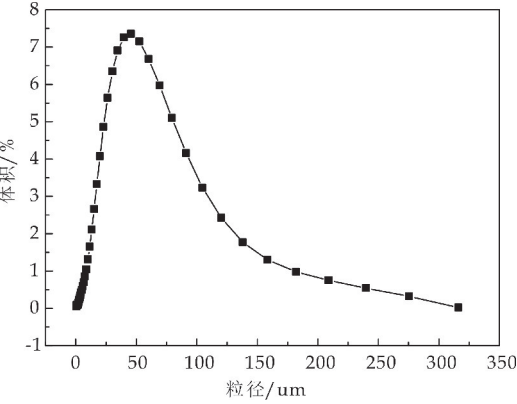


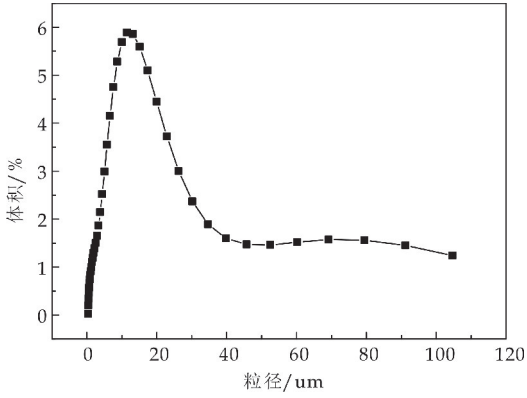
图 4 不同时间下污泥的破碎程度

2.5 污泥粒径的变化

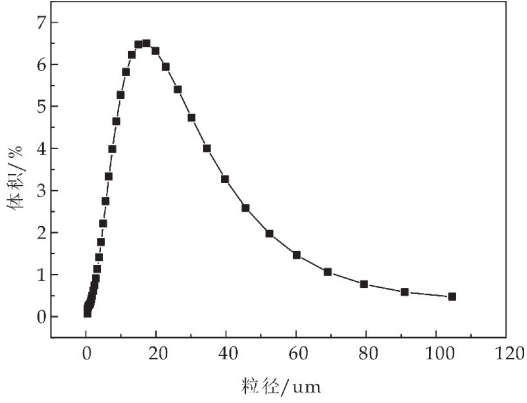
经过粒度分析实验可以看出:图 5(a)为原始污泥,图 5(b)为微波单独作用 2 min 污泥平均粒径分布,图 5(c)单独机械破碎 2 min 污泥平均粒径分布图. 图 6(a)、(b)分别微波预处理 6 min 后机械破碎 0 min、微波预处理 6 min 后机械破碎 2 min 污泥平均粒径分布图.



(a)原始污泥粒径大小

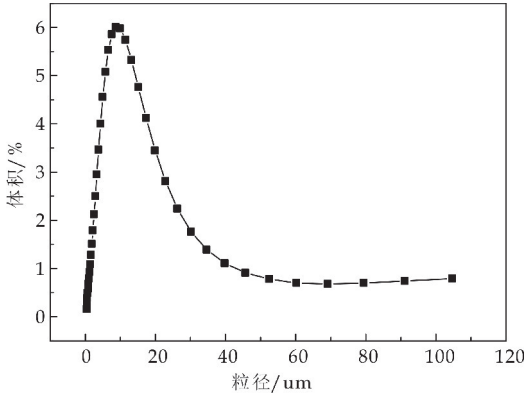


(b)微波破碎 2 min 时污泥粒径大小

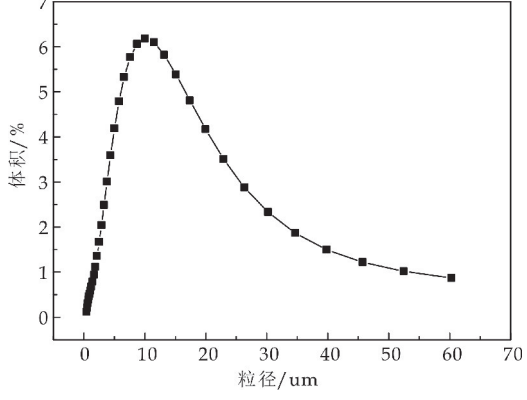


(c)机械破碎 2 min 时污泥粒径大小

图 5 单独技术作用时污泥粒径大小



(a)微波破碎 6 min、机械破碎 0 min 时污泥粒径大



(b)微波破碎 6 min、机械破碎 2 min 时污泥粒径大小

图 6 联合技术破碎时污泥粒径大小

从图 7 可以看出,两组实验都呈现出近乎相同的变化趋势,即在 8 min 的破碎时间内随着时间的变化粒度呈现逐渐递减的趋势.微波预处理 6 min 后进行 2 min 机械破碎污泥与单独微波 2 min、单独机械 2 min 破碎污泥技术相比,粒径由 32 μm 分别减小到 29 μm 和 21 μm ,说明微波作为预处理技术提高了污泥的破碎程度,污泥的粒径进一步减小,并且随着破碎时间越久污泥粒径越小.

分析其原因:微波破碎后污泥粒径会受到明显影响,能够透射到生物组织内部使偶极分子和蛋白质的极性侧链以极高的频率振荡,引起分子的电磁振荡等作用同时对氢键、疏水键和范德华力产生作用,使污泥絮体结构发生变化,导致粒径的进一步降低^[19].在第 8 min 粒径有小幅度的上升,可能是温度升高导致的污泥絮体发生絮凝作用.

从图 7 数值上也可以看出,经过的时间越长,最终破碎的粒径越小;同时从图 7 中还可以看出,联合技术比单独微波、单独机械技术破碎剩余污泥的效果要更好.

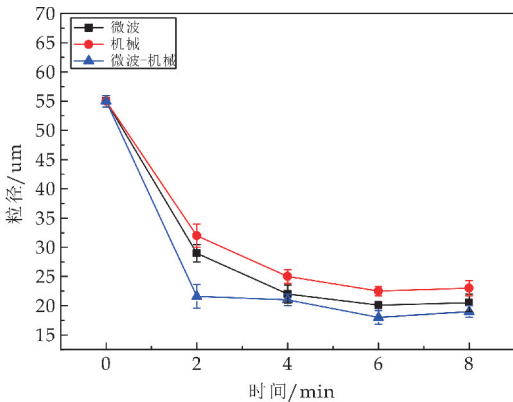


图 7 污泥粒径的变化

3 结论

(1)剩余污泥通过单独微波作用破碎剩余污泥,6 min 时 SCOD 浓度达到最大,约为 795 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;单独机械破碎 2 min 时,SCOD 产量为 153.78 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,随着机械破碎时间的增加,SCOD 产量逐渐增加,机械破碎 8 min 时,SCOD 浓度达到 761.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.微波作用与机械破碎具有一定的协同响应,微波(6 min)-机械(2 min)联合作用下,SCOD 产量达到 1 354 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,明显高于二者单独作用下 SCOD 产量之和.同时联合作用下溶解性多糖和蛋白质浓度分别达到 133.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 69.18 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.微波-机械联合处理可以达到较好的污泥破碎效果,污泥破碎率达到 84.4%,从而实现 SCOD 的快速释放与回收.

(2)预处理技术可改变污泥的粒径大小,使用粒度分析仪更为准确地表征污泥絮体的变化.根据实验的粒径分布情况,破碎时间为 2 min 时,单独微波处理和联合作用下污泥的粒径大小为 29 μm 和 32 μm ,通过对比发现联合作用对污泥颗粒破碎程度较强,当微波作为预处理技术功率为 700 W、微波时间为 6 min 时联合机械破碎污泥技术,机械力度为 $4.8 \times 10^4 \text{ g}$,机械时间为 2 min 时,污泥的粒径为 21 μm ,进一步验证了微波作为预处理技术强化了机械技术对碳源释放效率.

参考文献

[1] 徐振佳,张雪英,周俊,等.城市污水厂剩余污泥脱水技术综述[J].净水技术,2018,37(2):38-44.

[2] 孙雅雯,张建华,彭永臻,等.外加碳源类型对 A_2/O -BCO 系统脱氮除磷性能的影响[J].化工学报,2018,69(8):3 626-3 634.

[3] Jin P L, Wang X B, Zhang Q H, et al. A new activated primary tank developed for recovering carbon source and its application[J]. Bioresour Technol, 2018, 200: 722-730.

[4] Lin Y M, Zhou S Q, Li F Z, et al. Utilization of muniC1-pal sewage sludge as additives for the production of ecocement [J]. J Hazard Mater, 2012, 213: 457-465.

[5] 林奕明,方益民,许冠英.广东省污泥无害化处置情况及技术策略探讨[J].中国给水排水,2017,33(12):4-7.

[6] Baier U, Schmidheiny P. Enhanced anaerobic degradation of mechanically disintegrated sludge[J]. Water Science & Technology, 2014, 36(11): 137-143.

[7] 刘东方,白思琴,韩磊.初沉污泥球磨破碎后水解酸化研究[J].环境污染与防治,2012,34(9):5-7.

[8] 马妮娜,孙德栋,郭思晓,等.微波-碱热水解剩余污泥的破碎研究[J].大连工业大学学报,2011,30(5):375-378.

[9] 彭晶,郭泽冲,侯玲玲,等.热碱预处理对剩余污泥发酵产酸效能提升的影响[J].哈尔滨工业大学学报,2012,44(8):43-47.

[10] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.

[11] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(2): 248-254.

[12] 何足道,王电站,颜成,等.城市污泥生物沥浸法和化学法调理的效果比较—对污泥理化性质及其深度脱水性能的影响研究[J].中国环境科学,2019,39(3):125-131.

[13] Eskicioglu C, Kennedy K J, Droste R L. Enhancement of batch waste activated sludge digestion by microwave pretreatment [J]. Water Environment Research, 2007, 79

(11):2 304-2 317.

- [14] 周翠红,凌 鹰,曾 萌,等.微波/超声波对污泥粒度与水分的影响[J].环境工程学报,2017,11(1):529-534.
- [15] 李学军,梁 英,黄国平,等.微波、碱及其联合技术预水解市政污泥的研究[J].环境工程,2013,31(S1):522-526.
- [16] 张彦平,张 千,李一兵,等.高铁酸钾与碱耦合处理剩余污泥的实验研究[J].环境污染与防治,2018,40(4):377-382.
- [17] 李海兵,刘志英,林承顺,等.微波预处理对剩余污泥生化

处理的影响[J].环境工程学报,2018,12(4):1 254-1 260.

- [18] 林浚铭,吴璐超,柯 鹏,等.微波耦合氯化铁调理对活性污泥脱水性能及热值的影响[J].环境工程学报,2018,12(12):193-200.
- [19] 池勇志,刘晓敏,李玉友,等.微波预处理剩余污泥的研究进展[J].化工进展,2013,9(9):2 221-2 226.

【责任编辑:陈 佳】

(上接第 11 页)

- [11] Boruah P K,Borthakur P,Darabdhara G,et al. Sunlight assisted degradation of dye molecules and reduction of toxic Cr (VI) in aqueous medium using magnetically recoverable Fe_3O_4 /reduced graphene oxide nanocomposite [J]. RSC Advances,2016,13(6):11 049-11 063.
- [12] Jiao Y,Wan C,Bao W,et al. Facile hydrothermal synthesis of Fe_3O_4 @ cellulose aerogel nanocomposite and its application in Fenton-like degradation of Rhodamine B [J]. Carbohydrate Polymers,2018,189:371-378.
- [13] 刘彦男.四氧化三铁/纤维素磁性纳米复合微球的制备及其催化性能[D].上海:东华大学,2013.
- [14] Li Y,Zhu H,Gu H,et al. Strong transparent magnetic nanopaper prepared by immobilization of Fe_3O_4 nanoparticles in a nanofibrillated cellulose network[J]. Journal of Materials Chemistry A,2013,48(1):15 278-15 283.
- [15] Zhang J,Cao Y,Feng J,et al. Graphene-oxide-sheet-induced gelation of cellulose and promoted mechanical properties of composite aerogels [J]. The Journal of Physical Chemistry C,2012,116(14):8 063-8 068.
- [16] Hou C,Wang Y,Ding Q,et al. Facile synthesis of enzyme-

embedded magnetic metal-organic frameworks as a reusable mimic multi-enzyme system: Mimetic peroxidase properties and colorimetric sensor[J]. Nanoscale,2015,44(7):18 770-18 779.

- [17] Wang Y,Zhang Y,Hou C,et al. Magnetic Fe_3O_4 @ MOFs decorated graphene nanocomposites as novel electrochemical sensor for ultrasensitive detection of dopamine[J]. RSC Advances,2015,119(5):98 260-98 268.
- [18] 李振铎.磁性 Fe_3O_4 @ TiO_2 / SiO_2 气凝胶催化剂的制备及光催化性能的研究[D].大连:大连理工大学,2016.
- [19] 陈京环.基于溶解-再生过程纤维素基材料的构建与研究[D].北京:北京林业大学,2016.
- [20] Padhi D K,Panigrahi T K,Parida K,et al. Green synthesis of Fe_3O_4 /RGO nanocomposite with enhanced photocatalytic performance for Cr(VI) reduction, phenol degradation, and antibacterial activity[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering,2017,11(5):10 551-10 562.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 17 页)

- [18] 王 奖,徐爱菊,贾美林,等. Mg-Al 类水滑石负载金催化醇选择氧化中 Mg/Al 比例的影响[J]. 分子催化,2017,31(1):11-21.
- [19] Arco M D,A Fernández,C Martín,et al. Solubility and release of fenbufen intercalated in Mg,Al and Mg,Al,Fe layered double hydroxides (LDH): The effect of Eudragit S100 covering[J]. Journal of Solid State Chemistry,2010,183(12):3 002-3 009.
- [20] Du L,Qu B,Meng Y,et al. Structural characterization and thermal and mechanical properties of poly(propylene carbonate)/MgAl-LDH exfoliation nanocomposite via solution intercalation[J]. Composites Science and Tech-

nology,2006,66(7-8):913-918.

- [21] 石佳博,崔 煜,刘 强,等.紫外光照对锂藻土纳米粒子改性皮胶原多层次结构的影响[J].陕西科技大学学报,2019,37(5):20-26.
- [22] Gao D,Wang P,Shi J,et al. A green chemistry approach to leather tanning process: Cage-like octa(aminosilsesquioxane) combined with Tetrakis (hydroxymethyl) phosphonium sulfate [J]. Journal of Cleaner Production,2019,229:1 102-1 111.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0025-07

超声强化芬顿法对金尾矿中金浸出 及淋洗液毒性研究

郭军康,任 倩,于生慧,曹 庚,贾红磊,任心豪

(陕西科技大学 环境科学与工程学院,陕西 西安 710021)

摘 要:以陕西某金尾矿为研究材料,通过芬顿法(Fenton method,FM)、超声法(Ultrasound method,UM)及超声强化芬顿法(Ultrasound-enhanced Fenton method,UFM)分别进行金尾矿金浸出实验,探究其对金尾矿中金的浸出效果,并且系统研究了 UFM 处理前后金尾矿的淋洗及淋洗液对水稻、小麦种子萌发影响.结果表明:与 FM 和 UM 相比,UFM 能显著提高金尾矿中金的浸出,最佳条件下金浸出率达 92.74%,其远大于 FM 处理的 25.09%和 UM 处理的 12.15%;UFM 能显著降低金尾矿中 As、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn、Cd、Ag 等重金属浸出浓度,降低其淋洗液对水稻和小麦生长的抑制作用.相关研究结果为我国金尾矿贵金属回收与回收后金尾矿深度资源化提供新的思路.

关键词:含金尾矿;超声强化芬顿法;毒性;水稻;小麦
中图分类号:X703 **文献标志码:**A

Study on leaching of gold from gold tailings by ultrasound enhanced Fenton method and toxicology of leaching solution

GUO Jun-kang, REN Qian, YU Sheng-hui, CAO Geng, JIA Hong-lei, REN Xin-hao

(School of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: In this study, a gold tailings in Shaanxi province was taken as the research material. The gold leaching experiments of tailings were carried out by Fenton method (FM), Ultrasound method (UM) and Ultrasound-enhanced Fenton method (UFM), respectively. The effects of tailings leaching eluent before and after UFM treatment on Seed Germination of rice and wheat were also studied. The results showed that gold can be significantly increased by UFM compared with FM and UM. Under the optimum conditions from gold tailings. The gold leaching rate was 92.74%, which was much higher than 25.09% in FM treatment and 12.15% in UM treatment separately. The concentration of As, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Cd, Ag and other heavy metals in tailings leaching solution were significantly reduced by UFM, and the inhibition of the leaching solution on the growth of rice and wheat can be relieved. This results may provide new ideas for the deep resource utilization of tailings after the recovery of precious metals from tailings in China.

Key words: gold tailings; ultrasound-enhanced Fenton method; toxicity; rice; wheat

* 收稿日期:2019-08-11
基金项目:陕西省科技厅重点研发计划项目(2018ZDXM-SF-022)
作者简介:郭军康(1980—),男,陕西扶风人,教授,博士,研究方向:天然产物的加工

0 引言

随着人类对黄金需求量不断增加,地球上易采金矿资源越来越少,从含金尾矿中对金进行高效的资源化回收也就显得格外重要。据统计我国黄金系统每年排放的尾矿已超过万吨,目前尾矿综合利用率不到 20%。尾矿回收常用的方法主要有重选法、混汞法、氰化法、浮选法、硫脲法和溴化法等^[1]。这些方法在不同的历史时期、不同的矿山企业均被利用过,并发挥了一定作用,也曾推动过黄金开采的发展。然而,采用自重法处理被脉石所包裹的微细粒金矿物其浸出率很低,且浸出时间超长,回收不彻底的尾矿会以固体废弃物的形式丢弃,这不仅导致资源浪费,并且对环境造成严重的污染。混汞法和氰化法由于其具有较强的环境污染,相继被淘汰^[2]。硫脲法和溴化法虽然对环境无危害,但受矿石类型的制约,仅适合焙烧后的氧化矿,尚未广泛应用于提金。浮选法和重选法的适应性也仅限于有限的矿石类型^[3]。磁流体选虽然无环境污染,但仅限于砂金的精选,代替混汞作业,由于其仅限于砂金的精选,且处理量太小、费用较高,也仅在个别矿山试用过^[4]。

如何强化浸金工艺,在提高浸出率的同时缩短浸出时间从而达到减少设备投资、节约工艺运行成本、减少工业二次污染成为现阶段含金尾矿处理的一大难题。因此,迫切需要一种全新的尾矿处理方法实现尾矿资源化处理和对贵金属高效回收。

Fenton HJ 在 1893 年发现 H_2O_2 与 Fe^{2+} 的混合液具有极强的氧化性、反应条件温和、操作方便及成本低等特性,并被广泛应用于重金属浸出及矿区废水处理^[5]。上世纪 80 年代,超声法(Ultrasound method, UM)被用来强化化学反应,一般用于破碎及颗粒分散等^[6]。单独使用芬顿法(Fenton method, FM)存在药剂成本高,利用率低,降解不完全等缺点;UM 一般能耗大、处理量及规模有限。相关学者研究发现两者的联合使用会实现优势的互补,取得技术上新的突破,如超声辐射下芬顿对针铁矿的活化^[7]、超声辅助芬顿工艺对纳米磁铁矿的降解等^[8]。然而,到目前为止,尚未有将超声与芬顿联合起来应用于金尾矿的浸出研究。

作为我国主要粮食作物水稻和小麦在矿区周边存在较大污染风险。为此,针对于现有的含金尾矿处理方法和潜在生态环境风险,研究了:(1)超声法、芬顿法及超声强化芬顿法(Ultrasound-enhanced Fenton method, UFM)来处理金矿尾矿金浸出的效率和

条件;(2)系统对 UFM 处理前后金尾矿淋洗液对水稻及小麦种子萌发的影响。为尾矿贵金属回收与回收后尾矿深度资源化提供新的思路。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

金尾矿样,采自陕西省某金尾矿库,过 200 目筛;供试水稻,选用超级稻牌的丫两优 900,供试小麦选用西农 979。

试剂及仪器:七水合硫酸亚铁 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (分析纯,天津市天力化学试剂有限公司)、过氧化氢 30% (分析纯,天津市北联精细化学品开发有限公司)、超声细胞清洗仪(SB-800DT,宁波新芝生物科技有限公司)、生化培养箱(ZXSD-A1270,上海智城分析仪器制造有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 金尾矿浸金实验

称量 5 g 干燥、恒重,过 200 目筛的尾矿于 500 mL 烧杯中,(1)FM 浸金,温度 333.15 K,取浓度为 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $7.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} 溶液 20 mL 与尾矿均匀混合后,加入浓度为 $1.7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $8.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 溶液 20 mL,研究 $\text{C}_{\text{Fe}^{2+}}$ 和 $\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2}$ 对芬顿法浸金的影响;(2)UM 浸金,温度 333.15 K,设置功率为 80 W、160 W、320 W、400 W、480 W、560 W,浸出时间为 10 min、30 min、60 min、120 min、180 min,研究了超声对浸金的影响;(3)UFM 浸金,综合研究了超声功率、浸出时间、 $\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2}$ 、 $\text{C}_{\text{Fe}^{2+}}$ 、液固比及温度对金的浸出影响,其中设置超声功率为 0、80 W、160 W、320 W、360 W、400 W、440 W、480 W、560 W、640 W、720 W,浸出时间为 5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min、40 min、50 min、60 min,浓度为 $1.7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $8.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 溶液,浓度为 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $7.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $9.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} 溶液,液固比为 40/5 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 、40/6 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 、40/7 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 、40/8 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 、40/10 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 、40/14 mol $\cdot \text{L}^{-1}$,及温度为 303.15 K、313.15 K、323.15 K、333.15 K、343.15 K、353.15 K。

制样及检测方法:浸金反应结束后对样品进行

抽滤,将处理好的泡塑加入抽滤液中^[9]. 震荡 1 h 后将泡塑取出,用 1% 的稀硝酸冲洗三次,放入玻璃比色管中,将配置好的硫脲溶液(2% 硫脲+ 1% 稀硝酸)取 10 mL 加入比色管后,水浴锅 80 ℃ 下加热 30 min,过 0.45 m 滤膜后采用火焰-原子吸光度法进行测定^[10]. 每个样品重复三次.

1.2.2 UFM 处理前后的尾矿淋洗实验

根据中华人民共和国环境保护行业标准(HJ/T-300-2007)-固体废物浸出毒性方法-醋酸缓冲溶液法测试 UFM 处理前后尾矿的浸出毒性. 称取烘干恒重的矿样 10 g,加淋洗液 200 mL 后放入摇床振荡(180 r,180 min,25 ℃),每组实验重复三次. 振荡结束后,用 0.45 m 滤膜过滤,取上清液至离心管,采用 ICP 检测尾矿中重金属(As、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn、Cd 及 Ag)的含量.

1.2.3 金尾矿淋洗液对水稻及小麦种子的萌发实验

挑选无破损、大小一致的水稻种子,用 3% 的次氯酸钠消毒 15 min,蒸馏水冲洗 3~5 次后,将种子转移至装有蒸馏水的培养皿中使种子浸泡吸水. 用 1% 的琼脂培养基配置体积分数依次为 0、0.1%、0.5%、1.0%、5.0%、10.0%、15.0%、20.0% 及 25.0% 浓度的 UFM 处理前后的尾矿淋洗液,每个培养皿中均匀铺放 20 粒种子,每个处理浓度设置 3 次重复. 置于培养箱中(25 ± 0.5)℃ 黑暗条件下培养,待对照发芽率 > 65% 时结束萌发实验,然后改变光照条件(12 h 光照,12 h 黑暗)^[11,12]. UFM 处理前后的尾矿淋洗液对小麦种子萌发影响实验与水稻种子萌发实验步骤相同. 培养 4 天后测定发芽势(Germination potential, GP);7 天后,测量各离子液体浓度下幼苗的发芽率(Germination rate,GR). 培养 7 天后,测量各离子液体浓度下幼苗的根长(Root parts Length, RPSL)、芽长(Aerial parts Length, APSL)、地下部分干重(Biomass of root parts, BRPs)及地下部分干重(Biomass of aerial parts, BAPs). 地下部分长度和胚芽直接用尺子测量胚芽基部到胚芽顶部的距离^[13],计算其平均值.

2 结果与讨论

2.1 FM 及 UM 浸金分析

根据表 1 可知,在 C_{Fe²⁺} 及 C_{H₂O₂} 相对较小时,金的浸出浓度未检测到,但随着 C_{Fe²⁺} 及 C_{H₂O₂} 的增大,金的浸出率在缓慢增加;当 C_{Fe²⁺} 大于 6.0 mol · L⁻¹,

C_{H₂O₂} 大于 5.1 mol · L⁻¹ 时,金的浸出率增加缓慢,最高为 25.05%.

根据表 2 可知,随着超声功率及浸出时间的增大,金的浸出率从一开始检测不出到缓慢增加,且当超声功率大于 480 W,浸出时间大于 60 min 时,金的浸出率增加缓慢,最高为 12.15%.

表 1 FM 处理尾矿后金浸出率 (%)

C _{H₂O₂} /(mol · L ⁻¹)	C _{Fe²⁺} /(mol · L ⁻¹)				
	1.5	3.0	4.5	6.0	7.5
1.7	/	/	14.39	20.47	23.77
3.4	/	/	14.47	23.72	24.19
5.1	/	10.62	14.89	24.91	24.66
6.8	/	10.69	15.00	24.44	25.01
8.5	6.11	10.73	15.13	24.36	24.97
10.2	6.79	11.00	16.20	24.73	25.09

注:/—表示未检测到

表 2 UM 处理尾矿后金浸出率 (%)

浸出时间 /min	超声功率/W					
	80	160	320	400	480	560
10	/	/	/	4.22	8.60	8.63
30	/	/	6.13	7.41	10.41	10.37
60	7.07	8.11	9.15	10.79	11.87	11.53
120	8.63	9.00	9.89	11.00	11.60	12.01
180	8.99	10.76	10.93	11.44	12.00	12.15

注:/—表示未检测到

2.2 UFM 浸金分析

2.2.1 超声功率因素对金浸出的影响

在 5.1 mol · L⁻¹ 的 H₂O₂ 和 4.5 mol · L⁻¹ 的 Fe²⁺, 温度 323.15 K, 过 200 目筛,液固比 40/7 mL/g,浸出时间 40 min 的条件下,研究金浸出率随着超声功率的变化曲线如图 1(a)所示,无超声的强化作用时,金的浸出率为 34.93%;而 80 W 的超声强化后,金的浸出率为 56.27%;两者具有显著性差异(P<0.05),且相比增加了 21.34%;当超声的功率增加到 360 W 时,金的浸出率达到最大值为 94.49%;此后,继续增加超声的功率,金的浸出率开始逐渐降低.

2.2.2 浸出时间对金浸出的影响

在 5.1 mol · L⁻¹ 的 H₂O₂ 和 4.5 mol · L⁻¹ 的 Fe²⁺, 温度 323.15 K, 超声功率为 360 W, 过 200 目筛,液固比 40/7 mL/g 的条件下,研究金浸出率随着浸出时间的变化曲线如图 1(d)所示,金尾矿初始浸出速率很大,浸出 5 min,金的浸出率达到 43.12%;浸出 30 min 时,金的浸出率达到最大值为 94.27%;继续延长浸出时间,金的浸出率达到浸出平衡,不再变化.

2.2.3 H₂O₂ 对金浸出的影响

当金尾矿样过 200 目筛,液固比 40/7 mL/g, 浸出时间 30 min, 温度 323.15 K, 超声功率为 360

W, $C_{Fe^{2+}}$ 为 $4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,在超声强化芬顿反应体系中金的浸出率随 $C_{H_2O_2}$ 的变化如图 1(b)所示, $C_{H_2O_2}$ 在 $1.7 \sim 5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 间,金的浸出率随 $C_{H_2O_2}$ 增大而增加;当 $C_{H_2O_2}$ 大于 $5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,金的浸出率随 $C_{H_2O_2}$ 增大而减小;当 $C_{H_2O_2}$ 为 $5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,金的浸出率达到最大为 94.09% 。

2.2.4 Fe^{2+} 对金浸出的影响

当金尾矿样过 200 目筛,液固比 $40/7\text{ mL/g}$,浸出时间 30 min ,温度 323.15 K , $C_{H_2O_2}$ 为 $5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,在超声强化芬顿反应体系中金的浸出率随 $C_{Fe^{2+}}$ 的变化如图 1(c)所示, $C_{Fe^{2+}}$ 在 $1.5 \sim 4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 间,金的浸出率随 $C_{Fe^{2+}}$ 增大而增加;当 $C_{Fe^{2+}}$ 大于 $4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,金的浸出率随 $C_{Fe^{2+}}$ 增大而减小;当 $C_{Fe^{2+}}$ 为 $4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,金的浸出率达到最大为 94.72% 。

2.2.5 液固比对金浸出的影响

在 $5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 和 $4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} , 温度 323.15 K , 过 200 目筛,浸出时间 40 min , 的条件下,研究金浸出率随着液固比的变化曲线如图 1(e)所示,液固比在 $40/5 \sim 40/7$ 间,液体体积为 40 mL ,保持不变时,金的浸出率随金尾矿样的质量的增大而增加;当金尾矿样的质量大于 7 g 后,金的浸出率随金尾矿样的质量继续增大而减小;当金尾矿样的质量为 7 g 时,金的浸出率达到最大为 91.71% 。

2.2.6 温度对金浸出的影响

在 $5.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 和 $4.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} , 超声功率为 360 W , 过 200 目筛,浸出时间 40 min 的条件下,研究金浸出率随着温度的变化曲线如图 1(f)所示,当温度为 303.15 K 时,金尾矿中金的浸出率为 56.21% ;当温度大于 333.15 K 后,金的浸出率在逐渐降低;在温度为 333.15 K 处,金的浸出率达到最大值为 92.74% 。

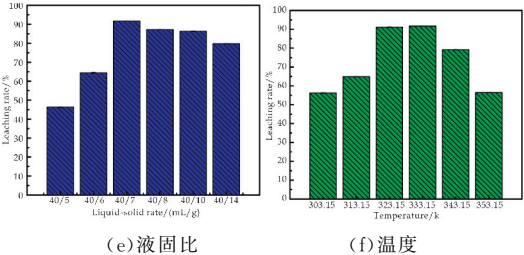


图 1 不同操作因素与金浸出率的关系

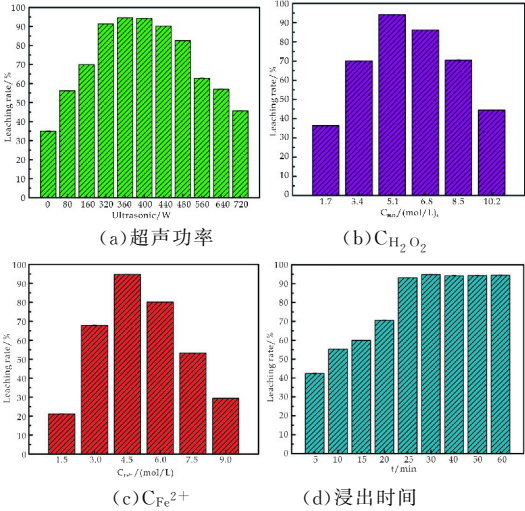
2.3 FM、UM 及 UFM 浸金效果对比

分别采用 FM、UM 及 UFM 对含金尾矿进行金浸出实验,对比表 1、表 2 及图 1 发现,FM 及 UM 在含金尾矿浸金过程中均未取得理想的效果,而 UFM 浸金效果远大于前两种,也就是说在浸金过程中超声促进了 FM 的作用. 国内外相关学者研究发现,超声强化芬顿之所以会产生协同作用,是因为空化效应导致反应体系处于一种超临界状态,促进 H_2O_2 高效分解产生羟基自由基;而机械效应扮演搅拌与传质角色,使反应物与羟基自由基等物质加速扩散,提高了羟基自由基的利用率;反应体系中的 Fenton 试剂会产生氧气,使体系中气体充盈,同时离子会使空化效应中的“空穴”产生更多的羟基自由基^[14]。

对比三种浸金方法,FM 法与 UM 法浸出时间长、所用试剂量大,且其浸出效果明显差于 UFM 法,因此,选用 UFM 法浸出含金尾矿中金更为高效. 回顾 UFM 研究结果,随着超声功率及温度增加,金的浸出率先上升再下降,其原因是,反应体系中一些生成物将金相物又重新包裹起来导致金浸出率降低^[15];而在研究 H_2O_2 及 Fe^{2+} 影响中,金的浸出率随芬顿试剂浓度的增加先升高再降低,是因为高浓度的芬顿会产生大量的羟基自由基,但大量的羟基自由基来不及反应便聚集相互反应生成水,这与 Firak 等^[16]的研究结果一致;而在液固比研究中,随着金尾矿所占比例的增加,金的浸出率先增加再下降,是因为金尾矿的比例增加到一个极限值时,金尾矿的比例继续增加,浸出剂相对不足,进而导致金浸出率降低。

2.4 金尾矿处理前后浸出的毒性

如表 3 所示,本实验所使用的金尾矿及反应后的金尾矿均不具有浸出毒性,比较反应前后金尾矿的浸出含量,发现通过 UFM 处理后金尾矿的浸出毒性大大降低. 根据固废浸出毒性鉴别标准 (GB5085. 3-2007),实验中所测重金属 As、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn、Cd 及 Ag 的浸出浓度均小于标准限值,



此外,与反应前金尾矿相比反应后金尾矿的淋洗液中 As 减少了 69.41%、Cr 减少了 96.29%、Cu 减少了 91.68%、Ni 减少了 89.70%、Pb 减少了 89.35%、Zn 减少了 81.61%、Cd 减少了 78.33%、Ag 减少了 97.59%.

表 3 金属 As、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn、Cd 及 Ag 的浸出浓度

重金属	反应前金尾矿浸出浓度/(mg/L)	反应后金尾矿浸出浓度/(mg/L)	GB5085.3-2007 浸出浓度限值/(mg/L)
As	0.925	0.283	5
Cr	0.350	0.013	15
Cu	2.981	0.248	100
Ni	0.369	0.038	5
Pb	0.216	0.023	5
Zn	2.316	0.426	100
Cd	0.060	0.013	1
Ag	0.290	0.007	5

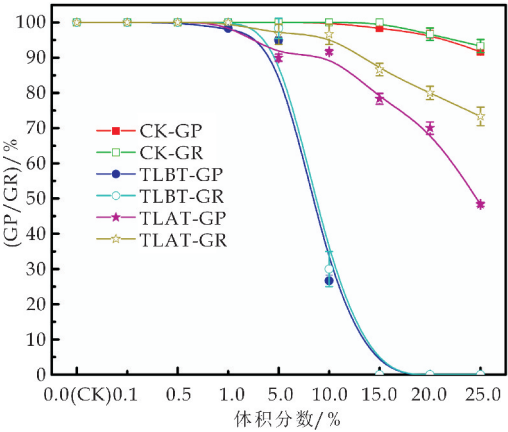
2.5 金尾矿淋洗液对水稻及小麦的生长影响

芽期是决定种子在配制的培养基环境中能否出苗的关键时期.由图 2(a)及图 3(a)发现,对于处理前金尾矿(Tailings leachate before treatment, TLBT)淋洗液处理,当其在培养基中体积分数为 1.0%时,水稻种子 GP 与 GR 开始降低,当体积分数为 20%时,水稻种子受到完全抑制;当培养基中淋洗液体积分数为 0.1%时,对小麦萌发开始产生强烈刺激,体积分数增加至 10.0%时,淋洗液对小麦种子产生完全抑制.在处理后台矿(Tailings leachate after treatment, TLAT)淋洗液处理下,当其在培养基中体积分数大于 1.0%时,水稻种子 GP 与 GR 开始降低,当体积分数为 25%时,水稻种子的 GP 为 48.33%,GR 为 73.33%;当淋洗液体积分数为 1.0%时,开始对小麦萌发产生刺激,当体积分数增加至 25.0%时,对小麦种子萌发产生完全抑制.

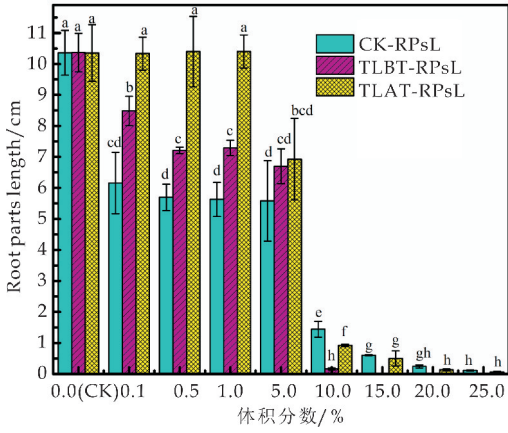
种子萌发初期,供应的营养主要来自胚内物质,外界环境变化对其影响较小,TLBT 淋洗液、TLAT 淋洗液两种处理下,当体积分数在 10%~20%范围内,水稻种子的 GP 和与 GR 开始缓慢降低,当体积分数为 25%时,TLAT 淋洗液处理下的水稻种子萌发情况介于 CK、TLBT 之间,对于小麦种子的萌发情况,TLAT 淋洗液处理组显著高于 TLBT 淋洗液处理组,这可能由于 UFM 处理后的金尾矿会在一定程度上降低其对水稻及小麦种子萌发的抑制作用.

通过不同浓度梯度培养,根据图 2(b)、图 2(c)与图 3(b)、图 3(c)发现,对于 TLBT 淋洗液处理,当其体积分数大于 10%时,水稻的根长与芽生长

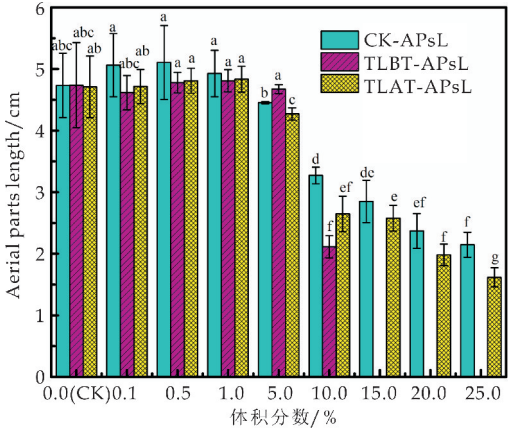
长受到强烈抑制;当体积分数增加至 5.0%时,其对小麦幼苗完全抑制.对于 TLAT 淋洗液处理,当其体积分数为 0.1%~10.0%时,水稻根长与芽长和 CK、TLBT 淋洗液两种处理趋势相似,当其体积分数大于 10.0%时,水稻幼苗受到完全抑制;当淋洗液体积为 25.0%时,对小麦幼苗的根长产生完全抑制,淋洗液体积分数为 5.0%时,芽长为对照组的 78.50%,继续增加淋洗液的体积分数,刺激愈发强烈,当淋洗液体积为 25.0%时,对小麦幼苗芽长产生完全抑制.



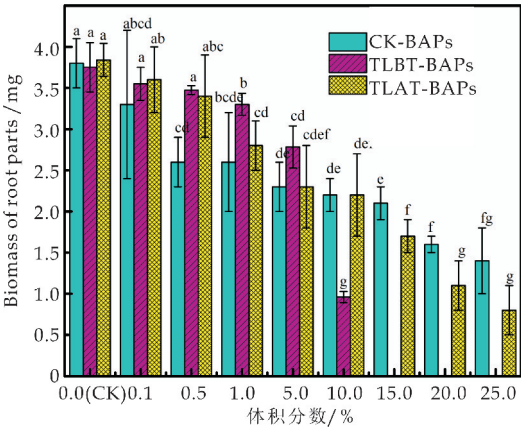
(a)发芽势、发芽率



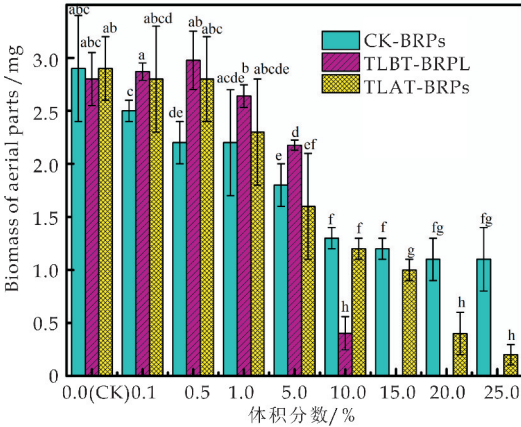
(b)根长



(c)芽长



(d)地上部分干重



(e)地下部分干重

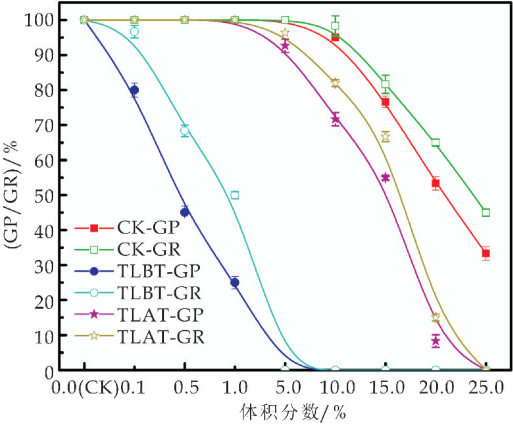
图 2 金尾矿淋洗液对水稻生长的影响

注:不同字母表示差异达显著水平($P<0.05$)

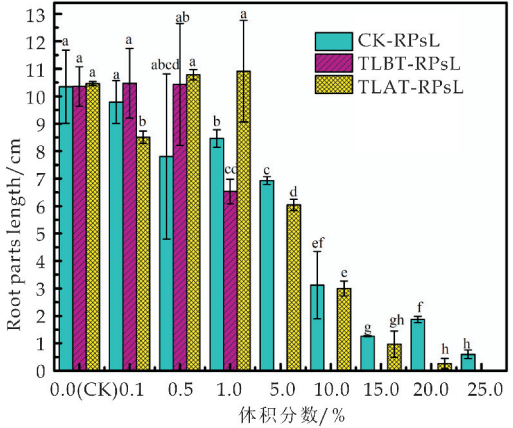
当淋洗液的体积分数在 0.1%~1.0% 时, TLBT 淋洗液与 TLAT 淋洗液处理下水稻与小麦的根长显著高于 CK 处理,这可能由于 UFM 处理后会降低对小麦幼苗生长毒性的同时,并使处理后的金尾矿中植物所需矿物元素易被浸淋出^[17],此时金尾矿中矿物质元素对小麦幼苗生长的促进占据主导地位^[18]. 淋洗液对水稻幼苗地下部分系的毒性更大,较地上部分来说地下部分系对淋洗液的毒性更加敏感,这与 Liu 等^[19]所研究丙草胺对水稻幼苗生长毒性的影响一致,说明不同植物对淋洗液的敏感性不同,且同一植物的不同器官对淋洗液的敏感性也是不同的.

植物生物量干重是反映植物在环境胁迫下生长状况的重要指标. 根据图 2(d)、图 2(e)与图 3(d)、图 3(e)可知,淋洗液对水稻及小麦幼苗地下部分和地上部分干物质积累的影响与根及芽的长度影响一致. 对于 TLBT 淋洗液处理,当淋洗液体积分数为 25.0%, TLBT 淋洗液处理下水稻地下部分干重仅为对照组的 6.9%,地上部分干重仅为对照组的 2.1%;当体积分数增加至 5.0% 时,小麦幼苗受到完全抑制,增加淋洗液的体积分数,刺激愈发强烈,当体积分数增加至 5.0% 时,小麦幼苗受到完全抑制. 对于 TLAT 淋洗液处理,当淋洗液

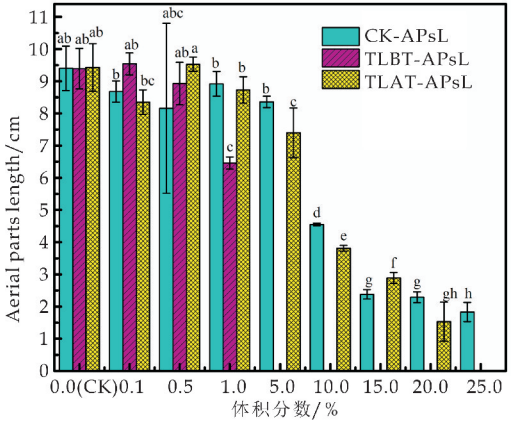
体积分数在 0.1%~5.0% 范围内时,水稻幼苗根重显著弱于 TLBT 淋洗液处理,而 TLAT 淋洗液处理下水稻根长及芽长显著优于 TLBT 淋洗液处理;淋洗液体积分数在 0.1%~1.0% 范围内时,开始对小麦幼苗产生刺激,但不同体积分数间根重无显著差异,当淋洗液体积为 25.0% 时,对小麦幼苗的芽长产生完全抑制,当淋洗液体积为 25.0% 时,对小麦幼苗的芽长已经产生完全抑制. 从总体上看,水稻与小麦幼苗地下部分干重与地上部分干重是随着浓度的增大而减少的,淋洗液的浓度越大,对水稻的毒性越大.



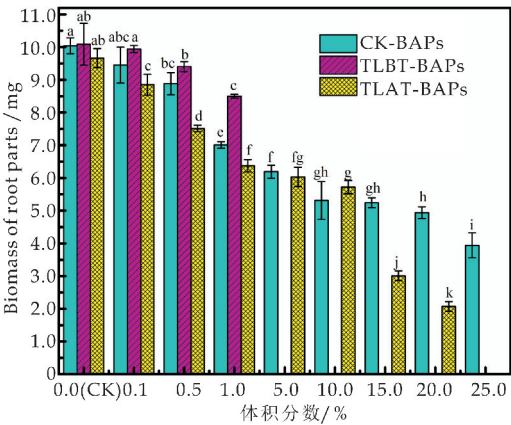
(a)发芽势、发芽率



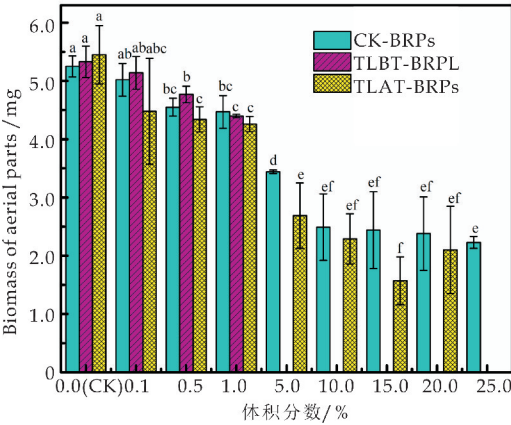
(b)根长



(c)芽长



(d)地上部分干重



(e)地下部分干重

图 3 金尾矿淋洗液对小麦生长的影响

注:不同字母表示差异达显著水平($P<0.05$)

3 结论

(1)本研究针对于现有的含金尾矿处理方法提出了一种利用 UFM 来处理含金尾矿的新型方法,且在 5.1 mol/L 的 H_2O_2 和 4.5 mol/L 的 Fe^{2+} , 温度 338.15 K,液固比 40/7 mL/g,超声功率为 360W 的条件下浸出 30 min 时得到最佳浸出效果,最大浸出率为 92.74%。

(2)本研究通过 HJ/T-300-2007-固体废物浸出毒性方法-醋酸缓冲溶液法对 UFM 处理前后的含金尾矿进行淋洗,淋洗液中重金属浓度均小于标准限值,此外,UFM 可以有效降低尾矿中重金属可浸出含量,降低环境潜在风险。

(3)UFM 处理后的金尾矿对水稻及小麦萌发及幼苗生长的抑制低于处理前,浸出液对水稻的生长影响小于小麦幼苗。

参考文献

[1] Alekseev V S, Bانشchikova T S. Rebellious gold extraction from gravity concentrates and placer tailings by chemical reagents[J]. Journal of Mining Science, 2018, 53 (4): 756-761.

[2] Andraos C, Utembe W, Gulumian M, et al. Exceedance of environmental exposure limits to crystalline silica in communities surrounding gold mine tailings storage facilities in South Africa[J]. Science of the Total Environment, 2018, 504: 619-620.

[3] Kiventerä J, Lancellotti I, Catauro M, et al. Alkali activation as new option for gold mine tailings inertization[J]. Journal of Cleaner Production, 2018, 187: 76-84.

[4] 郭铁梁, 李海宝. 磁流体静力选矿中非磁性矿粒的磁浮力分析[J]. 金属矿山, 2009, 39(4): 35-39.

[5] 王旭东. 基于神经网络的通用软测量技术[J]. 自动化学报, 1998, 24(5): 702-706.

[6] Gong K, Qian H, Lu Y, et al. Ultrasonic pretreated sludge derived stable magnetic active carbon for Cr(VI) removal from wastewater[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2018, 6(6): 7 283-7 291.

[7] Muruganandham M, Yang J S, Wu J J, et al. Effect of ultrasonic irradiation on the catalytic activity and stability of goethite catalyst in the presence of H_2O_2 at acidic medium [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2007, 46(3): 691-698.

[8] Acisli O, Khataee A, Karaca S, et al. Combination of ultrasonic and Fenton processes in the presence of magnetite nanostructures prepared by high energy planetary ball mill [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34(Complete): 754-762.

[9] 赵晋琇. 三异胺负载聚氨酯泡沫塑料富集-X 射线荧光光谱法测定金量[J]. 理化检验(化学分册), 2012, 48(6): 724-725.

[10] Soylak M, Tuzen M. Coprecipitation of gold (III), palladium (II) and lead (II) for their flame atomic absorption spectrometric determinations[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 152(2): 656-661.

[11] 张 岩, 许 兴, 朱永兴. 不同水稻品系芽期耐盐性比较分析[J]. 中国农学通报, 2016, 32(36): 31-35.

[12] 李 阳, 黄 梅, 沈 飞, 等. 生物炭对小麦种子萌发与幼苗生长的植物毒理效应[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(1): 234-242.

[13] 于 崧, 张婷婷, 于立河, 等. 盐碱胁迫对小麦种子萌发特性的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2019, 31(2): 20-27.

[14] Entezari M H, Tahmasbi M. Water softening by combination of ultrasound and ion exchange[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 16(3): 356-360.

[15] Fu L, Zhang L, Wang S, et al. Synergistic extraction of gold from the refractory gold ore via ultrasound and chlorination-oxidation[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 37: 471-477.

[16] Firak D S, Ribeiro R R, Liz M V D, et al. Investigations on iron leaching from oxides and its relevance for radical generation during Fenton-like catalysis[J]. Environmental Earth Sciences, 2018, 77(4): 117.

[1] Alekseev V S, Bانشchikova T S. Rebellious gold extraction from gravity concentrates and placer tailings by

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0032-06

硫化氢钠在缓解菘蓝幼苗镉胁迫中的作用

贾红磊, 刘华欣, 马佩云, 王 肖

(陕西科技大学 环境科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:以菘蓝幼苗为研究对象,探究 H₂S 缓解菘蓝幼苗镉(Cd)胁迫的最佳浓度及作用机制. 在 Cd 浓度为 5 mg · L⁻¹ 条件下,确定缓解 Cd 胁迫的 H₂S 最佳浓度,并在最佳浓度下,设置不同镉 Cd(0,1.0,2.5,5) mg · L⁻¹ 胁迫浓度,探究 H₂S 在缓解菘蓝幼苗 Cd 胁迫中的作用. 结果显示,外源添加 H₂S 供体 NaHS 后,不同浓度 Cd 胁迫下菘蓝幼苗与处理组相比,株高分别增加 8.47%、12.49%、5.08%;在低浓度 Cd 处理时加入 NaHS,叶绿素含量显著性增加 47.10%、28.12%,而 5.0 mg · L⁻¹ Cd 胁迫下叶绿素含量显著降低了 25.85%. 此外,外源添加 NaHS,地下部分 Cd 含量分别增加 34.40%、34.60%、41.76%,地上部分 Cd 含量分别减少 52.84%、46.69%、43.23%. 综上所述,外源 H₂S 能够通过调节菘蓝幼苗体内 Cd 的分布降低 Cd 对菘蓝幼苗造成的损伤. 而高浓度 Cd 会引起菘蓝幼苗生长异常,导致幼苗对 H₂S 更加敏感,此时 H₂S 可能表现出毒性作用而非缓解 Cd 胁迫的作用.

关键词:硫化氢; 菘蓝; 镉胁迫; 叶绿素
中图分类号:X173 **文献标志码:** A

Effect of sodium hydrosulfide on alleviating cadmium stress in *Isatis indigotica* seedlings

JIA Hong-lei, LIU Hua-xin, MA Pei-yun, WANG Xiao

(School of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In this study, *Isatis indigotica* seedlings were used as research objects to explore the optimal concentration of H₂S to alleviate cadmium (Cd) stress in *Isatis indigotica* seedlings and the mechanism. Under the condition of Cd concentration of 5 mg · L⁻¹, the optimal concentration of H₂S for Cd stress was determined, and different concentrations of Cd were set at the optimal concentration to exploring the role of H₂S in alleviating Cd stress in *Isatis indigotica* seedlings. The results showed that the plant height of the *Isatis indigotica* seedlings increased by 8.47%, 12.49%, and 5.08%, respectively, after the addition of H₂S donor NaHS. When NaHS was added at low concentration of Cd, the chlorophyll content increased significantly by 47.10% and 28.12%, while chlorophyll content decreased by 25.85% under 5 mg · L⁻¹ Cd. In addition, the addition of NaHS to the external sources increased the Cd content in the underground part by 34.40%, 34.60%, and 41.76%, respectively, and the Cd content in the aboveground part decreased by 52.84%, 46.69%, and 43.23%, respectively. In summary, exogenous H₂S can reduce the damage of Cd to *Isatis indigotica* seedlings by reg-

ulating the distribution of Cd in *Isatis indigotica* seedlings. Because the high concentration of Cd causes abnormal growth of seedlings, seedlings are more sensitive to H_2S . Therefore, H_2S may exhibit toxic effects instead of alleviating Cd stress.

Key words: hydrogen sulfide; *Isatis indigotica*; cadmium stress; chlorophyll

0 引言

Cd 是一种对植物生长有毒害作用的重金属, 因其易被植物吸收, 在植物体内移动性极强, 对植物生长发育危害极大^[1], 植物组织内 Cd 累积会造成体内大量的活性氧产生, 影响植物对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等营养物质的吸收, 抑制叶绿素的产生及叶绿体内的电子传递^[2-4]. Cd 通过损伤植物细胞分裂, 破坏酶活结构等方式直接或间接来抑制植物生理过程, 最终抑制植物生长或导致植物死亡^[5].

H_2S 是继 NO、CO 之后发现的第三种气体信号分子, H_2S 的作用在动物体内的各种生理功能及在治疗各心血管疾病与高血压等疾病上的重大功效均已较大进展^[6,7]. 目前, 在 H_2S 调节植物的生理功能及生长发育方面的研究逐渐深入. 研究表明, H_2S 不仅参与植物生理生长调控, 如通过调节植物气孔运动, 增强植物光合作用等来促进植物生长^[8,9], 也可提高植物对抗逆境胁迫的适应性, 如 H_2S 可缓解重金属胁迫、盐胁迫、低温胁迫、活性氧胁迫、非生物胁迫等^[10-14]. Bharwana 等研究发现 H_2S 可提高棉花株高、叶面积、叶绿素含量并降低棉花组织中 Pb 的含量, 以此来缓解 Pb 胁迫对棉花造成的伤害^[15]. 由此可见, H_2S 可缓解植物因各种生物胁迫、非生物胁迫造成的损害, 但因 H_2S 在植物体内的具体作用机制的研究尚不明确, 有报道盐胁迫会影响菘蓝幼苗生长生理, 会影响菘蓝幼苗体内抗氧化酶系统酶活性, 进而对菘蓝幼苗造成伤害^[16,17]. 而在重金属胁迫下 H_2S 对菘蓝幼苗缓解作用的研究较少.

本研究以菘蓝幼苗为研究对象, 用 NaHS 作为 H_2S 的外源供体, 在水培条件下探究 H_2S 缓解 Cd 胁迫的最适浓度, 并在最适 H_2S 缓解浓度下, 以不同的 Cd 浓度加以验证. 探究 Cd 胁迫下外源 H_2S 对菘蓝幼苗生长生理的影响, 分析 H_2S 在缓解提高菘蓝幼苗对 Cd 胁迫抗性的作用, 为菘蓝幼苗应对 Cd 胁迫提供理论依据.

1 实验部分

1.1 材料及培养

菘蓝种子购于安国市万草同源苗木花卉有限公司, 挑选饱满种子于 37 °C 温水中浸泡 0.5~1 h 后, 均匀置于装有蛭石的穴盘中, 待有真叶长出时,

将其移至含有 1/4 Hoagland 营养液的水培箱中进行培养. 培养条件为光照 16 h, 黑暗 8 h, 相对湿度 40%~60%, 温度为 26±2 °C (昼), 20±2 °C (夜).

1.2 实验方法

1.2.1 Cd 胁迫下不同浓度硫化氢对菘蓝幼苗指标的测定

(1) 幼苗株高的测定

待菘蓝幼苗在含有 1/4 Hoagland 营养液的水培箱中长至四片真叶时, 挑选长势一致的壮苗分别移至含有 1/2 Hoagland 营养液的水培处理罐中处理 7 天, 对幼苗进行成像, 并用 Image-J 测量幼苗植株长度^[18]. 设置十组处理, 分别为空白处理罐, 含有 (50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂、5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS) 的水培处理罐.

(2) 幼苗不同部位 Cd 含量测定

将长至四片真叶、挑选长势一致的菘蓝幼苗分别移至含有 1/2 Hoagland 营养液不同处理的水培处理罐中处理 7 天, 处理同 1.2.1(1). 收集菘蓝幼苗根分别用 0.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA-Na₂ 浸泡 15 min, 将处理后收集菘蓝幼苗的地上部分、地下部分, 105 °C 杀青后, 80 °C 烘干至恒重. 称 0.1 g 干样置于消解管中, 80 °C 消解 1.5 h, 120 °C 消解 1.5 h, 150 °C 消解 3 h, 而后在 175 °C 下加酸溶解, 将液体转移至 10 mL 容量瓶中, 用 1% HNO₃ 定容, 定容后溶液用 0.45 μm 滤膜过滤备用, 用原子吸收光谱仪(AAS)进行 Cd 含量测定.

1.2.2 Cd 胁迫下不同浓度硫化氢对菘蓝幼苗指标的测定

(1) 幼苗株高的测定

测定方法同 1.2.1(1) 中植株高度测定, 在含有 1/2 Hoagland 营养液的水培处理罐中处理七天. 设置八组处理, 分别为空白处理罐, 含有 (150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、1.0 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂、2.5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂、5.0 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂、1.0 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、2.5 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS、5.0 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ CdCl₂ + 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS) 的水培处理罐.

(2) 幼苗不同部位 Cd 含量测定

处理方法同 1.2.2(1). 测定方法同 1.2.1(2) 中 Cd 含量测定.

(3)幼苗叶绿素含量测定

处理方法同 1.2.2(1). 测定方法采取 95%乙醇提取法,带提取液制备完成后,在波长 665 nm、649 nm、470 nm 下,以 95%乙醇为空白,测定叶绿体色素提取液的吸光度.

1.3 数据分析

本实验数据统计分析使用 Origin 9.1、Image J 及 SPSS 17.0 软件进行统计分析和显著性分析. 所有实验数据均为三次实验均值.

2 结果与讨论

2.1 Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗的影响

2.1.1 对菘蓝幼苗株高的影响

重金属 Cd 对植物生长发育的影响主要表现在植株矮小、生长缓慢、生物量下降等,主要由于 Cd 影响植物进行光合作用过程中所必需的叶绿素脂还原酶的活性,从而导致叶绿素含量的降低^[19]. H₂S 作为气体信号分子, H₂S 参与植物种子萌发及生长发育和过程^[20]. 高浓度的 Cd 会影响芝麻及芥菜型油菜根系生长及幼苗的生长^[21,22].

在本实验条件下,菘蓝幼苗的植株高度如图 1 所示. 5 mg · L⁻¹ 的 Cd 处理与对照组相比,植株高度降低 26.60%,说明 5 mg · L⁻¹ 浓度的 Cd 会明显抑制菘蓝幼苗的生长,此浓度下加入不同浓度的 NaHS 发现, 150 μmol · L⁻¹ 和 200 μmol · L⁻¹ NaHS 处理组下菘蓝幼苗较 Cd 对照组相比植株高度有显著性上升,分别增加了 14.44%、14.41%,说明外源 H₂S 在一定程度上可以缓解由于 Cd 胁迫导致的菘蓝幼苗植株生长抑制.

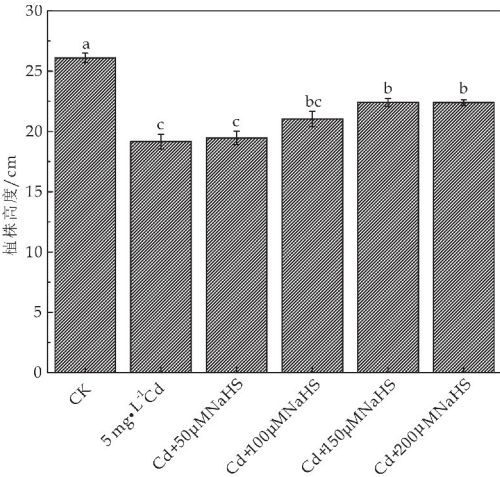
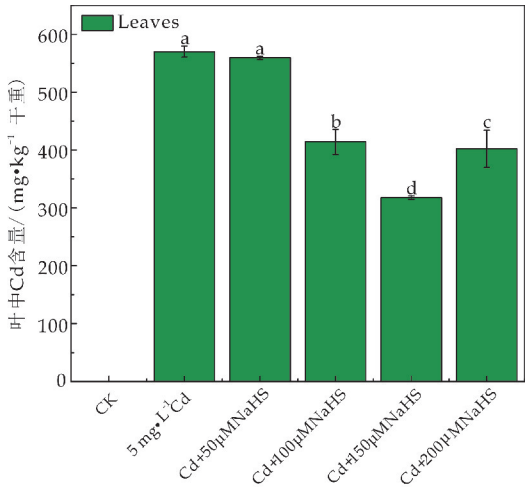


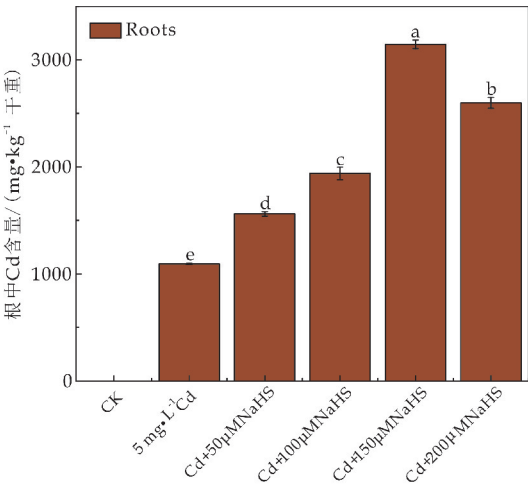
图 1 Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗株高的影响

2.1.2 对菘蓝幼苗体内 Cd 分布的影响

硫化氢能够诱导植物体内产生螯合肽(phytochelatins PC)、金属硫蛋白(metallothionein MT)降低重金属离子的转运效率^[23]. 如图 2 所示,不同浓度的 NaHS 对 Cd 在菘蓝幼苗根部的富集具有促进作用,与加入 5 mg · L⁻¹ 的 Cd 处理相比较,外源添加 50 μmol · L⁻¹ NaHS、100 μmol · L⁻¹ NaHS、150 μmol · L⁻¹ NaHS、200 μmol · L⁻¹ NaHS 各处理组地下部分中 Cd 含量增加 42.97%、77.29%、187.54%、137.44%;地上部分中 Cd 含量分别降低 1.87%、27.35%、44.26%、29.48%. 可以看出,当 NaHS 浓度为 150 μmol · L⁻¹ 时,大部分 Cd 被富集在菘蓝幼苗的根部,同时菘蓝幼苗地上部分中 Cd 含量最低. 说明外源 H₂S 可通过将 Cd 富集在菘蓝幼苗的根部以减少 Cd 向上的运输,此时转运系数降至最低为 0.078 26,如图 3 所示. 因此,选定 150 μmol · L⁻¹ NaHS 继续后续实验.



(a)Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗地上部分中 Cd 含量



(b)Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗地下部分中 Cd 含量

图 2 Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗地上、地下部分中 Cd 含量

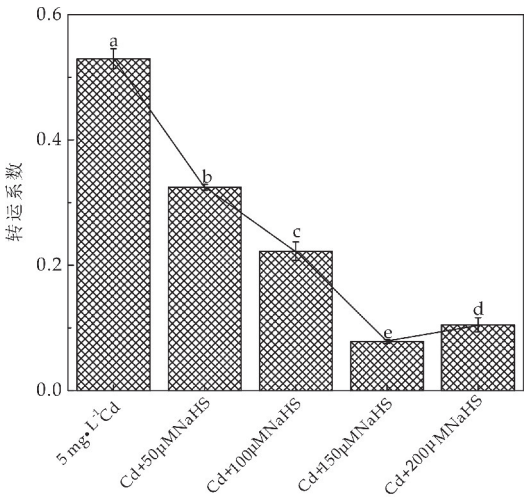


图 3 Cd 胁迫下不同浓度 H₂S 对菘蓝幼苗体内 Cd 的转运系数的影响

2.2 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对菘蓝幼苗生长的影响

2.2.1 对菘蓝幼苗株高的影响

当外源 H₂S 供体 NaHS 的最佳浓度确定为 150 μmol·L⁻¹ 后, 本实验设置了对照组、不同浓度的 Cd 胁迫处理组及加入 NaHS 的缓解处理组。如图 4 所示, 与对照组相比, 不同浓度 Cd 处理后, 菘蓝幼苗株高分别降低了 22.07%、33.56%、31.33%, 加入 NaHS 后, 株高较各组 Cd 对照组相比分别升高了 8.47%、12.49%、5.08%。这与 2.1 中实验结果相一致, 棉花在 Pb 胁迫下, 外源添加 NaHS 会缓解因 Pb 对棉花幼苗造成的株高、叶面积、生物量下降的胁迫^[15]。说明添加 H₂S 供体 NaHS 可以缓解菘蓝幼苗因 Cd 胁迫造成的损伤。

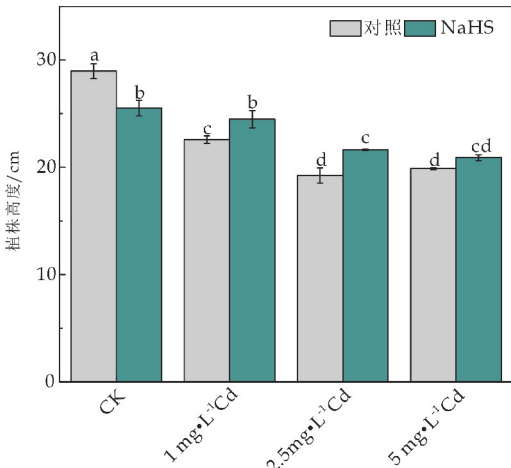


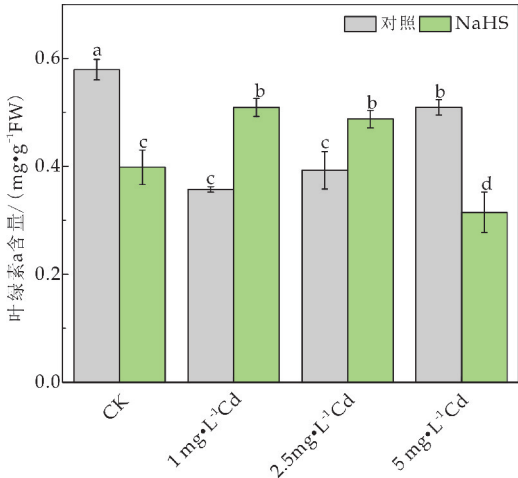
图 4 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对菘蓝幼苗株高的影响

2.2.2 对菘蓝幼苗叶绿素的影响

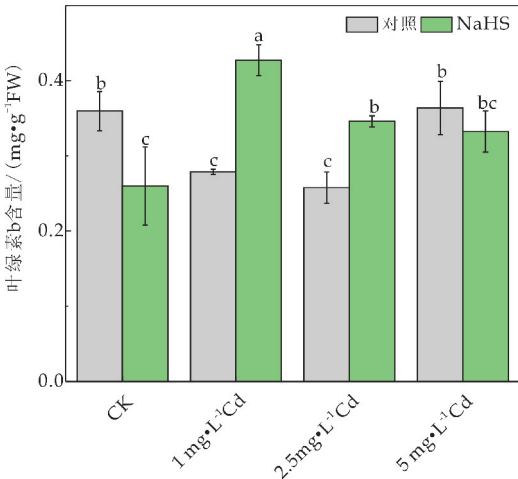
重金属胁迫会诱导植物体内超氧自由基 (ROS) 爆发, 超氧自由基能够直接或间接导致细胞质膜的过氧化作用, 进而导致细胞膜的损伤^[3]; 超氧自由基也可能会抑制了光合叶绿素所需叶绿素酸酯还原酶的活性^[19], 从而导致叶绿素含量下

降及叶绿素 a+b 值的降低。有研究表明 Cd 会降低芝麻、决明子及棉花中叶绿素的含量及叶绿素 a+b 值^[3,15,21]。

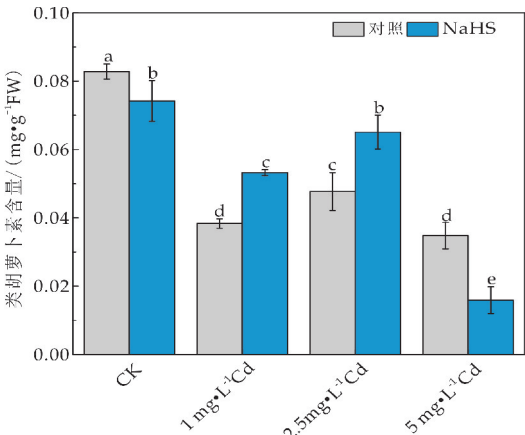
如图 5 所示, 不同浓度 Cd 处理后, 与对照组相比均显著性下降, 叶绿素 a 含量分别降低了 38.28%、32.17%、12.08%; 叶绿素 b 含量分别降低了 22.42%、28.3%、1.17%; 类胡萝卜素含量分别降低了 53.75%、42.45%、58.02%, 在添加 H₂S 外援供体 NaHS 后, 1.0 mol·L⁻¹ CdCl₂、1.5 mol·L⁻¹ CdCl₂ 处理组与其各自 Cd 对照组相比叶绿素 a 含量分别升高了 45.42%、24.14%; 叶绿素 b 含量分别升高了 53.09%、34.17%; 类胡萝卜素含量分别升高了 38.86%、36.51%。而加入 NaHS 的 5.0 mg·L⁻¹ CdCl₂ 的处理组叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量分别降低了 38.14%、8.64%、54.31%。H₂S 为气体信号分子, 在低浓度下有促进植物生长发育的作用, 当 Cd 浓度达到 5.0 mol·L⁻¹ 时, 植物生长状态较差, Cd 引起菘蓝幼苗生长异常, 导致幼苗对 H₂S 更加敏感, 此时 H₂S 可能表现出对菘蓝幼苗的毒性作用, 而并非缓解 Cd 胁迫的作用。



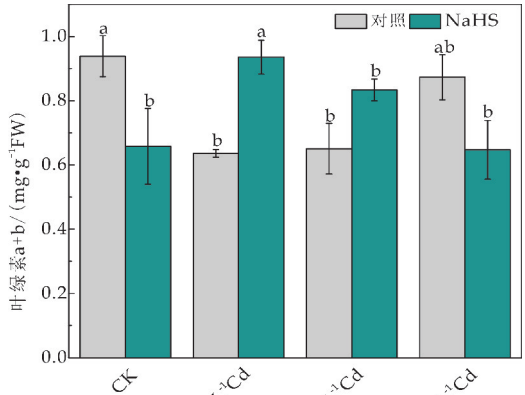
(a) 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对菘蓝幼苗叶绿素 a 含量的影响



(b) 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对菘蓝幼苗叶绿素 b 含量的影响



(c)不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗类胡萝卜素含量的影响

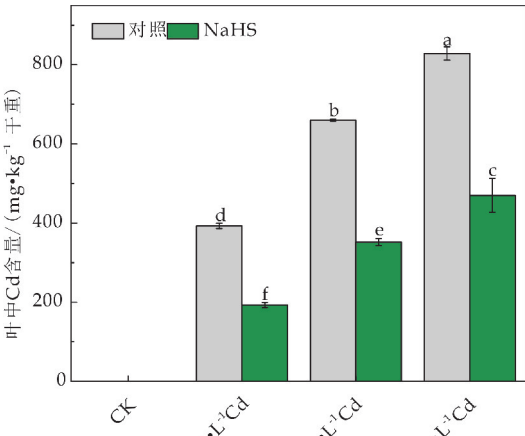


(d)不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗叶绿素 a+b 含量的影响

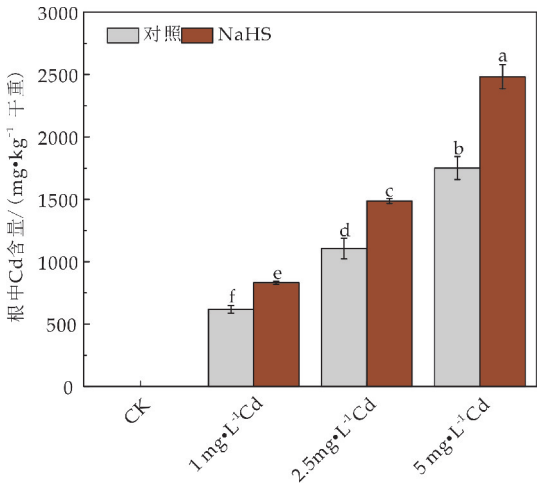
图 5 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗叶绿素含量的影响

2.2.3 对苾蓝幼苗不同部位 Cd 的影响

有研究表明, H₂S 能显著降低棉花幼苗根、茎、叶中 Pb 的含量^[15]. 在本实验中, 如图 6 所示, 外源添加 NaHS 后, 苾蓝幼苗地下部分较各自 Cd 胁迫对照组分别增加了 34.40%、34.60%、41.76%, 地上部分较各自 Cd 胁迫对照组分别减少了 52.84%、46.69%、43.23%.



(a)不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗地上部分中 Cd 含量的影响



(b)不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗地下部分中 Cd 含量的影响

图 6 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗中 Cd 含量的影响

如图 7 所示, 外源添加 NaHS 后, 苾蓝幼苗体内 Cd 的转运系数均显著性降低, 说明 H₂S 通过将 Cd 富集在苾蓝幼苗的根部, 减少地上部分中 Cd 的积累来缓解 Cd 对苾蓝幼苗造成的胁迫.

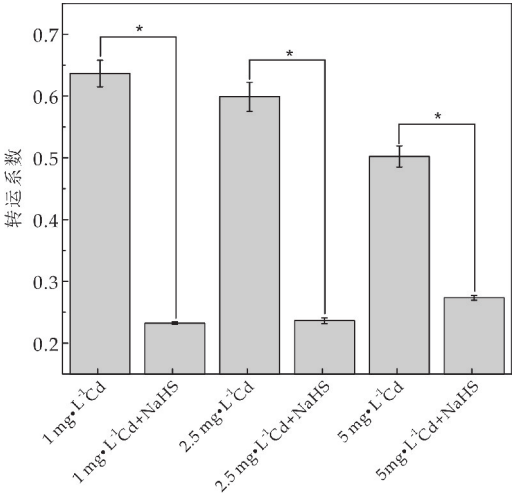


图 7 不同浓度 Cd 胁迫下 H₂S 对苾蓝幼苗体内 Cd 的转运系数的影响

3 结论

通过本研究发现, 在高浓度 Cd 胁迫下, 不同浓度的 NaHS 作用下, 150 μmol · L⁻¹ 的 NaHS 对 Cd 胁迫的缓解作用最佳. 在不同浓度的 Cd 胁迫下, 大量的 Cd 进入苾蓝幼苗中, 会引发幼苗体内产生大量 · O₂⁻, 破坏光合作用中叶绿素的合成, 降低叶绿素的含量, 进而影响幼苗的正常生长, 降低幼苗植株高度. 加入 H₂S 外源供体 NaHS 后, Cd 被大量富集在苾蓝幼苗根部, 叶中 Cd 含量显著下降, 有效缓解了 Cd 胁迫造成的苾蓝幼苗体内叶绿素含量下降的现象, 说明 H₂S 能够通过降低 Cd 在

幼苗体内的转运系数有效缓解 Cd 胁迫对幼苗生长的抑制。

参考文献

[1] Asgher M, Khan N A, Khan M I R, et al. Ethylene production is associated with alleviation of cadmium-induced oxidative stress by sulfur in mustard types differing in ethylene sensitivity[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 106: 54-61.

[2] Gallego S M, Pena L B, Barcia R A, et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms[J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2012, 83: 33-46.

[3] Hashem A, Abd Allah E F, Alqarawi A A, et al. Bioremediation of adverse impact of cadmium toxicity on cassia italica mill by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2016, 23(1): 39-47.

[4] Abd Allah E F, Abeer H, Alqarawi A A, et al. Alleviation of adverse impact of cadmium stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2015, 47(2): 785-795.

[5] 俞萍, 高凡, 刘杰, 等. 镉对植物生长的影响和植物耐镉机制研究进展[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(11): 89-95.

[6] Kimura H. Hydrogen sulfide as a neuromodulator[J]. *Molecular Neurobiology*, 2002, 26(1): 13-19.

[7] Yang G, Wu L, Jiang B, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -Lyase[J]. *Science*, 2008, 322(5901): 587-590.

[8] Chen J, Wu F H, Wang W H, et al. Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(13): 4481-4493.

[9] Lisjak M, Srivastava N, Teklic T, et al. A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 931-935.

[10] Chen Z, Chen M, Jiang M. Hydrogen sulfide alleviates mercury toxicity by sequestering it in roots or regulating reactive oxygen species productions in rice seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 111: 179-192.

[11] Christou A, Manganaris G A, Papadopoulos I, et al. Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defence pathways[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(7): 1953-1966.

[12] Aghdam M S, Mahmoudi R, Razavi F, et al. Hydrogen sulfide treatment confers chilling tolerance in hawthorn fruit during cold storage by triggering endogenous H₂S

accumulation, enhancing antioxidant enzymes activity and promoting phenols accumulation[J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 238: 264-271.

[13] Kolupaev Y E, Firsova E N, Yastreb T O, et al. The participation of calcium ions and reactive oxygen species in the induction of antioxidant enzymes and heat resistance in plant cells by hydrogen sulfide donor[J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2017, 53(5): 573-579.

[14] Shi H, Ye T, Chan Z. Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 71: 226-234.

[15] Bharwana S A, Shafaqat Ali. Hydrogen sulfide ameliorates lead-induced morphological, photosynthetic, oxidative damages and biochemical changes in cotton[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2014, 21(1): 717-731.

[16] 米永伟, 王国祥, 龚成文, 等. 盐胁迫对菘蓝幼苗生长和抗性生理的影响[J]. *草业学报*, 2018, 27(6): 43-51.

[17] Tang X Q, Wang Y, Lv T T, et al. Role of 5-aminolevulinic acid on growth, photosynthetic parameters and antioxidant enzyme activity in NaCl-stressed *Isatis indigotica* Fort. [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, 64(2): 198-206.

[18] 关开朗. 镉诱导拟南芥根生长抑制、根尖细胞氧化胁迫以及细胞自噬的研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2014.

[19] Hassan M J, Shao G, Zhang G. Influence of cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activity in rice cultivars with different grain cadmium accumulation[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2005, 28(7): 1259-1270.

[20] Ali B, Qian P, Sun R, et al. Hydrogen sulfide alleviates the aluminum-induced changes in *Brassica napus* as revealed by physiochemical and ultrastructural study of plant[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(4): 3068-3081.

[21] AbdAllah E F, Hashem A, Alqarawi A A, et al. Calcium application enhances growth and alleviates the damaging effects induced by Cd stress in sesame (*Sesamum indicum*, L.) [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2017, 12(1): 237-243.

[22] Irfan M, Ahmad A, Hayat S. Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea* [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2014, 21(2): 125-131.

[23] Liu X, Chen J, Wang G H, et al. Hydrogen sulfide alleviates zinc toxicity by reducing zinc uptake and regulating genes expression of antioxidative enzymes and metallothioneins in roots of the cadmium/zinc hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. [J]. *Plant and Soil*, 2015, 400(1): 177-192.

【责任编辑: 陈佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0038-06

不同生境对棕鞭藻自絮凝的影响

张 波, 刘少卓, 张安龙, 崔梦瑶, 亓雪菲

(陕西科技大学 环境科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:微藻细胞高昂的采收成本是微藻生物能源产业化应用的瓶颈所在. 针对此问题, 本文通过对 BG11 (BG-11 Medium for Blue Green Algae)、glu BG11 (添加 10 g/L 葡萄糖的 BG11)、生活废水三种营养环境中棕鞭藻自絮凝的差异对比, 研究了不同营养环境对棕鞭藻自絮凝的影响. 结果表明: 在较大 pH 范围 (1~8) 内, 棕鞭藻在生活废水中絮凝效率最高, 当 pH 为 2 时其絮凝效率可达 86.01%, 棕鞭藻更适合在低 pH 条件下的生活废水中絮凝; 由于生活废水中 Mg^{2+} 含量较低, 导致棕鞭藻在高 pH (11~12) 条件下自絮凝效率仅为 30% 左右, 远低于其在 BG11 中的自絮凝效率 (72.39%); 葡萄糖的添加可促进棕鞭藻产生大量的 AOM (Algal Organic Matter), 从而抑制了棕鞭藻的自絮凝过程. 本研究为在复杂废水环境中建立高效的微藻采收体系提供了重要指导.

关键词:棕鞭藻; 生活废水; 自絮凝; AOM
中图分类号:X703 **文献标志码:**A

Effects of different ecological habitation on the auto-flocculation of *Ochromonas* sp.

ZHANG Bo, LIU Shao-zhuo, ZHANG An-long, CUI Meng-yao, QI Xue-fei

(School of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The high harvesting cost of microalgae cells is the bottleneck of microalgae bioenergy industrialization. To solve this problem, the effect of different ecological habitation on the auto-flocculation of *Ochromonas* sp. was studied by comparing the auto-flocculation of *Ochromonas* sp. under BG11 (BG-11 Medium for Blue Green Algae), glu BG11 (with 10 g/L of BG11) and domestic wastewater. The results showed that the *Ochromonas* sp. flocculation efficiency was higher in domestic wastewater in the pH range from 1 to 8, and the flocculation efficiency reached 86.01% when the pH was 2, which means *Ochromonas* sp. flocculated better under low pH values in domestic wastewater. The flocculation efficiency was 30% under pH from 11 to 12 in the domestic wastewater, which was lower than the one in BG11 (72.39%) and was due to the low Mg^{2+} concentration in the domestic wastewater. The addition of glucose can accelerate the production AOM (Algal Organic Matter) of *Ochromonas* sp., which retained the flocculation process. This study provides important instructions of the high efficient microalgal harvest in complicated wastewater environments.

Key words: *Ochromonas* sp.; domestic wastewater; auto-flocculation; AOM

* 收稿日期:2019-08-04
基金项目:陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2017JQ5097); 陕西科技大学自然科学基金预研基金项目(2016BJ-44)
作者简介:张 波(1986—),男,陕西西安人,副教授,博士,研究方向:微藻生物技术

0 引言

微藻因其光合效率与油脂含量高、生长周期短、占用耕地少等特点被认为是极有潜力替代化石能源的绿色、环保、可再生能源^[1],但其高昂的培养与采收成本使微藻生物能源未能广泛普及^[2].微藻培养过程需要消耗大量的水资源和 N、P 等无机营养^[3],进而导致微藻培养成本可达微藻生物柴油制备总成本的 40% 以上^[4].废水体系中含有丰富的 N、P、有机物等营养物质供微藻生长^[5].利用废水培养微藻可在降低微藻培养成本的同时实现废水的净化与资源化利用^[6],进而实现废水由处理工艺向生产工艺的转变.

与此同时,微藻细胞形态微小(2~30 μm),细胞表面带有负电荷^[7],微藻细胞在培养液中形成稳定的分散体系,从而导致微藻细胞采收难度极大^[8].目前大量的研究围绕微藻的采收方法、工艺及相关机理展开,建立高效率、低成本的微藻采收体系是微藻生物能源产业化应用的关键所在,具有重要的经济与实践意义^[9].

微藻细胞常用的采收方法有离心法、过滤法、气浮法、直接重力沉降法和絮凝法等^[10].离心法由于其极高的能耗和运行成本,目前并不具备大规模工程应用的潜力^[11];使用过滤法收获微藻同样具有较高的运行成本,且收获效率较低^[12];气浮法仅适用于采收部分单细胞藻类,在废水混合培养的条件下不能普遍适用;直接重力沉降法是成本最为低廉的采收方法,但其耗时长,分离效果和可靠性较差^[13].

絮凝法是目前处理大量稀藻液时最为经济、可行的方法,微藻悬液经絮凝后能实现高效重力沉淀分离.絮凝法分为化学絮凝、生物絮凝、物理絮凝以及自絮凝^[14].由 Al³⁺、Fe³⁺ 为代表的化学絮凝虽然效率高,但化学试剂会吸附在藻细胞上,对下游处理工艺不利^[15];生物絮凝有着较为理想的絮凝效率,但过程繁琐、成本较高,同时可能产生生物污染问题^[16];物理絮凝操作相对复杂、成本高昂^[17];因此,寻找一种绿色高效的絮凝收获方法对于微藻生物能源的发展十分必要.藻类细胞表面带有负电荷,在特定的 pH 范围下其表面电荷会减少进而发生聚集并沉淀,从而达到自絮凝采收目的^[18].自絮凝可在不添加任何絮凝剂的情况下完成藻细胞的高效采收且安全性高,因此被广泛应用于微藻的采收,被认为是最具应用前景的微藻采收策略之一^[19].

现阶段有关微藻细胞采收的研究主要集中于不同类型的收获方法对微藻絮凝效率的影响,而针对不同营养环境对微藻絮凝的影响研究较为缺乏,尤其在具有复杂理化环境与微生态环境的废水体系中关于微藻絮凝的研究几乎未见报道.因此,本文以棕鞭藻为对象,针对其在 BG11 培养基、glu BG11 培养基(添加 10 g/L 葡萄糖 BG11 培养基)及生活废水三种营养环境中的自絮凝效率进行比较,从而进一步分析微藻细胞在不同营养环境中的自絮凝差异,揭示不同营养环境尤其是复杂废水环境对微藻自絮凝的影响.本研究将为系统揭示有机物及废水环境对微藻采收的影响机制提供重要依据,为进一步在废水环境中建立经济、高效的微藻采收体系提供重要指导.

1 实验部分

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 主要试剂

硝酸,分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;氢氧化钠,分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;葡萄糖,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;氯化镁,分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司.

1.1.2 主要仪器

QGZ-500A 智能光照培养箱,杭州琦胜科技有限公司;OPTIMA XPN-10 型低温超速离心机,美国贝克曼库尔特公司;Cary 5000 型紫外-可见-近红外分光光度计,美国安捷伦公司;PHS-25 台式数显 pH 计,上海圣科仪器设备有限公司.

1.2 微藻藻株

所用藻株分离自陕西科技大学校园湖,经 16s rDNA 序列分析比对,鉴定其为棕鞭藻属 *Ochromonas* sp. (genbank 查找号 MN028256).

1.3 生活废水

废水收集于陕西科技大学校污水处理厂进水口(废水水质如表 1 所示),使用 3 层纱布过滤除去其中大型浮游生物及悬浮颗粒,用自来水将废水稀释两倍后用于微藻培养.

表 1 生活废水主要水质指标

COD	TN	TP	Mg ²⁺
/(mg/L)	/(mg/L)	/(mg/L)	/(mg/L)
520.19	24.33	6.81	0.36

1.4 不同营养环境中微藻的培养

将处于生长稳定期的棕鞭藻按接种干重约为 0.013 g/L 分别接种于装有 100 mL BG11 培养

基^[20]、glu BG11(添加 10 g/L 葡萄糖的 BG11 培养基)及经预处理的生活废水的 250 mL 三角瓶中摇床震荡培养. 摇床转速为 150 r/min, 光暗时间比为 14 : 10, 温度与光照强度分别设定为 28 ℃ 和 3 500 lux.

1.5 不同微藻悬液体系中藻细胞自絮凝效率测定

使用 1 mol/L HNO₃ 或 NaOH 溶液分别将藻液 pH 调至 1.0~12.0 并充分震荡, 取 10 mL 微藻培养液置于 20 mL 试管中, 样品沉降 10 min 后在液面下 2 cm 处取样, 使用紫外分光光度计测定样品在 540 nm 处的吸光度并计算其絮凝效率, 可按公式(1)进行计算.

$$\text{絮凝效率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{OD}_{\text{最终}}}{\text{OD}_{\text{初始}}}\right) \times 100 \quad (1)$$

1.6 Mg²⁺ 对生活废水中微藻自絮凝的影响

取废水环境中的微藻培养液置于 20 mL 试管中, 使用 1 mol/L NaOH 溶液分别将藻液 pH 调整为 11.0、12.0 后加入 MgCl₂ 溶液, 使得溶液中 Mg²⁺ 含量分别为 10 mg/L、15 mg/L、20 mg/L、25 mg/L, 测定各培养液中微藻细胞自絮凝效率.

1.7 不同营养环境对微藻 AOM 产量的影响

取适量微藻样品置于 50 mL 离心管将其 pH 分别调整为 2.0、8.0、11.0 后用 Whatman No. 1 滤膜进行过滤, 保留清液, 1 000 r/min 离心 10 min; 取上清液, 加入等体积的丙酮, 在 4 ℃ 条件下保存 48 h 后 10 000 r/min 离心 10 min, 保留沉淀, 冻干 24 h 即得 AOM 并称量其干重^[21].

2 结果与讨论

2.1 棕鞭藻在不同营养环境中的生长速率比较

图 1 描述了棕鞭藻(*Ochromonas* sp.)在三种营养环境中的生长状况. 由图 1 可知, 棕鞭藻在 glu BG11 培养基中生长速率最快, 在接种第 5 天进入对数生长期, 其生物量产率为 0.252 g/Ld, 培养末期生物量干重可达 1.5 g/L 以上. 葡萄糖对微藻生长有显著的促进作用, 其生长速率约为 BG11 中的 10 倍. BG11 中棕鞭藻生长速率次之, 生物量产率为 0.026 g/Ld, 培养末期干重为 0.514 g/L; 棕鞭藻在生活废水中生长速率最慢, 生物量产率为 0.017 g/Ld, 培养末期生物量干重为 0.379 g/L. 相较于 glu BG11, 棕鞭藻在生活废水中与 BG11 中生长速率稳定, 无明显对数生长期且在生活废水中与 BG11 中棕鞭藻的生物量产率较为接近, 故使用

生活废水培养微藻可在降低培养成本的同时实现废水的资源化利用.

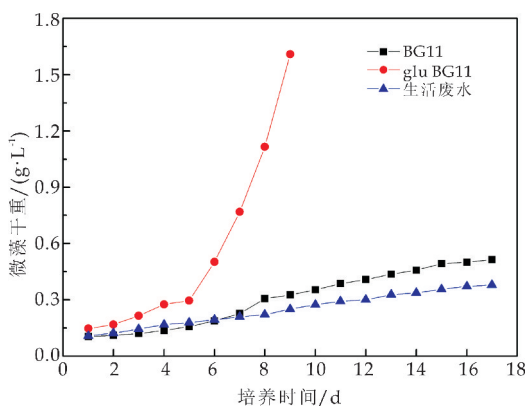


图 1 棕鞭藻在不同营养环境中的生长曲线

2.2 棕鞭藻在不同营养环境中的自絮凝差异

棕鞭藻在不同营养环境中的自絮凝效率如图 2 所示. 以低 pH 条件下诱导的絮凝来看, 在较大 pH 范围(1~8)的生活废水中棕鞭藻自絮凝效率最高, pH 为 2 时其絮凝效率达到最大(86.01%), 约为 BG11 中絮凝效率的 1.85 倍, glu BG11 中的 3.16 倍. 上述结果证明, 棕鞭藻更适合在低 pH 条件下的生活废水中絮凝. 而在高 pH(11~12)条件下, 棕鞭藻在 BG11 中自絮凝效率最高, pH 为 12 时可达 72.39%, 然而在生活废水中棕鞭藻的自絮凝效率仅为 31.83%. 高 pH 诱导的自发性絮凝其实质为 Mg²⁺ 所生成的带正电沉淀物的电性中和作用^[20], 则棕鞭藻在高 pH 条件下的生活废水中絮凝效率较低的原因可能为废水中 Mg²⁺ 含量较少. 棕鞭藻在 glu BG11 中的絮凝效率最低且始终低于 30%, 葡萄糖的添加对微藻的自絮凝过程有显著的抑制作用.

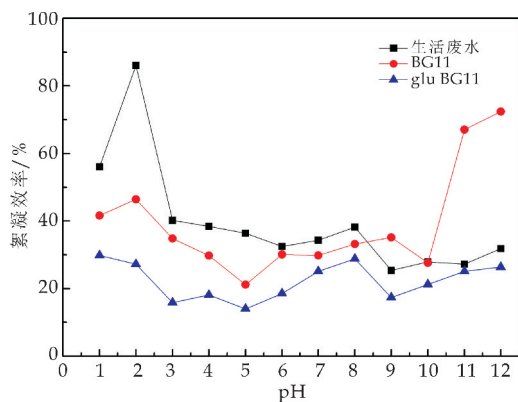


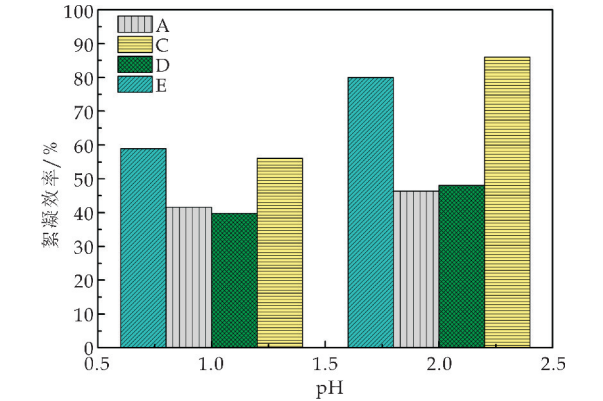
图 2 棕鞭藻在不同营养环境中的自絮凝效率

2.3 生活废水对棕鞭藻自絮凝的影响

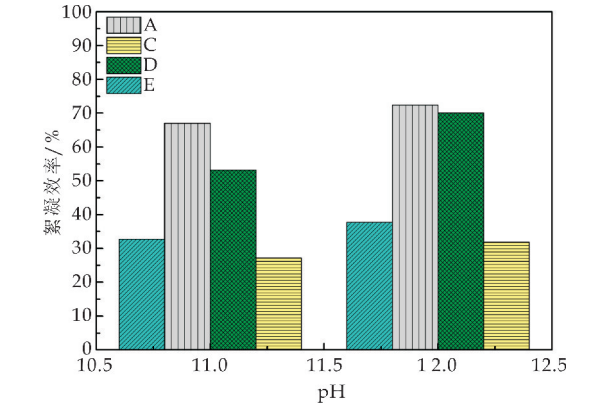
2.3.1 废水重悬体系中棕鞭藻自絮凝效率

图 3 描述了棕鞭藻在不同悬液体系中的自絮凝效率差异. 由图 3(a)可知,在低 pH 条件下,使用废水中微藻培养物离心后的上清液重悬 BG11 中的棕鞭藻细胞(E 体系)其絮凝效率较 BG11 中显著上升,pH 为 2 时其自絮凝效率由 46.40%升至 79.99%. 与此同时,在相同 pH 条件下,使用 BG11 中微藻培养物离心后的上清重悬废水中的棕鞭藻细胞(D 体系)其自絮凝效率较生活废水中显著下降. 由此可推断相较于 BG11 培养基体系,经生活废水获得的微藻培养物中存在可促进棕鞭藻自絮凝的物质. 刘洁霞等研究发现微藻在低 pH 条件下的絮凝与附着在微藻细胞上的羧酸根离子有关,羧酸根离子在 pH 值降低负电荷减少时接受质子中和,破坏藻细胞的分散稳定性从而导致藻细胞絮凝^[20]. 生活废水环境更适合棕鞭藻在低 pH 条件下的自絮凝,其可能的原因为复杂生活废水环境中存在对棕鞭藻絮凝有显著促进的物质.

如图 3(b)所示,在高 pH(11~12)条件下,使用废水中微藻培养物离心后的上清液重悬 BG11 中的棕鞭藻细胞(E 体系),棕鞭藻的自絮凝效率较 BG11 中显著下降,pH 为 12 时其自絮凝效率由 72.39%降至 37.67%. 而在相同的 pH 条件下,使用 BG11 中微藻培养物离心后的上清重悬废水中的棕鞭藻细胞时(D 体系),棕鞭藻的絮凝效率则较生活废水显著升高. 同时,高 pH 条件下棕鞭藻在生活废水中的自絮凝效率仅为 30%左右,远低于其在 BG11 中的絮凝效率(70%左右). Vandamme 等^[22]研究发现增加微藻培养基的 pH 能引起 Mg^{2+} 在培养基中水解形成 $Mg(OH)_2$ 沉淀,其机理主要是通过静电中和和卷扫絮凝微藻细胞. 故推测棕鞭藻在高 pH 条件下的生活废水中絮凝效率较低的原因可能为废水中 Mg^{2+} 含量较少.



(a)低 pH 条件下棕鞭藻在各重悬体系中絮凝效率



(b)高 pH 条件下棕鞭藻在各重悬体系中絮凝效率

图 3 不同藻细胞悬液体系中自絮凝效率差异(A: BG11 培养基中棕鞭藻培养液;C:废水环境中棕鞭藻培养液;D:使用 BG11 中微藻培养物离心后的上清重悬废水中的棕鞭藻细胞;E:使用废水中微藻培养物离心后的上清液重悬 BG11 中的棕鞭藻细胞)

2.3.2 Mg^{2+} 对生活废水中棕鞭藻自絮凝的影响

生活废水水质指标如表 1 所示. 由于生活废水中 Mg^{2+} 含量(0.36 mg/L)仅为 BG11 培养基中的 5%,故通过 Mg^{2+} 的添加以验证生活废水中 Mg^{2+} 含量对棕鞭藻自絮凝的影响,自絮凝结果如图 4 所示.

由图 4 可知,在高 pH(11~12)条件下,向生活废水中添加 Mg^{2+} 对棕鞭藻的絮凝有显著的促进作用. pH 为 11 时 Mg^{2+} 含量对棕鞭藻自絮凝的促进作用更为显著,当 Mg^{2+} 投加量为 15 mg/L 时棕鞭藻自絮凝效率达到最高(93.12%). 该结果充分证明了棕鞭藻在高 pH 条件下的生活废水中絮凝效率较低是因为废水中所含 Mg^{2+} 较少.

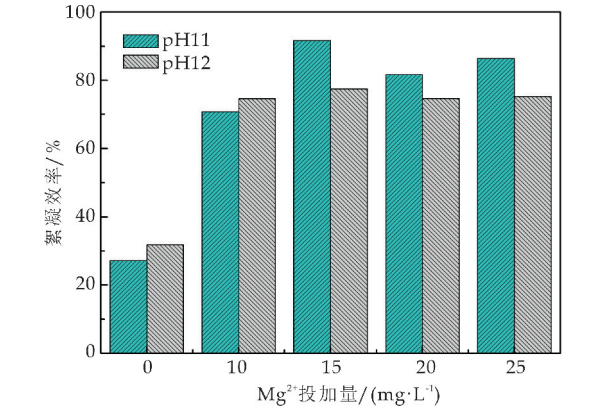


图 4 Mg^{2+} 对废水环境中棕鞭藻自絮凝的影响

2.4 葡萄糖对棕鞭藻自絮凝的影响

为进一步探究 glu BG11 中葡萄糖的添加对棕鞭藻自絮凝的影响,故分别对酸性、中性及碱性

(pH 为 2、8、11 时)条件下 F、G 体系中的棕鞭藻自絮凝效率进行测定。

图 5 描述了棕鞭藻细胞在不同悬液体系中自絮凝效率变化。如图 5 所示,相较于 BG11 体系中(A 体系),使用 glu BG11 中微藻培养物离心后的上清液重悬 BG11 中的棕鞭藻细胞(G 体系)在各 pH 条件下(2、8、11)自絮凝效率均明显降低。当 pH 为 11 时,棕鞭藻自絮凝效率由 67.02%(A 体系)降至 27.99%(G 体系)。使用 BG11 中微藻培养物离心后的上清液重悬 glu BG11 中的棕鞭藻细胞(F 体系)可见其絮凝效率显著升高,pH 为 11 时棕鞭藻的自絮凝效率由 glu BG11(B 体系)中的 25.12% 升至 64.89%,BG11 上清液对 glu BG11 中藻细胞的自絮凝过程有显著的促进作用。陈潮州^[23]研究发现有机碳源促进微藻产生大量的 AOM 且 AOM 对微藻的絮凝存在抑制作用。故分别对三种 pH 条件下 glu BG11 培养基中棕鞭藻 AOM 产量进行测定。

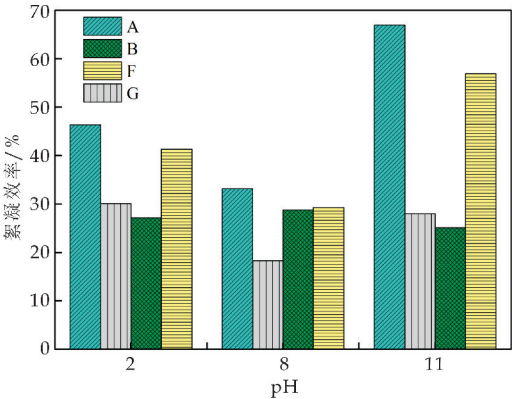


图 5 不同藻细胞悬液体系中自絮凝效率差异(A:BG11 培养基中微藻培养液;B:glu BG11 培养基中微藻培养液;F:使用 BG11 中微藻培养物离心后的上清液重悬 glu BG11 中的棕鞭藻细胞;G:使用 glu BG11 中微藻培养物离心后的上清液重悬 BG11 中的棕鞭藻细胞)

不同 pH 条件下棕鞭藻在 BG11 与 glu BG11 中 AOM 产量变化如图 6 所示。棕鞭藻在 glu BG11 中 AOM 产量较高,葡萄糖的添加促进棕鞭藻产生大量的 AOM。当 pH 为 11 时,在 BG11 培养基中棕鞭藻的 AOM 产量仅为(0.035 g/L),而 glu BG11 中 AOM 产量则为 0.557 g/L,约为 BG11 中棕鞭藻 AOM 产量的 16 倍,与此同时棕鞭藻在 BG11 中絮凝效率为 67.02% 也远高于其在 glu BG11 中的絮凝效率(25.12%)。pH 为 8 时,棕鞭藻 AOM 产量最低,glu BG11 中 AOM 产量仅

为 0.106 g/L,约是 pH 为 11 条件下 glu BG11 中 AOM 产量的 18%,BG11 中 AOM 的产量为 0.009 g/L。同时,棕鞭藻在 BG11 与 glu BG11 中絮凝效率分别为 33.16% 和 28.78%,棕鞭藻在两种营养环境中 AOM 产量与絮凝效率均较接近,AOM 对棕鞭藻的自絮凝过程抑制作用在 pH 为 8 时较小。

当 pH 为 2 时,棕鞭藻在 BG11 中絮凝效率为 67.02%,而在 glu BG11 中其絮凝效率仅为 25.12%,此时 glu BG11 中棕鞭藻 AOM 产量约为 BG11 中的 13 倍。结果表明,微藻培养过程中葡萄糖的加入可促进藻细胞产生大量的 AOM,Vandamme 等^[24]研究发现藻类所产生的 AOM 中含有大量的胞外多糖,由于多糖中带负电荷的羧基可与带正电荷的离子产生电性中和作用,从而对微藻的自絮凝过程产生抑制。

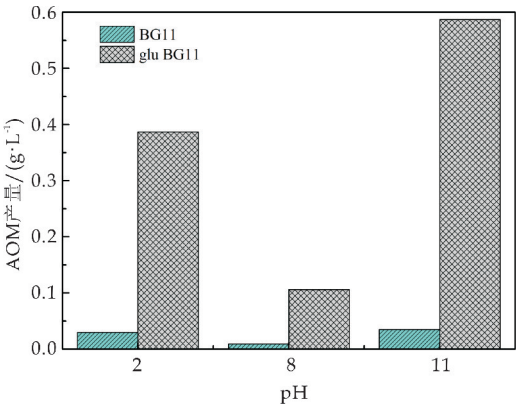


图 6 不同营养环境对棕鞭藻 AOM 产量的影响

3 结论

(1)不同营养环境对棕鞭藻的自絮凝影响差异显著。较大的 pH(1~8)范围内,相较于 BG11 与 glu BG11,生活废水中棕鞭藻自絮凝效率最高。在 pH 为 2 时其絮凝效率可达 86.01%,棕鞭藻更适合在低 pH 条件下的生活废水中絮凝。

(2)生活废水环境中 Mg^{2+} 含量较低导致了棕鞭藻在高 pH(11~12)条件下自絮凝效率较低仅为 30% 左右。

(3)葡萄糖可促进棕鞭藻产生大量的 AOM 进而对其自絮凝过程产生抑制作用。

参考文献

[1] 万 春,张晓明,赵心清,等.利用絮凝进行微藻采收的研究进展[J].生物工程学报,2015,31(2):161-171.
[2] Lei X,Chen Y,Shao Z,et al. Effective harvesting of the

- 【责任编辑：蒋亚儒】

【责任编辑：蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0044-06

枸杞多糖及其硫酸化产物的免疫调节活性

孙玉姣, 高润凝, 崔湘怡, 张楠

(陕西科技大学 食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘要:为了探究枸杞多糖及其硫酸化修饰产物的免疫调节活性,本研究采用非选择性硫酸化修饰方法,分别针对枸杞多糖组分 LbGp1 和 LbGp4 进行硫酸化修饰,进而研究枸杞多糖及其硫酸化产物的理化性质及其免疫调节活性.研究发现,硫酸化修饰能明显增强枸杞多糖的免疫调节活性,并且硫酸化修饰对 LbGp4 的免疫调节活性影响更加显著.研究结果可为进一步阐明硫酸化枸杞多糖免疫增强作用的分子机制提供科学依据,为深入探讨硫酸化多糖的构效关系奠定理论基础.

关键词:枸杞多糖; 硫酸化修饰; 免疫调节活性

中图分类号:TS201 **文献标志码:**A

The immunoregulatory activity of *Lycium barbarum* polysaccharides and their sulfated products

SUN Yu-jiao, GAO Run-ning, CUI Xiang-yi, ZHANG Nan

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In order to investigate the immunoregulatory activity of *Lycium barbarum* polysaccharides and their sulfated products,non-selective sulfated modification was used to prepare sulfated *Lycium barbarum* polysaccharide LbGp1 and LbGp4, respectively, and then the physicochemical properties and immunoregulatory activity of *Lycium barbarum* polysaccharides and their sulfated products were well evaluated. The results showed that sulfation modification can significantly enhance the immunoregulatory activity of *Lycium barbarum* polysaccharides,and the immunoregulatory effect of sulfated LbGp4 showed significant increase. The results provide a scientific basis for further study on the molecular mechanism of immune enhancement of sulfated *Lycium barbarum* polysaccharides, and lay a theoretical foundation for deep study on the structure-activity relationships of sulfated *Lycium barbarum* polysaccharides.

Key words:*Lycium barbarum* polysaccharides; sulfated modification; immunoregulatory activity

* 收稿日期:2019-07-24
基金项目:陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2017JQ3036); 陕西省教育厅专项科研计划项目(18JK0120); 陕西省大学生创新创业训练计划项目(S201910708029); 陕西科技大学博士科研启动基金项目(BJ16-17)
作者简介:孙玉姣(1988—),女,陕西西安人,讲师,博士,研究方向:糖化学与糖生物学

0 引言

1.1.2 实验试剂

多糖广泛存在于自然界,是一类重要的生物信息分子.它们参与了细胞识别、生长、分化、机体代谢、胚胎发育和免疫应答等许多重要的生命活动.免疫调节活性是多糖最重要的生物活性,多糖免疫功能的发挥可直接或间接影响多糖发挥抗肿瘤、抗病毒、抗氧化等其他功能.多糖作为免疫调节剂,是许多药食两用植物最重要的免疫活性成分,不仅能激活巨噬细胞、T/B 淋巴细胞和 NK 细胞等免疫细胞,调节靶细胞的细胞因子分泌,促进抗体生成,还能激活补体系统,增强红细胞免疫功能等^[1];而且多糖的免疫调节活性是通过宿主中介起作用,无毒副作用,不影响正常细胞.因此,多糖的免疫调节活性研究引起了人们极大兴趣^[2].

近年来,多糖的化学分子修饰,尤其是硫酸化修饰受到了食品化学、医药科学等领域工作者的广泛关注.硫酸化修饰是通过化学方法在多糖分子结构中引入硫酸基团,从而使多糖糖链中单糖分子的羟基被硫酸基团取代.相比天然多糖,硫酸化修饰多糖具有更加广泛和优越的生物活性^[3,4].研究发现,部分多糖经过硫酸化修饰后,免疫调节活性显著增强,主要表现为促进脾淋巴细胞和巨噬细胞增殖以及刺激细胞因子分泌等方面^[5,6].此外,多糖经过硫酸化修饰后,生物活性增强,可以有效提高多糖的利用率,对其开发与应用具有深远意义.

阿拉伯半乳聚糖(Aragalactan)的免疫调节活性已得到广泛认可,研究发现,从枸杞中提取的多糖类型均为阿拉伯半乳聚糖.枸杞(Lycium bararum L.)是我国一种药食两用物质,有“补肾益精,养肝明目”的功效,民间多用来作为延年益寿的补品,也是进行食品或保健食品开发的重要原料.近年来,现代药理学研究发现枸杞具有明显的免疫调节作用,其中多糖是枸杞发挥免疫调节活性的重要物质基础^[7].因此,本研究拟以枸杞多糖为模型分子,通过对枸杞多糖进行硫酸化修饰,研究硫酸化修饰对多糖免疫调节活性的影响.本研究的开展有助于在分子水平上深入探讨硫酸化多糖免疫调节活性的作用机制,为多糖的目的性筛选和定向硫酸化修饰提供理论依据.此外,通过硫酸化修饰,可扩大并优化枸杞多糖的免疫调节功能,有助于拓宽其在功能性食品方面的开发和应用.

1 材料与方法

1.1.3 实验仪器

1.1 实验材料、试剂和仪器

1.1.1 实验材料

枸杞干果购于陕西省西安市中药材市场,产地为宁夏省中卫市.

葡聚糖标准(相对分子质量分别为 5、12、25、50、80 和 150 kDa)、硫酸化试剂三氧化硫-吡啶复合物($\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$)、二甲基亚砷(DMSO)、MTT(四氮唑蓝)和脂多糖(LPS)购于美国 Sigma-Aldrich 公司;DEAE-52 纤维素填料购于上海恒信化学试剂有限公司;Sephadex G-100 凝胶填料购于瑞典 Pharmacia 有限公司;RAW 264.7 细胞株购于中国科学院上海细胞库;胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基、链霉素、青霉素、中性红染料、磷酸对硝基苯酯和 Triton X-100 购于上海生工生物工程股份有限公司;NO 测定试剂盒购于碧云天生物技术研究所以;IL-1 β 和 TNF- α ELISA 试剂盒购于武汉基因美科技有限公司;RNA 抽提试剂 Trizol、Prime-ScriptTM RT 和 SYBR-Green PCR 试剂盒购于 Takara 公司;其余试剂都是国产分析纯.

T6 新世纪型紫外-可见光分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;BS-100A 型自动部分收集仪,上海沪西分析仪器厂;EQUINOX-55 型红外光谱仪,德国 Bruker 公司;Waters 2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司,2414 示差折光检测器、色谱柱 TSK-gel G4000SW,7.5 mm \times 30.0 cm,日本 Tosoh 公司;Multiskan Ascent 酶标仪,美国 Thermo 公司;CFX Connect Real-Time PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司.

1.2 实验方法

1.2.1 枸杞粗多糖 LBP 的提取

枸杞粗多糖 LBP 的提取和分离纯化采用前期已建立的方法^[8].将 100 g 枸杞干果浸泡在 400 mL 的蒸馏水中,在室温放置 2 h 后,将浸出液浓缩到体积为 50 mL.提取过程重复两次,合并提取液.然后加入 4 倍体积的 95%(v/w)乙醇,过夜放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下.再将溶液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心,沉淀部分溶于 50 mL 的蒸馏水中.采用 Sevag 法(氯仿:正丁醇=4:1,v/v)除去游离蛋白,重复 6~7 次,待溶液中不形成白色凝胶状沉淀为止.最后将此溶液对水透析,浓缩和冻干,得到枸杞粗多糖 LBP.

1.2.2 枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4 的分离纯化

采用 DEAE-52 型弱碱性(HCO_3^- form)的阴离子交换柱(5.0 cm \times 50 cm)对得到的枸杞粗多糖分离.取 1 g LBP 溶于 10 mL 的蒸馏水中,离心取上清后上样.依次用 500 mL 的蒸馏水,0.05 mol/L、0.10 mol/L、0.25 mol/L 和 0.5 mol/L NaHCO_3 洗脱,洗脱液流速为 1.0 mL/min.同时自动收集洗脱液,每管 8 min.收集完毕后,用紫外-可见光分光计隔管检测蛋白吸收(280 nm)和糖吸收(490 nm,苯酚-硫酸法).根据蛋白和糖的光吸收

值,绘制出洗脱曲线,将同一色谱峰的洗脱液合并后,透析,浓缩,冻干.经过阴离子交换柱的分离,一共得到了五个组分,分别为 Lbp1、Lbp2、Lbp3、Lbp4 和 Lbp5.

将 Lbp1 和 Lbp4 用 Sephadex G-100 凝胶柱(2.0 cm × 100 cm)进一步纯化,取 80 mg Lbp1 和 Lbp4 上样,用 0.1 mol/L NaCl 缓冲液洗脱,流速为 0.5 mL/min.将洗脱曲线中的主要组分收集起来,透析,浓缩,冻干,得到 LbGp1 和 LbGp4.

1.2.3 总糖含量的测定

总糖含量的测定采用苯酚-硫酸法^[9].以 Ara 为标准,绘制标准曲线.将 Ara 配制成浓度为 0.2 mg/mL 的标准溶液,分别吸取 0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL、0.6 mL、0.7 mL、0.8 mL、0.9 mL 和 1.0 mL 于试管中,每管用蒸馏水补到 2.0 mL.依次加入 50 μ L 的 80% (w/v) 苯酚溶液和 2.5 mL 的浓硫酸.摇匀后,在室温下放置 20 min,于 490 nm 处测定光吸收值.2 mL 的蒸馏水作为空白对照,同样按上述方法操作.平行做三份,求出各个浓度吸光度的平均值.将得到的结果制作标准曲线,横坐标为标准单糖质量,纵坐标为平均吸光度值,得到线性回归方程.

样品的总糖含量测定:将 LbGp1 和 LbGp4 配制成浓度为 2 mg/mL 的溶液,吸取各样品溶液 0.1 mL,按以上操作方法测定其吸光度值.根据回归方程计算各个样品的总糖含量.

1.2.4 非选择性硫酸化修饰

分别称取 20 mg、40 mg 和 80 mg 三乙胺-三氧化硫,加入 25 mL 二甲基甲酰胺和 300 mg 枸杞多糖,于 50 $^{\circ}$ C 搅拌反应 12 h.反应完成后,用 5 mol/L NaOH 中和反应物,加入三倍体积 95% 乙醇,静置过夜后离心,收集沉淀物,干燥,然后溶于少量蒸馏水,用截留分子量为 300 Da 的透析袋透析,冻干,命名为 LbGp1-SL、LbGp1-SM 和 LbGp1-SH 以及 LbGp4-SL、LbGp4-SM 和 LbGp4-SH.

1.2.5 巨噬细胞株 RAW 264.7 的培养

RAW 264.7 细胞用含有 1% 双抗(青霉素和链霉素)和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养.放置于二氧化碳恒温培养箱内培养,培养条件为 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 ,隔天传代.

1.2.6 细胞活力的检测

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L,以培养液作对照,药物处理 24 h,加入 100 μ L 的 MTT 溶液(5 mg/mL),37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 ,继续培养 4 h.弃上清,每

孔加入 100 μ L 的 DMSO,温室振荡 10 min.用酶标仪于 490 nm 处测各孔的吸光度^[10].

1.2.7 细胞吞噬能力的检测

采用吞噬中性红实验检测枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞吞噬能力的影响.收集对数生长期细胞,调整细胞浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L,并以 150 μ L 脂多糖(LPS,1 μ g/mL)和培养液分别作为阳性对照和空白对照.培养 24 h 后,弃细胞培养液,每孔加入 0.1% 中性红生理盐水溶液 100 μ L,继续培养 4 h,每孔加入 150 μ L 的细胞裂解液,37 $^{\circ}$ C 放置 1 h,振荡均匀,用酶标仪于 540 nm 处测各孔的吸光度^[11].

1.2.8 NO 含量的检测

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L,并以 150 μ L LPS(1 μ g/mL)和培养液分别作为阳性对照和空白对照,继续培养 24 h 后,进行检测.采用 NO 检测试剂盒检测 NO 含量.用酶标仪于 492 nm 处测各孔的吸光度^[12].

1.2.9 酸性磷酸酶活力的检测

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L,并以 150 μ L LPS(1 μ g/mL)和培养液分别作为阳性对照和空白对照,继续培养 24 h 后,每孔加入 25 μ L 的 1% Triton X-100 和 150 μ L 的磷酸对硝基苯酯(1 mg/mL)继续培养 1 h.反应结束后,加入 50 μ L 的 3 mol/L NaOH 进行检测.用酶标仪于 405 nm 处测各孔的吸光度^[13].

1.2.10 细胞因子分泌量的检测

收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L,并以 150 μ L LPS(1 μ g/mL)和培养液分别作为阳性对照和空白对照,继续培养 24 h 后,进行检测.采用 ELISA 法检测细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌水平.

1.2.11 细胞因子 mRNA 表达量的检测

采用 qRT-PCR 方法检测硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子基因表达的影响.收集对数生长期细胞,调整细胞悬液浓度为 5×10^4 cell/mL,接种于 6 孔培养板,每孔 2 mL,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养 24 h.加入不同浓度硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)150 μ L.硫酸化多糖

处理 24 h 后,加入 0.6 mL 的 Trizol 试剂,然后利用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀,提取细胞中的总 RNA. 将提取的总 RNA 进行纯度鉴定后,进行 qRT-PCR 分析检测细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的表达水平^[14].

qRT-PCR 扩增条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;94 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火及延伸 34 s,共计 40 个循环. 引物序列如表 1 所示.

表 1 引物序列	
Name	Sequence
IL-1 β F	CCTGTGTCTTTCCCGTGGAC
IL-1 β R	CATCTCGGAGCCTGTAGTGC
TNF- α F	CCAGACCCTCACACTCACAAAC
TNF- α R	GTAGACAAGGTACAACCCATCG
β -actin F	CGGTGAAGGCGACAGCAGTTGGT
β -actin R	AGGAGTGGGGGTGGCTTTTGGGA

2 结果与讨论

2.1 枸杞多糖及其硫酸化产物的理化性质分析

2.1.1 总糖含量分析

如表 2 所示,硫酸化修饰后,枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4 的糖含量显著下降,并且随着硫酸化程度的提高,糖含量也随之降低.

表 2 枸杞多糖及其硫酸化产物的总糖含量(%)			
枸杞多糖	总糖含量	硫酸化产物	总糖含量
LbGp1	86.0 \pm 1.7	LbGp1-SL	76.0 \pm 1.8
		LbGp1-SM	73.9 \pm 1.9
		LbGp1-SH	71.5 \pm 1.6
LbGp4	82.1 \pm 1.7	LbGp4-SL	78.0 \pm 1.7
		LbGp4-SM	69.1 \pm 1.7
		LbGp4-SH	67.7 \pm 2.0

2.1.2 硫酸基团含量分析

以 K₂SO₄ 为标准,绘制出标准曲线. 横坐标为硫酸基团的质量(mg),纵坐标为其在 360 nm 处的吸光度值 A(A=A₁-A₂),由此得到的线性回归方程是:y=3.239 3x+0.000 3,R₂=0.996 5,由此计算 LbGp1-SL、LbGp1-SM 和 LbGp1-SH 以及 LbGp4-SL、LbGp4-SM 和 LbGp4-SH 的硫酸基含量(如表 3 所示). 并且,随着硫酸化程度的提高,硫酸基含量也随之增加.

表 3 枸杞多糖硫酸化产物的硫酸基含量(%)	
硫酸化产物	硫酸基含量
LbGp1-SL	13.7 \pm 2.0
LbGp1-SM	21.1 \pm 2.1
LbGp1-SH	27.4 \pm 2.0
LbGp4-SL	17.0 \pm 1.8
LbGp4-SM	27.0 \pm 2.1
LbGp4-SH	27.3 \pm 1.9

2.1.3 相对分子质量分析

如表 4 所示,硫酸化修饰后,枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4 的相对分子质量逐渐增加. 并且,随着硫酸化程度的提高,相对分子质量也随之增加.

表 4 枸杞多糖及其硫酸化产物的相对分子质量(kDa)			
枸杞多糖	相对分子质量	硫酸化产物	相对分子质量
LbGp1	51.2	LbGp1-SL	59.9
		LbGp1-SM	66.3
		LbGp1-SH	70.8
LbGp4	50.4	LbGp4-SL	61.2
		LbGp4-SM	70.3
		LbGp4-SH	79.9

2.1.4 FT-IR 谱图分析

硫酸化枸杞多糖的红外光谱如图 1 所示. 从光谱中可以看出,相比于枸杞多糖,硫酸化枸杞多糖在 3 600~3 200 cm⁻¹ 位置的吸收降低,推测这是由于多糖经过硫酸化修饰后,硫酸基取代了羟基的位置,因此多糖 O-H 的伸缩振动峰吸收降低. 并且,硫酸化枸杞多糖出现了两个新的特征峰. 在 1 229 cm⁻¹ 处有 S=O 的伸缩振动峰,在 808 cm⁻¹ 处有 C-O-S 的伸缩振动峰,这说明枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4 确实发生了硫酸化.

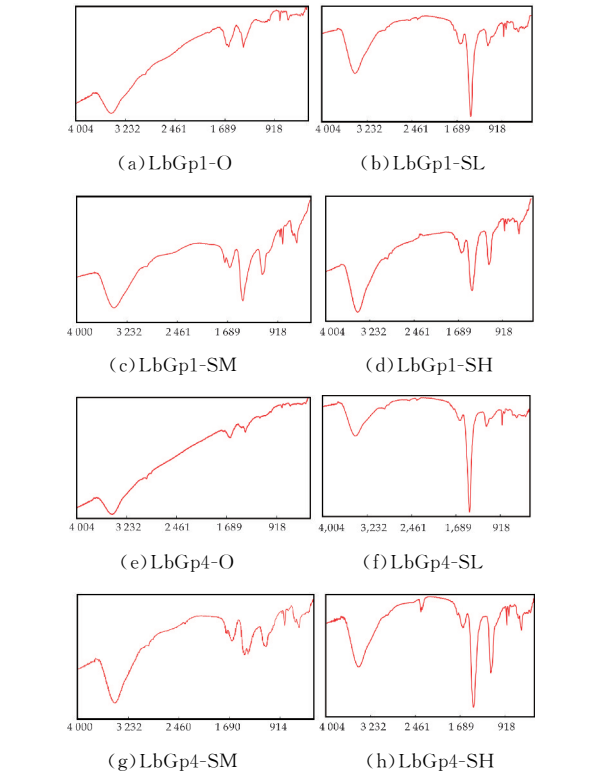


图 1 枸杞多糖(a、e)和硫酸化枸杞多糖(b、c、d、f、g、h)的 FT-IR 光谱

2.2 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞活力的影响

如图 2 所示,不同浓度的枸杞多糖和硫酸化枸杞多糖(25、50、100、150、200 μ g/mL)均能显著刺

激 RAW 264.7 细胞的增殖。相比于枸杞多糖,硫酸化枸杞多糖的促进作用更加明显,并且硫酸化修饰对 LbGp1 的免疫增强作用高于 LbGp4。

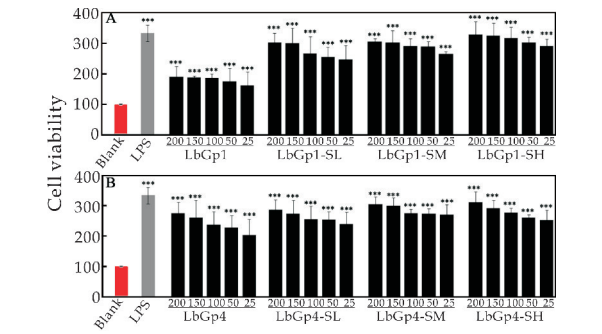


图 2 枸杞多糖(A)和硫酸化枸杞多糖(B)对 RAW 264.7 细胞活力的影响 (***) $p < 0.001$ 、** $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

2.3 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞吞噬功能的影响

巨噬细胞在体内通过吞噬作用发挥免疫调节功能,静息的巨噬细胞受到免疫调节药物刺激后,其吞噬功能会增强,因此测定巨噬细胞的吞噬功能可以评价药物的免疫活性^[15]。不同浓度的枸杞多糖和硫酸化枸杞多糖处理细胞 24 h 后,采用中性红法测定 RAW 264.7 细胞的吞噬活性,来评价枸杞多糖和硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞吞噬功能的影响。如图 3 所示,不同浓度的枸杞多糖和硫酸化枸杞多糖均可以提高 RAW 264.7 细胞吞噬中性红的能力,并且随着多糖浓度的增加,RAW 264.7 细胞的吞噬能力也随之增加。此外,LbGp1-SH 和 LbGp4-SH 处理后,RAW 264.7 细胞的吞噬能力最高,表现为 LbGp1-SH > LbGp1-SM > LbGp1-SL > LbGp1; LbGp4-SH > LbGp4-SM > LbGp4-SL > LbGp4。说明硫酸基团含量越高,越有利于增加 RAW 264.7 细胞的吞噬能力。

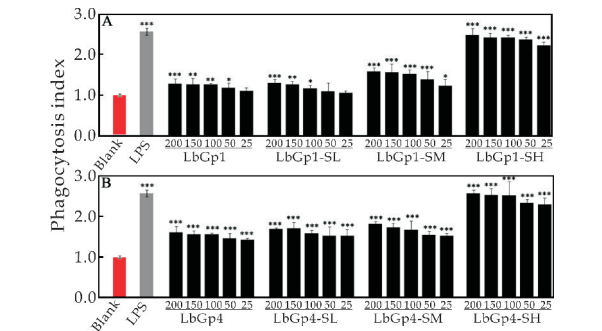


图 3 枸杞多糖(A)和硫酸化枸杞多糖(B)对 RAW 264.7 细胞吞噬功能的影响 (***) $p < 0.001$ 、** $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

2.4 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 分泌 NO 的影响

NO 是一种重要的生物信号分子,在机体内广泛参与多种生理过程。研究证明,巨噬细胞通过释放 NO 发挥抗肿瘤、抗病毒、促进淋巴细胞增殖等免疫功能,NO 分泌水平成为评价巨噬细胞活化的重要指标。NO 在体内极不稳定,细胞分泌后会很快转化为亚硝酸盐。实验中采用 Griess 法测定细胞培养上清液中亚硝酸盐的含量反映细胞分泌 NO 水平。由图 4 可见,空白组的 RAW 264.7 细胞分泌少量的 NO,阳性对照 LPS 可以显著刺激 NO 产生,细胞经过不同浓度的枸杞多糖和硫酸化枸杞多糖处理 24 h 后,NO 的分泌水平显著提高。并且,硫酸化枸杞多糖处理组的 NO 分泌水平强于枸杞多糖处理组,其中,LbGp4-SH 的促进水平可以媲美 LPS 的促进作用想媲美。此外,LbGp4 及其硫酸化产物处理组的 NO 分泌水平表现为 LbGp4-SH > LbGp4-SM > LbGp4-SL > LbGp4,说明硫酸化修饰更能有效促进枸杞多糖 LbGp4 刺激细胞内 NO 的产生,并且硫酸基团含量越高,NO 的产生量也随之增加。

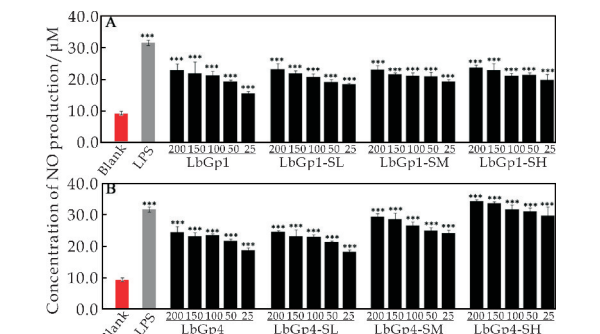


图 4 枸杞多糖(A)和硫酸化枸杞多糖(B)对 RAW 264.7 细胞分泌 NO 的影响 (***) $p < 0.001$ 、** $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

2.5 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞酸性磷酸酶活力的影响

酸性磷酸酶是巨噬细胞的标志酶,存在于巨噬细胞的溶酶体中,酸性磷酸酶活性的高低反映了巨噬细胞被激活的程度^[16]。由图 5 可见,阳性对照 LPS 可以显著提高酸性磷酸酶的活力;对比 LbGp1 的各个硫酸化修饰产物,LbGp1-SH 由于含有较高的硫酸基团含量,在 50~200 μg/mL 浓度之间均表现出较高的酸性磷酸酶活力;而 LbGp4 的硫酸化产物 LbGp4-SH、LbGp4-SM 和 LbGp4-SL 对 RAW 264.7 细胞酸性磷酸酶活力的影响更加明显,在各个浓度下,表现出 LbGp4-SH > LbGp4-SM > LbGp4-SL > LbGp4,说明硫酸化修饰更能有效维持和促进枸杞多糖 LbGp4 对胞内酸性磷酸酶活力的激活作用。并且巨噬细胞胞内酸性磷酸酶活力随着硫酸基团含量的增加而提高,因此 LbGp4-SH 的酸性磷酸酶活力最高。

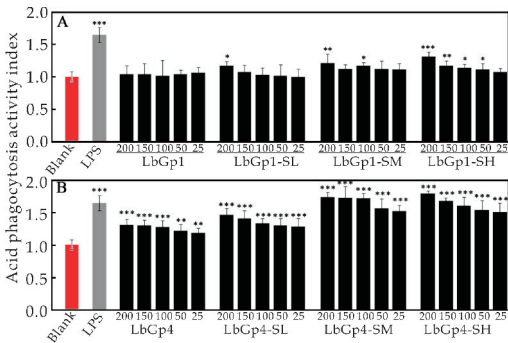


图 5 枸杞多糖(A)和硫酸化枸杞多糖(B)对 RAW 264.7 细胞酸性磷酸酶活力的影响 (** $p < 0.001$, * $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

2.6 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子分泌的影响

白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是巨噬细胞分泌的重要细胞因子, 参与机体的炎症反应和免疫应答等过程^[17]. 由图 6 可见, 相比于枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4, 硫酸化枸杞多糖更能有效促进 RAW 264.7 细胞中 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌, 其作用效果比 LPS 的刺激作用更加明显, 表现为 LbGp1-SH>LbGp1-SM>LbGp1-SL>LbGp1; LbGp4-SH>LbGp4-SM>LbGp4-SL>LbGp4, 说明硫酸化枸杞多糖更能有效促进细胞因子的分泌, 并且硫酸基团含量越高, IL-1 β 和 TNF- α 的分泌量也越高.

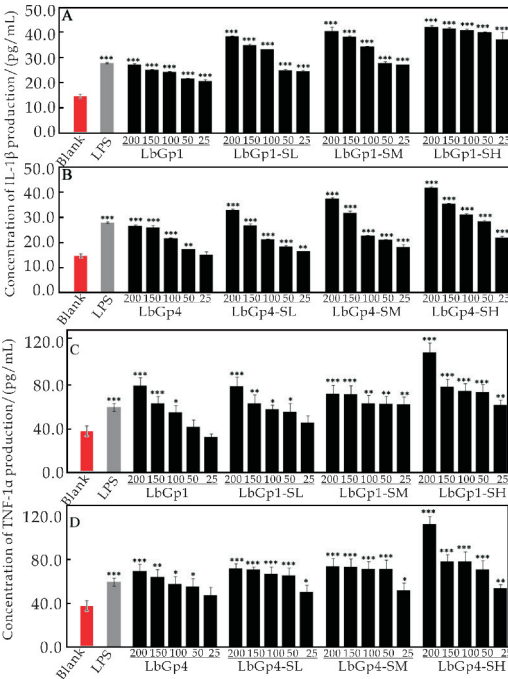


图 6 枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子 IL-1 β (A) 和 TNF- α (C) 以及硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子 IL-1 β (B) 和 TNF- α (D) 分泌的影响 (** $p < 0.001$, * $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

2.7 硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子 mRNA 表达的影响

通过 ELISA 方法检测硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子的影响, 发现硫酸化枸杞多糖可促进 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌, 进一步采用 qRT-PCR 方法对该结果进行验证. 结果发现, 硫酸化枸杞多糖同样影响细胞因子 mRNA 水平上的表达. 如图 7 所示, 硫酸化枸杞多糖能明显上调 IL-1 β 和 TNF- α 的基因表达, 并且硫酸基团含量越高, IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达越高.

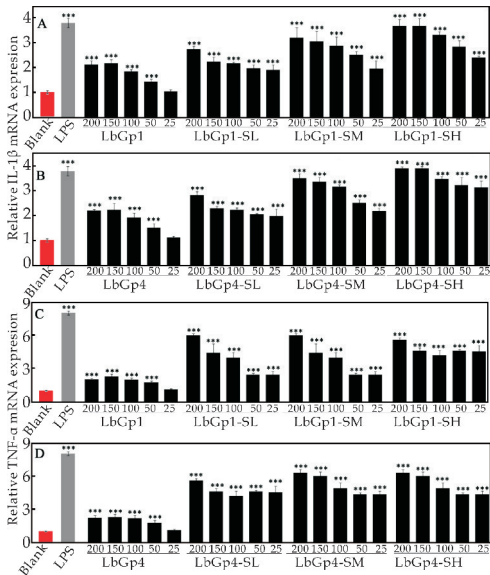


图 7 枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子 IL-1 β (A) 和 TNF- α (C) 以及硫酸化枸杞多糖对 RAW 264.7 细胞因子 IL-1 β (B) 和 TNF- α (D) 表达的影响 (** $p < 0.001$, * $p < 0.01$ 和 * $p < 0.05$ 对比于空白组)

3 结论

本研究以枸杞多糖 LbGp1 和 LbGp4 为对象, 对其进行非选择性硫酸化修饰, 得到了一系列硫酸化枸杞多糖产物 LbGp1-SL、LbGp1-SM 和 LbGp1-SH 以及 LbGp4-SL、LbGp4-SM 和 LbGp4-SH. 以巨噬细胞 RAW 264.7 为靶细胞, 从细胞和分子水平分别研究了硫酸化修饰对枸杞多糖免疫调节活性的影响, 结果表明, 硫酸化修饰能明显增强枸杞多糖的免疫调节活性, 并且硫酸化修饰对 LbGp4 的影响更加显著. 研究结果可为进一步阐明硫酸化枸杞多糖免疫增强作用的分子机制提供科学依据, 为深入探讨硫酸化多糖的构效关系奠定理论基础.

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0050-08

茯茶多糖提取工艺优化及其体外抗氧化 和对益生菌生长的影响

汪梦雯, 刘文婷, 任雪宁, 郑 雪, 胡 松, 杨 苗, 夏 飞*

(陕西科技大学 食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:对茯茶多糖提取工艺进行优化,并对茯茶多糖体外生物活性进行研究.在浸提时间 90 min、超声时间 30 min、超声功率 180 W、料液比 1 : 30 的条件下,茯茶多糖提取率最高可达 3.69%.茯茶多糖体外活性研究表明,0.6 mg/mL 的茯茶多糖溶液总还原力为 0.68,对 ·OH 清除率为 23.76%;0.3 mg/mL 的茯茶多糖溶液对 DPPH 自由基的清除率为 70.03%.茯茶多糖对益生菌体外生长表现出明显的影响作用.2 mg/mL 和 4 mg/mL 茯茶多糖对戊糖片球菌和凝结芽孢杆菌的生长具有显著的抑制作用($P<0.05$);5 mg/mL 的茯茶多糖显著促进凝结芽孢杆菌和乳酸乳球菌的生长($P<0.05$).本研究获取茯茶多糖的最佳提取工艺;揭示茯茶多糖体外抗氧化活性及其对益生菌生长的影响,对于高附加值茯茶多糖食品开发奠定重要基础.

关键词:茯茶多糖;提取工艺优化;响应面;抗氧化;益生菌生长

中图分类号:TS201.4 **文献标志码:**A

Optimization of extraction process of polysaccharides from Fu Brick tea and its antioxidation in vitro and effect on growth of probiotics

WANG Meng-wen, LIU Wen-ting, REN Xue-ning, ZHENG Xue,
HU Song, YANG Miao, XIA Fei*

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China.)

Abstract: In this study, the extraction process of Fuzhuan tea polysaccharide was optimized by response surface methodology, and the biological activity of Fu Brick tea polysaccharide in vitro was studied. When the extraction time was 90 min, the ultrasonic time was 30 min, and the ultrasonic power was 180 W and the solid-liquid ratio was 1 : 30, and the highest extraction rate of Fu Brick tea polysaccharide was 3.69%. The total reducing power of Fu Brick tea polysaccharide solution of 0.6 mg/mL is 0.68, and the removal rate of OH is 23.76%. The DPPH radical scavenging rate of Fu Brick tea polysaccharide solution of 0.3 mg/mL was

* 收稿日期:2019-09-22

基金项目:国家自然科学基金项目(31801513);陕西省科技厅自然科学基金项目(2018JM3003);陕西省创新能力支撑计划项目(2018TD-019);陕西科技大学校级大学生创新创业训练计划项目(2018026)

作者简介:汪梦雯(1995—),女,陕西渭南人,在读硕士研究生,研究方向:中药学

通讯作者:夏 飞(1987—),男,陕西咸阳人,副教授,博士,研究方向:食药微生物资源开发及利用, xiafei@sust.edu.cn

70.03%, Fu Brick tea polysaccharide has obvious influence on probiotics in vitro. The growth of *Pediococcus pentosaceus* and *Bacillus coagulans* was significantly inhibited by 2 mg/mL and 4 mg/mL Fu Brick tea polysaccharide ($P<0.05$). 5 mg/mL Fu Brick tea polysaccharide significantly promoted the growth of *B. coagulans* and *Lactococcus lactis* ($P<0.05$). In this study, the best extraction technology of Fu Brick tea polysaccharide was obtained. To reveal the antioxidant activity of Fu Brick tea polysaccharide in vitro and its effect on the growth of probiotics have important reference value for the research and development of high value-added Fu Brick tea health products.

Key words: Fu Brick tea polysaccharide; optimization of extraction process; response surface; antioxidation; probiotic growth

0 引言

茯茶是一种后发酵黑茶,具有降血脂、减肥、抗氧化和抗腹泻等^[1-3]功效.以黑毛茶为原料经过毛茶筛分、汽蒸、渥堆、压制成型、发花、干燥和成品包装等工艺制成^[4].“金花菌”是茯茶发酵中的优势菌群,是一种无毒无害,符合安全标准要求,并对人体健康有益的菌群^[5-7].茯茶中的活性多糖具有降血压、降血脂、抗肿瘤、保肝护肝、抗氧化、调节肠道微生态等生物活性^[8,9].多糖的多种生物活性,引起很多研究者的关注.目前认为多糖可通过多种途径调节人体的新陈代谢,一是通过清除活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)维持机体自由基平衡以达到抗氧化防御;其次可通过影响肠道菌群调节和改善胃肠道微环境,达到防治腹泻的作用.此外,也可通过调节益生菌来激活吞噬细胞,提高机体免疫力.然而,目前茯茶多糖的抗氧化活性及其对益生菌生长的影响作用还尚未完全阐释清楚.

从茯茶中有效提取茯茶多糖环节是限制其开发利用的瓶颈.目前,茯茶多糖通常采用热水浸提、酸碱浸提、酶和超声波辅助浸提等方法^[10].由于茯茶多糖为水溶性多糖,且热水浸提法操作简单、成本较低,因此该方法是提取茯茶多糖最常采用的一种方法.然而,由于提取原料的差异,多糖得率往往不高、提取过程较长.采用超声辅助处理可促进细胞壁破碎,胞内多糖溶出,从而提高多糖得率以及缩短提取时间.合理结合热水浸提和超声处理提取茯茶多糖的工艺目前仍需进行探索.

为探索茯茶多糖最佳提取工艺及茯茶多糖的体外抗氧化和对益生菌生长规律的影响.本研究通过优化浸提时间、超声时间、超声功率和料液比四个因素,对超声辅助热水浸提法提取茯茶多糖工艺进行优化,并探讨茯茶多糖的体外抗氧化活性和对肠道益生菌生长的规律的影响.从而为茯茶功效的

研究和高附加值茯茶多糖食品开发奠定基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料及菌种

市售茯茶,实验室保藏菌种:乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*),戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*),凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*),屎肠球菌(*Enterococcus Faecium*)均为本研究室保存.

1.1.2 主要试剂和培养基

葡萄糖、蛋白胨、牛肉膏、酵母菌粉、吐温 80、柠檬酸二胺、磷酸氢二钾、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、无水乙醇、95%乙醇、丙酮、浓硫酸、苯酚,以上试剂均为分析纯.

采用 MRS 培养基^[11],其中加入 2%的琼脂即为 MRS 固体培养基.

1.1.3 主要仪器

紫外可见分光光度计(SP-752PC),上海光谱仪器有限公司;立式压力蒸汽灭菌器(LS-C50L),上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;冷冻干燥机(CTFD-10S),青岛永合创信电子科技有限公司;数控超声波清洗器(KQ-300VDB),昆山市超声仪器有限公司;旋转蒸发仪(RE-52A),上海亚荣生化仪器厂.

1.2 实验方法

1.2.1 茯茶多糖提取工艺单因素实验设计

以茯茶多糖得率为考察指标,分别考察浸提时间、超声时间、超声功率和料液比四个因素对茯茶多糖得率的影响.在浸提温度为 100℃条件下:分别选取浸提时间^[12]为 30 min、60 min、90 min、120 min和 150 min,固定超声时间为 20 min,超声功率 300 W,料液比为 1:30;超声时间^[13]为 10

min、20 min、30 min、40 min、50 min,固定浸提时间为 90 min,超声功率为 300 W,料液比为1:30;超声功率^[12]为 180 W、210 W、240 W、270 W 和 300 W,固定超声时间为 20 min,浸提时间为 90 min,料液比为 1:30;料液比^[14]为 1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50,固定超声时间为 20 min,超声功率为 300 W,浸提时间为 90 min. 提取的茯茶多糖进行冷冻干燥,茯茶多糖的含量测定采用苯酚-硫酸法进行^[15].

1.2.2 响应面实验设计

在单因素实验的基础上,以浸提时间、超声时间、液料比为自变量,利用 Design Expert. V8. 0. 6 软件进行三因素三水平 Box-Behnken 中心组合实验设计,如表 1 所示.

表 1 茯茶多糖响应面试验因素与水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 浸提时间/min	60	90	120
B 超声时间/min	20	30	40
C 料液比/(g/mL)	1:20	1:30	1:40

1.2.3 茯茶多糖体外抗氧化活性

将提取的茯茶多糖配制成 1 mg/mL 的母液,并稀释至 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL,备用. 分别测定茯茶多糖的总还原力^[16]、DPPH 自由基清除率^[17]、超氧阴离子清除率^[12]和羟基自由基清除率^[18],每个样品重复测定三次,以同浓度的 Vc 作为阳性对照.

1.2.4 茯茶多糖对益生菌生长的影响

将乳酸乳球菌(*L. lactis*),戊糖片球菌(*P. pentosaceus*),凝结芽孢杆菌(*B. coagulans*)和屎肠球菌(*E. faecium*) 在 MRS 固体培养基上活化后,接入液体 MRS 培养基,制备种子液.

将茯茶多糖添加至液体培养基中,使其质量浓度分别为 0 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL. 分别接入 2 mL 四种待测菌种子液,进行生长曲线的测定. 菌液在 37 ℃ 恒温摇床培养,每隔 2 h 取菌液,用紫外分光光度计测定培养液在 600 nm 波长处的吸光度值. 以培养时间为横坐标,以 OD 值为纵坐标,分别绘制四菌株在不同茯茶多糖浓度时的生长曲线. 以未加入茯茶多糖的培养基为对照组.

1.3 统计分析

每个试验重复三次,结果表示为 Means±SD,采用 ORIGIN(Origin Pro V 9. 0)作图. 采用 Design-Expert. V8. 0. 6 软件进行方差分析,显著水

平为 $P<0.05$,极显著水平为 $P<0.01$.

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果

2.1.1 浸提时间对茯茶多糖得率的影响

单因素筛选浸提时间结果表明,多糖得率随浸提时间延长呈现先增加后下降的趋势(图 1(a)). 这是因为浸提时间过长可能会导致其他物质溶出,影响茯茶多糖的得率^[19,20]. 在 90 min 时茯茶多糖得率达到最大值,为 3.59%. 因此选择最佳浸提时间为 90 min.

2.1.2 超声时长对茯茶多糖得率的影响

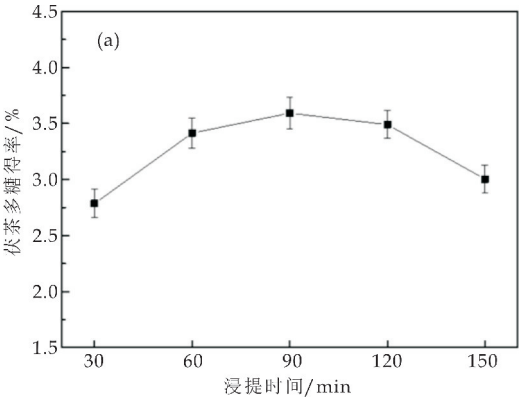
超声时长对茯茶多糖得率的影响如图 1(b)所示. 随着超声时间的增加,茯茶多糖得率呈先增加后下降的趋势. 这可能是由于超声时间过长导致茯茶多糖结构发生破坏而使茯茶多糖得率下降^[13]. 当超声时长为 30 min 时,茯茶多糖得率最高可达 3.20%. 因此最佳超声时间选择 30 min.

2.1.3 超声功率对茯茶多糖得率的影响

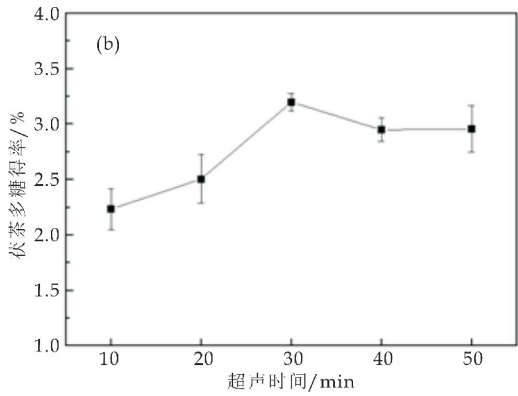
超声功率在 180~300 W 范围时,茯茶多糖得率整体呈现下降的趋势,240 W 时多糖得率最低,如图 1(c)所示. 超声功率为 180 W 时,茯茶多糖得率最高为 2.93%,比超声功率 240 W 时茯茶多糖得率高 0.13%. 综合考虑茯茶多糖得率和成本损耗,选择最佳超声功率为 180 W.

2.1.4 料液比对茯茶多糖得率的影响

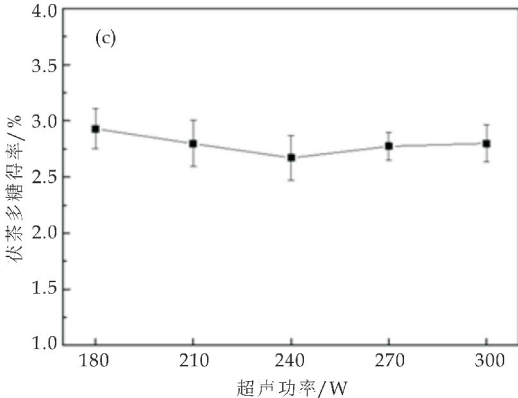
料液比在 1:10~1:30 范围时,茯茶多糖得率呈上升趋势,如图 1(d)所示,料液比 1:30 时达到最大值,为 2.95%. 液料比的增加可以有效促进水溶性多糖物质的溶出,而溶剂用量过大会造成茯茶多糖浓度过低,后续浓缩、沉淀等操作步骤繁多,造成部分多糖损失,导致茯茶多糖得率下降^[21,22]. 由此确定最佳料液比选择 1:30.



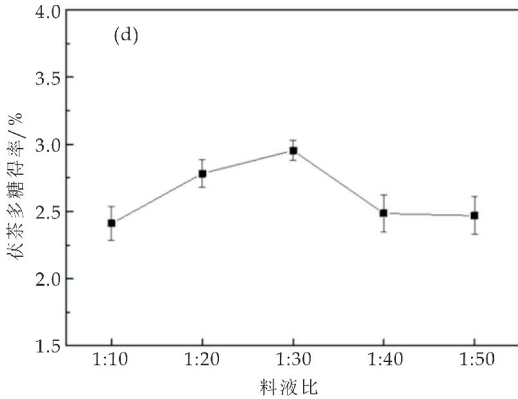
(a) 浸提时间对茯茶多糖得率的影响



(b) 超声时间对茯茶多糖得率的影响



(c) 超声功率对茯茶多糖得率的影响



(d) 料液比对茯茶多糖得率的影响

图 1 单因素对茯茶多糖得率的影响

2.2 响应面法优化茯茶多糖的提取工艺

2.2.1 Box-Behnken 中心组合实验设计及结果

在单因素实验基础上,根据 Box-Behnken 中心组合实验设计原理,以浸提时间(A)、超声时间(B)、料液比(C)设计三因素三水平共 17 组响应面分析实验,实验方案设计如表 2 所示.从表 2 可初步看出茯茶多糖得率最高的提取方案:浸提时间为 90 min,超声时间为 30 min,料液比为 1 : 30 时茯茶多糖得率最高为 3.62%.

表 2 Box-Behnken 中心组合实验设计与结果

Run	A:浸提时间 /min	B:超声时间 /min	C:料液比	多糖得率%
1	120	30	1 : 20	2.94±0.12
2	90	40	1 : 40	2.74±0.43
3	90	40	1 : 20	2.62±0.33
4	90	20	1 : 20	2.79±0.39
5	120	40	1 : 30	2.89±0.45
6	120	30	1 : 40	2.69±0.04
7	60	20	1 : 30	2.54±0.39
8	90	30	1 : 30	3.62±0.27
9	60	30	1 : 40	2.60±0.43
10	60	30	1 : 20	2.66±0.43
11	90	30	1 : 30	3.55±0.12
12	90	20	1 : 40	2.26±0.16
13	120	20	1 : 30	2.48±0.09
14	60	40	1 : 30	2.48±0.04
15	90	30	1 : 30	3.42±0.21
16	90	30	1 : 30	3.61±0.36
17	90	30	1 : 30	3.54±0.17

2.2.2 回归模型的建立及显著性分析

以茯茶多糖得率为响应值,对中心组合的实验结果进行回归分析,获得拟合的二次多项回归方程为: $Y=3.57+0.09A+0.081C+0.018A-0.089B+0.12AC-0.048BC-0.43A^2-0.54B^2-0.42C^2$.

对该回归模型进行方差分析,并对模型系数进行显著性检验,如表 3 所示.该试验选用的模型极显著($P<0.001$),模型的失拟项不显著($P=0.989>0.05$),表明模型预测值与试验值的差异较小.模型的一次项 A、B、C 和交互项 AB 对茯茶多糖得率影响显著($P<0.05$).模型的交互项 BC 对茯茶多糖得率的影响非常显著($P<0.01$),而交互项 AC 对茯茶多糖得率的影响不显著;模型的二次项 A^2 、 B^2 和 C^2 对茯茶多糖得率的影响均极显著($P<0.001$).模型的 $R^2_{Adj}=0.9720$,表明模型足以代表独立变量和响应变量之间的真实关系^[23].

表 3 回归方程方差分析

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P	显著性
模型	3.43	9	0.38	62.60	<0.001	***
A	0.06	1	0.06	10.74	0.014	*
B	0.05	1	0.05	8.57	0.022	*
C	0.06	1	0.06	10.46	0.014	*
AB	0.05	1	0.05	9.06	0.019	*
AC	9.36×10^{-3}	1	9.36×10^{-3}	1.54	0.2552	—
BC	0.11	1	0.11	17.36	0.004	**
A^2	0.77	1	0.77	126.24	<0.001	***
B^2	1.25	1	1.25	204.29	<0.001	***
C^2	0.75	1	0.75	122.92	<0.001	***
残差	0.04	7	6.09×10^{-3}			
失拟项	1.11×10^{-3}	3	3.68×10^{-4}	0.035	0.989	—
净误差	0.042	4	0.010			
总离差	3.48	16				

注:“***”表示差异极显著($P<0.001$);“**”表示差异非常显著($P<0.01$);“*”表示差异显著($P<0.05$);“—”表示差异不显著.

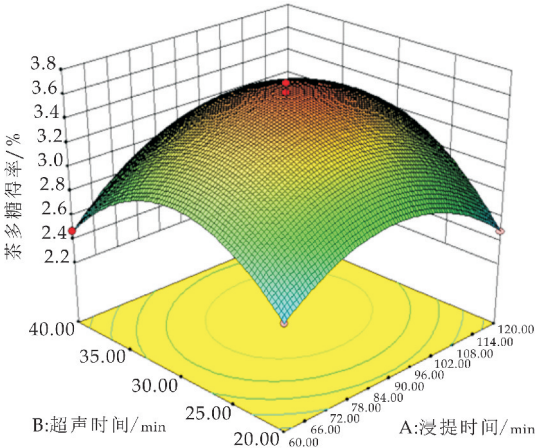
2.2.3 响应面优化分析

采用 Design Expert8.0.6 软件绘制得到响应面曲面图和等高线图,如图 2 所示.通过改变研究试验范围内的两个因子并将另一个因子保持在零

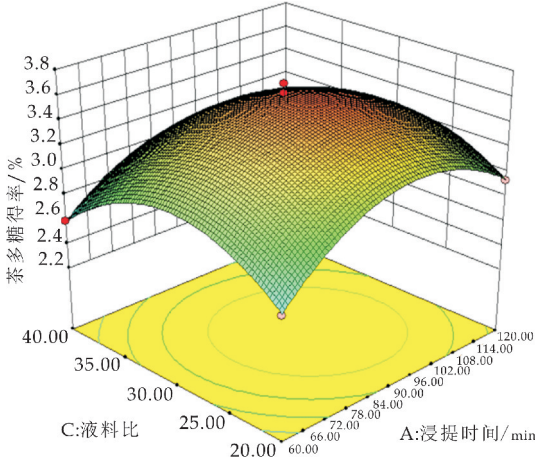
水平来形成模型的表面响应图,以确定任何独立变量对茯茶多糖得率的影响^[24]. 等高线图的形状为椭圆时,表示两因素相互作用显著;其形状为圆形时表示两因素相互作用不显著^[14,25]. 浸提时间在 76~112 min 范围、超声时间在 25~36 min 范围时,有较高的多糖得率;超声时间对茯茶多糖得率的影响大于浸提时间,如图 2(a)所示. 响应面曲线(图 2(d))坡度较陡,表明浸提时间和超声时间的交互作用对茯茶多糖得率影响显著($P<0.05$).

由图 2(b)可知,当料液比在 1:22.5~35、浸提时间在 73.5~113 min 范围内,茯茶多糖有较高的得率;浸提时间对茯茶多糖得率的影响大于液料比,如图 2(b)所示. 响应面曲线坡度较陡,如图 2(e)所示,表明浸提时间和料液比的交互作用对茯茶多糖得率有影响,但通过方差分析浸提时间和料液比的交互作用不显著.

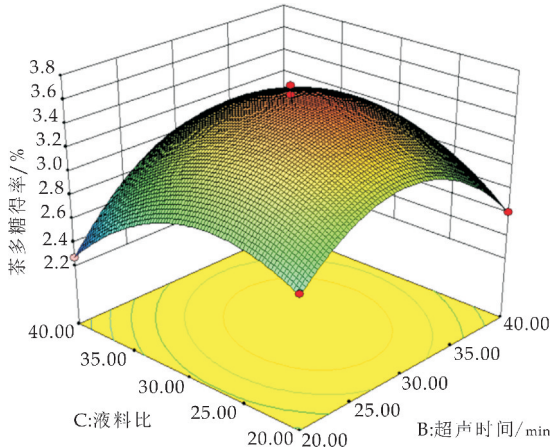
当超声时间在 25~36.5 min、料液比在 1:23.5~30 之间时,茯茶多糖有最高得率;超声时间对茯茶多糖得率的影响大于液料比(如图 2(c)所示). 而响应曲面的坡度较陡(如图 2(f)所示),表明超声时间和料液比的相互作用对茯茶多糖得率影响较大.



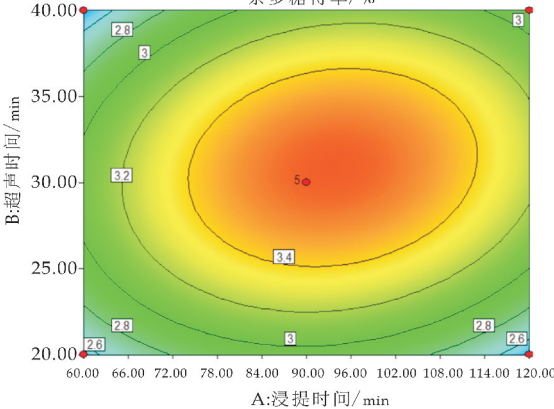
(a) 超声时间与浸提时间对茯茶多糖得率影响曲面图



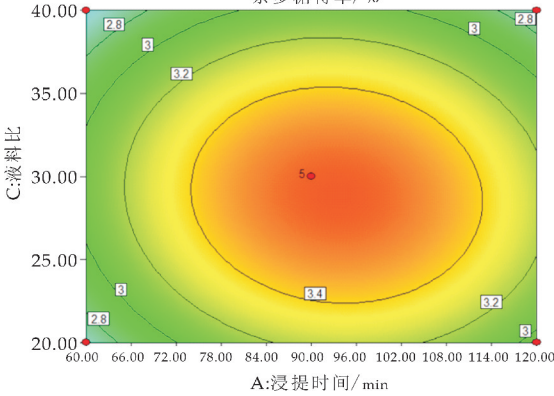
(b) 浸提时间和料液比对茯茶多糖得率影响曲面图



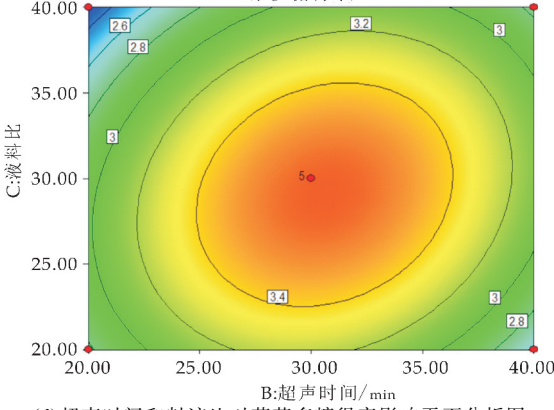
(c) 超声时间和料液比对茯茶多糖得率影响曲面图



(d) 超声时间与浸提时间对茯茶多糖得率影响平面分析



(e) 浸提时间和料液比对茯茶多糖得率影响平面分析图



(f) 超声时间和料液比对茯茶多糖得率影响平面分析图

图 2 各交互因素作用的响应面图和等高线图

2.2.4 优化提取参数和验证模型

Design Expert 8.0.6 软件分析得到茯茶多糖提取的最佳工艺条件为:浸提时间 93.64 min、超声时间 30.72 min、料液比 1:29.02,在该条件下预测茯茶多糖提取率为 3.58%。根据实际情况调整最佳提取工艺为浸提时间 93 min,超声时间 30 min,料液比 1:29。为了验证响应面法的可靠性,在此条件下进行两次重复性验证试验,测得茯茶多糖提取率平均值为 3.62%,相对误差为 1.05%,实测值与理论值之间的拟合度较好,表明利用响应面法对茯茶多糖提取工艺的优化是可行的。

2.3 茯茶多糖的益生作用

2.3.1 茯茶多糖抗氧化活性

茯茶多糖总还原力如图 3(a)所示。茯茶多糖浓度与总还原力之间存在一定的量效关系,当茯茶多糖浓度为 0.1 mg/mL 时,其吸光值为 0.17 A,为对照组 Vc 吸光值的 24.37%。与灵芝孢子粉多糖的体外抗氧化活性相比,1.0 mg/mL 灵芝孢子粉多糖的总还原力为 0.47 A^[26],而茯茶多糖浓度为 0.6 mg/mL 时,其总还原力为 0.67 A,较灵芝孢子粉多糖的总还原力强。

随着浓度增加,茯茶多糖对 DPPH 自由基的清除力整体呈现上升趋势,如图 3(b)所示。当浓度为 0.3 mg/mL 时达到最高值为 70.03%,此浓度 Vc 对 DPPH 的清除率为 92.85%。而 3 mg/mL 的枸杞多糖对 DPPH 自由基的清除率为 80.41%^[27],可以推测,茯茶多糖对 DPPH 的清除能力极可能强于枸杞多糖。

茯茶多糖对超氧阴离子的清除力随浓度增加而增加,如图 3(c)所示。茯茶多糖为 0.1 mg/mL 时,对超氧阴离子的清除率仅为 9.64%,当茯茶浓度增加至 0.4 mg/mL 和 0.6 mg/mL 时,茯茶多糖对超氧阴离子的清除率显著提高。而阳性对照 Vc 组对超氧阴离子的清除率在 80%以上。

茯茶多糖对羟基自由基也表现出一定的清除力,如图 3(d)所示。茯茶多糖浓度为 0.1 mg/mL 时对羟基自由基的清除率为 18.66%,同浓度 Vc 对羟基自由基清除率为 55.75%。当茯茶多糖浓度为 0.6 mg/mL 时,其对羟基自由基的清除率增加至 23.76%,而 0.6 mg/mL 灵芝孢子粉多糖对羟基自由基的清除力为 56.50%,灵芝子实体多糖对羟基自由基清除力为 52.26%^[26]。因此,浓度为 0.6 mg/mL 时,对羟基自由基的清除力表现为:灵芝孢子粉多糖>灵芝子实体多糖>茯茶多糖。虽然茯茶多糖对羟基自由基清除率不及灵芝孢子粉及灵芝子实体多糖,然而茯茶多以夏秋茶为原料加工,因此,研究茯茶多糖的抗氧化活性及其高附加值产品的加工,对于剩余茶叶资源的开发利用具有

重要的意义。

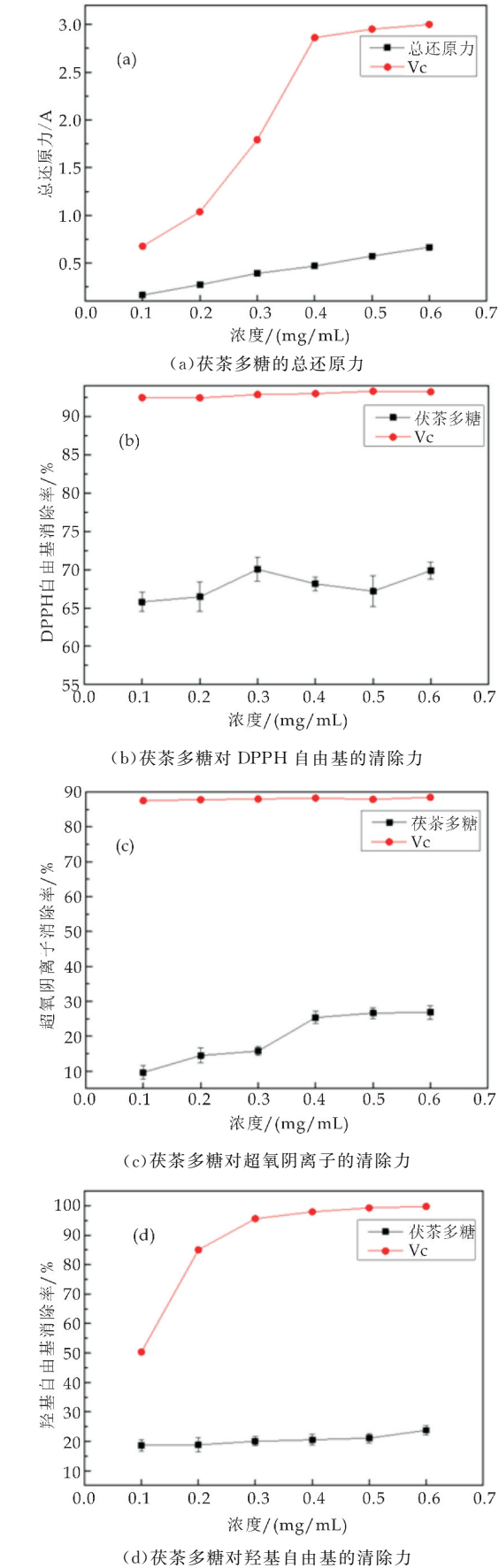


图 3 茯茶多糖对自由基的清除力

2.3.2 茯茶多糖对益生菌生长规律的影响

茯茶多糖的添加对凝结芽孢杆菌、戊糖片球菌、屎肠球菌表现出抑制作用. 如图 4(a)所示, 茯茶多糖的添加对凝结芽孢杆菌的菌量生长整体表现出一定的抑制作用, 且随着培养基中茯茶多糖浓度增加, 对菌量生长的抑制作用有一定的增加趋势. 戊糖片球菌也受到抑制作用.

如图 4(b)所示, 在茯茶多糖浓度分别为 1 mg/mL、2 mg/mL 和 4 mg/mL 时, 对戊糖片球菌的生长有抑制作用. 5 mg/mL 的茯茶多糖对戊糖片球菌前期菌量生长有显著抑制作用 ($P<0.05$), 而在菌体生长 16 h 后, 显著促进戊糖片球菌菌量的增加 ($P<0.05$).

茯茶多糖在对屎肠球菌的生长具有较明显的抑制作用(如图 4(c)所示), 且 5 mg/mL 茯茶多糖对屎肠球菌的生长抑制非常显著 ($P<0.01$). 茯茶多糖对乳酸乳球菌生长的影响随浓度变化差异较大, 如图 4(d)所示. 茯茶多糖浓度为 0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL 时, 菌体生长量与对照组基本相似. 3 mg/mL 茯茶多糖较显著抑制乳酸乳球菌菌量的生长 ($P<0.05$); 而随茯茶多糖浓度增加至 5 mg/mL 时, 对菌量生长有显著促进作用 ($P<0.05$).

多糖类物质对益生菌的生长并没有明确的浓度和效应关系. 猴头菇多糖对益生菌的生长有显著促进作用, 7 mg/mL 的猴头菇多糖显著促进保加利亚乳杆菌和青春双歧杆菌的生长^[28], 而 4 mg/mL 牛蒡菊糖对双歧杆菌却产生抑制作用^[29]. 本研究中茯茶多糖对益生菌生长的影响作用并不是随着浓度的升高而增加, 与白术多糖对双歧杆菌的生长的影响相似; 刘丽莎等^[30]发现白术多糖对双歧杆菌的生长作用并不是浓度越高对双歧杆菌促进生长越明显. 茯茶多糖对戊糖片球菌 (*P. pentosaceus*)、凝结芽孢杆菌 (*B. coagulans*) 以及屎肠球菌 (*E. faecium*) 的生长整体表现出抑制作用. 这与白术多糖对双歧杆菌的生长作用相似, 白术多糖浓度超过 2 mg/mL 时, 对 *B. infantis*、*B. adolescentis* 和 *B. animalis* 的生长促进作用逐呈现下降趋势^[30]. 此外, 白术多糖对 *B. lottgum* 和 *B. bifidum* 的生长促进作用不显著^[30]. 而 0~2 mg/mL 的白术多糖较明显促进 *B. infantis*、*B. adolescentis* 和 *B. animalis* 三种益生菌的生长.

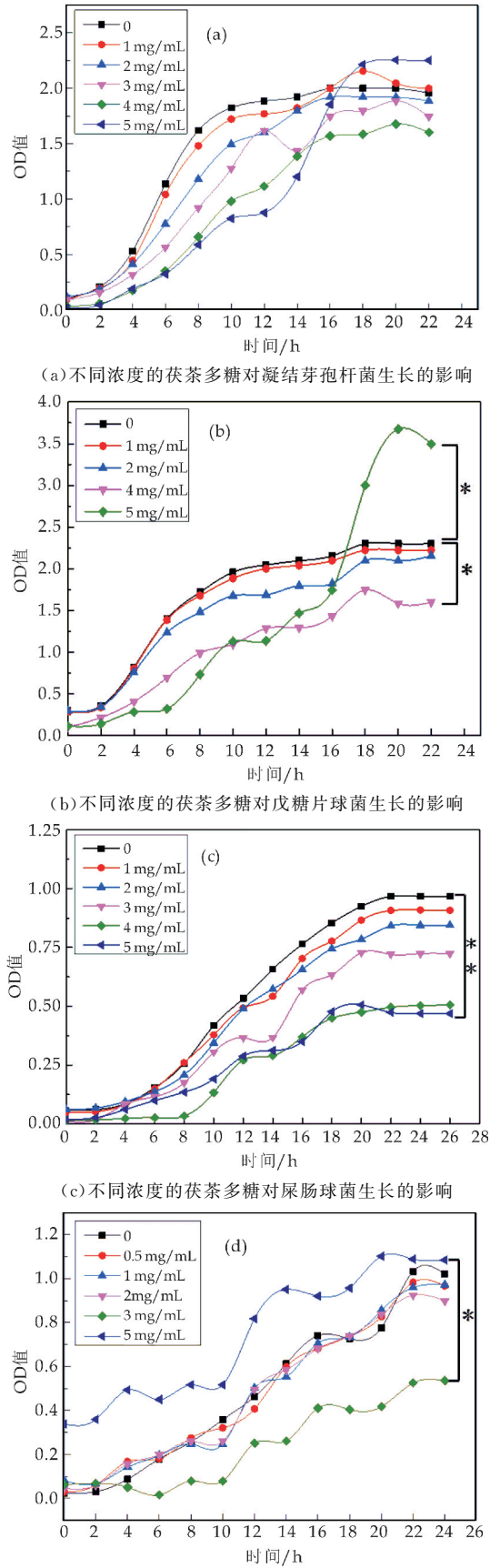


图 4 茯茶多糖对益生菌生长规律的影响
(**表示 $P<0.01$, *表示 $P<0.05$)

3 结论

本研究获得茯茶多糖最佳提取工艺为:浸提时间 90 min、超声时间 30 min、料液比 1 : 30、超声功率 180 W,在该条件下,茯茶多糖得率为 3.69%。通过测定茯茶多糖的总还原力、DPPH 自由基、超氧阴离子和羟基自由基的清除能力,表明茯茶多糖具有较好的抗氧化作用。茯茶多糖在体外对戊糖片球菌(*P. pentosaceus*)、凝结芽孢杆菌(*B. coagulans*)以及屎肠球菌(*E. faecium*)的生长具有一定抑制作用,浓度为 3 mg/mL 的茯茶多糖对乳酸乳球菌表现出抑制作用,而浓度为 5 mg/mL 时对菌量体生长具有明显促进作用。

参考文献

[1] Fu D,Ryad E P,Huang J,et al. Fermented camellia sinensis,Fuzhuan tea, regulates hyperlipidemia and transcription factors involved in lipid catabolism[J]. Food Research International,2011,44(9):2 999-3 005.

[2] 王 蝶,黄建安,叶小燕,等. 茯砖茶减肥作用研究[J]. 茶叶科学,2012,32(1):81-86.

[3] 余智勇,黄建安,杨明臻,等. 茯砖茶抗腹泻效果研究[J]. 茶叶科学,2009,29(6):465-469.

[4] GB/T 9833. 3-2013,紧压茶第 3 部分:茯砖茶[S].

[5] 温琼英,刘素纯. 茯砖茶发花中优势菌的演变规律[J]. 茶叶科学,1991,11(S1):56-62.

[6] Xu A,Wang Y,Wen J,et al. Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea[J]. International Journal of Food Microbiology,2011,146(1):14-22.

[7] Wang Y L,Xu A Q,Li P,et al. Effects of Fuzhuan Brick-tea water extract on mice infected with E. coli O157 : H7 [J]. Nutrients,2015,7(7):5 309-5 326.

[8] Chen G,Wang M,Xie M,et al. Evaluation of chemical property,cytotoxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of polysaccharides from Fuzhuan brick teas[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2018,116:120-127.

[9] Chena G J,Xiea M H,Wana P,et al. Digestion under saliva,simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation in vitro by human intestinal microbiota of polysaccharides from Fuzhuan brick tea[J]. Food Chemistry,2017,244:331-339.

[10] 游沛清,冯小萍,李滔滔,等. 茶多糖的提取研究进展[J]. 现代食品,2018(17):174-176.

[11] Wang X,Huang M,Yang F,et al. Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics in vitro [J]. Carbohydrate Polymers,2015,125:232-240.

[12] 丁世环,张嘉杨,鲁群岷. 普洱茶茶渣中茶多糖的超声波辅助提取及其抗氧化性[J]. 食品工业科技,2018,39(18):193-198,206.

[13] 李凡姝,张焕丽,马 慧,等. 超声辅助提取灵芝多糖的工艺研究[J]. 农业技术与装备,2016(9):7-11,14.

[14] 张 彬,谢明勇,殷军艺,等. 响应面分析法优化超声提取茶多糖工艺的研究[J]. 食品科学,2008,29(9):234-238.

[15] 董 群,郑丽伊,方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. 中国药学杂志,1996,31(9):38-41.

[16] Apati P,Saentmihalyi S K,Kristo T,et al. Herbal remedies of Solidago-correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2003,32(4-5):1 045-1 053.

[17] 聂少平,谢明勇,罗 珍. 用清除有机自由基 DPPH 法评价茶叶多糖的抗氧化活性[J]. 食品科学,2006,27(3):34-36.

[18] Richmond R,Halliwell B,Jasbir C H,et al. Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals-Detection of hydroxyl radicals by hydroxylation of aromatic compounds[J]. Analytical Biochemistry,1982,118(2):328-335.

[19] Tian S Y,Hao C,Xu G K,et al. Optimization conditions for extracting polysaccharide from Angelica sinensis and its antioxidant activities[J]. Journal of Food & Drug Analysis,2017,25(4):766-775.

[20] Lin L H,Xie J H,Liu S C,et al. Polysaccharide from,Mesona chinensis: Extraction optimization, physico-chemical characterizations and antioxidant activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2017,99:665-673.

[21] 孙苏军,纪海玉,白 云,等. 坦洋工夫红茶多糖提取工艺优化及其抑制肿瘤活性分析[J]. 食品科学,2018,39(4):254-260.

[22] Ying Z,Han X,Li J. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves[J]. Food Chemistry,2011,127(3):1 273-1 279.

[23] Cao H. Polysaccharides from Chinese tea: Recent advance on bioactivity and function[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,62:76-79.

[24] Zhang G,He L,Hu M. Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Prunella vulgaris* L. and evaluation of antioxidant activities in vitro [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2011,12(1):21-25.

[25] 叶 展,胡传荣,胡晚华,等. 响应面法优化茶叶籽粕中多糖的提取工艺[J]. 食品工业科技,2015,36(6):230-234.

[26] 孙玉姣,侯淑婷,鱼喆喆,等. 宁夏红果枸杞多糖提取及其体外抗氧化活性研究[J]. 陕西科技大学学报,2018,36(5):39-45.

[27] 刘宇琪,郝利民,鲁吉珂,等. 灵芝子实体和孢子粉纯化多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2109,40(16):27-31.

[28] 钟千贵,邱铭锰,杨 娟,等. 猴头菇多糖对胃肠道益生菌生长的影响[J]. 食品工业科技,2019,40(19):301-304,309.

[29] 李丹丹. 牛蒡菊糖的制备、对双歧杆菌的增殖及应用研究[D]. 无锡:江南大学,2008:57-60.

[30] 刘丽莎,王 锐,旭日花,等. 白术多糖对益生菌的促生长作用及结构分析[J]. 食品科学,2010,31(19):124-128.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0058-06

盐胁迫鼠李糖乳杆菌富硒工艺研究

徐 颖, 杨玉洁, 何成艳, 贺佳璇, 魏丽娜, 邬淑芳

(陕西科技大学 食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:以鼠李糖乳杆菌为研究对象,利用电感耦合等离子发射光谱(ICP-OES)法测定鼠李糖乳杆菌的富硒量和富硒率,在单因素实验的基础上,应用响应面优化工艺条件,所得最佳工艺条件为:盐浓度 9%、培养 pH 6.5、培养温度 37 ℃. 经实验验证富硒率为 65.35%,相对于未胁迫组,富硒量增加了 437.63 μg/g,富硒率提高了 14.7%.

关键词:鼠李糖乳杆菌; 盐胁迫; 电感耦合等离子发射光谱; 响应面

中图分类号:TS201.3 **文献标志码:**A

Study on selenium enrichment process of *Lactobacillus rhamnosus* under salt stress

XU Ying, YANG Yu-jie, HE Cheng-yan, HE Jia-xuan, WEI Li-na, WU Shu-fang

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Taking *Lactobacillus rhamnosus* as the research object, the selenium content and selenium enrichment rate of *Lactobacillus rhamnosus* were measured by inductively coupled plasma emission spectrometry (ICP-OES). On the basis of single factor experiment, response surface optimization was applied to optimize the process conditions. The optimum process was as follows: salt concentration 9%, culture pH 6.5 and culture temperature 37 ℃. The selenium enrichment rate was 65.35%, which increased by 437.63 μg/g and 14.7% compared with the unstressed group.

Key words: *Lactobacillus rhamnosus*; salt stress; inductively coupled plasma emission spectroscopy; response surface

0 引言

硒元素不仅有抗氧化、抗衰老、保护和修复细胞等作用,还可以起到提高机体免疫能力、解毒、排毒的功能^[1,2]. 人类的某些疾病与硒元素缺乏有关,如克山病与大骨节病等. 乳酸菌可以适应人体肠道环境并生长繁殖,起到调节人体肠道菌群、预防腹泻以及改善人体肠道功能等作用^[3-5]. 乳酸菌还可以将无机硒转化为有机硒而更有利于机体吸收利用,相对于人工转化而言,既便宜又安全^[6-8]. 前期研究表明,鼠李糖乳杆菌是在相同条件下富硒效果较好的乳酸菌菌种,但富硒量不高,本课题利用一定浓度氯化钠溶液胁迫鼠李糖乳杆菌,研究其在盐胁迫条件下富硒的最优条件,为该菌株应用于

* 收稿日期:2019-10-10

基金项目:陕西省科技厅农业科技攻关计划项目(2017TSCXL-NY-02-03); 陕西省教育厅专项科研计划项目(18JK0094); 陕西科技大学博士科研启动基金项目(2016BJ-21); 陕西省大学生创新创业训练计划项目(S201910708081)

作者简介:徐 颖(1978—),女,黑龙江哈尔滨人,讲师,博士,研究方向:食品微生物

富硒发酵食品工业提供理论基础。

陈卫等^[9]研究显示,高盐会使乳酸菌的一些基因表达增加,而这些基因可能参与相容性物质的合成或吸收过程。赵山山^[10]利用 RNA-seq 技术研究植物乳杆菌 ST-III 在盐耐受时的整体反应,结果表明,盐的添加对植物乳杆菌 ST-III 的转录水平产生了影响,包括氨基酸转运及代谢、无机离子平衡、碳水化合物转运及代谢、细胞壁/膜/包膜的生物合成和 DNA 复制、重组、修复等。当植物乳杆菌 ST-III 在高盐(6% NaCl)浓度下培养时,与低盐(2% NaCl)浓度下培养时相比,更多编码无机离子转运体、相容性溶质转运体及 DNA 修复相关基因的表达量发生了变化。在添加了盐及亚硒酸钠的培养基中培养鼠李糖乳杆菌,推测高盐可能使其基因转录水平发生了改变,从而更多的编码无机离子转运体、相容性溶质转运体蛋白,吸收更多的无机硒进入菌体内,从而提高了富硒率。对于鼠李糖乳杆菌盐胁迫富硒基于基因水平的探索和生物转化的机制都将成为后续实验的研究内容,有待于进一步探究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鼠李糖乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus*, ATCC 53103)由实验室提供;亚硒酸钠,山东西亚化学工业有限公司;MRS 培养基,北京陆桥技术股份有限公司。其他试剂均为常见分析纯。

1.2 仪器

电感耦合等离子发射光谱仪,美国 Thermofisher 公司;其他均为实验室常见仪器。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种的活化

将 0.3~0.5 mL 经高温高压灭菌后的 MRS 肉汤培养基注入冻干管中,用移液枪轻轻吹打,使之充分溶解成菌悬液。将菌悬液全部打入 2 个试管中,培养活化成功后,将各菌株接种到液体 MRS 培养基中,在恒温培养箱中静置 37 ℃下培养 24 h 为一代,连续活化三代。

1.3.2 单因素实验

(1)最佳 NaCl 浓度的确定

配制 4%、5%、6%、7%、8%、9% 六种不同盐浓度梯度的 NaCl 溶液、0.17 mg/mL 亚硒酸钠溶液和空白 MRS 液体培养基并预先灭菌,将增殖活化好的种子液接种 1 mL 于不同含盐浓度富硒液

体培养基中,同时做空白对照,37 ℃下恒温培养 48 h,测定菌体中硒的含量,重复操作 3 次取平均值,按公式(1)和(2)计算富硒率和富硒量,比较富硒量和富硒率确定最佳盐浓度。

富硒率=有机硒含量/总硒含量 (1)

富硒量(μg/g)=
菌体细胞内硒含量/菌体细胞干质量 (2)

(2)最佳 pH 的确定

配制 pH 值分别为 5、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 六个梯度的 MRS 液体培养基、0.17 mg/mL 的亚硒酸钠溶液以及 8%盐溶液并预先灭好菌,将增殖活化好的菌液接种 1 mL 于盐胁迫富硒液体培养基中,在 37 ℃下恒温培养 48 h,重复(1)中操作。

(3)最佳培养温度的确定

保持其他条件不变,将预先增殖活化好的种子液接种 1 mL 于盐胁迫富硒液体培养基中,分别在 35 ℃、37 ℃、39 ℃、41 ℃、43 ℃下恒温培养 48 h,重复(1)中操作。

1.3.3 富硒量的测定

电感耦合等离子发射光谱法(ICP)测定硒含量,菌液离心得菌体,烘干至恒重,称重后放入带刻度具玻璃塞 10 mL 试管中,用硝酸-高氯酸(5:1, V/V)混酸消化,方法详见文献[11],公式(1)和公式(2)计算富硒量和富硒率。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果分析

2.1.1 最佳 NaCl 浓度的确定

将鼠李糖乳杆菌在 NaCl 浓度分别为 0、4%、5%、6%、7%、8%、9%的盐胁迫富硒培养条件下 37 ℃恒温培养 48 h 后,绘制菌株在不同盐浓度条件下的富硒量及富硒率的曲线图,如图 1 及图 2 所示。

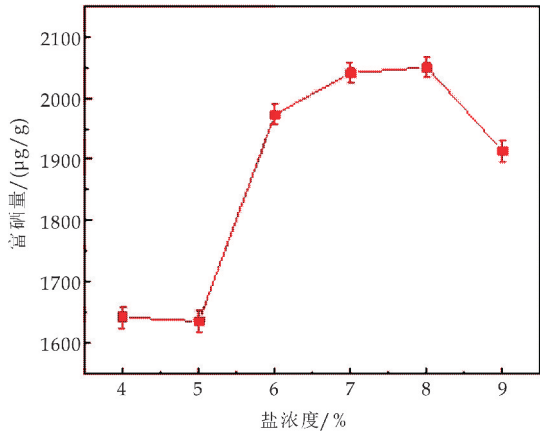


图 1 不同盐浓度胁迫下菌株的富硒量

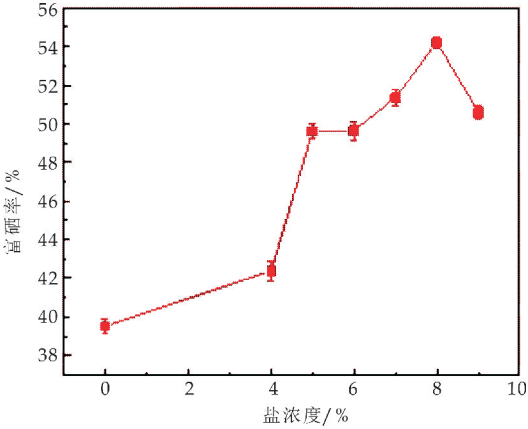


图 2 不同盐浓度胁迫下菌株的富硒率

由图 1 可知,随着盐浓度的增加,菌株的富硒量呈先增加后减少的趋势,而当盐浓度达到 8% 时,此时富硒量达到最大值 2 050 $\mu\text{g/g}$. 由图 2 可知,随着盐浓度的增加,菌株的富硒率呈先上升后下降的趋势,而当盐浓度增加到 8% 时,菌株的富硒率最高为 54.23%. 林松洋等^[12]表明乳酸菌的耐盐机制涉及到细胞内的许多调控系统,如相容性溶质调控系统、糖酵解关键酶调控系统、热休克蛋白调控系统以及胞内离子平衡等. NaCl 是一种促氧化剂,会对细菌细胞造成氧化损伤,而且可以诱导与非典型的条件相适应的蛋白质的表达. 也有研究表明高盐环境会使某些蛋白质的基因表达上调. 故推测盐胁迫刺激了鼠李糖乳杆菌的某些蛋白质基因表达上调,从而提高了盐胁迫下菌株的富硒效果. 由图 1 也可得到一定的盐浓度会促进菌株富硒,但是当盐浓度高于 8% 时菌株富硒量及富硒率均呈降低趋势,推测可能是因为盐浓度过高造成了一定的细胞损伤. 综上可知,鼠李糖乳杆菌盐胁迫富硒的较好盐浓度为 8%.

有研究表明乳酸菌的耐盐性主要是通过吸收一些相容性物质来调节渗透压实现的. 目前发现在乳酸菌中有许多菌种都可以从外界吸收甜菜碱、肉碱、胆碱及脯氨酸等相容性物质. 高盐条件也会改变细菌细胞膜的组成,如膜脂组成的改变,特别是修饰脂质头部基团的改变,会影响相容性溶质转运体的活性^[12,13]. 高渗透压会导致细胞膜上的磷脂数量发生变化,这个变化可能会导致蛋白质与蛋白质之间的相互作用发生变化,从而改变膜蛋白的功能^[14,15]. 所以鼠李糖乳杆菌在高盐条件下可能会通过吸收相容性物质来调节自身渗透压,从而在高盐调节下正常生长繁殖.

2.1.2 最佳培养 pH 的确定

将鼠李糖乳杆菌在 pH 分别为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 的盐胁迫富硒培养条件下,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 48 h 后,绘制菌株在不同 pH 条件下的富硒量及富硒率曲线图,如图 3 及图 4 所示.

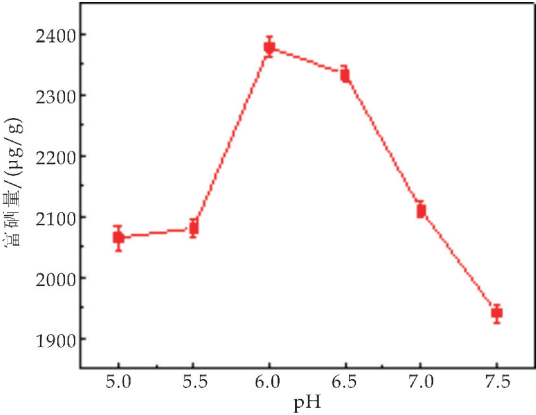


图 3 不同 pH 培养下菌株的富硒量

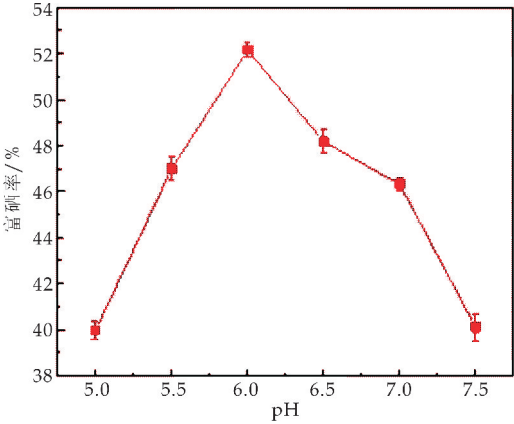


图 4 不同 pH 培养下菌株的富硒率

由图 3 和图 4 可知,随着 pH 的增大,菌株的富硒量及富硒率都呈先上升后下降的趋势,当 pH 值达到 6.0 时,菌株的富硒量及富硒率都达到最大值,最高富硒量为 2 377.65 $\mu\text{g/g}$,最大富硒率为 52.15%. 田会芹等^[16]表明环境 pH 会对细菌的生命活动产生重要影响,pH 的改变会引起细胞膜电荷变化,进而影响细菌对营养物质的吸收,影响代谢过程中酶的活性,改变生长环境中营养物质的可给性以及有害物质的毒性. 鼠李糖乳杆菌的最适 pH 为 5.5 至 6.2,pH 值过高或过低会影响菌株代谢过程中酶的活性,或培养基中的营养物质受到 pH 变化的影响产生变化,从而对菌株的富硒效果产生抑制作用. pH 值大于 6.0 后,菌株的富硒量及富硒率都开始下降. 综上可知,鼠李糖乳杆菌盐胁迫富硒的较好培养 pH 为 6.0.

2.1.3 最佳培养温度的确定

将鼠李糖乳杆菌在温度分别为 33 $^{\circ}\text{C}$ 、35 $^{\circ}\text{C}$ 、

37℃、39℃、41℃、43℃的盐胁迫富硒培养条件下恒温培养 48 h 后,绘制菌株在不同培养温度下的富硒量及富硒率曲线图,如图 5 及图 6 所示。

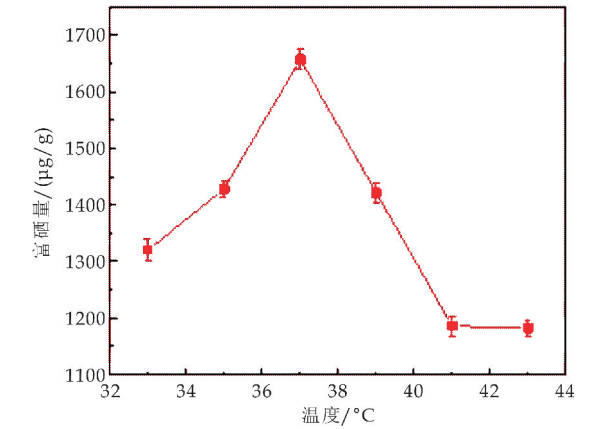


图 5 不同温度下菌株的富硒量

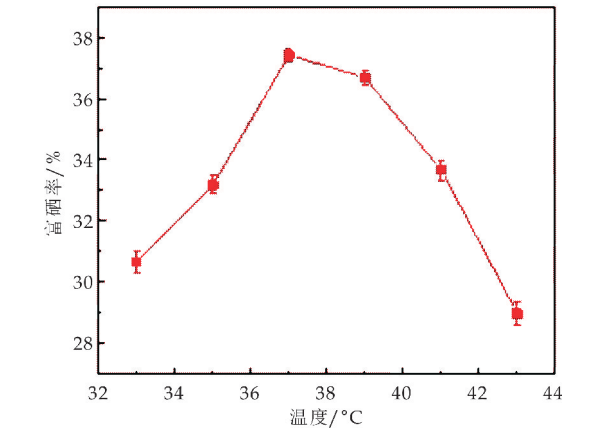


图 6 不同温度下菌株的富硒率

由图 5 及 6 可知,当温度逐渐升高时,盐胁迫下菌株的富硒量及富硒率均呈先上升后下降的趋势。当温度达到 37℃时,菌株的富硒量及富硒率均达到了最大值。王学良等^[17]表明乳酸菌在高温条件下会产生热应激反应,热胁迫后乳酸菌会通过调控自身的防御系统来调节相关基因的表达和代谢途径,产生一系列热激蛋白以降低或消除热胁迫的伤害。而众所周知的是高温会破坏酶的活性,会使蛋白质变性及聚集。温度过高会使鼠李糖乳杆菌体内的酶失活,从而可能抑制了热应激相关蛋白质的合成,使得鼠李糖乳杆菌失去热应激反应,在高温下菌株死亡,造成富硒效果降低。因为鼠李糖乳杆菌的最适生长温度一般为 30℃~40℃,所以当温度上升到高于 40℃后,其生长受到了抑制,从而无法进行富硒的生理活动,其富硒量及富硒率都会下降。综上所述,鼠李糖乳杆菌盐胁迫富硒的较好培养温度为 37℃。

2.2 响应面优化实验结果分析

响应面实验各因素水平如表 1 所示,各实验方

案及实验结果如表 2 所示。

表 1 各因素水平表

水平	因素		
	A(温度)/℃	B(pH)	C(盐浓度)/%
—1	35	5.5	7
0	37	6.0	8
1	39	6.5	9

表 2 各实验方案及结果

实验号	A	B	C	富硒率/%
1	1	0	1	48.74
2	0	1	—1	60.16
3	—1	—1	0	47.63
4	—1	0	—1	47.23
5	0	0	0	61.07
6	0	0	0	62.44
7	1	0	—1	48.99
8	0	0	0	60.53
9	0	0	0	60.56
10	1	1	0	48.85
11	0	—1	1	60.26
12	0	—1	—1	60.83
13	1	—1	0	49.28
14	—1	0	1	46.95
15	—1	1	0	51.06
16	0	0	0	62.23
17	0	1	1	65.35

2.2.1 回归模型的建立及显著性分析

利用 Design-Expert 8.0.6 软件,对多项式进行回归分析,得到的二次回归方程为:

富硒率=61.37+0.37×A+0.93×B+

0.51×C−0.97×A×B+

7.500E-0.03×A×C+

1.44×B×C−12.92×A²+

0.78×B²−0.47×C²

(3)

由式(3)可以看出,在影响富硒率的各因素中,一次项的偏回归方程的系数的绝对值由小到大依次为:A<C<B,说明 pH 对菌株的富硒率的影响最大,其次是盐浓度,而温度的影响最小。回归模型的方差分析如表 3 所示。

由表 3 可知,模型的 Prob>F 的值小于 0.000 1,方程极为显著。失拟项 Prob>F 值大于 0.05 不显著。R² 为 0.987 8,表示该回归模型可以反映 98.78%的响应值,则可以用该模型来分析响应值。

表 3 回归模型的方差分析表

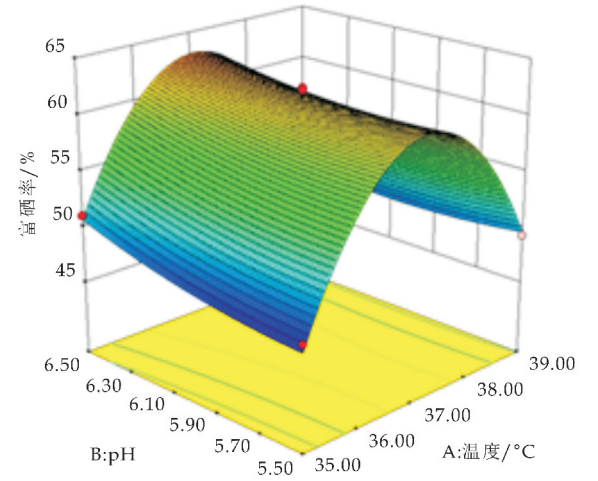
来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob>F
模型	730.2	9	81.13	63.00	<0.000 1
A	1.12	1	1.12	0.87	0.382 6
B	6.88	1	6.88	5.34	0.054 1
C	2.09	1	2.09	1.62	0.243 3
AB	3.72	1	62.57	47.64	0.000 2

续表 3

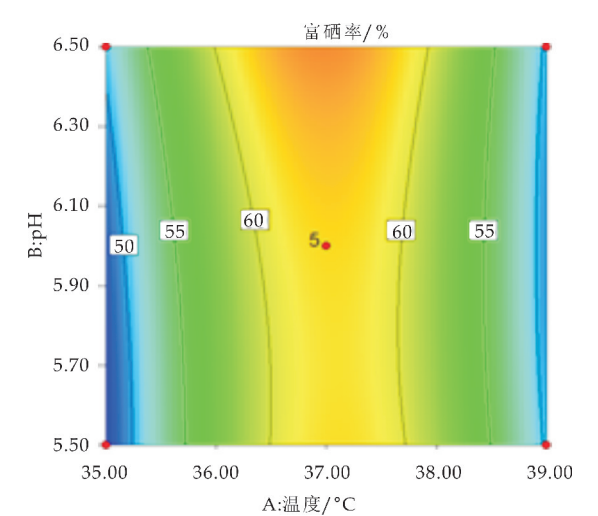
来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob>F
AC	4.33	1	3.72	2.89	0.136 2
BC	2.250E-004	1	2.250E-004	1.747E-004	0.989 8
A ²	702.49	1	702.49	545.48	<0.000 1
B ²	2.40	1	2.40	1.87	0.214 1
C ²	0.94	1	0.94	0.73	0.421 9
残差	9.01	7	1.29		
失拟项	5.68	3	1.89	2.27	0.222 5
纯误差	3.34	4	0.83		
总误差	739.22	16			

2.2.2 各因素的交互作用对富硒率的影响

各因素的交互作用对菌株富硒率影响如图 7、8、9 所示. 由图可知, 温度和 pH 的交互作用对富硒率的影响最显著, 盐浓度和温度、盐浓度和 pH 的交互作用对富硒率的影响不显著.

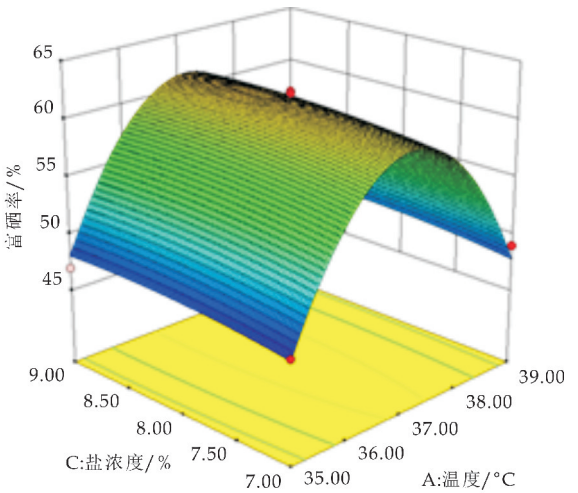


(a) pH 与温度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响 3D 曲面图

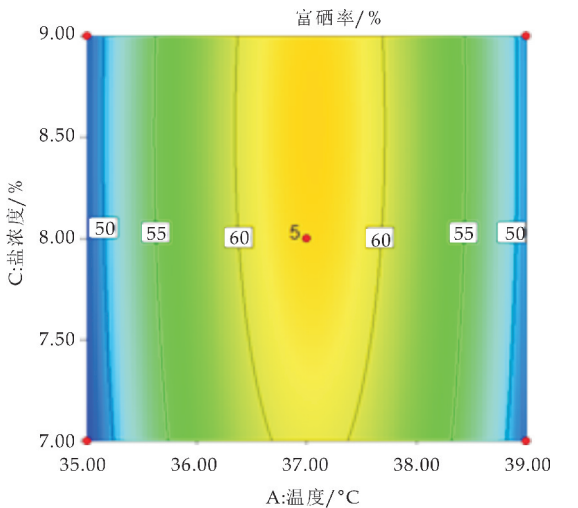


(b) pH 与温度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响等高线图

图 7 pH 与温度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响的响应面图及等高线图

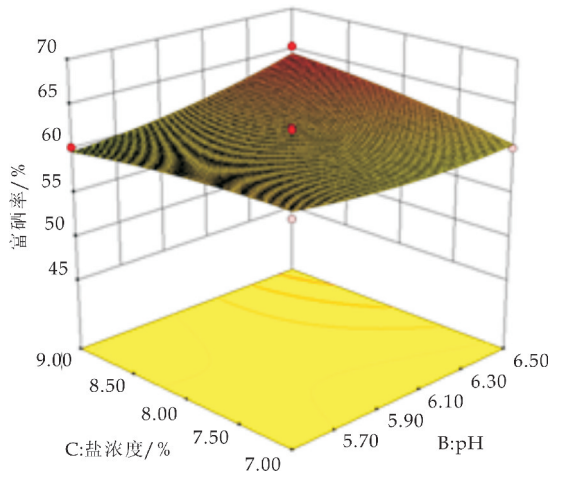


(a) 温度与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响 3D 曲面图

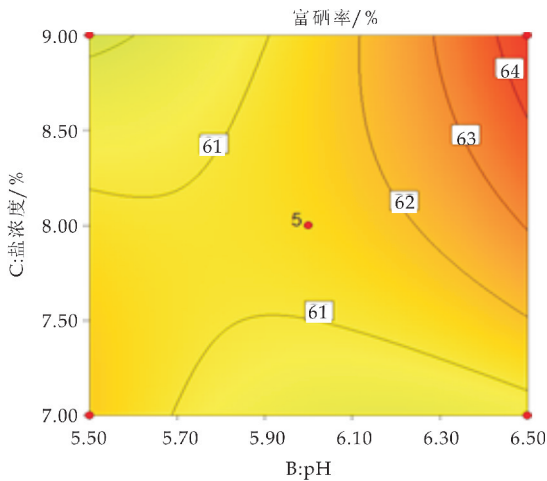


(b) 温度与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响等高线图

图 8 温度与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响的响应面图及等高线图



(a) pH 与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响 3D 曲面图



(b)pH 与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响等高线图

图 9 pH 与盐浓度对鼠李糖乳杆菌富硒率影响的响应面图及等高线图

2.2.3 培养条件的优化结果

得到的回归方程的最大值为:温度为 36.96℃、pH 为 6.5、盐浓度为 9%,预期富硒率最大值为 63.53%。将培养条件修正为:温度为 37℃、pH 为 6.5、盐浓度为 9%。验证实验最终测得的富硒率为 65.35%,与优化得到的富硒率预期值相近,说明该优化结果可信。

3 结论

本研究以鼠李糖乳杆菌为研究对象,通过单因素实验研究盐浓度、培养 pH、培养温度对鼠李糖乳杆菌富硒的影响,应用 Design-Expert 软件得出鼠李糖乳杆菌富硒培养的最佳工艺条件:最佳培养温度 37℃、最佳盐浓度 9%、最佳培养 pH 为 6.5,预期富硒率为 63.53%。在优化结果的基础上做验证实验,实验所得富硒率为 65.35%,与预测的富硒率相近,说明该优化结果可信。在最佳工艺条件下,鼠李糖乳杆菌的富硒量和富硒率都显著提高,相对于未胁迫组富硒量增加了 437.63 μg/g,富硒率提高了 14.7%。

参考文献

[1] 杨靖鹏,范智义,樊明涛,等.富硒乳酸菌及其发酵食品的研究进展[J].食品工业学报,2016,37(11):355-361.
[2] 王翼雪.富硒乳酸菌的筛选及富硒发酵工艺的研究[D].黑龙江:哈尔滨商业大学,2017.

[3] Lenz M, Lens P N L. The essential toxin: The changing perception of selenium in environmental science[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(12): 3 602-3 633.
[4] Letavayova L, Vlasakova D, Spallholz J E. Toxicity and mutagenicity of selenium in environmental sciences[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2008, 638(1): 1-10.
[5] Kekkonen R A. Immunomodulatory effects of probiotics[J]. Dairy Industry Association of Australia, 2009, 64(1): 128-132.
[6] Liza Yue Cruz, Di Wang, Jiwei Liu. Biosynthesis of selenium nanoparticles, characterization and X-ray induced radiotherapy for the treatment of lung cancer with interstitial lung disease[J]. Journal of Photochemistry & Photobiology, 2018, 191: 123-127.
[7] Amit Khurana, Sravani Tekula, Mohd Aslam Saifi, et al. Therapeutic applications of selenium nanoparticles[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 111: 802-812.
[8] Mrvic'J, Stanzer D, Olic'E, et al. Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: Opportunities for improving food safety and quality[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(9): 2 771-2 782.
[9] 陈 卫,赵山山,张秋香.乳酸菌的耐盐机制[J].中国食品学报,2013,13(10):1-7.
[10] 赵山山.植物乳杆菌 ST-III 盐应激反应及其协同保护作用的研究[D].无锡:江南大学,2014.
[11] 徐 颖,康 超,吕嘉彬,等.乳酸菌生物富硒作用研究[J].陕西科技大学学报,2018,36(3):52-56.
[12] 林松洋,郝利民,刘 鑫,等.乳酸菌耐盐分子机制研究进展[J].食品科学,2018,39(3):295-301.
[13] C Le Marrec. Responses of lactic acid bacteria to osmotic stress, stress responses of lactic acid bacteria[M]. New York: Springer US, 2011: 67-90.
[14] T. Romantsov, Z. Guan, J. M. Wood. Cardiolipin and the osmotic stress responses of bacteria[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2009, 1 788(10): 2 092-2 100.
[15] Lin J, Peng T, Jiang L, et al. Comparative genomics reveals new candidate genes involved in selenium metabolism in prokaryotes[J]. Genome Biol Evol, 2015, 7(3): 664-676.
[16] 田会芹,李 贤,傅松哲,等.温度及 pH 对杀蛙气单胞菌生长的影响研究[J].海洋科学,2015,39(7):7-12.
[17] 王学良,韩 雪,王海娟,等.乳酸菌在各种胁迫下的应激反应研究进展[J].食品工业科技,2015,36(6):365-369.

【责任编辑:陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0064-07

植物源活性物质对鲁氏接合酵母抑菌活性 评价及抑菌机制研究

王虎玄, 张淑晴, 廖 川, 钟小荣, 孙宏民

(陕西科技大学 食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:研究了 16 种天然植物源活性物质抑制鲁氏接合酵母的活性及其作用机制. 首先采用滤纸片扩散法和双倍稀释法, 依据抑菌圈直径和最小抑菌浓度评价了 16 种天然物质的抑菌活性. 结果表明: 麝香草酚对鲁氏接合酵母的抑菌效果最好. 进而以麝香草酚为研究对象, 探究其抑制鲁氏接合酵母的作用机制. 采用液体稀释法测定了麝香草酚对鲁氏接合酵母生长曲线的影响, 结果显示麝香草酚延长菌株生长迟滞期并减缓其生长速率; 通过测定菌液电导率变化发现麝香草酚处理导致鲁氏接合酵母细胞膜通透性增加, 胞内电解质外流加剧; 碘化丙啶染色结合荧光显微镜观察表明, 麝香草酚破坏鲁氏接合酵母细胞膜完整性. 最后借助场发射扫描电子显微镜观察发现, 麝香草酚处理引起鲁氏接合酵母细胞严重变形, 细胞穿孔性膜损伤, 验证了细胞膜通透性和完整性结果.

关键词:鲁氏接合酵母菌; 麝香草酚; 细胞膜; 通透性; 完整性

中图分类号:S182 **文献标志码:**A

Evaluation of the antimicrobial activity of plant-derived active substances against *Zygosaccharomyces rouxii* and study on the antimicrobial mechanism

WANG Hu-xuan, ZHANG Shu-qing, LIAO Chuan, ZHONG Xiao-rong, SUN Hong-min

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: In this paper, the antifungal activity of 16 natural plant-derived active substances against *Zygosaccharomyces rouxii* was studied. Firstly, the antifungal activity was determined according to the diameter of inhibition zone by the filter paper diffusion method and the minimum inhibitory concentrations by double dilution method. The results showed that thymol was the best inhibitor against *Z. rouxii*. Furthermore, thymol was used as the research object to explore its possible antifungal mechanism against *Z. rouxii*. The effect of thymol on the growth curve of *Z. rouxii* was determined by liquid dilution method. The results showed that thymol caused significant changes in the growth curve of *Z. rouxii*, prolonging the lag phase and decreasing the logarithmic growth phase. The change of the conductivity was also determined, and result showed that treatment with thymol increased the membrane permeability of *Z. rouxii*, leading to the outflow of intracellular electrolytes. Propidium iodide (PI) stai-

ning combined with fluorescence microscopy showed that thymol treatment led to the damage of *Z. rouxii* cell membrane integrity. Finally, it was found that the morphology of *Z. rouxii* cells treated with thymol was severely deformed with perforation membrane damage of cells by observation using field emission scanning electron microscopy.

Key words: *Zygosaccharomyces rouxii*; thymol; cell membrane; permeability; integrity

0 引言

鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)属于掷孢酵母科,具有嗜高渗、耐酸等特性,能够引起蜂蜜、浓缩果蔬汁、果酱、饼干、糕点、面包等食品腐败变质^[1].该菌的污染负面影响食品的外观、口感风味以及营养价值,对人体健康具有一定潜在危害.该菌还能代谢产气,引发胀包,特别是玻璃瓶密封包装,严重胀包会引发爆瓶,对消费者身体造成物理伤害^[2,3].因此,研究建立安全、高效的控制方法,及时去除 *Z. rouxii* 污染,切实保证相关食品的质量安全,对保障消费者健康具有现实意义.

目前,对食品储存过程中腐败酵母的污染主要通过低温和添加防腐剂进行防控.但低温只能减缓腐败的发生,并不能防止腐败;传统防腐剂存在效果差、具有潜在毒性等弊端.随着现代食品质量标准的提高,对天然、无害、高效食品防腐剂的研究已成为热点^[4].

植物源抑菌物质是指来源于植物的根、茎、叶、花、果、种子或其次生代谢产物,具有抑菌作用的活性物质^[5].植物源抑菌物质在自然界分布广泛,具有多种生理活性,符合目前食品产业提倡的天然、营养、功能化食品添加剂的发展方向,并且来源广泛,消费者认可程度高^[6,7].研究表明,来源于不同草本植物的精油提取物由于含有大量具有生理活性的次级代谢产物从而表现出高效抑制甚至杀灭细菌^[8]、酵母菌^[9]和霉菌^[10]防腐效果.但有关植物源活性物质对食品中鲁氏接合酵母污染的防控研究尚未见报道.

基于此,本研究选取包括多酚类、黄酮类、醌类、萜类和皂苷类等 16 种天然植物源化合物为潜在食品防腐剂,首先通过抑菌试验筛选对鲁氏接合酵母菌(标准菌株和食品来源分离菌株)具有高效抑菌活性的植物源物质,然后从细胞膜通透性、完整性等方面对目标植物源物质的潜在抑菌机制进行解析,最后通过场发射扫描电镜观察细胞形态变化,以验证植物源抑菌物质对酵母细胞膜特性的影响.实验结果可为天然、高效食品防腐剂开发并有效防控食品中鲁氏接合酵母的污染奠定理论基础.

1 材料和方法

1.1 菌种与试剂

酵母菌种:鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)分离菌株 B-WHX-12-53 及鲁氏接合酵母标准菌株 ATCC 2623 由西北农林科技大学食品科学与工程学院健康食品制造实验室提供.

植物源抑菌物质:硫辛酸(1077-28-7)、咖啡酸(331-39-5)、没食子酸(149-91-7)、大蒜素(539-86-6)、表儿茶素(490-46-0)、绿原酸(327-97-9)、丁香酸(530-57-4)、丹皮酚(552-41-0)、阿魏酸(1135-24-6)、槲皮素(117-39-5)、柠檬醛(5392-40-5)、原儿茶酸(2954-52-1)、香荆芥酚(499-75-2)、百里醌(490-91-5)、肉桂醛(104-55-2)、麝香草酚(89-83-8),以上植物源抑菌物质均由上海源叶生物科技有限公司提供,且均为食品级标准品,纯度 99% 以上.

YPD 培养基:葡萄糖 20 g,蛋白胨 20 g,酵母浸粉 10 g,蒸馏水 1 000 mL,如需固体培养基加入琼脂粉 20 g.

生理盐水:氯化钠 8.5 g,用蒸馏水定容至 1 000 mL.

磷酸缓冲液(pH 7.4):A 液(0.2 M NaH₂PO₄ · H₂O),称取 2.76 g NaH₂PO₄ · H₂O 溶于蒸馏水,稀释定容至 100 mL;B 液(0.2 M Na₂HPO₄ · H₂O),称取 5.36 g Na₂HPO₄ · H₂O 溶于蒸馏水,稀释定容至 100 mL.取 A 液 19.00 mL,B 液 81.00 mL 混合,测定混合液 pH.

2.5% 戊二醛:10 mL 50% 戊二醛,加蒸馏水定容至 200 mL.

1.2 主要仪器及设备

JM-B20001 型电子天平,余姚市纪铭称重校验设备有限公司;手提式高压灭菌锅,上海申安医疗器械厂;SW-CJ-2F 超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;101-2 型电热鼓风干燥箱,北京科伟永兴仪器有限公司;TDL-40B 型台式离心机,上海安亭科学仪器厂;SHA-BA 恒温振荡器,常州澳华仪器有限公司;SP-756P 紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;DDS-11D 电导率仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;飞纳 Phenom pro 台式扫描电镜,飞纳科学仪器(上海)有限公司;Imager M2 荧光显微镜,卡尔蔡司光学(中国)有限公司.

1.3 试验方法

1.3.1 菌种活化

将冻存于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的鲁氏接合酵母在 YPD 培养基中活化两次. 挑取单菌落接种于 YPD 液体培养基中, 置于 $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后经离心($6\ 000\text{ g}$, 10 min)收集菌体, 并使用磷酸盐缓冲液($\text{pH } 7.4$)洗涤菌体 3 次. 随后使用磷酸盐缓冲液重悬菌体, 测定并调整菌悬液 OD_{600} , 使菌悬液菌体浓度约为 $6.0\log\text{ CFU/mL}$ (血球计数板计数).

1.3.2 抑菌圈的测定

使用滤纸片扩散法进行抑菌圈测定^[11]. 取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 菌悬液均匀涂布于 YPD 培养基上, 静置 5 min . 取直径 6 mm 左右的无菌滤纸片分别于各植物源化合物溶液(10 mg/mL , YPD 液体溶解)中浸泡 10 min . 然后夹取浸泡滤纸片轻置于 YPD 培养基上. 随后将培养基正置于 $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 72 h 后用游标卡尺测量抑菌圈直径. 以不含有植物源化合物的 YPD 液体作为对照组. 每个样品做 3 次平行测定.

1.3.3 最小抑菌浓度(MICs)的测定

采用双倍稀释法测定最小抑菌浓度^[12]. 利用无菌 YPD 液体培养基将植物源化合物稀释成系列双倍浓度梯度的溶液, 分别取 10 mL 置于无菌试管中. 向每支试管中加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 菌悬液, 充分混匀后置于摇床培养 48 h ($27\text{ }^{\circ}\text{C}$, 200 rpm). 采用紫外分光光度计测定培养液 OD_{600} , 运用 t 检验对 0 h (接种后立即所测光密度值)和 48 h 光密度值进行比较, 如果 0 h 与 48 h 测量值无显著差异($p < 0.05$), 则认为该植物源化合物浓度为 MIC. 以不含有植物源化合物的 YPD 培养基作为对照组. 每种处理做 3 次平行测定.

1.3.4 优选植物源化合物对鲁氏接合酵母菌生长曲线的影响

参照前人研究方法^[13], 调整菌悬液 $\text{OD}_{600} = 0.1$ 并按 1% 的接种量接种于 YPD 培养液中. 然后向培养液中加入优选植物源化合物溶液(使用 YPD 配制), 使其终浓度分别为 $1/2\text{MIC}$ 、 MIC 和 2MIC . 将样品置于 $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h , 每隔 4 h 测定培养液 OD_{600} . 样品对照组不添加植物源化合物, 空白对照组不添加菌悬液和植物源化合物. 每种处理做 3 次平行测定.

1.3.5 优选植物源化合物对鲁氏接合酵母菌细胞膜通透性的影响

参考郭崇婷^[14]的方法采用电导率仪进行细胞膜通透性测定. 离心收集酵母菌体, 磷酸盐缓冲液($\text{pH } 7.4$)洗涤 3 次后用无菌生理盐水稀释菌体浓度至 $6.0\sim 7.0\log\text{ CFU/mL}$. 按 1% 的接种量取菌悬液接种至 YPD 液体培养基中, 随后向培养基中添加优选植物源化合物溶液, 使其终浓度分别为 MIC 和 2MIC . 将培养基置于摇床培养($27\text{ }^{\circ}\text{C}$, 150 rpm), 分别于 0 h 、 2 h 、 4 h 、 6 h 、 8 h 、 10 h 、 12 h 各取

5 mL 菌悬液, 离心($6\ 000\text{ g}$, 10 min)取其上清液检测电导率. 以不添加优选植物源化合物的培养液为对照组, 各处理平行测定 3 次.

1.3.6 优选植物源化合物对鲁氏接合酵母菌细胞膜完整性的影响

参照黄云坡等^[15]的方法, 利用 PI 染料荧光特性探究优选植物源化合物对鲁氏接合酵母菌细胞膜完整性的影响. 离心收集酵母菌体, 磷酸盐缓冲液($\text{pH } 7.4$)洗涤 3 次后重悬. 向离心管中分别加入 2 mL 的菌液, 分成 A、B 管: A 管加入 2 mL 磷酸缓冲液(阴性对照); B 管中加入 2 mL 优选植物源化合物溶液, 使其终浓度为 MIC . $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 2 h 后分别在 A、B 管中加入终浓度为 $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的 PI 溶液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下沾染 20 min . 离心收集菌体($6\ 000\text{ g}$, 10 min), 磷酸盐缓冲液($\text{pH } 7.4$)洗涤 3 次后重悬. 分别取 $10\text{ }\mu\text{L}$ A 管和 B 管菌液滴在载玻片上, 室温半干后盖上盖玻片, 荧光显微镜下观察, 得到绿光激发下的图像. 各处理平行测定 3 次.

1.3.7 优选植物源化合物对鲁氏接合酵母菌细胞形态的影响

参考 Vivek 等^[16]的方法采用场发射扫描电镜解析优选植物源化合物对鲁氏接合酵母细胞形态的影响. 离心收集酵母菌体, 磷酸盐缓冲液($\text{pH } 7.4$)洗涤 3 次后加入优选植物源化合物溶液, 使其终浓度分别为 MIC 和 2MIC , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下摇床处理(120 rpm)处理 6 h . 使用磷酸缓冲液(0.1 mol/mL , $\text{pH } 7.4$)洗涤菌体 3 次后重悬浮于 2.5% 戊二醛中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜固定. 固定后菌体使用乙醇溶液(30% 、 50% 、 70% 、 90% 、 100% , v/v)梯度逐级脱水. 脱水菌体 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干 12 h 后镀金处理并置于扫描电镜下观察并拍照. 以不含优选植物源化合物的菌悬液为对照组, 各处理平行测定 3 次.

1.3.8 数据处理

数据以平均值 \pm 标准差的形式表示, 使用 SPSS 软件对数据进行必要统计分析.

2 结果与讨论

2.1 植物源化合物对鲁氏接合酵母的抑制活性测定

采用滤纸片扩散法对 16 种植物源化合物抑制鲁氏接合酵母菌株 LB 生长的活性进行了测定. 结果如表 1 所示, 16 种植物源化合物对鲁氏接合酵母均有一定的生长抑制活性. 麝香草酚、香荆芥酚和百里醌表现出较强抑制活性, 抑菌圈直径超过 14 mm ; 肉桂醛、槲皮素、柠檬醛、原儿茶酸、丹皮酚和阿魏酸也具有一定抑制作用, 抑菌圈直径介于 $13\sim 14\text{ mm}$ 之间. 其余化合物的抑制活性相对较弱, 抑菌圈直径小于 13 mm . 总的来说, 麝香草酚

抑制活性最强,没食子酸抑制作用最弱.

表 1 16 种植物源化合物对鲁氏接合酵母的抑菌圈直径和最小抑制浓度

序号	名称	抑菌圈直径/mm	最小抑制浓度/(mg/mL)
1	阿魏酸	13.17±0.13 ^{ef}	2.0
2	硫辛酸	12.86±0.20 ^{de}	2.5
3	咖啡酸	12.17±0.19 ^b	5.0
4	没食子酸	11.50±0.28 ^a	10.0
5	大蒜素	12.55±0.25 ^{cd}	5.0
6	槲皮素	13.64±0.31 ^{fgh}	0.25
7	丹皮酚	13.24±0.32 ^{ef}	2.0
8	绿原酸	12.24±0.20 ^b	5.0
9	柠檬醛	13.52±0.38 ^{fgh}	0.5
10	表儿茶素	12.35±0.18 ^{bc}	5.0
11	原儿茶酸	13.29±0.29 ^{efg}	1.25
12	丁香酸	12.64±0.23 ^{cd}	2.5
13	麝香草酚	15.98±0.67 ^j	0.062 5
14	香荆芥酚	14.40±0.46 ⁱ	0.125
15	百里醌	14.14±0.49 ^{hi}	0.25
16	肉桂醛	13.78±0.39 ^{ghi}	0.312 5

注:不同上标字母表示差异显著($p < 0.05$,邓肯检验)

进一步采用双倍稀释法检测了 16 种植物源化合物对鲁氏接合酵母的最小抑菌浓度,如表 1 所示.结果表明:在所检测的 16 种物质中,麝香草酚和香荆芥酚对鲁氏接合酵母具有较强的抑制效果,其 MICs 分别为 0.062 5 mg/mL 和 0.125 mg/mL.槲皮素、百里醌和肉桂醛对鲁氏接合酵母也有较好的抑制活性,其 MICs 分别为 0.25 mg/mL、0.25 mg/mL 和 0.312 5 mg/mL.而没食子酸对鲁氏接合酵母的抑菌效果最差,MIC 高达 10.0 mg/mL.结合抑菌圈测定结果,可以看出麝香草酚对鲁氏接合酵母的生长抑制效果最好,而没食子酸的抑制效果最差.因此麝香草酚即为优选出来的植物源化合物进行后续研究.

本文选取了 16 种植物源活性物质,其中多酚类化合物有 10 余种(阿魏酸、绿原酸等),由实验结果可知,除没食子酸外的其他酚类物质对鲁氏接合酵母有较强的抑制活性($MICs \leq 5 \text{ mg/mL}$).多酚类化合物化学结构多样化,是生物体次级代谢产物中结构变化较多的一类化合物,其—OH 与抑菌活性密切相关.此外,该类化合物也被证实可与细胞膜相互作用,破坏膜结构引起胞内物质泄露,从而起到抑菌效果^[11].

在本研究中,麝香草酚、香荆芥酚、百里醌和肉桂醛对鲁氏接合酵母具有较好的抑菌效果,上述物质已经被美国食品药品监督管理局(FDA)批准为食品添加剂,也被欧盟委员会(EU)批准可作调料添加于食品中.前人研究也表明上述物质对一些致病菌和食品腐败菌具有较好的抑制效果^[11,17].因此,上述化合物有潜力作为天然植物源防腐剂添加于食品中,或应用于食品加工、包装、储存、运输和销售过程的抑菌处理.

2.2 麝香草酚对鲁氏接合酵母菌生长的影响

麝香草酚对鲁氏接合酵母测试菌株生长影响的实验结果如图 1 和图 2 所示.由图可以看出,样品对照组(CK)在 0~8 h 处于迟滞期,菌体生长缓慢,其后进入对数生长期,菌体快速增殖.麝香草酚处理后,1/2MIC 组生长迟滞期延长至 12 h,其后进入对数生长期,这表明 1/2MIC 浓度的麝香草酚对鲁氏接合酵母测试菌株的生长均产生了抑制作用,将两菌株的对数生长期推迟了 4 h.而 MIC 和 2MIC 处理下两株菌的生长曲线平坦,酵母菌生长基本被完全抑制,表明麝香草酚的抑菌效果与其浓度正相关,随着麝香草酚的浓度增高其对鲁氏接合酵母生长的抑制作用逐渐增强.

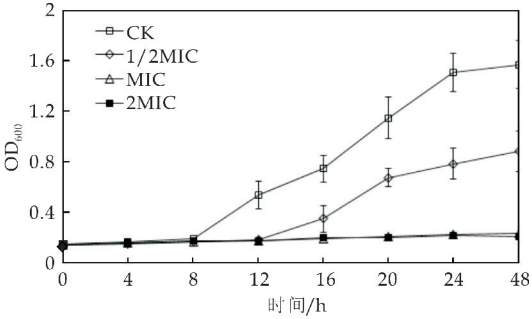


图 1 麝香草酚对 LB 菌株生长的影响

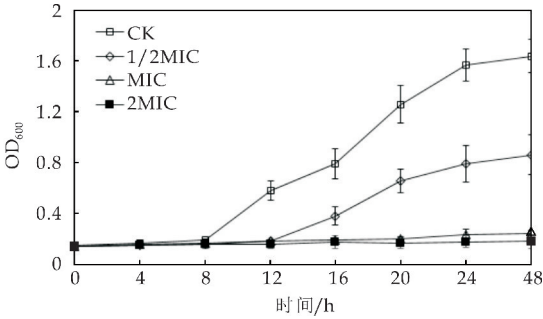


图 2 麝香草酚对 1130 菌株生长的影响

2.3 麝香草酚对鲁氏接合酵母细胞膜通透性的影响

微生物细胞液电导率变化是衡量微生物细胞膜通透性变化的一个重要指标^[18].从图 3 及图 4 可以看出,未经麝香草酚处理的鲁氏接合酵母菌悬液(CK)的电导率呈现微小上升趋势,如 LB 菌液由 0 h 的 3.08 mS/cm 上升到 12 h 的 3.15 mS/cm,1130 菌液由 0 h 的 3.17 mS/cm 上升到 12 h 的 3.32 mS/cm,这可能是由于菌体生长过程中少量活性较差的菌体细胞降解死亡引起胞内电解质外流,造成菌液电导率小幅增加.而麝香草酚处理后的鲁氏接合酵母菌液电导率上升幅度明显增大,如 MIC 组 LB 菌液电导率由 0 h 的 3.15 mS/cm 上升到 12 h 的 3.91 mS/cm,1130 菌液电导率由 0 h 的 3.12 mS/cm 上升到 12 h 的 3.85 mS/cm;2MIC 组 LB 菌液电导率进一步增加到 4.24 mS/cm,1130 菌液电

导率进一步增加到 4.30 mS/cm. 可以看出, 麝香草酚对菌液电导率的影响程度依次为 2MIC>MIC>CK, 与麝香草酚浓度正相关. 麝香草酚之所以引起菌液电导率增加, 可能是由于该植物源活性成分可靶向作用于鲁氏接合酵母细胞膜, 与细胞膜某些结构成分相互作用, 从而影响细胞膜结构, 膜渗透性增大, 导致胞内电解质如 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 外泄增加, 而造成菌液电导率增加^[19]. 且随着麝香草酚浓度的提高对鲁氏接合酵母细胞膜的破坏作用也随之加强, 胞内离子泄漏量逐渐增多, 这与何静如等^[20]研究植物源抗菌物质 β -蒎烯对沙门氏菌菌悬液电导率影响结果一致. 有研究表明^[21], 酚类物质能够与细胞膜磷脂分子相作用、抑制麦角固醇的合成来改变细胞膜的结构, 增强膜通透性, 但该机制是否可用于解释麝香草酚对鲁氏接合酵母的抑制作用, 尚需进一步研究.

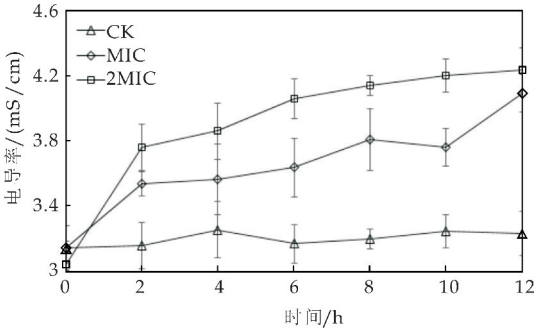


图 3 麝香草酚对 LB 菌株细胞液电导率的影响

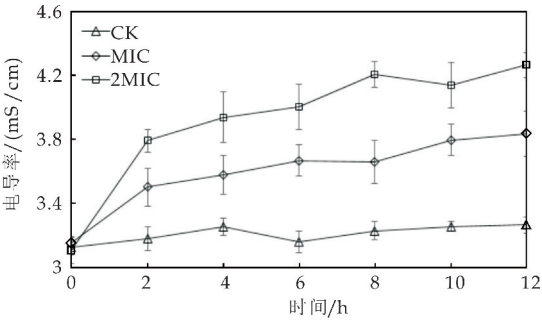
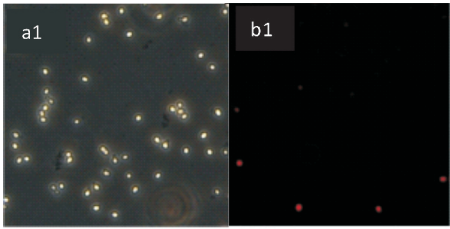


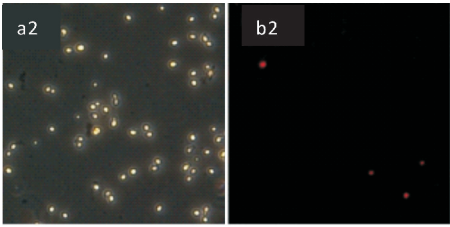
图 4 麝香草酚对 1130 菌株细胞液电导率的影响

2.4 麝香草酚对鲁氏接合酵母细胞完整性的影响

采用激光共聚焦倒置荧光显微镜分析麝香草酚对鲁氏接合酵母细胞膜完整性的影响. 本实验在绿光激发下观察 PI 染料发出的红色荧光, 从而观察 PI 进入破损细胞后的状态. 空白对照组在 PI 通道荧光显微图中没有细胞被染色, 即 a 组(图 5 中 a1 和 a2)未出现红色荧光, 而经过麝香草酚 MIC 浓度处理 2 h 后的 b 组(图 5 中 b1 和 b2)可以看到有明显的红色荧光.



a1:LB 菌株荧光显微镜白光图($\times 200$);b1:LB 菌株荧光显微镜 PI 通道荧光图($\times 200$)



a2:1130 菌株荧光显微镜白光图($\times 200$);b2:1130 菌株荧光显微镜 PI 通道荧光图($\times 200$)

图 5 麝香草酚对鲁氏接合酵母细胞膜完整性的影响

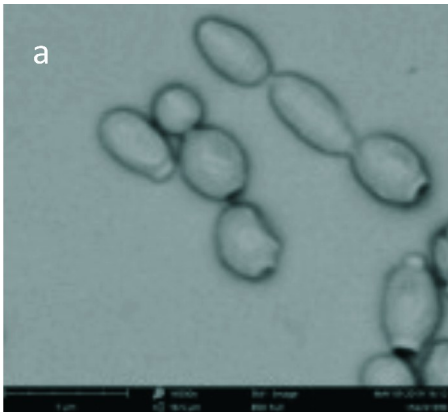
荧光显微镜将紫外线作为光源,在激发波长下使被检测的物质能够产生可检测到的发射波长(即荧光). 在避光条件下,对被检测物进行照射,然后在荧光显微镜下观察物体所在的位置及其形状. 荧光显微镜可以观察到细胞内物质的分布、运输、吸收及定位等^[22]. PI 能够进入死亡细胞并结合核酸发出红色荧光,却不能通过活细胞的细胞膜,因此 PI 染色程度可以反映细胞膜的破损程度和细胞死亡程度^[23,24]. 结果表明麝香草酚 MIC 处理对鲁氏接合酵母菌细胞膜产生了破坏作用,并最终导致菌体细胞死亡. 有研究显示^[21] 细胞膜是大多数外源抗菌物质的作用位点,通过改变细胞膜结构或破坏细胞膜结构导致细胞正常生长受到抑制,甚至死亡,从而达到抑菌或杀菌的目的.

基于此,结合本文 2.3 中实验结果,可初步推测麝香草酚对鲁氏接合酵母的作用位点也可能在细胞膜上,当麝香草酚在鲁氏接合酵母细胞膜表面聚集到一定程度时,会改变细胞形态,破坏细胞膜完整性,膜上出现破裂或孔洞,细胞膜通透性增加,胞外 PI 染料可以进入胞内与核酸作用发出红色荧光,胞内小分子物质则大量外流导致菌液电导率增加,同时这些胞内小分子物质的流失直接影响细胞内环境稳态,继而干扰正常新陈代谢,最终造成细胞生长抑制或死亡.

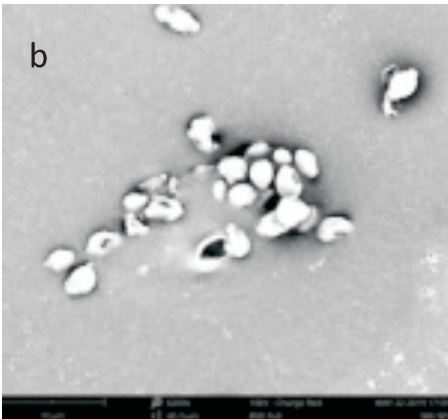
2.5 麝香草酚对鲁氏接合酵母细胞形态的影响

采用场发射扫描电镜观察麝香草酚处理后鲁氏接合酵母 1130 细胞形态的变化. 结果如图 6 所示,空白对照组鲁氏接合酵母细胞呈现正常的椭圆形(图 6(a)),菌体形状饱满,表面光滑无裂纹,细胞之间的界限清晰明了;而经麝香草酚处理后的鲁氏接合酵母细胞形态发生明显变化(图 6(b)和 6

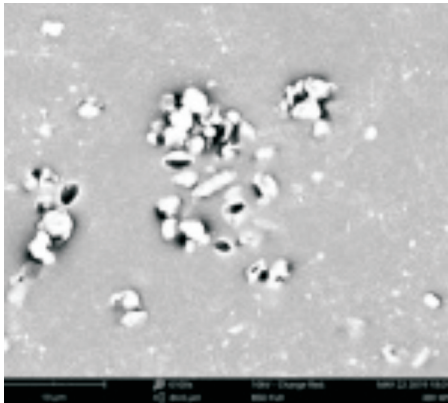
(c)), 酵母细胞出现不同程度的破裂、黏结现象, 细胞表面出现凹陷, 细胞膜壁出现不同程度穿孔性损伤, 细胞形态受到严重破坏, 且破坏程度与麝香草酚处理浓度呈正相关。基于前文电导率测定及 PI 染色结果, 可初步认为麝香草酚通过破坏鲁氏结合酵母细胞膜结构抑制其生长。以场发射扫描电镜观察经麝香草酚处理后的鲁氏接合酵母细胞形态, 可以进一步验证麝香草酚处理后鲁氏接合酵母细胞膜出现通透孔道、内容物外泄, 从而导致细胞生长抑制甚至死亡这一推断, 符合一些研究外源抑菌物质抑菌机理的学者提出的“孔道形成理论”^[25]。



(a) 未处理 1130 菌株($\times 13\ 000$)



(b) MIC 处理 1130 菌株($\times 8\ 000$)



(c) 2MIC 处理 1130 菌株($\times 8\ 000$)

图 6 麝香草酚处理后鲁氏接合酵母菌的细胞形态

3 结论

本研究对 16 种植物源化合物抑制鲁氏接合酵母活性进行了评价, 筛选出对鲁氏接合酵母抑制活性最强的麝香草酚, 其抑菌圈直径和最小抑菌浓度分别为 $15.98\pm 0.67\ \text{mm}$ 和 $0.062\ 5\ \text{mg/mL}$; 进一步研究表明麝香草酚可引起菌液电导率增加并破坏酵母细胞膜完整性, 导致细胞膜通透性增大, 胞内生物活性物质大量泄露, 胞内环境紊乱, 导致菌体生长抑制; 最后通过扫描电镜观察到麝香草酚处理后鲁氏接合酵母细胞出现黏结、破裂甚至完全破碎, 验证了细胞膜通透性和完整性研究结果。研究结果为后期天然、高效食品防腐剂开发并有效防控食品中鲁氏接合酵母的污染奠定了理论基础。本文仅从细胞形态和细胞膜结构方面对麝香草酚抑制鲁氏接合酵母生长的机制进行了初步解析, 后续还应从不同角度(基因表达、代谢调控、细胞凋亡等)深入探究其抑菌机制。

参考文献

[1] 王虎玄, 胡仲秋, 牛晨, 等. 糖度与酸度对鲁氏接合酵母生长的影响[J]. 农业机械学报, 2015, 46(10): 279-284.

[2] Michala Bubnová, Jana Zemančíková, Hana Sychrová. Osmotolerant yeast species differ in basic physiological parameters and in tolerance of non-osmotic stresses[J]. Yeast, 2014, 31(8): 309-321.

[3] Shangjie Yao, Rongqing Zhou, Yao Jin, et al. Effect of co-culture with tetragenococcus halophilus on the physiological characterization and transcription profiling of *Zygosaccharomyces rouxii*[J]. Food Research International, 2019, 121: 348-358.

[4] Gianfranco Brambilla, Stefania De Filippis. Trends in animal feed composition and the possible consequence on residue tests[J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 529(1-2): 7-13.

[5] Seyed Mohammad Nabavi, Anna Marchese. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agent: From farm to pharmacy[J]. Food Chemistry, 2015, 173(15): 339-347.

[6] 张旺. 几种植物源活性物质的抑菌、抗病毒效果及其机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.

[7] 雷盼, 黄国文. 植物中抑菌物质种类和应用的研究进展[J]. 湖南科技学院学报, 2014, 35(10): 50-52.

[8] 曹艳子, 林洋, 高丽, 等. 植物源抑菌物质的筛选及其应用[J]. 现代畜牧兽医, 2014(7): 9-12.

[9] 刘洋, 王飞, 田治国, 等. 8 种园林草本植物挥发性物质的抑菌效果研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2009, 37(3): 141-145.

[10] 张量, 张敬泽. 渐绿木霉抑菌物质的分离纯化及其对植物病原菌的抑制作用[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 882-888.

[11] 石超, 陈怡飞, 贾振宇. 50 种植物源化合物对阪崎克罗肠杆菌的抑菌活性评价[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 47-54.

[12] Jihong Zhang, Shunag Ma, Shenglong Du, et al. Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(5): 2 611-2 620.

- [13] 马晟利,于舒扬,陈春晓,等.血链球菌细菌素对牙龈卟啉单胞细菌形貌及力学性质的影响[J].口腔医学研究,2017,33(8):803-806.
- [14] 郭崇婷.黄碧果实精油抑菌活性及机理研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2016.
- [15] 黄云坡,孙晶,梅红霞,等.苯乳酸对单增李斯特菌的细胞膜完整性和通透性的影响[J].食品工业科技,2019,40(5):130-135.
- [16] Vivek K, Bajpai, Ajay Sharma, et al. Anti-bacterial mode-of-action of cudrania tricuspidata fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogen[J]. Food Control, 2013, 32(2): 582-590.
- [17] 张显东. 香芹酚和百里香酚的作用机理及其在单胃动物中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(11): 25-30.
- [18] 赵宇瑛. 黄瓜磷脂酶 D 和抗氧化系统对采后机械损伤胁迫的响应[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [19] 王桂清, 张涛. 辽细辛精油对黄瓜灰霉病菌菌丝体细胞膜通透性的影响[J]. 华北农学报, 2011, 26(5): 5-8.
- [20] 何静如, 刘雪, 陈文学, 等. β -萜烯对沙门氏菌的抑菌机制[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 44-49.
- [21] 王娣, 许晖, 钱时权, 等. 麝香草酚对食品常见污染菌的抑菌作用[J]. 食品科学, 2013, 34(3): 119-122.
- [22] Dietrich C P, Silva M E, Michelacci Y M. Sequential degradation of heparin in *Flavobacterium heparinum* Purification and properties of five enzymes involved in heparin degradation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 248(18): 408-415.
- [23] 胡梦裳, 张云艳, 万建美, 等. 不同浓度的碘化丙啶染色对细胞周期分布的影响[J]. 激光杂志, 2015, 36(1): 144-147.
- [24] Mansilla A Y, Albertengo L, Rodriguez M S, et al. Evidence on antimicrobial properties and mode of action of a chitosan obtained from crustacean exoskeletons on *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(15): 6 957-6 966.
- [25] Zhang X H, Wang Z, Yin B, et al. A complex of trypsin and xymotrypsin effectively inhibited growth of pathogenic bacteria inducing cow mastitis and showed synergistic antibacterial activity with antibiotic[J]. Livestock Science, 2016, 188: 25-36.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 49 页)

参考文献

- [1] Jiang M, Zhu L, Jiang J. Immunoregulatory actions of polysaccharides from Chinese herbal medicine[J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2010, 14: 1 367-1 402.
- [2] Tzianabos A O. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: Structural aspects and biologic function[J]. Clinical Microbiology Reviews, 2000, 13: 523-533.
- [3] Yang T, Jia M, Zhou S, et al. Antivirus and immune enhancement activities of sulfated polysaccharide from *Angelica sinensis*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50: 768-772.
- [4] Wang L, Li X, Chen Z. Sulfated modification of the polysaccharides obtained from defatted rice bran and their antitumor activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 44: 211-214.
- [5] Zhang Z, Zhang Q, Wang J, et al. Chemical modification and influence of function groups on the in vitro-antioxidant activities of porphyrin from *Porphyrin haitanensis* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79: 290-295.
- [6] Gamal Eldeen A M, Amer H, Helmy W A, et al. Chemically-modified polysaccharide extract derived from *Leucaena leucocephala* alters Raw 264. 7 murine macrophage functions[J]. International Immunopharmacology, 2007, 7: 871-878.
- [7] Jin M, Huang Q, Zhao K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 54: 16-23.
- [8] Wang Z, Liu Y, Sun Y, et al. Structural characterization of LbGp1 from the fruits of *Lycium barbarum* L[J]. Food Chemistry, 2014, 159: 137-142.
- [9] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28: 350-356.
- [10] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival-application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. Journal of Immunological Methods, 1983, 65(1-2): 55-63.
- [11] Cao Q, Lin Z. Antitumor and anti-angiogenic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2004, 25(6): 833-838.
- [12] Granger D L, Taintor R R, Boockvar K S, et al. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction[J]. Methods in Enzymology, 1996, 268: 142-151.
- [13] Sun Y, Gong G, Guo Y, et al. Purification, structural features and immunostimulatory activity of novel polysaccharides from *Caulerpa lentillifera*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 314-323.
- [14] Park J, Cha J, Choi K M, et al. Fucoidan inhibits LPS-induced inflammation in vitro and during the acute response in vivo[J]. International Immunopharmacology, 2017, 43: 91-98.
- [15] Wang M, Jiang C, Ma L, et al. Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hovenia dulcis* [J]. Food Chemistry, 2013, 138: 41-47.
- [16] Ke C, Qiao D, Luo J, et al. Immunostimulatory activity and structure of polysaccharide from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57: 218-225.
- [17] Wang X, Wang S, Li Y, et al. Sulfated astragalus polysaccharide can regulate the inflammatory reaction induced by LPS in CaCO_2 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 60: 248-252.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0071-05

羊乳中牛乳成分的可视化环介导等温扩增检测方法

澹台玮, 徐秦峰*, 张文娟, 李艳妮

(陕西科技大学 食品与生物工程学院 国家羊乳制品加工技术研发专业中心, 陕西 西安 710021)

摘要:环介导等温扩增(LAMP)技术能够快速检测食品中的动物源性成分,但常用的有机检测染料稳定性差、Stoke's 位移小等导致荧光颜色区分不够明显.基于此,根据线粒体保守序列设计牛、羊特异性引物,同时采用核酸分子“光开关”钌(II)配合物 $[Ru(bpy)_2(dppz)]^{2+}$ 作为荧光染料,建立了一种简便、快速、直观地检测羊奶制品中掺入牛源性奶成分的可视化 LAMP 方法.结果显示,该方法特异性好,对其他物种没有交叉反应及假阳性现象的发生,对牛、羊的检测灵敏度可达 $0.007\text{ pg}/\mu\text{L}$ 和 $0.7\text{ pg}/\mu\text{L}$,并能检测出羊乳中掺假 0.1% 的牛乳.因此,该方法可直接通过荧光目视比色判定检测结果,具有快速、直观、低成本等优点,为羊奶真实性现场快速检测提供技术支持.

关键词:环介导等温扩增; 可视化检测; 羊乳; 牛乳

中图分类号:TS252.7 **文献标志码:**A

Establishment of visual loop-mediated isothermal amplification method for detection of bovine milk components in goat milk

TANTAI Wei, XU Qin-feng*, ZHANG Wen-juan, LI Yan-ni

(School of Food and Biological Engineering, National R&D Center for Goat Dairy Products Processing Technology, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Loop mediated isothermal amplification (LAMP) technology can rapidly detect animal-derived components in food, but the commonly used organic detection dyes have poor stability and small Stoke's shift, which makes it difficult to discriminate the fluorescence color of sample from blank. In this study, bovine and goat specific primers were designed based on mitochondrial conserved sequences, and the ruthenium (II) complex $[Ru(bpy)_2(dppz)]^{2+}$ with nucleic acid molecule “light-on” effect was exploited as a fluorescent dye to establish a simple, rapid and intuitive visual LAMP method for the detection of bovine milk components in goat milk products. The results showed that the method was specific, and there was no cross-reactivity and false positive phenomenon in other species. The detection sensitivity of

* 收稿日期:2019-10-04
基金项目:陕西省科技厅科技计划项目(2018KJXX-043, 2019NY-126); 陕西科技大学博士科研启动基金项目(2016QNBj-01)
作者简介:澹台玮(1994—),女,山西运城人,在读硕士研究生,研究方向:食品质量与安全
通讯作者:徐秦峰(1983—),男,山西新绛人,副教授,博士,研究方向:食品安全检测, xqinfeng@sust.edu.cn

bovine and goat could reach 0.007 pg/ μ L and 0.7 pg/ μ L, respectively. The adulteration in goat milk could be detected 0.1% milk. Therefore, the method can directly determine the result by fluorescent visual colorimetry, which has the advantages of fast, intuitive, low cost, and may provide technical support for rapid on-site detection of goat milk authenticity.

Key words: loop mediated isothermal amplification; visual detection; goat milk; bovine milk

0 引言

在我国,乳及其制品已成为人们日常营养的补充剂.并且随着生活水平的提高,对乳及其制品的需求逐渐由数量向质量转变,即人们更倾向于追求一些高营养价值的乳制品,如羊乳及其制品^[1].但由于养殖和季节波动等影响,羊乳价格相对偏高^[2].一些不法商家为了寻求商业利益,在羊乳中掺入牛乳,以次充好,且掺入手段多样,不仅损害了消费者合法权益,并对羊乳行业的健康发展产生了不利影响^[3].由于传统感官检验及常规指标不易辨别,在2016年发布的农业行业标准《羊奶真实性鉴定技术规程》(NY/T3050-2016)中^[4],主要通过凝胶电泳、酶联免疫或PCR方法检测羊奶产品是否存在牛源性蛋白或者DNA,来鉴别羊奶产品是否掺入了牛源性奶成分.

相比于蛋白质,DNA对于热加工更为稳定^[5],并且由于PCR方法对目标DNA序列的指数扩增,PCR方法适用于生羊奶、UHT灭菌液态羊奶及羊奶粉中掺入牛源性奶成分的高灵敏检测.但是PCR方法需要热循环仪器和凝胶电泳观察实验结果,操作繁琐,无法实现羊奶真实性的现场快速检测,限制了此方法的推广应用.环介导等温扩增技术(Loop mediated isothermal amplification, LAMP)^[6]则可实现在恒温条件下,特异、高效、快速地扩增核酸序列.LAMP反应无需热循环仪器,且LAMP产物可通过荧光目视可视化快速简单的鉴别^[7].已有的LAMP荧光检测染料主要包括钙黄绿素、SYBR Green I等,普遍存在稳定性差、斯托克斯(stoke's)位移小导致的颜色区分不明显等问题^[8].

为了克服这种局限,本研究中发展了核酸分子“光开关”钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 作为可视化LAMP荧光染料. $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在水溶液中本身不发光,DNA存在时荧光显著增强,具有优良的水溶性、稳定性、生物低毒性、Stoke's位移大等优点^[9-11].通过将金属钌配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的核酸分子“光开关”特性与LAMP扩增反应结合,建立了羊乳中牛乳成分的

可视化LAMP检测方法.该方法直接通过可视化荧光目视比色判定检测结果,具有快速、直观、低成本等优点,可为羊奶真实性现场快速检测提供技术支持,并可通过LAMP引物设计实现其它动植物源性食品的真实性快速检测.

1 材料与方法

1.1 实验材料

鲜牛乳样品采自西安市未央区草滩奶牛场,鲜羊乳样品采自陕西省西安市未央区市场,采集的鲜乳制品于-20℃保存备用.用于验证引物特异性的非目标DNA(鸡、猪、马、兔和鸽子)均购于四川华汉三创有限公司.不同品牌的羊乳产品(液态乳、羊奶片、全脂羊乳粉及配方奶粉)等样品分别购自西安市以及网上不同的超市,用于验证所建立方法的实际应用价值.

1.2 主要试剂和仪器

(1)试剂:磁珠法血液基因组DNA提取试剂盒购自天根有限公司,甜菜碱(Sigma公司),钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (Jena Bioscience公司),dNTP混合液,Bst 2.0 WarmStar®DNA聚合酶, MgSO_4 均采自New England Biolabs.

(2)仪器:高速冷冻离心机(5424R, Eppendorf有限公司);琼脂糖水平电泳仪(DYCP-31DN,北京六一生物科技有限公司),电热恒温水槽(DK-8D,上海精宏实验设备有限公司),超微量分光光度计(Q6000,美国Quawell),蓝光透射仪(VE0100, SMOBIO).

1.3 DNA提取

根据实验室前期研究结果^[12],本实验中采用磁珠法提取新鲜乳品或羊奶制品中DNA,以超微量核酸定量仪测定DNA浓度和纯度后,将DNA溶液稀释到7 ng/ μ L,储存在-20℃,备用.

1.4 LAMP引物选取

本研究涉及的牛、羊特异性引物以线粒体保守序列为靶基因,选取SN/T 4419.21-2016标准中牛特异性引物及文献报道的羊特异性引物^[13],如

表 1 所示,引物由上海生工生物有限公司合成。

表 1 本实验中 LAMP 扩增引物序列

目标基因	引物名称	引物序列(5'→3')
羊	F3	ACAATAGCCACAGCATTTCAT
	B3	ATCTGTGTCCGATGGAATTC
	FIP	TCATTGCGACTAGGTTTGTGCCACATTCT GAGGAGCAACAGTTA
	BIP	CAAAGCTACCCTCACCCGATTTGTAGG TGAACTATGGCGAG
	F3	GACAACTAGCATCTGTCCTA
	B3	CAGCTTTGGGGGTTGATG
牛	FIP	GATGTACTACAAAGACCTGTCTTCATTT CTCCTCATCTAGTGC
	BIP	TACTGGTCTTGTAACCAGAGAAGGTG CAGTTTCTCTCTTGAGTC

1.5 可视化 LAMP 方法建立及优化

LAMP 反应体系为 10 μL,包括:1 μL 10× Thermol Pol buffer,外引物 F3 和 B3(10 μM)各 0.2 μL,内引物 FIP 和 BIP(40 μM)各 0.2 μL,1.4 μL dNTPs(10 mmol/L),1.6 μL 甜菜碱(0.8 M),0.4 μL Bst DNA 聚合酶(8 U/μL),加入待测 DNA 1.2 μL,以双蒸水为空白对照,最后用水补齐到 10 μL,混匀。在 64 ℃下恒温反应 45 min。

反应结束后取 1 μL 扩增产物加入 50 μL 钆(II)配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺溶液,在蓝光透射仪下观察颜色变化,出现红色荧光为阳性,无色为阴性,同时结合 2%的琼脂糖凝胶电泳分析鉴定。

为了确保颜色区分更明显,对镁离子浓度及钆(II)配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料浓度进行优化,其中镁离子浓度分别为 2、4、6、8、10、12 mM,钆(II)配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料浓度分别为 5 μM、10 μM、15 μM、20 μM、25 μM。

1.6 可视化 LAMP 方法的特异性与灵敏度

以鸡、猪、马、兔、鸽子的基因组 DNA 分别作为待测样品模板,奶牛、山羊的乳基因组 DNA 分别作为模板阳性对照,双蒸水作为模板阴性对照(NTC),按照优化好的条件进行 LAMP 扩增,反应结束后通过观察颜色变化,验证引物的特异性。

将 7 ng/μL 的奶牛和山羊 DNA 原液 10 倍浓度梯度稀释,浓度依次为:7 ng/μL、0.7 ng/μL、0.07 ng/μL、0.007 ng/μL、0.000 7 ng/μL、0.000 07 ng/μL、0.000 007 ng/μL,每个梯度均取 1.2 μL 为模板,按照优化好的条件进行 LAMP 扩增,验证方法的灵敏度。

1.7 可视化 LAMP 方法的掺假比例检出限

为了验证所建立方法的灵敏度及适用性,在提

取的羊乳 DNA 中掺入不同比例的奶牛乳 DNA (比例依次为 100%、80%、50%、10%、5%、1%、0.1%和 0%),取上述混合 DNA 1.2 μL 为模板进行 LAMP 扩增,确定所建立方法的检出限。

1.8 市售样品的实际检测应用

使用优化好的可视化 LAMP 方法对市售羊乳样品进行检测,以验证建立方法的实用价值。

2 结果与讨论

2.1 可视化 LAMP 检测方法的建立

为了确定方法的可行性,在 LAMP 反应体系中设置有模板与空白对照进行扩增,反应结束后添加[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料观察荧光颜色变化,并通过琼脂糖凝胶电泳和荧光光谱扫描进行确认。

实验结果如图 1(b)中插图所示,在 DNA 模板存在时,能够观察到明显的荧光发射;而在没有 DNA 模板时,几乎观察不到任何的荧光发射。荧光目视比色与图 1(a)中琼脂糖凝胶电泳结果一致,表明[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料可用于 LAMP 扩增反应的检测。此外,在图 1(b)中[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料最大荧光发射处于红光波段,采用可见蓝光激发 Stoke's 位移>150 nm,对比明显,目视比色更容易区分,可减小主观误差。

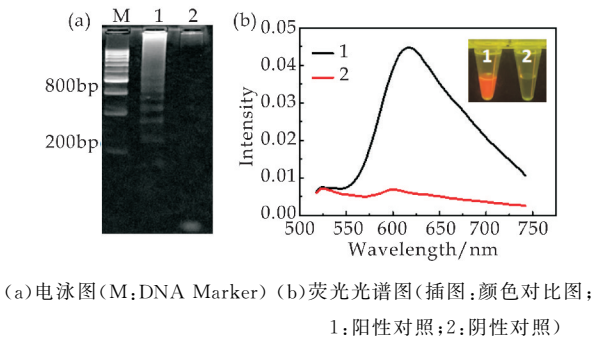


图 1 可视化 LAMP 检测结果

2.2 可视化 LAMP 反应体系优化

为了建立最优的可视化 LAMP 检测体系,对镁离子浓度及钆(II)配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料浓度进行优化。镁离子浓度优化结果(如图 2 所示)显示,其浓度为 8 mM 时,显色反应最为明显。

同时,为了达到最佳的荧光目视比色效果,对钆(II)配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料浓度进行优化,结果(如图 3 所示)显示:当染料浓度大于 10 μM 时即可达到较明显的阳性红色、阴性无色的颜色对比,基于节约试剂和检测效果稳定性考虑,选

择 15 μM 钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 浓度作为后续试验的染料浓度.

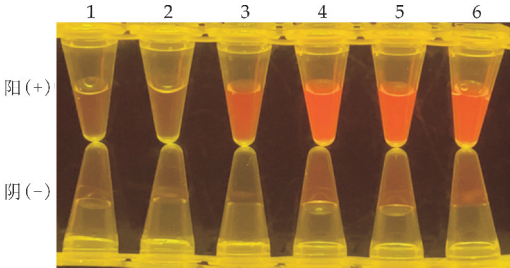


图 2 镁离子浓度的优化(1~6 分别为 2、4、6、8、10、12 mM 镁离子浓度)

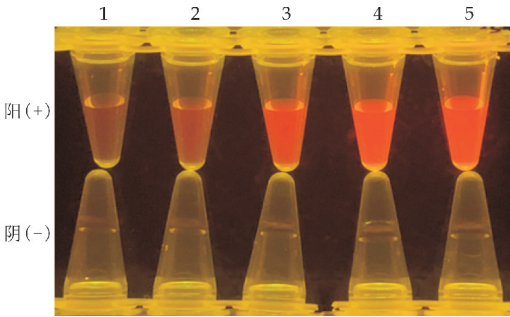


图 3 钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 染料浓度的优化(1~5 分别为 5、10、15、20、25 μM 染料浓度)

2.3 特异性检测

采用牛、羊、鸡、猪、马、兔、鸽子等样品 DNA 为模板,进行 LAMP 反应,以验证引物的特异性,其结果如图 4 所示. 针对牛、羊源性成分设计的特异性引物,仅含有目标成分 DNA 时观察到明显的颜色变红,即检测结果为阳性,空白对照和其他动物源性样品均未变色,为阴性结果,表明 LAMP 引物的特异性良好.

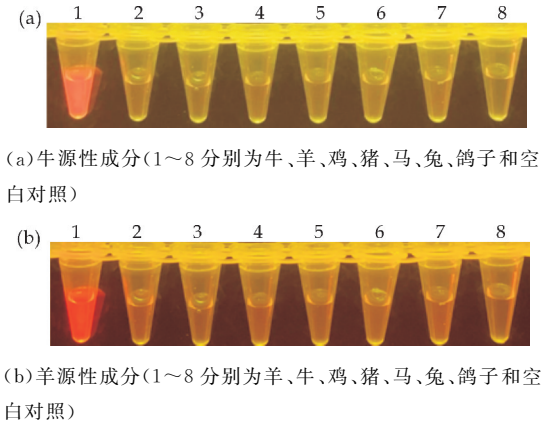


图 4 牛、羊源性成分 LAMP 引物特异性验证

2.4 灵敏度检测

为了确定建立的荧光目视比色方法能够检测

到牛、羊乳 DNA 最低含量,将 10 倍梯度稀释的牛、羊源性成分 DNA 分别用于 LAMP 反应,其结果如图 5 所示. 两种目标成分 DNA 检测可达到 0.007 $\text{pg}/\mu\text{L}$ 和 0.7 $\text{pg}/\mu\text{L}$ 的检测限,表明基于钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 染料的目视比色检测方法具有较高的检测灵敏度;颜色对比方面显示出红色和无色的明显区分效果.

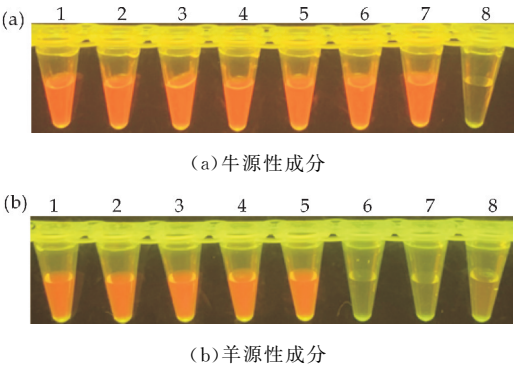


图 5 牛、羊源性成分 LAMP 反应灵敏度检测(1~8 为 7、0.7、0.07、0.007、0.0007、0.00007、0.000007 $\text{ng}/\mu\text{L}$ DNA 和空白对照)

2.5 检出限的确定

用可视化 LAMP 技术检测 8 种不同比例奶牛乳和羊乳 DNA 混合样品,结果(如图 6 所示)显示,在所有混合比例的样品中,该方法能检测出羊乳中掺假 0.1% 的牛乳,高于标准中 PCR 方法的 2% 检出限^[4].

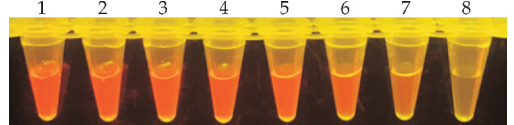


图 6 羊乳中掺入不同比例牛乳的可视化 LAMP 检测(1~8 分别为掺入牛乳 DNA 比例为 100%、80%、50%、10%、5%、1%、0.1%、0%)

2.6 实际样品检测结果

为了验证方法的实用价值,选取市售不同品牌的全脂奶粉、脱脂奶粉、羊奶片及配方奶粉等 13 个羊奶样品,分别以奶牛、羊特异性引物对这些样品提取的 DNA 进行扩增. 结果(如图 7、表 2 所示)显示,标注为纯羊乳的样品(5、6、9)检测出牛乳成分,显示了在羊乳中掺入不同程度的牛乳成分;而样品 13(标识有生羊乳、牛乳清粉)仅检测出牛乳成分,与标识的主成分不符. 同时利用实时荧光 LAMP 及琼脂糖凝胶电泳进行对比验证,其结果与可视化 LAMP 结果一致,证明了该可视化 LAMP 方法可在实际检测中进行应用,且检测结果可靠.

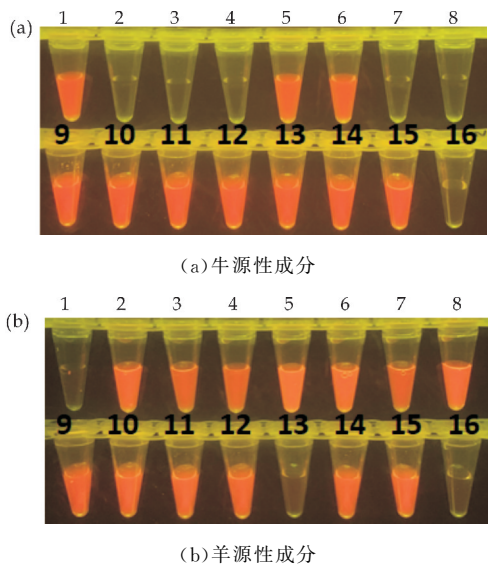


图 7 市售羊乳制品中牛、羊源性成分检测结果 (1: 牛源性成分阳性对照;2:羊源性成分阳性对照;3~15 为不同品牌的市售样品;16:空白对照)

表 2 市售羊乳制品中牛、羊源性成分检测结果

样品类型	样品 序号	标识主成分	检测结果		判定结果
			牛	羊	
纯牛乳	1	牛乳	+	—	牛源性成分 阳性对照
纯羊乳	2	羊乳	—	+	羊源性成分 阳性对照
液态羊乳	3	生羊乳	—	+	相符
	4	纯羊奶	—	+	相符
羊奶片	5	100%纯羊奶	+	+	不符
	6	生羊乳	+	+	不符
全脂羊奶粉	7	优质纯羊奶粉	—	+	相符
	8	生羊乳	—	+	相符
	9	生羊乳	+	+	不符
脱脂羊奶粉	10	羊奶粉、脱脂乳粉	+	+	相符
	11	生羊乳、脱盐乳清粉	+	+	相符
配方羊奶粉	12	生羊乳、脱脂乳粉	+	+	相符
	13	生羊乳、乳清粉	+	—	不符
	14	生羊乳、脱盐乳清粉	+	+	相符
	15	生羊乳、脱盐乳清粉	+	+	相符

注:“+”代表检测出该目标 DNA;“—”代表未检测出目标 DNA.

3 结论

根据线粒体保守序列选取牛、羊特异性引物,将金属钌配合物[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺的核酸分子“光开关”特性与 LAMP 扩增反应相结合,建立了快速鉴别羊乳及其制品掺假牛乳的可视化 LAMP 检测方法.

结果表明,[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺染料可用于 LAMP 扩增反应的荧光目视检测,并且其具有的大 Stoke's 位移使得 LAMP 扩增 DNA 呈现红色荧光发射,与激发的蓝光对比明显,目视比色更容易区分.该方法具有良好的特异性和灵敏性,在混合样品中可检测羊乳中掺假 0.1%牛乳,完全满足实际市场掺入量 5%的检测需要^[14],并成功应用于

市售样品的掺假检测.

相对于现有的基于其他荧光染料的可视化 LAMP 技术^[15-17],其节约了检测成本,操作简便,检测时限短,结果准确,而且克服了其他染料荧光目视比色时颜色对比不明显,以至可能无法区分其所对应的物种的缺点,更适用于大批量样品的快速掺假鉴别,可以作为乳品市场监督和检验鉴定的可行性方法.

参考文献

[1] Claeys W L, Verraes C, Cardoen S, et al. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits[J]. Food Control, 2014, 42: 188-201.

[2] Liao J, Yang L, Sheppard A M, et al. Comparison of DNA quality in raw and reconstituted milk during sterilization [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101: 1-7.

[3] Angel D L F M, Juárez, Manuela. Authenticity assessment of dairy products[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2005, 45(7-8): 563-585.

[4] NY/T 3050-2016. 羊奶真实性鉴定技术规程[S].

[5] 廖 晶. DNA 在牛奶加工贮藏过程中变化规律研究及其在掺假鉴别中的应用[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018.

[6] Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12): E63.

[7] Zhang X, Lowe S B, Gooding J J. Brief review of monitoring methods for loop-mediated isothermal amplification (LAMP)[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2014, 61: 491-499.

[8] 付振芳, 汪小福, 徐俊峰, 等. 环介导等温扩增终端产物检测及结果判断的研究进展[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(5): 725-729.

[9] Friedman A E, Chambron J C, Sauvage J P, et al. A molecular light switch for DNA: Ru(bpy)₂(dppz)²⁺[J]. Journal of the American Chemical Society, 1990, 112(12): 4 960-4 962.

[10] Li G, Sun L, Ji L, et al. Ruthenium(II) complexes with dppz: From molecular photoswitch to biological applications[J]. Dalton Trans, 2016, 45(34): 13 261-13 276.

[11] Li B, Zhou X, Liu H, et al. Simultaneous detection of antibiotic resistance genes on paper-based chip using Ru(phen)(2)dppz(2+) turn-on fluorescence probe[J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(5): 4 494-4 501.

[12] 宋宏新, 刘建兰, 徐秦峰. 羊乳及其制品中掺入牛乳成分的双重 PCR 检测[J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(1): 34-38, 44.

(下转第 80 页)

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0076-05

十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的安全性初探

李晓霞, 王志萍*, 蒋雅娴, 苏佳昇, 施显怡

(广西中医药大学 广西高校中药制剂共性技术研发重点实验室, 广西南宁 530001)

摘要:旨在初步评价十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的用药安全性. 试验中以 SD 大鼠为研究对象, 评价十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的急性毒性; 以豚鼠为研究对象, 对十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的皮肤刺激性和过敏性进行考察. 结果显示十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴作用于大鼠后无明显异常情况, 其体重均稳定增长, 且与空白组比较均无明显差异($P>0.05$); 豚鼠完整皮肤未出现红斑、水肿症状, 个别破损皮肤出现红斑症状, 其刺激反应平均分均低于 0.49; 与阳性组豚鼠相比给药组未出现红斑、水肿及其它过敏反应症状, 其过敏发生率为 0%. 因此十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴是一个无毒、无刺激, 无致敏的外用制剂, 经皮肤给药安全.

关键词:十一方巴布剂; 石墨烯热敷贴; 急性毒性; 皮肤刺激性; 皮肤过敏性

中图分类号:R285 **文献标志码:**A

Study on safety evaluation of shiyifang cataplasm and the combination of shiyifang cataplasm and graphene fomentation

LI Xiao-xia, WANG Zhi-ping*, JIANG Ya-xian, SU Jia-sheng, SHI Xian-yi

(Guangxi University Key Laboratory of Common Technology Development of Chinese Medicine Preparations, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

Abstract: The paper aims to preliminarily evaluate the safety of eleven-party cataplasm and combined graphene thermal application. In the experiment, SD rats were used as the research object to evaluate the acute toxicity of eleven square cataplasm and combined graphene heat application. The guinea pig was used as the research object, and the skin of the eleven square cataplasm and the graphene heat application was applied. Irritating and allergenic. The results showed that there was no obvious abnormality after the application of eleven-square cataplasm and graphene heat-applied to rats, and the body weight increased steadily, and there was no significant difference compared with the blank group ($P>0.05$); the intact skin of guinea pigs was not symptoms of erythema and edema occurred, and erythema symptoms

* 收稿日期:2019-09-12
基金项目: 广西高校科技创新能力提升工程专项项目(70-ZJGX2016001); 广西壮族自治区硕士研究生科研创新项目(YCSW2017170); 广西中医药大学校级石墨烯医药类委托专项项目(P2016001)
作者简介: 李晓霞(1995—), 女, 广西贵港人, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药民族药新制剂、新剂型
通讯作者: 王志萍(1965—), 女, 广西南宁人, 教授, 硕士, 研究方向: 中药民族药新制剂、新剂型, 318007460@qq.com

were found in some damaged skin. The average score of the stimulating reaction was less than 0.49. Compared with the positive group, no erythema, edema and other allergic reactions were observed in the drug-administered group. The allergic reaction rate was 0%. Therefore, the eleven-party cataplasm and the combined graphene heat application is a non-toxic, non-irritating, non-sensitizing external preparation, which is safe for administration through the skin.

Key words: shiyifang cataplasm; graphene fomentation; acute toxicity; skin irritation; skin hypersensitivity

0 引言

十一方药酒是广西中医药大学第一附属医院

的院内制剂,由三七、续断、红花、自然铜(煅)、马钱子等中药组成,其跌打止痛、消肿散瘀的效果显著,但药酒容易污染衣物^[1,2],为了克服这一缺点,研制其成为十一方巴布剂。

十一方巴布剂系用十一方药酒与适宜的亲水性基质混匀后,涂布在背衬材料上制成的贴膏剂。本课题组在前期的研究中确定了十一方巴布剂的基质处方和制备工艺,主要以羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、聚维酮 K30(PVP-K30)、高岭土、甘油作为基质,再加入十一方药酒进行制备。

此外考虑到石墨烯具有优异的导热和导电性能^[3-6],而十一方巴布剂作为外用剂型应用,热敷后可充分发挥十一方巴布剂的药效,并且提高患者的顺应性,故本课题组拟将十一方巴布剂与石墨烯热敷贴联用。但联用前后的安全性如何呢?为了探讨该问题,本课题组开展十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴的安全性评价的实验研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SD 大鼠,SPF 级,50 只,雌雄各半,体重 180~220 g(广西医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SYXK 桂 2014-0002);豚鼠(纯白),80 只,雌雄各半,体重 350~400 g(由长沙市天勤生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)20140010)。

1.1.2 实验药物与试剂

十一方巴布剂(自制,批号:20170701);空白巴布剂(自制,批号:20170701);石墨烯热敷贴(烯旺新材料科技有限公司提供);2,4-二硝基氯苯(上海化学试剂厂分装厂,批号:120807);乙醇消毒液(广西北仑河医科工业集团有限公司,批号:20170101);水合氯醛(成都市科隆化学品有限公司,批号:2017030302);硫化钠(成都市科龙化工试剂厂,批号:2016081601)等。

1.2 实验方法

1.2.1 急性毒性试验

(1)给药剂量

空白组给予 140 cm²·kg⁻¹的空白基质;巴布剂组给予 140 cm²·kg⁻¹的十一方巴布剂(相当于十一方药酒 8.4 mL·kg⁻¹);联用组给予 140 cm²·kg⁻¹的十一方巴布剂并联用石墨烯热敷贴,热敷时间为 2 h。

(2)试验方法^[7-11]

分别采用完整皮肤与破损皮肤 2 种方法进行试验,每种方法均取大鼠 18 只,雌雄各半,随机分为 3 组,即空白组、巴布剂组、联用组,每组 6 只。于给药前 24 h,采用完整皮肤进行试验的各组大鼠背部用剃毛器剃短,再外涂 8%的硫化钠保持 1 min 左右,然后用温水洗净,吹风机吹干,脱毛面积约为 4 cm×7 cm。脱毛后饲养 24 h,检查脱毛区皮肤是否有损伤,若大鼠皮肤有损伤则剔除。

采用破损皮肤进行试验的各组大鼠背部采用相同方式进行脱毛,脱毛面积约为 4 cm×7 cm,再用 75%的乙醇消毒,用注射器针头在皮肤上划出“#”划痕,以渗血为度,每只大鼠皮肤破损程度应基本一致。给药前各组大鼠均以 10%的水合氯醛,0.3 mL/100 g 进行麻醉,再用温水洗净脱毛区皮肤,然后按给药剂量在大鼠脱毛区皮肤给药,并使药物与皮肤良好接触,用医用胶带固定。给药 24 h 后,除去药物,用温水洗净给药区残留的药物。给药后,正常饲养 14 天,分别记录给药前(D0),给药后第 7 天(D7),给药后第 14 天(D14)大鼠的体重,并观察大鼠外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、饮食、排泄物等及其他中毒表现。大鼠若有死亡,立即进行解剖学检查,观察脏器病变情况,当脏器有肉眼可见病变时,进行病理组织学检查。

1.2.2 皮肤刺激性试验

(1)给药剂量

巴布剂组给予 $70\text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 的十一方巴布剂 (相当于十一方药酒 $4.2\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$);联用组给予 $70\text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 的十一方巴布剂并联用石墨烯热敷贴,热敷时间为 2 h.

(2)试验方法^[7-11]

分别采用完整皮肤与破损皮肤 2 种方法进行试验,以同体背部左右两侧进行自身对比,背部右侧脱毛区作为给药区,按剂量进行给药;左侧作为对照区,给予相同面积的空白基质.每种方法均取豚鼠 12 只,雌雄各半,随机分为 2 组,即巴布剂组、联用组,每组 6 只.给药前,采用完整皮肤进行试验的各组豚鼠背脊左右两侧用剃毛器将毛剃短,再外用 8% 的硫化钠 1 min 左右,然后用温水洗净,吹风机吹干,脱毛面积约为 $7\text{ cm} \times 8\text{ cm}$.脱毛后饲养 24 h,检查脱毛区皮肤是否有损伤,若豚鼠皮肤损伤则剔除.

采用破损皮肤进行试验的各组豚鼠背脊左右两侧也进行脱毛,脱毛面积约为 $7\text{ cm} \times 8\text{ cm}$,再用 75% 的乙醇消毒,用注射器针头在皮肤上划出“#”划痕,以渗血为度,每只大鼠皮肤破损程度应基本一致.给药前各组豚鼠均以温水洗净脱毛区皮肤,然后在豚鼠背部右侧脱毛区按剂量给药,在背部左侧脱毛区给予相同面积的空白基质,并使之与皮肤良好接触,用医用胶带固定,每天给药 1 次,每次 6 h,连续给药 7 d,每次给药结束后去除药物,再以温水洗净给药区残留的药物.于第 1 天(D1)给药结束后 1 h 和 24 h 观察给药部位有无红斑和水肿等症状,再于第 7 天(D7)末次给药结束后 1 h、24 h、48 h、72 h 观察给药部位有无红斑和水肿等症状,以及上述症状的消退情况和时间.所出现的症状根据表 1 的评分标准进行评分,并按公式

(1)计算刺激反应平均分值得.

刺激反应平均分值得=

$$\frac{\text{红斑形成总分} + \text{水肿形成总分}}{\text{合计动物总数}} \quad (1)$$

平均分值得 0~0.49 为无刺激性;0.5~2.99 为轻度刺激性;3.0~5.99 为中度刺激性;6.0~8.0 为高度刺激性.

1.2.3 皮肤过敏性试验

(1) 给药剂量

空白组给予 $70\text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 的空白基质;阳性药组涂敷 1% 的 2,4-二硝基氯苯(DNCB)0.5 mL/只;巴布剂组给予 $70\text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 的十一方巴布剂 (相当于十一方药酒 $4.2\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$);联用组给予

$70\text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ 的十一方巴布剂并联用石墨烯热敷贴,热敷时间为 2 h.

表 1 皮肤刺激、过敏反应评分标准

皮肤刺激 反应症状	程度	分值
红斑	无红斑	0
	轻度红斑,勉强可见	1
	中度红斑,明显可见	2
	重度红斑	3
	紫红色红斑,并有焦痂形成	4
水肿	无水肿	0
	轻度水肿,勉强可见	1
	中度水肿,明显可见(边缘高出周围皮肤)	2
	重度水肿,皮肤隆起 1 mm,轮廓清晰	3
	严重水肿,皮肤隆起 1 mm 以上,或有水泡或破溃	4

(2)试验方法^[7-11]

取 24 只豚鼠,雌雄各半,随机分为巴布剂组、联用组、空白组、阳性药组,每组 6 只,雌雄各半.于试验前 24 h,各组豚鼠背部脊柱两侧进行脱毛,左侧用于致敏接触,右侧用于激发接触,脱毛面积约 $7\text{ cm} \times 8\text{ cm}$.脱毛后饲养 24 h,检查脱毛区皮肤是否有损伤,若豚鼠皮肤损伤则剔除.给药前各组豚鼠均以温水洗净脱毛区皮肤.

致敏接触:各组豚鼠按剂量在左侧脱毛区进行致敏接触,空白组贴敷空白基质;阳性药组涂敷 1% 的 2,4-二硝基氯苯(DNCB),并用一层油纸和二层医用纱布覆盖;巴布剂组给予十一方巴布剂;联用组给予与巴布剂组相同剂量的十一方巴布剂并联用石墨烯热敷贴,热敷时间为 2 h.各组豚鼠给药后均用医用胶带将药物固定,然后将所有豚鼠分笼饲养,维持 6 h,并于第 7 d 和第 14 d,以同样的方法重复给药一次.

激发接触:各组豚鼠于致敏接触阶段末次给药后第 14 d,按剂量在右侧脱毛区进行激发接触,空白组贴敷空白基质;阳性药组涂敷 1% 的 2,4-二硝基氯苯(DNCB)0.5 mL/只,并用一层油纸和二层医用纱布覆盖;巴布剂组给予十一方巴布剂;联用组给予与巴布剂组相同剂量的十一方巴布剂并联用石墨烯热敷贴,热敷时间为 2 h.各组豚鼠给药后均用医用胶带将药物固定,然后将所有豚鼠分笼饲养,激发 6 h 后,除去药物,用温水洗净给药部位皮肤,即刻观察皮肤反应情况,并于 24 h、48 h、72 h 再次观察皮肤过敏反应情况.同时注意观察实验动物是否有哮喘、站立不稳或休克等严重的全身性过敏反应,并根据表 1 的评分标准进行评分,再按公式(2)和公式(3)计算过敏反应平均分值得和致敏发生率.

过敏反应平均分值得

$$\frac{\text{红斑形成总分} + \text{水肿形成总分}}{\text{合计动物总数}} \quad (2)$$

过敏反应发生率=

$$\frac{\text{出现过敏反应的动物数}}{\text{合计动物总数}} \times 100\% \quad (3)$$

过敏发生率 0%~10% 为无致敏性; 11%~30% 为轻度致敏性; 31%~60% 为中度致敏性; 61%~80% 为高度致敏性; 81%~100% 为极度致敏性。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性试验结果

试验期间各组大鼠均未出现死亡, 眼、鼻等未发现有异常分泌物, 亦未发现大鼠的活动、饮食及其粪便等有明显异常情况。完整皮肤的给药组与空白组比较, 在给药 24 h 后去除药物立即观察, 以及给药后第 7 天和第 14 天观察, 给药部位皮肤均未见红斑、水肿、出血点等情况。破损皮肤的给药组与空白组比较, 给药 24 h 后去除药物立即观察, 除划伤处皮损开始结痂外, 其余皮肤均未见任何红斑、水肿、出血点等情况; 给药后第 7 天和第 14 天观察, 结痂开始脱落, 其余皮肤均未见任何红斑、水肿、出血点等情况。试验期间各组的大鼠体重均稳定增长, 且与空白组比较均无明显差异 ($P > 0.05$)。结果如表 2 所示。

表 2 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	D_0/g	D_7/g	D_{14}/g
完整皮肤	空白组	188.79±3.69	209.27±6.49
	联用组	189.41±5.73	211.28±5.59
	巴布剂组	187.98±3.37	206.89±11.84
破损皮肤	空白组	189.69±6.11	208.43±12.78
	联用组	190.09±7.94	213.22±12.58
	巴布剂组	189.70±7.19	211.19±16.39

注: 各给药组大鼠体质量与空白组比较均无明显差异 ($P > 0.05$)。

十一方巴布剂是由十一方药酒改制而成, 其处方中含有有毒成份马钱子。马钱子所含的主要成分马钱子碱和土的宁既是有效成分又是有毒成分, 而且治疗剂量与中毒剂量非常接近^[12], 其临床应用的毒副反应报道也较多。由试验可知, 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴对完整皮肤和破损皮肤大鼠均无急性毒性, 可说明马钱子的用量在其治疗剂量内。

2.2 皮肤刺激性试验结果

试验期间各组豚鼠均未出现死亡。完整皮肤联

用组和巴布剂组无论是单次给药还是连续给药 7 天, 在各个观察时间点均未见给药部位皮肤出现红斑、水肿、出血点等情况。破损皮肤联用组和巴布剂组单次给药和连续给药 7 天, 都仅在给药结束后 1 h 内, 个别豚鼠给药部位出现勉强可见的红斑, 而且在 24 h 内消退, 其余豚鼠在各个观察时间点均未见给药部位皮肤出现红斑、水肿、出血点等情况。评分结果如表 3 所示。

结果表明, 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴单次用药和连续用药均对豚鼠破损皮肤无刺激性, 但是破损皮肤用药初期会有轻微、短暂的刺激性。其原因为十一方巴布剂是应用十一方药酒制成, 含有易刺激破损皮肤的成分——酒精, 并且其含量较少, 故只产生短暂的刺激性。

表 3 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴对豚鼠的皮肤刺激性试验结果

组别	过敏反应平均分值得				过敏发生率	评价结果
	即刻	24 h	48 h	72 h		
空白组	0	0	0	0	0	无致敏性
阳性药组	6	6	4	2	100%	极度致敏
联用组	0	0	0	0	0	无致敏性
巴布剂组	0	0	0	0	0	无致敏性

2.3 皮肤过敏性试验结果

试验期间各组豚鼠均未出现休克和死亡。各组豚鼠在激发接触 6 h 后的 0 h、24 h、48 h、72 h 观察皮肤过敏反应情况, 结果发现空白组、联用组和巴布剂组在 72 h 内均未出现红斑、水肿及其它过敏反应症状。阳性药组在激发接触 6 h 后立即观察, 所有豚鼠均出现过敏反应症状 (过敏发生率 100%), 且出现站立不稳症状, 给药部位皮肤出现重度红斑和重度水肿, 水肿皮肤隆起 1 mm 左右, 轮廓清晰; 24 h 后给药部位皮肤红斑并未减轻, 水肿依然明显可见; 48 h 后给药部位皮肤的过敏反应症状有所减轻, 表现为中度红斑和中度水肿, 明显可见; 72 h 后给药部位皮肤的过敏反应症状消退明显, 表现为轻度红斑和轻度水肿, 勉强可见。评分结果如表 4 所示。

表 4 十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴对豚鼠的皮肤过敏性试验结果

组别	刺激反应平均分值得						
	D_1		D_7				
	1 h	24 h	1 h	24 h	48 h	72 h	
完整皮肤	联用组	0	0	0	0	0	0
	巴布剂组	0	0	0	0	0	0
破损皮肤	联用组	0.33	0	0.17	0	0	0
	巴布剂组	0.33	0	0.17	0	0	0

十一方药酒中含有的三七口服时有相关致敏性的报道, 但外用致敏报道较少。其另一成分续断

有因其个体的特异性产生过敏的研究,为了确保制剂的安全性,课题组进行了皮肤过敏性试验.结果显示受试豚鼠均未出现红斑、水肿及其它过敏反应症状,提示十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴对豚鼠皮肤无致敏性.

3 结论

本实验验证了十一方巴布剂及联用石墨烯热敷贴是一种无毒、无刺激、无致敏,安全性较好的外用制剂,为其开发成外用制剂打下了良好基础.

参考文献

[1] 姚 譲,沈 侃,刘 然,等. 关节止痛膏橡胶膏与热熔压敏胶剂型的体外透皮特性、药效以及皮肤刺激性比较[J]. 中草药,2013,44(4):443-448.

[2] Wang Chengxiao, Ma Jianfang, Liu Ran, et al. A thermoplastic elastomer patch matrix for traditional Chinese medicine: Design and evaluation[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2014, 40(2): 211-221.

[3] 施显怡,黎 芳,王志萍,等. 中药复方透皮贴剂基质研究

进展[J]. 大众科技,2017,19(6):78-81.

[4] 徐圣博,杜有财,聂红梅,等. 热熔压敏胶型消炎镇痛膏制备工艺研究[J]. 中医学报,2016,31(4):574-577.

[5] 余振银,李蓓蕾,袁煜艳. 用于中成药膏药载体的 SIS 热熔压敏胶配方研究[J]. 粘接,2016,37(10):49-52.

[6] 袁煜艳. SIS 技术参数对其热熔压敏胶性能的影响[J]. 粘接,2012,33(1):61-64.

[7] 苏姗姗. 复方消银膏对银屑病动物模型疗效及安全性研究[D]. 吉林:吉林大学,2016.

[8] 国家食品药品监督管理局. 药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CI1616/101018.html>, 2014-05-13.

[9] 张冬梅,刘延珍,曲保恩. 新药安全性评价指导原则中有关毒理学问题的实践与思考[J]. 食品与药品,2013,15(4):260-262.

[10] 张 焜,顾 铭,叶小舟,等. 生肌玉红胶原皮肤毒性与刺激性实验研究[J]. 中成药,2016,38(11):2 480-2 483.

[11] 周燕萍,肖 柳,杨全伟,等. 癌痛贴巴布剂的皮肤刺激性及毒性实验研究[J]. 中国医院药学杂志,2016,36(4):273-276.

[12] 张文平,朱培芳,马雅鸽,等. 马钱子的毒理学及安全性研究进展[J]. 中国民族民间医药,2012,21(8):53-54.

【责任编辑:陈 佳】

(上接第 75 页)

[13] 徐淑菲,孔繁德,苗 丽,等. 羊源性成分 LAMP 检测方法的建立[J]. 经济动物学报,2016,20(4):200-206.

[14] Rosita Russo, Camilla Rega, Angela Chambery. Rapid detection of water buffalo ricotta adulteration or contamination by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2016, 30(4): 497-503.

[15] 贾晓曼,翟 浩,张 勇,等. LAMP 技术的染料、辅助剂

的研究进展[J]. 江西农业学报,2018,30(12):60-65.

[16] 钟 响,刘 鹏,高娟娟,等. 环介导恒温扩增法快速检测寨卡病毒[J]. 中国国境卫生检疫杂志,2018,41(5):309-313.

[17] 龚 杰,冉梦龙,吴伟伟,等. 基于颜色判定的环介导等温扩增检测人型支原体的研究[J]. 中国病原生物学杂志,2018,13(6):584-587,591.

【责任编辑:陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0081-07

基于 β -环糊精改性的水溶性萘酰亚胺的合成及其 pH 响应性研究

杨 靖, 白 阳*, 安 娜, 刘彩萍, 陈香李, 步怀天

(陕西科技大学 化学与化工学院 陕西省轻化工助剂重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:以 β -环糊精(β -CD)和 3,4,9,10-萘四甲酸二酐(PTCDA)为原料,制备出了拥有 pH 响应荧光性能的水溶性萘酰亚胺衍生物荧光探针. 首先,依次通过 β -CD 与甲基-4-苯磺酸(TsCl)的磺酰化反应和与乙二胺(EDA)的胺化反应制备 6 位单取代胺化环糊精(β -CD-EDA);其次,利用 β -CD-EDA 与 PTCDA 在碱性溶剂中的酰胺化反应制备水溶性萘酰亚胺衍生物(CD-PDI-CD). 本文采用 FI-IR 和 $^1\text{H-NMR}$ 对化合物结构进行表征,通过 Fluorescence 和 UV-vis 分别对中性和酸性条件下 CD-PDI-CD 水溶液的光学性能进行表征,使用参比法计算出了绝对荧光量子产率,再利用 TEM 和 AFM 对其溶液中的分子聚集行为进行表征. 结果表明,目标产物 CD-PDI-CD 在中性和酸性水溶液中,由于氨基的去质子化和质子化作用表现出了不同的荧光行为.

关键词: β -环糊精; 水溶性萘酰亚胺衍生物; pH 响应性; 荧光性能

中图分类号:O648. 12 **文献标志码:**A

Study on synthesis of β -cyclodextrin based water-soluble perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic acid bisimides derivatives and its pH responsive property

YANG Jing, BAI Yang*, AN Na, LIU Cai-ping, CHEN Xiang-li, BU Huai-tian

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi Key Laboratory of Chemical Additives for Industry, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In this paper, β -cyclodextrin (β -CD) and 3,4,9,10-tetracarboxylic acid dianhydride (PTCDA) were used as raw materials to prepare fluorescent water-soluble phthalimide derivatives probes with pH-responsive fluorescence properties. Firstly,through the sulfonylation of β -CD with methyl-4-benzenesulfonic acid and sequently amination with ethylenediamine,the 6-position monosubstituted sulfonated cyclodextrin (β -CD-EDA) was obtained. Secondly, β -CD-EDA and PTCDA are reacted in an alkaline solvent to form a water-soluble phthalimide derivative (CD-PDI-CD). The structure of the compound was characterized by

* 收稿日期:2019-08-14
基金项目:国家自然科学基金项目(21801162); 陕西科技大学青年拔尖人才科研启动基金项目(2016QNBj-10)
作者简介:杨 靖(1996—),女,陕西西安人,在读硕士研究生,研究方向:大分子自组装体的构筑与性能
通讯作者:白 阳(1988—),男,内蒙古包头人,副教授,博士,研究方向:超分子聚合物的构筑与大分子自组装, baiyang@sust. edu. cn

FT-IR and $^1\text{H-NMR}$. The optical properties of CD-PDI-CD aqueous solution under neutral and acidic conditions were characterized by Fluorescence and UV-vis spectra respectively. The absolute fluorescence quantum yield was calculated. The self-assembly aggregation behavior of target product in the neutral and acid solution was characterized by TEM and AFM.

Key words: β -cyclodextrin; water-soluble phthalimide derivative; pH responsive; fluorescent property

0 引言

3,4,9,10-萘四甲酸二酐(PTCDA)是由两个萘环以 sp^2 杂化构成的具有良好平面性的稠环芳烃,其在结构上拥有大的共轭 π 体系,也是一类具有强荧光的缺电子分子^[1]. 分子结构中的共轭稠环结构使其具有良好的稳定性,因此 PTCDA 相较于有相同性质的有机分子而言,光、热、化学稳定性更加突出^[2]. PTCDA 的荧光量子产率几乎接近 100%,且荧光寿命较长^[3,4],研究表明,PTCDA 的吸收波长在接近可见到红外光(400 nm-600 nm)区域.但是 PTCDA 分子结构中的羰基的吸电子作用使整个分子处于缺电子状态,导致 PTCDA 易还原难被氧化.同时由于共轭稠环结构刚性大,导致萘核在常见溶剂和水中极易发生 π - π 堆积^[5,6],从而导致 PTCDA 的溶解性和荧光量子产率大幅度下降,限制了其应用,因此有关其水溶性衍生物的研究是提高其利用度的热点问题.

萘酰亚胺常见的修饰位点有两个,Langhals^[7]首先提出“燕尾式”取代方法,即以亚胺位置作为取代位点.Seybold 等^[8]首次提出可对其湾位进行改性.“燕尾式”取代方法是通过增溶基团之间静电排斥作用、氢键作用以及空间位阻效应等防止分子之间的聚集.湾位的改性会破坏分子的平面结构,扭曲的空间结构减少了分子间的聚集,从而起到增溶作用,但是也会对分子的光学性能产生影响.目前常用的改性方法都建立在对这两个位点的修饰.

本文以 PTCDA 为原料,采用“燕尾服”式^[7,9]取代方法将 β -环糊精(β -CD)与 PTCDA 亚氨基进行共价连接,在改善其水溶性的同时不改变小分子本身的光物理和电化学性能^[10]. β -CD 除了本身良好的水溶性及生物相容性,本身对环境几乎没有污染,并且具有廉价易得的优势.环糊精增溶的原理是通过大环分子之间静电排斥、氢键以及空间位阻效应减弱萘核之间的 π - π 堆积效应,从而增加溶解性^[11].除此之外,环糊精本身与二茂铁,金刚烷等具有良好的包合性能^[12].

基于 β -CD 改性的 CD-PDI-CD 荧光探针具有良好的水溶性,且亚氨基是一个质子的有效键合位点,对 pH 有一定的敏感性^[13],因此目标产物可在不同浓度和 pH 条件下调节萘核的聚集程度,从而进一步实现在浓度和酸度变化条件下荧光的变化.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

(1)主要试剂: β -环糊精(β -CD)、甲苯-4-磺酰氯(TsCl)、乙腈、氢氧化钠、丙酮、乙二胺(EDA)、N,N'-二甲基甲酰胺(DMF)、无水乙醇、3,4,9,10-萘四甲酸二酐(PTCDA)、醋酸锌 $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ 、吡啶、三氟乙酸、冰醋酸,均为分析纯;磷酸盐缓冲液(PBS, $\text{pH}=4.0, 0.05\text{ M}$; $\text{pH}=5.0, 0.05\text{ M}$),去离子水.

(2)主要仪器:旋转蒸发器、烘箱、400 MHz 核磁共振波谱仪,德国 Bruker 公司;VECTOR-22 型红外光谱仪,德国 Bruker 公司;UV-2650 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;F-7000FL 型荧光光谱仪,日本 Hitachi 公司;XE7 型原子力显微镜,韩国 Park 公司;透射电子显微镜,美国 FEI 公司.

1.2 探针的合成

荧光探针分子的合成路线和质子化如图 1 所示.其荧光探针分子具体制备方法如下所述.

1.2.1 磺化环糊精(β -CD-OTs)的制备

参考白阳^[14]报道的合成方法合成 6 位单取代环糊精.在冰水浴下,于 1 000 mL 三口烧瓶中依次加入 NaOH (6 570 mg, 164.0 mmol), β -CD (60 000 mg, 52.9 mmol), 500 mL 去离子水.将 TsCl(10 080 mg, 52.9 mmol)溶于 30 mL 乙腈中后缓慢滴加到 NaOH 溶液中,之后在室温下反应 2 h.反应结束后抽滤,收集滤液,将滤液置于冰箱中过夜;抽滤后收集滤饼,并分别用稀盐酸、去离子水、丙酮洗涤得粗产物.将粗产物进行重结晶,真空干燥得产物为白色固体 7 040 mg,产率 12.0%.

1.2.2 胺化环糊精(β -CD-EDA)的制备

于 50 mL 烧瓶中加入 30 mL EDA,在搅拌的条件下加入 β -CD-OTs(5 000 mg,387.9 mmol),密封后将烧瓶放置在 75 °C 油浴中反应 4.5 h.反应结束后待冷却到室温,将反应混合液用冰丙酮沉淀,待丙酮的温度达到室温后抽滤,收集滤饼,真空干燥 12 h 后得白色粘状物质为粗产物;将粗产物丙酮进行两次沉淀,抽滤,真空干燥,溶剂均为 20 mL DMF,最终得产物为白色固体 1 250 mg,产率 25.0%.

1.2.3 水溶性花酰亚胺衍生物(CD-PDI-CD)的制备

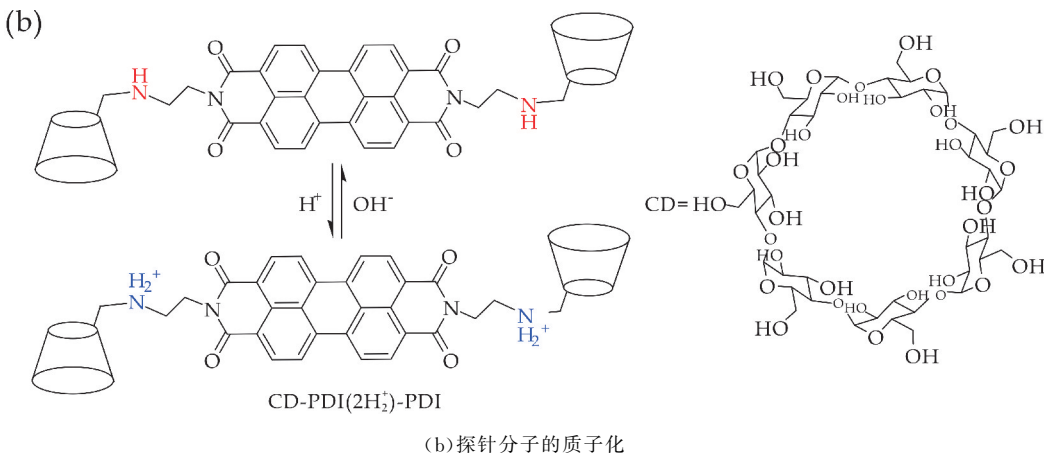
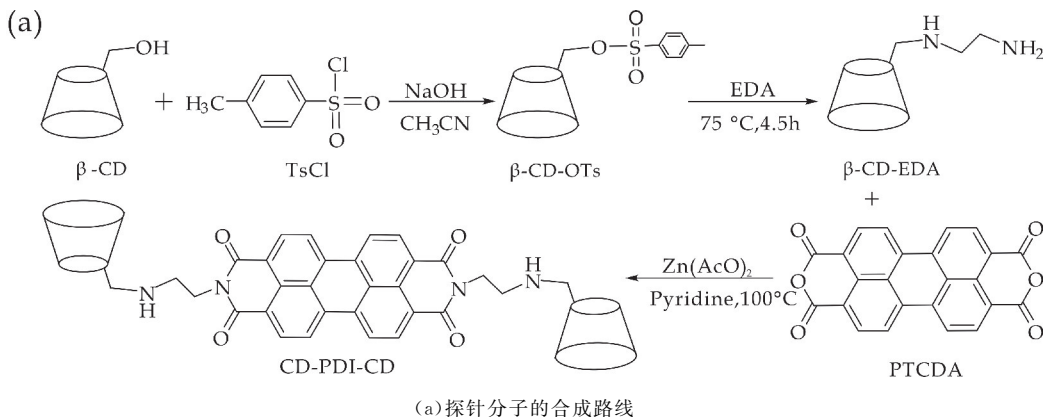


图 1 探针的合成路线和质子化

2 结果与讨论

2.1 化合物的表征

2.1.1 β -CD-OTs 的表征

(1)红外谱图:如图 2 中 a 曲线所示,在 1 600 cm^{-1} 和 1 496 cm^{-1} 出现的两个较弱峰为苯环骨架(C=C)的特征吸收峰,1 364 cm^{-1} 和 1 176 cm^{-1} 处为磺基的对称伸缩振动特征吸收峰,816 cm^{-1} 和 668 cm^{-1} 处为苯环上的 H(Ar-H)的面外变形振动吸收峰,这些特征峰的出现可以证明对甲苯磺酰基已经连接到了 β -CD 分子上.

(2)核磁氢谱:如图 3(a)所示,¹H-NMR(DM-

参考 Wang 等^[15]报道的方法,在 N₂ 保护下,于 250 mL 烧瓶中依次加入 β -CD-EDA(490 mg,0.335 mmol),PTCDA(130 mg,0.165 mmol),Zn(AcO)₂(36.5 mg,0.165 mmol)和 100 mL 吡啶,将烧瓶放置在 100 °C 油浴中反应 48 h.反应结束后,除去溶剂得到红色固体为粗产物,将粗产物用去离子水洗涤,收集滤液,除去滤液中大部分水后用甲醇沉淀、抽滤、真空干燥后得产物为紫红色固体粉末 162 mg,产率 28.7%.

SO-d6,TMS),其中 $\delta=2.5$ 为 DMSO 溶剂峰, $\delta=7.75$ 、7.43、2.43 分别对应图中 a、b、c 处的峰值.a、b 对应对甲苯磺酰基苯环上的两组质子,c 对应对甲苯磺酰基中甲基上的 H,根据苯环上的氢与环糊精 2,3 位羟基氢的比例可以证明单取代的 β -CD-OTs 已成功合成.

2.1.2 β -CD-EDA 的表征

(1)红外光谱:将图 2 中 a、b 曲线进行比较,可以看出两条曲线的相似度很高,这种情况的出现是因为特征峰的重叠,并且理论上的出峰位置也是相似的,所以想要证明 β -CD-EDA 分子的合成情况,需进一步使用¹H-NMR 对化合物的分子结构进行

表征。

(2)核磁氢谱:如图 3(b)所示, $^1\text{H-NMR}$ (DM-SO-d_6 ,TMS),其中 $\delta=2.5$ 为 DMSO 溶剂峰, $\delta=3.1\sim 5.9$ 的特征峰与 $\beta\text{-CD-OTs}$ 的特征峰完全相同,但是在 $\delta=7.0\sim 8.0$ 没有出现特征峰,即对甲苯磺酰基特征峰均已消失,因此 $\beta\text{-CD-OTs}$ 上的对甲苯磺酰基被氨基成功取代;并且在 $\delta=2.7\sim 2.9$ 处出现乙基的特征吸收峰,证明乙二胺已经连接到 $\beta\text{-CD-OTs}$ 分子上形成 $\beta\text{-CD-EDA}$ 。

2.1.3 CD-PDI-CD 的表征

(1)红外谱图:如图 2 中 c 曲线所示,在 $3\,300\text{ cm}^{-1}$ 处出现的峰为环糊精中 $-\text{OH}$ 的特征峰, $1\,600\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,496\text{ cm}^{-1}$ 处出现的两个较弱峰为苯环骨架($\text{C}=\text{C}$)的特征吸收峰,在 $1\,659\text{ cm}^{-1}$ 处的峰为酰胺键的特征吸收峰,这些特征峰的出现证明 $\beta\text{-CD}$ 成功连接到了酞酰亚胺上。

(2)核磁氢谱:如图 3(c)所示, $^1\text{H-NMR}$ (DM-SO-d_6 ,TMS),其中 $\delta=2.5$ 为 DMSO 溶剂峰,在 $\delta=7.0\sim 8.0$ 出现苯环氢的特征吸收峰, $\delta=5.5\sim 6.0$ 为环糊精 2,3 位 $-\text{OH}$ 的氢的吸收峰,环糊精分子上羟基的氢与酞核上苯环氢的比例为 $1:3.7$,接近理论比例 $1:3.5$,即证明水溶性酞酰亚胺衍生物 CD-PDI-CD 已成功合成。

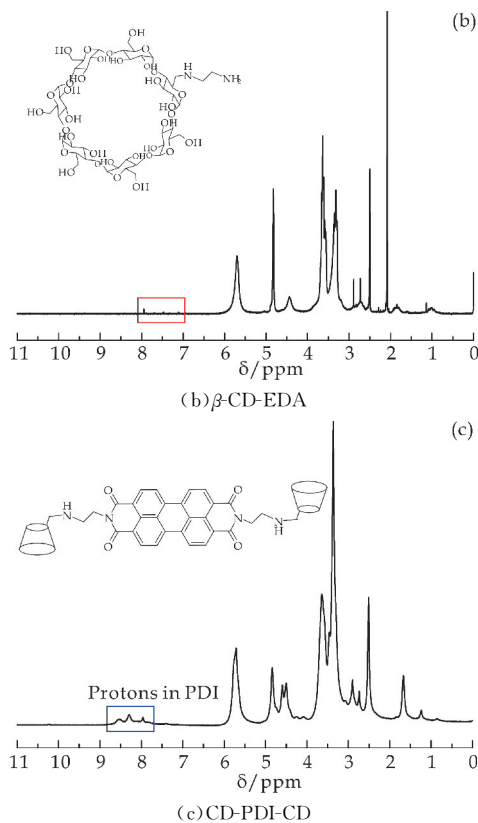
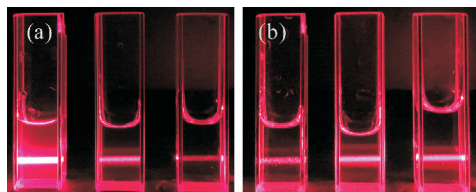


图 3 化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 图

2.2 探针的光谱性质和 pH 响应

探针分子 CD-PDI-CD 在水溶液中溶解性良好,但是由于酞核的刚性结构,在溶剂中分子不是独立存在的,而是更倾向于分子之间相互聚集这种更为稳定的方式存在^[16]。如图 4 所示,(a)和(b)分别为中性和酸性条件下浓度为 $1\times 10^{-4}\text{ M}$, $1\times 10^{-5}\text{ M}$, $1\times 10^{-6}\text{ M}$ 的溶液,在近红外激光的照射下,溶液均显示出丁达尔效应,这一现象可证明溶液中有微小的粒子,即初步证明在溶液中分子之间以相互聚集的形式存在。



(a)中性 (b)酸性

图 4 丁达尔效应图

丁达尔效应强度随着浓度的变化而发生变化,因此可以推测出在溶剂中酞核的 $\pi-\pi$ 堆积是与浓度相关的^[17,18],并且酞核之间的聚集程度对整个水溶液体系的荧光性能具有一定影响。图 5 中溶液的浓度从左至右依次减小,在加入微量三氟乙酸后,自然光照条件下溶液的颜色没有发生任何变化,而在用 345 nm 的紫外光照射后显示出强烈的荧光,且荧光强度随浓度的增加而变强。但是中性下的溶液在自然光照和 345 nm 的紫外光照射后

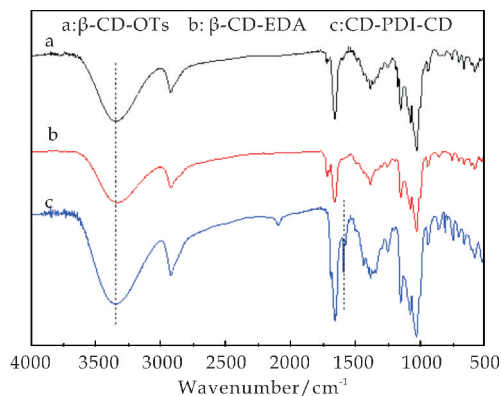
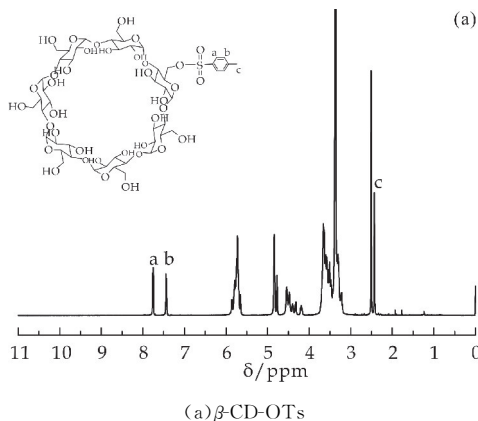


图 2 化合物的 FT-IR 图



(a) $\beta\text{-CD-OTs}$

均无任何变化,由此可以说明合成的分子具有一定的荧光性能,并且有一定的 pH 响应性.

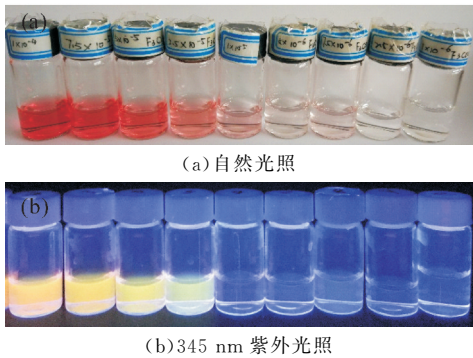


图 5 不同光照下的显色图

通过 UV-vis 研究了 CD-PDI-CD 溶液浓度为 $1.0\times10^{-4}\sim1.0\times10^{-6}$ M 范围内的吸光度变化,如图 6 所示.图 6(a)为中性条件下的 UV-vis 图,图 6(b)为酸性条件下的 UV-vis 图.在中性条件下,随着浓度的增加 500 nm 处的峰逐渐增强,且伴随着浓度的增加在 545 nm 处出现明显的肩峰,肩峰的出现说明在溶液中存在着聚集行为^[19,20].酸性条件下,由于探针分子被质子化,500 nm 处的峰和 545 nm 处的肩峰的强度随着浓度的增加而逐渐的上升,这与中性条件下峰值的变化趋势相同.但是质子化前后的峰值对比发现,质子化后 500 nm 和 545 nm 处的峰值均大于未质子化的峰值,且 500 nm 处峰的增幅远远大于 545 nm 处的峰的增幅.

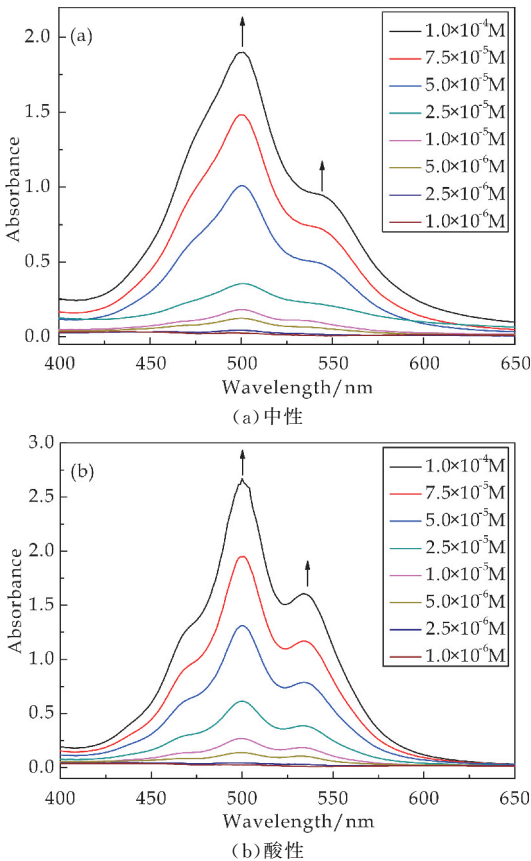


图 6 不同条件下 CD-PDI-CD 溶液的 UV-vis

出现这种现象的原因是: β -CD 与 PTCDA 进行桥连, β -CD 作为取代基提供水溶性的同时,亚氨基作为良好的电子供体的同时也是一个有效的质子键合位点,亚氨基与质子的结合使苝核之间具有一定的排斥性,所以可以通过 pH 来调节 CD-PDI-CD 溶液在水溶液中的聚集行为和荧光性能.氨基上的孤对电子向激发态的荧光基团发生电子转移导致荧光基团发生荧光猝灭.与未质子化的相比,质子化后的最高峰的峰值大于未质子化的峰值,说明质子化可以减少苝核之间的聚集,从而荧光性能也有所提高.

图 7 为 CD-PDI-CD 溶液浓度为 $1.0\times10^{-4}\sim1.0\times10^{-6}$ M 范围内的荧光光谱曲线.其中,图 7(a)、(c)为中性条件下浓度为 $1.0\times10^{-6}\sim1.0\times10^{-5}$ M 范围内的荧光光谱曲线,图 7(a)、(c)中均显示出随浓度的增加,荧光强度逐渐增强,发射峰发生小幅度的红移^[15];图 7(b)、(d)为酸性条件下浓度 $5.0\times10^{-5}\sim2.5\times10^{-4}$ M 之间的荧光光谱曲线.由图 7(b)、(d)可知,当浓度大于 1.0×10^{-5} M 时,随着浓度的增加荧光强度都出现下降的趋势,这是由于分子之间自发的 π - π 堆积作用后分子之间的聚集程度增加,所以产生荧光自猝灭现象.

图 7(a)和(c)之间形成鲜明对比,质子化后溶液的荧光光谱最大强度约是未质子化的 4 倍,质子化后荧光增强的原因有两个:一是由于质子化后分子上的亚氨基不再是电子供体,分子内的光诱导电子转移被阻断,所以相对于同浓度的溶液出现荧光增强.二是质子化后分子之间逐渐解聚,分子之间大范围的聚集体由于静电效应而趋向于形成更小的聚集集体^[13].

CD-PDI-CD 溶液的荧光光谱图说明合成的探针分子是有荧光的,并且分子之间存在自猝灭效应,而荧光强弱的直接表现是绝对量子产率的大小,因此对溶液的绝对量子产率采用参比法进行计算,如表 1 所示.

图 7 显示溶液的浓度在 1.0×10^{-5} M 时,中性(未质子化)和酸性(质子化)条件下荧光强度都是最强的,表 1 可以证实浓度为 1.0×10^{-5} M 下绝对量子产率在同一条件下都是最高的.如表 1 所示,随着浓度的增加,中性条件下和酸性条件下的绝对量子产率都呈现出下降趋势,但是当浓度为 2.5×10^{-4} M 时,中性溶液的绝对量子产率变为 0,证明此时溶液中分子之间存在很大程度的聚集.质子化后的绝对量子产率都远远大于未质子化的绝对量子产率,并且在浓度为 1.0×10^{-5} M 时质子化后的绝对量子产率是未质子化的 30 倍,因此 pH 的变化对溶液的绝对量子产率有着很大的影响,即 pH 对荧光强度有影响,并且在酸性条件下荧光强度更强.

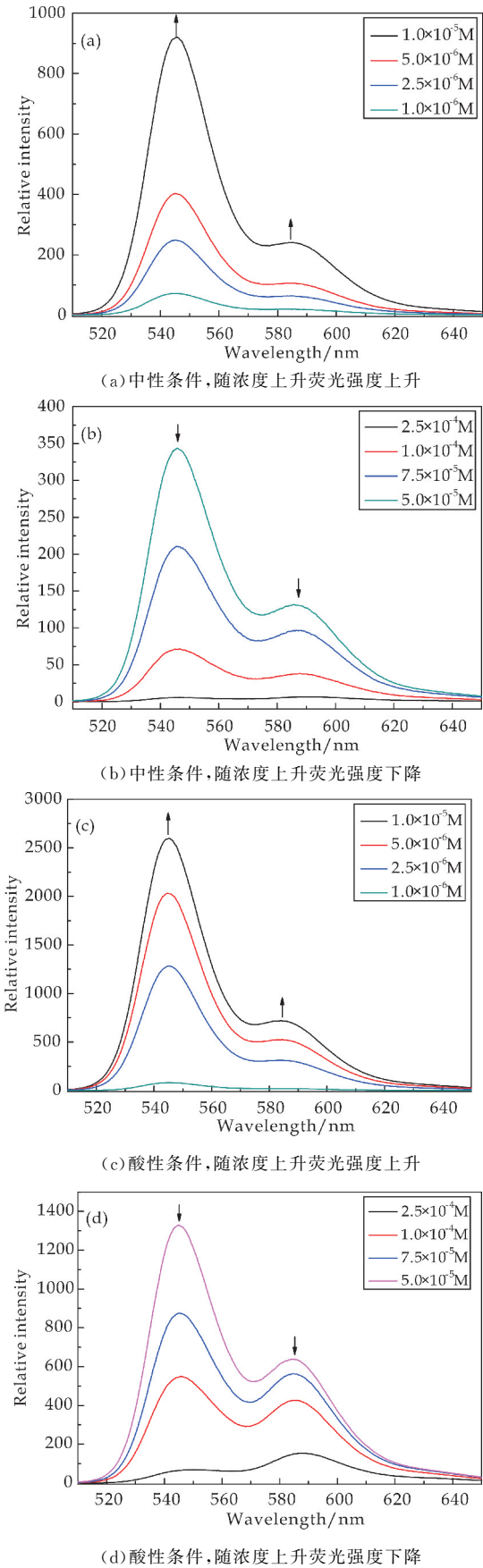


图 7 不同条件下 CD-PDI-CD 溶液的 Fluorescence ($\lambda_{ex}=500\text{ nm}$, 狭缝宽度=2.5 nm)

表 1 不同 pH 条件下的荧光量子产率 (%)

浓度/M	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-4}	2.5×10^{-4}
pH=7	1.76	0.994	0
pH<7	48.1	21.1	9.47

2.3 CD-PDI-CD 水溶液中的聚集行为

通过 TEM 对 CD-PDI-CD 水溶液中的聚集行为进行表征,其表征结果如图 8 所示. 图 8(a)和 (b)为 pH 等于 7,浓度分别为 $1.0\times10^{-4}\text{ M}$ 和 $1.0\times10^{-5}\text{ M}$ 的 TEM 图;图 8(c)和(d)为 pH 小于 7,浓度分别为 $1.0\times10^{-4}\text{ M}$ 和 $1.0\times10^{-5}\text{ M}$ 的 TEM 图. 从图 8 可以看出,在任何条件下,溶液中的分子都是以聚集的形式存在的. 然而由于酸性条件下分子发生质子化,聚集体的分散度更高,即证明酸性条件对分子的聚集程度有一定影响.

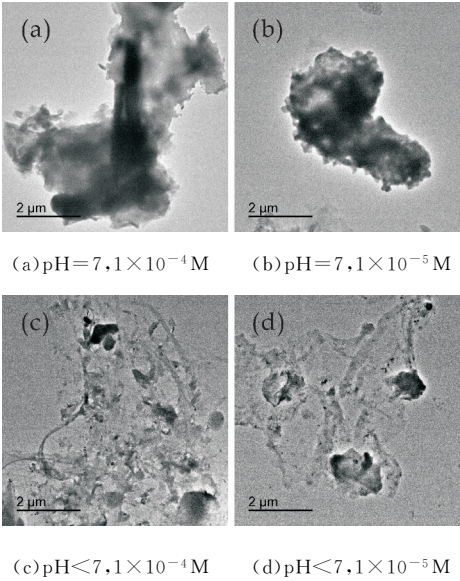


图 8 CD-PDI-CD 溶液聚集程度的 TEM 图

使用 AFM 对 CD-PDI-CD 水溶液中的聚集行为进行表征,其表征结果如图 9 所示. 图 9(a)和 (b)所用溶液的 pH 等于 7,(c)和(d)所用溶液的 pH 小于 7. 通过图 9(a)、(b)与(c)、(d)对比可知, pH 小于 7 的溶液中分子的聚集程度更小. 浓度为 $1\times10^{-4}\text{ M}$ 与浓度为 $1\times10^{-5}\text{ M}$ 的 AFM 图相比,无论是在中性条件还是酸性条件,浓度为 $1\times10^{-4}\text{ M}$ 溶液中分子的聚集程度比浓度为 $1\times10^{-5}\text{ M}$ 溶液中分子的聚集程度更大. 即可证明浓度的变化对分子的聚集程度有一定影响,但 pH 的变化对分子的聚集情况起着决定性作用. 由此可以说明无论在何种条件下分子均以聚集态的形式存在,而酸性条件下分子聚集程度更小,从而在紫外光的照射下可以产生荧光,因此可以通过调节溶液的 pH 来调节溶液的荧光性能.

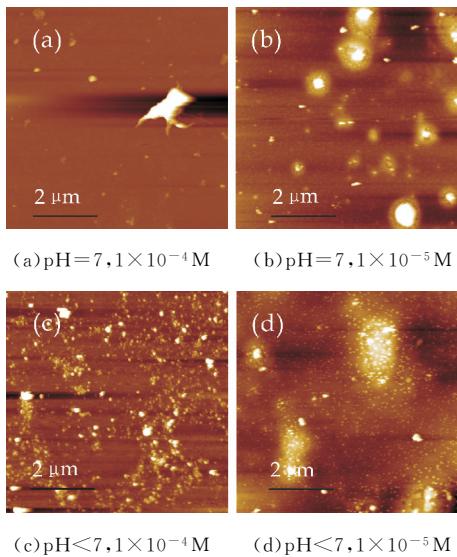


图 9 CD-PDI-CD 溶液聚集程度的 AFM 图

通过以上的表征方式,可以确定浓度及 pH 对探针分子在水溶液中的聚集程度都有一定影响,而 pH 的影响十分显著. 因此,如图 10 所示,推测出 CD-PDI-CD 在水溶液中的聚集程度因浓度和 pH 改变而发生变化的分子聚集模式图.

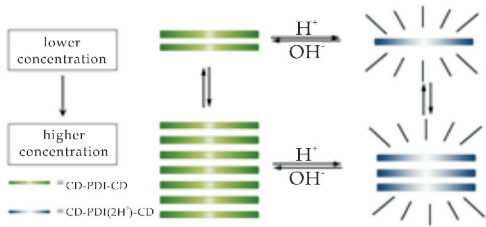


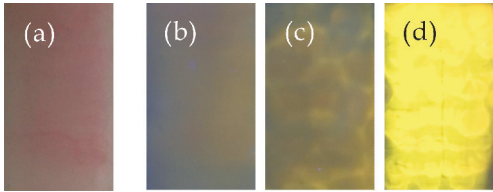
图 10 溶液中浓度和 pH 依赖的聚集模式图^[15]

2.4 CD-PDI-CD 探针分子的应用

基于以上的表征,因此选取浓度为 1×10^{-4} M 的溶液制作 CD-PDI-CD 中性荧光板. 首先将溶液均匀涂于无荧光的硅胶板上,在 60 °C 的烘箱内放置 5 h,制作的荧光板如图 11(a)所示,经测试在自然光照和 345 nm 紫外光照射下均无荧光.

图 11(b)、(c)、(d)所对应的分别为 pH=5. 0, 0. 05 M 的 PBS 溶液、pH=4. 0, 0. 05 M 的 PBS 溶液和冰醋酸分别涂抹于 3 块 CD-PDI-CD 中性荧光板上,在 345 nm 的紫外光照射下的显色图. 其中, (b)荧光板因为涂抹溶液的酸性最弱,所以显示出最弱的黄色荧光;而冰醋酸(d)因为酸性最强而显示出最强的黄色荧光;(c)荧光板涂抹溶液的酸性介于中间,所以显示出的荧光也处于中等水平,由此可证明随着酸性的增强,荧光逐渐增强. 并且在测试过程中,30 min 内荧光稳定. 因此合成的荧光探针分子有望用于快速检测酸性溶液,并且可根据荧光的强弱判断酸性的强弱,荧光越强则酸性越

强,此方法具有操作简单,易于辨别等特点.



(a)中性荧光板 (b)PBS, pH=5. 0, 0. 05 M (c)PBS, pH=4. 0, 0. 05 M (d)冰醋酸

图 11 345 nm 紫外光照下,CD-PDI-CD 荧光板涂抹不同酸性溶液的荧光显色图

3 结论

本文以 β -环糊精为增溶取代基,3,4,9,10-苝四甲酸二酐为骨架,合成了一种基于的水溶性良好的具有 pH 响应性的荧光探针. β -环糊精水溶性良好的取代基同时给整个分子骨架提供了大的空间位阻,使苝酰亚胺衍生物中苝核的 π - π 堆积减弱,从而达到合成拥有良好水溶性和 pH 响应的荧光性能探针分子. 亚氨基作为电子供体对调节苝酰亚胺衍生物的光学性质起到关键作用,质子化之前亚氨基上的孤对电子有效的淬灭激发态苝酰亚胺的荧光,质子化后亚氨基带上正电荷,起到静电斥力的作用使得聚集体的堆积作用减弱,苝核之间的 π - π 堆积减弱,因此可以通过调节 pH 控制分子的聚集和调节荧光性能,并且对于不同酸性的在 345 nm 紫外光照射下可发出不同程度的荧光有望应用于对不同酸性溶液的快速检测.

参考文献

[1] Wuerthner F, Saha Möeller C R, Fimmel B, et al. Perylene bisimide dye assemblies as archetype functional supramolecular materials[J]. Chemical Reviews, 2015, 116(3): 962-1 052.

[2] Nagao Y. Synthesis and properties of perylene pigments [J]. Progress in Organic Coatings, 1997, 31(1-2): 43-49.

[3] Würthner F. Perylene bisimide dyes as versatile building blocks for functional supramolecular architectures [J]. Chemical Communications, 2004(14): 1 564-1 579.

[4] Ahrens M J, Fuller M J, Wasielewski M R. Cyanated perylene-3, 4-dicarboximides and perylene-3, 4, 9, 10-bis (dicarboximide): Facile chromophoric oxidants for organic photonics and electronics [J]. Chemistry of Materials, 2003, 15(14): 2 684-2 686.

[5] Langhals H, Jona W, Einsiedl F, et al. Self-dispersion spontaneous formation of colloidal dyes in water[J]. Advanced Materials, 1998, 10(13): 1 022-1 024.



* 文章编号:2096-398X(2020)01-0088-05

基于 3-羟基黄酮的 pH 荧光探针合成及 线粒体靶向荧光成像

王 超, 杨方舟, 吉鹏博, 王婷婷, 马养民

(陕西科技大学 化学与化工学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:线粒体是真核细胞能量代谢的重要场所,对于细胞生理功能具有重要意义.将荧光分子定位于线粒体可以实现可视化的荧光成像,为线粒体形态及功能研究提供了有力工具.设计以 3-羟基黄酮为荧光母核,以三苯基膦为靶向基团,合成一例用于活细胞线粒体特异性成像的荧光探针 **HF-Mito**. 3-羟基黄酮部分的激发态分子内质子转移(ESIPT)机理赋予了它优异的荧光性能,同时由于质子性溶剂对其 ESIPT 过程和荧光性能的影响,该探针可以用于 pH 的检测.而三苯基膦部分具有亲脂性且带正电荷,可以特异性的嵌入线粒体内膜并与膜电位差形成的负电荷稳定结合.荧光光谱测试与细胞荧光成像实验均表明该探针适用于细胞内线粒体的靶向标记与荧光成像.

关键词:线粒体; 荧光探针; 三苯基膦; 3-羟基黄酮; ESIPT 效应

中图分类号:O657.3

文献标志码:A

Synthesis and application of a 3-hydroxyflavone fluorescent pH probe for intracellular mitochondria targeted imaging

WANG Chao, YANG Fang-zhou, JI Peng-bo, WANG Ting-ting, MA Yang-min

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Mitochondria are the primary sites for energy metabolism in eukaryotic cells. They are of great significance in cell physiology. Visual imaging of mitochondria based on the targeted fluorescent molecules is a powerful tool for the researches on mitochondrial morphology and functions. In this paper, a novel fluorescent probe **HF-Mito** for intracellular mitochondria targeted imaging was synthesized with the 3-hydroxyflavone fluorophore and a mitochondria-targeting group triphenylphosphine. The excited-state intramolecular proton transfer (ESIPT) effect of the 3-hydroxyflavone moiety endowed it with excellent spectral properties. At the same time, the probe can be used to detect pH due to the influence of proton solvent on its ESIPT process and fluorescence performance. The triphenylphosphine moiety is lipophilic and positively charged, which can specifically bind to the mitochondrial inner mem-

* 收稿日期:2019-08-20

基金项目:国家自然科学基金项目(21708023); 陕西省科技厅自然科学基础研究计划项目(2019JQ-061); 中国博士后科学基金面上项目(2019M653851XB); 陕西科技大学博士科研启动基金项目(2017GBJ-04)

作者简介:王 超(1986—),男,山东临沂人,副教授,博士,研究方向:荧光标记与检测

brane with the negative charge established by the mitochondrial membrane potential. The fluorescent spectra and the fluorescent imaging experiments indicate that the probe is suitable for targeted labeling and fluorescent imaging of intracellular mitochondria.

Key words: mitochondria; fluorescent probe; triphenylphosphine; 3-hydroxyflavone; ESIPT effect

0 引言

线粒体是真核生物细胞中一种至关重要的细胞器,它在细胞能量代谢过程中起着关键性作用,是 ATP 产生的场所,在此过程中线粒体负责的是最终氧化的共同途径,三羧酸循环与氧化磷酸化.线粒体还参与细胞分化、信息传递和凋亡等过程,并参与调控细胞周期.线粒体功能异常与肿瘤、神经退行性疾病、糖尿病、衰老等众多疾病过程密切相关,因此细胞内线粒体相关功能的研究具有重要意义^[1].

荧光探针作为一种新型的可视化的研究工具,具有灵敏度高和非生物破坏性等优点,已被广泛应用于细胞内各种细胞器、生物大分子和离子的标记、检测与成像^[2-4].利用荧光探针在活细胞内实时、原位追踪线粒体的形态、分布及其变化为线粒体相关功能研究提供了手段,是当前国内外关于细胞内靶向荧光检测的热门领域^[4-8].目前文献报道针对线粒体荧光成像的小分子荧光探针设计,主要是基于线粒体内膜膜电位差形成的基质内碱性,亲脂性的阳离子荧光染料可以特异性的嵌入线粒体内膜并与基质中的负电荷稳定结合,实现对线粒体特异性标记成像的目的^[7-11].

综上,本论文设计以邻羟基苯乙酮和对位取代苯甲醛为原料,经 Claisene-Schmidt 缩合反应和 Algar-Flynn-Oyamada 氧化反应得到 3-羟基黄酮母核,再以 3-羟基黄酮为基本骨架,引入三苯基磷靶向基团合成目标探针分子 **HF-Mito**.亲脂性的季磷盐阳离子可实现对细胞内线粒体的靶向标记;3-羟基黄酮因其分子中羟基与羰基邻近,能形成分子内氢键,易发生激发态分子内质子转移(Excited State Intramolecular Proton Transfer, ESIPT)过程,赋予了它优异的荧光性能^[12].并且这一过程易受到质子性溶剂的影响,该探针也可以对线粒体 pH 进行测定.通过光谱分析与细胞荧光成像实验评价了该荧光探针用于细胞内线粒体特异性荧光成像的可行性.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 主要试剂

2-羟基苯乙酮、对羟基苯甲醛、1-溴-3-氯丙烷、三苯基磷、 KH_2PO_4 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、氯化钠、氯化钾、无水硫酸镁、石油醚、1,4-二氧六环、四氢呋喃、乙酸乙酯、二氯甲烷、乙腈、丙酮、乙醇、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、碳酸钾、氢氧化钠、碘化钠、过氧化氢、氘代氯仿,均为市售分析纯.DMEM 培养基(Gibco),胎牛血清(生工生物工程有限公司),青霉素-链霉素溶液(碧云天生物技术有限公司).

1.1.2 主要仪器

RE-52 系列旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);PHS-3E 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);紫外可见吸收光谱仪(哈希公司 DR5000);Lumina 荧光分光光度计(赛默飞世尔科技有限公司);ADVANCE III 400 MHz 核磁共振波谱仪(bruker 公司);二氧化碳细胞培养箱(ESCO);LSM800 激光共聚焦荧光显微镜(卡尔蔡司).

1.2 探针 **HF-Mito** 的合成

目标分子的合成主要路线如图 1 所示,总共有 3 步反应.

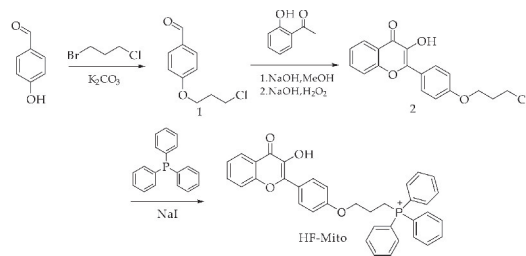


图 1 线粒体荧光探针 **HF-Mito** 的合成路线

1.2.1 化合物 1 的合成

称取 4-羟基苯甲醛(2.5 g, 20.3 mmol)和 1-溴-3-氯丙烷(4 mL, 41 mmol)加入 100 mL 圆底烧瓶中,用 30 mL 丙酮溶解,再加入无水碳酸钾(3.0 g)催化,氩气保护条件下,搅拌、回流反应 18 h.薄层色谱监测反应完全,停止反应.将反应溶液过滤,用二氯甲烷洗涤滤渣数次,合并有机相,旋蒸除去有机溶剂.对产物进行硅胶柱色谱分离(洗脱剂为

石油醚：乙酸乙酯=10：1),得到淡黄色油状液体 3.1 g,产率 78 %.

1.2.2 化合物 2 的合成

取化合物 1(0.39 g,2.0 mmol)和 2-羟基苯乙酮(0.3 g,2.2 mmol)加入 100 mL 茄形瓶中,然后加入氢氧化钠固体 0.2 g 催化,再加入 4 mL 无水甲醇,超声使其溶解.搅拌回流反应 8 h,然后恢复至室温继续搅拌反应过夜.向反应溶液中加入氢氧化钠溶液(0.5 mol/L,8 mL)和过氧化氢(30 %,2 mL),继续室温搅拌反应约 5 h.薄层色谱监测反应完成后,将反应溶液倒入 50 mL 冰水中,有黄色固体析出,过滤,用水洗涤固体数次后干燥.所得固体进行硅胶柱层析纯化(洗脱剂为二氯甲烷：甲醇=100：1),得黄色固体产物 303 mg,产率 50 %.产物结构经核磁共振氢谱表征.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.32~8.23 (m,3H), 7.72(ddd, J =8.6,7.0,1.7 Hz,1H), 7.61(d, J =8.5 Hz,1H), 7.44(ddd, J =8.0,7.1,1.0 Hz,1H), 7.29(s,1H), 7.12~7.05(m,2H), 4.24(t, J =5.8 Hz,2H), 3.81(t, J =6.3 Hz,2H), 2.32(p, J =6.0 Hz,2H).

1.2.3 探针 HF-Mito 的合成

称取化合物 2(20.4 mg,0.06 mmol)和三苯基膦(32.6 mg,0.12 mmol)于 100 mL 圆底烧瓶中,加入碘化钠(46 mg,0.3 mmol)催化,乙腈(6 mL)为溶剂溶解.氩气保护下,搅拌回流反应 2 h.监测反应完全后停止,旋蒸除去溶剂,得到的固体进行硅胶柱层析纯化(洗脱剂为二氯甲烷：甲醇=100：1).得到浅红色固体 30 mg,产率 91%.产物结构经核磁共振氢谱表征.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.24~8.14 (m,3H), 7.84(td, J =12.1,11.4,7.7 Hz,10H), 7.73(dd, J =7.6,3.3 Hz,6H), 7.58(d, J =8.5 Hz,1H), 7.40(t, J =7.5 Hz,1H), 7.02(d, J =8.8 Hz,3H), 4.45(t, J =5.7 Hz,2H), 4.06~3.90(m,2H), 2.25(dt, J =14.5,6.6 Hz,2H).

1.3 光谱测试

探针母液的配制:准确称量探针 HF-Mito,将其溶于 DMSO 中,配制成浓度为 10 mmol/L 的母液备用.工作液:取 2 mL 溶剂,将 2 μL 探针母液加入不同溶剂及不同 pH 水溶液中配成浓度为 10 μM 的溶液.将探针溶液进行吸收光谱与荧光光谱测试(激发波长为 360 nm,激发狭缝宽度为 10 nm,发射狭缝宽度为 5 nm).

1.4 细胞培养与荧光成像

MCF-7 细胞在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 浓度的培养箱(ESCO)中培养,使用含有 10% 胎牛血清(FBS)、青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 $\mu\text{g/mL}$)的 DMEM 培养基.用于荧光成像的细胞接种在玻璃底皿(ϕ =20 mm)中并培养 24 h,将探针 HF-Mito 加入细胞培养液(5 μM),对细胞染色 45 min.最后用 PBS 洗涤细胞三次,使用 $\times 63$ 物镜对细胞成像,激发波长为 405 nm,发射波长为 420~520 nm.

2 结果与讨论

2.1 探针 HF-Mito 的紫外-可见吸收和荧光光谱

探针 HF-Mito 的结构通过核磁共振氢谱表征,结果如图 2 所示.

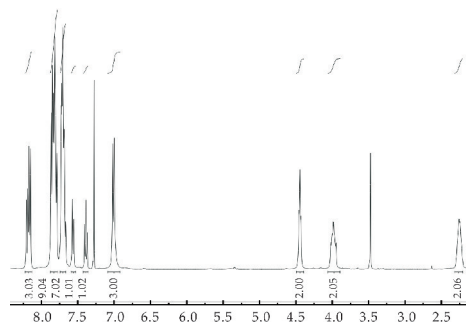


图 2 探针 HF-Mito 的核磁共振氢谱

以乙酸乙酯为溶剂对其光谱进行测定,如图 3 所示,探针 HF-Mito 的紫外-可见吸收光谱和荧光光谱,其最大吸收峰为 360 nm,最大发射峰为 550 nm.吸收峰和荧光发射峰的分度程度很大,斯托克斯位移达到 190 nm,激发波长与发射波长的干扰非常小,用于后续细胞成像实验具有背景干扰低的优点.

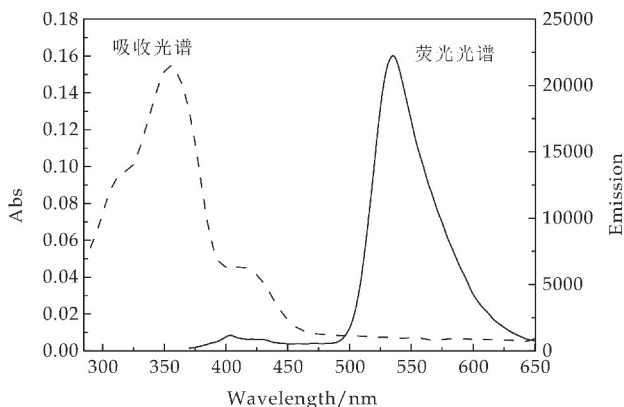
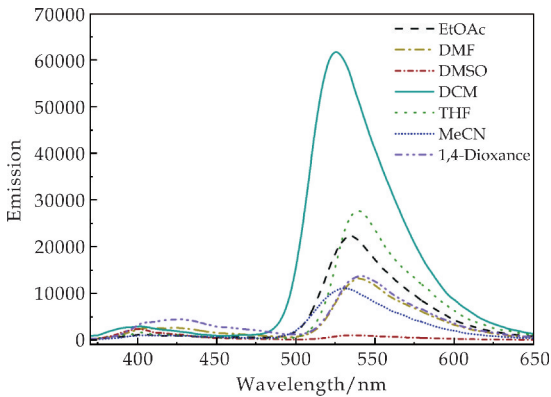


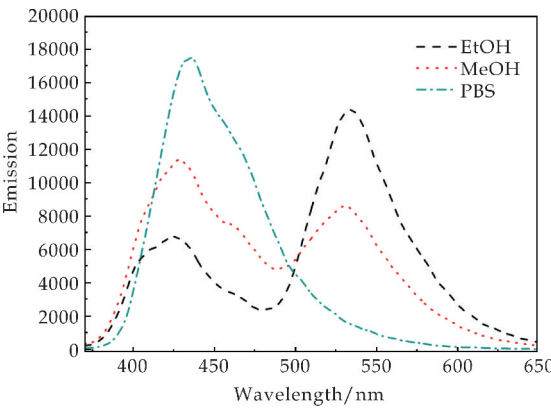
图 3 探针的紫外-可见吸收光谱和荧光光谱

2.2 探针 HF-Mito 在不同溶剂中的荧光光谱

实验进一步探究了不同溶剂对探针 HF-Mito 荧光性能的影响. 分别选用 1,4-二氧六环、乙酸乙酯、四氢呋喃、二氯甲烷、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、乙醇、甲醇、PBS 等作为溶剂进行探针的光谱测试,相应荧光光谱如图 4 所示.



(a) 探针 HF-Mito 在非质子性溶剂中的荧光光谱



(b) 探针 HF-Mito 在质子性溶剂中的荧光光谱

图 4 探针 HF-Mito 在不同溶剂中的荧光光谱

从图 4 可发现,探针 HF-Mito 在 360 nm 的波长激发下会产生两组荧光发射峰,峰位置分别在短波约 440 nm 处和长波约 540 nm 处. 如图 4(a) 所示,在二氯甲烷、四氢呋喃和乙酸乙酯等非质子性溶剂中 3-羟基黄酮母核中的羟基氢和相邻的羰基氧形成分子内氢键,使探针 HF-Mito 被激发后发生 ESIPT 效应,产生质子转移的互变异构体,其能量降低,从而发生光谱波长红移,因此在长波长 540 nm 处会有最大发射峰.

如图 4(b) 所示,在甲醇、乙醇和 PBS 等质子性溶剂中,由于溶剂的活泼氢能与探针羰基形成分子间的氢键,从而阻断了分子内形成氢键,也阻断了 ESIPT 效应,因此为正常激发态在短波长 440 nm 的发射峰^[13,14]. 这说明探针 HF-Mito 的光谱性质会因质子化溶剂的作用而发生变化,据此可以推

测,该探针在用于细胞成像时,在细胞质等水环境中会以短波长荧光为主,而探针插入线粒体内膜的疏水环境中,会以长波长荧光发射为主,因此荧光成像也具备了背景干扰低的优点.

2.3 探针 HF-Mito 在不同 pH 下的光谱

鉴于质子性溶剂环境对探针 HF-Mito 光谱性质的影响,进一步考虑溶液酸碱度对于探针 HF-Mito 的光谱性质有何影响,这对于评价其用于细胞内线粒体荧光成像的可行性是必要的. 分别配制了不同 pH 的 PBS 溶液,对探针进行了相应光谱测试.

不同 pH 下探针 HF-Mito 的紫外-可见吸收光谱如图 5 所示,探针在 350 nm 处的吸收峰强度会随着 pH 的增大而逐渐减弱,而 410 nm 处的吸收峰强度会随着 pH 的增大而逐渐增大. 这是因为在偏碱性的条件下,3-羟基黄酮的羟基氢很容易被脱去,从而形成阴离子,410 nm 处的吸收峰为探针 HF-Mito 脱去氢离子所形成阴离子化合物的吸收峰,因此随着碱性的增强,阴离子化合物逐渐增多,410 nm 处的吸收也在逐渐增强.

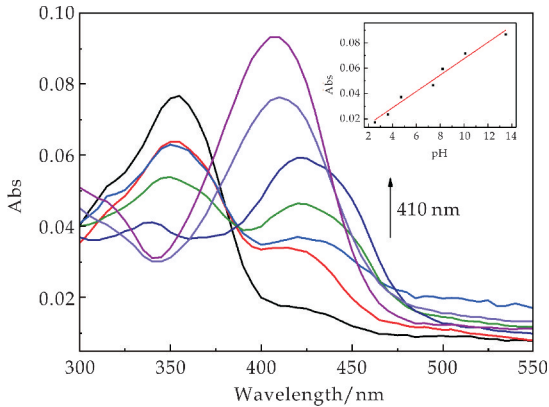


图 5 探针 HF-Mito 随 pH 变化的吸收光谱

不同 pH 下探针 HF-Mito 的荧光光谱如图 6 所示,探针的荧光强度随着 pH 的增加而减小. 在酸性条件下,由于溶液中的氢离子与羰基形成氢键,阻碍了 ESIPT 效应,从而在短波长 440 nm 处的荧光会随着酸性的增大而增强;而在碱性条件下,探针会脱去羟基上的氢形成阴离子化合物,既不会发生 ESIPT 效应也不会形成探针 HF-Mito 的激发态分子,因此 440 nm 处的荧光强度随着碱性增强逐渐减弱. 据文献报道线粒体基质内 pH 值约为 8,这一弱碱性环境可能对于探针 HF-Mito 的发光性能有一定影响,但由于探针可以插入线粒体内膜的疏水环境,可减小这一影响,能够满足线粒体

荧光成像的需求^[15].

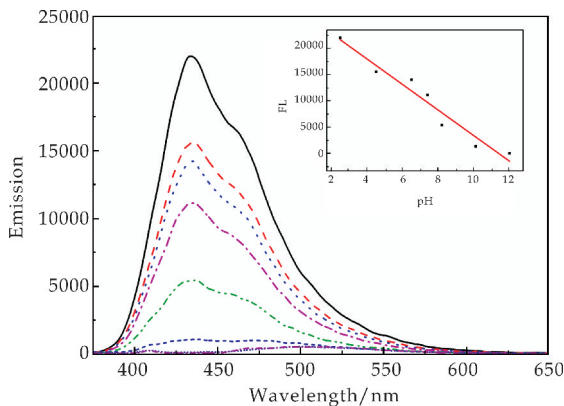


图 6 探针 HF-Mito 随 pH 变化的荧光光谱

2.4 细胞内线粒体荧光成像

为验证探针 HF-Mito 对细胞内线粒体的靶向标记与成像效果,将探针应用于细胞的激光共聚焦荧光成像实验,选用人乳腺癌细胞(MCF-7)为目标进行染色,探针 HF-Mito 以 $5\ \mu\text{M}$ 浓度对细胞染色 45 min. 如图 7 所示,在 405 nm 光激发下,细胞在蓝绿色通道($420\sim 520\ \text{nm}$)显现出强烈的荧光,清晰地显示出细胞核部分无荧光,在线粒体集中聚集的细胞质中,可以看到线状的荧光分布,其分布特征与相关文献所报道的线粒体荧光探针细胞成像呈现的融合线粒体形貌一致^[10,15]. 由此推断,荧光探针 HF-Mito 可以实现细胞内线粒体的特异性标记与荧光成像.

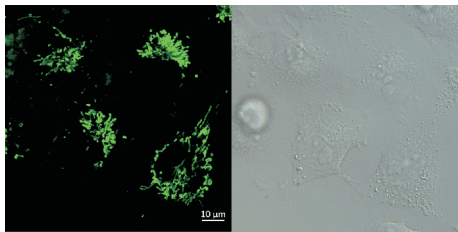


图 7 探针 HF-Mito 标记细胞内线粒体荧光成像

3 结论

本论文以 3-羟基黄酮为荧光母核,以三苯基膦为靶向基团合成了一例用于活细胞线粒体特异性成像的荧光探针 HF-Mito. 该探针的 ESIPT 效应使其在非质子性溶剂环境中表现出分子内质子转移的互变异构体长波长荧光,而在质子性溶剂环境中表现出正常激发态的短波长荧光,同时,ESIPT 效应赋予了探针较大的斯托克斯位移,这都使该探针应用于线粒体成像时具备了背景干扰低的优点. 荧光成像实验结果显示线粒体荧光染色清晰,表明探针 HF-Mito 对活细胞线粒体具有较好的标记特异性,并且可用于线粒体 pH 的测定,为线粒体形态及功能研究提供了一种性能优异的工具.

参考文献

- [1] Mishra P, Chan D C. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2014, 15(10): 634-646.
- [2] Liu H W, Chen L, Xu C, et al. Recent progresses in small-molecule enzymatic fluorescent probes for cancer imaging[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(18): 7140-7180.
- [3] Wu D, Sedgwick A C, Gunnlaugsson T, et al. Fluorescent chemosensors: the past, present and future[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(23): 7105-7123.
- [4] 黄振龙, 陈令成, 肖义. 可固定性荧光探针: 线粒体成像的可靠工具[J]. 应用化学, 2017, 34(12): 1370-1378.
- [5] 李杨洁, 吕子奇, 刘敏, 等. 线粒体荧光探针研究新进展[J]. 有机化学, 2016, 36(5): 962-975.
- [6] 肖海滨, 李平, 张雯, 等. 有机分子荧光探针成像检测线粒体内 ROS 的研究进展[J]. 中国科学: 化学, 2017, 47(8): 955-972.
- [7] Zhang J, Wang Q, Guo Z, et al. High-fidelity trapping of spatial-temporal mitochondria with rational design of aggregation induced emission probes[J]. Advanced Functional Materials, 2019, 29(16): 1808153.
- [8] Zhang T, Li Y, Zheng Z, et al. In situ monitoring apoptosis process by a self-reporting photosensitizer[J]. Journal of the American Chemical Society, 2019, 141(14): 5612-5616.
- [9] Hu Q, Gao M, Feng G, et al. Mitochondria-targeted cancer therapy using a light-up probe with aggregation-induced-emission characteristics[J]. Angewandte Chemie, 2014, 53(51): 14225-14229.
- [10] Zielonka J, Joseph J, Sikora A, et al. Mitochondria-targeted triphenylphosphonium-based compounds: Syntheses, mechanisms of action, and therapeutic and diagnostic applications[J]. Chemical Reviews, 2017, 117(15): 10043-10120.
- [11] Li J, Kwon N, Jeong Y, et al. Aggregation-induced fluorescence probe for monitoring membrane potential changes in mitochondria[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 10(15): 12150-12154.
- [12] Sedgwick A C, Wu L, Han H H, et al. Excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT) based fluorescence sensors and imaging agents[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(23): 8842-8880.
- [13] Klymchenko A S, Kenfack C, Duportail G, et al. Effects of polar protic solvents on dual emissions of 3-hydroxychromones[J]. Journal of Chemical Sciences, 2007, 119(2): 83-89.
- [14] Liu B, McDonald L, Liu Q, et al. A flavonoid-based light-up bioprobe with intramolecular charge transfer characteristics for wash-free fluorescence imaging in vivo[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 235: 309-315.
- [15] Liu B, Shah M, Zhang G, et al. Biocompatible flavone-based fluorogenic probes for quick wash-free mitochondrial imaging in living cells[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(23): 21638-21644.

【责任编辑: 陈佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0093-05

EPDM/NR 复合发泡材料的结构与性能研究

邵 亮, 许 冉, 王晨阳, 姬占有

(陕西科技大学 化学与化工学院 陕西省轻化工助剂重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:针对天然橡胶(NR)发泡材料撕裂性能较差的问题进行了研究,以天然橡胶和三元乙丙橡胶为基体,采用物理共混法制备了复合发泡材料,对制备工艺中三元乙丙橡胶的用量进行了探讨.使用扫描电镜对混炼胶进行了相容性分析;使用密度仪、邵氏硬度计、落球回弹测试仪、万能材料试验机对复合材料的物理和机械性能进行了分析.结果表明,NR 和 EPDM 未发生明显的相分离;当三元乙丙橡胶含量为 40 phr 时,材料的密度、硬度、回弹和撕裂强度达到 0.56 g/cm³、68 (Shore A)、58 % 和 6.91 N/mm,其中撕裂强度是纯天然橡胶发泡材料的 2.03 倍.

关键词:天然橡胶;三元乙丙橡胶;撕裂性能;收缩率

中图分类号:TQ332 **文献标志码:**A

Study on structures and properties of foamed EPDM/NR composites

SHAO Liang, XU Ran, WANG Chen-yang, JI Zhan-you

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi Key Laboratory of Chemical Additives for Industry, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In this paper, natural rubber and EPDM were used as matrix, and the physical blending method was used to prepare composite foamed materials. The compatibility of the compound was analyzed by SEM. The physical and mechanical properties of composite materials were analyzed by means of density tester, Shore hardness tester, falling ball rebound tester and universal material testing machine. The results showed that there was no significant phase separation between NR and EPDM. When the content of EPDM is 40 phr, the density, hardness, resilience and tear strength of the material reach 0.56 g/cm³, 68 (Shore A), 58% and 6.91 N/mm, among which the tear strength is 2.03 times that of pure natural rubber foam material.

Key words:nature rubber; ethylene-propylene-diene monomer; tear performance; shrinking percentage

* 收稿日期:2019-08-30

基金项目:陕西省教育厅服务地方科学研究计划项目(19JC003); 陕西省西安市未央区科技计划项目(201859)

作者简介:邵 亮(1983—),男,辽宁兴城人,副教授,博士,研究方向:高分子材料

0 引言

天然橡胶(NR)是一种非人工合成的天然高分子化合物,由天然橡胶树上采集的天然乳胶经化学混凝、干燥、电混凝等工艺而得到^[1,2].天然橡胶发泡材料在热声绝缘、包装材料、电磁屏蔽材料、结构件和医疗器械等方面有广泛的应用^[3,4].但在 NR 发泡后,由于基体中存在大量气体,在拉伸和撕裂过程中易引起应力集中,导致材料力学性能下降,这限制了 NR 发泡材料的应用.而多种橡胶共混是提高橡胶发泡材料力学性能的有效途径^[5,6].

肖建斌等^[7]将丁腈橡胶(NBR)和三元乙丙橡胶(EPDM)共混,研究了 NBR/EPDM 不同质量比以及不同助剂对其机械性能的影响,结果表明,不同助剂改善基体相容性后,基体质量比在 70/30 下,共混胶的撕裂强度达到 45.7 kN/m.张敬等^[8]研究了天然橡胶和乙烯醋酸乙烯酯(EVA)复合发泡材料的力学性能,结果表明在 EVA 添加量为 20 phr 时,发泡材料的热压缩永久变形值最优.侯汝红等^[9]公布了一种由丁苯橡胶、天然橡胶、顺丁橡胶和高苯乙烯树脂并用制备发泡材料,当丁苯橡胶、顺丁橡胶、天然橡胶和高苯乙烯树脂的量分别为 60 phr、15 phr、10 phr 和 15 phr 时复合发泡材料的密度为 0.2 g/cm³,撕裂强度仅为 0.88 N/m.

三元乙丙橡胶^[10-12](EPDM)是一种非极性的合成橡胶,分子主链为饱和的碳碳键,侧基中含有少量的双键,化学稳定性好.由于 NR 和 EPDM 主链和侧基元素都为 C 和 H,同为非极性橡胶,混炼胶相容性好,EPDM 和 NR 加工温度相近,采用两者进行共混制备复合材料工艺简单,并且,三元乙丙橡胶的撕裂性能强于天然橡胶,将 EPDM 作为第二组份与天然橡胶进行共混也有利于复合材料撕裂强度的增加^[13,14].

本文以 NR 和 EPDM 为基体,采用熔融共混法制备了不同质量比的 NR/EPDM 复合发泡材料,对 NR 和 EPDM 的相容性进行了分析,研究了 EPDM 用量对复合发泡材料泡孔形貌的影响,以及对复合发泡材料物理机械性能的影响.

1 实验部分

1.1 原料及仪器

1.1.1 主要原料

天然橡胶(NR 3L),工业级,上海东虎实业有限公司;三元乙丙橡胶(EPDM 3720P),工业级,美国陶氏化学公司;白炭黑(WCB),工业级,宜昌汇

富硅材料有限公司;固体石蜡 58 号(Sp),工业级,中国石油天然气大庆炼化分公司;氧化锌(ZnO),工业级,安丘市恒山锌业有限公司;工业级,景县隆源化工有限公司;硬脂酸(St),过氧化二异丙苯(DCP),硫磺(S),2-巯基苯并噻唑(M),偶氮二甲酰胺(AC-3000H),工业级,广州卓厚环保科技有限公司.

1.1.2 主要仪器

密闭式炼胶机(S(X)M-0.5L-K,江苏常州苏研科技有限公司);开放式炼胶机(XH-401C,东莞锡华精密检测仪器有限公司);平板硫化仪(XH-406,东莞锡华精密检测仪器有限公司);无转子硫化(MM4130C2,北京环峰化工机械实验厂);硬度计(ASKER-A,台湾高铁检测仪器有限公司);回弹性测试仪(GT-7042-V1,台湾高铁检测仪器有限公司);万能材料拉力机(AI-3000,台湾高铁检测仪器有限公司)扫描电子显微镜(S-4800,日立公司).

1.2 NR/EPDM 复合发泡材料的制备

将 NR 和 EPDM 按比例放置于 100 ℃的密炼机内室中混炼 10~15 min 后,分别加入 12 phr 白炭黑(WCB)、5 phr(每百份橡胶含量)固体石蜡(Sp)、9 phr 氧化锌(ZnO)和 3 phr 硬脂酸(St)混炼 20~30 min,再加入 0.8 phr 硫磺(S)和 0.3 phr 过氧化二异丙苯(DCP)以及 0.4 g 交联助剂 2-巯基苯并噻唑(M)混炼 5~10 min,最后加入 4 phr 发泡剂偶氮二甲酰胺(AC-3000H)混炼 10 min 后即得混合均匀的 NR/EPDM 混炼胶.将混炼胶在开放式炼胶机上压制成厚度约为 1 cm 左右的片材,放置 24 h 消除混炼过程中产生的残余应力.设置好平板硫化仪压力、温度和时间,将混炼胶片材放置于内腔中进行发泡,得到 NR/EPDM 复合发泡材料,对其进行性能测试与表征.

2 结果与讨论

2.1 硫化曲线分析

图 1 为 EPDM 对 NR 发泡材料硫化曲线的影响.由图 1 可以看出,所有样品均能被正常硫化,扭矩先增加后不变,这是因为在硫化前期,随着交联反应的进行,体系中的交联程度逐渐增加,但在进入硫化平台区后,扭矩几乎不再增加,这是由交联网络在这个阶段的形成与断裂趋于平衡导致的.一般情况下,硫化曲线中最大转矩(MH)与最小转矩(ML)的差可以表示交联密度^[15-17].

由表 1 看出,固定 M、DCP 和 S 含量下,NR 交联密度大于 EPDM 发泡材料,当 EPDM 含量增多

时,复合材料的交联密度逐渐升高但都低于纯 NR 和 EPDM 发泡材料.这是因为在复合基体中,由于两种基体的交联效率的差异,NR 和 EPDM 不能被相互交联,而在交联剂交联过程中,S 主要交联 NR,DCP 主要交联 EPDM,在基体中可形成互穿网络的结构,有利于提升发泡材料的撕裂性能.

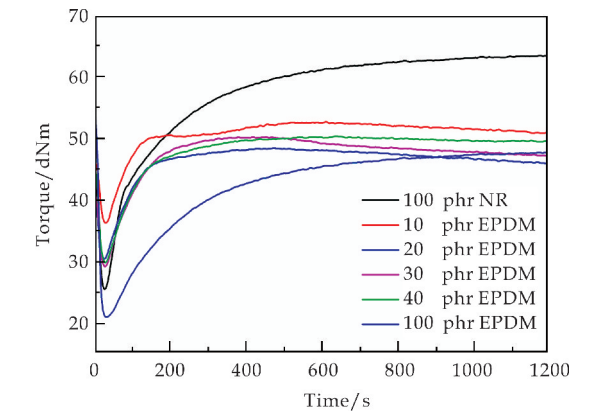


图 1 EPDM 对 NR 发泡材料硫化曲线的影响

表 1 NR/EPDM 混炼胶在不同 EPDM 含量下的硫化特性数据			
Sample	ML/dNm	MH/dNm	$\Delta M/dNm$
100 phr NR	25.34	61.71	36.37
10 phr EPDM	36.30	52.57	16.27
20 phr EPDM	30.42	48.35	17.93
30 phr EPDM	29.19	50.21	21.02
40 phr EPDM	29.83	49.88	20.05
100 phr EPDM	20.97	47.47	26.50

2.2 扫描电镜分析

图 2 为不同质量比 NR/EPDM 复合材料的扫描电镜图.由图 2 可以看出,基体中未发生明显的相分离,这说明 EPDM 和 NR 相容性较好.

图 3 为复合发泡材料的扫描电镜图.由图 3 可知,发泡材料的泡孔密度随 EPDM 质量的增加而增加,泡孔尺寸随着 EPDM 质量增加而减小.这是因为在材料成型过程中,交联和发泡是一对相互竞争的反应. EPDM 含量较少时,交联密度小,交联速率慢,在气体生成的过程中,由于受到的束缚小,所以会产生较大的泡孔;而当 EPDM 含量增多时,交联密度大,导致泡孔密度增加.并且,由于 EPDM 的存在起到了异相成核作用,提高了发泡剂分子在基体中的分散性,这有利于发泡剂分子的分解和尺寸均匀泡孔的产生.

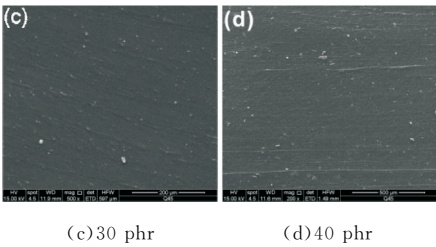
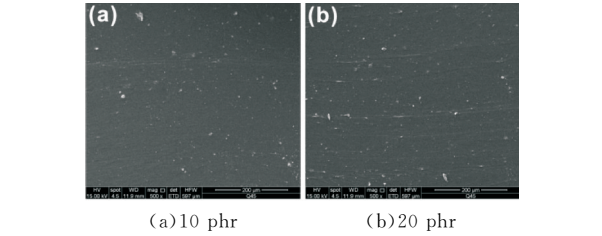


图 2 不同 EPDM 含量的 NR/EPDM 混炼胶的扫描电子显微镜照片

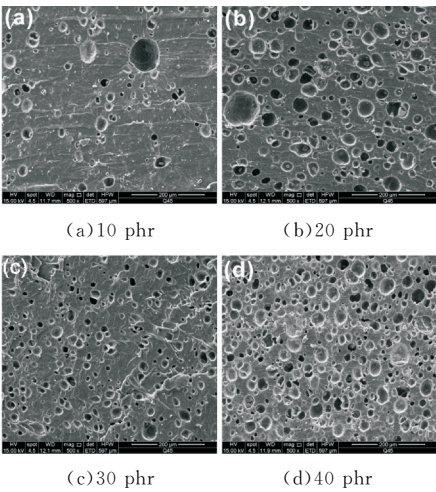


图 3 不同 EPDM 含量的 NR/EPDM 发泡材料的扫描电子显微镜照片

2.3 EPDM 含量对 NR/EPDM 复合发泡材料密度和稳定性的影响

由 4 图可知,复合材料的密度随着体系中 EPDM 含量的增多而逐渐减少.这是由于 EPDM 组分起到异相成核的作用,增加发泡剂分子的分解速率,并且相较于 NR,EPDM 的门尼粘度低,发泡剂分解产生的气体分子释放迅速,由于交联密度随着 EPDM 量的增大而增大,体系封存气体的能力也随之增大,基体中封存的气体量增多,并且,EPDM 在基体中也起到了异相成核的作用,促进发泡剂的分解,从而密度减小.

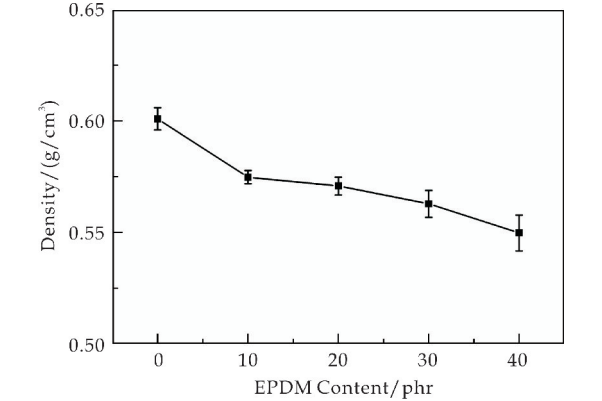


图 4 EPDM 含量对 NR/EPDM 发泡材料密度的影响

发泡材料的低收缩率是其应用的基础,工业中各行业也对其值有着严格的要求,而导致发泡材料收缩率高是由于基体中气体分子逸散,泡孔坍塌引起的.由图 5 可知,随着体系中 EPDM 含量的增多,复合发泡材料的收缩率逐渐减小.这是由于 EPDM 的结晶性优于 NR,在发泡完成后,体系中的晶区能够起到固定分子链,阻止气体分子逸散.并且,随着 EPDM 含量的增多,交联密度也随之增加,形成分子链相互缠绕的互穿网结构,这对防止气体逸散也有着重要的意义^[18].

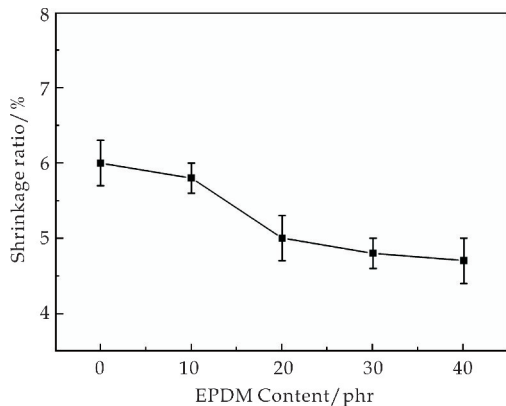


图 5 EPDM 对 NR/EPDM 发泡材料收缩率的影响

2.4 EPDM 含量对 NR/EPDM 复合发泡材回弹性和硬度的影响

EPDM 含量对 EPDM/NR 复合发泡材料回弹和硬度的影响如图 6 和图 7 所示.由图 6、7 可知,随着体系中 EPDM 含量的增多,复合发泡材料的回弹性减小,硬度增加.这是由于 EPDM 的加入,提高了复合材料的结晶性和交联密度,这限制了分子链的运动,在材料受到外部作用发生形变时,交联密度高的材料能够更好的吸收和耗散形变产生的能量,导致其回弹性能降低.而对于硬度,由于材料整体的结晶性增大,其表现出更好的抵御其他物质压入表面的能力,导致硬度增加^[19].

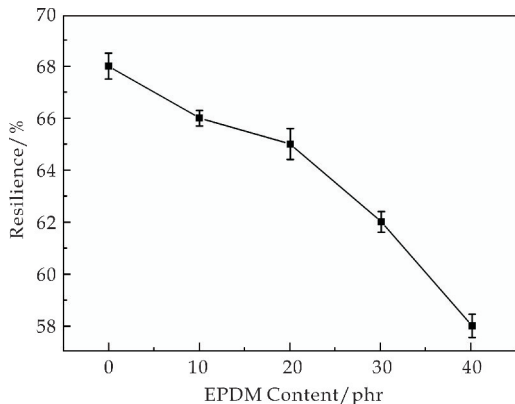


图 6 EPDM 对 NR/EPDM 发泡材料回弹性的影响

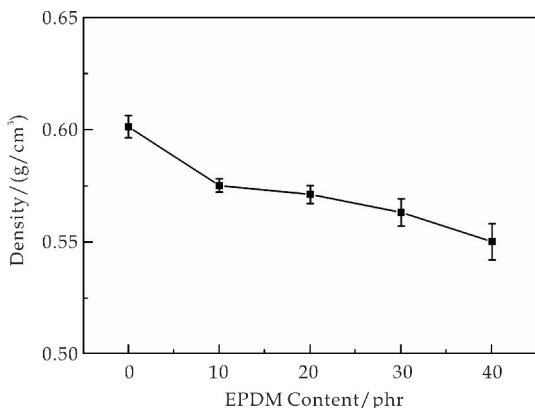


图 7 EPDM 对 NR/EPDM 发泡材料硬度的影响

2.5 EPDM 含量对 NR/EPDM 复合发泡材力学性能影响

图 8 为 EPDM 含量对复合发泡材料拉伸强度和断裂伸长率的影响.由图 8 可知,随着 EPDM 含量的增多,复合发泡材料的拉伸强度和断裂伸长率逐渐降低.

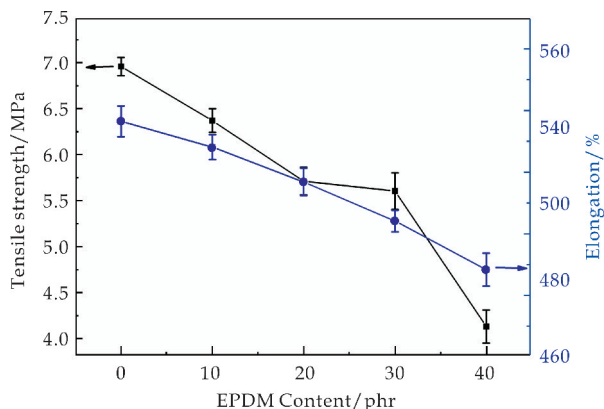


图 8 EPDM 对 NR/EPDM 发泡材料的拉伸强度和断裂伸长率的影响

图 9 为 EPDM 含量对复合发泡材料撕裂性能的影响.由图 9 可知,随着 EPDM 含量增多,复合材料撕裂强度增加,当 EPDM 含量为 40 phr 时,复合材料的撕裂强度达到 6.91 N/mm,较纯 NR 发泡材料提升了 1 倍.这是因为大分子长链交联程度影响拉伸性能,而网状交联结构影响撕裂性能^[20,21].随着 EPDM 含量的增多,结晶性增强,形成更多的互穿网络结构,这提升了复合发泡材料的撕裂性能.而由于互穿网络的竞争,导致大分子长链的交联被抑制,致使其拉伸强度和断裂伸长率降低.

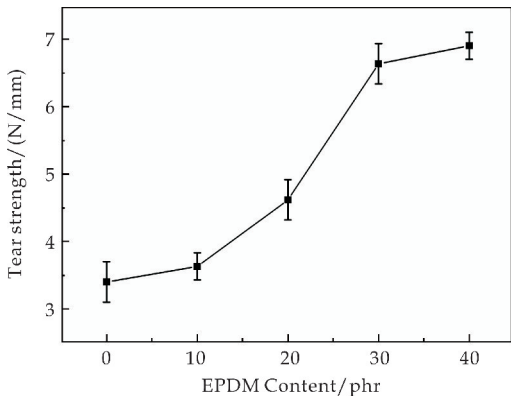


图 9 EPDM 对 NR/EPDM 发泡材料的撕裂强度的影响

3 结论

本文以 NR 和 EPDM 为基体,制备了复合发泡材料,利用 EPDM 与 NR 交联效率的差异,在体系中构建互穿网络结构;并根据 EPDM 的结晶能力强于 NR,利用其异相成核作用促进发泡剂分散和分解.结果表明:(1)NR 和 EPDM 相容性较好,复合发泡材料的交联密度随着 EPDM 的质量增加而增加;(2)EPDM 的加入,提高了复合材料的稳定性,降低了复合材料的收缩率;(3)随着 EPDM 在基体中含量的增多,撕裂强度增加至 6.91 N/mm,较 NR 发泡材料提高了一倍.

参考文献

[1] 彭 政,钟杰平,廖双泉.天然橡胶改性研究进展[J]. 高分子通报,2014(5):41-48.
[2] 张洪影.用于白炭黑填充天然橡胶硫化胶的溴化天然橡胶的制备与表征[J]. 橡胶参考资料,2018,48(1):30-39.
[3] 马 遥,彭宗林,张隐西.天然橡胶发泡材料的压缩行为与能量吸收特性[J]. 合成橡胶工业,2007,30(6):436-439.
[4] 谭 宇,胡庆华,胡天辉,等.硫化工艺对天然橡胶发泡材料静刚度和动静刚度比的影响[J]. 橡胶工业,2014,61(1):36-39.
[5] Deng F Q, Ma J Z, Xue C H, et al. Effect of organic montmorillonite on the cellular structure and mechanical properties of POE/EVA/OMMT nanocomposite foams[J]. Advanced Materials Research, 2013, 2 216(1 283): 355-362.
[6] 董颖超,包志方,安琪,等.天然橡胶/三元乙丙橡胶共混

相态结构对性能的影响[J]. 橡胶工业,2016,63(11):645-649.
[7] 肖建斌,王 琳,袁兆奎,等.丁腈橡胶/三元乙丙橡胶共混胶的制备与性能[J]. 合成橡胶工业,2018,41(6):49-52.
[8] 张 敬,王禮均,张 纯,等.天然橡胶/EVA 发泡复合材料发泡质量及力学性能的分析[J]. 高分子材料科学与工程,2014,30(3):53-57.
[9] 侯汝红,陈奕汲.一种丁苯橡胶、天然橡胶、顺丁橡胶和高苯乙烯树脂并用闭孔二次发泡材料及其制备方法[P]. 中国专利:105175831A,2019-02-01.
[10] 赵泉林,李晓刚,高 瑾,等.三元乙丙橡胶老化研究进展[J]. 绝缘材料,2010,43(1):37-41.
[11] 张启霞,范 宏,卜志扬,等.三元乙丙橡胶共混改性聚丙烯[J]. 合成橡胶工业,2004,27(3):161-164.
[12] 余 颖,曾 艳,张丽莎,等.碳纳米管对三元乙丙橡胶性能的影响[J]. 弹性体,2002,12(6):1-4.
[13] 刘宏超,王启方,梁志雄,等.氧化铁增强二氧化硅补强天然橡胶的性能与机理[J]. 材料导报,2019,33(22):3 842-3 846.
[14] 满敬国,陈国栋,刘生兰,等.三元乙丙橡胶抗撕裂性能的研究[J]. 世界橡胶工业,2011,38(1):24-26.
[15] Wong, Steven, Hani E. Naguib, et al. Effect of processing parameters on the cellular morphology and mechanical properties of thermoplastic polyolefin (TPO) microcellular foams[J]. Journal of the Polymer Processing Institute, 2007, 26(4):232-246.
[16] Shao L, Ji Z Y, Ma J Z, et al. The synergy of double cross-linking agents on the properties of styrene butadiene rubber foams [J]. Scientific Reports, 2016 (6): 36 931-36 945.
[17] Ma D, Tan J, Li Y, et al. Curing characteristics, morphology, thermal stability, mechanical properties, and irradiation resistance of methylethylsilicone/methylphenylsiliconerubber blends[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2014, 131(15):235-341.
[18] Ji Z Y, Ma J Z, Qin X, et al. Improved dimensional stability of styrene butadiene rubber/ethylene vinyl acetate composite foams with skeleton support structure based on alternately cross-linking process[J]. Polymer, 2018, 157:103-110.
[19] 王巧玲,季承远,赵 洋,等. EPDM 发泡减振制品硬度的影响因素与动静比关系[J]. 橡塑技术与装备,2017,43(17):10-14.
[20] 李智敏,吴友平.高抗撕裂硅橡胶复合材料的制备[J]. 合成橡胶工业,2015,38(2):141-144.
[21] 张燕红,张燕青,王晓红,等.提高硅酮结构胶抗撕裂性能的方法[J]. 中国建筑防水,2014(4):22-24.

【责任编辑:陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0098-06

4-HBA/E-51/有机氟硅多重改性水性聚氨酯

刘 筱, 来水利, 葛茹月, 王 花, 李晨辉

(陕西科技大学 陕西省轻化工助剂重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:通过预聚合和原位自由基共聚合两步法合成了一系列丙烯酸酯/环氧树脂/有机氟硅共同改性的水性聚氨酯杂化乳液,以提高水性聚氨酯的综合应用性能. 首先,以二异氰酸酯(HDI)和聚酯多元醇(PE-3020)为单体,以 2,2-二羟甲基丙酸(DMPA)为亲水扩链剂,以丙烯酸-4-羟基丁酯(4-HEA)、环氧树脂(E-51)和 γ -缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷(KH-560)为改性剂制得了一-NCO 封端、含有双键的聚氨酯预聚体;然后,将封端的预聚体与甲基丙烯酸六氟丁酯(HFBMA)原位自由基共聚合,制得了 4-HEA/E-51/KH-560/HFB-MA 共同改性的水性聚氨酯杂化乳液(HEKHWPU). 采用傅里叶红外光谱仪、X 射线衍射仪、粒径分析仪、热失重分析仪(TG)、光学视频接触角测量仪等,对聚合物膜进行了表征,并考察了在 4-HEA 为 5%和 KH-560 为 2%时,改性剂 E-51 和 HFBMA 的用量对 HEKHWPU 胶膜的耐水性、力学性能和乳液粒径等的影响. 结果表明,当 E-51 加入量为 5%,HFBMA 为 30%时乳液外观呈现半透明泛蓝光,乳液粒径均匀,拉伸强度达到 9.430 MPa,断裂伸长率达 317.5%,呈现的水接触角为 107°,吸水率从 32.8%降低至 6.07%. 说明经 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 多重改性的 WPU 综合性能得到了显著提高.

关键词:4-HBA; E-51; KH-560; HFBMA; 水性聚氨酯
中图分类号:O631 **文献标志码:**A

4-HBA/E-51/organofluorosilicon multi-modified waterborne polyurethane

LIU Xiao, LAI Shui-li, GE Ru-yue, WANG Hua, LI Chen-hui

(Shaanxi Key Laboratory of Chemical Additives for Industry, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: In this paper, a series of acrylate/epoxy resin/organofluorosilicon co-modified waterborne polyurethane hybrid emulsions were synthesized by prepolymerization and in situ free radical copolymerization to improve the comprehensive application performance of waterborne polyurethane. Firstly, diisocyanate (HDI) and polyester polyol (PE-3020) were used as monomers, 2,2-dimethylpropionic acid (DMPA) was used as a hydrophilic chain extender, and 4-hydroxybutyl acrylate (4-HEA), epoxy resin (E-51) and γ -(2,3-epoxypropoxy)propyltrimethoxy-silane(KH-560)were used as modifiers to produce an -NCO terminated and double-bonded polyurethane prepolymer. Then, the capped prepolymer is copolymerized with hexafluorobutyl methacrylate (HFBMA) in situ to obtain 4-HEA/E-51/KH-560/HFB-MA co-modified waterborne polyurethane hybrid emulsion (HEKHWPU). The polymer (film) was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffractometry,

* 收稿日期:2019-07-20
基金项目:陕西省科技厅科技攻关计划项目(2015SF266); 陕西省西安市科技计划项目(2017138SF/WM032)
作者简介:刘 筱(1994—),女,陕西兴平人,在读硕士研究生,研究方向:水性聚氨酯

particle size analyzer, thermogravimetric analyzer (TG), optical video contact angle measuring instrument. When the 4-HEA was 5% and the KH-560 was 2%, the amount of modifier E-51 and HFBMA has an effect on the water resistance, mechanical properties and emulsion particle size of WPU modified film. The results showed that when E-51 was added in 5% and HFBMA was 30%, the appearance of the emulsion showed translucent blue light, the emulsion particle size was uniform, the tensile strength reached 9.430 MPa, the elongation at break was 317.5%, and the angle was 107°. The water absorption decreased from 32.8% to 6.07%. In summary, the comprehensive performance of 4-HEA/E-51/K-H-560/HFBMA multi-modified WPU has been significantly improved.

Key words: 4-HBA; E-51; KH-560; HFBMA; waterborne polyurethane

0 引言

水性聚氨酯(WPU)是以水作为溶剂的聚合物,具有较好的粘接强度、抗冲击性、耐低温性、耐油性和耐磨性等优点,作为胶黏剂、涂料等得到了广泛应用^[1-4].

丙烯酸酯具有一定的耐候性、耐黄变性以及耐化学性特点,在涂料、织物整理剂、制鞋和软包装等方面广泛地应用.而丙烯酸-4-羟基丁酯(4-HEA)为分子内含有双键和羟基功能基体的丙烯酸酯,主聚合物中羟基的位置远离主链,因此反应性良好,通过交联和功能性基团的导入,直接参与到水性聚氨酯的合成反应中,可制成具有优良耐候性、耐黄变性以及耐化学性的水性聚氨酯.

环氧树脂具有粘附力强、热稳定性好、高模量、高强度和耐化学品性等优点,环氧树脂(E-51)结构上一般都为多羟基和多环氧基结构,可利用其中的羟基和开环后的环氧基与异氰酸酯反应来制备水性聚氨酯^[5-8].

硅氧烷如 γ -(2,3-环氧丙氧)丙基三甲氧基硅烷(KH-560)具有无机和有机化合物的特点,表面能低,抗氧化性、耐水性、耐热性好,将其引入到WPU分子链中,可赋予WPU胶膜良好的疏水性和耐热性^[9,10].

含氟化合物中 C-F 键短,键能大,表面能低,表现出较好的疏水疏油性,以甲基丙烯酸六氟丁酯(HFBMA)为改性剂,可合成含氟改性WPU乳液.在成膜过程中,含氟基团向表面迁移,涂膜的表面能降低,疏水性和耐腐蚀性都得到了不同程度的提高^[11,12].

然而,仅用硅氧烷或含氟化合物改性的WPU还存在着一定程度的不足.如硅氧烷和WPU的软硬段相容性差,当其用量达到一定程度时,WPU胶膜的机械性能变差.而可用于聚氨酯合成的含氟化合物品种少,价格高,随含氟化合物用量的增加,乳液稳定性能变差,胶膜脆性增大.利用两者的各

自特点,对WPU共改性以提高其综合性能,成为解决这一问题的重要途径^[13,14].

因此,本文采用4-HEA、KH-560、E-51及HFBMA为原料合成多重改性的WPU乳液,可以使WPU体系产生网状交联结构,从而提高WPU的力学性能和热稳定性.

1 实验部分

1.1 实验材料

聚酯多元醇(PE-3020),工业级,浙江华峰新材料股份有限公司;六亚甲基二异氰酸酯(HDI),分析纯,江苏富力化工有限公司;丁酮,分析纯,武汉欣华誉化工有限公司;2,2-二羟甲基丙酸(DMPA),分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;二月桂酸二丁基锡(DBTDL)、三乙胺(TEA)、无水乙二胺(EDA),分析纯,天津市大茂化学试剂厂;丙烯酸-4-羟基丁酯(4-HEA),成都麦卡希化工有限公司; γ -(2,3-环氧丙氧)丙基三甲氧基硅烷(KH-560),上海麦克林生化科技有限公司;环氧树脂(E-51),山东优索化工科技有限公司;甲基丙烯酸六氟丁酯(HFBMA),上氟科技有限公司;过硫酸钾,天津市津北精细化工有限公司.

1.2 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 改性水性聚氨酯乳液的制备

聚酯多元醇(PE-3020)于120℃下微波除水10 min,使含水率达0.15%.称取一定质量的PE-3020、HDI、DBTDL加入装有回流冷凝管、搅拌器和温度计的三口烧瓶中,升温至75℃~80℃反应1.5 h后,分批加入一定量的DMPA、4-HEA和E-51,并加入适当的丁酮调节体系粘度,反应2.5 h后,降低体系温度到60℃~65℃,向体系中加入一定质量的KH-560,反应30 min后,加入TEA中和反应5~10 min,再加入乙二胺,用去离子水进行乳化并高速搅拌30 min,最后减压蒸馏除去溶剂,得到4-HEA/E-51/KH-560改性的水性聚氨酯乳液.再将此乳液置于75℃下,加入一定质量

的 HFBMA 和过硫酸钾,反应 3 h 后,得到 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 多重改性的水性聚

氨酯乳液. 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 改性 WPU 原料配比及编号如表 1 所示.

表 1 改性 WPU 制备的原料配比

样品	PE-3020/g	HDI/g	DMPA/g	4-HEA/%	E-51/%	KH-560/%	HFBMA/%
WPU-0	24.96	5.00	1.57	0	0	0	0
WPU-1	24.96	5.00	1.57	5	0	2	10
WPU-2	24.96	5.00	1.57	5	0	2	20
WPU-3	24.96	5.00	1.57	5	0	2	30
WPU-4	24.96	5.00	1.57	5	0	2	40
WPU-5	24.96	5.00	1.57	5	3	2	30
WPU-6	24.96	5.00	1.57	5	4	2	30
WPU-7	24.96	5.00	1.57	5	5	2	30
WPU-8	24.96	5.00	1.57	5	6	2	30
WPU-9	24.96	5.00	1.57	5	7	2	30

1.3 乳胶膜的制备

将已制备好的改性水性聚氨酯乳液倒入聚四氟乙烯模具中,室温自然放置 48 h,再放入 50 ℃ 的真空干燥箱干燥 24 h.

1.4 结构与性能表征

以德国 Bruker-Verte 型傅里叶红外光谱仪测定乳胶膜红外光谱;以日本理光 D/max2200PC 型 X 射线衍射仪测试胶膜结晶性能;采用 OCA20 光学视频接触角测量仪,在室温下对改性前后成膜的水接触角进行测试;以英国 Malvern BT9300Z 型激光粒度分析仪测定改性乳液的粒径.

胶膜吸水率测定方法为:取 20 mm×20 mm 的 WPU 胶膜,真空干燥 12 h,称其质量并记作 W_1 ;然后再将胶膜完全浸泡在去离子水中 48 h 后,取出后用滤纸将其表面的水分吸干,称其质量并记作 W_2 ,吸水率 Q 按下式计算: $Q=(W_2-W_1) \times 100 \% / W_1$.

乳液稳定性测定方法:将乳液置于低速离心机中,设定离心转速为 3 000 r/min,离心 15 min,若无沉降产生,即可认为其具有 6 个月以上的贮存稳定期.

2 结果与讨论

2.1 红外光谱分析

图 1 为 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 改性的水性聚氨酯的红外谱图. 由图 1 可知,2 270~2 240 cm^{-1} 未出现吸收峰,说明体系里的 -NCO 已经完全反应生成 -NH-COO- ;2 939 cm^{-1} 附近为饱和 C-H 伸缩振动吸收峰;1 715 cm^{-1} 是聚氨酯中的 C=O 及羧酸酯中的 C=O 的伸缩振动峰;951 cm^{-1} 左右为环氧的特征吸收峰,827 cm^{-1} 处为 $\text{-Si(CH}_3)_2\text{O-}$ 链节的特征吸收峰; C-F 的特征吸收峰在 1 159~1 244 cm^{-1} 处, C-O-C 键吸收峰也在此,从而使共振加强. 说明在该聚合体

系中,4-HEA、E-51、KH-560 以及 HFBMA 单体可以很好地发生反应^[15,16].

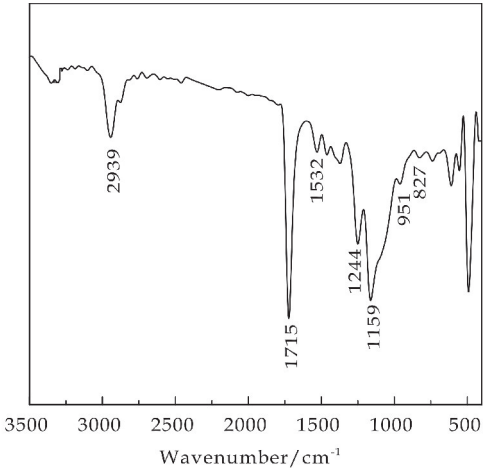


图 1 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 改性的水性聚氨酯 FTIR 谱图

2.2 WPU 乳液及成膜性质

乳液的稳定性测定结果及其乳液状态如表 2 所示.

表 2 WPU 乳液的稳定性及其乳液状态

Sample	乳液外观	贮存稳定性/月	固含量/%
WPU-0	透明泛蓝光	>6	35
WPU-1	透明泛蓝光	>6	35
WPU-2	半透明泛蓝光	>6	35
WPU-3	半透明泛蓝光	>6	35
WPU-4	微白乳液,略泛蓝光	<6	35
WPU-5	透明泛蓝光	>6	35
WPU-6	透明泛蓝光	>6	35
WPU-7	透明泛蓝光	>6	35
WPU-8	半透明泛蓝光	>6	35
WPU-9	微白乳液,略泛蓝光	>6	35

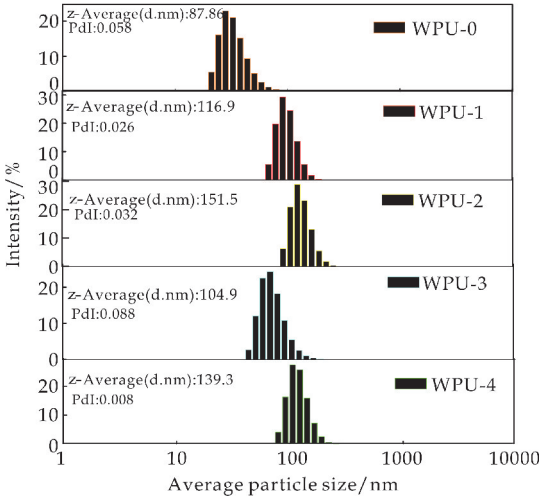
注: WPU-0、WPU-1、WPU-2、WPU-3 和 WPU-4 对应 HFBMA 的质量分数为 0%、10%、20%、30% 和 40%; WPU-5、WPU-6、WPU-7、WPU-8 和 WPU-9 对应 E-51 的质量分数为 3%、4%、5%、6% 和 7%.

从表 2 可看出,随着 HFBMA 和 E-51 用量的增加,乳液状态从透明泛蓝光逐渐变为微白色略泛蓝光. 经离心后,乳液均没有沉淀出现,说明当固含量一定时,经 HFBMA 改性后的水性聚氨酯乳液

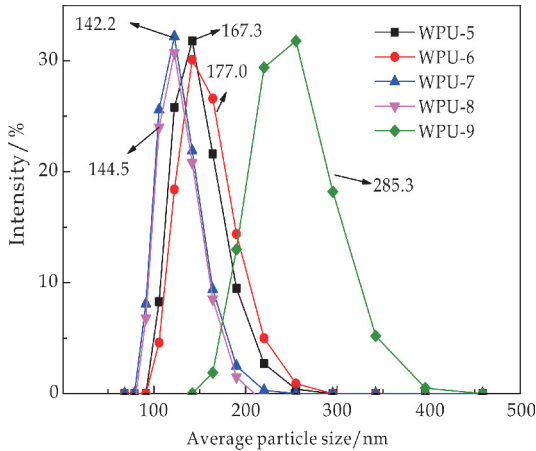
稳定性不会降低,且预聚体在水中分散较均匀,乳液中没有出现较大的颗粒物。

2.3 乳液粒径大小及分布

图 2 为 HFBMA 和 E-51 用量对 WPU 乳液粒径的影响。从图 2(a)中数据可知:随着 HFBMA 含量的增加,乳液平均粒径从 87.86 nm 增长至 151.5 nm,WPU-2 的平均粒径达到了 151.5 nm,这是因为 HFBMA 接枝在聚氨酯链上使分子体积增大。但随着 HFBMA 含量的增加,乳液平均粒径从 151.5 nm 降至 104.9 nm,这是因为随着接枝在聚氨酯链上 HFBMA 的增多,分子的亲水性减小,分子链团聚趋势增大,粒径降低。在 HFBMA 的继续加入,WPU-4 平均粒径增大至 139.3 nm,这是因为 HFBMA 含有 C—O 和大量的 C—F,这些的单键的内旋转比 C—C 单键低。所以,当 HFBMA 超过一定量时,过量的 HFBMA 反而使得分子链的旋转容易程度降低,导致平均粒径增大。



(a) HFBMA 用量对 WPU 乳液粒径的影响



(b) E-51 用量对 WPU 乳液粒径的影响

图 2 HFBMA 和 E-51 用量对 WPU 乳液粒径的影响

由图 2(b)可知,在环氧树脂引入后,改性的 WPU 乳液粒径从 104.9 nm 增长至 167.3 nm,在共聚改性过程中,E-51 环氧值较大,环氧基在共聚改性的过程中,开环交联,导致 E-51 改性的乳液粒径相对较大^[17]。

2.4 XRD 测试分析

图 3 是 WPU-0、WPU-3 和 WPU-7 的 XRD 谱图。结果显示,WPU-0 和 WPU-3、WPU-7 相比峰形较宽,同时在 $2\theta=21^\circ$ 附近出现漫散射峰,分子排列的规整性较差,而 E-51 与 HFBMA 改性后的 WPU 结晶度降低。说明水性聚氨酯经 E-51 与 HFBMA 改性后其结晶性发生了一定变化,由此可知 E-51 与 HFBMA 已经成功接枝在聚氨酯分子链上。

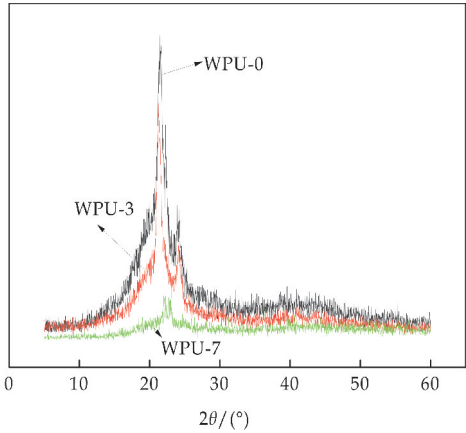


图 3 WPU 和改性后 WPU 的 XRD 谱图

2.5 胶膜的力学性能

表 3 为改性前后 WPU 胶膜的力学性能测定结果。由表 3 可知,随着 HFBMA 用量的不断增加,胶膜的整体力学性能呈现先增大后减小的趋势,有机氟的加入显著增强了其拉伸强度和断裂伸长率。当 HFBMA 含量达 30%,拉伸强度可达 8.589 MPa,断裂伸长率达 320.5%。主要在于形成的交联结构和 C—F 极性键产生的氢键增强了分子间的作用力,使得膜材料的断裂伸长率和强度增强,但是当 HFBMA 的添加量超过 30%时,由于分子链的团聚程度增大,链间缠结作用减小,使力学性能迅速降低。

从表 3 WPU-5~WPU-9 可以看出,随着环氧树脂添加量的增大,胶膜拉伸强度提高,断裂伸长率也不断增大。因为环氧树脂是一种多官能团的聚合物,其加入量的提高引起交联密度的提高,胶膜的拉升强度和断裂伸长率大幅提升。但是,环氧树脂中含有双酚 A 结构,随着环氧树脂加入量的提高,水性聚氨酯链段中刚性结构增多,胶膜的拉伸

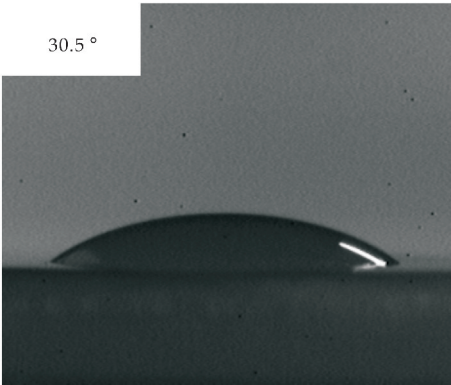
强度会降低.

表 3 WPU 胶膜的力学性能

Sample	拉伸强度/MPa	断裂伸长率/%
WPU-0	6.684	267.7
WPU-1	7.231	235.5
WPU-2	7.868	310.0
WPU-3	8.589	320.5
WPU-4	4.775	98.73
WPU-5	2.174	193.1
WPU-6	6.436	255.7
WPU-7	9.430	317.5
WPU-8	8.283	300.3
WPU-9	4.256	327.4

2.6 接触角及吸水率分析

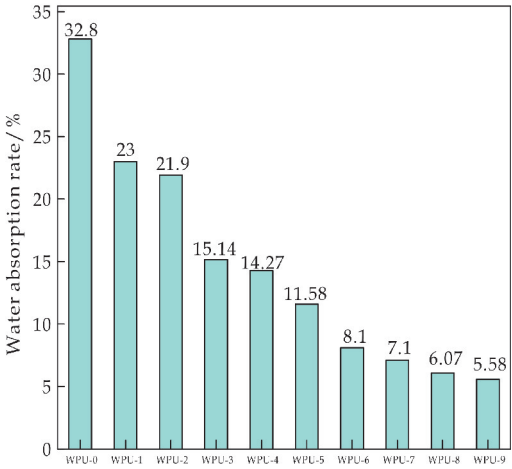
由图 4(a)、(b)可知,未经改性的聚氨酯胶膜呈现的水接触角为 30.5°,当 E-51 与 HFBMA 改性后的 WPU 胶膜的水接触角都较未改性样增大至 107°.因为连接在分子链上的有机氟、有机硅链段对主链具有很好的包围屏蔽作用,使得分子主链对水介质的排斥性增强;且含有机氟、有机硅链段在表面富集后可以形成致密的防护层^[18,19].因此,HFBMA 与 KH-560 的加入使得聚氨酯的表面能降低,呈现疏水性,接触角变大,胶膜的润湿性降低.从图 4(c)可知,WPU 胶膜的吸水率从 32.8%降低至 5.58%,这是因为随着体系中 HFBMA,使其疏水性增大;E-51 的加入,导致交联度增大使聚合物的内部密度增大,空隙率减小,水分子难以进入.



(a) 未经改性的 WPU 胶膜水接触角



(b) 改性的 WPU 胶膜水接触角



(c) WPU 胶膜的吸水率

图 4 WPU 胶膜水接触角与吸水率

2.7 TGA 分析

热重分析是快速评估不同材料热稳定性的最常用技术方法之一^[20],它可以表达 WPU 及改性 WPU 的热分解行为.不同温度下的 WPU、WPU-3、WPU-7 薄膜的 TGA 结果如图 5 所示,热分解质量损失分数为 10%和 50%的相应温度如表 4 所示.

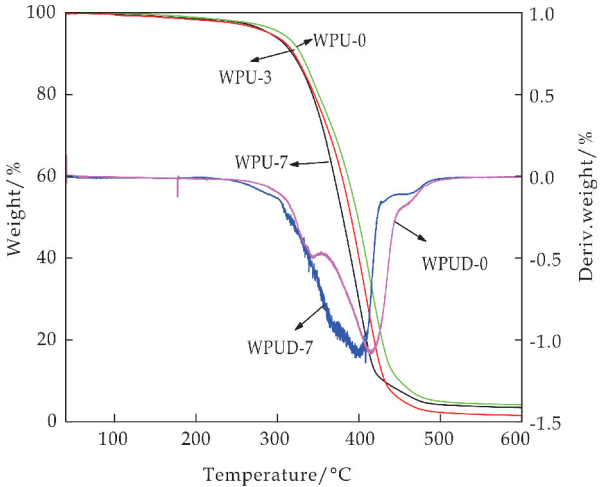


图 5 WPU 胶膜的 TGA

表 4 WPU 胶膜的 Td¹⁰ 和 Td⁵⁰

Sample	Td ¹⁰ /℃	Td ⁵⁰ /℃
WPU-0	318.1	380.2
WPU-3	320.3	390.3
WPU-7	329.2	403.4

由图 5 和表 4 可知,HFBMA 和 E-51 的加入使得胶膜材料的失重 10%和失重 50%的温度都有所提高.HFBMA 的加入使得膜材料 Td¹⁰由 318.1℃升到 320.3℃,Td⁵⁰由 380.2℃升到 390.3℃.其原因在于氟电负性大,原子半径小,这使得 C—F 键键长短,键能大,热稳定性好,并且是强极性键,可以产生稳定的 NH—F 的氢键.E-51 的加入使得

膜材料 T_d^{10} 由 320.3 °C 升到 329.2 °C, T_d^{50} 由 390.3 °C 升到 403.4 °C, 这是由于 E-51 的加入引起交联密度的提高, 这些使得 WPU 的热稳定性有了明显的提高. 图 6 中 WPUD-0 与 WPUD-7 为 WPU-0 与 WPU-7 两条热失重曲线的微分曲线图. 聚氨酯胶膜的热分解过程主要经历了两个阶段: 第一阶段为 262 °C ~ 315 °C, 对应的化学过程主要是体系中作为硬段的脲基和氨基甲酸酯的分解. 第二阶段为 343 °C ~ 479 °C, 此温度区间主要是体系中作为软段的聚酯、环氧树脂、丙烯酸酯和有机硅氟的分解. 综上, 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 的引入提高了聚氨酯的热稳定性.

3 结论

(1) FTIR 和 XRD 表征表明 4-HEA、E-51、KH-560 以及 HFBMA 单体已经成功引入到 WPU 体系中, 合成了 4-HEA/E-51/KH-560/HFBMA 改性 WPU 乳液.

(2) E-51 和 HFBMA 用量增加可以有效改善胶膜的耐水性和热稳定性, 但当 E-51 的用量超过 5% 和 HFBMA 超过 30% 时, 乳液粒径增大稳定性变差; 随着 HFBMA 及 E-51 的加入, 胶膜的吸水率从 32.8% 降低至 6.07%.

(3) E-51 与 HFBMA 的加入可显著提高 WPU 的力学性能, 当 E-51 为 5%, HFBMA 为 30% 时, WPU 胶膜的拉伸强度从 6.684 MPa 增至 9.430 MPa, 断裂伸长率从 267.7% 提高至 317.5%.

参考文献

- [1] Santamaria Echart A, Arbelaiz A, Saralegi A, et al. Relationship between reagents molar ratio and dispersion stability and film properties of waterborne polyurethanes[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspect, 2015, 482: 554-561.
- [2] 奉定勇. 水性聚氨酯胶粘剂的研究进展[J]. 聚氨酯工业, 2010, 25(1): 9-12.
- [3] Garcia Pacios V, Coleram, Iwata Y, et al. Incidence of the polyol nature in waterborne polyurethane dispersions on their performance as coatings on stainless steel[J]. Progress in Organic Coatings, 2013, 76(12): 1 726-1 729.

- [4] 桂亮星, 冯国超, 庄昌清, 等. TDI-MDI 型水性聚氨酯贴合料的制备及应用[J]. 中国皮革, 2016, 45(1): 56-60.
- [5] Wen X, Mi R, Huang Y, et al. Crosslinked polyurethane-epoxy hybrid emulsion with core-shell structure[J]. Coat Technology Res, 2010, 7(3): 373-381.
- [6] Wang Q. Properties of aqueous polyurethane dispersion modified by epoxide resin and their use as adhesive[J]. J Disper Sci Technol, 2009, 30(5): 634-638.
- [7] 王继印, 黄毅萍, 陶 灿, 等. 二乙醇胺开环环氧树脂改性水性聚氨酯的合成及性能研究[J]. 涂料工业, 2014, 44(2): 32-38.
- [8] 李帅杰, 柴春鹏, 马一飞, 等. 环氧树脂改性 MDI 型水性聚氨酯胶粘剂的制备与表征[J]. 粘接, 2016(7): 60-63, 70.
- [9] Ji X, Wang H, Ma X, et al. Progress in polydimethylsiloxane-modified waterborne polyurethanes [J]. RSC Advances, 2017, 54(7): 34 086-34 095.
- [10] Wang S, Liu W, Tan J. Synthesis and properties of fluorine-containing polyurethane based on long chain fluorinated polyacrylate[J]. Journal of Macromolecular Science: Part A, 2016, 53(1): 41-48.
- [11] 张明月, 徐汉青. 有机氟改性水性聚氨酯的研究进展[J]. 有机氟工业, 2011(3): 22-24, 29.
- [12] Li J, Zhang X, Liu Z, et al. Studies on waterborne polyurethanes based on new medium length fluorinated diols [J]. Journal of Fluorine Chemistry, 2015, 175: 12-17.
- [13] 雷海波, 罗运军, 王胜鹏, 等. 含氟硅油改性聚氨酯的结构与应用性能[J]. 材料工程, 2012(10): 25-29.
- [14] 唐 华, 强涛涛. 含硅、氟水性聚氨酯的改性方法研究进展[J]. 化工新型材料, 2016, 44(6): 25-27.
- [15] 高 举. 氟硅丙烯酸聚氨酯疏水涂层的构效关系研究 [D]. 福州: 福建师范大学, 2017.
- [16] 戴 震, 刘 浏, 黎 兵, 等. 环氧树脂改性水性聚氨酯合成与表征[J]. 聚氨酯, 2010(1): 56-58.
- [17] 曾 森, 曹有名. 环氧树脂改性水性聚氨酯乳液的研究 [J]. 聚氨酯工业, 2017, 32(5): 56-59.
- [18] Zhou J, Chen X, Ma J. Cationic fluorinated polyacrylate emulsifier-free emulsion mediated by poly(2-(dimethylamino) ethyl methacrylate)-b-poly(hexafluorobutyl acrylate) trithiocarbonate via ab initio RAFT emulsion polymerization[J]. Progress in Organic Coatings, 2016, 100: 86-93.
- [19] Chen L, Shi H, Wu H, et al. Preparation and characterization of a novel fluorinated acrylate resin[J]. Journal of Fluorine Chemistry, 2010, 131(6): 731-737.
- [20] 伊廷法. 水性聚氨酯丙烯酸酯复合乳液的合成、表征与性能研究 [D]. 太原: 太原理工大学, 2017.

【责任编辑: 蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0104-05

偏高岭土对天然水硬石灰净浆力学强度和 水化反应的影响

王 芬, 贺 鹏, 朱建锋, 魏小红, 惠 晶,
王雅惠, 陈宇斌, 王晓飞

(陕西科技大学 材料科学与工程学院 陕西省无机材料绿色制备与功能化重点实验室, 陕西西安 710021)

摘 要:为了研究偏高岭土(MK)对天然水硬性石灰(NHL2)净浆和水化反应的影响,本文制备出了不同偏高岭土掺量的样品(掺入量为 0%、10%、20%、30%、40%、50%和 60%)。采用万能材料试验机、X-射线荧光光谱仪(XRF)、X 射线衍射(XRD)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)和扫描电子显微镜(SEM),对养护 28 天的样品进行了力学强度、化学组成、物相组成及微观结构的分析。结果表明,偏高岭土对天然水硬石灰净浆的力学强度影响显著,当偏高岭土掺量为 50%时,养护 28 天的样品的力学强度最高;偏高岭土中的活性 SiO₂ 与天然水硬性石灰中的 Ca(OH)₂ 发生水化反应,促进水化硅酸钙(C-S-H)的生成,抑制了 Ca(OH)₂ 的碳化反应,使样品的微观结构呈均匀化和致密化。

关键词:偏高岭土;天然水硬石灰;力学强度;水化反应;碳化反应

中图分类号:G264.3;TB321 **文献标志码:**A

Effect of metakaolin on mechanical strength and hydration reaction of natural hydraulic lime grouts

WANG Fen, HE Peng, ZHU Jian-feng, WEI Xiao-hong, HUI Jing,
WANG Ya-hui, CHEN Yu-bin, WANG Xiao-fei

(School of Materials Science and Engineering, Shaanxi Key Laboratory of Green Preparation and Functionalization for Inorganic Materials, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In order to study the effect of metakaolin (MK) on natural hydraulic lime (NHL2) grouts and hydration reaction, samples with different metakaolin content were prepared (incorporation of 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, and 60%). Based on the analysis of universal material testing machine, X-ray fluorescence spectrometer (XRF), X-ray diffraction (XRD), fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscopy (SEM), the mechanical strength, chemical compositions, phase composition and microstructure of the 28 days samples were investigated. The result indicated that the metakaolin influence is significant on the mechanical strength of natural hydraulic lime pulp. The 28-day mechanical strength of the sample with 50% metakaolin content is the highest. The hydration happened between the active SiO₂ of metakaolin and the Ca(OH)₂ of natural hydraulic lime. The hydration reaction promotes the formation of hydrated calcium silicate (C-S-H) and inhibits the

carbonization reaction of $\text{Ca}(\text{OH})_2$, and makes the microstructure of the sample uniform and densified.

Key words: metakaolin; natural hydraulic lime; mechanical strength; hydration reaction; carbonization reaction

0 引言

天然水硬性石灰(NHL)是通过在低于烧结温度点的温度下,焙烧硅质或硅质灰岩的混合物而获得的水硬性胶凝材料^[1]. 根据 NHL 固化 28 d 后的抗压强度和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 含量,将 NHL 分为三类: NHL2, NHL3.5 和 NHL5^[2]. 天然水硬性石灰净浆硬化的基本特征是它们具有两个硬化阶段^[3]: 水硬阶段,基于其水合作用,形成钙和钙-硅酸铝水合物;碳化阶段,与 CO_2 接触期间形成 CaCO_3 . 天然水硬性石灰较水泥类胶凝材料具有以下优点:低收缩率、抗盐和抗霜冻性、与被加固材料的相容性好^[4]. 在近几年的文物古迹保护领域中,由于天然水硬性石灰的优越性,而得到了大量的应用^[5].

然而,天然水硬性石灰与水泥胶凝材料相比,其缺点是强度增长速度慢、最终强度低,因此需要添加类火山灰材料^[6],改善其性能. 偏高岭土是一种非常有效的火山灰材料,它不仅提高浆料的机械强度,而且对基质外部环境的有害物质起抵抗作用^[7].

目前,国内外研究者们对偏高岭土混凝土的研究主要集中于偏高岭土单掺与其他掺合料复掺应用. Siddique 等^[8]发现,偏高岭土替代水泥可有效提高混凝土对硫酸盐侵蚀的抵抗力. 谈云志等^[9]发现,添加 4% 偏高岭土和 5% 石灰石,可以提高红黏土的整体强度,并可以抑制其收缩效应. 刘春龙等^[10]发现偏高岭土能改善灰土材料的强度,明显缩短其强度形成时间,而且明显的提高灰土试样的软化系数. 王顺风等^[11]通过压汞法(MIP)、FT-IR、SEM 等测试手段研究了粉煤灰-偏高岭土基地质聚合物的微观性能,结果表明:随着偏高岭土掺量的增加,提高了凝胶相多元环结构中 $[\text{AlO}_4]$ 的数量,使材料呈均一致密的结构,改善了未反应的粉煤灰颗粒与凝胶相之间的界面结合情况.

本文通过配制偏高岭土-天然水硬石灰浆料,研究不同掺量偏高岭土对天然水硬石灰净浆力学强度的影响,并通过先进的测试技术进一步探讨不同偏高岭土-天然水硬石灰净浆的水化产物和微观形貌. 本文的研究成果为偏高岭土-天然水硬石灰在文物古迹保护领域的研究应用提供一些参考.

1 实验部分

1.1 实验材料

天然水硬石灰(NHL2),购自上海德赛堡建筑材料有限公司. 偏高岭土(MK),购自山西大同金源高岭土有限公司. 采用 X 射线荧光光谱仪对天然水硬石灰和偏高岭土的化学组成进行分析,结果如表 1 所示. NHL2 主要氧化物组成为 CaO . MK 主要氧化物组成为 Al_2O_3 和 SiO_2 . 用 X 射线衍射仪对 NHL2 和 MK 的物相组成进行分析,结果如图 1 所示. NHL2 主要物相为 $\beta\text{-}2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$ 和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$. MK 主要物相为 $3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$.

表 1 NHL2 和 MK 的化学组成(质量分数/%)

原料	Na_2O	MgO	Al_2O_3	SiO_2	K_2O	CaO	TiO_2	Fe_2O_3
NHL2	2.16	5.91	1.81	9.74	0.69	78.15	—	1.55
MK	0.02	0.06	40.07	57.34	0.08	0.18	1.56	0.68

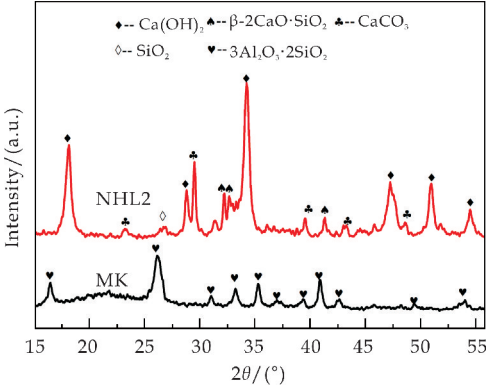


图 1 NHL2 和 MK 的 XRD 谱图

1.2 样品制备

本研究设计的试验配合比如表 2 所示. 采用控制变量法,将水灰比保持恒定(0.6). 分别称取原料置于 NJ-160 型净浆搅拌机锅内预混均匀,将搅拌均匀的浆体注入到 $40\text{ mm} \times 40\text{ mm} \times 160\text{ mm}$ 模具中,在振动台上振实 180 s,置于温度为 $25 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$,湿度为 $90 \pm 5\%$ 的标准养护箱中,持续养护,以制备不同养护龄期的试样.

表 2 试验的配合比

编号	MK/%	NHL2/%	水灰比
A0	0	100	0.6
A1	10	90	0.6
A2	20	80	0.6
A3	30	70	0.6
A4	40	60	0.6
A5	50	50	0.6
A6	60	40	0.6

1.3 样品表征

参照中华人民共和国国家标准 GB/T 17671-1999《水泥胶砂强度检验方法(ISO 法)》,采用台湾 1036PC 万能材料试验机测试试样 28d 龄期抗折、抗压强度。

采用 X 射线荧光光谱仪(XGT-7200V,日本堀场)对样品进行化学组成测试;采用 X 射线衍射仪(D/max2200PC,日本理学)对样品进行物相分析;采用傅里叶变换红外光谱仪(Vertex70,德国布鲁克公司)表征样品基团振动谱带特征;采用扫描电子显微镜(FEI Tecnai G2 F20 S-TWIN,美国 FEI 公司)分析试样的微观结构。

2 结果与讨论

2.1 力学性能

图 2 为不同 MK 含量样品 28 d 龄期的抗折和抗压强度图。由图 2 可知,当水灰比为 0.6 时,增加 MK 的掺量,试样的抗折和抗压强度先增大后减小,当 MK 的掺入量为 50%时,其抗折和抗压强度均达到最大,分别为 2.43 MPa 和 5.98 MPa,纯 NHL2 试块 28 d 抗折抗压强度分别为 0.56 MPa 和 1.75 MPa,相比于纯 NHL2 试块而言,其力学强度有明显提升。

观察样品的力学强度变化趋势,说明在该实验的测试的范围内,随着 MK 掺量的增加,其水化反应增强,水化产物增多,从而使样品的力学强度增加。当 MK 掺量为 60%时,其抗压强度明显下降,这说明 MK 增强水化反应存在极大值,当水化反应变弱,水化产物减少,从而样品的力学强度减小。

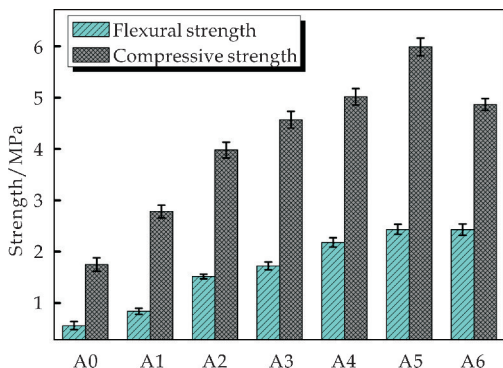


图 2 28 d 龄期不同 MK 掺量样品的抗折和抗压强度

2.2 XRD 分析

图 3 为不同 MK 掺量样品 28 d 龄期的 X 射线衍射图谱。由图 3 可知,随着 MK 掺量的增多,属于 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 衍射峰($2\theta=18.1^\circ, 34.3^\circ$)的强度不断减弱,当 MK 的掺量为 60%时, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的衍

射峰几乎消失,说明 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 与 MK 发生反应,被大量消耗。这是由于 MK 是一种高活性的人工火山灰材料,其中的活性 SiO_2 ,可与 NHL2 中的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 发生化学反应,生成非晶态的水化硅酸钙。图 3 中莫来石相($3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$)和半碳铝酸盐($\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{CaCO}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)的衍射峰逐渐增强, CaCO_3 相衍射峰的强度变化不明显。

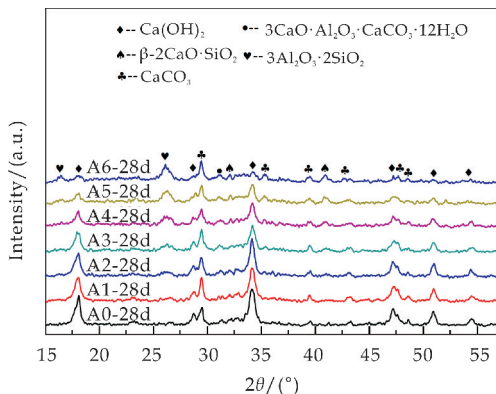


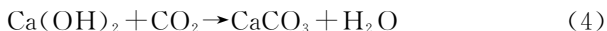
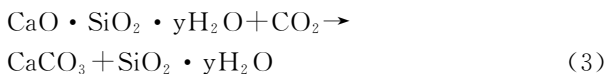
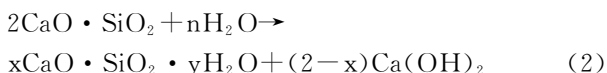
图 3 28 d 龄期不同 MK 掺量样品 XRD 谱图

2.3 FT-IR 分析

图 4 为不同 MK 掺量样品 28 d 龄期的红外光谱图。如图 4 所示,1 号吸收峰($3\ 644\ \text{cm}^{-1}$)属于 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的 O—H 的特征峰;2 号峰($1\ 485\ \text{cm}^{-1}, 870\ \text{cm}^{-1}, 728\ \text{cm}^{-1}$)属于 CaCO_3 中 CO_3^{2-} 的特征峰;3 号峰($1\ 176\ \text{cm}^{-1}, 1\ 105\ \text{cm}^{-1}$)属于硅酸二钙(C_2S)的特征峰;4 号峰($962\ \text{cm}^{-1}$)属于水化硅酸钙(C-S-H)中 Si—O 的特征峰^[12-14]。在试样养护 28 d 时,随着 MK 的加入量的增多,1 号峰($\text{Ca}(\text{OH})_2$)和 2 号峰(CaCO_3)的强度减弱;3 号峰(C_2S)和 4 号峰(C-S-H)的强度由弱变强。结合 XRD 分析,其原因为 MK 中活性 SiO_2 与 NHL2 中的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 发生水化反应,生成水化硅酸钙,从而抑制了硅酸二钙的水化作用和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的碳化作用。MK 与 NHL2 反应方程式如式(1)所示^[15]:



NHL2 水化和碳化过程的反应方程式如式(2)~(4)所示^[16]:



在式(1)中, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 作为反应物被大量消耗,其反应产物水化硅酸钙含量增加,在反应初期,由于水化硅酸钙的含量增加,抑制了式(2)中硅酸二钙的水化反应,同时减缓了式(4) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的碳化反应。

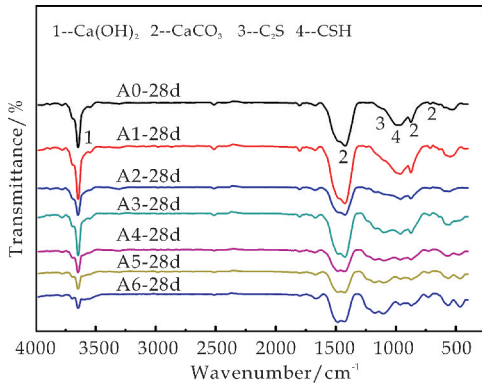


图 4 28 d 龄期不同 MK 掺量样品红外光谱图

2.4 微观分析

通过观察样品养护 28 d 龄期的微观结构,对 MK 和 NHL2 之间的作用进行了探究.不同 MK 掺量样品养护 28 d 龄期的 SEM 图如图 5 所示.

从图 5 可以看出,随着 MK 掺量的增加,样品的微观结构越密实.其中掺量为 50%样品的结构密实程度最大.观察图 5(f),样品内部生成了大量的无规则形态的水化硅酸钙互相穿插堆叠^[17],其微观结构比未掺 MK 的样品更致密,空隙更少,孔的结构细化.由此说明掺量为 50%样品的水化反应进行的最彻底,消耗原料中的 Ca(OH)₂ 最多,同时生成的水化产物 C-S-H 最多,样品的力学性能最大,与养护 28 d 样品的力学测试结果相吻合.

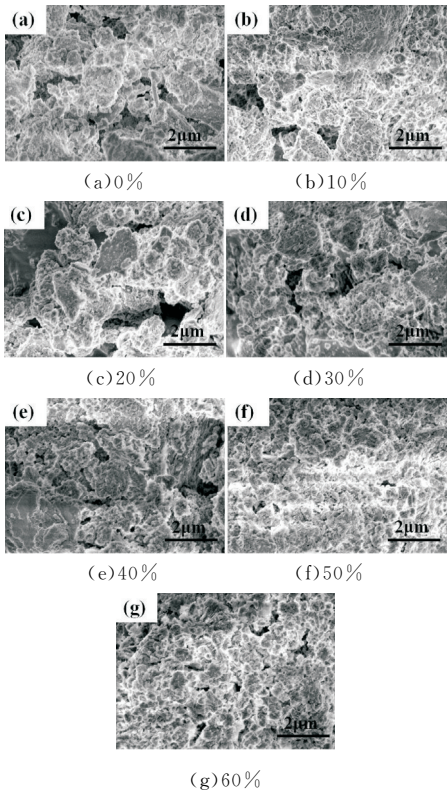


图 5 28 d 龄期不同 MK 掺量样品 SEM 照片

3 结论

本工作通过制备 MK-NHL2 试样,研究了不同掺量的 MK 对 NHL2 净浆的力学性能及水化反应的影响,得到的主要结论如下:

(1)MK-NHL2 试块的抗折强度和抗压强度随着掺入量增加先增大后减小.当 MK 掺量为 50%时,MK-NHL2 试块的抗折抗压强度达到最大,28 d 抗折抗压强度分别为 2.43 MPa 和 5.98 MPa.纯 NHL2 试块 28 d 抗折抗压强度分别为 0.56 MPa 和 1.75 MPa.相比于纯 NHL2 试块,MK-NHL2 试块的力学强度得到大幅提高.

(2)由物相分析可知,当 NHL2 试样掺入偏高岭土,NHL2 试样中的 Ca(OH)₂ 含量,随着偏高岭土含量的增加而减少.偏高岭土中的活性 SiO₂ 与 NHL2 中的 Ca(OH)₂ 发生水化反应,促进了水化产物水化硅酸钙的生成,抑制了 Ca(OH)₂ 的碳化反应,使样品的微观结构呈均匀化和致密化.

参考文献

[1] Callebaut K, Elsen J, Balen K V, et al. Nineteenth century hydraulic restoration mortars in the Saint Michael' s Church (Leuven, Belgium): Natural hydraulic lime or cement[J]. Cement and Concrete Research, 2001, 31(3): 397-403.

[2] Gulotta D, Goidanich S, Tedeschi C, et al. Commercial NHL-containing mortars for the preservation of historical architecture. Part 1: Compositional and mechanical characterization[J]. Construction and Building Materials, 2013, 38: 31-42.

[3] El Turki A, Ball R J, Allen G C. The influence of relative humidity on structural and chemical changes during carbonation of hydraulic lime[J]. Cement and Concrete Research, 2007, 37(8): 1 233-1 240.

[4] Veiga M R, Fragata A, Velosa A L, et al. Lime-based mortars: Viability for use as substitution renders in historical buildings[J]. International Journal of Architectural Heritage, 2010, 4(2): 177-195.

[5] 赵 莽, 严绍军, 何 凯, 等. 龙门石窟裂隙防渗灌浆新材料试验研究[J]. 长江科学院院报, 2016, 33(6): 115-123, 128.

[6] Pavlik V, Uzaková M. Effect of curing conditions on the properties of lime, lime-metakaolin and limezeolite mortars[J]. Construction and Building Materials, 2016, 102: 14-25.

[7] 方永浩, 郑 波, 张亦涛. 偏高岭土及其在高性能混凝土中的应用[J]. 硅酸盐学报, 2003, 31(8): 801-805.

[8] Siddique R, Klaus J. Influence of metakaolin on the properties of mortar and concrete: A review[J]. Applied Clay Science, 2009, 43(3-4): 392-400.

- [9] 谈云志,胡 焱,邓永锋,等. 偏高岭土协同石灰抑制红黏土收缩的行为与机制[J]. 岩土力学,2019,40(11):1-9.
- [10] 刘春龙,刘乃飞,刘奉银,等. 偏高岭土改善灰土强度的试验研究[J]. 西安建筑科技大学学报,2019,51(2):206-211.
- [11] 王顺风,马 雪,张祖华,等. 粉煤灰-偏高岭土地质聚合物的孔结构及抗压强度[J]. 材料导报,2018,32(16):2 757-2 762.
- [12] 李德栋. 硫铝酸盐水泥的红外光谱研究[J]. 硅酸盐学报,1984,12(1):121-127.
- [13] 冯 奇,王培铭. 煤矸石热活化及水泥水化的红外分析[J]. 建筑材料学报,2005,8(3):215-221.
- [14] Ma B G, Su L, Jian S W, et al. Early stage hydration mechanism of cellulose ether modified thin layer cement pastes[J]. Journal of Wuhan University of Technology, 2012,27(6):1 172-1 176.
- [15] Rojas M F, Cabrera J. Mechanism of hydration of the metakaolin-lime-water system[J]. Cement and Concrete Research,2001,31(2):177-182.
- [16] 徐树强,王乐乐,马清林,等. 天然水硬性石灰在不同碳化条件下的水化反应[J]. 文物保护与考古科学,2017,29(4):1-8.
- [17] Gameiro A, Silva A S, Veiga R, et al. Phase and microstructural characterization of lime-MK blended mixes [J]. Materials Science Forum,2012,730-732:135-140.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 87 页)

- [6] Görl D, Zhang X, Würthner F. Molecular assemblies of perylene bisimide dyes in water[J]. Angewandte Chemie International Edition,2012,51(26):6 328-6 348.
- [7] Langhals H. Cyclic carboxylic imide structures as structure elements of high stability developments in perylene dye chemistry[J]. Heterocycles,1995,40(1):477-500.
- [8] Seybold G, Wagenblast G. New perylene and violanthrone dyestuffs for fluorescent collectors[J]. Dyes & Pigments, 1989,11(4):303-317.
- [9] Sun M, Yin W, Dong X, et al. Fluorescent supramolecular micelles for imaging-guided cancer therapy[J]. Nanoscale, 2016,8(9):5 302-5 312.
- [10] Langhals H, Demmig S, Huber H. Rotational barriers in perylene fluorescent dyes[J]. Spectrochimica Acta, Part A: Molecular Spectroscopy,1988,44(11):1 189-1 193.
- [11] Sun M, Mullen K, Yin M. Water-soluble perylenediimides: Design concepts and biological applications [J]. Chemical Society Reviews,2016,45(6):1 513-1 528.
- [12] Saenger W. Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry[J]. Angewandte Chemie International Edition,1980,19(5):344-362.
- [13] Zang L, Liu R, Holman M W, et al. A single-molecule probe based on intramolecular electron transfer [J]. Journal of the American Chemical Society, 2002, 124(36):10 640-10 641.
- [14] 白 阳. 支化聚合物的合成与超分子构筑及其大分子自组装的研究[D]. 西安:西北工业大学,2014.
- [15] Wang K, Guo D, Liu Y, et al. Molecular aggregation behavior of perylene-bridged Bis(β -cyclodextrin) and its electronic interactions upon selective binding with aromatic guests[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2010,114(1):101-106.
- [16] Shaller A D, Wang W, Gan H, et al. Tunable molecular assembly codes direct reaction pathways[J]. Angewandte Chemie International Edition,2010,47(40):7 705-7 709.
- [17] Chen Z, Lohr A, Asha Moller, et al. Self-assembled π -stacks of functional dyes in solution: Structural and thermodynamic features[J]. Chemical Society Reviews, 2009, 38(2): 564-584.
- [18] Seibt J, Marquetand P, Engel V, et al. On the geometry dependence of molecular dimer spectra with an application to aggregates of perylene bisimide [J]. Chemical Physics, 2006,328(1-3):354-362.
- [19] Sadrai M, Hadel L, Sauers R R, et al. Lasing action in a family of perylene derivatives: Singlet absorption and emission spectra, triplet absorption and oxygen quenching constants, and molecular mechanics and semiempirical molecular orbital calculations[J]. Journal of Physical Chemistry, 1992, 96: 7 988-7 996.
- [20] Chen Z, Stepanenko V, Dehm V, et al. Photoluminescence and conductivity of self-assembled π - π stacks of perylene bisimide dyes[J]. Chemistry a European Journal, 2007, 13:436-449.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0109-06

细菌纤维素基氮掺杂石墨烯柔性电极材料的制备及其应用

张素风, 周 浩, 刘丽娜, 唐蕊华*

(陕西科技大学 轻工科学与工程学院 轻化工程国家级实验教学示范中心 陕西省造纸技术及特种纸品开发重点实验室 中国轻工业纸基功能材料重点实验室, 陕西 西安 710021)

摘 要:柔性超级电容器在柔性可穿戴等电子设备的发展中起着举足轻重的作用. 为了提高柔性超级电容器的机械性能和能量密度. 拟采用细菌纤维素作为柔性基材, 提高电极材料的机械强度, 并采用氮掺杂改性的石墨烯作为活性物质, 将其沉积在细菌纤维素上, 最终制备出柔性、轻量化的细菌纤维素/氮掺杂石墨烯复合电极膜. 重量比电容达到 265 F/g, 可作为柔性储能设备电极材料开发的良好候选者.

关键词:氮掺杂; 石墨烯; 细菌纤维素; 电极材料; 超级电容器

中图分类号:O636.1⁺; TB332 **文献标志码:**A

Preparation and application of bacterial cellulose-based nitrogen-doped graphene flexible electrode material

ZHANG Su-feng, ZHOU Hao, LIU Li-na, TANG Rui-hua*

(College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, Shaanxi Province Key Laboratory of Papermaking Technology and Specialty Paper, Key Laboratory of Paper Based Functional Materials of China National Light Industry, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Flexible supercapacitors play an important role in the development of electronic devices such as flexible wearables devices. In order to improve the mechanical properties and energy density of flexible supercapacitors. In this study, bacterial cellulose was used as a flexible substrate to improve the mechanical strength of the electrode material, and nitrogen-doped modified graphene was used as an active material to deposit it on bacterial cellulose. Finally, a flexible and lightweight bacterial cellulose/nitrogen-doped graphene composite electrode membrane was prepared. With a weight ratio of 265 F/g, it can be used as a good candidate for the development of electrode materials for flexible energy storage devices.

Key words: nitrogen doping; graphene; bacterial cellulose; electrode material; super capacitor

* 收稿日期:2019-09-11

基金项目:陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-517); 陕西省教育厅专项科研计划项目(18JK0096); 陕西省教育厅重点实验室科研计划项目(17JJS016); 陕西省生物质化学与材料国际联合研究中心项目(2018GHJD-19)

作者简介:张素风(1972—),女,山西洪洞人,教授,博士,研究方向:废弃物资源化利用及功能性纤维材料开发

通讯作者:唐蕊华(1982—),女,陕西咸阳人,讲师,博士,研究方向:纸基生物传感器, tangruihua@163.com

0 引言

近年来,电子皮肤、卷帘式显示器、可植入型医疗设备等柔性可穿戴电子产品的快速发展,激发了人们对灵活、可形变储能装置的迫切需求^[1-3].而柔性超级电容器(SC)是一种非常有潜力的储能装置,具有离子类电池所不具备的高功率密度、快速充放电、良好机械强度、良好循环性、稳定性等优点^[4,5],更加符合柔性电子产品对储能装置的要求.因此,研究新型柔性超级电容器对柔性可穿戴产品的发展具有重要意义.

据文献报道,影响超级电容器性能的因素有电极材料、电解液、隔膜、集流器等^[6].其中,电极材料是核心因素^[7].已有电极材料研究表明:具有轻量化、柔性特点的独立导电膜是非常理想的柔性电极材料^[8].目前,电极材料的研究主要集中在提高能量密度方面,忽略了机械性能弱、柔性差的缺点.因此,迫切需要开发机械强度高、柔韧性好的电极材料.

为了制备机械强度高的柔性电极材料,已有研究者采用多孔棉织物、打印纸、纳米纤维素等基材作为基底制备了柔性电极材料^[9,10],但是粗的纤维直径导致孔隙较大,难以形成致密的导电通路,影响活性材料的富集,限制了其更广泛的应用.而细菌纤维素(BC)作为一种可降解的绿色材料,具有独特的三维网状结构、高的结晶度、高纯度、柔性好、纤维直径小^[11,12]等特点.因此,BC用于制备超级电容器具有巨大的潜力.

为了提高电极材料的电容特性,已有研究者将碳纳米管、石墨烯、活性炭、碳纤维等用于制备电极材料^[13,14],但是其导电性、比表面积、轻量化等性能欠佳.石墨烯凭借其独特二维结构导致的优异导电性($10^6 \cdot \text{S} \cdot \text{cm}^{-2}$),出色电子迁移率 $[>104 \text{ cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s})]$ 以及高比表面积($2\,630 \text{ m}^2/\text{g}$)的优异性能脱颖而出^[15].可沉积在基质材料表面制备柔性电极材料.然而,石墨烯的合成方法大多采用传统的 Hummers 法,此方法虽然简便且产率高,但是,强烈的氧化还原反应(ORR)不可避免的造成石墨烯二维结构出现缺陷,晶体间不连贯^[16],造成石墨烯比表面积和电导率大大降低.因此,需要开发简单的石墨烯制备方法去解决此类问题.

氮掺杂作为一种高效调控石墨烯特性的方法^[17],可以将氮原子掺杂在石墨烯中,氮原子与碳原子原子半径相近,通过邻近的氮原子调节残缺的二维石墨烯网络,增强电极的亲水性和电容值,提高其电导率^[18].然而,将氮掺杂石墨烯(N-rGO)与BC复合后制备柔性电极材料的研究报道较少.

本研究拟采用简单的合成方法对石墨烯进行氮掺杂改性,有效改善石墨烯晶格不连贯的缺陷,

增强电子传输速率,并将其沉积在BC材料上,以提高电极材料电化学性能,最终制备出柔性、轻量化的BC/N-rGO复合电极膜,重量比电容达到 265 F/g ,可以作为柔性储能装置开发良好候选者.

1 实验部分

1.1 实验材料及仪器

1.1.1 主要材料

磷酸(H_3PO_4)、硫酸(H_2SO_4)、盐酸(HCl)、液氨($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠(NaOH)、高锰酸钾(KMnO_4)、水合肼($\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$)、过氧化氢(H_2O_2)、乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)、氨基胍(CH_7ClN_4)、尿素($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$)购自天津大茂责任有限公司.高纯度鳞片石墨粉(G)(325目)购置于先丰纳米科技公司,细菌纤维素(BC)购置于海南亿德食品有限公司.

1.1.2 主要仪器

德国布鲁克公司 VERTEX70 型红外光谱分析仪;日本理学公司 D/max2200PC 型 X 射线衍射仪;日立集团 S4800 型扫描电子显微镜;上海振华公司 CHI660E 电化学工作站.

1.2 BC 膜的制备

首先,将BC膜切成小块并用去离子水洗涤数次,并用NaOH在 90°C 预处理3h;其次,在 $10\,000 \text{ rpm}$ 转速下机械匀化制浆;随后,加入去离子水稀释以获得BC的浆料(2.8 mg/mL);取 50 mL BC悬浮液经由 $0.22 \mu\text{m}$ 多孔硝酸纤维素膜真空抽滤,以形成BC膜;最后,在 60°C 下真空干燥 12 h ,并自动剥离以获得独立的膜.

1.3 氮掺杂石墨烯的制备

通过改进 Hummers 方法^[7],本研究内容中氮掺杂石墨烯是通过在氧化石墨烯(GO)之中加入氮源以及还原剂一步处理合成制得.具体过程是:首先,将石墨粉和高锰酸钾以 $1:6$ 的比例混合均匀,在冰浴条件下,缓慢加入到浓硫酸和浓磷酸的混合液 $9:1$ 中混合均匀, 50°C 连续搅拌反应 24 h .在此过程中,滴加 30% 双氧水(H_2O_2)直到没有气泡,得到黄色溶液. $5\,000 \text{ rpm}$ 离心 30 min ,去除上层酸,这样有利于保护GO片层结构,将离心管沉淀物转移至冰水浴中,滴加盐酸羟胺,沉淀物由紫红色变成金黄色.用 1 M 盐酸洗涤多次,然后用大量的乙醇和去离子水洗涤数次,最后,制得GO悬浮液.

首先,将 50 mL 制备好的GO(2 mg/mL)超声处理,放置于 250 mL 的三口烧瓶中,在高速搅拌下加入 25 mL 水合肼, 80°C 搅拌反应 24 h ;其次,用乙醇和去离子水离心洗涤至中性, 60°C 真空

干燥得到还原氧化石墨烯(rGO)作为对比;然后,将 100 mL 的 GO(2 mg/mL)超声处理,放置于 250 mL 的三口烧瓶中,在高速搅拌下加入 1.2 g 氨基胍,用 NaOH 调节 pH 至 12(黑色粘稠状),60 ℃ 搅拌反应 12 h;最后,用乙醇和去离子水离心洗涤至中性,真空干燥 24 h 得到氨基胍 N-rGO。

1.4 BC/N-rGO 复合电极膜的制备

将 54 mL 超声分散 3 h 的浓度为 1 mg/mL 的氮掺杂还原氧化石墨烯悬液,缓慢倒入 50 mL 浓度为 2.8 mg/mL 的 BC 悬浮液中搅拌 30 min,形成 BC/N-rGO 均匀悬浮液。随后,经由 0.22 μm 多孔硝酸纤维素膜真空抽滤,以形成 BC/N-rGO 复合材料。在 60 ℃ 下真空干燥 12 h 并自动剥离以获得独立的膜。

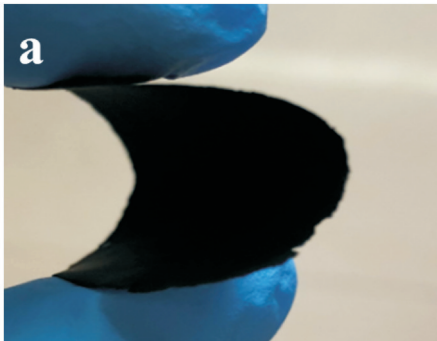
1.5 表征和电化学测量

通过扫描电子显微镜,表征样品的形态和微观结构。通过傅里叶红外光谱分析仪,拉曼光谱和 X 射线衍射,研究复合膜及氮掺杂石墨烯结构特征。用 CHI660E 电化学工作站进行电化学研究。在三电极系统中采用 1.0 M 的 H₂SO₄ 水溶液作为电解质,其中铂片电极(1.5 cm²)和饱和甘汞电极(SCE)作为对电极和参比电极。

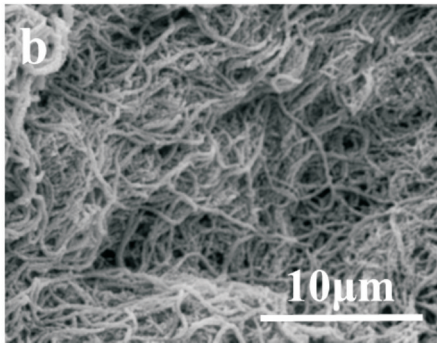
2 结果和讨论

2.1 形貌的表征

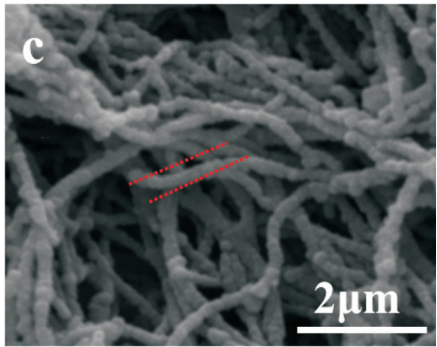
为了观察复合电极膜的形貌,本研究采用 SEM 对 BC 膜和 BC/N-rGO 复合电极膜进行了表征,其结果如图 1 所示。图 1(a)为 BC/N-rGO 复合电极膜实物图,从图 1(a)中可以看出复合电极膜可以大角度弯曲,说明这种电极膜(厚度为 0.15 mm)具有很高的柔韧性,使其在柔性和轻质储能材料中实际应用成为可能。图 1(b)显示细菌纤维素由连续的纳米纤维组成,是三维立体的纳米纤维网络结构,可从图 1(c)中看出其直径在 60~80 nm 范围内。图 1(d)红色区域可清楚地观察到 N-rGO 被 BC 纤维所包覆。说明 N-rGO 成功的负载在 BC 上。



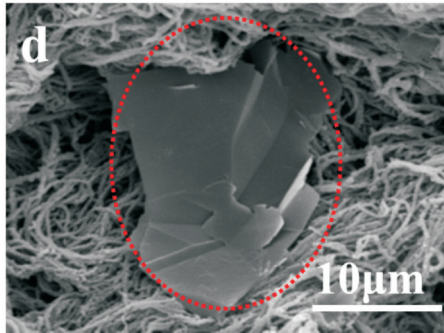
(a)BC/N-rGO 复合电极膜弯曲实物图



(b)BC 膜的 SEM 图



(c)BC 膜的 SEM 图



(d)BC/N-rGO 复合电极膜 SEM 图

图 1 样品的 SEM 图

2.2 官能团分析

为了分析复合电极膜的官能团结构,本研究采用红外光谱对 BC/N-rGO 复合膜进行分析,BC 膜,GO、rGO 和 N-rGO 作为对照,样品的红外谱图如图 2 所示,GO 红外光谱图具有许多含氧官能团,O—H(3 400 cm⁻¹),C=O(1 730 cm⁻¹),C—O(1 401 cm⁻¹),C—OH(1 241 cm⁻¹),C—O—C(1 052 cm⁻¹),环氧化物(862 cm⁻¹),相比之下,N-rGO 没有明显的吸收峰,表明 N-rGO 比 GO 和 rGO 的含氧官能团含量显著降低。特别是 3 400 cm⁻¹处 O—H 振动峰消失。与此同时,在 1 670 cm⁻¹处出现 C=N 振动峰,说明氮掺杂石墨烯的成功改性。并且,在 1 000 cm⁻¹到 1 600 cm⁻¹范围内的弱峰表明 N-rGO 中保留一些含氧基团,这有助于其保持良好的亲水性。说明 N-rGO 具有较少的含氧官能团,还原程度较高。BC/N-rGO 膜和 BC 膜在 3 400 cm⁻¹均表现出宽阔的吸收峰,主要是由

于 BC 自身带有的大量羟基所产生的吸收. 并且复合膜在 $1\,052\text{ cm}^{-1}$ 处有较强的吸收峰, 这是氮掺杂石墨烯中未还原完全的 C—O—C 官能团所致, 进一步证明氮掺杂石墨烯的成功复合.

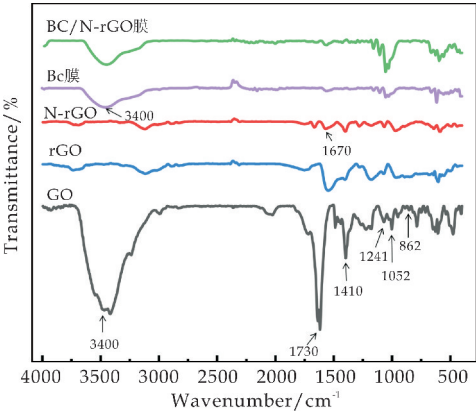


图 2 样品的红外光谱图

2.3 晶体结构分析

为了分析复合电极膜晶体结构, 本研究采用 XRD 对 BC/N-rGO 复合膜进行分析, BC 膜、rGO 及 N-rGO 作为对照进行了表征. 如图 3 所示, N-rGO 和 rGO 的 XRD 图中以 24° 为中心的宽峰, 符合石墨烯特征衍射峰, 但衍射峰变宽, 这是由于强烈的氧化还原作用导致石墨烯晶格出现缺陷, 片层排列的规整性严重下降. N-rGO 较 rGO 衍射峰变窄, 二维晶体结构有一定改善, BC 膜的 22.6° 是纤维素特征峰, 在 BC/N-rGO 复合膜中, BC 和氮掺杂石墨烯的特征峰同时存在, 说明该复合材料成功的结合.

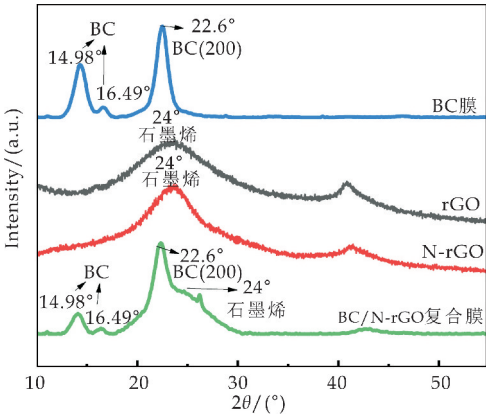


图 3 样品的 XRD

2.4 拉曼分析

在分析 BC/N-rGO 复合膜结构特性中, 氮掺杂石墨烯是影响复合电极膜的关键因素. 因此, 采用 Raman 对 GO、rGO 和 N-rGO 进行了表征. 如图 4 所示, GO、rGO、N-rGO 的拉曼光谱有三个明显的峰, 分别对应 G 带 ($1\,587\text{ cm}^{-1}$)、D 带 ($1\,357\text{ cm}^{-1}$) 和 2D 峰 ($2\,700\sim 2\,900\text{ cm}^{-1}$). 拉曼光谱是一种表征石墨烯的有效方法, 其中, D 带是由石墨烯边缘缺陷和无序诱导产生. 而 G 带与有序的石

墨烯结构有关. 所得 GO 的 ID/IG 值为 0.91, 表明石墨氧化后, 结构中一部分 sp^2 杂化碳原子转化成 sp^3 杂化结构, 含氧官能团增多, 即石墨烯的 C=C 双键被破坏, 晶型的无序化程度变大. 相比之下, rGO 的 ID/IG 值为 1.21, 说明 rGO 经过氧化再还原的步骤, 其结构无序化程度变大, 还原过程中石墨烯晶型遭到破坏. 相比 rGO 的拉曼图, N-rGO 的 D 带和 G 带峰强度都有所下降, ID/IG 值为 1.05, 说明其晶型无序化程度较小. 同时, N-rGO 拉曼谱图中的 $2\,700\sim 2\,900\text{ cm}^{-1}$ 范围内呈现的二维带也表明了 N-rGO 层数少的结构.

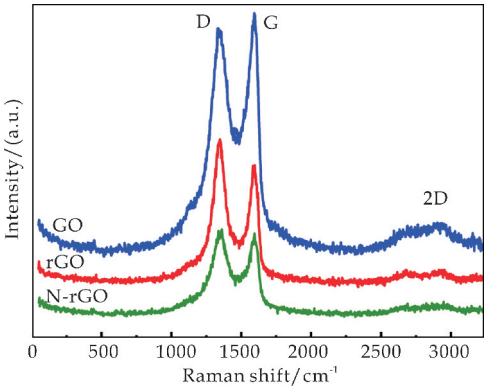
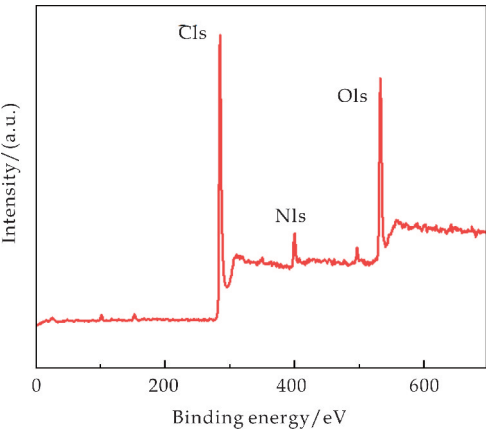


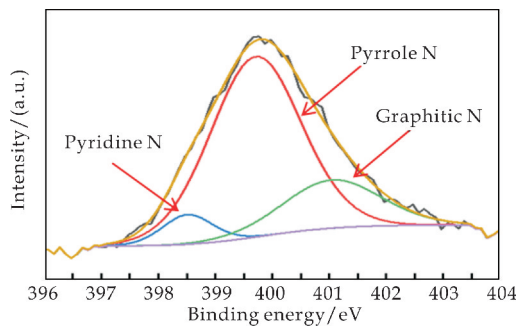
图 4 样品的拉曼分析图

2.5 元素分析

为了分析复合膜中氮掺杂石墨烯元素组成, 本研究采用 XPS 对 N-rGO 进行了表征, 如图 5(a) 为 N-rGO 的元素分析图. N 元素的含量为 5.78%, 证明了石墨烯骨架氮原子的成功掺杂, 另外, 为了进一步分析 N-rGO 氮原子种类, 分析了 N 1s 精细谱图 (如图 5(b) 所示), 氮原子的掺杂类型可被分为吡啶型 N (398.4 eV)、吡咯型 N (399.7 eV)、石墨型 N (401.2 eV), 可以看出吡咯型氮掺杂比例高于其他掺杂类型, 石墨烯中的氮掺杂 (吡咯型 N, 吡啶型 N) 充当电子供体, 可使体系容纳额外的电子. 增强电极材料的储电能力. 此外, 吡啶型 N 和石墨型 N 掺杂的结构进一步加强了离子迁移速率.



(a) 氮掺杂石墨烯 XPS 全谱图



(b)氮掺杂石墨烯 N 1s 精细谱图
图 5 N-rGO 的 XPS 分析图

2.6 电化学性能测试

为了证明柔性复合电极膜作为超级电容器的电化学性能,本研究采用电化学工作站测量了复合电极膜的电化学性能,如图 6 所示,图 6(a)和图 6(b)是 BC/rGO 和 BC/N-rGO 复合电极膜在 $-0.2 \sim 0.8$ V 电压窗口,扫描速度 $5 \sim 100$ mV/s 范围内的循环伏安曲线(CV)。所有 CV 曲线均显示对称且近似矩形形状,没有氧化还原峰,说明是石墨烯电化学双层电容特性。值得注意的是,在不同扫描速度下,响应电流随着扫速增加而增加,而且 BC/N-rGO 复合电极膜响应电流较 BC/rGO 复合电极膜高,积分面积大,反映出 BC/N-rGO 复合电极膜比 BC/rGO 复合电极膜具有较好的电容性能和高倍率,这可能归因于氮掺杂石墨烯改善了石墨烯结构破坏的缺陷和快速的电子转移。

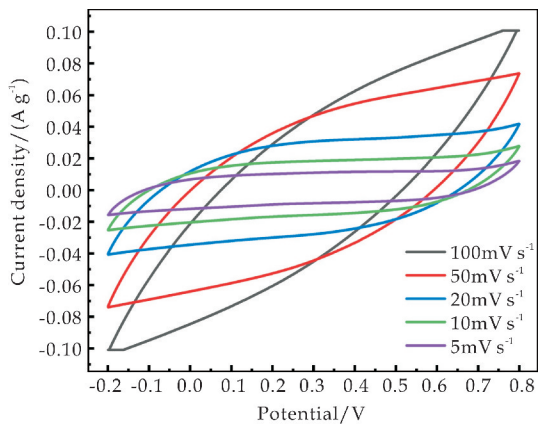
图 6(c)和图 6(d)分别为 BC/rGO 复合电极膜;BC/N-rGO 复合电极膜的充放电曲线(GCD),电流密度范围为 $0.5 \sim 2$ A/g,充放电曲线几乎是对称三角形,并且在 2 A/g 的高电流密度下观察到较低的 iR 降。比电容计算公式如式(1)所示:

$$C = I * t / m(s) * V \tag{1}$$

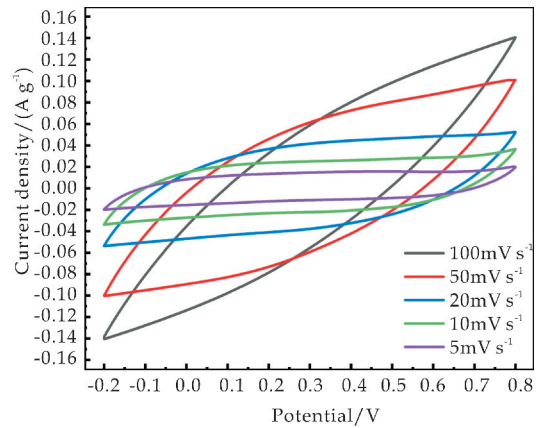
式(1)中: I 是放电电流, t 是放电时间, s 是标称电极面积, m 是活性材料的质量, V 是电压范围。

可计算出:BC/rGO 复合电极膜重量比电容为 148 F/g,面积比电容为 0.59 F/ cm^2 ;BC/N-rGO 复合电极膜重量比电容为 265 F/g,面积比电容为 1.06 F/ cm^2 。

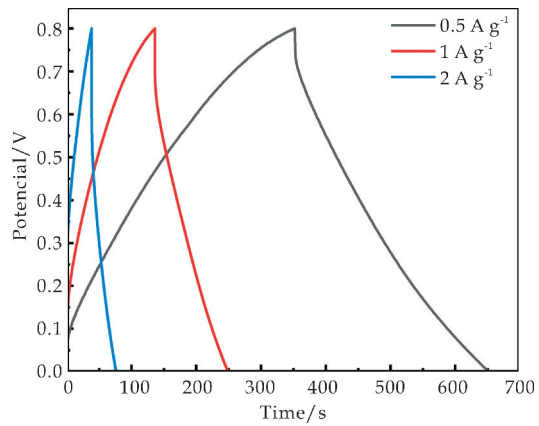
电化学阻抗谱图分为高频区、低频区及中频区三部分,可以通过高频区起始处判断接触电阻,以及通过半圆大小判断电荷转移电阻。通过低频区的斜率评判电容性质。如图 6(e)中的电化学阻抗谱图显示,在 BC/rGO 膜的接触电阻($3.18 \Omega/\text{cm}^2$),相比之下 BC/N-rGO 膜具有较小的接触电阻($1.82 \Omega/\text{cm}^2$),并且电极呈现出垂直斜率也表明其良好的电容行为。其较小的半圆也清楚地表明,通过对石墨烯进行氮掺杂改性可大大提高该柔性电极的导电性。



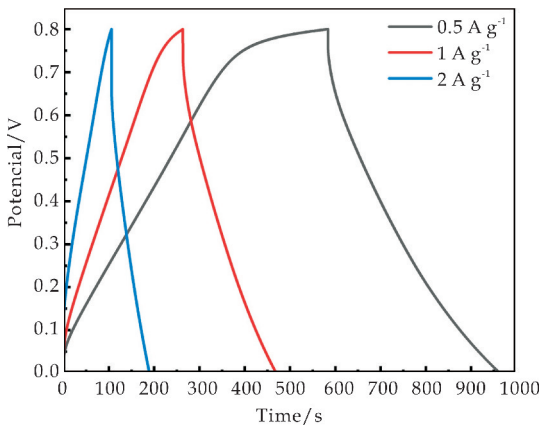
(a) BC/rGO 膜循环伏安曲线



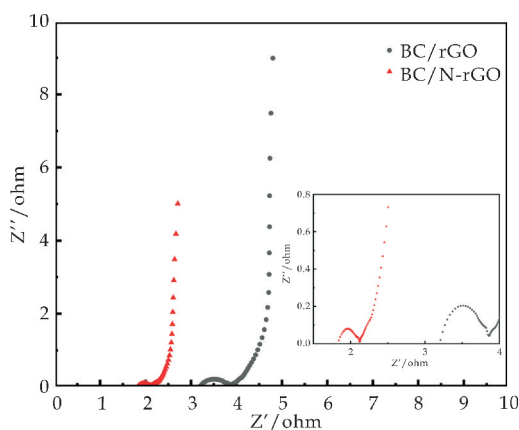
(b) BC/N-rGO 膜循环伏安曲线



(c) BC/rGO 膜恒流充放电曲线



(d) BC/N-rGO 膜恒流充放电曲线



(e) BC/N-rGO 膜和 BC/rGO 膜交流阻抗曲线

图 6 样品的电化学分析图

3 结论

本研究采用简单的一锅溶剂热法对石墨烯进行氮掺杂改性,通过真空辅助自组装将其嵌入在 BC 材料的网络中,以提高电极材料的机械强度,最终制备出柔性、轻量化的 BC/N-rGO 复合电极膜,重量比电容达到 265 F/g,面积电容为 1.06 F/cm²,与未氮掺杂改性的还原氧化石墨烯相比,电化学性能提高了近一倍。这为低成本,柔性的独立电极膜研究提供了理论依据。

参考文献

- [1] Ing W S, Jaka S, Wong B T, et al. Towards enhanced energy density of graphene-based supercapacitors: Current status, approaches, and future directions[J]. Journal of Power Sources, 2018, 396: 182-206.
- [2] Guo X, Zheng S, Zhang G, et al. Nanostructured graphene-based materials for flexible energy storage[J]. Energy Storage Materials, 2017, 9: 150-169.
- [3] Zhang X, Cheng X, Zhang Q. Nanostructured energy materials for electrochemical energy conversion and storage: A review[J]. Journal of Energy Chemistry, 2016(6): 85-102.
- [4] Qi D, Liu Y, Liu Z, et al. Design of architectures and materials in in-plane micro-supercapacitors: Current status and future challenges[J]. Advanced Materials, 2017, 29(5): 1 602 802.
- [5] Shao M, Li Z, Zhang R, et al. Hierarchical conducting polymer@clay core-shell arrays for flexible all-solid-state supercapacitor devices[J]. Small, 2015, 11(29): 3 530-3 538.

- [6] Mo R J, Zhao Y, Zhao M M, et al. Graphene-like porous carbon from sheet cellulose as electrodes for supercapacitors[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 346: 104-112.
- [7] Ma L, Liu R, Liu L, et al. Facile synthesis of Ni(OH)₂/graphene/bacterial cellulose paper for large areal mass, mechanically tough and flexible supercapacitor electrodes[J]. Journal of Power Sources, 2016, 335: 76-83.
- [8] Gao K, Shao Z, Wu X, et al. Cellulose nanofibers/reduced graphene oxide flexible transparent conductive paper[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 97(1): 243-251.
- [9] Jost K, Dion G, Gogotsi Y. Textile energy storage in perspective[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2014, 2(28): 10 776-10 787.
- [10] Nyholm L, Nyström G, Mhramyan A, et al. Toward flexible polymer and paper-based energy storage devices[J]. Advanced Materials, 2011, 23(33): 3 751-3 769.
- [11] Liu Y, Zhou J, Tang J, et al. Three-dimensional, chemically bonded polypyrrole/bacterial cellulose/graphene composites for high-performance supercapacitors[J]. Chemistry of Materials, 2015, 27(20): 7 034-7 041.
- [12] Tang L, Han J, Jiang Z, et al. Flexible conductive polypyrrole nanocomposite membranes based on bacterial cellulose with amphiphobicity[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117: 230-235.
- [13] Hao Jiang, Seelee P, Chunzhong Li. 3D carbon based nanostructures for advanced supercapacitors[J]. Energy & Environmental Science, 2012, 6(1): 41-53.
- [14] Niu Z, Ma W, Li J, et al. Nanocomposites: High-strength laminated copper matrix nanocomposites developed from a single-walled carbon nanotube film with continuous reticulate architecture[J]. Advanced Functional Materials, 2012, 22(24): 5 209-5 215.
- [15] Dong Y, Wu Z S, Ren W, et al. Graphene: A promising 2D material for electrochemical energy storage[J]. Science Bulletin, 2017, 62(10): 724-740.
- [16] Singh S K, Dhavale V M, Boukherroub R, et al. N-doped porous reduced graphene oxide as an efficient electrode material for high performance flexible solid-state supercapacitor[J]. Applied Materials Today, 2017, 8: 141-149.
- [17] Jeong H M, Lee J W, Shin W H, et al. Nitrogen-doped graphene for high-performance ultracapacitors and the importance of nitrogen-doped sites at basal planes[J]. Nano Letters, 2011, 11(6): 2 472-2 477.
- [18] Selvakumar D, Alsalmeh A, Alswieleh A, et al. Freestanding flexible nitrogen doped-reduced graphene oxide film as an efficient electrode material for solid-state supercapacitors[J]. Journal of Alloys and Compounds, 2017, 723: 995-1 000.

【责任编辑:陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0115-09

TEMPO 氧化纤维素纳米纤维在膜材料 中的研究进展

戴磊^{1,2}, 程婷¹, 王岩¹, 席香菊¹, 王晓婉¹,
王凡¹, 华飞果², 童树华²

(1. 陕西科技大学 轻工科学与工程学院, 陕西 西安 710021; 2. 浙江金昌特种纸股份有限公司, 浙江 龙游 324404)

摘要:以天然纤维素为原料,采用 2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基(TEMPO)催化氧化体系(即 TEMPO/NaBr/NaClO 体系)预处理,并结合适当的均质处理可以制备得到纳米纤维素(即 TEMPO 氧化纤维素纳米纤维,TOCNs),其良好的成膜性及优异的纳米材料特点(如高比表面积,高强度等)使其在膜材料领域具有诸多应用可能,前景广阔.综述了 TOCNs 在膜材料中的应用情况,其中主要涉及气体阻隔膜、过滤膜、吸附膜及导电膜等,并对未来的研究发展进行了展望.

关键词:纤维素; TEMPO; 纳米纤维; 膜材料
中图分类号:TB324 **文献标志码:**A

TEMPO-oxidized cellulose nanofibers in film materials: A review

DAI Lei^{1,2}, CHENG Ting¹, WANG Yan¹, XI Xiang-ju¹,
WANG Xiao-wan¹, WANG Fan¹, HUA Fei-guo², TONG Shu-hua²

(1. College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. Zhejiang Jinchang Specialty Paper Co., Ltd., Longyou 324404, China)

Abstract: Nanocellulose can be prepared via 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl radical (TEMPO)-mediated oxidation of natural cellulose, followed by appropriate homogenization, and the resultant nanocellulose is called TEMPO-oxidized cellulose nanofibers (TOCNs). TOCNs finds various applications in film area, due to its good film forming properties and outstanding nanomaterial characteristics (such as high specific surface area and strength). This paper reviews the applications of TOCNs in films, including gas barrier films, filtration membranes, adsorption films and conductive films. Outlook and future prospects are provided as well.

Key words: cellulose; TEMPO; nanofiber; film

* 收稿日期:2019-10-05
基金项目:国家外国专家局高端外国专家项目(GDT20186100425); 陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-784)
作者简介:戴磊(1988—),男,江苏镇江人,副教授,博士,研究方向:生物质功能材料

0 引言

近年来,随着石化资源的不断减少及人们环保意识的提升,天然可再生材料正受到越来越多的关注^[1-3]. 其中,源自植物、被囊类动物和细菌的纤维素作为地球上最为丰富的天然高分子,被视作未来材料的重要选择^[4-7]. 天然纤维素经物理、化学或生物等方法处理可制成纳米尺寸纤维,即纳米纤维素^[8,9]. 纳米纤维素作为一种纳米材料因其独特的结构特点而具有许多显著的性能:如高强度、优异的光学性、流变性、可降解性、生物相容性及可再生性等^[10,11]. 使其在高性能复合材料领域显现出极大的应用价值^[12].

迄今为止,经报道的纳米纤维素大致可分为 3 类:

(1)通过天然纤维素的酸水解制备获得的纤维素纳米晶体或纤维素纳米晶须(CNCs)^[13,14]. 纤维素分子链中包含无定形区及结晶区. 该类方法通过提取纤维素微纤维中的结晶区以获得纤维素纳米晶体^[15],经硫酸水解能够将纤维的尺寸从微米级降低至纳米级(宽度为 5~10 nm),为进一步防止纤维间因强氢键驱动而聚集,通常所制备的 CNCs 需经过冷冻干燥处理,以便于其后续能够快速再分散^[16,17]. 除此以外,拥有纳米颗粒特征的 CNCs 还具有优异的强度和光学性能.

(2)通过机械瓦解纤维素纤维,并在部分羧甲基化或纤维素酶辅助处理下制备微纤化纤维素(MFCs)^[18-20]. 以木质纤维素为原料,采用高剪切机械均质法能够制备 10~2 000 nm 宽的 MFCs, MFCs 由瓦解的微纤维聚集体组成,具有较高的刚度^[21]. 从木浆中分离得到 MFCs 可用于高性能的聚合物纳米复合材料,这些纳米复合材料的杨氏模量可高达 20 GPa,其聚合物分子在生物合成过程中以长链构象结晶,形成横向尺寸约为 4 nm 的微纤丝^[22]. 在木材中,纤维素微纤丝表现出较好的取向,且通常与轴向纤维方向接近. 为此,基于木浆 MFCs 的纳米复合材料是一种具有超高机械性能的材料^[23].

(3)通过 2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基(TEMPO)催化氧化天然纤维素纤维,并将氧化后的纤维素纤维经过机械处理而制备的纳米纤维素^[24]. TEMPO 催化氧化结合均质处理目前已成为制备纳米纤维素的重要方法,其利用 TEMPO/NaBr/NaClO 体系,对纤维素纤维进行有效氧化预处理,选择性将纤维素 C6 位伯醇羟基氧化成羧

基^[25,26](如图 1 所示),随后经温和的均值化处理制得纳米纤维素(TOCNs)^[27,28](如图 2 所示).

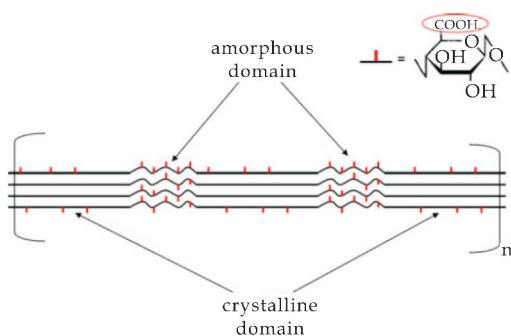


图 1 TEMPO 氧化纤维素纳米纤维
非晶态与晶界示意图^[26]

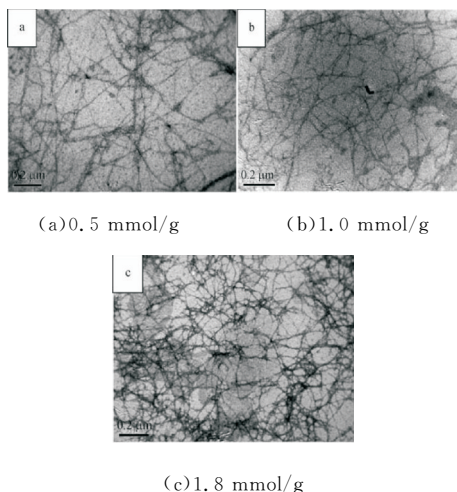
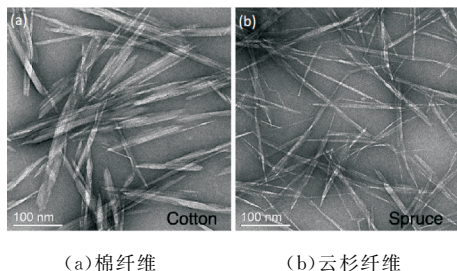
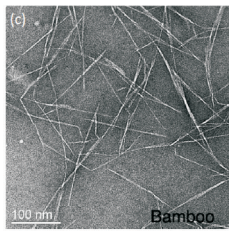


图 2 不同羧基含量的 TOCNs 的 SEM 图像^[28]

与前两类纳米纤维素相比,TOCNs 宽度基本一致,均为 3~4 nm,且长度可达几微米,具有较大的长径比(>50)^[29](如图 3 所示),并以单个纳米纤维的形式在水中均匀分散,且具有优异的成膜性,干燥后可制成透明的 TOCNs 薄膜. 此外,通过在其他表面亲水性基膜上涂覆 TOCNs 可以制备出具有 TOCNs 层的复合薄膜^[30]. TOCNs 还可以与其他材料复合制成功能化复合膜材料,通过从光学、力学、气阻性等方面对 TOCNs 涂层薄膜进行研究,使其应用于不同领域. 本课题组长期从事 TOCNs 复合膜材料研究,相继开发了一系列含 TOCNs 的膜材料^[31-33].



(a)棉纤维 (b)云杉纤维



(c)竹纤维

图 3 各类纤维经 TEMPO 氧化分解处理后的 TEM 图像^[29]

近年来,作为一种可生物降解的环保型薄膜材料,纳米纤维素膜材料已在众多技术领域取得了丰富的应用成果^[34].其中,TOCNs 膜材料更是具有诸多特点,如纯 TOCNs 膜具有较高透光率($>80\%$),且透光率随着 TOCNs 自身长度的减小而增大.而随着 TOCNs 长度的增加,其膜的拉伸强度和断裂伸长率均显著提高^[34].本文主要针对近几年 TOCNs 在膜材料领域的研究进展进行综述,包括气体阻隔膜、过滤膜、吸附膜及导电膜等,以期为今后该领域的研究提供指导与参考.

1 含 TOCNs 的功能膜材料

1.1 气体阻隔膜

由于 TOCNs 表面具有高密度的羟基与羧基等功能性基团,因而其具有极高的表面自由能,此外,得益于纳米纤维素的微小尺寸,其所形成的膜具有非常致密的结构,具有优异的氧气阻隔性,且其氧气阻隔性随着厚度的增加而提高^[34].Fukuzumi 等^[34]利用三种不同纳米纤维长度(平均长度分别为 200、680、1 100 nm)的 TOCNs 研究了其长度对自组装 TOCNs 及 TOCNs 涂覆聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)及聚乳酸(PLA)薄膜气体阻隔性的影响.研究发现,在相对湿度(RH)为 0%时,TOCNs 涂覆 PET 及 PLA 薄膜的透氧率(OTR)极低,但随着 RH 的增加,OTR 呈指数增长.其中,在 0~50% RH 范围内,TOCNs 的阻氧性能最高.此外,随着 TOCNs 长度的增加,TOCNs 涂覆的 PET 和 PLA 膜的氧气阻隔性能明显增加.相比之下,TOCNs 长度对水蒸气阻隔性则几乎没有影响.

Fukuzumi 等^[12]的研究也证实将 TOCNs 在 PLA 膜上浇铸可制成高阻氧膜.其中,未改性的 PLA 膜的氧气渗透率约为 $746\text{ mL m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$,而 TOCNs 层的形成将氧气渗透率显著降低至 $1\text{ mL m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$.TOCNs 涂覆的 PLA 膜具有与高阻氧功能的聚偏二氯乙烯和聚乙烯-聚乙

烯醇共聚物膜相近的氧气阻隔效果,这种高阻氧的生物质膜可用作食品、药品包装,及显示面板和其他电子设备等.

此外,研究表明 TOCNs 所携带基团对气体阻隔性具有重要影响.Fukuzumi 等^[35]分析了 TOCNs 膜和 TOCNs 涂覆 PET 膜对 O_2 、 N_2 、 CO_2 、 H_2 及其混合气体的阻隔性.结果表明具有游离羧基的 TOCNs-COOH 和具有羧酸钠基团的 TOCNs-COONa 对 O_2 、 N_2 、 CO_2 等气体的阻隔性差异性较小,但 TOCNs-COONa 对 H_2 的阻隔性比 TOCNs-COOH 层高一个数量级.气体动力学直径与渗透率之间的良好相关性表明 TOCNs 层的气体渗透行为主要可由扩散机理解释(如图 4 所示),即气体分子的动力学直径越小,两层的透气性越高.相应地,Fujisawa 等^[36]研究发现 TOCNs-COOH 膜比 TOCN-COONa 膜具有更高的透氧性,前者为 $0.049\text{ mL }\mu\text{m m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ kPa}^{-1}$,而后者则为 $0.0017\text{ mL }\mu\text{m m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ kPa}^{-1}$,但值得注意的是两者均明显低于 PET 膜的透氧值($15.5\text{ mL }\mu\text{m m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ kPa}^{-1}$).

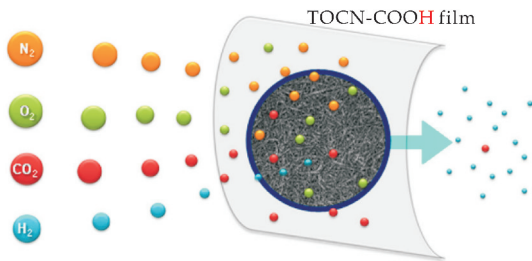
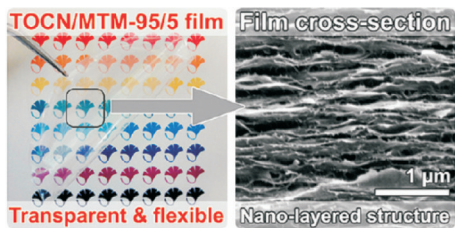


图 4 TOCN-COOH 膜选择性渗透 H_2 示意图^[35]

TOCNs 也能够与其他材料结合使用,实现气体阻隔作用.Roilo 等^[37]研究发现在 PLA 基体上以 TOCNs/ TiO_2 纳米复合物进行涂敷可获得厚度均匀、无缺陷的涂层,因而能够有效阻碍 O_2 、 CO_2 、 N_2 等气体的穿透.其中,纳米 TiO_2 通过聚集形成约 100 nm 的团聚体,进一步增加了纳米复合涂层中渗透迁移路径的弯曲度,从而降低了气体渗透扩散率.Wu 等^[38]研究发现在 TOCNs 薄膜中添加蒙脱土(MTM)可以进一步改善其氧气阻隔性(如图 5 所示).其中,添加 1% MTM 后,氧气透过率从 0.03 降至 $0.006\text{ mL }\mu\text{m m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ kPa}^{-1}$.并且,当 TOCNs/MTM 复合材料中 MTM 含量增加至 50%时,其氧气阻隔性进一步提高至 $0.0008\text{ mL }\mu\text{m m}^{-2}\text{ day}^{-1}\text{ kPa}^{-1}$.因此,采用混合、干燥等简单工艺便可制备出具有高透明性和柔韧性的 TOCN/MTM 复合膜,该轻质、透明、高强、高韧的新型生物

质基纳米复合膜材料具有广阔的应用前景。



(a) TOCN/MTM 薄膜透光性 (b) 复合膜 TEM 图像

图 5 TOCN/MTM 复合薄膜^[38]

Soni 等^[39]以壳聚糖为基体, TOCNs 为增强剂制备了透明、高性能的生物阳极复合膜(壳聚糖/TOCNs 膜)。研究发现, TOCNs 的加入能够显著降低复合膜的氧气透过率(OTR)及水蒸气透过率(WVPR)。与 100% 壳聚糖(WVPR 为 $3.28 \times 10^{-8} \text{ g Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-1}$)膜相比, 随着 TOCNs 含量的增加, 薄膜的水蒸气阻隔性逐渐增强(80%/20%的壳聚糖/TOCNs, WVPR 为 $2.89 \times 10^{-8} \text{ g Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-1}$; 75%/25%的壳聚糖/TOCNs, WVPR 为 $2.63 \times 10^{-8} \text{ g Pa}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-1}$)。同样地, 含 TOCNs 的纳米复合膜具有更高的氧气阻隔性。据了解, 高氧阻隔膜的 OTR 范围约为 $1 \sim 10 \text{ cc}(\text{m}^{-2} \text{ day}^{-1})$ 。而 100% 壳聚糖膜的平均 OTR 为 $0.45 \text{ cc}(\text{m}^{-2} \text{ day}^{-1})$, 壳聚糖基质中加入 TOCNs 的复合膜 OTR 则进一步下降至 $0.05 \sim 0.21 \text{ cc}(\text{m}^{-2} \text{ day}^{-1})$ 。这些结果表明, 壳聚糖/TOCNs 生物质纳米复合膜可以保护食品免受氧化变质, 在食品包装方面具有广阔的应用前景。当前该类气体阻隔膜实际仍然主要围绕纳米纤维素膜的氧气阻隔性开展, 此外, 虽然研究者们均已认识到纳米纤维素膜水蒸气阻隔性能的缺陷, 但仍然缺乏有效的改善手段。

1.2 过滤膜

工业及生活污水(如含油废水)等对自然环境具有严重影响, 对其进行有效处理意义重大。基于生物质材料的新型超滤膜近年来得到各领域研究者的青睐。Ma 等^[40]以 TOCNs 为顶层阻隔层(厚度为 $0.10 \pm 0.02 \mu\text{m}$), 聚丙烯腈(PAN)静电纺丝支架为中间层, PET 无纺布为支撑基材, 制备了一种新型超滤(UF)纳米纤维复合膜(TFNC), 该膜最大孔径约为 55 nm 。以直径为 $0.10 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 的微球测试 UF 膜效率发现该膜的渗透通量比使用不含 TOCNs 阻隔层的商品超滤膜(如 PAN 10)高约 5 倍。对于油/水乳液的超滤, 其渗透通量比商业 PAN 10 膜高约 8 倍。此外, 该 TFNC 薄膜更是显示出优异的耐化学性和广泛的 pH 适用范围。

Kong 等^[41]以 TOCNs 与三乙酸纤维素(CTA)

通过反相法制备均相 CTA/TOCNs 超滤膜。TOCNs 的加入能够大幅提高超滤膜的纯水通量, 原因在于 TOCNs 的加入增大了孔隙率, 并提高了膜的亲水性(如图 6 所示)。此外, TOCNs 表面的羧基有助于氢键的产生, 进而提高纯水通量。因此该超滤膜的通量恢复率(FRR)较高, 且由于 TOCNs 的高亲水性, 所以吸附的蛋白质也较易冲洗掉。

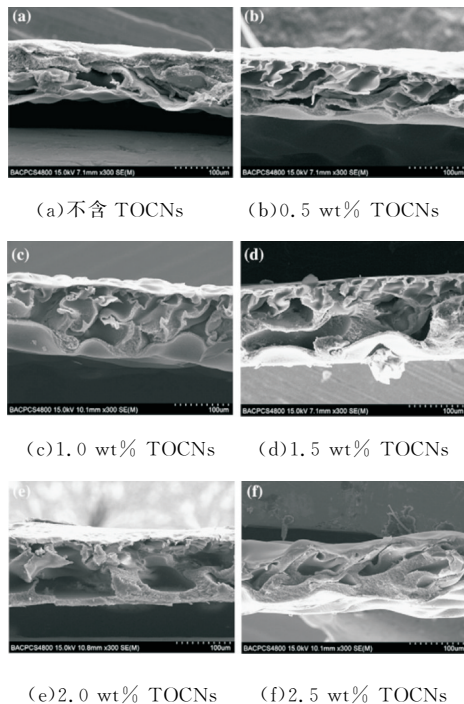


图 6 不同含量 TOCNs 对 CTA/TOCNs 膜形貌结构的影响^[41]

除此以外, Hassan 等^[42]研究发现使用 4'-氯[2,2':6',2'']三联吡啶(Tpy)与 Cu^{2+} 形成络合物修饰的 TOCNs 能够制成具有抗菌性能和高水通量的 TOCNs-Cu-Tpy 超滤膜, 该膜可以高效去除再生纤维造纸废水流出物中的亚微米级悬浮颗粒, 因而可用以处理造纸厂废水, 实现水资源的循环利用。Ma 等^[43]将 TOCNs 浸渍渗透到静电纺 PAN 纳米纤维(直径约 150 nm)支架中, 开发出具有高通量, 低压降和高效截留细菌与噬菌体的复合纳米纤维微滤(MF)膜(如图 7 所示)。该 MF 膜具有良好的机械性能和高表面电荷密度。相较于商业 MF 膜, 该膜对染料的吸附能力是商业产品的 16 倍。研究证明, 随着 TOCNs 的加入, 纳米纤维支架的孔径减小, 纯水的流量减少约 28%。因此该膜非常适合用于湖泊、河流和池塘的低能耗饮用水净化。纳米纤维素具有优异的生物可降解性, 因而, 其所制成的水过滤膜的使用寿命具有天然的限制, 有待进一步研究提高。

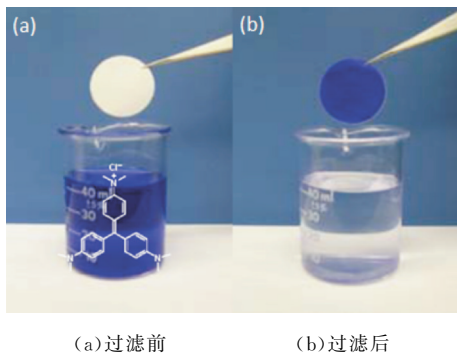


图 7 MF 复合膜过滤前后的照片^[43]

传统的超滤(UF)或纳滤(NF)水处理过滤器通常是基于多孔膜,由浸渍法制造.其中扭曲孔隙率会导致相对较低的通量率.而高通量静电纺(ES)纳米纤维膜以其高孔隙率、良好的互连性和高比表面积,引起了人们对超滤或纳滤应用的极大兴趣. Cao 等^[44]介绍了一种新型双层 PAN 静电纺纳米纤维膜,并用 TEMPO 选择性氧化黄麻纤维素纳米晶(JCNs)增强的 JCNs-PAN 复合纳米纤维膜. 对其性能表征发现,该复合膜具有良好的过滤性能. 通过以乳化油/水混合物为原料,采用紫外可见光谱法对 JCNs 包覆的 PAN 膜进行超滤. 结果表明,该膜的抑油率达 99.5% 以上,且滤液含油浓度小于 5.5 ppm,完全符合废水排放环境标准(<10 ppm). 由此可见,该复合膜系统是处理油水废水的良好选择.

在过滤分离过程中,若薄膜被污染堵塞,会直接导致分离效率的大幅下降. Wang 等^[45]以交联聚乙二醇(PEG)和 TOCNs 制备了纳米纤维超滤膜. 交联 PEG 填充了 TOCNs 间的空隙,从而减小了 PEG/TOCNs 孔径(约为 5 nm),进而得到结构更为致密的超滤膜. 所得的复合阻隔层亲水性好,防污能力高. 此外,该膜在防污性能和回收能力等方面显著优于具有类似过滤性能的商业膜(如 Pall Life Sciences omega 膜和 Koch HFK 328 膜). 在长时间的测试中,复合膜的通量大约是商业膜的两倍,且污垢阻隔性保持在 90% 以上. 另外,鉴于该膜的高密度、小孔径及亲水性,其可用于蛋白质分离或药物应用等.

1.3 吸附膜

近年来,纳米纤维素、氧化石墨烯(GO)及其复合材料因其独特的吸附能力、机械特性、表面电荷密度、配位过渡金属离子能力等在水净化领域引起了大量研究人员的关注. Zhu 等^[46]采用真空过滤法将 TOCNs 与氧化石墨烯片或氧化石墨烯纳米胶体杂化物复合,以期用作水净化的自组装吸附膜材料(如图 8 所示). 由于 TOCNs 对 Cu^{2+} 具有良好的吸附能力,且吸附后的 Cu^{2+} 可实现 TOCNs 和 GO 间的离子交联,在水中形成独特的“吸附态”. 因此该复合膜在多次吸附-解吸循环和强超声

作用下仍能保持独特的水解稳定性及可回收性. 得益于 TOCNs/GO 膜的高吸附容量、柔韧性、水解稳定性及机械强度,该复合膜有望成为具有协同性能的新型水净化膜.

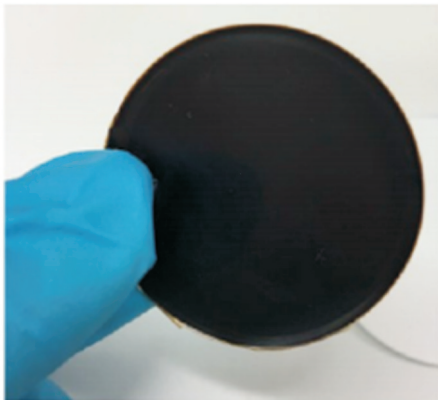


图 8 TOCNs/GO 生物混合膜^[46]

由于 TOCNs 与带正电荷的金属离子通过表面羧基的静电吸引而发生相互作用,因此 TOCNs 显示出净化污水中金属离子的生物修复潜力. 有研究表明, Cu^{2+} 在 TOCNs 上的吸附随羧酸基团含量的增加呈线性增加. 由于 TOCNs 在低 pH 下具有较低的金属结合能力,因此可以在酸性环境中回收金属^[47](如图 9 所示). 此外,研究发现 TOCNs 与甲壳素纳米纤维在 PET 膜表面进行层层自组装修饰所得的膜具有亲水性,且对带电或不带电的染料均有较强的吸附作用^[48]. Yang 等^[49]则以 TOCNs 嵌入静电纺 PAN 支架中,并在 TOCNs 上接枝半胱氨酸,通过化学改性,在提高了 TOCNs 比表面积的同时更赋予了其新的硫醇基团. 大大提升了对 Cr^{6+} 和 Pb^{2+} 的吸附能力. 结果证实改性 TOCNs/PAN 复合膜对 Cr^{6+} 和 Pb^{2+} 两种重金属离子的吸附能力分别可达 87.5 mg/g 及 137.7 mg/g. 与此同时,该膜结构性能稳定,可多次回用,不失为一种绿色有发展前景的材料. 吸附性能与材料本身的结构具有较大关系,因此,通过纳米纤维素膜材料的结构调控,以进一步提高其吸附能力仍然需要进一步研究.

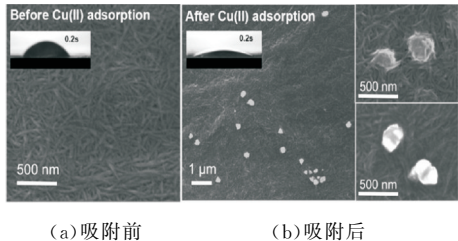


图 9 吸附铜(II)前后 TOCNs 膜的 SEM 图像^[47]

Sone 等^[50]将具有羧酸钠基团的 TOCNs-Na 分散在水中,其所携带的 Na^+ 通过简单的离子交换处理,可以与其他金属离子(Mn^+)进行有效交

换,在一定条件下,获得均匀的 TOCNs-M 水分散体,将其涂覆在滤纸上可以形成一层复合薄膜.经研究发现,以含有 Cu^{2+} 的 TOCNs-Cu 及 Ag^{+} 的 TOCNs-Ag 涂覆的滤纸具有很好的吸附除臭作用,能够有效分解或吸附 H_2S 和 CH_3SH 气体.基于此,该膜适用于除臭剂方面应用.

一直以来,温室气体引起的气候变化及全球变暖是全人类共同面对的严重环境问题,而全球变暖的首要因素即由过量的 CO_2 气体排放导致.同时,农业废弃物中也释放出以 NH_3 气体为主的含氮气体.为控制温室气体排放,现有的吸附气体材料中,碳、金属、半导体等功能纳米材料由于体积过小、毒性过强而受到限制.因此,合适的支架对于吸附材料具有重要意义. Shah 等^[51]采用 TOCNs 与阳离子和阴离子交换有机黏土(锂皂石、绢云母、水滑石)杂交,加载聚(酰氨基胺)树枝状大分子制备出有机黏土/TOCNs 复合薄膜用于气体吸附.研究发现,随着有机黏土量的增加,吸附在阳离子树枝状大分子上的 CO_2 分子和吸附在阴离子树枝状大分子上的 NH_3 分子相应增加(如图 10 所示).其中,不含有机黏土的 TOCNs 膜吸附 NH_3 约 9~10 mg/g (TOCNs),明显高于 CO_2 吸附量(低于 2.5 mg/g (TOCNs)).而不同有机黏土复合 TOCNs 对该两种气体的吸附经测试可知,水滑石/TOCNs 薄膜对其两种气体的吸附率最高,可达约 30 mg/g.因此,本研究将有助于开发具有选择性吸附特定气体的吸附剂.

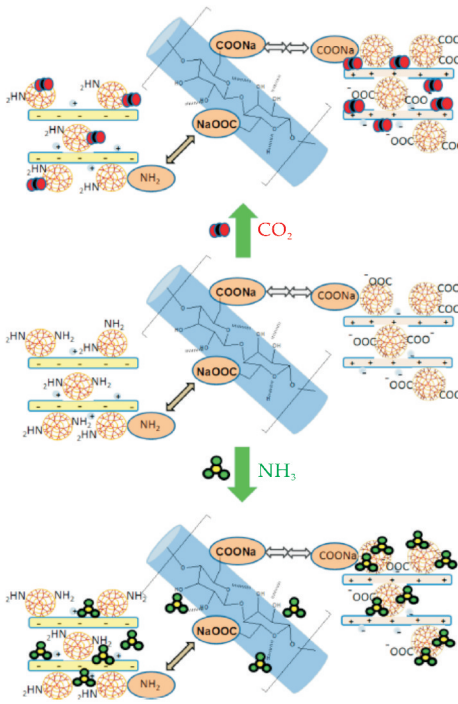
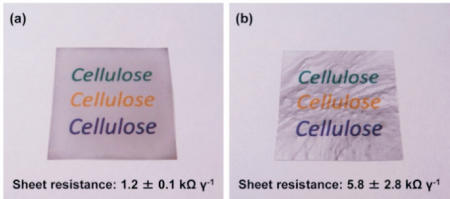


图 10 CO_2 和 NH_3 气体吸附在有机黏土/TOCNs 薄膜上的示意图^[51]

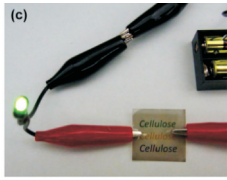
1.4 导电膜

TOCNs 热膨胀性低且电解质吸收性能好,是超级电容器的良好基材.并且,与传统基材(如玻璃、塑料)相比,TOCNs 无需使用任何表面预处理. Wang 等^[52]在研究中将 GO 纳米片和聚(3,4-乙烯二氧噻吩:聚苯乙炔磺酸盐)(PEDOT-PSS)纳米颗粒为载体,分别以带正电荷的聚苯胺(PANI)纳米线在 TOCNs 纸上沉积,制备出多层薄膜电极.进而制备了两种不同的透明柔性薄膜超级电容器 S-PG-8 和 S-PP-8.进一步通过氢碘酸(HI)酸化还原转化为导电 TOCNs/[PANI-RGO]_n (CPRG-n)膜.电化学测试结果显示,CPRG-8 电极可以有效促进电解质离子扩散,其电化学性能更为优异,而原因在于还原氧化石墨烯(RGO)的双电层(EDL)电容性和 PANI 的伪电容性的协同作用.当电流密度为 0.004 3 mA cm⁻² 时,S-PG-8 的面积电容可达 5.86 mF cm⁻².而在相同电流密度时,S-PP-8 的面积电容仅为 4.22 mF cm⁻².同时,S-PG-8 也表现出良好的循环稳定性.然而,S-PP-8 电容在长期循环中是不稳定的.此外,良好的透明性是透明柔性器件的关键,透明柔性薄膜超级电容器具有良好的弯曲稳定性.其中,S-PG-8 的透射率约为 47.1% (550 nm),而 S-PP-8 的透射率仅约为 30.6% (550 nm).由此得以看出,拥有各项优异性能的 CPRG-n 导电膜将具有良好的应用前景.

Koga 等^[53]利用 TOCNs 作为基体,将含有大量羧酸钠基团的 TOCNs 与经硝酸处理过的表面带有羧基的单壁碳纳米管(CNTs)混合浇铸成膜,从而制备了具有超强、超薄、柔韧、透明、导电的纳米复合膜材料.其中,表面阴离子化的 TOCNs 可以作为 CNTs 的分散剂,促进 CNTs 在水中均匀分散.并且,TOCNs 表面大量的羧酸钠基团能够实现离子传导,有效提高 CNTs/TOCNs 复合膜的导电性(如图 11 所示).经研究对比发现,CNTs/TOCNs 薄膜比其他 CNTs/聚合物薄膜(包括再生纤维素^[54]、细菌纤维素^[55]、聚乙烯(PE)^[56]、聚苯乙烯(PS)^[57]、及聚酰胺-6^[58])具有更高的导电性(高达 10 S cm⁻¹),并且 CNTs/TOCNs 薄膜的电阻更是低至 300 Ω,充分表明了其优异的导电性.该研究表明该膜不仅有望应用于下一代柔性电子产品,更为实现绿色柔性电子器件提供了一条很有前景的途径.



(a) CNTs/TOCNs 膜 (b) CNTs/PET 膜光学
光学图像及电阻值 图像及电阻值



(c)基于 CNTs/TOCNs 涂覆 PET 透明导电薄膜 LED 响应
图 11 基于 CNTs/TOCNs 复合薄膜导电性^[53]

Jradi 等^[26]采用水介质中吡咯表面化学聚合诱导吸附法,以 FeCl_3 为氧化剂,通过吡咯溶液化学氧化聚合使聚吡咯纳米粒子连续均匀地包覆在 TOCNs 网络表面,原位合成了兼具优异力学性能和高导电性的 TOCNs/聚吡咯(PPy)柔性复合薄膜,其整体电导率(σ)约为 3 S cm^{-1} . 此外,研究还证实通过添加聚乙烯醇(PVA)可以进一步提高复合膜的柔韧性(可弯曲至 180°)(如图 12 所示),且对导电性没有不利影响. 该 TOCNs/PPy 复合薄膜以其优异的力学、导电性能有望应用于传感器、柔性电极等导电柔性薄膜领域.

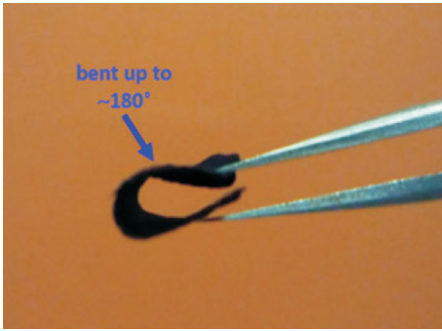
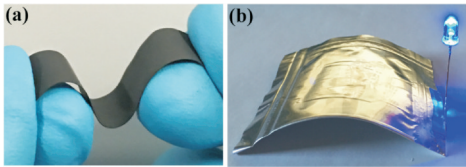


图 12 PVA/TOCN/PPy 复合薄膜卷曲的光学图像^[26]

由于锂离子电池具有能量密度高、功率密度大、长期稳定的特点^[59],因而柔性锂离子电池被视为未来发展柔性电子器件的关键部件,在可弯曲和可穿戴电子设备中的应用受到人们越来越多的关注^[60]. TOCNs 可作为一种具有良好机械性能的柔性锂离子电池粘结剂,Lu 等^[61]发现在制备电极时,4 wt% 的 TOCNs 便具有良好的结合性能. 该研究采用传统造纸工艺,将具有不同重量比的 LiFePO_4 、石墨、Super-P 碳及 TOCNs 的悬浮液经真空过滤,并在 110°C 下真空干燥制备得到柔性纸电极(如图 13 所示). 研究表明,将碳酸亚乙烯酯(VC)添加到电解质中对 LiFePO_4 电极和石墨电极的比容量和库仑效率(CE)均有积极影响. 并且在制备电极期间增加干燥时间可改善 LiFePO_4 电极的电化学性能,但对石墨电极则具有明显的负面影响.



(a)柔性正纸电极 (b)弯曲电池
图 13 TOCNs 对柔性电极的影响^[61]

2 结论

TOCNs 不仅具有纤维素的诸多优点,而且其良好的成膜性及纳米尺寸效应使其能够制成功能性膜材料,在诸多领域具有潜在应用. 今后的研究应当继续着力于新型功能膜材料的开发,在充分发挥 TOCNs 自身特点的同时,借助其他功能性物质赋予膜材料新的结构与功能,如纳米纤维素膜对水蒸气的阻隔性以及相应功能膜材料的性能优化,以此充分打开 TOCNs 下游市场. 这不但能够为纳米纤维素的生产制造技术的提升与改进提供动力,降低销售价格,而且能够加速纳米纤维素的产业化应用推广,真正使其能够服务于国民生产生活.

参考文献

[1] Dincer I. Renewable energy and sustainable development: A crucial review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2000, 4(2): 157-175.

[2] Bledzki A K, Gassan J. Composites reinforced with cellulose based fibres[J]. Progress in Polymer Science, 1999, 24(2): 221-274.

[3] Klemm D, Heublein B, Fink H P, et al. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2005, 44(22): 3358-3393.

[4] Brown Jr R M, Saxena I M, Kudlicka K. Cellulose biosynthesis in higher plants[J]. Trends in Plant Science, 1996, 1(5): 149-156.

[5] Šturcová A, Davies G R, Eichhorn S J. Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers[J]. Biomacromolecules, 2005, 6(2): 1055-1061.

[6] Römmling U. Molecular biology of cellulose production in bacteria[J]. Research in Microbiology, 2002, 153(4): 205-212.

[7] Habibi Y, Lucia L A, Rojas O J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications[J]. Chemical Reviews, 2010, 110(6): 3479-3500.

[8] Charreau H, Foresti M, Vazquez A. Nanocellulose patents trends: A comprehensive review on patents on cellulose nanocrystals, microfibrillated and bacterial cellulose[J]. Recent Patents on Nanotechnology, 2013, 7(1): 56-80.

- [9] De France K J, Hoare T, Cranston E D. Review of hydrogels and aerogels containing nanocellulose[J]. *Chemistry of Materials*, 2017, 29(11): 4 609-4 631.
- [10] Kim J H, Shim B S, Kim H S, et al. Review of nanocellulose for sustainable future materials[J]. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing-Green Technology*, 2015, 2(2): 197-213.
- [11] Chirayil C J, Mathew L, Thomas S. Review of recent research in nano cellulose preparation from different ligno-cellulosic fibers[J]. *Reviews on Advanced Materials Science*, 2014, 37: 20-28.
- [12] Fukuzumi H, Saito T, Iwata T, et al. Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation [J]. *Biomacromolecules*, 2008, 10(1): 162-165.
- [13] Dong X M, Revol J F, Gray D G. Effect of microcrystallite preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose[J]. *Cellulose*, 1998, 5(1): 19-32.
- [14] Marchessault R H, Morehead F F, Walter N M. Liquid crystal systems from fibrillar polysaccharides [J]. *Nature*, 1959, 184(4 686): 632-633.
- [15] Peng B L, Dhar N, Liu H L, et al. Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: A nanotechnology perspective[J]. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 2011, 89(5): 1 191-1 206.
- [16] Johar N, Ahmad I, Dufresne A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk[J]. *Industrial Crops and Products*, 2012, 37(1): 93-99.
- [17] Lu P, Hsieh Y L. Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(2): 329-336.
- [18] Henriksson M, Henriksson G, Berglund L A, et al. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers[J]. *European Polymer Journal*, 2007, 43(8): 3 434-3 441.
- [19] Nakagaito A N, Yano H. The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of high-strength plant fiber based composites[J]. *Applied Physics A*, 2004, 78(4): 547-552.
- [20] Wågberg L, Decher G, Norgren M, et al. The build-up of polyelectrolyte multilayers of microfibrillated cellulose and cationic polyelectrolytes[J]. *Langmuir*, 2008, 24(3): 784-795.
- [21] Battista O A. Microcrystal polymer science[M]. New York: Elsevier, 1975: 624-625.
- [22] Hult E L, Iversen T, Sugiyama J. Characterization of the supermolecular structure of cellulose in wood pulp fibres [J]. *Cellulose*, 2003, 10(2): 103-110.
- [23] Henriksson M, Henriksson G, Berglund L A, et al. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers[J]. *European Polymer Journal*, 2007, 43(8): 3 434-3 441.
- [24] Isogai A, Saito T, Fukuzumi H. TEMPO-oxidized cellulose nanofibers[J]. *Nanoscale*, 2011, 3(1): 71-85.
- [25] Saito T, Kimura S, Nishiyama Y, et al. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose[J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(8): 2 485-2 491.
- [26] Jradi K, Bideau B, Chabot B, et al. Characterization of conductive composite films based on TEMPO-oxidized cellulose nanofibers and polypyrrole[J]. *Journal of Materials Science*, 2012, 47(8): 3 752-3 762.
- [27] Mishra S P, Thirree J, Manent A S, et al. Ultrasound-catalyzed TEMPO-mediated oxidation of native cellulose for the production of nanocellulose: Effect of process variables[J]. *Bio Resources*, 2011, 6(1): 121-143.
- [28] Johnson R K, Zink Sharp A, Glasser W G. Preparation and characterization of hydrophobic derivatives of TEMPO-oxidized nanocelluloses[J]. *Cellulose*, 2011, 18(6): 1 599-1 609.
- [29] Saito T, Kimura S, Nishiyama Y, et al. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose[J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(8): 2 485-2 491.
- [30] Fukuzumi H, Saito T, Isogai A. Influence of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril length on film properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 93(1): 172-177.
- [31] Dai L, Wang B, Long Z, et al. Properties of hydroxypropyl guar/TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils composite films[J]. *Cellulose*, 2015, 22(5): 3 117-3 126.
- [32] Dai L, Long Z, Chen J, et al. Robust guar gum/cellulose nanofibrils multilayer films with good barrier properties [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(6): 5 477-5 485.
- [33] Dai L, Long Z, Zhao Y, et al. Comparison of hydroxypropyl and carboxymethyl guar for the preparation of nanocellulose composite films [J]. *Cellulose*, 2016, 23(5): 2 989-2 999.
- [34] Fukuzumi H, Saito T, Isogai A. Influence of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril length on film properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 93(1): 172-177.
- [35] Fukuzumi H, Fujisawa S, Saito T, et al. Selective permeation of hydrogen gas using cellulose nanofibril film[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(5): 1 705-1 709.
- [36] Fujisawa S, Okita Y, Fukuzumi H, et al. Preparation and characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films with free carboxyl groups[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(1): 579-583.
- [37] Roilo D, Maestri C A, Scarpa M, et al. Gas barrier and optical properties of cellulose nanofiber coatings with dispersed TiO₂ nanoparticles[J]. *Surface and Coatings Technology*, 2018, 343: 131-137.

- [38] Wu C N, Saito T, Fujisawa S, et al. Ultrastrong and high gas-barrier nanocellulose/clay-layered composites[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(6): 1 927-1 932.
- [39] Soni B, Schilling M W, Mahmoud B. Transparent bio-nanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 151: 779-789.
- [40] Ma H, Burger C, Hsiao B S, et al. Fabrication and characterization of cellulose nanofiber based thin-film nanofibrous composite membranes[J]. *Journal of Membrane Science*, 2014, 454: 272-282.
- [41] Kong L, Zhang D, Shao Z, et al. Superior effect of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils (TOCNs) on the performance of cellulose triacetate (CTA) ultrafiltration membrane[J]. *Desalination*, 2014, 332(1): 117-125.
- [42] Hassan M, Hassan E, Fadel S M, et al. Metallo-terpyridine-modified cellulose nanofiber membranes for paper-making wastewater purification[J]. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2018, 28(2): 439-447.
- [43] Ma H, Burger C, Hsiao B S, et al. Nanofibrous microfiltration membrane based on cellulose nanowhiskers[J]. *Biomacromolecules*, 2011, 13(1): 180-186.
- [44] Cao X, Huang M, Ding B, et al. Robust polyacrylonitrile nanofibrous membrane reinforced with jute cellulose nanowhiskers for water purification [J]. *Desalination*, 2013, 316: 120-126.
- [45] Wang Z, Ma H, Hsiao B S, et al. Nanofibrous ultrafiltration membranes containing cross-linked poly (ethylene glycol) and cellulose nanofiber composite barrier layer [J]. *Polymer*, 2014, 55(1): 366-372.
- [46] Zhu C, Liu P, Mathew A P. Self-assembled TEMPO cellulose nanofibers; Graphene oxide-based biohybrids for water purification[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(24): 21 048-21 058.
- [47] Sehaqui H, de Larraya U P, Liu P, et al. Enhancing adsorption of heavy metal ions onto biobased nanofibers from waste pulp residues for application in wastewater treatment[J]. *Cellulose*, 2014, 21(4): 2 831-2 844.
- [48] Qi Z D, Saito T, Fan Y, et al. Multifunctional coating films by layer-by-layer deposition of cellulose and chitin nanofibrils[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(2): 553-558.
- [49] Yang R, Aubrecht K B, Ma H, et al. Thiol-modified cellulose nanofibrous composite membranes for chromium (VI) and lead (II) adsorption[J]. *Polymer*, 2014, 55(5): 1 167-1 176.
- [50] Sone A, Saito T, Isogai A. Preparation of aqueous dispersions of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils with various metal counterions and their super deodorant performances[J]. *ACS Macro Letters*, 2016, 5(12): 1 402-1 405.
- [51] Shah K J, Imae T. Selective gas capture ability of gas-adsorbent-incorporated cellulose nanofiber films[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(5): 1 653-1 661.
- [52] Wang X, Gao K, Shao Z, et al. Layer-by-layer assembled hybrid multilayer thin film electrodes based on transparent cellulose nanofibers paper for flexible supercapacitors applications[J]. *Journal of Power Sources*, 2014, 249: 148-155.
- [53] Koga H, Saito T, Kitaoka T, et al. Transparent, conductive, and printable composites consisting of TEMPO-oxidized nanocellulose and carbon nanotube[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(4): 1 160-1 165.
- [54] Kim D H, Park S Y, Kim J, et al. Preparation and properties of the single-walled carbon nanotube/cellulose nanocomposites using N-methylmorpholine-N-oxide monohydrate[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2010, 117(6): 3 588-3 594.
- [55] Yoon S H, Jin H J, Kook M C, et al. Electrically conductive bacterial cellulose by incorporation of carbon nanotubes[J]. *Biomacromolecules*, 2006, 7(4): 1 280-1 284.
- [56] O'Connor I, De S, Coleman J N, et al. Development of transparent, conducting composites by surface infiltration of nanotubes into commercial polymer films[J]. *Carbon*, 2009, 47(8): 1 983-1 988.
- [57] Mu M, Walker A M, Torkelson J M, et al. Cellular structures of carbon nanotubes in a polymer matrix improve properties relative to composites with dispersed nanotubes[J]. *Polymer*, 2008, 49(5): 1 332-1 337.
- [58] Meincke O, Kaempfer D, Weickmann H, et al. Mechanical properties and electrical conductivity of carbon-nanotube filled polyamide-6 and its blends with acrylonitrile/butadiene/styrene[J]. *Polymer*, 2004, 45(3): 739-748.
- [59] Etacheri V, Marom R, Elazari R, et al. Challenges in the development of advanced Li-ion batteries: A review[J]. *Energy & Environmental Science*, 2011, 4(9): 3 243-3 262.
- [60] Li W, Yang L, Wang J, et al. Three-dimensionally interconnected TaS₃ nanowire network as anode for high-performance flexible li-ion battery[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(10): 5 629-5 633.
- [61] Lu H, Behm M, Leijonmarck S, et al. Flexible paper electrodes for li-ion batteries using low amount of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils as binder[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(28): 18 097-18 106.

【责任编辑:陈佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0124-07

PLA/杨木粉末木塑复合材料的配方优化与力学性能研究

葛正浩, 邹辛祺, 陈 威*, 常玉珍

(陕西科技大学 机电工程学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:针对绿色环保材料——聚乳酸(PLA)的脆性和结晶问题,本研究通过加入填料——杨木粉的方法以期改善其物理、力学性能.通过注射成型制备出以聚乳酸为基体、杨木粉为填料的 PLA/杨木粉末木塑复合材料,并逐次改变甘油、增塑剂、增韧剂等助剂含量,以期获得优化的 PLA/杨木粉末木塑复合材料配方.研究结果显示,添加杨木粉后,PLA 聚合物的韧性有所提升,但拉伸强度和弯曲强度却有所下降.为改善其弯曲强度与拉伸强度,实验添加甘油作为相容剂,改善两相相容性,以期拉伸强度和弯曲强度有所提升,但韧性却略有下浮.为了进一步在保持弯曲和拉伸性能的前提下改善其塑性和韧性,实验在此基础上再逐次添加不同含量的增塑剂 DOP 与增韧剂 PBS,最终获得较佳的力学性能.实验结果表明,当在 PLA/20%杨木粉复合材料中添加 6%甘油、8%DOP、35%PBS 时,其综合力学性能达到最佳.

关键词:聚乳酸;杨木粉;复合材料;力学性能
中图分类号:TB332 **文献标志码:**A

Research on formula optimization and mechanical properties of PLA/Poplar Powder Wood-Plastic Composites

GE Zheng-hao, ZOU Xin-qi, CHEN Wei*, CHANG Yu-zhen

(College of Mechanical and Electrical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Aiming at the brittleness and crystallization of environmental protection material-poly-lactic acid (PLA), the physical and mechanical properties of PLA can be improved by adding filler-Poplar powder. PLA/Poplar Powder Wood-Plastic Composites were prepared by injection moulding with poly-lactic acid as matrix and poplar powder as filler. On this basis, the mechanical properties of PLA/Poplar Powder Wood-Plastic Composites were studied by changing the content of single additive step by step. Finally, the formula of PLA/Poplar Powder Wood-Plastic Composites with the best mechanical properties was obtained. The original purpose of this study was to increase the toughness and reduce the cost by adding poplar powder to improve its toughness. However, the tensile and bending strength of the composites decreased due to the addition of poplar powder. In order to improve this phenomenon, glycerol was added as compatibilizer to improve the compatibility of PLA and poplar powder,

* 收稿日期:2019-10-11
基金项目:陕西省科技厅自然科学基金项目(2018JM5056);陕西省科技厅重点研发计划项目(2018YBXM-G-3-3)
作者简介:葛正浩(1964—),男,上海人,教授,研究方向:生物质复合材料制备
通讯作者:陈 威(1981—),女,吉林榆树人,副教授,博士,研究方向:材料成型技术及陶瓷摩擦学,chenweijd@sust.edu.cn

so as to improve the tensile and bending properties of the composite. However, the addition of glycerol reduced the toughness of the composites slightly. In order to further improve its toughness under the premise of maintaining tensile and bending strength, plasticizer DOP and flexibilizer PBS were added respectively on this basis, and the addition amount was changed to obtain PLA/ Poplar Powder Wood-Plastic Composites with better mechanical properties. The experimental results showed that the best mechanical properties of the composites were obtained when 6% glycerol, 8% DOP and 35% PBS were added. Compared with the PLA/ Poplar Powder Wood-Plastic Composites with only 20% poplar powder before optimization, the bending and impact properties of the composites are improved while retaining better toughness.

Key words: polylactic acid; Poplar Powder; composite material; mechanical properties

0 引言

随着环保力度的不断加大,世界各国都在最大限度地减少对化石燃料基聚合物的依赖程度,PLA作为一种具有生物降解功能的绿色环保聚合物材料逐渐受到学者们的重视^[1-3]。相比其他材料,聚乳酸最突出的特点是在自然界的可循环性。然而脆性大、结晶能力弱等缺陷限制了 PLA 在工业方面的应用,目前制约 PLA 材料发展的重要因素之一是力学性能不足^[4,5]。因此,发展和研究制备满足力学性能的 PLA 复合材料具有显著意义。与此同时,资源危机和生态问题引发了全世界对可持续发展和保护生态环境的热潮,许多满足环保要求的新材料不断涌现^[6-9],其中木塑复合材料是一种很有发展潜力的新型材料,木粉的加入在降低塑料表观密度同时降低成本,扩大其应用范围^[10-14]。PLA/木塑复合材料越来越成为研究热点。学者们以 PLA 为基体,木塑为填料,添加不同助剂以进一步提高其力学性能。

杨龙^[15]研究了木粉、甘油对 PLA/木粉复合材料力学性能的影响。结果表明,改变木粉的比例时,木粉和聚乳酸的比例为 3:7 时,复合材料的力学最佳。该实验还以甘油、乙二醇和聚乙二醇 400 为相容剂,探索改善复合材料中木粉与聚乳酸的相容性。结果表明:选用甘油为相容剂时,木粉和聚乳酸的相容性更好。当甘油的用量为 6% 时,木粉和聚乳酸的相容性最佳,复合材料的力学性能最优。酒巧娜等^[16]研究了增韧剂 PBS 对两种新型聚乳酸复合材料性能的影响,结果表明:当 PBS 添加量为 10% 以上,复合材料的力学性能较好,当添加量为 25% 时,力学性能达到稳定;刘淑琼等^[17]研究了不同增塑剂对 PLA 复合材料的性能影响,结果表明:多种增塑剂均有利于提高复合材料的力学性能,当增塑剂含量为 9% 时,力学性能最优。

目前,学者们主要研究了单一助剂变量对

PLA/木塑复合材料的影响,关于添加多种助剂对 PLA 复合材料力学性能的影响研究还较少。基于此,本研究在此基础上,选择学者们研究单一助剂最优含量的近似值,以 PLA 为基体,杨木粉为填料,甘油为相容剂,DOP 为增塑剂,PBS 为增韧剂并逐一改变四种填料添加量,研究其添加量对 PLA/木塑复合材料力学性能的影响,最终获得改善力学性能的 PLA/杨木粉复合材料。为绿色环保材料 PLA/杨木粉基复合材料的应用提供一定的理论依据,同时也为后期的进一步研究提供可靠依据。

1 实验部分

1.1 实验材料及制备

1.1.1 实验材料

本实验采用的 PLA 基础粉末为工业级,深圳光华伟业实业有限公司;填料采用直径为 50 目的工业级杨木粉,黑龙江省拜泉县木塑复合材料基地;相容剂采用分析纯等级的甘油郑州佳荣化工产品有限公司;增韧剂采用 PBS 购于日本昭和 3001;增塑剂采用分析纯等级的 DOP 无锡市亚泰联合化工有限公司。

1.1.2 材料的制备

将 50 目的杨木粉放入干燥箱中 80 °C 下干燥 4 h,PLA 在 50 °C 下干燥 2 h,后放入高速混炼机在 120 °C,1 500 r/min 参数下共混 15 min,后在注射机锁模(压力为 150 MPa,螺杆进料量 45),保压时间 12 s,温度控制三段(170 °C、170 °C、165 °C)下进行注射成型。

1.2 实验设备及性能测试

1.2.1 实验设备

本实验中,塑料制备采用的全自动注射塑料成型机,TT1-130F2V,东华机械公司;干燥箱设备型号为 101A-1B;称重使用的电子秤,202-2,上海实

验仪器总厂;力学性能测试使用了拉伸试验机, CMT-5105, 深圳市新三思材料检测有限公司;悬臂梁冲击试验机 XJU-22, 君瑞仪器设备有限公司.

1.2.2 性能测试

拉伸性能按 GB/T1040. 1-2006 进行测试, 弯曲性能按 GB/T9341-2008 进行测试, 悬臂梁冲击性能按 GB/T1043. 1-2008 进行测试, 采用扫描电子显微镜观察复合材料断面形貌.

1.3 实验设计

实验以 PLA 为基体, 杨木粉为填料, 甘油为相容剂, DOP 为增塑剂, PBS 为增韧剂, 逐一改变四种填料添加量, 共设计并制备 12 组复合材料 (12 组复合材料组分设计见表 1).

首先, 本研究以 PLA 为基体, 通过添加填料杨木粉以实现增韧和降低成本的目的, 制备出杨木粉添加量为 10%、20%、30% 的复合材料, 并对其进行性能测试, 优化杨木粉成分. 但杨木粉的加入使复合材料的弯曲和拉伸性能有所下降, 为改善其弯曲和拉伸强度, 实验在 PLA-杨木粉复合材料的基础上, 添加不同含量 (3%、6%、9%) 的相容剂甘油, 制备出 PLA-杨木粉-甘油复合材料, 以期提高材料复合相之间的相容性, 以提高复合材料力学性能. 但甘油的添加却使得复合材料韧性有所下降.

为了进一步在保持拉伸和弯曲强度的前提下改善其韧性, 实验在此基础上分别添加 5%、8%、11% 的增塑剂 DOP, 并进一步添加 25%、35%、45% 增韧剂 PBS, 以期进一步提高材料的韧性, 实现复合材料的总体成分优化. 每组配方做三组测试取平均值. 同时, 利用电子扫描显微镜 (SEM) 对微观形貌进行观察, 结合试验数据, 揭示复合相在材料中的作用机理.

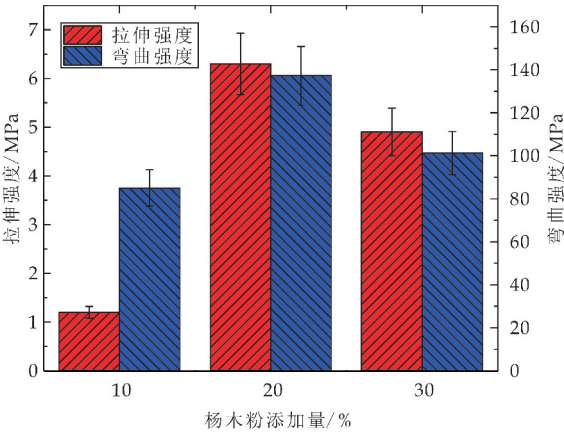
表 1 复合材料组分设计

序号	添加量/%				
	PLA (基体)	杨木粉 (填料)	甘油 (相容剂)	DOP (增塑剂)	PBS (增韧剂)
1	90	10	0	0	0
2	80	20	0	0	0
3	70	30	0	0	0
4	77	20	3	0	0
5	74	20	6	0	0
6	71	20	9	0	0
7	72	20	6	5	0
8	66	20	6	8	0
9	60	20	6	11	0
11	47	20	6	8	25
12	31	20	6	8	35
13	25	20	6	8	45

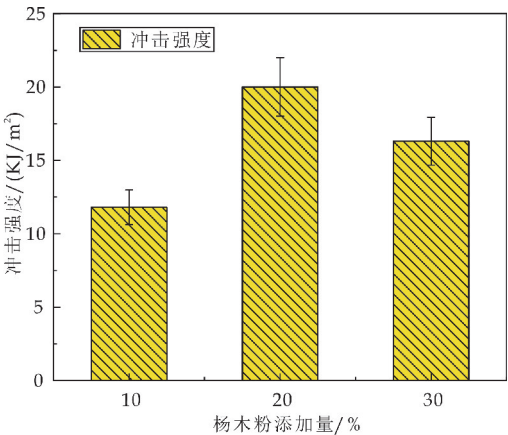
2 结果与讨论

2.1 杨木粉添加量对木塑复合材料的力学性能影响研究

添加不同含量杨木粉的复合材料的力学性能如图 1 所示. 由图 1 可知, 随着杨木粉含量的增加, 拉伸强度、弯曲强度以及冲击强度均随杨木粉的增加而呈先上升而后下降的趋势. 尤其当杨木粉含量为 20% 时, 其强度与韧性均较好.



(a) 拉伸强度、弯曲强度

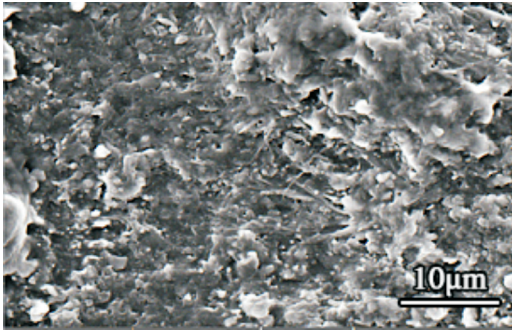


(b) 冲击强度

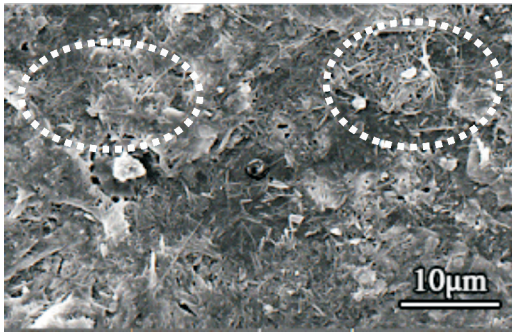
图 1 不同杨木粉添加量复合材料的力学性能

PLA-杨木粉复合材料的拉伸断面如图 2 所示. 由图 2 可知, 随着杨木粉含量的增加, 断面呈现出的杨木粉纤维逐渐明显. 尤其是当杨木粉含量为 20% 时, 杨木粉纤维分散在 PLA 基体中, PLA 充分包裹住杨木粉纤维, 且断面有纤维拔出的痕迹, 见图 2(b). 其他学者们亦发现, PLA 与加入的杨木粉会充分的互相包裹, 进而发生机械互锁, 提高其强度与韧性. 当杨木粉含量进一步增至 30%, 断面未见明显的纤维拔出现象, 且断面较为平滑, 见图 2(c). 分析认为, 杨木粉含量较多时易发生团

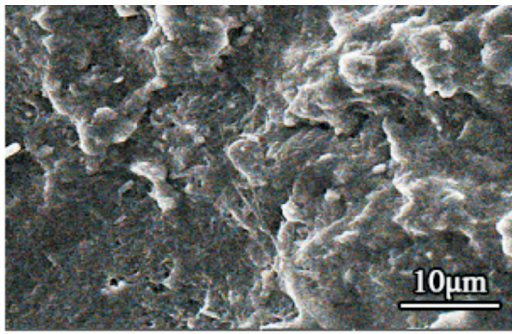
聚,无法起到良好的增韧与强化作用.同时亦有可能,杨木粉的极性羟基与聚乳酸的非极性分子相容性较差^[15],过多的杨木粉促使基体与复合相之间形成弱界面,无法起到增韧强化的作用.



(a)10% 杨木粉添加量



(b)20% 杨木粉添加量



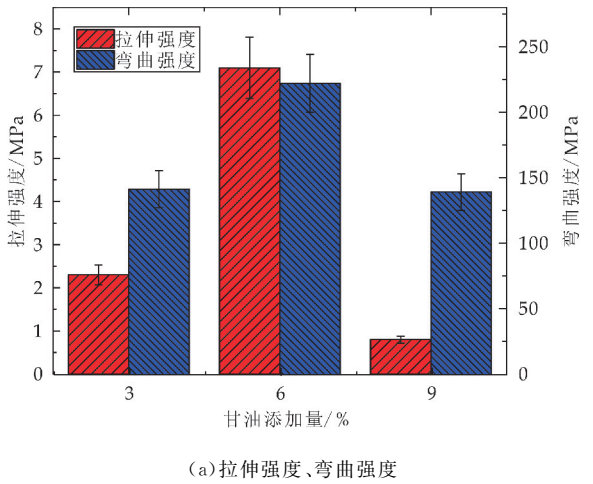
(c)30% 杨木粉添加量

图 2 不同含量杨木粉的 PLA/杨木粉 复合材料断面微观形貌图

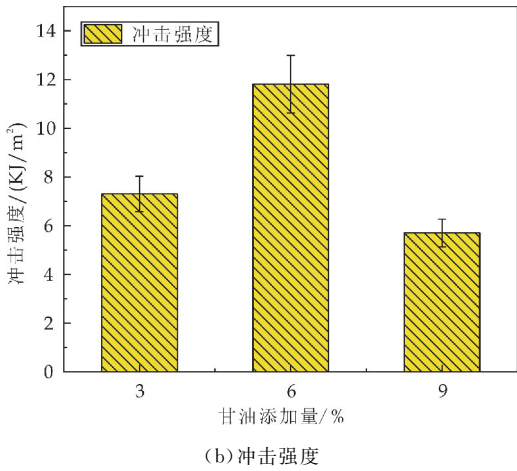
2.2 甘油含量对木塑复合材料的力学性能影响

杨木粉的添加提高了纯 PLA 的韧性,但弯曲强度以及拉伸强度相较纯 PLA 有所降低,为进一步提高其强度,本研究在 PLA-杨木粉复合材料的基础上,添加不同含量(3%、6%、9%)的相容剂甘油,制备出 PLA-杨木粉-甘油复合材料,以期获得较好的力学性能. 复合材料力学性能如图 3 所示. 由图 3 可知,随着甘油含量的增加,拉伸强度、弯曲强度以及冲击强度均随甘油的增加而呈先上升后下降的趋势. 尤其当甘油含量为 6%时,强度有所

提高,但韧性较仅添加杨木粉的复合材料有所下降.



(a)拉伸强度、弯曲强度



(b)冲击强度

图 3 不同甘油用量复合材料的 力学性能

试样拉伸断面的微观组织图如图 4 所示. 随着甘油含量的增加,复合材料断面所展示两相相容性逐渐改善. 当甘油添加量为 3%时,PLA-杨木粉相容性较差,两相界面清晰,并有很多细小的微粒分布在断面上,见图 4(a). 当甘油含量进一步增加至 6%时,复合材料断面两相相容性明显有所改善,虽有孔洞,但断面较为平滑,见图 4(b),两相相容性较好. 分析认为,甘油作为相容剂,能够帮助杨木粉分散在 PLA 基体中,增加两者之间的化学粘接性,柔顺 PLA 分子链,提高复合材料的相容性,一定程度上提高复合材料的力学性能. 但断面相比图 2 (b),明显纤维拔出的痕迹减少,韧性较未添加甘油时有所降低. 当甘油含量进一步增加至 9%时,虽断面较为平滑,但可明显看出 PLA 晶体上出现裂纹,见图 4(c). 分析认为,这是由于过多的甘油浸入到 PLA 晶体中,破坏了晶体结构^[15],导致复合材料的力学性能及韧性降低.

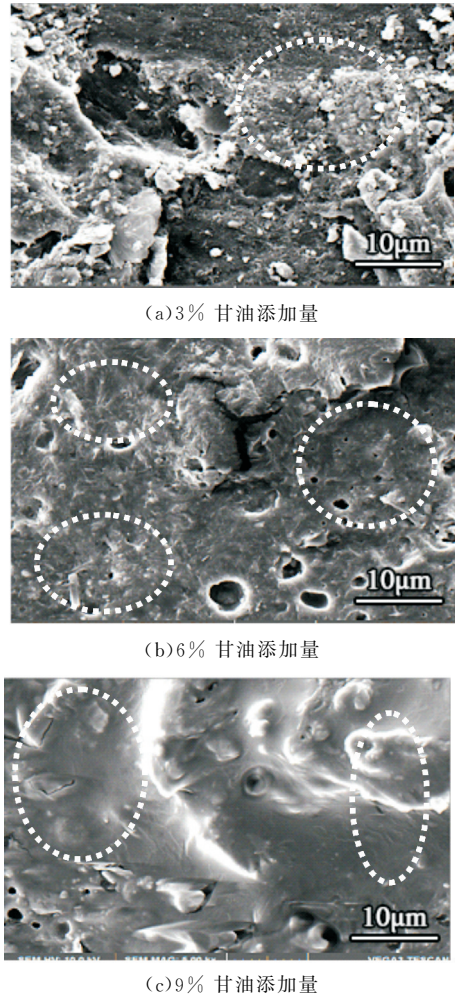


图 4 不同甘油含量的 PLA/杨木粉复合材料断面微观形貌图

2.3 DOP 含量对木塑复合材料的力学性能影响

添加甘油的复合材料韧性较未添加前有所降低,为了增加其韧性,实验在 PLA-杨木粉-甘油复合材料的基础上,分别添加 5%、8%、11% 的增塑剂 DOP,以期提高材料的塑韧性,优化 DOP 成分. 复合材料力学性能如图 5 所示. 由图 5 可知,随着 DOP 含量的增加,三个力学性能指标均呈现先增后减的趋势,尤其当 DOP 添加量为 8% 时,复合材料力学性能及韧性较未添加 DOP 前均有提高.

不同 DOP 含量的复合材料试样拉伸断面微观组织图见图 6 所示. 随着 DOP 的增加,复合材料断面的纤维形貌逐渐明显. 尤其是当 DOP 含量为 8% 时,断面明显有大量纤维拔出的痕迹,见图 6 (b),这是由于 DOP 可降低复合材料脆性,增大材料韧性,提高承载强度. 在适量 DOP 的作用下, PLA 与 DOP 低分子化合物相互溶解, DOP 的小分子会插入聚合物分子链之间,削弱聚合物分子间的次价键的移动性,降低了聚合物分子链间的缠结,从而使塑料的塑性增加^[16]. 当 DOP 含量进一

步增加至 11%,断面未见明显纤维拔出现象,且断面较平滑,有明显团聚现象. 分析认为,当 DOP 含量较多时,易使复合材料中的纤维团聚,形成较弱的结点,使力学性能及韧性略有降低.

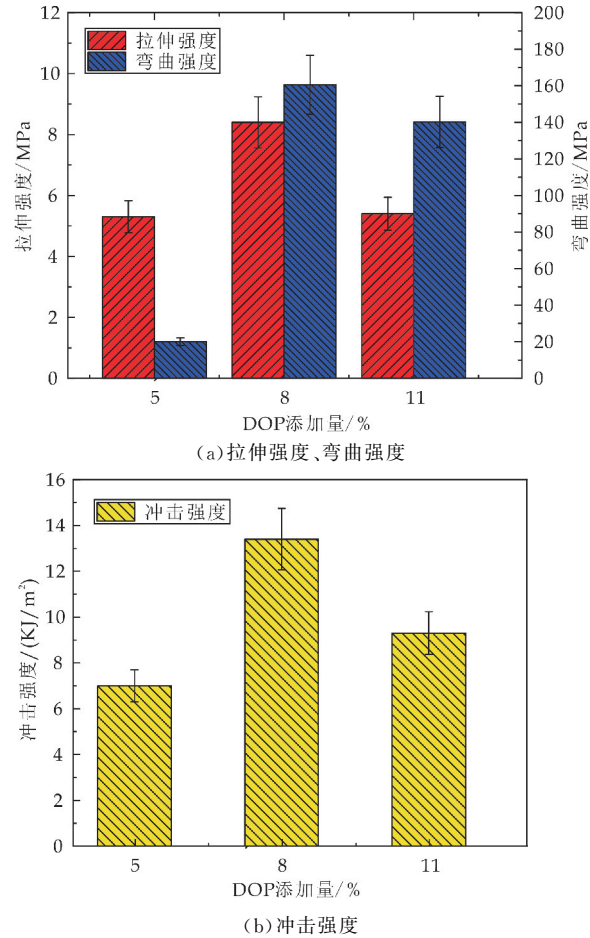
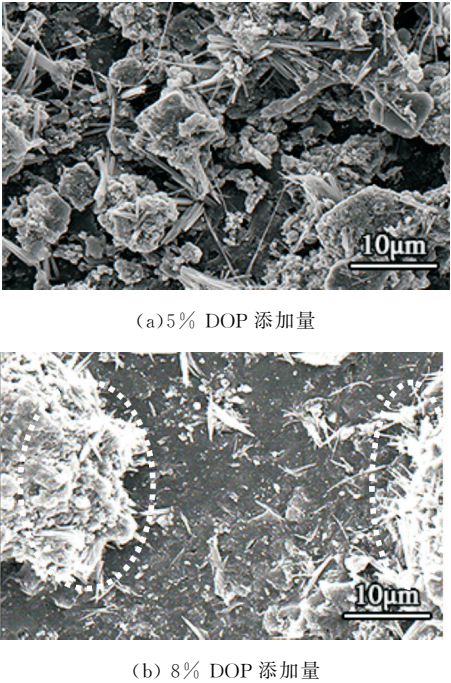
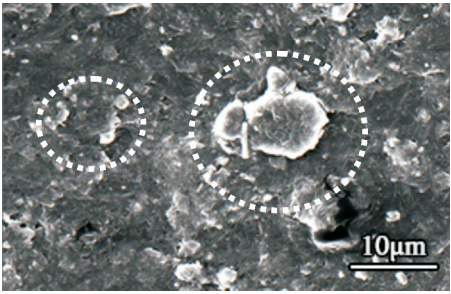


图 5 不同 DOP 用量复合材料的力学性能



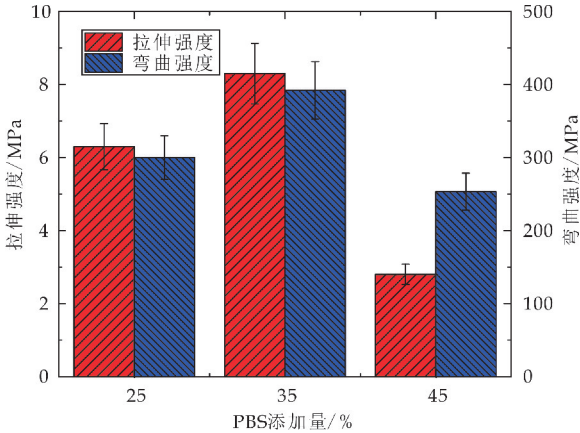


(c)11% DOP 添加量

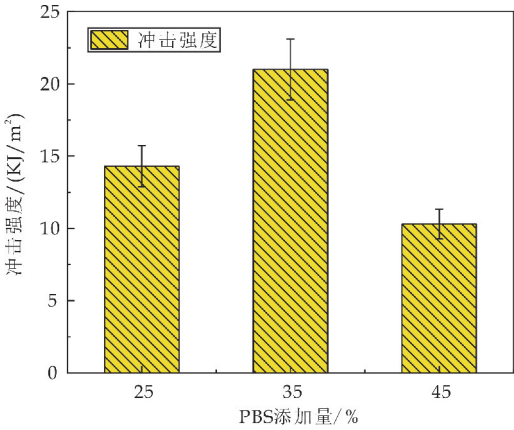
图 6 不同 DOP 含量的 PLA/杨木粉复合材料断面微观形貌图

2.4 PBS 含量对木塑复合材料的力学性能影响

添加了 DOP 的复合材料韧性有所改善,但相较仅添加杨木粉的复合材料,韧性仍有不足,为了进一步提高其韧性,实验在 PLA-杨木粉-甘油-DOP 复合材料的基础上,分别添加 25%、35%、45% 的增韧剂 PBS,实现复合材料的总体成分优化.复合材料力学性能如图 7 所示.由图 7 可知,随着 PBS 含量的增加,三个力学性能指标均呈现先增后减的趋势,尤其是 PBS 添加量为 35% 时,力学性能及韧性均最好,且相较未添加 PBS 前力学性能均达到最好.



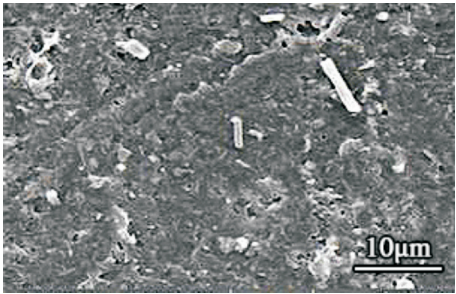
(a)拉伸强度、弯曲强度



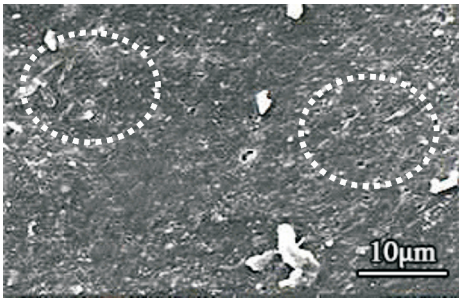
(b)冲击强度

图 7 不同增塑剂(PBS)用量复合材料的力学性能

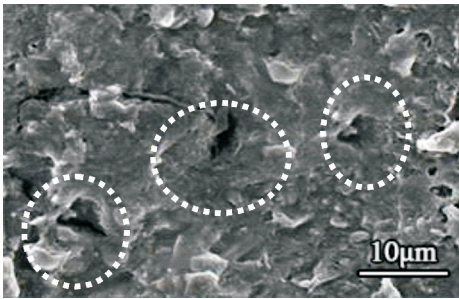
不同 PBS 含量木塑复合材料断面微观形貌图如图 8 所示.由图 8 可以看出,随着 PBS 含量由 25% 增加到 35% 时,断面形貌的连续性有所加强.当 PBS 含量为 25% 时,杨木粉分布欠均匀,且有团聚现象,试样力学性能较差.当 PBS 添加量进一步增加到 35% 时,团聚现象明显减弱,可以看到有少量的杨木粉纤维拔出,见图 8(b).分析认为,在 6% 甘油、8% DOP 与 35% PBS 的相互作用下,两种材料发生一定程度的交联及其它化学反应,从而保留了较好的增韧与力学强度^[16].随着 PBS 添加量的进一步增加,断面出现了很多孔洞且不平整,见图 8(c).分析认为这是由于杨木粉表面含有大量的亲水性羟基,与大量的非极性 PBS 分子相容性较差^[16],在复合材料内部形成大量的空隙,导致复合材料力学性能降低.



(a)25% PBS 添加量



(b)35% PBS 添加量



(c)45% PBS 添加量

图 8 不同含量 PBS 的杨木粉/PLA 木塑复合材料断面微观形貌图

2.5 添加填料或助剂前后力学性能对比

添加 20% 杨木粉的 PLA/杨木粉复合材料与纯 PLA 力学性能对比图如图 9 所示.由图 9 可以

看出,杨木粉的添加除降低成本外,还可以改善复合材料的韧性.但拉伸强度和弯曲强度略有降低.在此基础上,本文通过实验逐一改变不同助剂添加量,以期在保持韧性的同时,提高复合材料的弯曲强度和拉伸强度.

通过实验得出结论,当添加 6%甘油、9%DOP、35%PBS 的复合材料力学性能最佳.其与改善前仅添加杨木粉的复合材料力学性能对比,如图 10 所示.由图 10 可知,三种助剂相互作用,在保留复合材料韧性的同时,改善了其弯曲性能与拉伸性能.

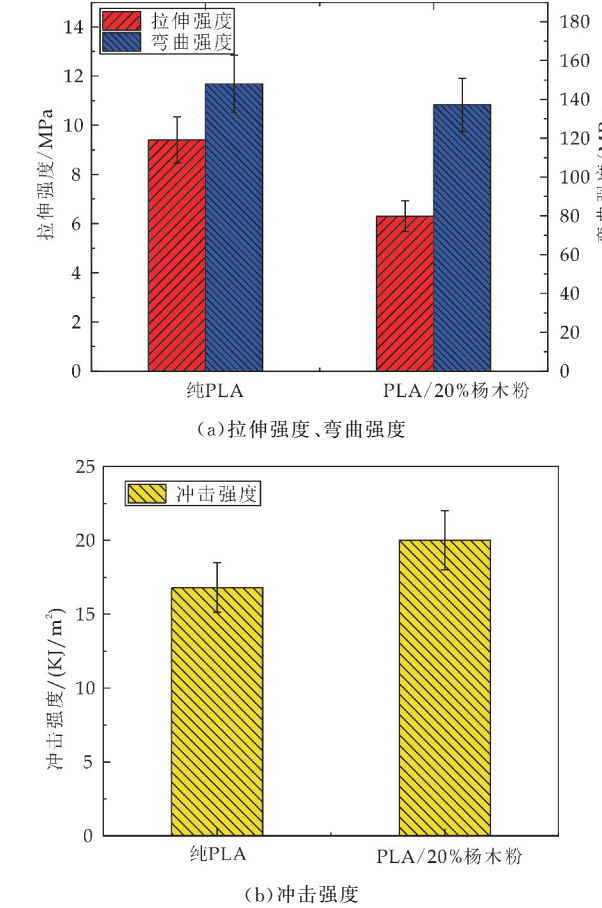
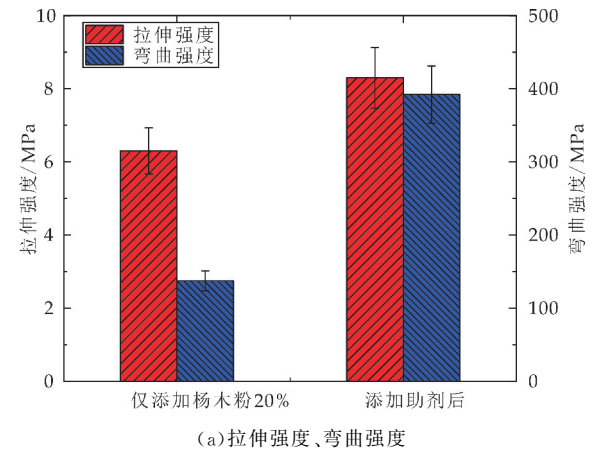


图 9 添加填料前后力学性能对比



(b) 冲击强度

图 10 添加助剂前后力学性能对比

3 结论

通过探究填料杨木粉添加量以及各助剂添加量对复合材料力学性能的影响及断面微观形貌图分析,得到如下结论:

(1)填料杨木粉能够增强复合材料的韧性,但弯曲强度和拉伸强度有所降低.在三个添加量中,当杨木粉添加量为 20%时,复合材料力学性能最佳.随着木粉添加量的进一步增加,复合材料力学性能下降,这主要是由于过量的木粉产生团聚现象,使得复合材料的强度降低.

(2)添加不同的助剂对复合材料力学性能影响有明显不同,甘油可以增强复合材料两相间的相容性,使复合材料弯曲、拉伸性能有所提高,但会在一定程度上降低复合材料韧性. DOP 和 PBS 可有助于提高复合材料韧性,添加后的复合材料相较未添加两者的复合材料冲击强度提高 77%. 不同添加量的助剂间相互作用相互影响,最终使复合材料力学性能得到最优化.

(3)相对于优化前仅添加杨木粉的 PLA/杨木粉末塑复合材料,当添加 6%甘油、8%DOP、35%PBS 时得到的复合材料在保留较好韧性的同时改善了其强度性能.

参考文献

[1] 蔡云冰,刘志鹏,张子龙,等. 聚乳酸材料在 3D 打印中的研究与应用进展[J]. 应用工业, 2019, 48(6): 1-8.

[2] 刘志阳,翁云宣,黄志刚,等. 聚乳酸成核剂研究进展[J]. 生物工程学报, 2016, 32(6): 798-806.

[3] 齐悦,杨博,马慧玲. 生物可降解聚乳酸纤维的发展现状及其改性研究[J]. 北京服装学院学报(自然科学版), 2019, 39(1): 85-93.

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0131-05

装配生产线建模方法及资源优化研究

任工昌,董钰颖,何舟,崔晨浩

(陕西科技大学 机电工程学院,陕西 西安 710021)

摘要:针对目前装配生产线普遍存在的生产效率低下、资源利用率不高的问题.本文以大型装配生产线为研究对象,对其进行资源优化配置.首先,构建有效的装配线 Petri 网模型,并配置保证 Petri 网正常运行的最少资源.其次,基于线性规划提出一种用于装配生产线优化的通用启发式算法,对装配生产线进行资源优化配置.在不超过预算的基础上,使生产线的生产效率最大化.最后,以某公司的汽车液力变矩器装配生产线为例,采用本文提出算法对该生产线进行资源优化配置,并通过仿真验证了算法的有效性.

关键词:装配生产线; Petri 网建模; 资源优化; 启发式算法; 线性规划

中图分类号:TP301.1 **文献标志码:**A

Research on modeling and resource optimization of assembly production lines

REN Gong-chang, DONG Yu-ying, HE Zhou, CUI Chen-hao

(College of Mechanical and Electrical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract:In view of the current low production efficiency and resource utilization rate of the assembly line,this paper takes the large assembly line as the research object and optimizes the resource allocation problem. First,we construct a Petri net model to describe an assembly line effectively and deploy the minimum resources to ensure the normal operation of the network. In addition,in order to maximize the production efficiency of the production lines under a limited budget,we develop a heuristic algorithm based on linear programming suitable for resource optimization of assembly lines. Finally,taking the hydraulic torque converter assembly line of a car manufacturing system as an example,we use the proposed algorithm to optimize the resource allocation of the assembly line. Thereby,according to simulate the optimization results and validate the correctness of the proposed algorithm.

Key words:assembly line; Petri net modeling; resources optimization; heuristic algorithm; linear programming

0 引言

制造业装配生产线是当前普遍的一种生产作业形式,生产线的生产效率直接影响整个产品的生

产效率乃至整个公司的竞争力.传统的装配生产线一定程度上实现了自动化生产,但是由于资源配置不均仍然存在生产效率低下,资源利用率不高的问题.如何在预算一定的前提下,合理分配资源,使得

生产线的生产效率最大化是研究人员急需解决的核心问题^[1].

资源优化作为一个典型的 NP-Hard 组合优化难题,国内外研究人员主要采用以下三种方法开展大量的研究:(1)数学分析法,对生产线进行数学分析建模求解能够找到问题的最优解,但是求解过程十分繁杂,且计算量非常大,削弱了其在实际复杂生产问题中的实用性^[2,3].(2)工业工程法,针对具体生产线的整体和局部乃至个体的全方位的分析,从动作本身上采取有效的改善措施^[4-6],然而这种方法缺乏通用性.(3)启发式算法,在一个随机群体寻优的过程中,每个个体都可以利用其自身或全局的搜索经验,来决定各自的搜索寻优策略,较工业工程法而言更具有普适性.现有的启发式算法以仿自然体算法为主,主要有蚁群算法、遗传算法、模拟退火法、神经网络等智能算法,优缺点各不相同^[7-9].

现有的启发式算法以仿自然体算法为主,主要有蚁群算法、遗传算法、模拟退火法、神经网络等智能算法,优缺点各不相同,而本文提出的基于线性规划的启发式算法本质上与上述智能算法有所不同.线性规划问题更加直观地反应资源优化配置问题的数学本质,同时结合 Petri 网 P-不变式的数学特性,可不依赖穷举系统加工回路高效找到瓶颈工序进行资源优化配置,降低瓶颈工序的加工时间.对于大规模复杂结构的制造系统而言,此算法效率依然很高.

1 基于 Petri 网的装配生产线建模方法

一个制造系统是由工件的传输、加工以及控制信息的处理等制造活动集合而成的.这些活动通过各种资源(人,机器人,传输带,机床,半成品以及原材料等)的整合操作,最终生产出满足需求的合格产品.然而,对于生产线建立的模型需要准确的描述工序之间的优先关系,车间资源的分配关系,每道工序加工所需要的资源,而 Petri 网模型能够很好的描述此类离散系统的逻辑关系.

Petri 网自 20 世纪 60 年代提出以后,由于其具有强大的建模分析能力、图形和数学双重表示、高效分析离散事件系统等优点,被广泛地应用于制造系统、运输系统及物流等系统.王青等^[10]采用 Petri 网对飞机总装配生产线进行建模,采用贪心-匈牙利算法获得生产线最佳人工分配方案.栾飞等^[11]利用 Petri 网对自动化立体仓库出入库调度优化进行模拟仿真.王浚元等^[12]选用 Petri 网建立磁极铁芯生产线模型,Flexsim 仿真生产线模型并找出瓶颈工序.用 Petri 网建模与分析系统,可以研究资源优化配置,资源调度,故障诊断,系统状态估计等一系列科学问题^[13-15].

Petri 网由两种节点:库所(P)和变迁(t)、有向

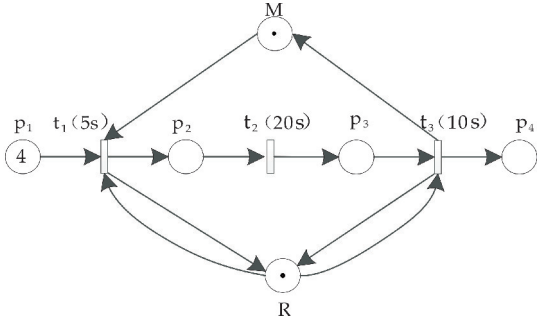
弧、以及托肯等元素组成的,变迁和库所分别用圆圈和矩形表示,库所表示条件或者状态,变迁表示状态之间的流动,变迁和库所之间由有向弧连接,库所中的动态对象用小黑点表示,叫做托肯,可以从一个库所移动到另一个库所^[16,17].

弧权值均为 1 的 P/T 网被称为普通网,事件图是所有库所只有一个输入变迁和一个输出变迁的普通网^[18,19].与以往研究不同,本文采用了循环时间事件图(CTEG)对制造系统进行建模.网模型中从一个节点出发经过一系列动作又回到该节点所形成的回路称为基本回路.对于事件图来说,一个基本回路 γ 的循环时间 C_γ 可以通过(1)式计算:

$$C_\gamma = \frac{\mu_\gamma}{X_\gamma} \tag{1}$$

式(1)中: μ_γ 是回路 γ 中所有变迁的时延之和, X_γ 是回路 γ 中托肯的数量.

本文采用循环时间事件图对制造装配线实际加工流程建模.如图 1 所示,描述的是系统的一个子工序.在图 1 中,Petri 网结构 N 可以由五元组 $N=(P, T, Pre, Post, C)$ 表示. P 是 6 个库所集合, T 是 3 个变迁集合,各库所与变迁的含义如表 1 所述;如式(2)所示,Post,Pre 分别为维度是 6×3 、元素为非负整数的矩阵分别表示 N 的输入矩阵和输出矩阵.矩阵 $C = Post - Pre$,是一个 6×3 的整数矩阵称为关联矩阵,可以准确的刻画出网的具体结构.



P_1 :原料就绪; P_2 :机床等待加工; P_3 :工件加工完成; P_4 :工件从机器中移出; M :机器; R :该工序配置的劳动力; t_1 :上料; t_2 :机床开始加工; t_3 :卸料

图 1 某工序的 Petri 网建模图

$$\begin{aligned} Post &= \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \\ Pre &= \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \end{aligned} \tag{2}$$

标识 M 是 6 维非负整数列向量, $M_0 = [4\ 0\ 0\ 0\ 1\ 1]^T$ 是初始状态生产线的资源配置. 变迁 t_1 的输入库所 p_1 、 M 中都有可以使用的资源, 因此 t_1 为能使变迁, t_1 激发后的标识 $M' = M_0 + C * t_1$. 若从初始状态 M_0 开始 $M_0[t_1 > M_1[t_2 > M_2 \cdots [t_n > M_n]]]$ 成立, 则称 M_n 从标识 M_0 可达. 发射序列 $\sigma = t_1, t_2, \cdots, t_n$.

该 Petri 网中的变迁 t_1, t_2, t_3 分别表示着该工位加工过程中上料, 机床加工和卸料三个动作, 用时 5 s、20 s 和 5 s. 将库所分为资源库所和系统库所, 资源库所由系统加工机器 M 、劳动力 R 等资源组成. 系统库所是装配生产线的加工工序. 如图 1 中存在三个基本回路 $\gamma_1: t_1, p_2, t_2, p_3, t_3, M, t_1; \gamma_2: t_1, R, t_1; \gamma_3: t_3, R, t_3$. γ_1 表示着工件由专用机器 M 进行加工的过程, γ_2, γ_3 分别表示工件由劳动力 R 进行上、下料的过程. 对于 Petri 网模型, 一个基本回路 γ , 称之为该 Petri 网的一个 P-不变量^[20]. 根据 P-不变量数学特性, 基本回路满足如式(3)所示的数学关系:

$$\alpha_\gamma^T C = 0 \quad (3)$$

式(3)中: α_γ 是基本回路库所集合的特征向量, C 是 Petri 网的关联矩阵.

因此, 装配生产线各工序的前后关系、并行关系就可以由 Petri 网表示出来, 并根据 Petri 网的数学特性, 写出网的关联矩阵. 这样就可以将一个抽象的生产线问题转换成具体的数学矩阵问题, 便于进一步分析.

2 问题描述以及资源优化

2.1 装配线资源优化问题描述

针对当前流水生产线各工序资源分配不当导致生产效率低的问题. 如何在预算有限的前提下, 寻找到生产线的瓶颈回路, 并在该回路中进行资源的优化配置, 降低瓶颈回路的加工时间、提高生产线的加工效率, 是制造业目前急需解决的关键问题. 数学模型描述如下:

$$\begin{aligned} \min CT_\gamma(M) &= \min(\max_{\gamma \in \Gamma} \frac{\mu_\gamma}{X_\gamma}) \\ s. t. \quad &\sum_{i=1}^m u(i) \times n(i) \leq b \end{aligned} \quad (4)$$

式(4)中: $CT_\gamma(M)$ 表示系统瓶颈回路的循环时间, Γ 表示所有初级回路 γ 的集合, $u(i)$ 表示资源 i 的单价, $n(i)$ 表示资源 i 的数量, M 表示系统当前的资源配置情况, b 表示预算.

2.2 基于线性规划的启发式算法

针对上述问题, 本文结合 Petri 网的数学特性提出一种启发式算法对生产线进行资源优化, 具体步骤如下:

(1) 首先, 配置初始资源(M_0), 原则是保证系统的活性即保证装配线的正常运行; 通过仿真计算出

生产线初始状态下生产系统的循环时间 $CT(M_0)$. 如果初始状态的成本 $a_0 < b$, 则开始进行优化.

(2) 寻找影响整个系统加工时间的瓶颈回路, 在不超过预算的基础上, 向该回路的资源库所中添加资源. 对此工作, 以往总是采用穷举法枚举每个基本回路的循环时间, 从而找到瓶颈回路. 但是对于大规模的制造系统来说存在很大局限性. 因此, 基于 Petri 网的数学特性, 结合式(1)基本回路循环时间的计算公式, 可建立线性规划数学模型寻找出系统的瓶颈回路. 该模型的目标函数为:

$$CT_\gamma(M) = \max \frac{\alpha_\gamma^T \text{PreT}}{\alpha_\gamma^T M} \quad (5)$$

$$s. t. \quad \alpha_\gamma^T C = 0 \quad (6)$$

$$\alpha_\gamma^T M = 1 \quad (7)$$

$$\alpha_\gamma \geq 0$$

式(5)中: $\alpha_\gamma^T \text{pre}$ 表示属于回路 γ 的变迁集合的特征向量, T 表示激发时延变迁的时间集合. $\alpha_\gamma^T M$ 是回路 γ 中托肯和 X_γ ; $\alpha_\gamma^T \text{PreT}$ 是回路 γ 的时间总和 μ_γ . 约束(6) 保证决策变量 α_γ 是基本回路库所集合的特征向量. 约束(7) 将目标函数的非线性规划模型转化为如下线性规划模型:

$$CT_\gamma(M) = \max \alpha_\gamma^T \text{PreT} \quad (8)$$

$$s. t. \quad \alpha_\gamma^T C = 0 \quad (9)$$

$$\alpha_\gamma \geq 0$$

(3) 在上一步找到的瓶颈回路的资源库所中添加资源, 判断优化后新的状态 M_1 下总成本 a_1 是否超过预算, 若未超过预算则进一步的迭代优化直至总成本 a_n 超过预算, 则撤回最后一步优化资源, 输出 a_{n-1} 为最优的资源配置.

2.3 算法框架

启发式算法的框架如图 2 所示.

输入: 初始资源配置情况 M_0

输出: 优化后的资源配置情况 M_i , 成本 a

```

1. Let  $M_0 := [x_1, x_2, \dots, x_n]^T$ 
2.  $a_0 := a$ ,  $i := 0$ 
3. while  $a_0 < b$  do
4. begin
5.  $g := \arg \max \{ \Delta CT_r(M_0) \}$ 
6.  $M_{i+1} := M_i + e_g$ 
7.  $a_{i+1} = a_i + u(g)$ 
8. if  $a_{i+1} \leq b$ 
9.  $a_i = a_{i+1}$ 
10.  $M = M_{i+1}$ 
11.  $i = i + 1$ 
11. else
12. break;
13. end
14.  $a = a_i$ 
15.  $M = M_i$ 
```

图 2 启发式算法框架

在图 2 中, e_g 表示瓶颈工序添加资源位置的
特征向量, $u(g)$ 表示资源 i 的单价, 在当前状态
的关键回路 g 中添加资源, 得到新的标识状态和成
本. 判断优化后的总成本 a_1 是否超过预算, 若未超
过预算则开始循环体语句; 直到总成本 a_n 超过预
算, 则移除上一步所添加的资源, 并输出生产线资
源最优配置状态 m_{n-1} , 装配线成本为 a_{n-1} , 从而在
不超过预算的基础上最大程度地提高产品的产出
效率.

3 实例验证

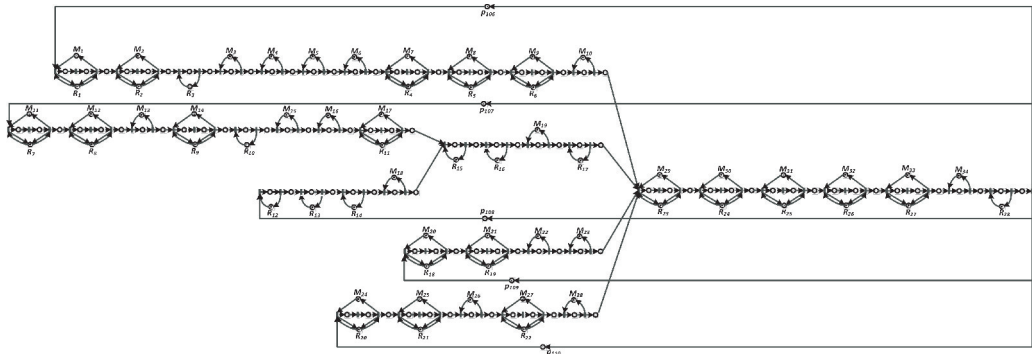


图 3 液力变矩器装配生产线 Petri 网建模图

规定固定资产的总预算 b 为 13 万元, 通过充
分市场调研, 生产线中各机器价格见表 1 所示, 劳
动力 0.6 万元/人, 在满足系统可以正常运行的状
态下, 初始成本为 9.45 万元.

表 1 各机器价格统计

机器	价格/元	机器	价格/元
冲压机	2 000	清洗机	2 000
冲槽机	1 400	立式车床	4 700
插装机	2 000	辊铆机	5 000
叶片辊铆机	2 000	铆接机	5 300
动平衡机	2 000	移栽机	2 000
压装机	4 000	翻转机	2 000
车床	2 000	焊接机	2 000
打标机	2 500	检测设备	2 500

表 2 记录部分工位加工时间信息, 规定人工上
下料分别用时 5 s.

表 2 部分生产线的工时统计表

t_i	时间/s	t_i	时间/s	t_i	时间/s	t_i	时间/s
t_1	1	t_8	88	t_{15}	63	t_{22}	5
t_2	5	t_9	0	t_{16}	0	t_{23}	5
t_3	33	t_{10}	24	t_{17}	5	t_{24}	33
t_4	5	t_{11}	42	t_{18}	23	t_{25}	5
t_5	5	t_{12}	0	t_{19}	5	t_{26}	42
t_6	42	t_{13}	30	t_{20}	5	t_{27}	0
t_7	5	t_{14}	0	t_{21}	62		

根据上述信息和初始状态下装配线的资源配
置情况 m_0 对生产线进行仿真, 经过分析结果可以

3.1 液力变矩器资源配置问题

本文以陕西西安某公司投入生产的液力变矩
器装配生产线作为研究对象. 该企业目前的液力变
矩器装配生产线由泵轮生产线, 涡轮与闭锁离合器
组件生产线, 导轮生产线, 罩轮生产线以及液力变
矩器总装配线组成, 共有 43 道工序, 62 道工位, 31
个劳动力, 41 台机器设备. 依照上述工序的建模规
则, 该生产线根据实际生产中的工艺布局建立的
Petri 网模型. 如图 3 所示, 该模型由 106 个变迁,
172 个库所, 81 个基本回路组成.

得到每个变迁的发射频率, 再通过 Petri 网的特性
公式, 计算生产线的循环时间.

$$CT = \sigma / f \tag{10}$$

式(10)中: CT 是生产线的循环时间, σ 是变
迁的发射序列, f 是变迁的发射频率.

通过 Matlab 对现有生产线仿真, 仿真结果可
知: 整个系统完成一次加工任务变迁 t_{106} 只发射一
次, 该变迁的发射频率为 0.006 9. 利用公式(10)可
计算出初始状态下生产线的循环时间 CT 为 145 s.

3.2 迭代优化

3.2.1 基于线性规划的优化

本实验采用 MATLAB 软件对 2.2 提出的算
法进行求解. 计算机硬件仿真平台的参数如下: 惠
普 690-078CCN, 处理器 i7-9750H, 内存 16 GB, 独
显 GTX 1600Ti 6G, 计算结果如表 3 所示. 通过对
线性规划模型进行求解, 优化前生产线的瓶颈回路
为回路 γ_{42} , 循环时间为 130 s. 由于资源配置不当
导致生产线的生产效率较低, 需要进行优化改进.
该回路是装配涡轮工序, 由 1 人手工进行装配, 考
虑到这样的情况, 选择增加一名工人协助装配. 对
加入新员工之后的工序重新进行时间测定. 改善
后, 装配涡轮工序的循环时间由 130 s 降低到了
65 s. 此时生产线的资源配置情况为机器 41 台, 劳
动力 32 人, 总成本为 10.4 万元, 并未超出预算, 则

进一步计算初步优化后生产线的瓶颈回路。

表 3 迭代优化生产线对比

优化次数	瓶颈工序	瓶颈工序循环时间/s	成本/万	生产线循环时间/s
优化一	γ_{42}	130/65	10.4	145/95
优化二	γ_{72}	85/57	11.4	95/77
优化三	γ_{43}	80/40	12	77/73
优化四	γ_{38}	72/36	15.2	73/70

照上述算法优化,直到第四次优化后,装配线的资源配置情况为 42 台机器和 34 名劳动力,总成本为 13 万元等于预算,若继续增加资源则会超过预算因此停止优化。采用这种优化算法,优化之后装配线的循环时间 70 s,下降了 52%,有效的提高了生产线的生产效率。

3.2.2 穷举验证计算结果

本部分采用穷举方法寻找瓶颈工序。优化前各工序循环时间如图 4 所示,迭代优化过程如图 5 所示。

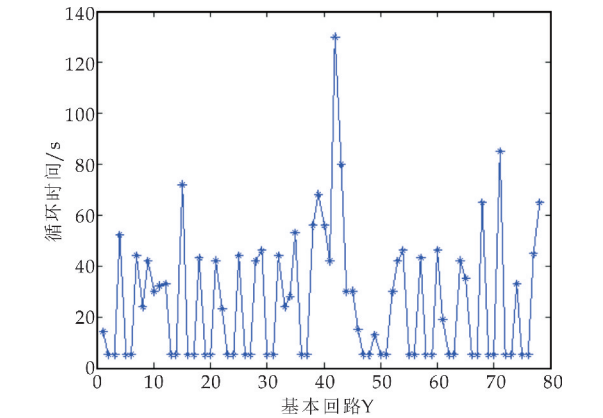


图 4 优化前各基本回路的循环时间

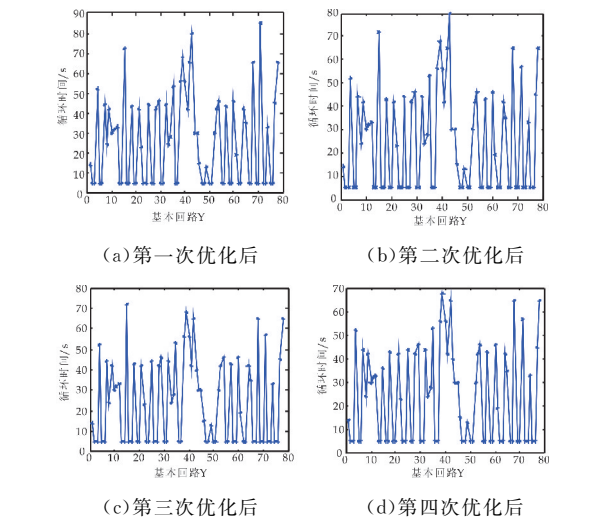


图 5 迭代优化过程中循环时间对比

将图 5 的仿真结果与表 3 计算结果进行对比验证了线性规划模型寻找瓶颈工序的正确性。另外,观察图 5 可以发现,经过 4 次资源配置,生

产线的各工序加工循环时间趋于平衡,从而验证提出的启发式算法能够有效的改善生产线资源配置不均、生产效率低的问题。

4 结论

针对生产线生产效率低的问题,本文提出了一种启发式算法对生产线进行资源优化:首先用 Petri 网对生产线建模;其次结合 Petri 网的数学特性提出一个线性规划模型寻找生产线的瓶颈回路;通过迭代启发式算法在预算一定的前提下对瓶颈工序进行资源优化。

以某液力变矩器装配生产线为例,利用 Matlab 软件进行实验,实验结果证明采用本文所提出的算法进行资源优化,生产线的循环时间降低了 52%,有效提高生产线的生产效率。最后通过穷举法计算结果与线性规划模型进行对比,验证本模型的正确性。另外,在本文研究的基础上,可进一步开展工序优化及设备性能优化等研究工作,这也是本文作者未来的研究方向。

参考文献

[1] 吴玉瑞,马士化. 现代生产管理学[M]. 武汉:华中理工大学出版社,1994.

[2] Jose Fernando, Goneal Ves, Jorge Raimundo. A hybrid genetic algorithm approach to mixed-model assembly line balancing[J]. Journal of Heuristics, 2002, 8: 629-642.

[3] S B Liu, K M, Ng H. Long branch-and-bound algorithms for simple assembly line balancing problem[J]. Advanced Manufacturing Technology, 1996, 13: 613-622.

[4] 孙建华,高广章,蒋志强. 生产线平衡的手段与方法研究[J]. 成组技术与生产现代化, 2004, 21(4): 34-36.

[5] 鲜 飞. SMT 生产线负荷分配及平衡研究[J]. 印制电路信息, 2004(6): 63-70.

[6] 郭 伏. 模特法在生产能力平整中的应用[J]. 东北大学学报(社会科学版), 2003, 5(1): 31-34.

[7] 葛晓梅,王晓媛,张国辉,等. 基于启发式算法的家具装配线平衡与优化[J]. 组合机床与自动化加工技术, 2019(2): 100-107.

[8] 李 玮,章逸丰,王 鹏,等. 一种采用迭代优化的移动抓取规划方法[J]. 机器人, 2019, 41(2): 165-174.

[9] 赵晏林. 多品种小批量环境下的家具混流生产线平衡分析与改善[J]. 林产工业, 2019, 46(1): 70-76.

[10] 王 青,温李庆,李江雄,等. 基于 Petri 网的飞机总装配生产线建模及优化方法[J]. 浙江大学学报(工学版), 2015, 49(7): 1 224-1 231.

[11] 栾 飞,杨 玮. 基于匈牙利算法的自动化立体仓库出入库优化调度[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2011, 29(3): 122-125.

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0136-06

基于改进型双闭环滑模控制的三相 PWM 整流器研究

康家玉¹, 王安琦¹, 刘甲琛², 郝鹏飞¹

(1. 陕西科技大学 电气与控制工程学院, 陕西 西安 710021; 2. 国网西安市长安区供电公司, 陕西 西安 710000)

摘 要:针对传统控制方式下三相电压型 PWM 整流器的动态响应特性及抗干扰能力不理想的问题,提出了一种改进型双闭环滑模控制策略.该策略电压外环采用传统的滑模控制,电流内环采用改进型滑模控制器,将一般指数趋近律中的等速趋近项用改进型变速趋近项取代,不仅提高了趋近速度,且从本质上削弱了系统抖振.在 Matlab/Simulink 中搭建仿真模型,从谐波含量,抗干扰能力,动态响应特性等方面对改进型双闭环滑模控制系统的性能进行分析,并与双闭环 PI 控制进行比较,结果表明:改进型滑模控制的三相 PWM 整流器系统能够实现单位功率因数运行并且动态响应特性、抗干扰能力都得到一定提升.

关键词:三相 PWM 整流器;滑模控制;抗干扰性;动态响应特性

中图分类号:TM614 **文献标志码:**A

Research on three-phase PWM rectifier based on improved double closed-loop sliding mode control

KANG Jia-yu¹, WANG An-qi¹, LIU Jia-chen², HAO Peng-fei¹

(1. College of Electrical and Control Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. State Grid Xi'an Chang'an District Power Supply Company, Xi'an 710000, China)

Abstract: Aiming at the problem of poor dynamic response and poor anti-interference ability of three-phase voltage source PWM rectifier under traditional control mode, an improved double closed-loop sliding mode control strategy was proposed in this paper. In the strategy, traditional sliding mode control was used in the voltage outer loop and an improved sliding mode controller was used in the current inner loop. Replacing the constant velocity reaching term in the general exponential reaching law with the improved variable speed reaching term not only improves the reaching speed, but also weakens the chattering of the system essentially. Simulation model was built in Matlab/Simulink. The performance of improved double closed-loop sliding mode control system was analyzed from the aspects of harmonic content, anti-interference ability and dynamic response characteristics, and compared with the traditional PI control system. The results showed that the improved sliding mode control three-

* 收稿日期:2019-07-16
基金项目:陕西省科技厅工业科技攻关计划项目(2018XNCG-G-12)
作者简介:康家玉(1969—),女,江西泰和人,副教授,博士,研究方向:电力电子技术及其应用

phase PWM rectifier system could realize unit power factor operation, and the dynamic response characteristics and anti-jamming ability were improved to a certain extent.

Key words: three-phase PWM rectifier; sliding mode control; anti-interference; dynamic response characteristics

0 引言

风能作为一种清洁能源而备受关注,但风能的大小存在随机性。当风能不足时,需要电网向风电机组供电以追踪最大功率点,此时网侧变流器工作于整流状态。作为风电并网发电的重要设备之一,三相 PWM 整流器能够实现单位功率因数、网侧电流正弦化、输出直流电压可调以及能量双向流动^[1-2],因此其控制策略受到国内外学者的广泛研究。

三相 PWM 整流器的控制对象一般为交流侧电流和直流侧输出电压,其中交流侧电流的控制是整流系统的核心。文献[3]提出一种 PWM 整流器的控制策略,使用双闭环 PI 控制。但由于 PWM 整流器是一个非线性系统,当系统参数变化或出现扰动时,传统控制方式因传递函数参数设置固定,故而难以使 PWM 整流器获得良好的鲁棒性。文献[4]提出一种改进型 PR 控制,该策略通过适当降低谐振频率处的增益来提高系统的稳定性。但该方法在调节时的精度不易确定。文献[5]提出一种采用预测控制器的定频直接功率控制,该方法通过加入预测控制器使得系统对电容参数变化具有一定的鲁棒性,但易造成 PWM 整流器稳定性降低。文献[6,7]采用滞环电流控制,将滞环比较器引入 PWM 整流器,该控制策略可以快速跟踪电源侧电压,但其自身属性会引起变流器装置开关频率不固定。文献[8]将 Lyapunov 稳定性理论运用到 PWM 整流器控制策略中,通过设置一个 Lyapunov 函数,从而确保整流系统受到较大干扰时依然可以稳定运行,但是该函数的收敛性不稳定,易引起该系统的动态响应特性不好。

滑模控制本质上是一种非线性控制算法,在设计滑动模态的过程中,仅与选取的切换面有关而与系统的参数及外界干扰无关,系统状态会在趋近律的影响下向切换面运动,到达切换面后在切换面附近小幅振荡,从而使得滑模控制具有响应速度快、鲁棒性强、无超调等优点。由于滑模控制具有不连续的开关特性^[9,10],使其与三相 PWM 整流器开关器件工作在高频率的“开”或“关”模式相对应,因此滑模控制很适合应用于 PWM 整流器系统。针对传统控制中动态响应特性和鲁棒性不理想的问题,本

文提出了一种电压外环和电流内环均采用滑模控制的双闭环控制策略,相较于传统双闭环 PI 控制算法,改进型双闭环滑模控制能够进一步提高系统的动态响应特性和鲁棒性。

1 三相电压型 PWM 整流器数学模型

三相电压型 PWM 整流器的主电路拓扑结构如图 1 所示。

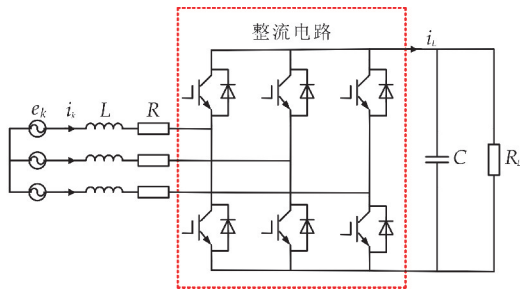


图 1 三相电压型 PWM 整流器拓扑结构

在图 1 中, e_k 表示为星型连接的各相电源电压; i_k 表示网侧各相电流; L 为交流侧滤波电感; R 为交流侧的等效电阻; C 为直流侧电容,可稳定直流电压并抑制谐波电压。整流器的开关管工作在“开”、“关”两个状态,故定义函数 S_k 表示各个三相桥臂的开关状态且有以下关系如式(1)所示:

$$S_k = \begin{cases} 1 & \text{任一桥臂上桥臂导通下桥臂关系} \\ 0 & \text{任一桥臂下桥臂导通上桥臂关系} \end{cases} \quad (k=a,b,c) \quad (1)$$

根据基尔霍夫电压定律(KVL)可得到三相电压型 PWM 整流器在三相静止坐标系下的数学模型^[11],再通过坐标变换,将三相静止 abc 坐标系中的数学模型变换到两相旋转 dq 坐标系中,则三相电压型 PWM 整流器在 dq 旋转坐标系下的数学模型如式(2)所示:

$$\begin{cases} L \frac{di_d}{dt} = e_d - Ri_d - U_{dc}S_d + \omega Li_q \\ L \frac{di_q}{dt} = e_q - Ri_q - U_{dc}S_q - \omega Li_d \\ C \frac{dU_{dc}}{dt} = \frac{3}{2} (i_dS_d + i_qS_q) - i_L \end{cases} \quad (2)$$

2 PWM 整流器控制策略的分析与设计

滑模控制的基本原理是通过设计一个滑模面

$$\begin{cases} S_1 = i_d^* - i_d = 0 \\ S_2 = i_q^* - i_q = 0 \end{cases} \quad (9)$$

式(9)中: i_d^* , i_q^* 为有功电流和无功电流的参考值, 对上式两边求导可得式(10):

$$\begin{cases} \dot{S}_1 = \frac{di_d^*}{dt} - \frac{di_d}{dt} \\ \dot{S}_2 = \frac{di_q^*}{dt} - \frac{di_q}{dt} \end{cases} \quad (10)$$

当直流侧电压稳定后, 认为 di_d^*/dt 近乎为零, 同时给定无功电流 i_q^* 恒定为零. 在实际系统中, 由于开关不连续及高频切换的频率无法达到理想情况的无穷大, 从而会产生抖振, 严重时会导致系统不稳定. 然而消除抖振也就消除了滑模控制的抗扰动能力及鲁棒性, 因此一定程度上削弱抖振是十分有必要的^[17]. 指数趋近率既可增大趋近速度, 又可减小抖振, 故本文采用改进的指数趋近律设计滑模控制器. 为了进一步提高系统的动态响应特性及抗干扰性, 故将一般的指数趋近律加以改进, 将指数趋近律中的等速趋近项 $-\epsilon \cdot \text{sgn}(s)$ 改为变速趋近项 $-\epsilon^2 \cdot \text{sgn}(s)$, 并将其中的符号函数改为相对饱和的函数. 其目的是当系统从初始状态趋近切换面的过程中, 越远离切换面趋近速度越快, 反之, 越靠近趋近面趋近速度就会变慢, 从而提高系统的动态性能; 将符号函数改为相对饱和的函数, 能够使系统状态运动到切换面附近时被吸引在切换面上, 进而削弱系统的抖振. 改进后的指数趋近律如式(11)所示:

$$\dot{S} = -\epsilon^2 \left(\frac{1 - e^{-s}}{1 + e^{-s}} \right) - kS \quad (11)$$

根据式(11)可设计电流内环滑模控制器的控制率如式(12)所示:

$$\begin{cases} \dot{S}_1 = -\epsilon_1^2 \left(\frac{1 - e^{-s_1}}{1 + e^{-s_1}} \right) - k_1 S_1 \\ \dot{S}_2 = -\epsilon_2^2 \left(\frac{1 - e^{-s_2}}{1 + e^{-s_2}} \right) - k_2 S_2 \end{cases} \quad (\epsilon_1, \epsilon_2 > 0, k_1, k_2 > 0) \quad (12)$$

联立公式(2)、(10)、(12), 可得到改进的电流内环滑模控制器数学模型如式(13)所示:

$$\begin{cases} S_d = \frac{e_d + \omega L i_q - R i_d - \epsilon_1^2 L \left(\frac{1 - e^{-s_1}}{1 + e^{-s_1}} \right) - k_1 S_1 L}{u_{dc}} \\ S_q = \frac{e_q - \omega L i_d - R i_q - \epsilon_2^2 L \left(\frac{1 - e^{-s_2}}{1 + e^{-s_2}} \right) - k_2 S_2 L}{u_{dc}} \end{cases} \quad (13)$$

式(13)中: $u_d = S_d u_{dc}$, $u_q = S_q u_{dc}$ 将两个电压控制变量通过坐标变换为 $\alpha\beta$ 坐标系下的 u_α, u_β 后通

过 SVPWM 得到整流器的控制脉冲信号.

3 仿真结果及分析

为了验证本文所提出新型控制策略的可行性, 根据图 2 中的系统控制结构图, 在 Matlab/Simulink 中搭建仿真模型. 系统主要的仿真参数为: 三相交流侧电压有效值为 220 V; 给定直流母线电压为 500 V, 整流器网侧电感 $L = 3 \text{ mH}$, 直流侧电容 $C = 3\,000 \text{ } \mu\text{F}$. 电压外环滑模控制器参数为: $\beta = 1\,530$, 电流内环滑模控制器参数为: $\epsilon_1 = \epsilon_2 = 4.7$; $K_1 = K_2 = 4\,540$.

图 3 为双闭环 PI 控制下稳态时 A 相电压和电流的波形(为了使效果更加直观, 将 A 相电流扩大了 4 倍), A 相电流在 0.14 s 左右实现了与电压同频同相; 图 4 为双闭环滑模控制下稳态时 A 相电压和电流的波形. A 相电流在 0.1 s 左右便实现了对电压相位的跟随.

对比分析图 3 和图 4 可以看出, 改进型双闭环滑模控制下的启动电流幅值小于双闭环 PI 控制, 减少了对三相 PWM 整流器的电流冲击, 且能够快速实现网侧电流的相位跟随及正弦化.

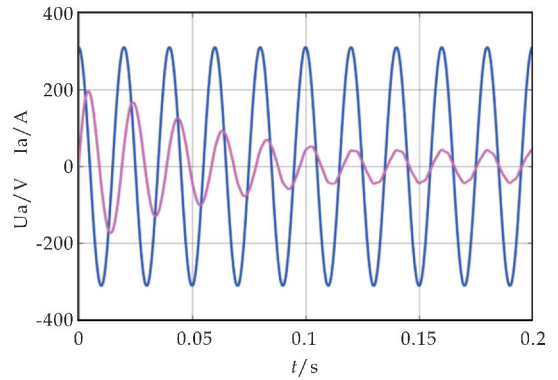


图 3 双闭环 PI 控制

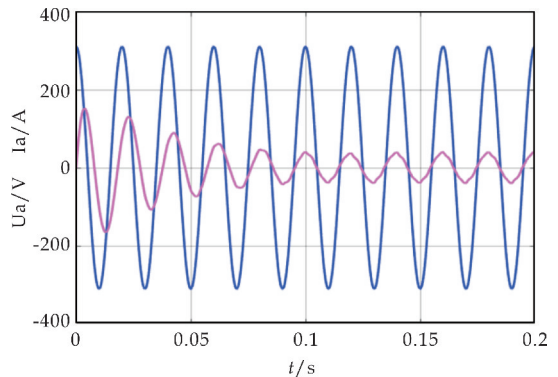


图 4 双闭环滑模控制

图 5 为稳态时双闭环 PI 控制下的交流侧 A 相电流 FFT 分析图. 从图 5 可以看出, $THD = 4.02\%$, 电流谐波含量较高, 根据功率因数公式可

得,功率因数为 0.999 1;图 6 为稳态时双闭环滑模控制下的交流侧电流 FFT 分析图.从图 6 可以看出, $THD=1.09\%$,根据功率因数公式可得,双闭环滑模控制的功率因数为 0.999 8,几乎为 1,可实现网侧电流单位功率因数控制.对比上述两图可以看出,双闭环滑模控制下的 PWM 整流器的功率因数更接近于 1,谐波含量更小.

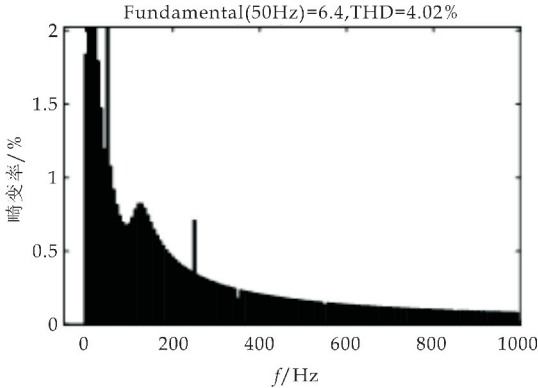


图 5 双闭环 PI 控制

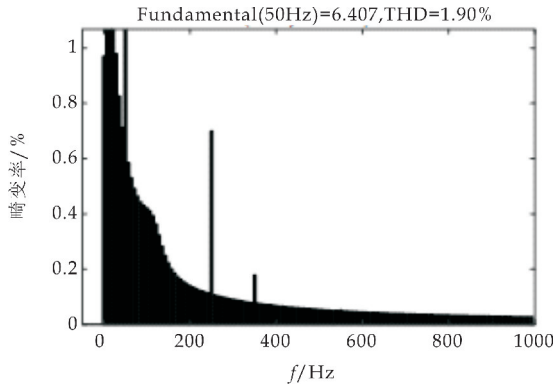


图 6 双闭环滑模控制

图 7 为双闭环 PI 控制下的直流侧电压波形.直流侧电压 u_{dc} 在 0.12 s 时达到了直流侧给定值 500 V,并且存在一定的超调量;图 8 为双闭环滑模控制下直流侧电压波形.直流侧电压 u_{dc} 在 0.04 s 左右达到稳定电压.通过对比图 7 和图 8 可以看出,双闭环滑模控制下的动态响应速度更快,且无超调量.

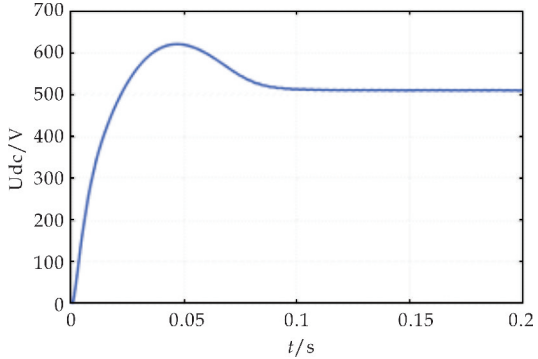


图 7 双闭环 PI 控制

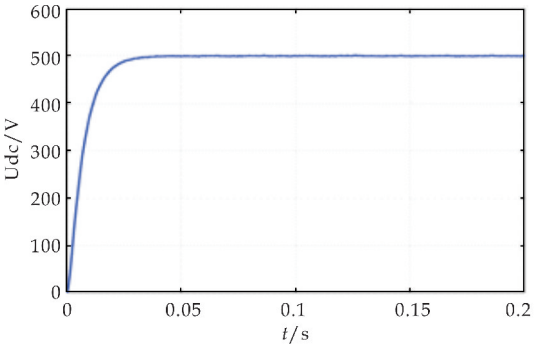


图 8 双闭环滑模控制

图 9 为双闭环 PI 控制下 0.12 s 负载突增时的直流侧电压波形.从图 9 可以看出,电压波动幅度较大且难以恢复至原电压;图 10 为双闭环滑模控制在 0.12 s 负载突增时直流侧输出电压.从图 10 可以看出,直流侧电压几乎没有变化,负载突变时能迅速恢复电压稳定值.对比分析图 9 和图 10 可以看出,双闭环滑模控制下的系统抗干扰能力比 PI 控制下的强.

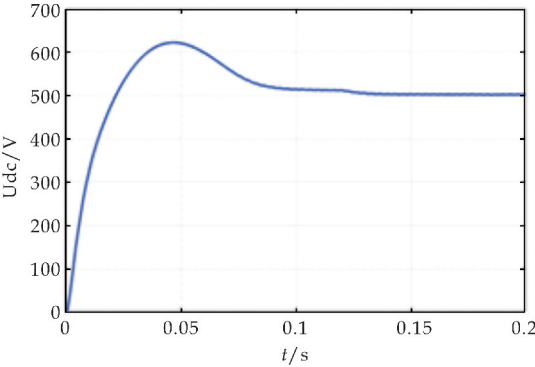


图 9 双闭环 PI 控制

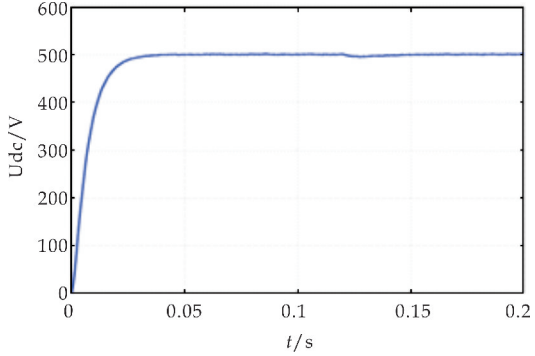


图 10 双闭环滑模控制

图 11 为双闭环 PI 控制下直流侧给定电压在 0.11 s 由 500 V 突增至 560 V 的电压波形.从图 11 可以看出,当直流侧电压达到稳态后,在 0.11 s 时刻输出电压开始跟随新的给定电压,大约需要 0.06 s 达到新的稳定值.

图 12 为双闭环滑模控制下直流侧给定电压在 0.11 s 由 500 V 突增至 560 V 的电压波形.从图 12 可以看出,直流侧电压达到稳态后,在 0.11 s 时

刻输出电压开始跟随新的给定电压,大约需要 0.02 s 达到新的稳定值,且波形上升迅速平稳无超调量。对比分析图 11 和图 12 可以看出,双闭环滑模控制下的动态响应速度比 PI 控制下快。

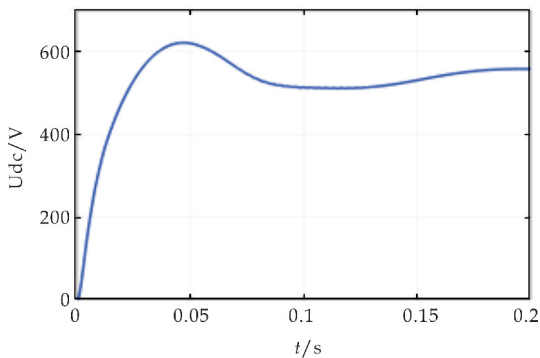


图 11 双闭环 PI 控制

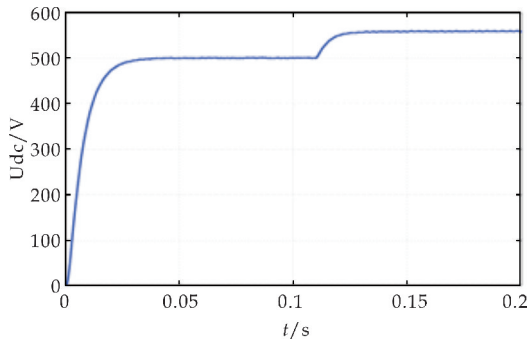


图 12 双闭环滑模控制

4 结论

本文提出了一种基于改进型双闭环滑模控制的三相 PWM 整流器的控制策略。该策略旨在提高整体系统的抗干扰性和动态响应特性。Simulink 仿真结果表明:与传统的双闭环 PI 控制相比,改进型双闭环滑模控制算法能够快速的使交流侧电流与电压同频同相,且有效的降低电流谐波含量 THD,使系统的功率因数更接近于 1;当负载固定不变时,系统到达稳定的时间比 PI 控制下减少了 0.08 s,且不存在超调;当负载或给定电压突变时,直流侧电压能够快速的跟踪到给定电压且无超调。通过仿真对比可以看出,改进型双闭环滑模控制策略能够有效的提高系统的动态响应速度和抗干扰能力。

参考文献

[1] 程启明,程尹曼,薛 阳,等.三相电压源型 PWM 整流器

控制方法的发展综述[J].电力系统保护与控制,2012,40(3):145-155.

[2] 姜卫东,李王敏,余阳阳,等.直流电容储能反馈和负载功率前馈的 PWM 整流器控制策略[J].电工技术学报,2015,30(8):151-158.

[3] 万 弢,武漫漫.三相电压型 PWM 整流器 PI 调节器设计[J].电气应用,2014,33(24):96-100.

[4] 杨尚霖,王君艳.基于改进型 PR 调节器的三相 PWM 整流器控制[J].现代电子技术,2015,38(11):152-155.

[5] 葛 凯,阮 毅,赵梅花,等.双馈风力发电系统机侧直接功率控制[J].电力电子技术,2014,48(4):50-52.

[6] 魏克新,纪世忠,于 洋.三相 PWM 整流器滞环控制改进方法的研究[J].电力电子技术,2011,45(9):114-116.

[7] 陈志强,张蕊萍.电压型 PWM 整流器电流控制策略研究[J].自动化仪表,2013,34(7):16-18.

[8] Rahmani S, Hamadi A, Al Haddad K. A lyapunov-function-based control for a three-phase shunt hybrid active filter[J]. IEEE Transactions on Industrial Electronics, 2011,59(3):1 418-1 429.

[9] Young K D, Utkin V I, Ozguner U. A control engineer's guide to sliding mode control[J]. IEEE Transactions on Control Systems Technology, 2002,7(3):328-342.

[10] Fan W, Bao G. PWM rectifier research based on sliding mode variable structure control[C]//Control and Decision Conference. Mianyang:IEEE, 2011:675-679.

[11] 贺诗明,熊 健,代大一,等.三相电压型 PWM 整流器建模、控制及稳定性分析[J].电网技术,2019,43(6):2 049-2 057.

[12] Kim J H, Jou S T, Choi D K, et al. Direct power control of three-phase boost rectifiers using a sliding-mode scheme[J]. Journal of Power Electronics, 2012; 12(4): 210-214.

[13] 韦文杰.一种 LCL 型三相并网逆变器的控制器设计方法[J].电力电子技术,2015,49(3):72-75.

[14] Wang W, Yin H, Guan L. A direct power control scheme for three-phase PWM rectifiers based on sliding-mode variable structure control theory[C]//IEEE International Conference on Power Electronics and Drive Systems. Taipei:IEEE, 2009:837-842.

[15] 贾宇辉,李剑林,王孝洪,等. PWM 整流器滑模变结构控制算法研究[J].电测与仪表,2011,48(7):7-11.

[16] Zhang Z, Xie Y, Le J, et al. Decoupled state-feedback and sliding-mode control for three-phase PWM rectifier[C]//Power and Energy Engineering Conference. Wuhan: IEEE, 2009:1-5.

[17] 康家玉,柴 洋,曹 举,等.基于改进型滑模控制的光伏并网控制策略研究[J].可再生能源,2019,37(1):59-64.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0142-07

基于双有源桥的三端口变换器 回流功率优化控制

史永胜¹, 李 雷¹, 丁恩松², 余 强¹, 马铭远¹

(1. 陕西科技大学 电气与控制工程学院, 陕西 西安 710021; 2. 江苏润寅石墨烯科技有限公司, 江苏 高邮 225600)

摘 要:为了实现对负载连续稳定的供电,采用新能源发电与储能相结合的能源结构业已成为电力系统的主流热点技术.本文针对该储能中交错并联双向 Buck-Boost 与双有源桥构成的集成三端口变换器运行控制中所存在的功率回流问题,详细分析回流功率的产生机理,建立了该集成三端口变换器的传输功率与回流功率数学模型.研究了回流功率与传输功率的耦合关系,提出基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率控制的优化控制策略.采用 PSIM 进行仿真,对比分析了集成三端口变换器的回流功率的变化,验证了通过简单的调制策略即可实现稳定的输出.

关键词:集成三端口变换器; 回流功率; PWM 加双重移相控制; 优化控制
中图分类号:TM46 **文献标志码:**A

Optimal control of return power of three-port converter based on dual active bridge

SHI Yong-sheng¹, LI Lei¹, DING En-song², YU Qiang¹, MA Ming-yuan¹

(1. College of Electrical and Control Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. Jiangsu Runyin Graphene Technology Co., Ltd., Gaoyou 225600, China)

Abstract:In order to achieve continuous and stable power supply to the load,the energy structure combining new energy generation and energy storage has become the mainstream hot technology of power system. Aiming at the power reflow problem existing in the operation control of the integrated three-port converter composed of staggered parallel bidirectional Buck-Boost and dual active bridges in energy storage,the generation mechanism of reflow power is analyzed,and the mathematical model of transmission power and reflow power of the integrated three-port converter is established. The coupling relationship between reflow power and transmission power is analyzed,and an optimal control strategy based on single loop closure for integrated three-port converter minimum return power control is proposed. PSIM is adopted for simulation,and the change of reflow power of integrated three-port converter is compared and analyzed. The change of the return power of the integrated three-port

* 收稿日期:2019-08-28
基金项目:国家自然科学基金项目(61871259)
作者简介:史永胜(1964—),男,陕西西安人,教授,博士研究生导师,研究方向:电源与新能源技术

converter is compared and analyzed, and the stable output can be realized by a simple modulation strategy.

Key words: integrated three-port converter; reflux power; PWM plus dual phase shift control; optimal control

0 引言

全球正在面临着严重的能源危机,利用风能、热能、太阳能等新能源进行发电可以有效地缓解所面临的能源短缺问题.储能技术可以解决可再生能源发电稳定性的问题,是未来能源体系的新支柱^[1].传统的新能源发电系统中采用单向 DC/DC 变换器和双向 DC/DC 变换器级联来构成,这种结构的体积较大,电能的利用率较低.采用集成多端口 DC/DC 变换器(MPC)可以有效的解决传统变换器中所存在的问题,因此集成多端口 DC/DC 变换器是近年来广泛研究的热点之一^[2-4].

文献[5]研究了双向有源桥变换器回流功率的优化控制技术策略,分析了不同电压转换比下,回流功率与阐述功率的耦合关系,提出 DAB 变换器的回流功率最优控制模型.文献[6]综合分析了双有源桥变换器两侧回流功率特性,建立了完整的传输功率、回流功率和峰值电流数学模型,提出一种基于最小回流功率的扩展移相控制策略.文献[7-9]中均以 DAB 变换器为研究对象,分析了回流功率存在对变换器的影响,采用不同的方法使回流功率最小,提高变换器的稳定性与可靠性.文献[10]提出的集成双向 Buck-Boost 与双有源桥构成的集成三端口变换器,深入分析了变换器的功率特性和软开关条件,并没有考虑变换器的回流功率现象.因此,在研究以双有源桥构成的集成三端口变换器时,需要考虑回流功率对集成三端口变换器传输功率的影响.

本文以交错并联双向 Buck-Boost 与双有源桥构成的集成三端口变换器为研究对象^[11-15],对其在 PWM 加双重移相调制策略控制下的功率传输与回流功率特性进行详细分析.分析了集成三端口变换器回流功率的产生机理.回流功率的影响因素有外移相占空比、原边功率开关管占空比和电压调节比,根据这些影响因素得到了基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率控制的优化方案.最后,通过 PSIM 搭建仿真实验平台,分析了输出电压和电流是否稳定.通过对比未加入优化和加入优化是回流功率的大小,验证了所提最小回流功率控制策

略的可行性.

1 回流功率的产生机理

交错并联双向 Buck-Boost 与双有源桥构成的集成三端口变换器其电路拓扑如图 1 所示.图 1 中: V_{bat} 是储能电池端电压, V_{pv} 是光伏阵列的输出电压, V_0 为负载侧输出电压, C_{bat} 是储能电池端的滤波电容, C_{pv} 是光伏阵列输出端的滤波电容, C_0 是负载侧的输出滤波电容, L 为串联辅助电感, L_1 、 L_2 均为滤波电感, R_0 为变换器的负载电阻, S1-S4 和 S5-S6 为变换器的开关管;变压器 T 的电压比为 $n:1$. V_{AB} 和 V_{CD} 分别为变换器一次、二次侧 H 桥的输出电压.负载 R_0 的两端的电压为 V_0 .

储能电池端电压 V_{bat} 与光伏阵列的输出电压 V_{pv} 的关系为:

$$V_{PV} = \frac{1-D_1}{D_1} V_{bat} \quad (1)$$

输入高频变压器的电压为储能电池端电压 V_{bat} 与光伏阵列的输出电压 V_{pv} 之和,即:

$$V = V_{PV} + V_{bat} = \frac{V_{bat}}{D_1} \quad (2)$$

集成三端口变换器采用 PWM 加双重移相控制策略.具体而言,原边全桥包含交错并联双向 Buck-Boost 电路,采用 PWM 控制,左桥臂超前右桥臂 180° ,设开关管 S2 和 S4 的占空比为 D_1 ,则开关管 S1 和 S3 的占空比为 $1-D_1$.在原边全桥与副边全桥之间进行移相,在半个开关周期的移相占空比为 D_2 ,用来调节变换器传输功率的大小和方向.定义副边全桥对角开关器件之间的移相为桥内移相,在副边全桥对角开关器件之间进行移相,同一桥臂的两个开关管互补导通,占空比均为 0.5,半个开关周期的内移相占空比为 D_3 .

图 2 为 PWM 加双重移相控制策略下的波形.在图 2 中, S1-S4 为变换器原边全桥开关管的驱动信号, S5-S8 为副边全桥开关管的驱动信号, V_{AB} 为变换器原边全桥中点的电压, V'_{CD} 为副边全桥中点电压折算到原边的电压, V_L 为电感 L 两端的电压, i_L 为流过电感 L 的电流.

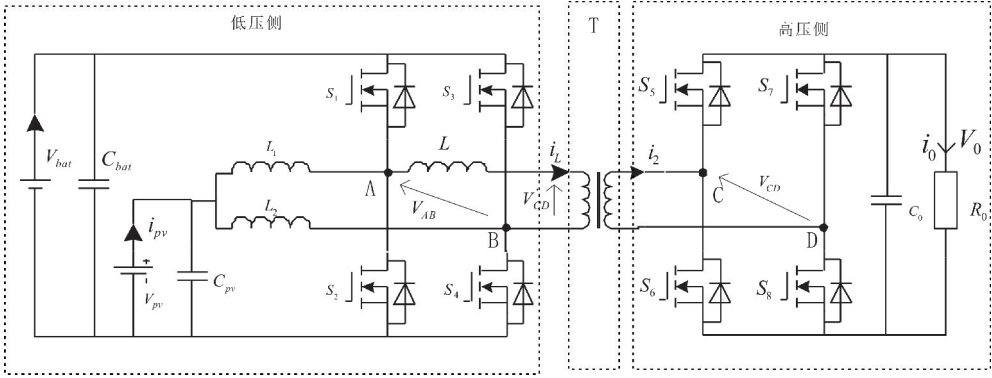


图 1 集成三端口变换器电路拓扑

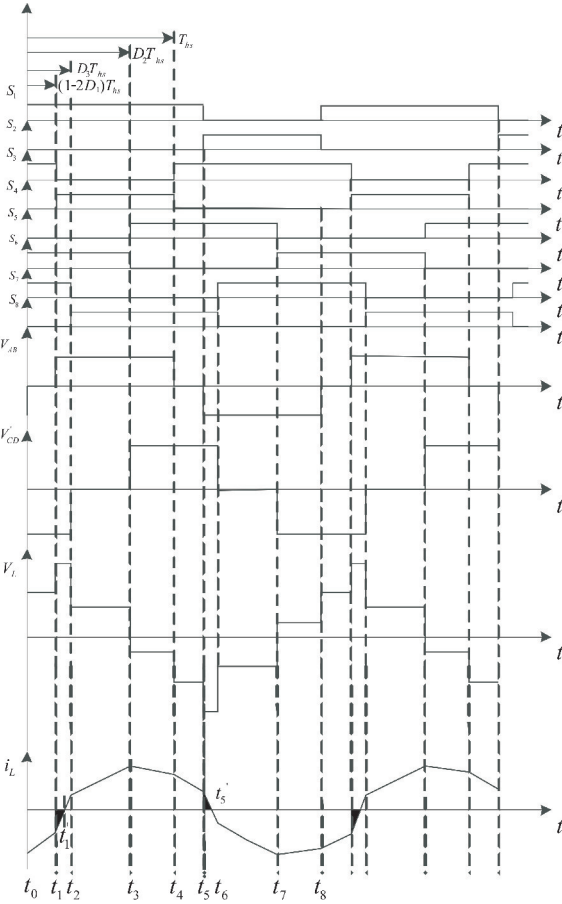


图 2 集成三端口变换器工作原理波形

根据电路原理,电感 \$L\$ 两端的电压 \$V_L\$ 可表示为:

$$V_L = V_{AB} - V'_{CD} \quad (3)$$

流过电感 \$L\$ 的电流 \$i_L\$ 可表示为:

$$\frac{di_L}{dt} = \frac{V_{AB} - V'_{CD}}{L} \quad (4)$$

其中 \$V_{AB} = V = V_{bat} / D_1, V'_{CD} = nV_0\$

集成三端口变换器在工作过程中,各时刻的电感电流 \$i_L\$ 可表示为:

$$i_L(t_1) = i_L(t_0) + \frac{nV_0}{L}(t_1 - t_0) \quad (5)$$

$$i_L(t_2) = i_L(t_1) + \frac{V + nV_0}{L}(t_2 - t_1) \quad (6)$$

$$i_L(t_3) = i_L(t_2) + \frac{V}{L}(t_3 - t_2) \quad (7)$$

$$i_L(t_4) = i_L(t_3) + \frac{V - nV_0}{L}(t_4 - t_3) \quad (8)$$

以图 2 来阐述变换器回流功率的产生机理,从图中可以看出 \$V_{AB}\$ 与 \$V'_{CD}\$ 之间移相角的存在,功率在传输过程中,移相电感电流 \$i_L\$ 与原边侧电压 \$V_{AB}\$ 存在相位相反的阶段,如图中 \$t_1 \sim t_1'\$ 及 \$t_5 \sim t_5'\$ 的阴影部分所示,在这段时间内,功率传输为负,功率回流到原边侧,定义此功率为回流功率^[16]. 在传输功率一定时,回流功率增大,为了补偿此段功率,正向传输功率也增大,这将导致变换器功率环流以及电流应力的增大,进而也增大了功率开关器件,磁元件的损耗,降低了变换器的效率.

2 功率特性分析

2.1 传输功率特性分析

通过对 PWM 加双重移相控制下集成三端口变换器工作原理的分析,建立集成三端口变换器的数学模型^[17]. 假设变换器工作过程中,半个开关周期 \$T_{hs}\$,电压调节比为 \$k = V/nV_0\$ 且 \$k \geq 1\$,开关频率为 \$f = 1/(2T_{hs})\$, \$t_0\$ 时刻 \$t_0 = 0\$,则各时刻可分别表示为: \$t_1 = (1 - 2D_1)T_m; t_2 = D_3T_{hs}; t_3 = D_2T_{hs}; t_4 = T_{hs}\$. 移相电感电流在一个开关周期内的变化量为零,并且移相电感电流 \$i_L\$ 满足奇对称性,可知 \$i_L(t + 0.5T) = -i_L(t)\$. 则在半个开关周期内各开关时刻移相电感电流 \$i_L\$ 的表达式为:

$$I_L(t_0) = -\frac{nV_0}{4fL}(2kD_1 + D_2 + D_3 - 1) \quad (9)$$

$$I_L(t_1) = -\frac{nV_0}{4fL}(2kD_1 + 4D_1 + D_2 + D_3 - 3) \quad (10)$$

$$I_L(t_2) = \frac{nV_0}{4fL}(2kD_3 + 2kD_1 - 2k - D_2 + D_3 + 1) \quad (11)$$

$$I_L(t_3) = \frac{nV_0}{4fL}(2kD_2 + 2kD_1 - 2k - D_2 + D_3 - 1) \quad (12)$$

相应地,可以得到 PWM 加双重移相控制下,传输功率为:

$$P = \frac{1}{T_{hs}} \int_0^{T_{hs}} V * i_L(t) dt = \frac{nVV_0}{4fL}(2D_2D_3 + D_1D_2 - D_3^2 - D_2^2 - D_1^2 + D_2 - D_1) \quad (13)$$

集成三端口变换器的输出电流为:

$$I_0 = \frac{nV}{4fL}(2D_2D_3 + D_1D_2 - D_3^2 - D_2^2 - D_1^2 + D_2 - D_1) \quad (14)$$

根据图 2 可知, t_3 时刻电感电流值最大,所以流经集成三端口变换器移相电感 L 的电流峰值为:

$$i_{\max} = \frac{nV_0}{4fL}(2kD_2 + 2kD_1 - 2k - D_2 + D_3 + 1) \quad (15)$$

为了便于分析,将传输功率标么化,取最大传输功率 P_B 为基准值,则:

$$P_B = \frac{nVV_0}{8fL} \quad (16)$$

此时传输功率的标么值为:

$$P^* = \frac{P}{P_B} = \frac{1}{2}(2D_2D_3 + D_1D_2 - D_3^2 - D_2^2 - D_1^2 + D_2 - D_1) \quad (17)$$

原边占空比 D_1 由光伏阵列端和储能电池端电压决定,不能作为控制输出功率的独立变量,在分析过程中假设 $D_1=0.5$ 。根据变换器的功率表达式,通过 MATLAB 绘图得到标么化传输功率随着 D_2 和 D_3 变换的三维关系和功率等高线,如图 3 和图 4 所示。

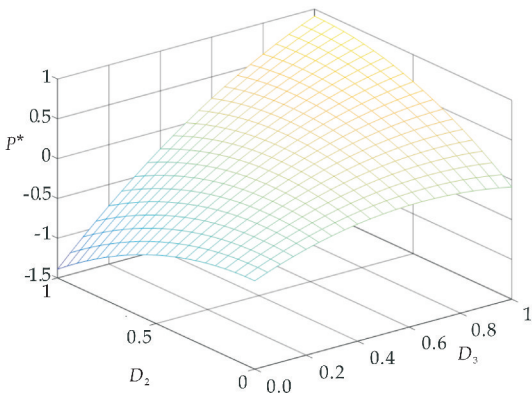


图 3 集成三端口变换器传输功率曲线

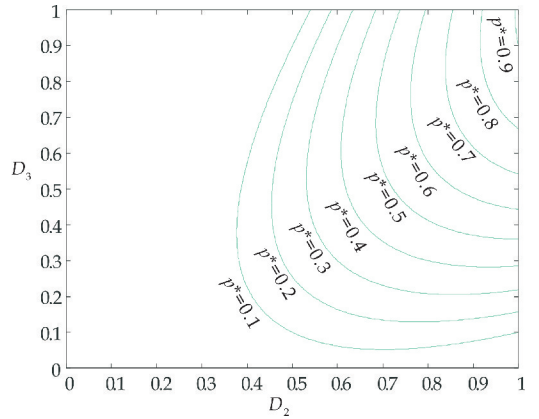


图 4 集成三端口变换器传输功率等高线

对于 PWM 加双重移相控制下,标么化传输功率随着 D_2 和 D_3 变化的关系图可以看出,当给定传输功率时,有多组 (D_2, D_3) 的取值组合来满足给定的传输功率,随着传输功率的增加 (D_2, D_3) 的取值组合减少。相比于单移相控制加入副边内移相控制,其控制调节范围广,灵活性增强。

2.2 变换器回流功率特性分析

定义集成三端口变换器的回流功率为 p_{ar} ,其大小与移相电感电流 $I_L(t_1)$ 、 $I_L(t_2)$ 、 $I_L(t_3)$ 和 $I_L(t_4)$ 的大小和方向有关^[18]。

根据回流功率的定义,可知 PWM 加双重移相控制下集成三端口变换器回流功率 P_{ar} 表达式为:

$$P_{ar} = \frac{1}{T} \int_{t_1}^{t_1'} V_{AB} i_{L(t)} dt = \frac{nV_{AB}n_{CD}}{16fL(k+1)}(2kD_1 + 4D_1 + D_2 + D_3 - 3)^2 \quad (18)$$

为了便于分析,将回流功率标么化可得:

$$P_{ar}^* = \frac{P_{ar}}{P_B} = \frac{(2kD_1 + 4D_1 + D_2 + D_3 - 3)^2}{2(k+1)} \quad (19)$$

同样假设 $D_1=0.5$,根据集成三端口变换器标么化回流功率表达式可得,标么化回流功率随着 D_2 和 D_3 变化的三维关系,如图 5 所示。

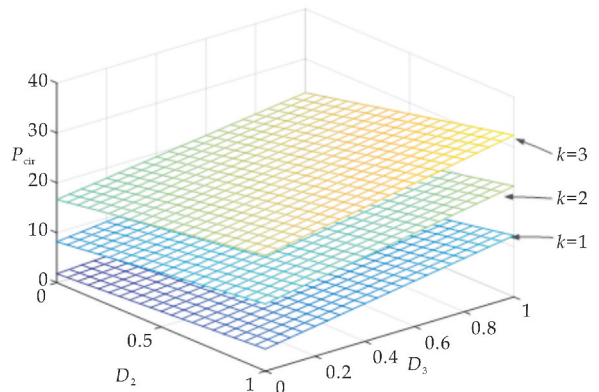


图 5 集成三端口变换器回流功率曲线

从图 5 可以看出, PWM 加双重移相控制下, 标么化回流功率 P_{ar}^* 随着电压匹配比 k 的增大而增大, 即当 $k=1$ 时集成三端口变换器的回流功率最小, 内移相占空比 D_3 和外移相占空比 D_2 都小于 0.5 时的回流功率明显小于 D_2 和 D_3 都大于 0.5 时的回流功率.

根据回流功率的变化规律,减小电感电流 i_L 与变换器原边全桥中点的电压 V_{AB} 相位相反阶段的时间,来寻找最小回流功率工作点,以此来降低变换器的回流功率损耗,提高变换器的工作效率.

3 最小回流功率优化控制

由于回流功率的存在,集成三端口变换器前级向后级传递的有功功率会受到回流功率的影响,导致集成三端口变换器总的功率利用率降低.为了提高集成三端口变换器的转换效率,在控制过程中来抑制功率地回流^[18].本文提出一种基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率优化控制方法来抑制功率地回流.

PWM 加双重移相控制下,要使得回流功率最小,由标幺化回流功率的表达式(19)可知,回流功率最小只需满足式(20)的条件.当表达式(20)的值为 0 时,理论上其回流功率就近似为 0,认为此时集成三端口变换器的回流功率最小.

$$2kD_1 + 4D_1 + D_2 + D_3 - 3 = 0 \quad (20)$$

根据条件式(20)可推导出基于最小回流功率的控制条件为:

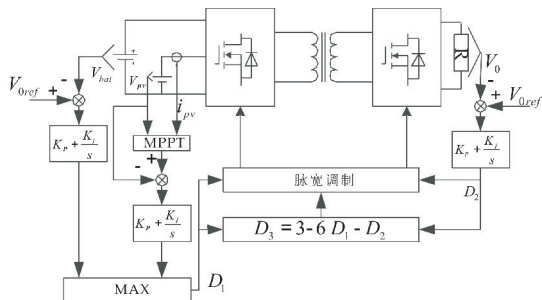
$$D_3 = 3 - 2kD_1 - 4D_1 - D_2 \quad (21)$$

由前文的分析可知,回流功率与电压匹配比 k 成正比,为了使得回流功率最小取 $k=1$ 。结合最小回流控制条件式(21)可得:

$$D_3 = 3 - 6D_1 - D_2 \quad (22)$$

综上分析,当内移相比 D_3 满足式(22)时,集成三端口变换器的回流功率理论上为 0,集成三端口变换器的回流功率最小,功率传输效率提高.

因此,基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率控制的控制框图如图 6 所示.



具体的控制策略为:采样得到输出电压与输出指令作比较,输出电压环为 PI 调节,调节输出的外移相占空比 D_2 来维持输出电压恒定,控制原副边功率传输的大小和方向. 光伏阵列端的 MPPT 控制和储能电池端的限压控制处于竞争状态,同一时刻只有一个胜出,决定集成三端口变换器原边功率开关管的占空比 D_1 ,根据光伏阵列和输出功率的不同,储能电池在充电和放电模式自由切换,实现三者的功率平衡.最后根据集成三端口变换器原边功率开关管的占空比 D_1 和外移相占空比 D_2 来设定副边两个桥臂之间的内移相占空比 $D_3 = 3 - 6D_1 - D_2$,来调节集成三端口变换器副边桥臂之间的移相角,使变换器工作在最小回流功率状态.

基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率优化控制方法原理简单,可以有效的减少回流功率,提高变换器的效率.

4 仿真结果分析

以 PSIM 软件为仿真平台,具体仿真参数为表 1 所示.

表 1 集成三端口变换器仿真参数

名称(单位)	数值
光伏阵列电压/V	36
储能电池电压/V	100
变压器变比/n	1
开关频率/kHz	10
移相电感/ μ H	260
滤波电感/ μ H	20
直流电容 $C_{bat}C_{pc}C_o/\mu$ F	680

搭建完仿真样机后,主要分析输出电压和电流是否稳定,对比分析移相电感电流 i_L 与变压器原边侧电压 V_{AB} 相位的相位关系,验证所提最小回流功率优化控制策略是否有效.

4.1 输出电压与电流仿真结果分析

变换器输出电压与电流的仿真结果如图 7 和图 8 所示,输出电压为 50 V,输出电流为 1 A,与理论分析结果一致. 电压与电流波形稳定,并未出现尖峰和抖动,该控制方式没有对输出产生影响,验证了该控制方式的可行性.

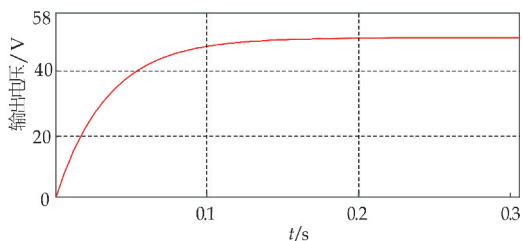


图 7 集成三端口变换器输出电压波形

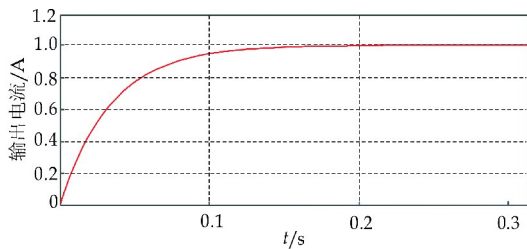


图 8 集成三端口变换器输出电流波形

4.2 回流功率仿真结果分析

集成三端口直流变换器的回流功率仿真如图 9、图 10 和图 11 所示. 图 9 是 $k=1$ 时未加入优化的仿真结果,从图中可以看出电感电流 i_L 与变压器原边侧电压 V_{AB} 存在相位相反的阶段,表明存在回流功率.

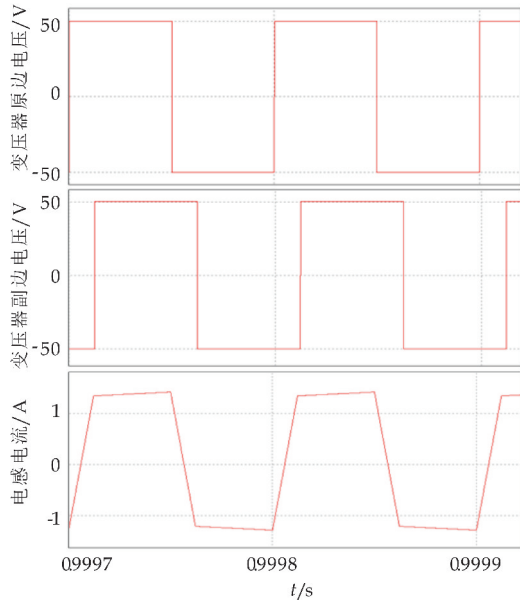


图 9 $k=1$ 时未加入优化的回流功率仿真结果

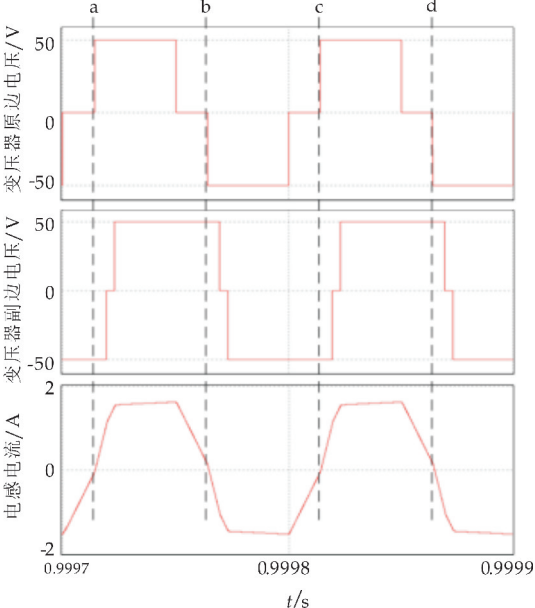


图 10 $k=1$ 时加入优化的回流功率仿真结果

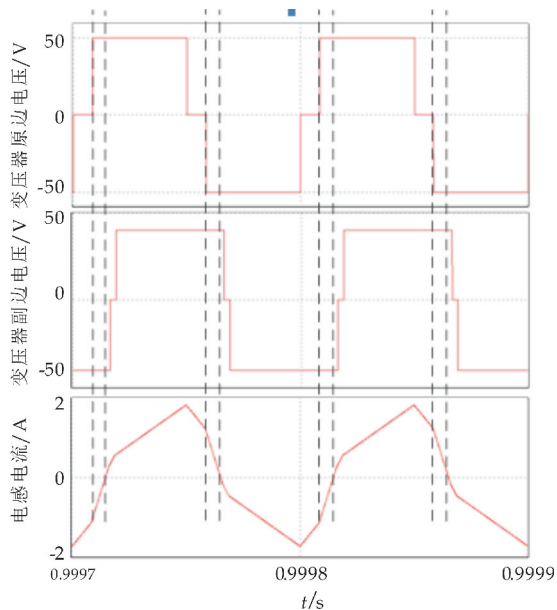


图 11 $k=1.25$ 时加入优化的回流功率仿真结果

图 10 是 $k=1$ 时加入优化的仿真结果. 从图 10 可以看出,电感电流 i_L 与变压器原边侧电压 V_{AB} 相位相反的阶段极小,表明回流功率极小. 对比图 9 和图 10 可知,可以通过控制策略来有效的减小回流功率,提高变换器的效率.

图 11 是 $k=1.25$ 时加入优化的仿真结果. 从图 11 可以看出,电感电流 i_L 与变压器原边侧电压 V_{AB} 相位相反的阶段存在,表明回流功率存在. 对比图 11 与图 9,发现加入优化的回流功率较小,证明优化控制策略的有效性. 对比图 11 与图 10,可知电压调节比 k 对最小回流功率控制的影响,随着 k 的增加回流功率也随之增加.

对比图 9、图 10 和图 11,发现不同控制策略下的相同时间段内,电感电流 i_L 波形的斜率是存在差异的,因为不同控制策略下,移相角和电压调节比 k 是存在差异的. 对比图 9 与图 10,因为两种控制策略下移相角存在差异,而电压调节比 k 是相同的,所以电感电流 i_L 波形斜率的差异较小. 对比图 9、图 10 与图 11,因为三种控制策略下移相角和电压调节比 k 同时存在差异,所以电感电流 i_L 波形斜率的差异是较大的.

通过对仿真结果的分析,发现与理论分析一致,验证了此控制方式的有效性.

5 结论

本文针对交错并联双向 Buck-Boost 与双有源桥构成的集成三端口变换器,采用 PWM 加双重移相控制策略,在此基础上建立了传输功率与回流功率的数学模型,提出了一种基于单闭环的集成三端

口变换器最小回流功率优化控制方法,通过理论分析与仿真结果对比,可以看出该优化控制策略较传统的移相控制具有以下特性:

首先,基于单闭环的集成三端口变换器最小回流功率优化控制方法原理简单,容易实现,输出稳定;其次,减小了集成三端口变换器的回流功率,从而减小了集成三端口变换器的损耗,提高了集成三端口的变换效率;最后,不同工作状态(不同电压转换比 k)时,集成三端口变换器回流与传输功率表现出不同特性,实际工程中应充分考虑变换器的工作状态。

参考文献

- [1] 宋家康,彭勇刚,王晓明,等.基于神经网络的三端口 DC-DC 变换器解耦控制策略[J].电工电能新技术,2019,38(2):20-26.
- [2] 刘俊峰,胡仁俊,曾君.具备高增益的非隔离三端口变换器[J].电工技术学报,2019,34(3):529-538.
- [3] Bhattacharjee A K, Kutkut N, Batarseh I. Review of multi port converters for solar and energy storage integration[J]. IEEE Transactions on Power Electronics, 2018, 34(2):1 431-1 445.
- [4] Ding Z, Yang C, Zhang Z, et al. A novel soft-switching multiport bidirectional DC-DC converter for hybrid energy storage system[J]. IEEE Transactions on Power Electronics, 2014, 29(4):1 595-1 609.
- [5] 侯旭,曾正,冉立,等.基于扩展移相控制的双向有源桥变换器回流功率优化[J].中国电机工程学报,2018,38(23):7 004-7 014,7134.
- [6] Shi H, Wen H, Chen J, et al. Minimum backflow power scheme of DAB-based solid state transformer with extended-phase-shift control[J]. IEEE Transactions on Industry Applications, 2018, 54(4):3 483-3 496.
- [7] Bai H, Nie Z L, Mi C C. Experimental comparison of traditional phase-shift dual-phase-shift and model-based control of isolated bidirectional DC-DC converters[J]. IEEE Transactions on Power Electronics, 2010, 25(6):1 444-1 449.
- [8] 张勋,王广柱,商秀娟,等.双向全桥 DC-DC 变换器回流功率优化的双重移相控制[J].中国电机工程学报,2016,36(4):1 090-1 097.
- [9] 程红,高巧梅,朱锦标,等.基于双重移相控制的双向全桥 DC-DC 变换器动态建模与最小回流功率控制[J].电工技术学报,2014,29(3):245-253.
- [10] Zhang N, Sutanto D, Muttaqi K M. A review of topologies of three-port DC-DC converters for the integration of renewable energy and energy storage system[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2016, 56(4):388-401.
- [11] 孙孝峰,申彦峰,霍庆颖. PWM 加双移相控制双向 Buck-Boost 集成三端口 DC-DC 变换器[J].太阳能学报,2016,37(5):1 180-1 189.
- [12] Wu H, Sun K, Chen R, et al. Full-bridge three-port converters with wide input voltage range for renewable power system[J]. IEEE Transactions on Power Electronics, 2012, 27(9):3 965-3 974.
- [13] Tao H, Kotsopoulos A, Duarte J L, et al. Transformer coupled multiport ZVS bidirectional DC-DC converter with wide input range[J]. IEEE Transactions on Power Electronics, 2008, 23(2):771-781.
- [14] Tao H, Kotsopoulos A, Duarte J L, et al. Family of multiport bidirectional DC-DC converters[J]. IEEE Proceedings-electric Power Applications, 2006, 153(3):451-458.
- [15] Sun X, Shen Y, Li W, et al. A PWM and PFM hybrid modulated three-port converter for a standalone PV/Battery power system[J]. IEEE Journal of Emerging & Selected Topics in Power Electronics, 2017, 3(4):984-1 000.
- [16] 吴俊娟,孟德越,申彦峰,等.双重移相控制与传统移相控制相结合的双有源桥式 DC-DC 变换器优化控制策略[J].电工技术学报,2016,31(19):97-105.
- [17] 于德,付超,王毅,等.隔离型双向直流变换器的最小回流功率移相控制方法[J].电工技术学报,2017,32(24):126-138.
- [18] 朱红旗,周剑君,祁良甫.基于 TPS 的双向全桥 DC/DC 最小回流功率控制[J].电力电子技术,2017,51(10):14-16.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0149-05

PSO-BP 神经网络在开关柜设备 温度预测中的应用

郭文强¹, 董 瑶², 李清华³, 张梦梦², 王立贤²

(1. 陕西科技大学 电子信息与人工智能学院, 陕西 西安 710021; 2. 陕西科技大学 电气与控制工程学院, 陕西 西安 710021; 3. 西安西翰电力科技有限公司, 陕西 西安 710065)

摘 要:温度是衡量电力开关柜设备健康状态的重要指标,对开关柜内设备进行准确的温度预测可有效的提前把握其运行状态.传统 BP 神经网络可以实现温度预测,但由于该网络在训练过程中容易陷入局部极小值,影响了温度预测的准确性.提出了一种 PSO 优化 BP 神经网络对设备温度进行预测的方法.首先,将电力运行数据集进行预处理,在网络训练前,利用 PSO 对神经网络的权值和阈值进行优化,得到 PSO-BP 预测模型;最后将预测模型运用到开关柜设备温度预测中.实验结果表明:相较于传统的神经网络温度预测方法,文中提出的方法能够对开关柜内设备温度进行有效的预测,为电网管理实现从传统预防性维护到主动预测性的转变提供了一种有效途径.

关键词:开关柜; 温度预测; PSO-BP; 神经网络

中图分类号:TP183 **文献标志码:**A

Application of PSO-BP neural network in temperature prediction for switchgear equipment

GUO Wen-qiang¹, DONG Yao², LI Qing-hua³, ZHANG Meng-meng², WANG Li-xian²

(1. School of Electronic Information and Artificial Intelligence, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. School of Electrical and Control Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 3. Xi'an Xihan Power Technology Co., Ltd., Xi'an 710065, China)

Abstract: Temperature is an important indicator to measure the health status of power switchgear equipment. Accurate temperature prediction of equipment in the switchgear can effectively grasp its operating status in advance. The traditional BP neural network can realize temperature prediction, but it is easy to fall into local minimum values during the training process, which affects the accuracy of temperature prediction. This paper proposes a PSO-optimized BP neural network to predict the temperature of equipment. Firstly, the power operation data set is preprocessed. Before the network training, the weight and threshold of the neural network are optimized by PSO to obtain the PSO-BP prediction model. Finally, the established prediction model is applied to the temperature prediction for the switchgear equip-

* 收稿日期:2019-08-20

基金项目:陕西省教育厅产业化培育计划项目(18JC003); 陕西省科技厅科研计划项目(2017JM6057); 陕西省西安市科技计划项目(2019216514GXRC001CG002GXYD1. 1)

作者简介:郭文强(1971—),男,陕西咸阳人,副教授,博士,研究方向:模式识别、故障诊断

ment. The experimental results show that, compared with the traditional neural network temperature prediction method, the method proposed in this paper can effectively predict the temperature for equipment in the switchgear. This method provides an effective way for grid management from traditional preventive maintenance to active predictive.

Key words: switchgear; temperature prediction; PSO-BP; neural networks

0 引言

随着我国经济的快速发展,电力系统的安全性、稳定性和可靠性受到越来越广泛的关注^[1,2]. 近些年来由电力设备过热引起的电力事故频发,造成了严重的社会影响. 开关柜是电力系统中不可或缺的配电设备,其安全、可靠运行是电网系统稳定的基础^[3]. 电力设备若发生异常,往往体现于设备温度的异常变化. 因此对电力开关柜设备进行温度预测,可以为电力系统安全稳定运行提供重要的决策依据.

随着人工智能技术的发展,预测问题的解决方法趋于多样化、智能化^[4,5]. 文献[6]采用了多元线性回归的方法建立回归预测模型,对开关柜触点温度进行预测,取得了较好的实验效果;文献[7]运用 K-近邻与多轮投票机制的广义回归神经网络模型对变电站设备进行温度预测,该方法增加了预测的可靠性. 但上述两种方法并没有考虑到外界因素对设备温度的影响,只对温度变量本身进行相关处理. 而文献[8]采用粒子群算法(Particle Swarm Optimization, PSO)优化神经网络的方法对液压系统故障进行预测诊断,诊断预测模型的精度有了一定的提升,验证了此方法对该问题解决的可行性;文献[9]设计了甲烷监测系统并利用 PSO 优化 BP 神经网络的方法对甲烷浓度进行预测,优化后的网络使得预测精度予以提高.

而目前利用 PSO 优化 BP 神经网络法进行电力系统开关柜设备的温度预测尚未见到相关文献. 考虑开关柜内设备温度的非线性特征,以及对其影响因素的复杂性,本文采用 PSO 算法优化 BP 神经网络的方法来提升温度预测的准确性. 随后,将其应用到开关柜内设备的温度预测中,可为电力系统安全稳定运行提供决策依据.

1 电力开关柜设备在线监测系统

开关柜内的设备,如母线排、触头等,都影响着电力系统安全、稳定的运行. 现有的电力系统通过对开关柜设备的在线监测,在一定程度上可以了解到系统的运行状态^[10]. 图 1 所示为变电站开关柜

设备在线监测典型系统图.

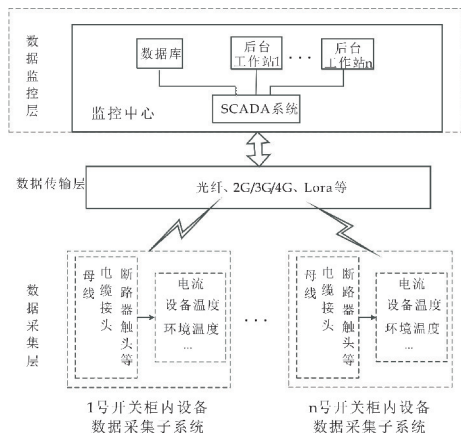


图 1 开关柜内设备监测系统图

该监测系统由三层组成,分别为:数据采集层、数据传输层与数据监控层. 数据采集层主要对相关设备(如母线排、电缆接头等)的电流、设备温度、环境温度等进行实时监测,分别采用了红外、光纤温度传感器等方法对其进行数据采集,温度的监测精度一般需达到 $-0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内^[11];数据传输层主要负责将采集到的温度通过无线传输或者有线传输的方式传送至主机;数据监控层主要进行历史监控数据的接收与存储,针对监测数据进行后台显示等相关操作,便于工作人员直观获取信息,进行管理.

在监控层嵌入预测功能,可以达到对设备健康状况提前掌握的目的,因此利用监控层的 SCADA 系统数据库为基础,以开关柜内母线为例,对历史数据进行相关处理,并利用 PSO-BP 法构建温度预测模型. 如表 1 所示,为陕西省某变电站开关柜设备 2018 年 6 月 20 日至 2018 年 7 月 12 日的的数据,1 小时采集一次,共 552 组.

该开关柜电压等级为 6 KV,母线采用 3×2 (TMY100 \times 10)接线方式,即 A、B、C 相负荷每相是由 2 根 100 \times 10 的铜排承载. 开关柜内母线温度与设备所带负荷、环境温度等有着紧密联系,而负荷的大小可以用电流直接反映,故选取母线 A、母线 B、母线 C 的电流与环境温度作为模型的主要输入参量.

表 1 样本数据集

样本序号	时刻	母线 A 电流/A	母线 B 电流/A	母线 C 电流/A	环境 温度/℃	母线 A 温度/℃	母线 B 温度/℃	母线 C 温度/℃
1	0 : 00	934.77	929.90	932.05	20.62	42.38	42.37	42.38
2	1 : 00	935.28	926.72	931.75	20.31	42.08	42.06	42.07
3	2 : 00	935.59	926.52	934.05	20.17	41.93	41.92	41.93
...
549	20 : 00	1 053.35	1 052.74	1 052.99	27.53	50.43	50.57	50.28
550	21 : 00	1 048.59	1 048.18	1 047.25	26.42	47.28	47.19	47.25
551	22 : 00	967.57	964.65	967.06	24.33	46.78	46.69	46.81
552	23 : 00	954.76	950.96	953.12	24.03	45.39	45.41	45.37

2 建立 PSO-BP 的温度预测模型

由于传统的 BP 神经网络模型的初始权值 w 与阈值 b 随机生成,导致网络的训练结果极易陷入局部极小值,利用 PSO 优化算法的全局搜索特性^[12],可对神经网络的初始权值与阈值进行优化,建立开关柜母线温度预测模型.进而完成对 PSO-BP 网络温度预测模型的构建.

基于 PSO-BP 的开关柜温度预测模型建立流程图如图 2 所示,模型建立主要步骤如下:

步骤一:获取开关柜设备样本数据集 D ,并进行数据预处理得到特征样本 D' ;

步骤二:判断是否建模.若模型已建立,则执行步骤十三;否则,执行步骤三;

步骤三:调节设置网络模型的输入层、隐含层和输出层的神经元个数 (p,q,h) ,种群规模 N 、进化次数 M ,加速度因子 $c_1、c_2$,惯性权重最大值与最小值 $w_{max}、w_{min}$,位置边界 $X_{min}、X_{max}$,速度边界 $V_{min}、V_{max}$,迭代次数 k ,最大迭代次数 k_{max} 等参数;

步骤四:判断权值 w 和阈值 b 是否优化.若已经优化,则跳转至步骤十一;否则执行步骤五至步骤十;

步骤五:随机生成初始粒子种群 P .即在给定定义域 $[X_{min},X_{max}]、[V_{min},V_{max}]$ 内,随机生成位置矩阵和速度矩阵,其中每个粒子都是一组潜在解,对应一组权值与阈值;

步骤六:利用样本数据 D' 训练 BP 神经网络并进行预测得到输出值 Z_n ,利用公式(1)计算种群中所有粒子适应度值 $fitness$ ^[13];

$$fitness = R * (\sum_{n=1}^h Y_n - Z_n)$$

(1)

式(1)中: R 为常数, h 为输出层节点个数, Y_n 为节点 n 的实际温度输出值, Z_n 为节点 n 的预测温度输出值.

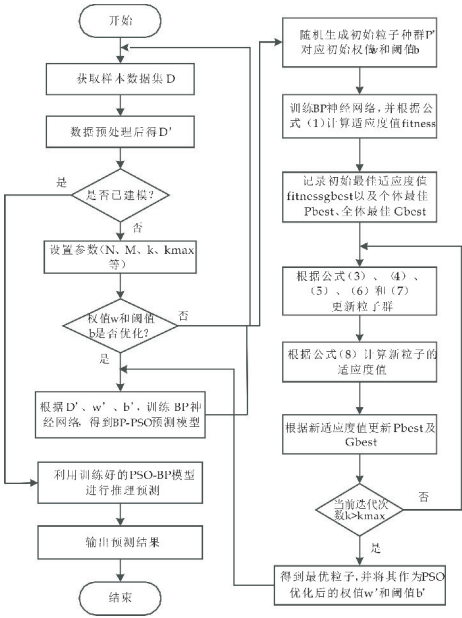


图 2 基于 PSO-BP 的温度预测流程图

步骤七:记录当前粒子的位置为 Pbest,初始化粒子中最好粒子的位置为 Gbest,令个体最佳适应度值 $fitnesspbest = fitness$,群体最佳适应度值 $fitnessbest$ 由公式(2)求解得到:

$$fitnesspbest = \min(fitness)$$

(2)

步骤八:根据公式(3)和公式(4)更新所有粒子的位置和速度,得到新粒子 P' 并利用公式(6)和公式(7)所示的边界约束条件确定新粒子;

$$X_{id}^{k+1} = X_{id}^k + V_{id}^{k+1}$$

(3)

$$V_{id}^{k+1} = wV_{id}^k + c_1r_1(P_{id}^k - X_{id}^k) + c_2r_2(P_{gd}^k - X_{id}^k)$$

(4)

$$w(k) = w_{max} - (w_{max} - w_{min}) * k/k_{max}$$

(5)

$$\begin{cases} X(j, find(X(j, :) > X_{max})) = X_{max} \\ X(j, find(X(j, :) < X_{min})) = X_{min} \end{cases}$$

(6)

$$\begin{cases} V(j, find(V(j, :) > V_{max})) = V_{max} \\ V(j, find(V(j, :) < V_{min})) = V_{min} \end{cases}$$

(7)

式中: $d=1,2,\dots,D;i=1,2,\dots,D;X_{id}^k$ 和 V_{id}^k 分别为粒子 i 在第 k 次迭代过程中第 d 维的位置

和速度; P_{id}^k 和 P_{gd}^k 分别为粒子 i 在第 k 次迭代过程中第 d 维的个体极值和全局极值的位置; X_{id}^{k+1} 和 V_{id}^{k+1} 为粒子 i 在第 $k+1$ 次迭代过程中第 d 维的位置和速度;公式(5)为惯性权重的选择公式; $X(j,:)$ 和 $V(j,:)$ 分别为第 j 行粒子的位置和速度.

步骤九:根据公式(1)计算新粒子的适应度值,并根据粒子适应度值更新步骤七中 Pbest 及 Gbest;

(1)个体最优更新

如果第 j 个粒子适应度值 $fitness(j)$ 低于更新前的适应度值 $fitnesspbest(j)$,即 $fitness(j)<fitnesspbest(j)$,则更新 Pbest 的值及其对应的位置.

(2)群体最优更新

如果第 j 个粒子适应度值 $fitness(j)$ 低于群体最佳适应度值 $fitnessgbest$,即 $fitness(j)<fitnessgbest(j)$,那么更新 Gbest 及其对应的位置.

步骤十:若当前迭代次数 $k > k_{max}$,那么保存最优粒子位置,执行步骤十一;否则令 $k = k + 1$,跳转至步骤八;

步骤十一:将 PSO 算法优化后得到的最优解作为网络的初始权值 w' 和阈值 b' ;

步骤十二:根据样本数据集 D' 以及 w' 、 b' ,训练 BP 神经网络,得到 PSO-BP 温度预测模型,返回步骤一;

步骤十三:由 PSO-BP 模型进行推理预测,输出设备温度预测结果.

3 实验与分析

应用上述基于 PSO-BP 的开关柜温度预测模型建立方法可以进行开关柜设备温度预测,实验数据集源于表 1. 累年年平均气温 13.7℃,累年极端最高气温和最低气温分别为 38.8℃和-6℃. 此次实验在实验室环境下进行,仿真实验平台为 windows10 系统,计算机配置为 Intel CPU 2.60GHz,编程工具为 MATLAB R2014a.

3.1 数据处理与参数设置

如表 1 所示,本文将 t 时刻、 $t-1$ 时刻和 $t-2$ 时刻的三相母线电流、环境温度以及时间序列作为输入, $t+1$ 时刻的三相母线温度作为输出,将原始数据处理可得 549 组样本数据,其中,前 501 组样本数据用于模型的训练,后 48 组样本数据用于模型的测试.

结合实际应用,本文采用归一化的方式对数据进行预处理,即将历史数据归一化到相同的尺度上,采用公式(8)进行归一化.

$$x'_k = (x_k - x_{min}) / (x_{max} - x_{min}) \tag{8}$$

式(8)中: x_{max} 、 x_{min} 分别为数据序列中的最大

值和最小值, x_k 为当前数值, x'_k 为归一化后的数值.

PSO-BP 模型的参数设置: $c_1 = 1.499\ 4$, $c_2 = 1.499\ 4$, $V_{max} = 1$, $V_{min} = -1$, $X_{max} = 1$, $X_{min} = -1$, $w_{max} = 0.9$, $w_{min} = 0.4$, $k_{max} = 50$,种群规模 $N = 40$. BP 神经网络结构:输入层神经元个数 $p = 15$,代表 t 时刻、 $t-1$ 时刻和 $t-2$ 时刻的三相母线电流、环境温度以及时间序列;根据经验公式以及试数法,确定隐藏层神经元个数 $q = 17$,输出层神经元个数 $h = 3$,分别为 $t-1$ 时刻母线 A、B、C 的温度值^[14]. 即本文 BP 神经网络的结构设置为 15-17-3. 其中,隐层激励函数选用 tan-sigmoid,输出层的激励函数选用 linear,训练函数选用 traingd.

3.2 实验结果与分析

本实验在相同的网络结构与网络初始化设置的条件下,采用传统 BP 神经网络与 PSO-BP 算法分别对相同数据集下的开关柜母线温度进行预测,做 45 次构建模型和预测,结果再取平均值.

以母线 A 为例,传统 BP 神经网络预测值、PSO-BP 神经网络预测值与实际温度值的对比如图 3 所示.

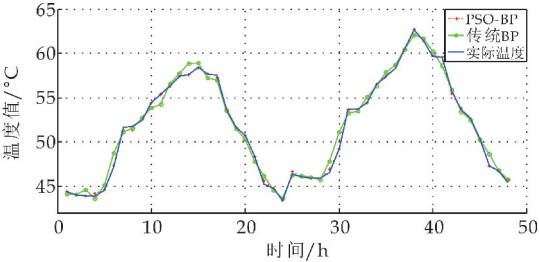


图 3 母线 A 不同算法预测结果对比图

可以直观地看出:经过粒子群优化算法优化的 BP 神经网络较传统 BP 神经网络的预测精度高. 对于母线 B 与母线 C 的预测结果与母线 A 类似.

以母线 A 为例,如图 4 所示为不同算法的残差实验结果.

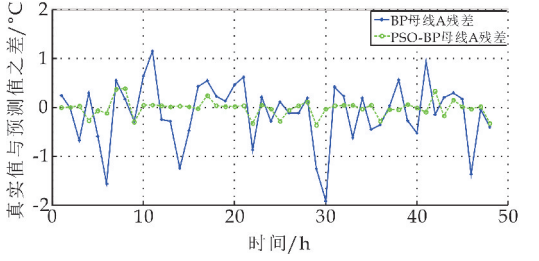


图 4 BP 与 PSO-BP 实验结果预测残差比较

通过对比可以看出:相同条件下,传统 BP 预测法的预测误差在 $[-2.0, 1.5]$ 之间波动,而本文所用 PSO-BP 预测方法的预测误差在 $[-0.4, 0.4]$ 之间波动,预测误差明显小于传统 BP 法.

本文选取常见的平均绝对误差 MAE、相对误

差、均方差 MSE 和平均绝对百分比误差 MAPE 作为衡量算法模型优劣的评价参数. 实验结果如表 2、表 3、表 4 和表 5 所示.

表 2 不同算法 MAE 结果对比

母线类型	BP 法 MAE/℃	PSO-BP 法 MAE/℃
母线 A	0.294 8	0.197 4
母线 B	0.316 8	0.218 2
母线 C	0.307 7	0.189 1

表 3 不同算法相对误差结果对比

母线类型	BP 法相对误差	PSO-BP 法相对误差
母线 A	0.005 7	0.003 8
母线 B	0.006 1	0.004 2
母线 C	0.005 9	0.003 6

表 4 不同算法 MSE 结果对比

母线类型	BP 法 MSE/(℃ ²)	PSO-BP 法 MSE/(℃ ²)
母线 A	0.241 5	0.128 9
母线 B	0.243 1	0.138 6
母线 C	0.225 5	0.106 8

表 5 不同算法 MAPE 结果对比

母线类型	BP 法 MAPE/%	PSO-BP 法 MAPE/%
母线 A	0.011 3	0.007 8
母线 B	0.012 0	0.008 6
母线 C	0.011 9	0.007 5

通过表 2、表 3、表 4 和表 5 可以看出:PSO-BP 法相对于传统 BP 法的各项指标都处于下降趋势. BP 法的最大绝对误差为 1.919 ℃,而 PSO-BP 法的最大绝对误差为 0.388 3 ℃,能满足温度的预测精度-0.5 ℃~0.5 ℃的要求. 文献[15]采用 LMS 算法和 Levenberg-Marquardt 算法对网络进行训练,并对开关柜温度进行预测,其最大绝对误差为 1.7 ℃,对比可知本文方法明显优于该方法. 因此利用 PSO-BP 模型进行温度预测拥有更好的精确度,模型拟合能力更强.

分析可知,本文充分利用了粒子群优化这一仿生算法的全局搜索寻优特性与 BP 神经网络相结合,有效地解决了 BP 神经网络初始权值与阈值随机设定的问题,避免了训练结果易陷入局部极小值,从而提高了开关柜母线温度的预测准确度.

4 结论

本文将 PSO 优化 BP 神经网络的温度预测算法应用到开关柜设备的温度预测之中. 该方法利用了 PSO 优化算法的记忆能力、较好的全局搜索能力等使得神经网络初期得到更好的权值与阈值. 以母线 A、B、C 为例进行温度预测,实验结果表明:本文用 PSO-BP 预测算法有效地改善了 BP 神经网络的初始权值与阈值,提高了开关柜母线温度预测的精度,增加了对开关柜运行状态的定位途径. 该

方法也可应用于开关柜内其它设备的温度预测,为电力系统的安全稳定运行提供了保障,并为电力开关柜监测系统的完善提供一种新方法.

参考文献

[1] 周玉妍. 高压开关柜触点温度数据分析与预测研究[D]. 武汉:华中科技大学,2016.

[2] Wang M, Qu Z, He X, et al. Real time fault monitoring and diagnosis method for power grid monitoring and its application[C]//2017 IEEE Conference on Energy Inter-net and Energy System Integration (EI2). Beijing:IEEE, 2017:1-6.

[3] 王建华,张国钢,宋政湘,等. 物联网+大数据+智能电器——电力设备发展的未来[J]. 高压电器,2018,54(7): 1-9,19.

[4] Nadtoka I I, Balasim M A Z. Mathematical modelling and short-term forecasting of electricity consumption of the power system, with due account of air temperature and natural illumination, based on support vector machine and particle swarm[J]. Procedia Engineering, 2015, 129: 657-663.

[5] Potapov V, Khamitov R, Makarov V, et al. The training selection method for short-term prediction electricity loads with criteria of informativeness and compactness[C]// 2018 Dynamics of Systems, Mechanisms and Machines (Dynamics). Beijing :IEEE, 2018:1-5.

[6] 何兴平,孙成龙. 基于多元线性回归模型的高压开关柜触点温度预测[J]. 云南电力技术, 2018, 46(3): 118-121.

[7] 孔雪卉,张慧芬. 基于优化广义回归神经网络的变电站设备温度预测[J]. 中国电力, 2016, 49(7): 54-59.

[8] 张捍东,陶刘送. 粒子群优化 BP 算法在液压系统故障诊断中应用[J]. 系统仿真学报, 2016, 28(5): 1 186-1 190.

[9] 王志芳,王书涛,王贵川. 粒子群优化 BP 神经网络在甲烷检测中的应用[J]. 光子学报, 2019, 48(4): 147-154.

[10] 彭在兴. 高压开关设备在线监测技术策略研究[J]. 高压电器, 2015, 51(10): 132-137.

[11] 陈 创,徐 恺,王颖韬,等. 基于 MLX90614 的非接触式母线温度在线监测系统[J]. 现代电子技术, 2015, 38(12): 105-109.

[12] Eseye A T, Zhang J, Zheng D. Short-term photovoltaic solar power forecasting using a hybrid Wavelet-PSO-SVM model based on SCADA and Meteorological information[J]. Renewable Energy, 2018, 118: 357-367.

[13] 郭文强,师 帅,张 筱,等. 基于遗传算法优化 BP 神经网络的短期发电量预测[J]. 陕西科技大学学报, 2017, 35(4): 159-163.

[14] 夏克文,李昌彪,沈钧毅. 前向神经网络隐含层节点数的一种优化算法[J]. 计算机科学, 2005, 32(10): 143-145.

[15] 孙 源,卢 锴. 基于人工神经网络的封闭式开关柜温度的预测[J]. 中小企业管理与科技, 2014(7): 316-317.

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0154-10

基于广义Ⅱ型模糊聚类的图像分割算法

陈景文¹, 徐 鑫¹, 雷 涛², 加小红¹, 薛丁华¹

(1. 陕西科技大学 电气与控制工程学院, 陕西 西安 710021; 2. 陕西科技大学 电子信息与人工智能学院, 陕西 西安 710021)

摘 要:尽管广义Ⅱ型模糊 C 均值聚类算法将Ⅱ型模糊集引入到模糊 C 均值聚类(FCM)中以提升算法对复杂数据的分类性能,然而该方法忽略了数据的空间分布信息,导致算法在图像分割中的鲁棒性较差. 针对该问题,提出一种基于邻域信息的广义Ⅱ型模糊 C 均值聚类算法. 该算法利用高斯函数作为语言模糊项参数,并利用语言模糊项参数构建带有模糊因子的二级模糊隶属度函数,通过整合图像的空间邻域信息以优化目标函数,最后通过迭代寻优以实现图像的准确分割. 实验结果表明,该算法能够利用二级模糊隶属度实现更好的图像分割效果,分割结果优于改进的 FCM 算法及广义Ⅱ型 FCM 算法.

关键词:模糊 C 均值; 广义Ⅱ型模糊 C 均值; 模糊因子; 图像分割

中图分类号:TM761 **文献标志码:** A

Image segmentation algorithm based on general type-2 fuzzy clustering

CHEN Jing-wen¹, XU Xin¹, LEI Tao², JIA Xiao-hong¹, XUE Ding-hua¹

(1. School of Electrical and Control Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. School of Electronic Information and Artificial Intelligence, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Although the general type-2 fuzzy c-means algorithm (GT2 FCM) introduces type-2 fuzzy sets into fuzzy c-means (FCM) algorithm to improve the classification performance of the algorithm for complex data. However, this method ignores the spatial distribution information of data, which leads to the result that the GT2 FCM has a low robustness for image segmentation. Aiming at this problem, a general type-2 fuzzy c-means algorithm based on neighborhood information is proposed. The algorithm considers Gaussian function as the linguistic fuzzifier parameter, and uses the linguistic fuzzifier parameter to construct the secondary membership function with fuzzy factor. Furthermore, the proposed algorithm integrates the spatial neighboring information of the image to optimize the objective function, and employs the iterative optimization to achieve accurate image segmentation. Experimental results show that the proposed algorithm can achieve better image segmentation than the improved

* 收稿日期:2019-07-22

基金项目:国家自然科学基金项目(61871259, 61811530325)

作者简介:陈景文(1978—),男,内蒙古赤峰人,副教授,研究方向:电力电子与电力传动、新能源与电能变换技术、微电网技术

FCM algorithm and the general type-2 FCM algorithm by using the secondary membership.

Key words: fuzzy c-means (FCM); general type-2 FCM (GT2 FCM); fuzzy factor; image segmentation

0 引言

图像分割是图像识别和计算机视觉的基础,是图像分析和图像理解的重要组成部分.图像分割实质上就是预测图像中每个像素所属的类别,目前多种图像分割方法已被提出,其中,模糊聚类是常用的一种图像分割算法^[1].传统的模糊 C 均值聚类算法(Fuzzy C-Means,FCM)^[2]是基于图像像素分类的分割方法,由于没有考虑图像的空间信息,导致分割结果对噪声特别敏感.

针对 FCM 算法的不足,许多的改进方法被提出,文献[3]提出了结合空间信息的模糊 C 均值聚类算法(Fuzzy C-Means Clustering with Spatial Constraints,FCM_S),引入了空间邻域信息,虽然降低了对噪声的敏感性,但引入参数的选择对分割结果有很大的影响.文献[4]提出了鲁棒性的模糊局部 C 均值聚类算法(Fuzzy Local Information C-Means,FLICM),通过引入模糊因子,提高了抗噪性能,且该模糊因子没有任何参数选择,但该算法处理不确定性的能力较差,造成聚类中心的位置也不是很精确,最终影响图像的分割结果.

FCM 算法以及这些改进方法都是以 I 型模糊集为基础,I 型模糊集表达的是样本与每个聚类中心的隶属关系,其中的隶属度是确定的数值,导致 I 型模糊集描述不确定性的能力受到限制,并且在实际应用中图像本身存在多种不确定性^[5-8].I 型模糊集为基础的 FCM 算法不能很好地处理图像中的这些不确定性问题,导致图像的分割结果差.

为了改善 I 型模糊聚类处理图像不确定性的能力,引入 II 型模糊集.II 型模糊集的概念是 Zadeh^[9]提出的,它是对 I 型模糊集的扩展,II 型模糊集可以简单理解为对 I 型隶属度函数取值进行模糊化,其隶属度值对应于一个 I 型模糊集,从而使描述的集合的模糊性增强.也就是说,相比 I 型模糊集,II 型模糊集通过增加描述与处理不确定性的维度,使得 II 型模糊聚类算法具有更强处理图像不确定性的能力,进而可以相对完整地表达图像不确定性信息^[10-15].

文献[16]提出了区间 II 型模糊 c 均值聚类算法(Interval Type-2 Fuzzy C-Means,IT2 FCM),

采用两个模糊加权指数来构造区间 II 型模糊集的上、下主隶属度函数,而二级隶属度函数则采用便于运算的区间 II 型二级隶属度函数,即所有二级隶属度值为 1.区间 II 型模糊集是 II 型模糊集的一种特殊形式,虽然它通过对二级隶属度函数作简化定义来减少 II 型模糊集的运算复杂度,其处理不确定性的能力也有所提升,但是算法的鲁棒性较差,对图像的分割结果也不是很好.

文献[17]提出了广义 II 型模糊 C 均值聚类算法(General Type-2 Fuzzy C-Means,GT2 FCM),与 IT2 FCM 算法选用两个模糊加权指数的方式不同,GT2 FCM 算法选用完整的 I 型模糊集的语言项对模糊指数 m 进行描述,即为语言模糊项参数.利用语言模糊项参数构造 GT2 模糊聚类隶属函数,再使用 α 平面表示方法,将输入不确定性转化为获取的聚类的不确定模糊位置,简化算法的复杂度.该算法拥有更强的描述不确定性因素的能力,但是由于未考虑图像的空间信息,导致分割结果对噪声较为敏感,使得分割出的区域不连续,图像分割结果较差.

针对广义 II 型模糊 C 均值聚类算法没有考虑空间分布信息,导致算法鲁棒性不好和图像分割结果较差的问题,本文提出一种基于邻域信息的广义 II 型模糊 C 均值聚类算法(General Type-2 Fuzzy C-Means Algorithm Based on Neighborhood Information,GT2 FCM_N).在广义 II 型模糊 C 均值聚类算法的基础上引入模糊因子,以模糊的方式结合邻域的空间信息和灰度信息,自动地实现了图像细节和噪声的平衡,使得该算法在保证处理图像不确定性因素能力的同时,不仅增强了算法的鲁棒性,而且提高了图像分割结果的准确性,进而提升算法的性能.通过在合成图像和自然图像上进行实验对比,说明了改进方法的优越性,同时验证了该算法能有效抑制噪声的影响,从而实现图像的准确分割.

1 相关算法

1.1 GT2 FCM 算法

在模糊聚类算法中,模糊加权指数 m 的取值

直接影响数据聚类划分的位置和质量. 然而, 用精确的数值来表示输入数据的模糊性是很困难的. 广义 II 型模糊 C 均值算法 (GT2 FCM) 将 II 型模糊集引入到模糊聚类中, 通过 α -plane 表示方法来简化算法的复杂度^[18-20]. GT2 FCM 算法是以 T1 模糊集的语言术语来表达模糊的概念, 然后利用语言模糊项参数构造 GT2 模糊聚类隶属函数. 使用 α -plane 表示, 将输入不确定性转化为获取聚类的不确定模糊位置, 具有处理图像数据的不确定能力^[17].

语言模糊项参数 M 可以用它的 α -cuts 来表示, 如下所示

$$M = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \alpha / S_M(\alpha) \tag{1}$$

其中,

$$S_M(\alpha) = [s_M^L(\alpha), s_M^R(\alpha)] \tag{2}$$

GT2 FCM 算法的隶属度函数可由 α -cuts 表示为:

$$\bar{u}_j(x_i) = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \alpha / [s_{\bar{u}_j}^L(x_i | \alpha), s_{\bar{u}_j}^R(x_i | \alpha)] \tag{3}$$

由 α -plane 表示方法可知, 在每个 α 取值下, 使用区间值的模糊指数 $[s_{\bar{u}_j}^L(\alpha), s_{\bar{u}_j}^R(\alpha)]$ 计算二级隶属度的左右边界 $s_{\bar{u}_j}^L(x_i | \alpha)$ 和 $s_{\bar{u}_j}^R(x_i | \alpha)$. 该区间值的模糊指数是从在式 (2) 中语言模糊项参数 M 的 α -cuts 表示得到的, 所以

$$s_{\bar{u}_j}^L(x_i | \alpha) =$$

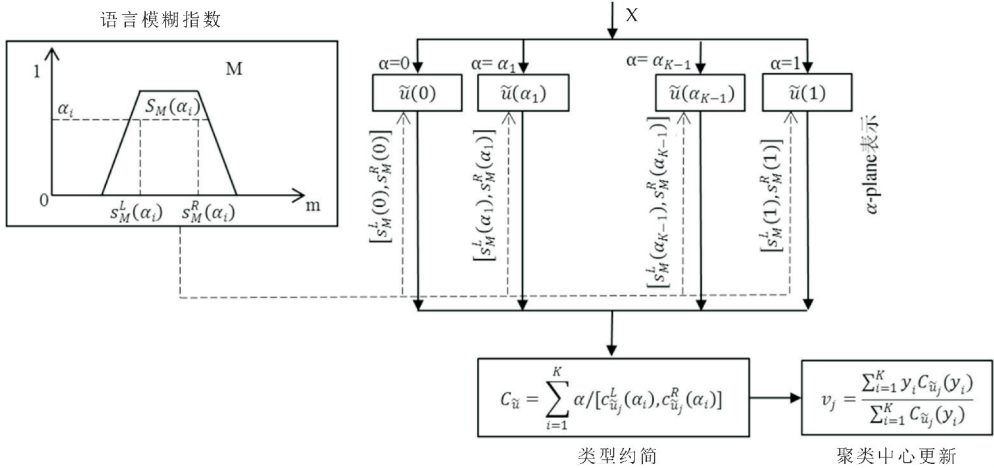


图 1 GT2 FCM 算法的示意图

1.2 FLICM 算法

Kinidis 等^[4]提出了一种鲁棒模糊局部信息 C 均值 (FLICM) 算法, 以改善对噪声的敏感程度, 保留图像细节. 该算法将局部空间信息和灰度信息以一种新的模糊方式结合起来, 称为模糊因子 G_{ji} , 被定义为:

$$\max \left(\frac{1}{\sum_{l=1}^c (d_{ij}/d_{il})^{2/(s_M^L(a)-1)}}, \frac{1}{\sum_{l=1}^c (d_{ij}/d_{il})^{2/(s_M^R(a)-1)}} \right) \tag{4}$$

$$s_{\bar{u}_j}^L(x_i | \alpha) = \min \left(\frac{1}{\sum_{l=1}^c (d_{ij}/d_{il})^{2/(s_M^L(a)-1)}}, \frac{1}{\sum_{l=1}^c (d_{ij}/d_{il})^{2/(s_M^R(a)-1)}} \right) \tag{5}$$

式 (4) 和式 (5) 中: d_{ij} 表示 x_i 与 v_j 之间的欧氏距离, d_{il} 表示 x_i 与 v_l 之间的欧氏距离.

在 GT2 模糊隶属函数 \bar{u}_j 的情况下, 聚类中心 \bar{v}_j 的模糊位置可以作为其质心被得到

$$\bar{v}_j = C_{\bar{u}_j} = \frac{\sum_{\bar{u}_j}(x_1) \in J_{x_1} \cdots \sum_{\bar{u}_j}(x_n) \in J_{x_n} [f(\bar{u}_j(x_1)) * \cdots * f(\bar{u}_j(x_n))]}{\sum_{i=1}^n x_i \bar{u}_j(x_i)} \tag{6}$$

根据 Liu's 定理^[21], 质心 $C_{\bar{u}_j}$ 可以计算为单个 α -plane 的区间质心的加权组合.

$$C_{\bar{u}_j} = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \alpha / [c_{\bar{u}_j}^L(\alpha), c_{\bar{u}_j}^R(\alpha)] \tag{7}$$

通过对聚类质心 $C_{\bar{u}_j}$ 的去模糊化, 计算出精确的聚类中心

$$v_j = \frac{\sum_{i=1}^K y_i C_{\bar{u}_j}(y_i)}{\sum_{i=1}^K C_{\bar{u}_j}(y_i)} \tag{8}$$

式 (8) 中: K 是质心区域离散化步骤的个数, y_i 表示这些离散步骤的位置向量. GT2 FCM 算法的示意图如图 1 所示.

$$G_{ji} = \sum_{\substack{r \in N_i \\ i \neq r}} \frac{1}{d_{ir} + 1} (1 - u_{ir})^m \|x_r - v_j\|^2 \tag{9}$$

式 (9) 中: d_{ir} 表示像素 i 和 r 之间的空间欧氏距离, u_{jr} 是第 r 个像素点属于第 j 个聚类中心的隶属度, m 是每个模糊隶属度的加权指数, v_j 是聚类 j 中心的原型.

FLICM 算法的目标函数定义为:

$$J = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^c (u_{ji}^m \|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}) \quad (10)$$

在 $\sum_{j=1}^c u_{ji} = 1$ 的约束下,使用拉格朗日乘子最小化目标函数得到聚类中心 v_j 和隶属度 u_{ji} 为:

$$v_j = \frac{\sum_{i=1}^n (u_{ji})^m x_i}{\sum_{i=1}^n (u_{ji})^m} \quad (11)$$

$$u_{ji} = \frac{1}{\sum_{l=1}^c \left(\frac{\|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}}{\|x_i - v_l\|^2 + G_{li}} \right)^{1/(m-1)}} \quad (12)$$

FLICM 算法引入模糊因子,以模糊的方式将灰度信息和局部空间信息结合在一起,不仅增强了算法的抗噪性,而且较好的保持了图像的细节部分.该算法不含经验性调整的参数,通过模糊局部约束自动实现图像细节和噪声的平衡,同时提高聚类性能.但是该算法的聚类位置不是很精确,且处理图像不确定性因素的能力差.

FLICM 算法的步骤如下:

步骤 1: 设定聚类个数 c , 模糊指数 m 和停止条件 ϵ ;

步骤 2: 随机初始化模糊隶属度矩阵;

步骤 3: 设置循环计数器 $b=0$;

步骤 4: 使用式(11)计算聚类中心;

步骤 5: 使用式(12)计算隶属度;

步骤 6: 若 $|\bigcup^{(b)} - \bigcup^{(b+1)}| < \epsilon$, 停止迭代, 否则 $b=b+1$, 返回步骤 4 继续运行.

2 本文算法

GT2 FCM 算法是以 II 型模糊集为基础,聚类位置较为准确,处理不确定性的能力高于 I 型模糊集,但没有采用数据的空间分布信息,导致算法的鲁棒性不是很好,难以对图像进行准确分割. FLICM 算法中的模糊因子以一种模糊的方式将空间和灰度信息结合起来,提供了抗噪性能,且没有任何参数选择,然而该算法属于 I 型模糊聚类算法,聚类位置不是很精确,处理数据以及算法的不确定性的能力差.为了提高算法的鲁棒性和图像分割准确性,同时确保处理不确定性的能力,本文提出了一种基于邻域信息的广义 II 型模糊 C 均值聚类算法.该算法在 GT2 FCM 算法的基础上引入模糊因子,其定义如式(9).

模糊因子没有使用任何控制图像噪声和图像细节之间平衡的参数,可以自动实现它们之间的平衡.其以模糊的方式结合了邻域空间信息和灰度信息,提升了算法对噪声的不敏感性.根据中心像素

与邻域像素的欧式距离来控制邻域像素对中心像素的影响.使用原始图像的信息,避免可能导致细节丢失的预处理步骤,使得图像细节能够保留.

本文提出算法的目标函数为

$$J = \sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^n [u_j(x_i)^M \|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}] \quad (13)$$

式(13)中: c 为聚类个数, n 为图像像素个数, G_{ji} 为模糊因子, M 为语言模糊项.

(1)构造 GT2 模糊隶属函数

语言模糊项参数 M 可以用它的 α -cuts 来表示,如公式(1)和公式(2).本文选用高斯函数作为语言模糊项参数 M 来表达模糊性.

GT2 FCM_N 的隶属度函数使用其 α -cuts 表示为

$$u_j(x_i) = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \frac{\alpha}{(s_{u_j}(x_i | \alpha))} = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \frac{\alpha}{[s_{u_j}^L(x_i | \alpha), s_{u_j}^R(x_i | \alpha)]} \quad (14)$$

GT2 FCM_N 隶属度函数的 α -plane 表示为

$$u_j(\alpha) = \sum_{x_i \in X} S_{u_j}(x_i | \alpha) \quad (15)$$

使用区间值的模糊指数 $[s_M^L(\alpha), s_M^R(\alpha)]$ 计算每个 α -plane 表示二级隶属度的左右边界 $s_{u_j}^L(x_i | \alpha)$ 和 $s_{u_j}^R(x_i | \alpha)$,其中添加了模糊因子来更新二级隶属度,公式如下所示:

$$s_{u_j}^R(x_i | \alpha) = \max \left(\frac{1}{\sum_{l=1}^c \left(\frac{\|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}}{\|x_i - v_l\|^2 + G_{li}} \right)^{\frac{1}{(s_M^R(\alpha)-1)}}}, \frac{1}{\sum_{l=1}^c \left(\frac{\|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}}{\|x_i - v_l\|^2 + G_{li}} \right)^{\frac{1}{(s_M^L(\alpha)-1)}}} \right) \quad (16)$$

$$s_{u_j}^L(x_i | \alpha) = \min \left(\frac{1}{\sum_{l=1}^c \left(\frac{\|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}}{\|x_i - v_l\|^2 + G_{li}} \right)^{\frac{1}{(s_M^L(\alpha)-1)}}}, \frac{1}{\sum_{l=1}^c \left(\frac{\|x_i - v_j\|^2 + G_{ji}}{\|x_i - v_l\|^2 + G_{li}} \right)^{\frac{1}{(s_M^R(\alpha)-1)}}} \right) \quad (17)$$

所以,使用语言模糊指数 M 的 α -cuts 构造 α -planes 的带有模糊因子的 GT2 聚类隶属度函数 u_j ,从而增强模糊系统方法的模糊性来提高处理不确定性因素的能力,改善图像噪声及异常点的影响.

(2)聚类位置更新

FCM 算法的聚类中心位置更新基于隶属度矩阵 U 确定新的聚类位置.在 GT2 FCM_N 算法的情况下,所提出的聚类位置更新方法包括首先将 GT2 模糊聚类隶属类型减少到它们的 T1 模糊质心中,然后将这些质心去模糊化到精确的聚类位

置.

质心 C_{u_j} 表示为

$$C_{u_j} = \bigcup_{\alpha \in [0,1]} \alpha / [c_{u_j}^L(\alpha), c_{u_j}^R(\alpha)] \tag{18}$$

式(18)中:区间质心 $[c_{u_j}^L(\alpha), c_{u_j}^R(\alpha)]$ 是应用降型算法^[22-24]计算得到的.

通过对聚类质心 C_{u_j} 的去模糊化,计算出精确的聚类中心

$$v_j = \frac{\sum_{i=1}^T x_i c_{u_j}(x_i)}{\sum_{i=1}^T c_{u_j}(x_i)} \tag{19}$$

式(19)中: T 是质心区域离散化步骤的个数, T 的值直接由所使用的 α -plane 个数决定.

本文提出的 GT2 FCM_N 算法的步骤如下:

步骤 1:设定聚类个数 c 、 α 平面的个数 T 及其相对应的 α 值、停止迭代条件 ϵ ,确定语言模糊项参数 M 的函数,初始化聚类中心 $V^{(b)} = \{v_j^{(b)}\} (j=1, 2, \cdots, c)$;

步骤 2:计算每个 α 平面的区间值 $[s_M^L(\alpha), s_M^R(\alpha)]$;

步骤 3:使用式(16)和(17)计算每个 α -plane 表示的二级隶属度区间值 $[s_{u_j}^L(x_i | \alpha), s_{u_j}^R(x_i | \alpha)]$,由此更新每个 α 平面的隶属度函数;

步骤 4:由降型算法更新每个 α 平面聚类质心区间 $[s_{u_j}^L(\alpha_T), s_{u_j}^R(\alpha_T)]$;

步骤 5:使用式(18)进行类型约简;

步骤 6:使用式(19)更新聚类中心;

步骤 7:若 $\{V^{(b)} - V^{(b+1)}\} < \epsilon$,停止迭代,否则,返回步骤 3 继续运行.

基于邻域信息的广义 II 型模糊 C 均值聚类算法,通过引入的模糊因子可以自动确定空间和灰度的关系,没有任何的参数选择;且改善了对噪声的敏感性,鲁棒性好;同时具有更强的处理不确定性的能力;能够保留图像细节信息的能力,进而提高了图像分割的准确性.

3 实验结果与分析

在本节中,为验证本文算法的有效性,主要通过合成图像和自然图像进行实验测试,并将 4 种聚类算法:FCM、FLICM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 与本文算法 GT2 FCM_N 进行了对比,对噪声的鲁棒性和图像分割的准确性进行了分析.实验环境为:CPU 为 Intel(R) Core(TM) i7-6700 @ 3.40 GHz, RAM 为 4G,运行环境为 Win 7,编程环境为 Matlab 2017b.

3.1 合成图像

实验采用了两张尺寸为 256×256 的合成图像.第一张合成图像是 4 类,第二张合成图像是 3 类,如图 2(a)和 3(a)所示.分别对这两张合成图像进行高斯滤波、椒盐滤波和均匀噪声滤波,并利用这些滤波后的图像对上述算法的有效性和鲁棒性进行了测试.图 2(c)~(g)和图 3(c)~(g)显示了不同算法的分割结果.

在图 2 中,FCM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 算法都对高斯噪声敏感,图像分割结果都比较差,而 GT2 FCM 算法分割结果略好于 FCM 和 IT2 FCM. FLICM 算法由于引入了空间邻域信息对高斯噪声有较好的鲁棒性,图像分割结果优于 FCM、IT2 FCM 和 GT2 FCM.从图 2(g)可以看出,与其它算法相比,本文提出的 GT2 FCM_N 分割结果更为理想.

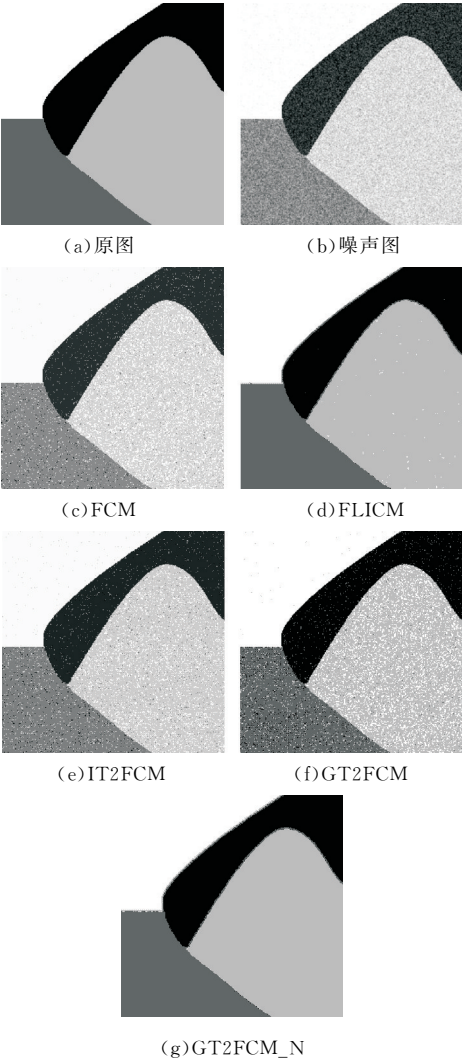


图 2 第一张合成图像的分割结果对比 (高斯噪声:均值为 0,方差 15%)

从图 3 可以看出,FCM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 算法的图像分割结果接近,FLICM 对椒盐噪声敏感,它们的视觉效果都比较差. GT2 FCM_N 算法由于引入了广义 II 型模糊集和空间邻域信息,提高了抗噪性能,其分割效果优于其它算法.

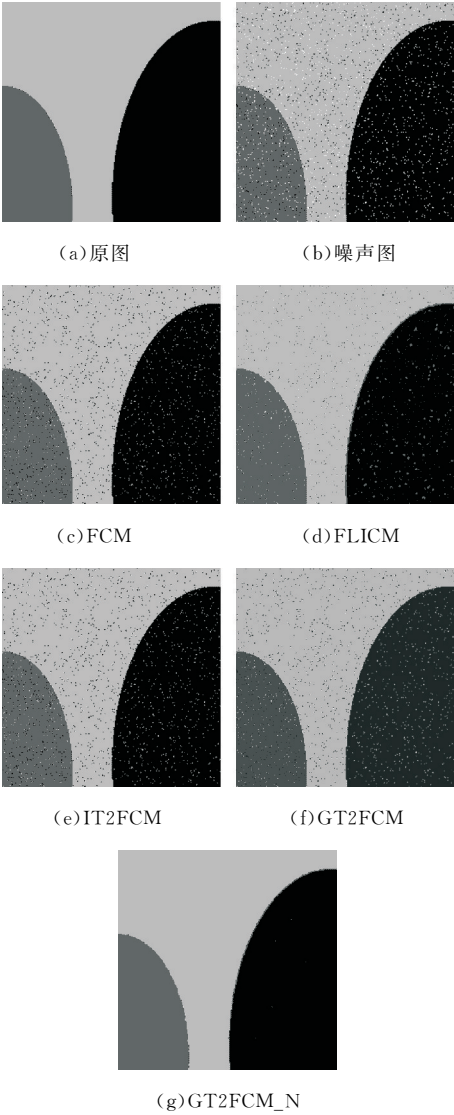


图 3 第二张合成图像的分割结果对比
(椒盐噪声的强度为 5%)

为了评估不同算法对噪声图像的性能,本实验选取三类噪声:高斯噪声、椒盐噪声和均匀噪声去污染合成图像,采用两个性能指标,分割精度(segmentation accuracy,SA)和量化指数(comparison scores,CS)测试各类算法的分割效果. SA 定义为正确分类的像素之和除以像素总数之和,CS 定义为像素集 A_k 与标准值 C_k 的相等程度,公式如下

$$SA = \sum_{k=1}^c \frac{A_k \cap C_k}{\sum_{j=1}^c C_j} \tag{20}$$

$$CA = \sum_{i=1}^c \frac{A_k \cap C_k}{A_k \cup C_k} \tag{21}$$

式(20)和式(21)中: c 表示聚类个数, A_k 表示聚类结果中属于第 k 类的像素集合, C_k 表示标准分割结果(Ground truth,GT)中属于第 k 类的像素集合,SA 和 CS 的值越大,表明算法的聚类效果越理想. 所有算法在不同种类和不同水平的噪声干扰下对合成图像进行处理,表 1 和表 2 给出了五种算法的平均分割精度和量化指数的实验结果.

表 1 五种算法在第一张不同噪声强度合成图像的分割精度(SA%)对比

噪声	FCM	FLICM	IT2FCM	GT2FCM	GT2FCM_N
Gaussian 5%	80.15	98.72	80.15	90.76	99.01
Gaussian 10%	75.66	97.75	76.07	89.53	98.91
Gaussian 15%	63.70	95.66	63.73	85.70	98.35
Salt & Pepper 3%	94.22	93.37	94.32	94.43	98.19
Salt & Pepper 5%	93.39	91.61	93.58	93.96	98.31
Salt & Pepper 10%	91.91	90.10	91.91	92.08	96.33
Uniform 5%	94.26	93.26	94.27	94.85	98.99
Uniform 10%	92.50	95.00	92.51	92.84	95.74
Uniform 15%	88.91	91.67	88.96	88.91	94.27

表 2 五种算法在第二张不同噪声强度合成图像的量化指数(CS%)对比

噪声	FCM	FLICM	IT2FCM	GT2FCM	GT2FCM_N
Gaussian 5%	88.28	98.60	88.91	89.65	99.13
Gaussian 10%	88.25	98.53	88.55	88.43	99.10
Gaussian 15%	87.62	98.52	88.35	87.62	99.08
Salt & Pepper 3%	96.72	95.31	96.72	96.72	97.28
Salt & Pepper 5%	94.43	93.15	94.43	94.43	95.83
Salt & Pepper 10%	88.98	87.31	88.98	88.98	90.64
Uniform 5%	93.81	96.52	93.81	93.87	97.88
Uniform 10%	87.81	93.06	87.79	87.87	95.26
Uniform 15%	82.33	88.64	82.32	82.33	94.68

从表 1 和表 2 可以看出,对于含有不同种类和水平噪声的合成图像,GT2 FCM_N 的分割精度始终高于其他算法. 与其他算法相比,GT2 FCM_N 对不同噪声的鲁棒性明显更好. FCM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 对椒盐噪声及高斯噪声都很敏感,因此 SA 和 CS 的值都较低. FLICM 对高斯噪声的鲁棒性较好,而对椒盐噪声和均匀噪声较为敏感.

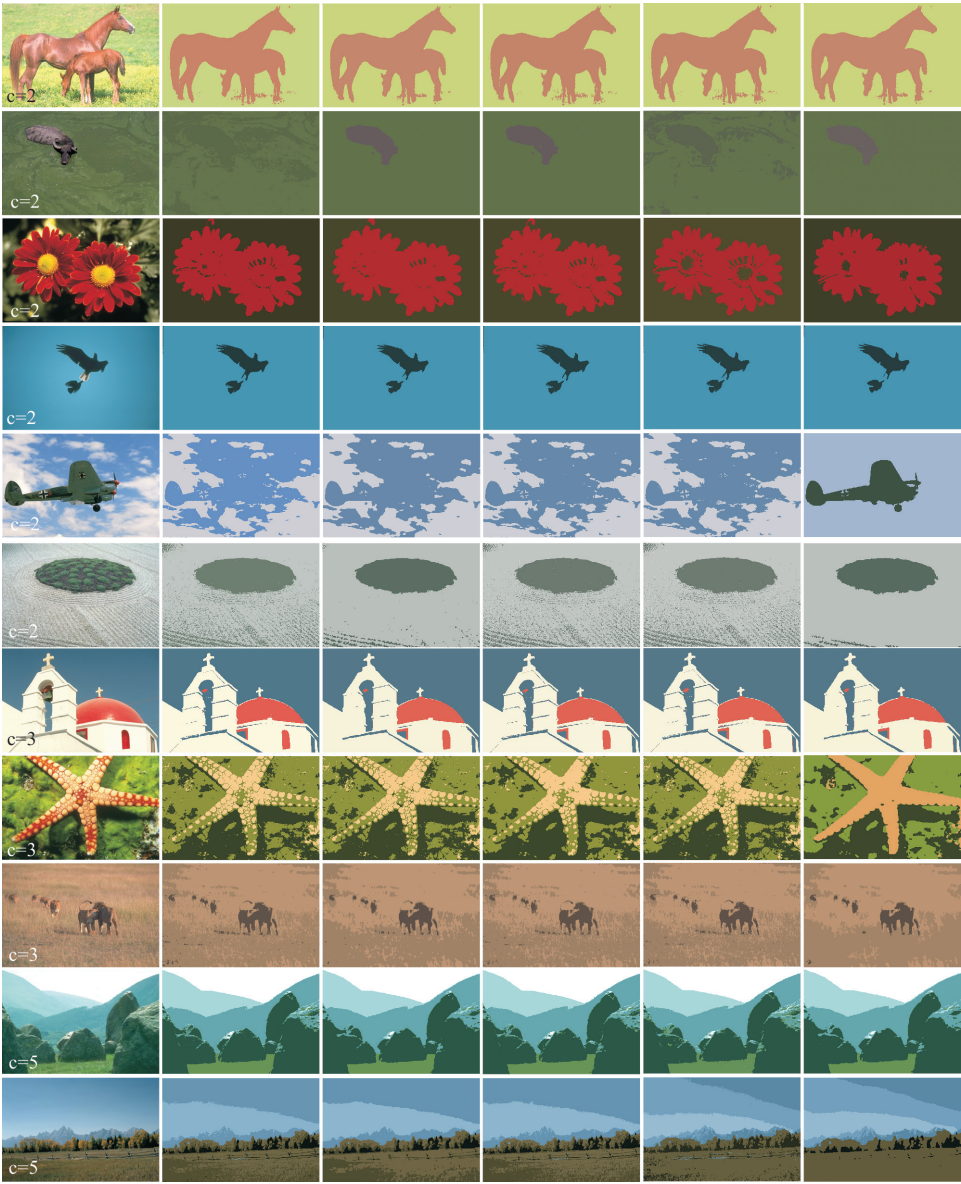
通过分析合成图像的分割结果和指标可得,不同算法对不同类型噪声的鲁棒性不同,相比 FCM、FLICM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 这四种算法,本文 GT2 FCM_N 算法的分割效果更为理想,对噪声的鲁棒性明显提高.

3.2 自然图像

为了验证本文算法对自然图像的分割效果,本实验选取 Berkeley Segmentation Dataset (BSDS500) (图像尺寸大小为 481×321 或 321×481)彩色图像,每幅图像都有对应的 GT(Ground truth)分割结果.采用 FCM、FLICM、IT2 FCM、GT2 FCM 这四种算法与本文 GT2 FCM_N 算法进行实验对比,在 BSDS500 的数据集上实现了这些算法,图 4 和图 5 为部分图像分割结果.

从图 4 和图 5 中可以看出,由于 FCM 算法对像素的不均匀分布较为敏感,图像分割结果不是很

好.GT2 FCM 算法和 IT2 FCM 算法的图像分割结果也不是很好,和 FCM 分割结果相近. FLICM 由于引入了邻域信息,图像分割结果有了改善,比 FCM、IT2 FCM 和 GT2 FCM 好.从图 4(f)和图 5 (f)可得,不同图像的分割结果具有准确的轮廓,使用 GT2 FCM_N 可以得到良好的目标分割结果.通过对比图 4(b)~(f)和图 5(b)~(f)可得,GT2 FCM_N 的分割结果最为理想.所以,本文所提出的 GT2 FCM_N 算法为自然图像提供了很好的分割效果.



(a)原图 (b)FCM (c)FLICM (d)IT2FCM (e)GT2FCM (f)GT2FCM_N

图 4 五种算法对自然图像的分割结果比较



(a)原图 (b)FCM (c)FLICM (d)IT2FCM (e)GT2FCM (f)GT2FCM_N

图 5 五种算法对自然图像的分割结果比较

为了进一步分析评价这些算法的分割效果,利用概率边缘指数^[25](probabilistic rand index, PRI)、重叠比率^[26](Covering, CV)、变化信息^[27](variation of information, VI)、全局一致性误差^[28](global consistency error, GCE)、边界位移误差^[29](boundary displacement error, BDE)作为性能指标对分割结果进行测试. 其中, PRI 是一种相似性度量,度量实际分割结果与 GT 之间标签一致的像素对的比例. CV 是度量实际分割结果与 GT 之间区域的重叠比率. VI 是度量两个聚类结果之间的平均条件熵距离. GCE 是度量实际分割结果与 GT 之间相互一致的全局误差. BDE 是一种误差测量方法,用于测量实际分割结果与 GT 之间边界像素

的平均位移误差. 当实际分割结果接近 GT,对应的 PRI 和 CV 较大, GCE、BDE 和 VI 较小.

利用上述指标测试这些算法在 BSDS500 图库上的平均分割结果,选择了最佳聚类个数 c , 不同算法的 PRI、VI、CV 和 BDE 的平均值如表 3 所示.

表 3 五种算法在 BSDS500 的图库的测试结果

Algorithms	PRI	VI	CV	GCE	BDE
FCM	0. 66	2. 73	0. 42	0. 33	14. 33
FLICM	0. 66	2. 69	0. 44	0. 32	13. 94
IT2FCM	0. 66	2. 72	0. 42	0. 32	14. 02
GT2FCM	0. 65	2. 71	0. 43	0. 33	14. 32
GT2FCM_N	0. 69	2. 30	0. 46	0. 30	13. 64

在表 3 中, FCM、FLICM、IT2FCM、GT2FCM

得到了相似的 PRI、CV、VI、GCE、BDE 值,说明这些算法在实际图像分割中具有相似的性能. 本文 GT2FCM_N 算法在 PRI、VI、CV、GCE 和 BDE 值上优于其他算法,说明 GT2FCM_N 能够获得较好的分割结果.

综上所述,本文所提出的 GT2FCM_N 算法不仅鲁棒性好,而且能够为不同类型的图像提供良好的分割结果.

4 结论

为了提高广义 II 型模糊 C 均值聚类算法的鲁棒性和图像分割准确性,本文提出了一种基于邻域信息的广义 II 型模糊 C 均值聚类算法. 该算法由于引入模糊因子,没有任何参数选择,在图像分割时,能更好地保留图像细节信息,有效地改善对噪声敏感的问题. 实验结果表明,本文提出的基于邻域信息的广义 II 型模糊 C 均值聚类算法不仅有效地增强了鲁棒性,同时保证了聚类算法处理参数不确定性的能力,因此能实现准确的图像分割结果. 但是,该算法的运算复杂度较高,如何优化 II 型模糊集的运算方法,仍需进一步深入研究.

参考文献

- [1] 雷涛,张肖,加小红,等. 基于模糊聚类的图像分割研究进展[J]. 电子学报,2019,47(8):1 776-1 791.
- [2] Bezdek J C, Ehrlich R, Full W. FCM: The fuzzy c-means clustering algorithm [J]. Computers and Geosciences, 1984,10(2-3):191-203.
- [3] Ahmed M N, Yamany S M, Mohamed N, et al. A modified fuzzy c-means algorithm for bias field estimation and segmentation of MRI data[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2002,21(3):193-199.
- [4] Krinidis S, Chatzis V. A robust fuzzy local information c-means clustering algorithm[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2010,19(5):1 328-1 337.
- [5] 潘永平,黄道平,孙宗海. II 型模糊控制综述[J]. 控制理论与应用,2011,28(1):13-23.
- [6] Li H, Wang J, Lam H K, et al. Adaptive sliding mode control for interval type-2 fuzzy systems[J]. IEEE Transactions on Systems Man & Cybernetics Systems, 2017,46(12):1 654-1 663.
- [7] 张阿龙,江刚武,张一,等. 自适应区间二型模糊聚类的遥感影像变化检测[J]. 测绘科学技术学报,2018,35(4):376-382.
- [8] Obajemu O, Mahfouf M. A dirichlet process based type-1 and type-2 fuzzy modelling for systematic confidence bands prediction[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2019,27(4):692-699.

- [9] Zadeh L A. The concept of a linguistic variable and its application to approximate reasoning-I[J]. Information Sciences, 1975,8(3):199-249.
- [10] Mendel J M, John R I B. Type-2 fuzzy sets made simple [J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2002,10(2):117-127.
- [11] Wang L X. A new look at type-2 fuzzy sets and type-2 fuzzy logic systems [J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2017,25(3):693-706.
- [12] Raj D, Gupta A, Garg B, et al. Analysis of data generated from multidimensional Type-1 and Type-2 fuzzy membership functions[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2017,25(1):584-590.
- [13] Singh V, Dev R, Dhar N K, et al. Adaptive type-2 fuzzy approach for filtering salt and pepper noise in grayscale images[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2018,26(9):1-26.
- [14] 邱存勇,肖建,韩璐. 增强型区间二型 FCM 算法[J]. 控制与决策,2014,29(3):465-469.
- [15] Karnik N N, Mendel J M. Introduction to type-2 fuzzy logic systems[C]//1998 IEEE International Conference on Fuzzy Systems Proceedings-IEEE World Congress on Computational Intelligence. Anchorage, AK, USA: IEEE, 1998:915-920.
- [16] Hwang C, Rhee C H. Uncertain fuzzy clustering: Interval type-2 fuzzy approach to c-means[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2007,15(1):107-120.
- [17] Linda O, Manic M. General type-2 fuzzy c-means algorithm for uncertain fuzzy clustering[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2012,20(5):883-897.
- [18] Mendel J M, Liu F, Zhai D. α -plane representation for type-2 fuzzy sets: Theory and applications [J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2009,17(5):1 189-1 207.
- [19] Hamrawi H. Type-2 fuzzy alpha-cuts[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2017,25(3):682-692.
- [20] Kulkarni S, Agrawal R. Determining the optimal fuzzifier range for alpha-planes of general type-2 fuzzy sets[C]//2018 IEEE International Conference on Fuzzy Systems (FUZZ-IEEE). Rio de Janeiro: IEEE, 2018:1-8.
- [21] Liu F. An efficient centroid type-reduction strategy for general type-2 fuzzy logic system [J]. Information Sciences, 2008,178(9):2 224-2 236.
- [22] Wagner C, Hagrass H. Toward general type-2 fuzzy logic systems based on zslices[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2010,18(4):637-660.
- [23] Zhai D, Mendel J M. Computing the centroid of a general type-2 fuzzy set by means of the centroid-flow algorithm [J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2011,19(3):401-422.
- [24] Xie B K, Lee S J. An extended type-reduction method for general type-2 fuzzy sets[J]. IEEE Transactions on Fuzzy Systems, 2016,24(3):23-29.

[25] Unnikrishnan R, Pantofaru C, Hebert M. Toward objective evaluation of image segmentation algorithms[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2007, 29(6): 929-944.

[26] Arbelaez P, Maire M, Fowlkes C, et al. Contour detection and hierarchical image segmentation[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2011, 33(5): 898-916.

[27] Meila M. Comparing clusterings: An axiomatic view [C]//Proceedings of the International Conference on Machine Learning. Bonn: ICML, 2005: 577-584.

[28] Martin D, Fowlkes C, Tal D, et al. A database of human segmented natural images and its application to evaluating segmentation algorithms and measuring ecological statistics[J]. ICCV Vancouver, 2001, 2(11): 416-423.

[29] Freixenet J, Muñoz X, Raba D, et al. Yet another survey on image segmentation: Region and boundary information integration[C]//European Conference on Computer Vision. Copenhagen: ECCV, 2002: 408-422.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 130 页)

[4] 尤新强. 聚乳酸合成工艺研究[D]. 重庆:重庆大学, 2012.

[5] Pinto M A, Dahman Y. Biocompatibility of poly(lactic acid) with incorporated grapheme based materials[J]. Colloids & Surfaces Biointerfaces, 2013, 104: 229-238.

[6] 郭文静. 木纤维/聚乳酸生物基复合材料复合因子研究[D]. 北京:中国林业科学研究院, 2008.

[7] 刘坚民. 积极探索我国废塑料市场快速发展的新路子[J]. 中国资源综合利用, 2005(2): 2-4.

[8] 常萧楠. 生物环保型添加剂对 PVC 木塑复合材料的性能影响研究[D]. 南京:南京农业大学, 2016.

[9] 梅志凌, 孙 昊, 张新昌. 环保生物基包装材料的制备及性能研究[J]. 包装工程, 2014, 35(9): 56-60.

[10] 汤雅萌, 路 琴, 方敬杰. 不同增韧剂对 PLA/小麦秸秆复合材料性能的影响[J]. 中国塑料, 2019, 33(3): 28-31, 37.

[11] 张泽华, 李雪菲, 张双保. 国内外木塑复合材料的研究进展[J]. 木材加工机械, 2018, 29(6): 36-38.

[12] 邓亚峰, 崔若昕, 汪梓玉. 聚合物/生物基复合材料的研究进展[J]. 中国塑料, 2018, 32(7): 10-20.

[13] 何显萱, 汤 杰, 刘聿杰, 等. 一种木质纤维/PP 复合材料的制备及其物理性能研究[J]. 科学技术创新, 2018(19): 44-45.

[14] 李兰军, 刘含丹, 王笃金. 用于注塑成型的 PP 木塑复合材料的研究[J]. 塑料工业, 2018, 46(6): 96-98.

[15] 杨 龙. 木粉/聚乳酸复合材料的制备及性能表征[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2015.

[16] 酒巧娜, 卢玉献. PBS 对两种新型聚乳酸复合材料性能的影响[J]. 山东化工, 2018, 47(18): 22-23, 26.

[17] 刘淑琼, 刘瑞来, 王兆礼, 等. 不同增塑剂对 PLA/BF 复合材料的性能影响[J]. 塑料工业, 2018, 46(1): 18-23.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 135 页)

[12] 王俊元, 曾志强, 王 媛, 等. 某企业磁极铁芯生产线仿真优化[J]. 组合机床与自动化加工技术, 2018(2): 131-135.

[13] 付佐尧, 汤 洪. 无人机装配制造过程的赋时 Petri 网模型研究[J]. 工业仪表与自动化装置, 2018(5): 80-84.

[14] 桑琮辉, 乔力伟. R-OPN 在城市危险品配送决策支持系统建模中的应用[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2010, 28(4): 132-136.

[15] 林国福. 基于 Petri 网的企业动态工作流研究[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2010, 28(6): 116-119.

[16] 李志武. 自动制造系统建模分析与死锁控制[M]. 北京:科学出版社, 2009.

[17] 袁崇义. Petri 网原理[M]. 北京:电子工业出版社, 1998.

[18] 李志武, 王安荣. 基于 Petri 网的柔性制造系统一种预防死锁方法(英文)[J]. 自动化学报, 2003, 29(5): 733-740.

[19] 李志武, 贾建援. 自动制造系统 Petri 网的公平活性控制策略[J]. 自动化学报, 2003, 29(1): 62-70.

[20] Alessandro Giua, Aldo Piccaliga, Carla Seatzu. Firing rate optimization of cyclic timed event graphs by token allocations[J]. Automatic, 2002, 38(1): 91-103.

【责任编辑:蒋亚儒】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0164-07

层聚合的对抗机器翻译模型的方法研究

杨 云,王 全

(陕西科技大学 电子信息与人工智能学院,陕西 西安 710021)

摘 要:基于深度学习技术的 Transformer 模型,使得机器翻译技术取得了重大突破.然而,传统的 Transformer 模型在进行信息的捕捉和生成过程中,未能充分利用除末层以外的其他层的有效信息,而且传统的基于最大似然原理的单模型训练方法难以使模型的翻译性能得到进一步改善.本文提出了一种对 Transformer 模型改进的方法,在 Transformer 模型的子层之间添加合并层,来总结子层的信息.与基于最大似然原理训练方法不同的是,对于改进后的新模型,将对抗性训练和强化学习的方法相结合来进行模型训练.实验结果表明,与 Transformer 以及传统的训练方法相比,新的模型和训练方法极大地改善了模型的翻译性能,提高了机器翻译的质量.

关键词:机器翻译; 对抗性训练; 强化学习; Transformer

中图分类号:TP391 **文献标志码:** A

Research on the method of layer aggregation adversarial machine translation model

YANG Yun, WANG Quan

(School of Electronic Information and Artificial Intelligence, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: At present, the Transformer model based on deep learning technology has made a major breakthrough in machine translation technology. However, in the process of capturing and generating information, the traditional Transformer model fails to make full use of the effective information of other layers except the last layer, and the traditional single-model training method based on the maximum likelihood principle is difficult to further improve the translation performance of the model. In this paper, a method for improving the Transformer model is proposed, and a merging layer is added between the sub-layers of the Transformer model to summarize the information of the sub-layer. Unlike the training method based on the maximum likelihood principle, this paper combines the methods of adversarial training and reinforcement learning for model training for the improved new model. Experimental results show that compared with Transformer and traditional training methods, the new model and training method greatly improve the translation performance of the model and improve the quality of machine translation.

Key words: machine translation; adversarial training; reinforcement learning; Transformer

* 收稿日期:2019-09-27

基金项目:国家自然科学基金项目(61601271)

作者简介:杨 云(1965—),女,陕西咸阳人,教授,博士,研究方向:数据挖掘、智能信息处理

0 引言

目前,随着深度学习在自然语言处理领域的发展^[1-5],机器翻译^[6]从早期的主要以浅层机器学习为核心的统计机器翻译^[7,8]的研究过渡到了以深度学习技术为核心的神经机器翻译^[9-11]的研究阶段.注意力机制与神经机器翻译的结合^[12].除了受深度学习影响的端到端的神经机器翻译的研究之外,也有很多学者将深度神经网络应用到统计机器翻译领域^[12-14],这些研究也使得传统基于浅层机器学习方法的统计机器翻译的性能得到了很大改善.

然而,统计机器翻译的弊端在于,需要人类专家设计特征和相应的翻译过程,难以处理长距离依赖,还会因为离散表示带来严重的数据稀疏问题.注意力机制与神经机器翻译的结合^[15],有效的缓解了长距离依赖,并且在大规模的平行语料库上,效果远远优于统计机器翻译模型.

Transformer 模型^[16]的提出是神经机器翻译的革命性变革,性能超过了经典的以 RNN 和 CNN 为主要架构的神经机器翻译模型.但经典的 Transformer 模型和传统的深度模型的共同缺点是:仅利用了模型的末层信息,将末层信息作为整个网络对输入的总结,缺乏利用中间层传播的有用信息.文献^[17]研究发现,不同层能够捕获不同类型的语法和语义信息.除此之外,传统的神经机器翻译模型通常采用基于最大似然原理(MLE)的单模型训练方法,即以当前翻译模型为训练目标,通过最大化以源语言为条件来生成目标语言翻译的条件概率进行训练,这很难保证翻译结果的自然性和准确性.

针对以上问题,本文对文献^[16]中的 Transformer 模型进行改进,受到文献^[17]和生成对抗网络^[18]的启发,本文通过将强化学习方法和对抗性训练方法相结合来训练新模型 ATransformer,弥补了基于最大似然原理的单模型的缺点,有效的改善了机器翻译的质量.新模型不仅能够深度捕捉模型的层与层之间的特征信息,而且还考虑了层与层之间的关系.实验测试结果表明,所提出的方法能够有效改善机器翻译的质量,其翻译性能优于基本的 Transformer 模型以及采用神经网络方法的统计机器翻译模型.

1 ATransformer 模型的设计原理

新模型的编码器和解码器均由 3 个相同的模块堆叠而成,每一个模块分为主层和合并层,主层

的设计是 Transformer 模型的原始层,合并层是新添加的层.对于主层而言,编码器和解码器的主层的设计比较相似,区别仅仅是相比编码器的主层,解码器的主层中多了一个子层.ATransformer 模型的编码器的单模块结构如图 1 所示.

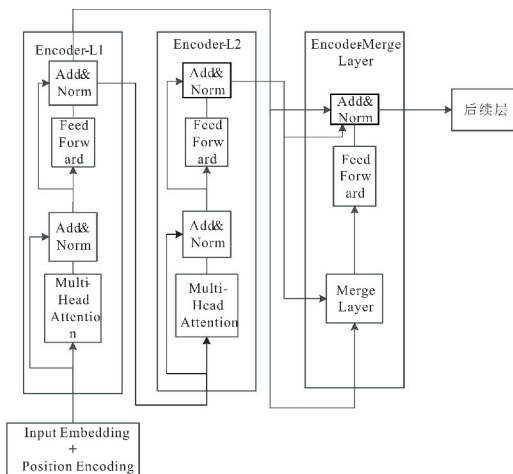


图 1 ATransformer 编码器单模块结构

图 1 是编码器单模块结构图.为了完整的表示编码器整体设计结构,本文对单模块的各层作了简化,简化之后的结构如图 2 所示.

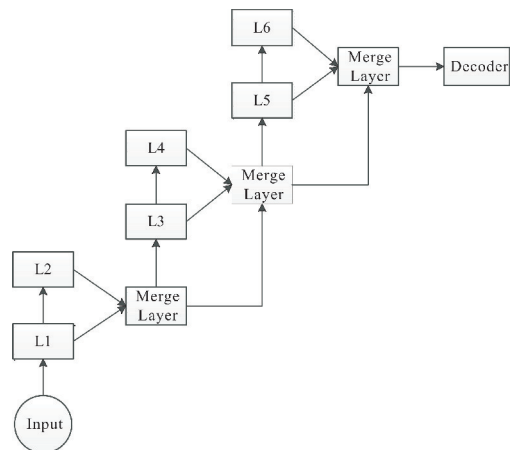


图 2 ATransformer 编码器简化结构

在主层中,每一个层具有两个子层,第一个子层是含有自注意机制的层,第二个子层是一个全连接的前馈网络层.每一个子层的输出都进行残差连接和归一化操作,对于编码器每一个层 EL,其中第一个子层 $ESL1_E^{[L]}$ 的输出和第二个子层 $ESL2_E^{[L]}$ 的输出计算如下:

$$ESL1_E^{[L]} = \text{LayerNorm}(\text{attention}(Q_E^{[L]}, K_E^{[L-1]}, V_E^{[L-1]}) + ESL2_E^{[L-1]}) \quad (1)$$

$$ESL2_E^{[L]} = \text{LayerNorm}(\text{FC}(ESL1_E^{[L]}) + ESL1_E^{[L]}) \quad (2)$$

公式(1)和(2)均出自于文献^[16],其中, $\text{LayerNorm}(\cdot)$ 是归一化函数, $\text{attention}(\cdot)$ 是

self-attention 机制, $FC(\cdot)$ 是一个前馈全连接神经网络, $Q_E^{[L]}, K_E^{[L-1]}, v_E^{[L-1]}$ 是从第 $(L-1)$ 个编码器层 $ESL2_E^{[L-1]}$ 得到的三个需要学习的向量. 具体的:

$$\text{attention}(Q, K, V) = \text{softmax}\left(\frac{QK^T}{\sqrt{d_k}}\right)V \quad (3)$$

$$\text{LayerNorm}(X) = \alpha \times \frac{x - \mu}{\sqrt{\sigma^2 + \epsilon}} + \beta \quad (4)$$

$$FC(X) = \max(0, XW^{[1]} + b^{[1]})W^{[2]} + b^{[2]} \quad (5)$$

公式(3)、公式(4)以及公式(5)均出自文献[16], Q, K, V 是 Transformer 模型需要学习的三个参数向量, 在实验环境中, d_k, α 和 β 是在实验中需要设置的参数, μ 和 σ 是输入向量 X 的均值和标准差, W 和 b 是需要训练的权重和偏置参数, 在实验的最开始阶段, 随机初始化, 上标 L 表示的是第 L 层. 所有的超参数的设置, 会在之后的实验设置中进行设置. 对具有 6 个相同层的原始模型, 将层与层的输出结果进行合并, 每两层, 将信息聚合; 然后将合成后的信息作为下一个双层的输入, 这样三次合成便完成了对 6 层信息的融合, 与 Transformer 模型的区别是, 新模型每两层就利用合并层进行一次信息抽取, 而不是原来的 6 个层的直接堆叠, 这样可以获得更多并且更细节的语言结构特征和网络可利用的信息. 换句话说, 整个网络结构从最浅、最小的结构的层开始, 然后, 迭代合并更深、更大的层级结构, 一层接一层. 最后得到更多的可利用的信息. 具有越来越深的含有更多语义信息的这些层, 可以表示为:

$$L_{[i \rightarrow j]} = [L^{[i]}, \dots, L^{[j]}] \quad (6)$$

接下来, 对于每一个 Merge 层其输出 $\hat{L}^{[i]}$, 将其定义:

$$\hat{L}^{[i]} = \begin{cases} \text{Joint}(L^{[2i-1]}, L^{[2i]}), & i = 1 \\ \text{Joint}(L^{[2i-1]}, L^{[2i]}, \hat{L}^{[i-1]}), & i > 1 \end{cases} \quad (7)$$

初始条件, 设置为 $\hat{L}^{[i]} = L^{[1]}$, 具体来讲, 联合函数 $\text{Joint}(\cdot)$ 定义为:

$$\text{Joint}(a, b, c) = \text{LayerNorm}(FC([a; b; c]) + a + b + c) \quad (8)$$

在这里, a 和 b 是主层中相邻两层的输出结果, c 是合并层的输出结果. 直观上来看, 这样的设计, 可以增加层间信息的多样性, 如果不同的层能够捕捉不同的信息, 那么这样的逐层进行信息融合会增强模型的表达能力, 可以获得更多表达信息.

解码器的设计跟编码器的设计类似, 同样由 3 个相同模块组成, 解码器的单模块结构如图 3 所示.

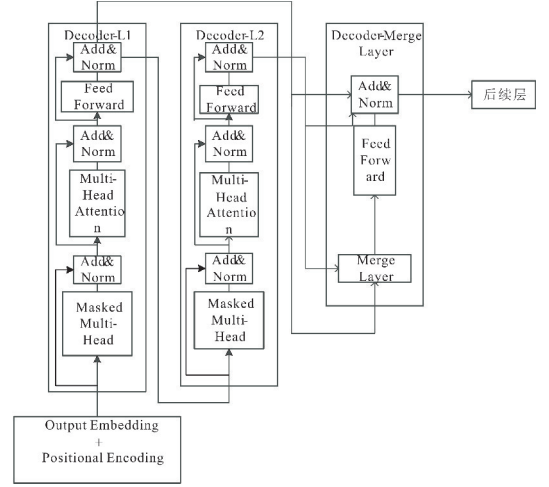


图 3 ATransformer 解码器单模块结构

图 3 是解码器单模块结构, 除了每个解码器层中的两个子层 $DSL1_b^{[L]}$ 和 $DSL2_b^{[L]}$ 外, 还有第 3 个子层 $DMSL_b^{[L]}$, 即掩码的多头注意机制层, 用来对来自编码器的输出进行关注, 该层有两个作用: 用来扩展模型关注输入的不同位置的; 给与 A+N 模块更多的表示空间. 而图中的子层 A+N 模块表示 self-attention 机制和 LayerNorm 层归一化结构, 除了对于句子的局部不同位置的信息进行权值计算, 还需要对结果做归一化处理, 防止模型在训练的过程中产生退化现象. 再通过 FFN 层对信息进行综合, 通过全连接网络计算结果的概率分布. 解码器的这种层级结构的设计来完成对编码器的结果, 以及解码过的历史信息生成目标语言序列. 对于每一个子层的输出计算如下:

$$DMSL_b^{[L]} = \text{LayerNorm}(\text{attention}(Q_b^{[L]}, K_b^{[L-1]}, V_b^{[L-1]}) + DSL2_b^{[L-1]}) \quad (9)$$

$$DSL1_b^{[L]} = \text{LayerNorm}(\text{attention}(DMSL_b^{[L]}, K_E^{[L]}, V_E^{[L]}) + DMSL_b^{[L]}) \quad (10)$$

$$DSL2_b^{[L]} = \text{LayerNorm}(FC(DSL1_b^{[L]}) + DSL1_b^{[L]}) \quad (11)$$

解码器合并层的计算为公式(7), 其中 $Q_b^{[L]}, K_b^{[L-1]}, V_b^{[L-1]}$ 是从第 $(L-1)$ 个解码器层 $DSL2_b^{[L-1]}$ 转换得到的, 而 $K_E^{[L]}$ 和 $V_E^{[L]}$ 是从编码器最后的一层得到的, 解码器最后一层的结果 $DSL2_b^{[L]}$ 用于生成最终的输出序列.

同理, 简化之后的解码器的结构如图 4 所示.

综上, 本文完成了 ATransformer 模型的设计. 通过对多层的具有 Attention 机制的层的合并, 每一层的 Attention 机制对于当前输入的句子可以计算出每个时刻在进行翻译时, 原句中不同词的关注度, 这样经过层的合并, 综合了不同层的特

征提取结果,加深了词之间的关系,可以有效解决诸如代词之类的代指歧义问题. 所以,新模型可以有效地捕捉语句内复杂的句法和语义结构信息. 通过之后的实验验证,模型的确有效的提升了机器翻译的质量.

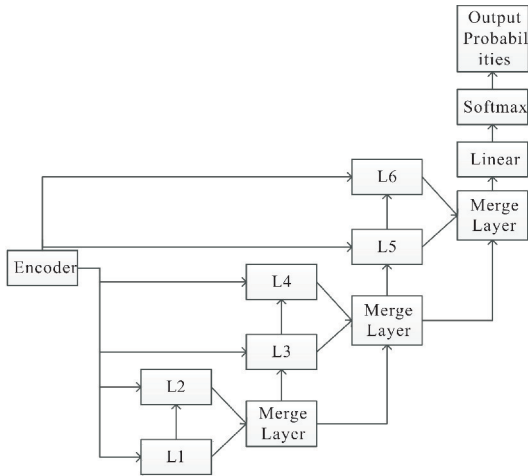


图 4 ATransformer 解码器简化结构

2 ATransformer 模型训练优化的方法设计

本文的核心思想是使用卷积神经网络作为判别器,它具有准确捕捉不同的抽象层次的双语句对的对齐关系能力. 其目标是区分 ATransformer 模型生成的翻译结果和人工翻译的参考译文.

其中,本文使用双语平行语料来进行训练,首先将源语言句子 S 输入到 ATransformer 模型中,为了方便说明,将 ATransformer 模型取名为 G 模型,将判别器取名为 D 模型,模型 G 的输出结果 T_Pred ,初始训练中,模型的翻译结果可能很差. 然而可以将模型的翻译结果 T_Pred 和平行语料中的源语言 S 和其对应的目标语言 T 一起送入到判别器 D 中,对这种经过编码之后的句子进行拼接转换成卷积网络擅长处理的矩阵形式. 具体来讲,每个词作为词向量,对齐的句对对应的词向量进行拼接,构建 D 的正样本输入. 同理将模型 G 的翻译和原始输入做同样的处理,也构建 D 的负样本输入,通过公式(14)进行训练,通过 D 中的多层的卷积网络操作进行特征的提取,最终通过全连接层和含有 sigmoid 的分类层得到正负类别的概率分布,来判断 D 的分类能力,并进行进一步的训练. 模型 G 试图产生高质量翻译 T_Pred 来欺骗 D . 然而,在进行正负样本采样的过程中,由于从 T_Pred 中采样的数据是离散的,这会导致难以将来自 D 的信号反向传播到 G . 因此本文使用了强化学习中的策略梯度算法来对 G 进行优化,来缓解这样的问

题. 通过优化之后, G 与 D 相互对抗训练,直到收敛,即判别器 D 无法区分模型生成的翻译结果 T_Pred 和人工参考译文 T .

在给定源语言句子 S 的情况下,判别器 D 来用于区分 G 模型的翻译结果 T_Pred 和语料中的参考译文 T . 对于平行语料中的双语句对 (S, T) ,首先通过简单的拼接 S 和 T 中的词向量来构建成适合卷积网络擅长处理的二维矩阵表示. 对于源语言句子 S 中的第 i 个词 S_{w_i} 和目标语言句子 T 中的第 j 个词 T_{w_j} ,可以得到如下的特征映射:

$$f_{i,j}^{[0]} = [S_{w_i}^T, T_{w_j}^T] \quad (12)$$

基于这样的特征表示,采用 5×5 的卷积核来对当前得到的特征映射进行卷积操作,卷积后得到结果可以通过下面公式来计算:

$$f_{i,j}^{[1,f]} = \sigma(W^{[1,f]} * f_{i,j}^{[0]} + b^{[1,f]}) \quad (13)$$

在这里,激活函数使用的是 sigmoid 激活函数,卷积层计算完后,在池化层进行最大池化操作,减小模型的复杂度,这样进行多层的卷积池化操作,就可以捕获更高级的抽象表示,然后在进行扁平处理,将结果送入到一个全连接网络中,在使用 sigmoid 函数将问题转化为二分类问题,输出为双语对齐句对 (S, T) 的概率. 对于这种以卷积神经网络模型作为判别模型的最优化的目标是 minimized 逻辑回归损失函数,即一个二元分类的交叉熵损失函数,其中将平行语料中的双语对齐句对 (S, T) 作为正样本,将 G 模型产生的目标翻译 T_Pred 和输入的源语言句子 S 构成的句对 (S, T_Pred) 作为负样本. 根据以上所述训练方法的设计原理,模型 G 与模型 D 联合训练的模型架构如图 5 所示.

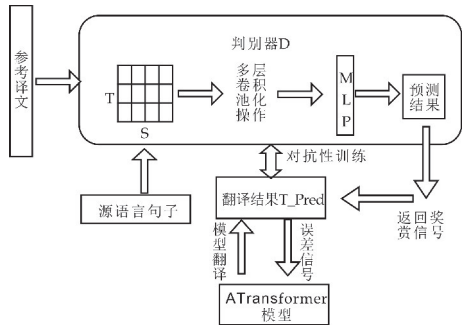


图 5 模型 G 与模型 D 联合训练的模型架构

因此最终的优化目标为:

$$\min_{G,D} \max V(D,G) = E_{(S,T) \sim P_{data}((S,T))} [\log D((S,T))] + E_{S \sim P_{data}(S), T \sim P_{G((S))}} [\log (1 - D(G(S, T_Pred)))] \quad (14)$$

简单来说,模型 G 根据源语言句子 S 生成目标语言的翻译结果 T_Pred ,来欺骗模型 D . 而模型

D 目标是能够成功将来自模型 G 生成的翻译结果和人工的参考译文进行分辨. 公式(14)表明, 可以提供双语平行对齐对 (S, T) 以及由源语言句子 S 和模型 G 生成的译文 T_Pred 形成的句对 (S, T_Pred) , 来训练判别模型 D. 公式(14)包含两部分, 外层最小化 G 和内层最大化 D; 对于外层最小化 G, G 希望自己生成的翻译 T_Pred 越接近参考译文越好, 即 $D(G(S, T_Pred))$ 越大越好, 这时目标 V 会变小. 同理, 对于 D, D 希望 $D((S, T))$ 越大越好, 此时 V 会变大, 在实验过程中, 先保持 G 不变, 训练 D; 然后固定 D 不变, 训练 G, 直到收敛; 也就是当 $D(G(S, T_Pred))$ 接近 0.5 时, 基本收敛. 但是难点在于, 模型 G 产生的翻译结果并不是连续值, 也就是说很难将误差信号从判别模型 D 传到生成模型 G, 来进行训练. 因此本文采用策略梯度算法来解决这个问题. 根据源语言句子 S 和模型 D 可通过最小化下面的损失函数来训练模型 G:

$$\text{Loss} = E_{T_Pred \sim G(\cdot | S)} \log(1 - D(S, T_Pred)) \quad (15)$$

现在对需要学习的模型 G 的参数 θ_G 进行梯度计算, 利用计算后得到的梯度, 使用梯度更新的方式来更新模型 G 的参数, 完成对模型 G 的训练和优化, 梯度的计算如下:

$$\begin{aligned} \nabla_{\theta_G} \text{Loss} &= \nabla_{\theta_G} E_{T_Pred \sim G(\cdot | S)} [\log(1 - D(S, T_Pred))] = E_{T_Pred \sim G(\cdot | S)} [\log(1 - D(S, T_Pred)) \nabla_{\theta_G} \log(G(T_Pred | S))] \quad (16) \end{aligned}$$

可以从模型 G 产生的翻译句对 (S, T_Pred) 的分布中进行采样对上面的梯度进行近似计算, 得到下式:

$$\begin{aligned} \nabla_{\theta_G} &\approx \log(1 - D(S, T_Pred)) \\ \nabla_{\theta_G} \log G(T_Pred | S) \end{aligned} \quad (17)$$

$$\theta_G \leftarrow \theta_G - \lambda \nabla_{\theta_G} \quad (18)$$

其中, λ 为超参数学习率. $G(\cdot | S)$ 是 G 产生的条件分布, $-\log(1 - D(S, T_Pred))$ 作为模型 D 产生的奖赏. 从公式(17)不难看出, 模型 G 得到的奖赏越多, 那么它所生成的翻译结果 T_Pred 越可能欺骗判别模型 D, 并且相对于模型 G 形成的翻译对 (S, T_Pred) 的质量将相应的越有利于得到提高.

3 实验结果与分析

3.1 评价指标的设定

为了验证本文所提出的方法的有效性, 使用修正的 BLEU 评测指标, 来分析模型翻译 T_Pred 和人工参考译文 T 中 n 元组共同出现的情况, 对

于一个源语言句子 $S_i (S_i \in S)$, 模型的翻译结果 $T_Pred_i (T_Pred_i \in T_Pred)$, 其所对应的目标语言的人工参考译文为 $T_i = \{T_{i1}, \dots, T_{im}\} \in T$. n -grams 表示长度为 n 的词组集合, 令 w_k 表示第 k 组可能的 n -grams, $h_k(T_Pred_i)$ 表示 w_k 在 T_Pred_i 中出现的次数, $h_k(T_{ij})$ 表示 w_k 在参考译文 T_{ij} 中出现的次数, 则修正的 BLEU 对对应语句中语料库级别上的重合精度计算公式如下:

$$P_n(T_Pred, T) = \frac{\sum_i \sum_k \min(h_k(T_Pred_i), \max_{j \in m} h_k(T_{ij}))}{\sum_i \sum_k h_k(T_Pred_i)} \quad (19)$$

接下来引入一个惩罚因子 BP:

$$BP(T_Pred, T) = \begin{cases} 1 & \text{if } l_{T_Pred} > l_T \\ e^{1-l_T/l_{T_Pred}} & \text{if } l_{T_Pred} \leq l_T \end{cases} \quad (20)$$

其中, l_{T_Pred} 表示模型的翻译译文语句 T_Pred_i 的长度, l_T 表示参考译文 T 的有效长度 (即如果有多个参考译文时, 选取和 l_{T_Pred} 最接近的长度), 最后修正的 BLEU 指标的计算如下:

$$\begin{aligned} \text{BLEU} - N(T_Pred, T) &= \\ BP(T_Pred, T) * \exp(\sum_{n=1}^N w_n \log P_n(T_Pred, T)) \end{aligned} \quad (21)$$

其中, 公式(19)、(20)、(21)均出自于文献[19], N 代表采用的 N-gram 模型, 本文取值为 4, 表示对公式(21)的 1-gram, 2-gram, 3-gram, 4-gram 都进行了考虑, 并且对 w_n 取 $1/N$, 表示不同阶的语言模型同等重要.

除了 BLEU 作为模型性能的评估指标之外, 在机器翻译中, 困惑度指标也是衡量模型泛化能力的一个重要度量, 它主要衡量模型所生成译文的流畅性, 困惑度越小, 译文越流畅, 效果越好. 其计算公式为:

$$\begin{aligned} \text{Perplexity}(S, T) &= \\ \exp\left(\frac{-\sum_{i=1}^{|T|} \log P(t_i | t_{i-1}, \dots, t_1, S)}{|T|}\right) \end{aligned} \quad (22)$$

其中, 公式(22)出自于文献[20], 分子表示由源语言和历史翻译生成当前翻译的对数概率之和, 分母表示目标语言的句长.

对于训练数据, 衡量训练结果的优劣; 对于测试数据, 可以确定模型的泛化性能以及鲁棒性.

3.2 实验设置及对比分析

为了验证所提出的模型和方法的有效性, 模型

的开发采用实验数据选择 WMT2017 中英双语平行语料库. 本文将双语语料库上的句子长度限制为 30, 总共包括大约 1 000 万个双语句对, 其中使用 WMT2017 中英训练语料库作为训练数据集, newsdev2017 作为开发数据集和 newstest2017 作为测试数据集, 词嵌入维度设置为 300, 并且为了说明模型的鲁棒性, 本文将从互联网上爬取的微博语料作为额外的测试语料, 微博语料涉及面广, 新词较多, 通常是衡量一个机器翻译模型性能鲁棒性的比较好的选择. 译文的流畅性使用测试语料的困惑度指标来衡量, 困惑度越小, 译文越流畅. 新模型的结果, 在下文都会通过实验来验证.

在模型 D 的训练中使用 Nesterov SGD 进行优化, 使用大小为 4 的 beam search 生成所有在训练 D 的过程中使用的采样样本 (S, T_Pred). 使用 BLEU-4 作为评估指标. 实验过程中的超参数设置如表 1 和表 2 所示.

表 1 ATransformer 主要参数设置				
N1	N2	embed	att	d_k
6	3	300	16	64

续表 1				
d_{drop}	α	β	ϵ	λ
0.3	0.05	1	1e-6	0.001

表 2 判别器 D 的主要参数设置			
direction	batch_size	learning_rate	dropout
En→Zh	32	0.000 1	0.5
Zh→En	32	0.000 3	0.3

模型的训练和测试采用深度学习框架 Pytorch, 所有模型均在 6 个 NVIDIA K80 GPU 上进行训练, 每个 GPU 分配 4 000 个 token, 训练时长近 60 个小时.

在整个过程中, 本文首先比较了不同种类的模型的 BLEU 值随句长的变化情况, 其中这些模型分别包括: 本文提出的新的训练方法和新模型的结合; 新的训练方法和 Transformer 模型的结合; 传统训练方法和新模型的结合; 传统方法训练的 Transformer; 文献[13]所提出的基于深度神经网络的统计机器翻译模型 RNN-embed; 文献[14]提出的基于神经网络的统计机器翻译模型 NN PR. 实验结果如图 6 所示.

从图 6 的结果可以说明, 本文提出的新模型和训练方法可以有效提高模型的性能, 同时也证明了对于深度模型, 聚集层与层之间的输出信息可以有效改善机器翻译的性能, 强化学习和对抗性训练进行模型训练, 要优于传统的单模型的训练方法; 另一方面, 也说明了, 对于大规模的数据而言, 神经机器翻译模型的表现优于统计机器翻译模型.

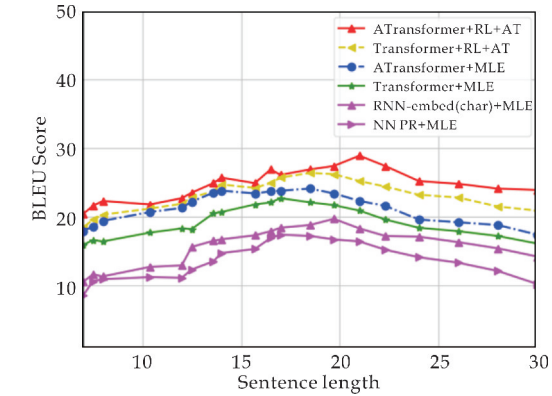


图 6 不同模型的 BLEU 分数随句长变化的对比

为了进一步来验证本文方法的有效性, 在 newstest2017 上测试了训练过程中测试集的困惑度随训练过程的变化情况, 结果如图 7 所示.

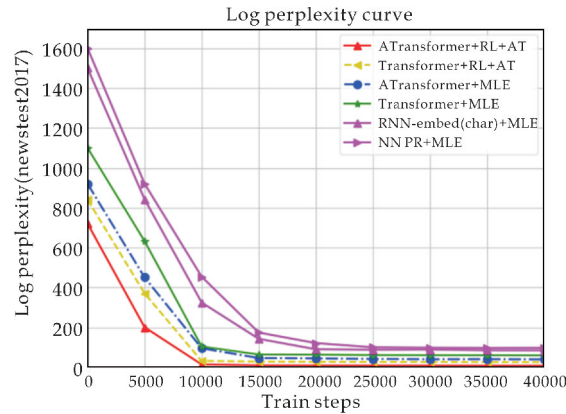


图 7 不同模型在 Newtest2017 测试集上的困惑度随训练过程的表现

新模型是否具有很好的鲁棒性, 也是衡量一个模型的泛化能力的重要考虑因素. 因此, 对于所有的模型, 在微博语料上进行困惑度指标随训练过程变化的测试, 实验结果如图 8 所示.

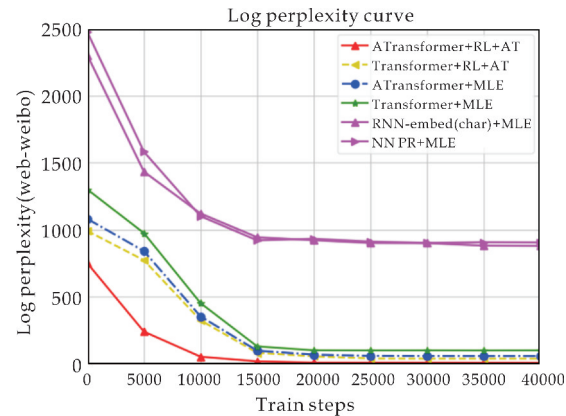


图 8 不同模型在微博语料测试集上的困惑度随训练过程的表现

为了量化结果, 将实验过程中的重要结果统计

至表 3 所示.

表 3 不同方法对比实验结果

Model	Ave-perp	# Param	Ave-BLEU
NN PR	40. 87	94M	18. 04
RNN-embed	35. 56	87M	20. 58
Transformer	18. 42	134M	23. 94
ATransformer	13. 93	172M	25. 16
Transformer+RL+AT	10. 52	253M	26. 58
ATransformer+RL+AT	8. 03	302M	28. 92

需要说明的是,在表 3 中,第 3 列表示保存模型参数的文件所占内存的大小,不同于其它文献中参数量的统计方式. 本文将参数保存到了 ckpt 文件中,方便之后模型的调用来完成相关的任务,以便更好地进行 fine-tuning. 通过以上的分析,可以得出使用 ATransformer 模型并且结合强化学习方法和对抗性训练的方法可以显著提高机器翻译模型的性能,说明了跨层,融合深度模型层之间的关联信息以及利用强化学习和对抗性训练来优化神经机器翻译模型的方法是有效的.

3.3 算法复杂度分析

通过实验分析,本文所提出的方法在准确性和鲁棒性方面,相较于传统方法,有了很大的提高. 对于新方法,结合了 attention 机制,模型是多个相同层的堆叠,因此,以每一层为研究对象,进行算法的时间复杂度分析,在每一层中,对于主层而言,每一个词都需要编码为固定长度的 d 维向量,因此,整个输入的计算取决于句长 n ,而注意力模型,需要对每个词进行计算来关注每个词的权重信息,即也由句长 n 来决定,所以主层的时间复杂度主要集中于注意力模型的计算,其时间复杂度为 $O(d \cdot n^2)$,对于序列操作,attention 的并行处理机制,使得其将原始的时序操作的 $O(n)$ 降为 $O(1)$,而对于合并层,对于主层的计算结果,合并层主要是对结果进行聚合计算,因此,时间复杂度为 $O(1)$. 这说明,新方法不仅没有增加额外的时间开销,而且还提升了翻译的性能. 但是,从空间复杂度进行分析,宏观上来看,由于新方法增加了对抗训练机制,因此需要更大的空间来存储参数,增加了空间开销,从表 3 可以直观的看到. 这也是无法避免的.

4 结论

本文主要针对 Transformer 模型进行了改进,并且单独设计了判别器,将强化学习方法和对抗性训练方法相结合,让两个模型相互对抗训练,以此来优化新模型 ATransformer 的性能. 最后,实验结果表明,所提出的方法能够改善机器翻译模型的性能,提高了机器翻译的质量,有助于机器翻译技术的进一步研究. 在后续的工作中,会从判别器的

结构设计来展开研究,以降低模型的空间开销.

参考文献

[1] 崔运鹏,王 健,刘 娟. 基于深度学习的自然语言处理技术的发展及其在农业领域的应用[J]. 农业大数据学报, 2019,1(1):38-44.

[2] 薛亚非. 面向自然语言处理的深度学习[J]. 电子技术与软件工程,2018(12):144-145.

[3] 程颖涛. 基于深度学习的自然语言处理中问题分析的研究[D]. 西安:西安邮电大学,2018.

[4] 林奕欧,雷 航,李晓瑜,等. 自然语言处理中的深度学习:方法及应用[J]. 电子科技大学学报,2017,46(6):913-919.

[5] 奚雪峰,周国栋. 面向自然语言处理的深度学习研究[J]. 自动化学报,2016,42(10):1 445-1 465.

[6] 侯 强,侯瑞丽. 机器翻译方法研究与发展综述[J]. 计算机工程与应用,2019,55(10):30-35,66.

[7] 崔 磊,周 明. 统计机器翻译领域自适应综述[J]. 智能计算机与应用,2014,4(6):31-34.

[8] 冯志伟. 基于短语和句法的统计机器翻译[J]. 燕山大学学报,2015,39(6):546-554,560.

[9] 李亚超,熊德意,张 民. 神经机器翻译综述[J]. 计算机学报,2018,41(12):2 734-2 755.

[10] 高明虎,于志强. 神经机器翻译综述[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2019,28(1):72-76.

[11] 刘 洋. 神经机器翻译前沿进展[J]. 计算机研究与发展, 2017,54(6):1 144-1 149.

[12] 张家俊,宗成庆. 神经网络语言模型在统计机器翻译中的应用[J]. 情报工程,2017,3(3):21-28.

[13] 李婧萱. 基于深度神经网络的统计机器翻译模型研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016.

[14] 杨 南. 基于神经网络学习的统计机器翻译研究[D]. 合肥:中国科学技术大学,2014.

[15] 汪 琪,段湘煜. 基于注意力卷积的神经机器翻译[J]. 计算机科学,2018,45(11):226-230.

[16] Vaswani A,Shazeer N,Parmer N,et al. Attention is all you need[C]// Conference and Workshop on Neural Information Processing System. California. Long Beach: Association for Computational Linguistics, 2017: 863-870.

[17] Shi X,Padhi I,Knight K. Does string-based neural MT learn source syntax? [C]// Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing. Austin, Texas: Association for Computational Linguistics, 2016: 1 526-1 534.

[18] 王坤峰,苟 超,段艳杰,等. 生成式对抗网络 GAN 的研究进展与展望[J]. 自动化学报,2017,43(3):321-332.

[19] 叶绍林,郭 武. 基于句子级 BLEU 指标挑选数据的半监督神经机器翻译[J]. 模式识别与人工智能,2017,30(10):937-942.

[20] 陆雯洁,谭儒昕,刘功申,等. 基于半监督学习的小语种机器翻译算法[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2019,58(2):200-208.

【责任编辑:陈 佳】

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0171-04

基于周期间歇策略的复杂网络随机同步定

马慧慧, 何秀丽

(河海大学 理学院, 江苏 南京 211100)

摘 要:基于周期间歇控制策略研究了复杂网络的随机同步定. 通过使用 Ito 公式, 鞅大数定律等随机分析工具以及切换系统的分析技巧, 设计了周期间歇随机反馈控制器, 实现了复杂网络的随机同步定, 并通过数值仿真验证了结果的有效性.

关键词:随机镇定; 复杂网络; 间歇控制; Ito 公式; 布朗运动

中图分类号:O175 **文献标志码:**A

Stochastic synchronization of complex networks based on periodic intermittent control

MA Hui-hui, HE Xiu-li

(College of Science, Hohai University, Nanjing 211100, China)

Abstract:Based on the periodic intermittent control strategy, the stochastic synchronization of complex networks is studied. By using stochastic analysis tool such as the Ito formula, strong law of large numbers and the analysis techniques of the switching system, the periodic intermittent stochastic feedback controller is designed to realize the stochastic synchronization of complex networks. The validity of the results is verified by numerical simulation.

Key words: stochastic stabilization; complex networks; intermittent control; Ito formula; Brownian motions

0 引言

复杂网络是具有复杂拓扑结构和动力行为的大规模网络, 由大量的节点通过边的相互连接构成. 在过去的几十年里, 复杂网络在生物科学、电力系统、计算机世界等领域中得到了广泛的应用^[1,2]. 在复杂网络研究中, 复杂网络动力学行为的研究是神经网络理论成功应用的前提, 因而受到学者们的普遍关注.

复杂网络中的每个节点相互影响、相互连接、

相互耦合, 构成一个网状结构, 各子节点根据其它系统的状态来调整自己的状态, 使得它们的动力学性质表现出某种关系, 用动力学的术语就称为同步. 同步现象在自然界中普遍存在, 比如萤火虫的同步发光, 钟摆的同步摆动等等. 研究同步不仅能帮助人们理解这些自然现象和行为发生的内在机理, 还能通过同步原理来实现无人机编队表演、合作型群体机器人的开发等任务. 近十年来, 为实现网络的同步定, 众多新颖的控制策略被采用, 如间歇控制^[3-7]、牵制控制^[4,5]、自适应控制^[6]、有限时间

* 收稿日期:2019-10-18

基金项目:中央高校基本科研业务费科研项目(2013B19020192)

作者简介:马慧慧(1995—), 女, 河南信阳人, 在读硕士研究生, 研究方向:网络系统动力学分析与控制

控制^[7,8]. 其中间歇控制策略能够减少控制器长时间工作产生的磨损,进而延长控制器的工作寿命和减少控制成本,因此成为研究热点.

众所周知,现实世界中不可避免的出现随机噪声,为了更精准的刻画现实世界,Yang X 等^[9]学者开始研究随机复杂网络的同步控制问题. 自 Hasminskii R^[10]指出噪声可以镇定一个不稳定的系统后,噪声的作用也逐渐被认识,Mao X^[11]和黄礼荣等^[12]学者系统的研究了随机镇定理论. Russo 等^[13]首先尝试利用噪声实现复杂网络的同步定.

2019 年,Liu L 等^[14]将间歇控制策略和随机镇定理论整合,针对一般系统建立了间歇随机镇定的充分性判据. 复杂网络具有独特的结构特征和清晰的应用背景,因此基于复杂网络的结构特征建立间歇随机同步定判据具有理论意义和应用价值. 据作者所知,基于间歇随机镇定策略的复杂网络的同步定尚未被研究,本文的研究动机就是填补这一空白.

1 预备知识

A^T 表示矩阵 A 的转置, $|A| = \sqrt{\text{tr}aA^TA}$ 表示矩阵 A 的迹范数, I_N 表示 N 维单位矩阵, $\lambda_{\max}(A)$ 表示矩阵 A 的最大特征值, $A \otimes B$ 表示矩阵 A 与 B 的克罗内克积.

首先,考虑模型

$$dx_i(t) = (f(t, x_i(t)) + c \sum_{j=1}^N a_{ij} \Gamma x_j(t)) dt \quad (1)$$

其中 $x_i(t) = (x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{im})^T$ 是第 i 个节点的状态变量, $f: R^n \rightarrow R^n$ 是非线性函数, 正常数 c 是耦合强度, 正定矩阵 $\Gamma = \text{diag}(r_1, r_2, \dots, r_n)$ 表示节点的内联矩阵, $G = (a_{ij})_{N \times N}$ 是网络的结构矩阵, 其中元素定义如下: 如果从节点 j 到节点 i ($i \neq j$) 有一个定向连接, 那么 $a_{ij} = 1$, 否则

$$a_{ij} = 0, a_{ii} = - \sum_{j=1, j \neq i}^N a_{ij}, i = 1, \dots, N.$$

在此基础上,考虑使用周期性间歇控制来镇定复杂网络系统,得到基于周期间歇控制的复杂网络模型为

$$dx_i(t) = (f(t, x_i(t)) + c \sum_{j=1}^N a_{ij} \Gamma x_j(t)) dt + \sigma h(t) \Gamma (s(t) - x_i(t)) dB(t) \quad (2)$$

其中

$$h(t) = \begin{cases} 1, mT \leq t < mT + \delta \\ 0, mT + \delta \leq t < (m+1)T \end{cases}, m = 0, 1, 2, \dots$$

σ 为噪声强度, $T > 0$ 为控制周期, $\delta > 0$ 为控制宽

度, 间歇率 ψ 为 $\frac{T-\delta}{T}$.

定义 1 网络(1)与网络(2)取得同步, 如果 $\lim_{t \rightarrow \infty} (x_i(t) - s(t)) = 0, i = 1, \dots, N$. 其中 $s(t)$ 是网络(1)的孤立点且满足 $\dot{s} = f(s)$ 的解.

对于非线性函数 f , 做出如下假设:

假设 1 存在一个常数 $\theta > 0$, 对于 $\forall x, y \in R^n$, 使得非线性函数 f 满足:

$$(x - y)^T (f(x) - f(y)) \leq \theta (x - y)^T \Gamma (x - y) \quad (3)$$

2 主要结论

定理 1 令假设 1 和 $\lambda_{\max}(\Gamma) \leq 2\lambda_{\min}(\Gamma)$ 成立, 若噪声强度 σ 和间歇率 ψ 满足

$$(1 - \psi)\sigma^2 > 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) \cdot (2\sigma^2 \lambda_{\min}^2(\Gamma) - \sigma^2 \lambda_{\max}^2(\Gamma))^{-1} \quad (4)$$

那么系统(2)是几乎必然指数稳定的, 即系统(1)可被随机同步定.

证明: 对于某个节点的状态变量 $x_i(t)$, 有

$$dx_i(t) = (f(t, x_i(t)) + c \sum_{j=1}^N a_{ij} \Gamma x_j(t)) dt + \sigma h(t) \Gamma (s(t) - x_i(t)) dB(t),$$

其中 $h(t) = \begin{cases} 1, mT \leq t < mT + \delta \\ 0, mT + \delta \leq t < (m+1)T \end{cases}$
 $m = 0, 1, 2, \dots$.

设 $e_i(t) = x_i(t) - s(t)$, 则

$$de_i(t) = (f(t, x_i(t)) - f(t, s(t)) - c \sum_{j=1}^N l_{ij} \Gamma e_j(t)) dt - \sigma h(t) \Gamma e_i(t) dB(t) \quad (5)$$

其中 $l_{ij} = -a_{ij} \leq 0, l_{ii} = \sum_{j=1, j \neq i}^N a_{ij}$.

设 $x(t) = (x_1^T, \dots, x_N^T)^T, e(t) = (e_1^T(t), \dots, e_N^T(t))^T$,
 $F(t, x) = (f^T(t, x_1), \dots, f^T(t, x_N))^T$,
 则(5)式可改写为

$$de(t) = (F(t, x(t)) - I_N \otimes f(t, s(t)) - (cL \otimes \Gamma)e(t)) dt - h(t)((\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)) dB(t) \quad (6)$$

设 $V = \log(|e(t)|^2)$,

$$dV = \frac{2e^T(t)}{|e(t)|^2} \{ (F(t, x(t)) - I_N \otimes f(t, s(t)) - (cL \otimes \Gamma)e(t)) dt - h(t)((\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)) dB(t) \} + h(t) \left(\frac{(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)}{|e(t)|^2} \right)^2 dt - 2 \frac{|e^T(t)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)|^2}{|e(t)|^4} dt$$

由假设 1 可得

$$dV \leq \frac{2e^T(t)}{|e(t)|^2} \{ ((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma)e(t) \} dt -$$

$$\begin{aligned}
& h(t)((\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t))dB(t) \} + \\
& h(t) \frac{|(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)|^2}{|e(t)|^2} dt - \\
& 2h(t) \frac{|e^T(t)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)|^2}{|e(t)|^4} dt
\end{aligned} \quad (7)$$

同时注意到

$$\begin{aligned}
& e(t)(\theta I_N - cL) \otimes \Gamma e(t) \geq \\
& \lambda_{\max}(\theta I_N - cL) \otimes \Gamma |e(t)|^2, \\
& |(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)|^2 \leq \lambda_{\max}^2(\Gamma) |e(t)|^2, \\
& |e^T(t)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)|^2 \geq \lambda_{\min}^2(\Gamma) |e(t)|^4,
\end{aligned}$$

所以

$$\begin{aligned}
& dV \leq 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) dt + \\
& h(t)\sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma)dt - 2h(t)\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma)dt - \\
& h(t) \frac{2e^T(t)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)}{|e(t)|^2} dB(t)
\end{aligned} \quad (8)$$

当 $t \in [0, \delta)$,

$$\begin{aligned}
& dV \leq 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) dt + \\
& \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma)dt - 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma)dt - \\
& h(t) \frac{2e^T(t)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(t)}{|e(t)|^2} dB(t)
\end{aligned} \quad (9)$$

可得

$$\begin{aligned}
& \log(|e(t)|^2) \leq \log(|e(0)|^2) + \\
& \int_0^t (2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) + \\
& \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma) - 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma))dt + M(t)
\end{aligned} \quad (10)$$

其中

$$M(t) = -\int_0^t h(s) \frac{2e^T(s)(\sigma I_N \otimes \Gamma)e(s)}{|e(s)|^2} dB(s).$$

由(10)可得

$$\begin{aligned}
& \log(|e(\delta)|^2) \leq \log(|e(0)|^2) + \\
& \int_0^\delta (2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) + \\
& \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma) - 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma))dt + M(\delta) = \\
& \log(|e(0)|^2) + \delta(2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) + \\
& \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma) - 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma)) + M(\delta)
\end{aligned} \quad (11)$$

当 $t \in [\delta, T)$, 有

$$\begin{aligned}
& \log(|e(t)|^2) \leq \log(|e(\delta)|^2) + \\
& \int_\delta^t 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) dt
\end{aligned} \quad (12)$$

由(12)可得

$$\begin{aligned}
& \log(|e(T)|^2) \leq \log(|e(\delta)|^2) + \\
& \int_\delta^T (2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) dt = \\
& \log(|e(0)|^2) + \delta(2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) + \\
& \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma) - 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma)) + \\
& (T - \delta)(2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma)) + M(T) = \\
& \log(|e(0)|^2) + \delta a_1 + (T - \delta)a_2 + M(T)
\end{aligned} \quad (13)$$

其中

$$\begin{aligned}
a_1 &= 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) + \sigma_2\lambda_{\max}^2(\Gamma) - \\
& 2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma), \\
a_2 &= 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma).
\end{aligned}$$

当 $mT \leq t < mT + \delta$,

$$\begin{aligned}
& \log(|e(t)|^2) \leq \log(|e(0)|^2) + m\delta a_1 + \\
& m(T - \delta)a_2 + (t - mT)a_1 + M(t) = \\
& \log(|e(0)|^2) + ma_1 \frac{\delta}{T}T + ma_2 \frac{T - \delta}{T}T + \\
& (t - mT)a_1 + M(t)
\end{aligned}$$

所以

$$\begin{aligned}
& \log(|e(t)|^2) \leq \log(|e(0)|^2) + \\
& (ma_1(1 - \phi) + ma_2\phi)T + (t - mT)a_1 + M(t)
\end{aligned} \quad (14)$$

当 $mT + \delta \leq t < (m + 1)T$,

$$\begin{aligned}
& \log(|e(t)|^2) \leq \log(|e(0)|^2) + m\delta a_1 + \\
& m(T - \delta)a_2 + \delta a_1 + (t - mT - \delta)a_2 + M(t) = \\
& \log(|e(0)|^2) + (ma_1(1 - \phi) + ma_2\phi)T + \\
& \delta a_1 + (t - mT - \delta)a_2 + M(t)
\end{aligned} \quad (15)$$

易证

$$\begin{aligned}
& \langle M(t), M(t) \rangle = \\
& \int_0^t \frac{4\sigma^2 |e^T(s)(I_N \otimes \Gamma)e(s)|^2}{|e(s)|^2} ds \leq 4\sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma)t
\end{aligned}$$

由鞅大数定律, 可得

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{M(t)}{t} = 0, a.s. \quad (16)$$

两边同时取上极限可得

$$\begin{aligned}
& \limsup_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \log(|e(t)|) \leq a_1(1 - \phi) + a_2\phi = \\
& a_1 + \phi(a_2 - a_1), a.s.
\end{aligned} \quad (17)$$

由 $\lambda_{\max}(\Gamma) \leq 2\lambda_{\min}(\Gamma)$ 和

$$\begin{aligned}
& (1 - \phi)\sigma^2 > 2\lambda_{\max}((\theta I_N - cL) \otimes \Gamma) \cdot \\
& (2\sigma^2\lambda_{\min}^2(\Gamma) - \sigma^2\lambda_{\max}^2(\Gamma))^{-1}
\end{aligned}$$

可得, 当 $\phi < \frac{-a_1}{a_2 - a_1}$ 时, $\limsup_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \log(|e(t)|) < 0, a.s.$

证毕.

注 1 在文献[4]和文献[10]中, 刘锡伟、杨鑫松等人研究了基于间歇策略的复杂网络同步定. 本文将间歇策略和随机同步定结合, 并证明了复杂网络的周期间歇随机同步定.

注 2 文献[14]研究了基于随机反馈的复杂网络同步定, 相比于文献[14], 本文进一步利用周期间歇噪声实现复杂网络的同步定.

3 数值例子

考虑复杂网络(2), 相应的取值如下

$$f(x(t)) = \frac{1}{1+e^{-x}}, L = \begin{pmatrix} -1 & 1 \\ -1 & 1 \end{pmatrix},$$

$$\Gamma = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}, C = 0.68,$$

当 $\psi=0.2, \sigma=0.3$, 系统的误差状态曲线如图 1 所示; 当 $\psi=0.8, \sigma=0.68$, 系统的误差状态曲线如图 2 所示; 当 $\psi=0.2, \sigma=0.68$, 系统的误差状态曲线如图 3 所示。

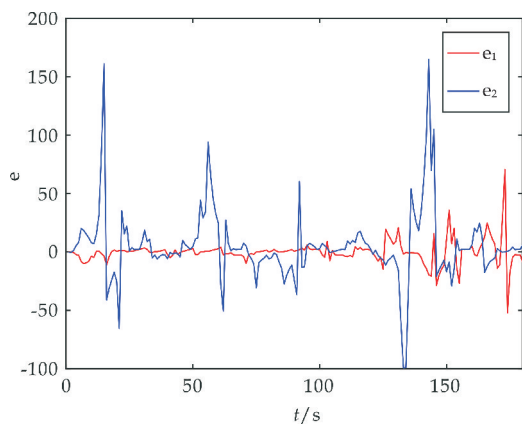


图 1 $\psi=0.2, \sigma=0.3$ 时系统误差的状态曲线

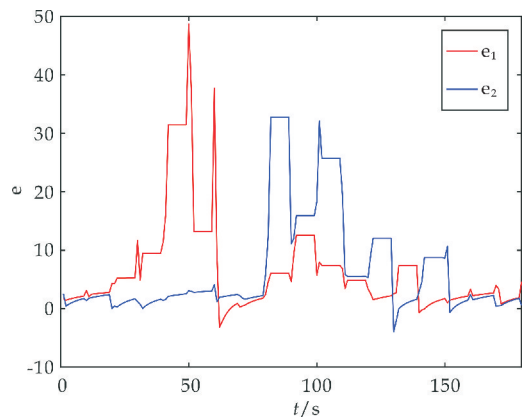


图 2 $\psi=0.8, \sigma=0.68$ 时系统误差的状态曲线

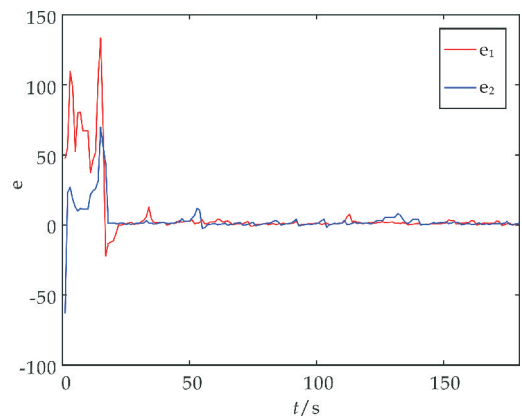


图 3 $\psi=0.2, \sigma=0.68$ 时系统误差的状态曲线

注 3 对比图 1 和图 3 可知, 间歇率相同的情况下, 强度较大的噪声可以更好的镇定系统; 对比

图 2 和图 3 可知, 噪声强度相同的情况下, 较小的间歇率可以更好的镇定系统。

4 结论

本文研究了复杂网络的周期间歇随机同步定。首先, 结合复杂网络的结构特征设计了周期间歇随机镇定控制器。其次, 通过使用 Ito 公式、鞅大数定律等随机分析工具, 结合间歇控制策略特点, 建立了复杂网络随机同步定的充分性判据。最后, 通过数值仿真验证了判据的有效性。

参考文献

- [1] Lee T I, Rinaldi N J, Robert F, et al. Transcriptional regulatory networks in *saccharomyces cerevisiae*[J]. Science, 2002, 298: 799-804.
- [2] Arianos S, Bompard E, Carbone A, et al. Power grid vulnerability: A complex network approach[J]. Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science, 2009, 19 (1): 1-16.
- [3] Wan Y, Cao J. Distributed robust stabilization of linear multi-agent systems with intermittent control[J]. Journal of the Franklin Institute, 2015, 352(10): 4 515-4 527.
- [4] Liu X, Chen T. Synchronization of nonlinear coupled networks via aperiodically intermittent pinning control[J]. IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems, 2015, 26(1): 113-126.
- [5] Song Q, Cao J. On pinning synchronization of directed and undirected complex dynamical networks[J]. IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Regular Papers, 2010, 57(3): 672-680.
- [6] Zhang C, Wang X, Wang C, et al. Synchronization in nonlinear complex networks with multiple time-varying delays via adaptive aperiodically intermittent control[J]. International Journal of Adaptive Control and Signal Processing, 2019, 33(1): 39-51.
- [7] Liu M, Jiang H, Hu C. Finite-time synchronization of delayed dynamical networks via aperiodically intermittent control[J]. Journal of the Franklin Institute, 2017, 354 (13): 5 374-5 397.
- [8] Mei J, Jiang M, Wu Z, et al. Periodically intermittent controlling for finite-time synchronization of complex dynamical networks[J]. Nonlinear Dynamics, 2015, 79(1): 295-305.
- [9] Yang X, Cao J, Lu J. Stochastic synchronization of complex networks with nonidentical nodes via hybrid adaptive and impulsive control[J]. IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Regular Papers, 2012, 59(2): 371-384.

(下转第 179 页)

* 文章编号:2096-398X(2020)01-0175-05

线性回归模型系数变点的在线监测

秦瑞兵¹, 孙 丽¹, 宋冠仪²

(1. 山西大学 数学科学学院, 山西 太原 030006; 2. 山东大学 数学学院, 山东 济南 250100)

摘 要:为尽早发现线性回归模型系数变点,文章提出了两种最小二乘残差平方和的比值型在线监测统计量,在无变点的原假设下给出了两个监测统计量的渐近分布及经验临界值表,在备择假设下证明了该方法的一致性.模拟结果显示该方法有较高的检验势和稍长的平均运行长度,但仍表明了该方法的稳健性.

关键词:变点; 线性模型; 在线监测; 平均运行长度

中图分类号:O212 **文献标志码:**A

Sequential monitoring coefficient change in linear regression model

QIN Rui-bing¹, SUN Li¹, SONG Guan-yi²

(1. School of Mathematical Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. School of Mathematics, Shandong University, Ji'nan 250100, China)

Abstract:Based on the least squares residues sum of squares, the paper propose two ratio-type detectors to sequentially monitor coefficient change quickly in linear regression model after a training period. It investigates the limit distribution of two statistics under the null hypothesis and the consistency under alternative assumption. Some critical values are tabulated. Simulations demonstrate that the proposed procedures have higher powers but longer ARLs.

Key words:change point; linear models; sequential tests; average run length

0 引言

近年来很多领域存在变点问题,有关突变点理论应用从最初由 Page^[1]提出在产品质量控制领域扩宽到在金融等领域,如 Hoga^[2]提出的在线监测多元时间序列在金融上的应用.而快速地监测到一任意时刻出现的变点并报警,对于减小损失,降低风险具有重要意义.

陈希孺^[3]与 Perron^[4]介绍了有关变点理论的研究与发展.有关线性过程的变点估计问题, Bai^[5]基于最小二乘估计提出其均值变点的估计.赵文芝

等^[6]则给出了其方差变点的 CUSUM 型估计量.随后 Zhao 等^[7]提出采用比率统计量检测线性过程的方差变点.

由实时监测时历史数据不断产生, Chu 等^[8]提出在线监测方法,即在原模型的基础上,对在线数据连续进行变点检验,当监测统计量的值超过给定极限临界值时停止且当前时刻为变点,否则一直监测下去. Csörgö 等^[9]提出的变点分析的极限理论也为变点的研究奠定了理论基础. Deng 等^[10]证明了 CUSQ 统计量在一般假设下的极限分布.

对于线性回归模型参数变点检验问题,

* 收稿日期:2019-10-12

基金项目:国家自然科学基金项目(61807022); 山西省自然科学基金项目(201801D121005); 青海省自然科学基金项目(2019-ZJ-920)

作者简介:秦瑞兵(1979—),男,山西太原人,讲师,博士,研究方向:时间序列分析

Horváth 等^[11]用最小二乘估计残差和与递归残差和快速监测到开始时刻出现的系数变点,而在监测变点出现时刻离开始时刻较远情况时,等待时间较长. Chen 等^[12,13]引进一个窗宽参数,将其它时刻出现的变点“移动”到开始时刻,以提高系数与方差变点的检验势,减小监测到变点的延迟时间. Aue 及 Hušková 等^[14,15]都提出了序贯检验参数变点的方法. 随着变点问题的研究, Chen 等^[16,17]提出新的监测统计量, Li 等^[18]则基于模型估计残差平方累积和统计量对 GARCH 模型中系数的变点进行监测.

但上述文献[11-13]中监测方法的准确度和运行长度均依赖于初始样本中的长期方差的估计,故据文献[16-18]监测统计量思考,并基于回归残差的平方累积和统计量,提出两种比值型监测统计量,避免了文献[11-13]中变点监测统计量的样本长期方差的估计,进而提高监测稳定性.

1 监测过程与假设

考虑如下线性回归模型:

$$y_i = x_i^T \beta_i + \epsilon_i, 1 \leq i < \infty \quad (1)$$

其中 x_i^T 是一 $p \times 1$ 维向量, β_i 是一 $p \times 1$ 维参数向量, ϵ_i 是误差序列.

假设前 $[Tr]$ 个历史样本满足 $\beta_i = \beta_0, 1 \leq i \leq [Tr], r \in (0, 1)$. 从第 $[Tr] + 1$ 个新样本数据开始在线监测系数变点, 提出如下假设检验问题:

$$H_0: \beta_i = \beta_0, i = [Tr] + 1, [Tr] + 2, \dots \quad (2)$$

$$H_A: \begin{cases} \beta_i = \beta_0, [Tr] < i < [Tr] + [Ts^*], [Ts^*] \geq 1, \\ \beta_i = \beta_*, i = [Tr] + [Ts^*], [Tr] + [Ts^*] + 1, \dots \end{cases} \quad (3)$$

其中 $s^* \in (0, 1)$, 模型系数 $\beta_0, \beta_*, (\beta_0 \neq \beta_*)$ 和变点的值均未知.

由下节定义的两个监测统计量 $\Gamma_1(r), \Gamma_2(r)$ 及其相应的显著性水平为 α 的临界值 $c_1(\alpha), c_2(\alpha)$ 定义停时

$\tau([Tr]) = \inf\{[Ts] > 1: \Gamma_{1,2}(r) > c_{1,2}(\alpha)\}$ 其中 $c_{1,2}(\alpha)$ 满足原假设下 $\lim_{[Tr] \rightarrow \infty} P\{\tau([Tr]) < \infty\} = \alpha$ 与备择假设下 $\lim_{[Tr] \rightarrow \infty} P\{\tau([Tr]) < \infty\} = 1$.

基于文献[11-13]的假设, 为证明监测统计量渐近性质及备择假设下的一致性, 线性回归模型需满足如下假设条件:

$$\{\epsilon_i, 1 \leq i < \infty\} \text{ 独立同分布.} \quad (4)$$

$$E\epsilon_1 = 0, 0 < \sigma_0^2 = \text{var}(\epsilon_1) < \infty,$$

$$0 < \sigma_1^2 = \text{var}(\epsilon_1^2) < \infty, v > 2 \text{ 时 } E|\epsilon_1|^v < \infty \quad (5)$$

$$x_i^T = (1, x_{2i}, \dots, x_{pi}), 1 \leq i < \infty \quad (6)$$

$$\{\epsilon_i, 1 \leq i < \infty\}, \{x_i, 1 \leq i < \infty\} \text{ 相互独立.} \quad (7)$$

存在正定阵 C 和常数 $\tau > 0$ 使得

$$\left| \frac{1}{n} \sum_{1 \leq i \leq n} x_i x_i^T - C \right| = O(n^{-\tau}) \quad a.s. \quad (8)$$

2 主要结论

由线性回归模型(1)及前 $[Tr]$ 个历史数据得 β 的最小二乘估计: $\hat{\beta}_{[Tr]} = \left(\sum_{i=1}^{[Tr]} x_i x_i^T \right)^{-1} \sum_{j=1}^{[Tr]} x_j y_j$. 及一般残差表达式: $\epsilon_i = y_i - x_i^T \hat{\beta}_{[Tr]}, 1 \leq i < \infty$.

构造一般残差平方和函数:

$$D_1(r, t) = \sum_{i=1}^{[Tt]} \epsilon_i^2 - \frac{[Tt]}{[Tr]} \sum_{i=1}^{[Tr]} \epsilon_i^2,$$

$$1 \leq [Tt] \leq [Tr], t \in (0, 1).$$

$$D_2(r, s, t) = \sum_{i=1}^{[Tt]} \epsilon_i^2 - \frac{[Tt]}{[Tr] + [Ts]} \sum_{i=1}^{[Tr] + [Ts]} \epsilon_i^2,$$

$$1 \leq [Tt] \leq [Tr] + [Ts], s \in (0, 1).$$

$$D_3(r, s, t) = \sum_{i=[Ts]+1}^{[Tt]} \epsilon_i^2 - \frac{[Tt] - [Ts]}{[Tr]} \sum_{i=[Ts]+1}^{[Tr] + [Ts]} \epsilon_i^2,$$

$$[Ts] + 1 \leq [Tt] \leq [Tr] + [Ts], s \in (0, 1).$$

并据此构造下列两个比值型监测统计量:

$$\Gamma_1(r) = \frac{\sup_{1 \leq [Ts] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [Tt] \leq [Tr] + [Ts]} ([Tr] + [Ts])^{-1/2} D_2(r, s, t) \right|}{\sup_{1 \leq [Tt] \leq [Tr]} | [Tr]^{-1/2} D_1(r, t) |}$$

$$\Gamma_2(r) = \frac{\sup_{1 \leq [Ts] < \infty} \left| \sup_{[Ts]+1 \leq [Tt] \leq [Tr] + [Ts]} [Tr]^{-1/2} D_3(r, s, t) \right|}{\sup_{1 \leq [Tt] \leq [Tr]} | [Tr]^{-1/2} D_1(r, t) |}.$$

定理 1 若假设(4)~(8)成立, 则在原假设(2)下, 当 $T \rightarrow \infty$ 时有 $\Gamma_1(r) \Rightarrow \gamma_1(r)$,

$$\gamma_1(r) = \frac{\sup_{0 \leq s \leq 1} \left| \sup_{0 \leq t \leq r+s} W\left(\frac{t}{r+s}\right) - \frac{t}{r+s} W(1) \right|}{\sup_{0 \leq t \leq r} \left| W\left(\frac{t}{r}\right) - \frac{t}{r} W(1) \right|}.$$

证明: 设

$$\sigma_1^2 = \lim_{[Tr] \rightarrow \infty} \sum_{i=1}^{[Tr]} E(\epsilon_i^2), \sigma_2^2 = \lim_{[Tr] + [Ts] \rightarrow \infty} \sum_{i=1}^{[Tr] + [Ts]} E(\epsilon_i^2),$$

$$\text{及 } \varphi_1 = \lim_{[Tr] \rightarrow \infty} [Tr]^{-1} E\left(\sum_{i=1}^{[Tr]} (\epsilon_i^2 - \sigma_1^2)\right)^2,$$

$$\varphi_2 = \lim_{[Tr] + [Ts] \rightarrow \infty} ([Tr] + [Ts])^{-1} E\left(\sum_{i=1}^{[Tr] + [Ts]} (\epsilon_i^2 - \sigma_2^2)\right)^2,$$

$$\text{原假设(2)下, 显然有 } \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} = O_p(1), \frac{\varphi_1}{\varphi_2} = O_p(1) \quad (9)$$

若假设(4)~(8)成立, 则在原假设(2)下, 当 $T \rightarrow \infty$ 时, 由文献[10]中 CUSQ 渐近分布证得

$$\frac{1}{\sigma_1^2} \sup_{1 \leq [Tt] \leq [Tr]} \left| [Tr]^{-1/2} D_1(r, t) \right| = \sup_{1 \leq [Tt] \leq [Tr]} \left| [Tr]^{-1/2} \left(\sum_{i=1}^{[Tt]} \left(\frac{\epsilon_i^2}{\sigma_1^2} - 1 \right) - \frac{[Tt]}{[Tr]} \sum_{i=1}^{[Tr]} \left(\frac{\epsilon_i^2}{\sigma_1^2} - 1 \right) \right) \right| \Rightarrow$$

$$\frac{\varphi_1^{1/2}}{\sigma_1^2} \sup_{0 \leq t \leq r} \left| W\left(\frac{t}{r}\right) - \frac{t}{r} W(1) \right| \quad (10)$$

$$\begin{aligned} & \frac{1}{\sigma_2^2} \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1/2} D_2(r, s, t) \right| = \\ & \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + \right. \right. \\ & \left. \left. [\text{Ts}] \right)^{-1/2} \left(\sum_{i=1}^{[\text{Tt}]} \left(\frac{\epsilon_i^2}{\sigma_2^2} - 1 \right) - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=1}^{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left(\frac{\epsilon_i^2}{\sigma_2^2} - 1 \right) \right) \right| \Rightarrow \\ & \frac{\varphi_2^{1/2}}{\sigma_2^2} \sup_{0 \leq s \leq 1} \left| \sup_{0 \leq t \leq r+s} \left| W\left(\frac{t}{r+s}\right) - \frac{t}{r+s} W(1) \right| \right| \quad (11) \end{aligned}$$

由式(9)~(11)及连续映照定理得证定理 1.

定理 2 若假设(4)~(8)成立,则在备择假设(3)下,当 $T \rightarrow \infty$ 时有 $\Gamma_1(r) \rightarrow \infty$.

证明:由(7)及中心极限定理,得

$$\begin{aligned} & \sum_{i=1}^{[\text{Tr}]} x_i \epsilon_i = O_p([\text{Tr}]^{1/2}) \\ & \text{又由 } \hat{\beta}_{[\text{Tr}]} \text{ 是 } \beta_0 \text{ 的最小二乘估计,则} \\ & [\text{Tr}]^{1/2} (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_0) = O_p(1). \\ & \text{从而满足备择假设(3)时有} \\ & (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^2 = [\text{Tr}]^{-1} + (\beta_* - \beta_0)^2 - \\ & 2[\text{Tr}]^{-1/2} (\beta_* - \beta_0). \end{aligned}$$

令 $[\text{Ts}] = [\text{Tr}] + [\text{Ts}^*]$,

若 $[\text{Tt}] \leq [\text{Ts}]$,则当 $T \rightarrow \infty$ 时,

$$\begin{aligned} & \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \right. \\ & \left. \left(\sum_{i=1}^{[\text{Tt}]} \epsilon_i^2 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=1}^{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \epsilon_i^2 \right) \right| = \\ & \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \right. \\ & \left. \left(\sum_{i=1}^{[\text{Tt}]} \epsilon_i^2 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=1}^{[\text{Ts}]} \epsilon_i^2 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=[\text{Ts}]+1}^{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \epsilon_i^2 \right) \right| \geq \\ & \sigma_2^2 \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \right. \\ & \left. \left(\frac{1}{\sigma_2^2} [\text{Tr}] (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^2 - \frac{2}{\sigma_2^2} (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^T [\text{Tr}]^{1/2} \right) \right| = \\ & (\beta_* - \beta_0)^2 O_p(1) > 0 \quad (12) \end{aligned}$$

若 $[\text{Tt}] > [\text{Ts}]$,则当 $T \rightarrow \infty$ 时

$$\begin{aligned} & \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \right. \\ & \left. \left(\sum_{i=1}^{[\text{Tt}]} \epsilon_i^2 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=1}^{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \epsilon_i^2 \right) \right| = \\ & \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{[\text{Ts}] < [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \right. \\ & \left. \left(\left(1 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \right) \sum_{i=1}^{[\text{Ts}]} \epsilon_i^2 + \sum_{i=[\text{Ts}]+1}^{[\text{Tt}]} \epsilon_i^2 - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \sum_{i=[\text{Ts}]+1}^{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \epsilon_i^2 \right) \right| \\ & \geq \sigma_2^2 \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{[\text{Ts}] < [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \left([\text{Tr}] + [\text{Ts}] \right)^{-1} \right. \\ & \left[\left(\frac{1}{\sigma_2^2} ([\text{Tt}] - [\text{Ts}]) (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^2 - \right. \right. \\ & \left. \left. \frac{2}{\sigma_2^2} (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^T ([\text{Tt}] - [\text{Ts}])^{1/2} \right) - \frac{[\text{Tt}]}{[\text{Tr}] + [\text{Ts}]} \right. \\ & \left. \left. \left(W([\text{Tr}] + [\text{Tr}] + \frac{1}{\sigma_2^2} [\text{Tr}] (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^2 - \right. \right. \right. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \left. \left. \frac{2}{\sigma_2^2} (\hat{\beta}_{[\text{Tr}]} - \beta_*)^T [\text{Tr}]^{1/2} \right) \right] \right| = \\ & (\beta_* - \beta_0)^2 O_p(1) > 0 \quad (13) \end{aligned}$$

由式(9)、(10)、(12)、(13)得证定理 2.

第二个监测统计量也有类似的结论.

定理 3 若假设(4)~(8)成立,则在原假设(2)下,当 $T \rightarrow \infty$ 时有 $\Gamma_2(r) \Rightarrow \gamma_2(r)$,

$$\begin{aligned} & \gamma_2(r) = \\ & \sup_{0 \leq s \leq 1} \left| \sup_{s \leq t \leq r+s} \left| W_1(r, s, t) - \frac{t-s}{r} W_2(r, s, t) \right| \right| = \\ & \sup_{0 \leq t \leq r} \left| W\left(\frac{t}{r}\right) - \frac{t}{r} W(1) \right| \end{aligned}$$

其中 $W_1(r, s, t) = W\left(\frac{t}{r+s}\right) - W\left(\frac{s}{r+s}\right)$,

$W_2(r, s, t) = W(1) - W\left(\frac{s}{r+s}\right)$.

证明:同定理 1 的证明,

$$\begin{aligned} & \frac{1}{\sigma_1^2} \sup_{1 \leq [\text{Ts}] < \infty} \left| \sup_{[\text{Ts}]+1 \leq [\text{Tt}] \leq [\text{Tr}] + [\text{Ts}]} [\text{Tr}]^{-1/2} D_3(r, s, t) \right| \Rightarrow \\ & \frac{\varphi_1^{1/2}}{\sigma_1^2} \sup_{0 \leq s \leq 1} \left| \sup_{s \leq t \leq r+s} \left| W\left(\frac{t}{r+s}\right) - W\left(\frac{s}{r+s}\right) - \right. \right. \\ & \left. \left. \frac{t-s}{r} \left(W(1) - W\left(\frac{s}{r+s}\right) \right) \right| \right| \quad (14) \end{aligned}$$

由式(9)、(10)、(14)及连续映照定理得证定理 3.

定理 4 若假设(4)~(8)成立,则在备择假设(3)下,当 $T \rightarrow \infty$ 时有 $\Gamma_2(r) \rightarrow \infty$.

证明:同定理 2 的证明,令 $[\text{Ts}] = [\text{Tr}] + [\text{Ts}^*]$,当 $T \rightarrow \infty$ 时,分 $[\text{Tt}] \leq [\text{Ts}]$ 与 $[\text{Tt}] > [\text{Ts}]$ 两种情况证明,此处略.

3 数值模拟

通过数值模拟检验方法的有限样本性质.表 1 列出了用 10 000 个标准正态分布的历史样本及历史样本量与监测样本量比值 r 取 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 时经 1 000 次循环得到的检验水平 $\alpha = 0.05$ 的临界值.

表 1 两个监测统计量的临界值表

r	$\Gamma_1(r)$	$\Gamma_2(r)$
0.1	2.829 5	3.453 3
0.2	2.609 0	3.232 7
0.3	2.471 6	2.937 0
0.4	2.393 8	2.846 7
0.5	2.274 1	2.548 5

采用文献[11]的模型及假设 $\beta_{0i} = 0, \beta_{1i} = 0$ 生成数据,历史样本量 $[\text{Tr}]$ 取 200,监测样本 q 分别取 $0.5^{-1}[\text{Tr}], 0.4^{-1}[\text{Tr}], 0.3^{-1}[\text{Tr}], 0.2^{-1}[\text{Tr}], 0.1^{-1}[\text{Tr}]$ 时,在 $\alpha = 0.05$ 检验水平下做模拟.在表 2 中,经验水平随着 r 取值逐渐上升.固定 r 值时,历史样本量与监测样本量的比值较大时结果更趋近于检验水平.而该比值小于 r 时 $\Gamma_{1,2}(r)$ 经经验水平渐失真,此时样本量相对较小,参数的估计

残差平方和比值较不准确.

表 2 两个监测统计量的经验水平(百分数)

size		$\Gamma_1(r)$				
r		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$q=0.5^{-1}[\text{Tr}]$		3.32	4.24	5.68	7.52	8.16
$q=0.4^{-1}[\text{Tr}]$		3.40	5.60	8.16	8.52	9.60
$q=0.3^{-1}[\text{Tr}]$		5.08	8.12	10.56	11.12	12.72
$q=0.2^{-1}[\text{Tr}]$		7.00	9.76	13.72	15.24	16.72
$q=0.1^{-1}[\text{Tr}]$		8.92	11.60	16.44	18.72	22.16
size		$\Gamma_2(r)$				
r		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$q=0.5^{-1}[\text{Tr}]$		1.36	2.24	3.60	4.12	7.76
$q=0.4^{-1}[\text{Tr}]$		2.28	3.76	6.32	6.52	11.00
$q=0.3^{-1}[\text{Tr}]$		3.24	5.08	7.88	10.12	14.56
$q=0.2^{-1}[\text{Tr}]$		5.16	7.56	12.72	14.68	23.20
$q=0.1^{-1}[\text{Tr}]$		9.48	13.16	20.76	22.24	32.32

由表 3 和表 4 比较参数变化时的检验势和平均运行长度,并判断是否快速监测到变点.显然, $\Gamma_1(r)$ 比 $\Gamma_2(r)$ 监测变点时的 power 较高,且在部分情况下 ARL 较短.用不同 r 值的临界值监测时,不同位置的变点监测模拟结果 power 都较文献[13]更趋近于 1.这表明去除了估计样本标准差产生的误差提高了监测精确度.同时在变点时刻靠后时,该方法仍能监测到变点,但 ARL 稍长.

表 3 截距项在[Ts^*]处由 0 变为 1 时的 power 与 ARLs(百分数)

power		$\Gamma_1(r)$				
r		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		96.72	97.84	98.12	97.64	96.28
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		98.16	98.64	98.36	97.16	95.20
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		98.80	99.04	99.20	96.68	87.32
ARLs						
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		80.96	68.93	60.63	55.16	48.53
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		84.00	70.74	63.15	56.73	49.09
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		86.85	71.64	63.73	55.65	40.08
power		$\Gamma_2(r)$				
r		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		70.52	73.52	79.20	80.88	87.28
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		69.04	74.44	79.00	79.48	87.28
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		69.84	71.76	78.48	79.48	80.20
ARLs						
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		131.87	75.66	56.14	51.38	46.41
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		124.29	70.99	54.94	50.53	44.54
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		122.31	68.82	53.92	48.69	37.45

表 4 斜率在[Ts^*]处由 0 变为 1.4 时的 power 与 ARLs(百分数)

power		$\Gamma_1(r)$				
r		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		99.56	99.72	99.72	99.68	99.12
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		99.72	99.88	99.76	99.52	98.68
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		99.76	99.72	99.84	99.20	94.00
ARLs						
$[Ts^*]=0.05[\text{Tr}]$		57.39	51.36	45.56	42.23	38.25
$[Ts^*]=0.2[\text{Tr}]$		60.39	51.17	46.69	43.51	39.39
$[Ts^*]=0.5[\text{Tr}]$		60.54	52.87	46.50	42.70	34.90

续表 4

power	$\Gamma_2(r)$				
r	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
$[Ts^*]=0.05[Tr]$	87.92	88.92	91.16	91.80	94.76
$[Ts^*]=0.2[Tr]$	87.88	88.96	91.32	91.40	93.76
$[Ts^*]=0.5[Tr]$	87.72	87.64	91.40	90.40	91.36
ARLs					
$[Ts^*]=0.05[Tr]$	109.59	62.10	50.18	44.39	38.67
$[Ts^*]=0.2[Tr]$	105.81	65.13	49.20	43.85	37.09
$[Ts^*]=0.5[Tr]$	103.17	59.96	47.16	41.54	34.24

模拟结果表明,比值型监测统计量对检验势和监测结果的稳定性都有了较大改进,对监测变点时刻靠后情况的效果也有所改进.在实际数据监测时,由于无法判定可能出现变点的时期,可取 $r=0.1$ 时的临界值监测,以便在监测较多样本量时控制好犯第一类错误,且尽可能的减小监测到变点的延迟时间.

4 实例

图 1(a)给出 2016 年 9 月 12 日至 2018 年 1 月 18 日 IBM 股票收盘价格,图 1(b)是其波动不均匀的一阶差分数据.取前 200 个样本为历史数据,在显著性水平 $\alpha=0.05$ 下,用文中监测统计量监测变点, $\Gamma_1(r)$, $\Gamma_2(r)$ 均在 $[Ts^*]=78$ 处监测到变点.而用文献[13]的方法则监测不到变点,表明新方法能够尽快且准确监测到变点.

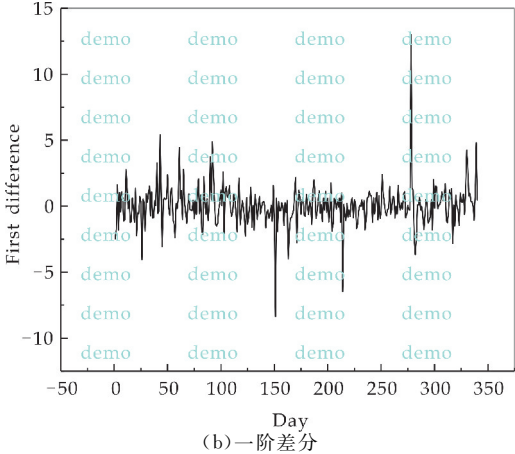
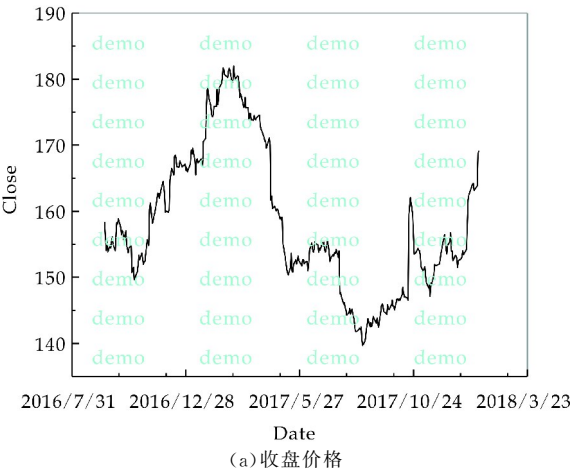


图 1 IBM 股票收盘价格及其一阶差分数据

5 结论

文章研究了线性回归模型系数变点的在线监测问题,在很多学者研究的基础上,提出了两个基于回归残差的平方累积和的比值型监测统计量,给出其极限分布与一致性的证明.通过数值模拟与实例分析,新的监测统计量有效提高了检验势与监测结果的稳定性,对变点出现时刻靠后情况的监测结果有所改进.但关于如何缩短监测的平均运行长度,仍需进一步研究.

参考文献

[1] Page E S. Continuous inspection schemes[J]. *Biometrika*, 1954, 41(1-2): 100-115.

[2] Hoga Y. Monitoring multivariate time series[J]. *Journal of Multivariate Analysis*, 2017, 155: 105-121.

[3] 陈希孺. 变点统计分析简介[J]. *数理统计与管理*, 1991 (1): 55-59.

[4] Perron P. Dealing with structural breaks[J]. *Palgrave Handbook of Econometrics: Econometric Theory*, 2006, 1: 278-352.

[5] Bai J. Least squares estimation of a shift in linear processes[J]. *Journal of Time Series Analysis*, 1994, 15(5): 453-472.

[6] 赵文芝, 田 铮, 夏志明. 线性过程方差变点的估计[J]. *工程数学学报*, 2009, 26(2): 273-277.

[7] Zhao W Z, Xia Z M, Tian Z. Ratio test to detect change in the variance of linear process[J]. *Statistics*, 2011, 45(2): 189-198.

[8] Chu C J, Stinchcombe M, White H. Monitoring structural

change[J]. *Econometrica*, 1996, 64(5): 1 045-1 065.

[9] Csörgö M, Horváth L. Limit theorems in change-point analysis[M]. Chichester: John Wiley & Sons, 1997.

[10] Deng A, Perron P. The limit distribution of the CUSUM of squares test under general mixing conditions[J]. *Econometric Theory*, 2008, 24(3): 809-822.

[11] Horváth L, Hušková M, Kokoszka P, et al. Monitoring changes in linear models[J]. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 2004, 126: 225-251.

[12] Chen Z S, Tian Z. Modified procedures for change point monitoring in linear models[J]. *Mathematics and Computers in Simulation*, 2010, 81(1): 62-75.

[13] 陈占寿, 田 铮, 丁明涛. 线性回归模型参数变点的在线监测[J]. *系统工程理论与实践*, 2010, 30(6): 1 047-1 054.

[14] Aue A, Horváth L, Hušková M, et al. Change point monitoring in linear models[J]. *Econometrics Journal*, 2006, 9(3): 373-403.

[15] Hušková M, Kirch C. Bootstrapping sequential change-point tests for linear regression[J]. *Metrika*, 2012, 75(5): 673-708.

[16] Chen Z S, Tian Z, Wei Y S. Monitoring change in persistence in linear time series [J]. *Statistics and Probability Letters*, 2010, 80(19-20): 1 520-1 527.

[17] Chen Z S, Tian Z, Qin R B, et al. Sequential monitoring variance change in linear regression model[J]. *Journal of Mathematical Research & Exposition*, 2010, 30(4): 610-618.

[18] Li F X, Tian Z, Chen Z S, et al. Monitoring distributional changes of squared residuals in GARCH models[J]. *Communications in Statistics-Theory and Methods*, 2016, 46(1): 354-372.

【责任编辑:蒋亚儒】

(上接第 174 页)

[10] Khasminskii R. Stochastic stability of differential equations[M]. Netherlands: Sijthoff & Noordhoff, 1981.

[11] Mao X. Stochastic stabilization and destabilization[J]. *Systems & Control Letters*, 1994, 23(4): 279-290.

[12] 黄礼荣, 邓飞其, 宋明辉. 随机镇定与反镇定概述[J]. *南京信息工程大学学报(自然科学版)*, 2017, 9(3): 262-273.

[13] Russo G, Shorten R. On noise-induced synchronization

and consensus[EB/OL]. <https://arxiv.org/pdf/1602.06467.pdf>, 2016-02-20.

[14] Liu L, Perc M, Cao J. Aperiodically intermittent stochastic stabilization via discrete time or delay feedback control[J]. *Science China Information Sciences*, 2019, 62(7): 1-13.

【责任编辑:蒋亚儒】

中国轻工业博物馆在陕西科技大学 建成开馆

中国轻工业博物馆是中国第一座以轻工业为主题的博物馆,致力于收藏和保护中国轻工业展品,展示中国轻工业支撑国家从站起来、富起来到强起来的伟大工业化历史进程,彰显中国智慧、增强文化自信,高扬中国人民构建自己的工业体系的民族心、报国志。其位于陕西科技大学校园内秀丽的科大湖畔,占地面积约 8 210 平方米,建筑面积约 5 030 平方米,展厅面积约 4 435 平方米,总投资 2 000 余万元,于 2018 年 6 月 26 日正式开馆。

中国轻工业博物馆包含轻工业发展历程主题展和科教筑梦两个基本陈列。轻工业发展历程基本陈列,以时间为序分为五大版块:文明摇篮,工艺传承、百年徘徊,中国制造、励志前行,中国质造、民族复兴,中国智造、工业强国,中国创造;科教筑梦基本陈列,结合陕西科技大学的学科优势和专业特色,分为玻璃、陶瓷、皮革、造纸、食品、化工、轻工机

械和工业设计八个版块,展示与轻工业密切相关的学科专业的最新科学技术成果和发展趋势。

该馆自正式开馆以来,已陆续接待了来自校内外近 5 万名观众。2019 年 3 月,中国轻工业博物馆被共青团陕西省委确定为“陕西省青少年教育基地”;2019 年 5 月,中国轻工业博物馆成功办理“身份证”,在陕西省文物局正式备案;2019 年 8 月,被陕西省社会科学界联合会授予为“陕西省社会科学普及基地”荣誉称号。

目前,中国轻工业博物馆正在按照具有标志性、综合性、现代化的国家级博物馆的标准进行充实和建设,努力打造成为高校文化传承与创新的载体、高校人才培养和科学研究的辅助基地、高校汇集校友行业社会力量的平台、展示高校和行业服务地方经济的名片和彰显中华文明发展史的窗口。



图 1 中国轻工业博物馆场景之一



图 2 中国轻工业博物馆场景之二