

用于乳品新鲜度快速识别的纸基渗流芯片设计与响应

李萍¹, 王秀峰^{1*}, 岳桂贞¹, 黄峻榕²

(1. 陕西科技大学材料科学与工程学院, 西安 710021; 2. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 西安 710021)

摘要: **目的** 开发基于纸基渗流芯片原位实时识别液态乳品新鲜度的装置和方法。**方法** 以超高温瞬时灭菌乳为研究对象, 采用氧化铟锡(indium tin oxide, ITO)导电玻璃作为装置的传感电极材料, 在具有毛细管力的纸基上设计渗流通道, 制备纸基渗流芯片并搭建检测装置, 利用制备好的纸基渗流芯片和装置开展乳品腐败全过程的介电性能研究; 同时利用 pH 复合电极测量乳品腐败过程的 pH。**结果** 在乳品腐败全过程(开封储存 50 h)中, pH 对乳品的质量变化不够敏感, 而制备的纸基渗流芯片和检测装置能够快速测定液态乳品介电参数的微小变化, 测得的介电常数随着乳品质量变化呈现 3 个“V”形状的波动变化, 更能反映出乳品的质量变化。**结论** 该装置和方法可以用于开封后液态乳品质量状态的实时测定, 为消费者判断液态奶的食用质量提供参考。

关键词: 乳品; 快速识别; 介电常数; 纸基渗流芯片

Design and response of paper-based seepage chip for quick identification of dairy freshness

LI Ping¹, WANG Xiu-Feng^{1*}, YUE Gui-Zhen¹, HUANG Jun-Rong²

(1. School of Materials Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China;
2. School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

ABSTRACT: Objective To develop a device and method for *in situ* real-time identification of the freshness of liquid dairy products based on paper-based seepage chip. **Methods** Taking ultra-high temperature instantaneously sterilized milk as the research object, indium tin oxide (ITO) on ductive glass was used as the sensing electrode material of the device. The percolation channel was designed on the paper base with capillary force, and the paper-base seepage chip was prepared and the detection device was built. The dielectric properties of the whole process of milk corruption were studied by using the prepared paper-based seepage chip and device. At the same time, the pH of milk spoilage was measured by pH composite electrode. **Results** In the whole process of dairy corruption (store for 50 h after opening), pH was not sensitive to the change of milk quality. However, the paper-based seepage chip and the detection device were prepared to quickly measure the small changes of the dielectric parameters of liquid milk, and the measured dielectric constant showed 3 “V” shape fluctuations with the change of the quality of

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1520100)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1520100)

*通信作者: 王秀峰, 博士, 教授, 主要研究方向为传感材料与器件、功能复合材料及其应用。E-mail: 553159292@qq.com

*Corresponding author: WANG Xiu-Feng, Ph.D, Professor, School of Materials Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China. E-mail: 553159292@qq.com

milk, reflecting the quality change of milk. **Conclusion** The device and method can be used for the real-time determination of the quality status of liquid milk products after opening, providing a reference for consumers to judge the edible quality of liquid milk.

KEY WORDS: dairy products; quick recognition; dielectric constant; paper-based seepage chip

0 引言

乳品是人类生活中的必需品,也是一类特殊的大宗食品。但是鲜乳容易发生腐败变质,储存和运输环节中需要适时抽检。传统的乳品新鲜度检测办法有 3 类:(1)专业人员对色泽、气味、黏度等进行感官评价;(2)在实验室进行理化检测和微生物检测^[1];(3)利用生物电子传感器^[2-4]、生物荧光^[5-7]和红外光谱仪^[8-11]等进行检测。通常,依靠感官判断得到的信息是相对模糊的,也不够精确;实验室检测耗时较长,不能满足消费者对液态乳品实际检测的需求;借助仪器可实现现场快速检测,但目前的仪器专用性强,不适合普通消费者,而且采样成本较高,具有一定的局限性。所以,研发一种灵敏、快速、便捷的液态乳品新鲜度传感材料与传感器已成为这一领域的前沿课题。

近年来,一系列以电子学、光谱学、生物学等原理为基础的乳制品质量快速检测新技术取得了突破性进展,大大提高了检测的速度和准确性。电子学、光谱学、生物学技术的突破主要依靠传感材料性能研究与应用获得了重要进展。电子鼻产品的应用主要依靠气敏材料的特殊性能^[12],WEN 等^[13]开发了一种全面的电子鼻系统,该系统是基于检测样品中挥发气味与敏感材料表面的负氧离子之间会发生氧化还原反应,释放电子,改变材料的导电率;胶体金免疫层析方法的突破是基于标记底物材料的功能化^[14]。纸基材料轻便、成本低、且灵敏度高^[15-17],未来基于纸基材料的快速检测技术会成为乳制品质量快速检测的主流^[18]。

电信号对于乳品成分非常敏感。奶牛乳房发炎后所产的牛奶导电性增大,电阻减小,利用电导仪直接测量出牛奶的导电率^[19-21],通过对牛奶细菌计数和电导率测量可以判断奶牛是否具有炎症^[22]。相关研究显示,牛奶中的水含量与牛奶的电阻和等效并联电容等电参数之间也存在着密切的线性关系^[23-26]。CONZUELO 等^[27]设计了一种集成安培生物传感器,用于乳及乳制品中乳糖的测定。利用 3-巯基丙酸(3-mercaptopropionic acid, MPA)自组装成单层膜并固定不同的生物酶,修饰金电极制成生物电极,该生物传感器具有良好的重复性和响应性,但该生物电极使用周期有限,只有 28 d。MAHADEVA 等^[28]采用剥离法将生物酶固定在纤维素氧化锡(cellulose-tin oxide, CTO)杂化复合物传感材料上制备叉指电极,构成生物传感器,测量电导率反应了牛奶的酸败质量,但该复合传感材料是一次性传感材料。MABROOK 等^[29]提出使用“L 形”金电极利用单频电

导法检测全脂牛奶加水量的新方法,在较低的电压下传感特征不明显。康霞霞等^[30]制备了一种检测乳品介电参数装置,通过建立温度-pH-变质程度之间的关系模型,分析介电参数阻抗值、温度与 pH 的关系,从而可以实时获得乳品的新鲜度。以上多项研究成果表明,电信号变化与乳品新鲜度存在密切的关联关系。但是,这些研究并未开展鲜乳变质全程的电信号测量,也没有揭示乳品变质全程电信号(特别是介电常数)的变化规律。同时,以上研究所用的传感器材料在使用时需要进行预处理,使用寿命较短,对数据测量也有一定的干扰作用。

因此,本研究制备了一种用于乳品新鲜度快速识别的纸基渗流芯片,以超高温瞬时灭菌乳为研究对象,利用设计的纸基渗流芯片及检测装置测量乳品腐败过程中介电常数的变化,分析乳品新鲜度,以期对乳品安全质量检测提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

250 mL 超高温瞬时灭菌乳采购于西安永辉超市。

滤纸(Whatman No.4)、ITO 导电玻璃(合肥单晶材料科技有限公司);液体石蜡、无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

TH2822E 型 LCR 数字电桥(0.1%测量准确度,常州同惠电子股份有限公司);E-301-CF 型 pH 复合电极(上海仪电科学仪器股份有限公司)。

1.3 实验方法

利用 CorelDraw 软件设计纸基渗流芯片的亲水渗流通道和疏水图案,将液体石蜡通过喷墨打印法打印在滤纸上形成疏水图案,制备好的滤纸静置晾干,剪裁制备出纸基渗流芯片,将 ITO 固定在夹具上作为基层传感材料,方便观察液态奶制品侵入、纸基渗吸情况,检测装置为“ITO-纸基渗流芯片-ITO”的三明治结构,连接 LCR 数字电桥测量两极板间的电容。检测装置示意图如图 1 所示。在相同稳定的实验条件下可测量乳品的介电性能。

利用从西安永辉超市获得的超高温瞬时灭菌乳样品,测定乳品的电容与开封储存时间的关系。常温条件下(20℃),开封后恒温储存,检测液态奶制品的质量变化情况。取 1 mL 的样品滴加在纸基渗流芯片上,静置 1 min 读

取电容数值, 每一样品的测量只需更换纸基渗流芯片。实验前, 将传感器放入乙醇中清洗, 用超纯水冲洗至少 5 min, 最后通过暴露于干燥氮气流中进行干燥。

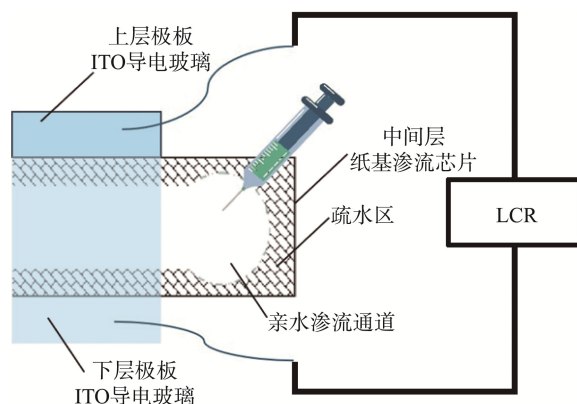


图 1 检测装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of the detection device

1.4 数据处理

本研究每种乳品的电容测定均做 5 次重复, 数据采用 OriginPro 2021 软件进行记录和统计分析。

2 结果与分析

2.1 测量频率的影响

实验采用不同测量频率进行乳品电容的检测, 初步结果显示, 当测量频率低于 1000 Hz, 随着牛奶储存时间的增长, 牛奶电容以 95%~97%/Hz 的速率线性降低; 当测量频率高于 1000 Hz 时, 牛奶电容的变化速率缓慢。电容对频率特性表明, 电容随着频率增加而单调减小。在 1000 Hz 频率下缓慢变化, 达到饱和。图 2 显示了新鲜牛奶室温开封储存 60 h 的各个频率下的电容, 随着频率增加而单调减小。在 10000 Hz 频率下电容基本达到饱和。结果表明, 高频可使液态牛奶溶液的电容达到饱和值, 这是液态牛奶溶液的一个特性。相反, 低频区反映了电极和牛奶溶液之间的传感特性。在频率低于 1000 Hz 时, 牛奶电容有明显变化, 可以采用低于 1000 Hz 的频率对乳品电容进行测量, 反映乳品的质量。

2.2 乳品电容随时间的变化规律

图 3 显示了在极板间距为 0.5 mm、乳品样品恒温在 20°C 和测量频率为 100~100000 Hz 条件下乳品样品的电容值(同一样品重复测量 5 次)。测量乳品的电容值时, 采用的频率越小, 电容值的传感性能越明显。高频可使乳品样品的电容达到饱和值, 低频区反映了电极和乳品样品之间的传感特性。频率在低频区(100 和 120 Hz)时, 乳品样品的电容值随着时间推移呈现 3 个“V”形状的起伏变化。

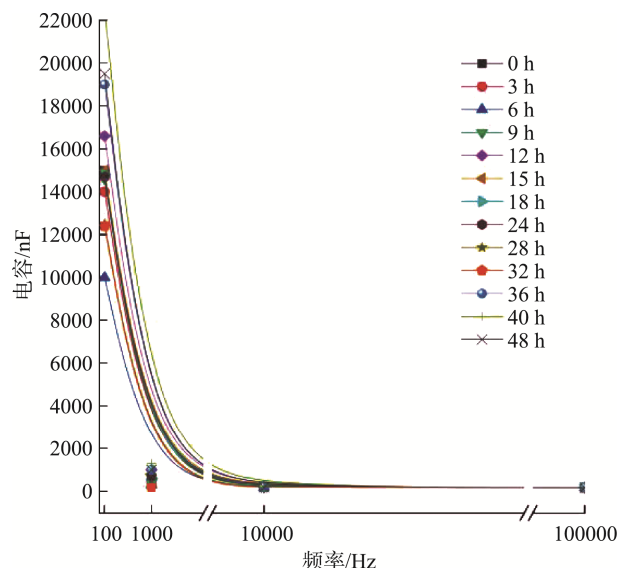
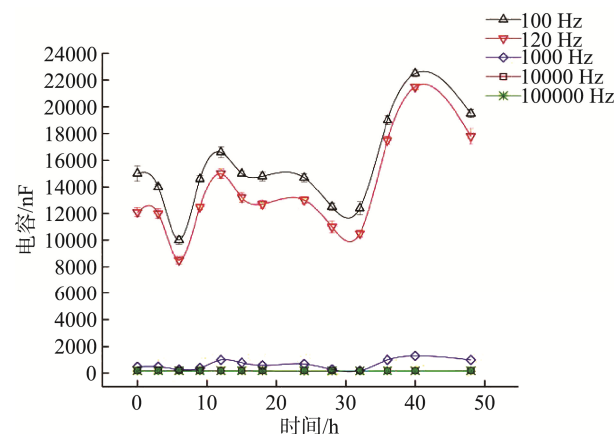


图 2 不同的测量频率下乳品电容的变化曲线(n=5)

Fig.2 Change curves of dairy capacity values at different measured frequencies (n=5)



注: 测量频率 100~100000 Hz。

图 3 不同频率下开封后储存 0~50 h 的乳品电容曲线 (n=5)

Fig.3 Dairy capacitance curves stored for 0~50 h after opening at different frequencies (n=5)

2.3 乳品电容与 pH 之间的关联

由图 4 的 pH 曲线可以发现(同一样品 pH 重复测量 5 次), 本研究测量获得的乳品腐败过程中的 pH 变化趋势与文献[31]的研究结果一致。从图 4 看出, 室温在(20±2.5)°C, 相对湿度(40±5)%时, 牛奶在抑菌期内(0~3 h), 体系稳定, 牛乳品质也没有太大变化。室温储存 6 h 时, 牛奶产生少量气泡冒出, 导致电容降低。前 6 h 牛奶的 pH 基本保持不变。说明 0~6 h 内产生少量乳酸。牛奶的颜色、气味及口味也无变化。随着室温下开封储存时间的增长(6~12 h), 自组装传感器测量的电容值增大, 表明牛奶产生乳酸, 这是由于其中 H⁺浓度增大, pH 降低。12 h 后牛奶变稠, 这是由于其中的自由水蒸发使液体变稠。牛奶中的脂肪是降低牛

奶导电性的一个重要因素, 导电离子 H^+ 和脂肪相互制约, 所以电容值缓慢降低。这期间牛奶的 pH 缓慢下降, 但牛奶的 pH 仍在正常范围内。直到开封储存超过 32 h, 牛奶酸败和黏度增大, 导致牛奶 pH 急剧下降。大量的电活性分子逐渐取代电惰性分子, 使其导电性增强, 电容逐渐增大。虽然在 32 h 之后, pH 明显降低, 可以表明鲜奶发生严重腐败, 但是在 32 h 之前, 鲜奶已经有了多次质量变化过程, 而这些变化仅仅通过 pH 是无法表征的, 介电参数的测量可以获得更加精确的测量结果。

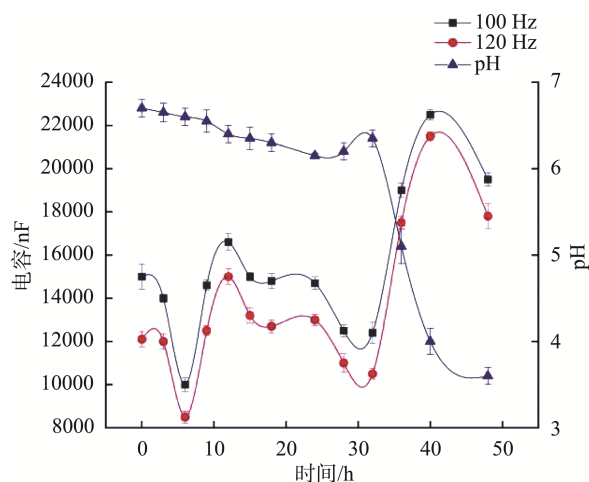


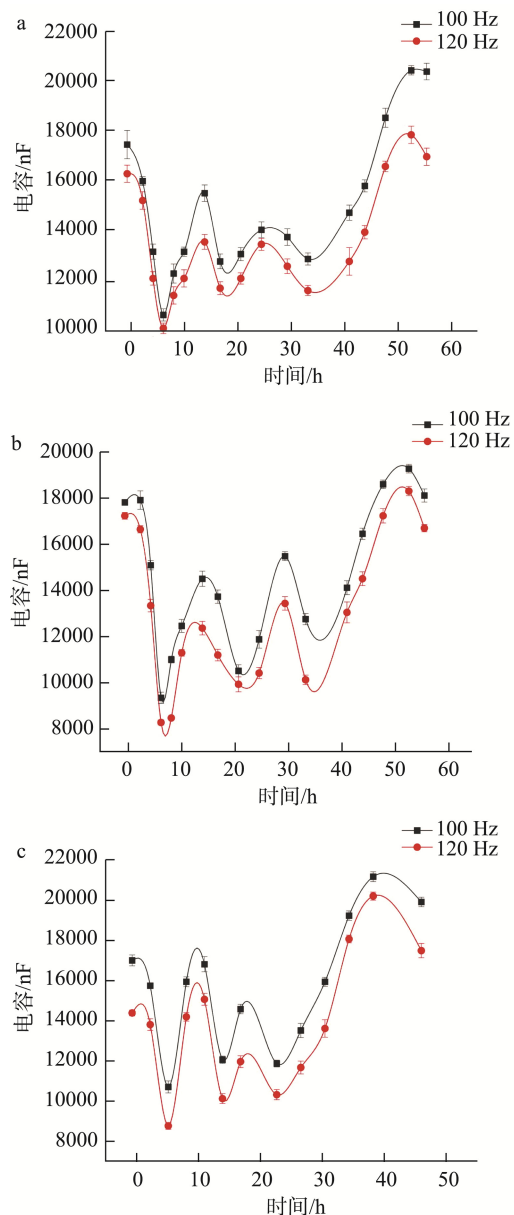
图 4 开封后储存 0~50 h 的乳品电容曲线与同步测量的 pH 之间的关系模型 ($n=5$)

Fig.4 Models of the relationship between the dairy capacitance curves stored for 0~50 h after opening and the pH measured synchronously ($n=5$)

2.4 实际样品验证试验

优化实验条件, 选用 100 和 120 Hz 的频率再次测量了 3 组不同品牌的超高温瞬时灭菌乳样品的电容值(每组重复测量 5 次)。随机测试了 3 组新鲜牛奶样品。低频下使用该装置检测的新鲜度曲线, 如图 5 所示, 都得到了相似的曲线, 在开封储存 6 h 左右, 电容降到了最低。从图 5 的 3 组图可知, 牛奶变质过程有明显的 3 个阶段, 第 1 阶段为新鲜阶段(0~6 h), 牛奶的颜色、气味及口感都没有变化。第 2 阶段为次新鲜阶段(6~15 h), 牛奶散发出较浓的奶味, 酸味变重。第 3 阶段为不新鲜(15 h 以后), 牛奶快速变稠变粘, 散发出酸味, 明显变质。

从化学性质上来说, 牛奶是一种蛋白质胶体。大部分蛋白为酪蛋白, 酪蛋白遇氢离子时, 其外部的结构被破坏, 导致蛋白分子附聚, 在宏观上表现为凝固。对于乳脂而言, 其中的单不饱和脂肪酸及非共轭多不饱和脂肪酸会发生化学反应, 使不饱和脂肪酸形成自由基。而乳糖在微生物产生的乳糖分解酶作用下, 将乳糖分解成单糖, 在乳酸菌作用下生成乳酸, pH 进一步降低, H^+ 浓度增大。这会使牛奶溶液中导电离子的数量增多, 从而增加电容。



注: a 为妙维思; b 为伊利金典; c 为特仑苏。

图 5 不同品牌的超高温瞬时灭菌乳样品在 100 和 120 Hz 频率下随着储存时间变化的电容值曲线 ($n=5$)

Fig.5 Capacitance value curves of ultra temperature instantaneous sterilized milk samples with storage time from different brands at 100 and 120 Hz frequencies ($n=5$)

从以上结果可以看出, 该纸基渗流芯片及装置测得的曲线能够明显地反映出牛奶变质的 3 个过程。所有乳品样品的介电常数随着时间的推移呈现 3 个“V”形状的起伏变化。证实了可以采用介电常数的变化作为乳品开封后质量变化阶段的指标。新鲜度传感器可在 1 min 内测得牛奶电容值。因此, 纸基渗流芯片可以检测液态奶制品新鲜度的实时动态变化信息。

3 结 论

研究发现, 在低频(100 和 120 Hz)下, 乳品的介电常数在开封储存时波动式增加。这可反映出牛奶新鲜质量的实时变化, 是与牛奶中大分子物质化学变化有关。在 0~30 h 内, pH 酸度计测得牛奶的 pH 均在正常范围内, 无法准确测量牛奶新鲜质量实时变化过程。本研究采用 ITO 作为电极, 并获得了稳定的电容信号。利用纸基渗流芯片及装置检测出了乳品 50 h 的介电常数变化, 其介电常数呈随着乳品质量变化呈现 3 个“V”的波动变化。对比金属复合电极, 该检测方法无需校准, 无需预热。在 1 min 内可快速获得数据。响应速度快, 灵敏度高, 准确且成本低, 更重要的是该装置操作简单, 可方便消费者实时使用。

参考文献

- [1] 孙宇霞. 完善检测标准保障乳制品质量安全[J]. 中国乳业, 2012, (6): 68-69.
SUN YX. Improve testing standards to ensure the quality and safety of dairy products [J]. China Dairy, 2012, (6): 68-69.
- [2] WEN T, ZHENG LZ, DONG S, *et al.* Rapid detection and classification of citrus fruits infestation by *Bactrocera dorsalis* (hendel) based on electronic nose [J]. Postharvest Biol Technol, 2019, 147: 156-160.
- [3] STOJANOVIC GM, SINHA A, ALI AE, *et al.* Impedance analysis of milk quality using functionalized polyamide textile-based sensor [J]. Comput Electron Agric, 2021, 191: 106545.
- [4] VERISSIMO M, GAMELAS J, FERNANDES A, *et al.* A new formaldehyde optical sensor: Detecting milk adulteration [J]. Food Chem, 2020, 318: 126461.
- [5] KERGARAVAT SV, NAGEL OG, ALTHAUS RL, *et al.* Detection of quinolones in milk and groundwater samples using an indirect immunofluorescent magneto assay [J]. Int J Environ Anal Chem, 2020. DOI: 10.1080/03067319.2020.1790550.
- [6] ALVARADO U, ZAMORA A, LIU JF, *et al.* Rapid quantification of riboflavin in milk by front-face fluorescence spectroscopy: A preliminary study [J]. Foods, 2019, 9(1): 6.
- [7] 殷文志, 王婷钰, 朱拓, 等. 三种品牌牛奶的荧光光谱特性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(2): 535-539.
YIN WZ, WANG TY, ZHU T, *et al.* Study on the fluorescence spectral properties of three brands of milk [J]. Spectrosc Spect Anal, 2021, 41(2): 535-539.
- [8] ZHANG L, LI CF, DEHARENG F, *et al.* Appropriate data quality checks improve the reliability of values predicted from milk mid-infrared spectra [J]. Animals, 2021, 11(2): 533-533.
- [9] PORTNOY M, COON C, BARBANO DM. Infrared milk analyzers: Milk urea nitrogen calibration [J]. J Dairy Sci, 2021, 104(7): 7426-7437.
- [10] BORRÀS NC, HERRANZBARBERO A, ALDECOA BV, *et al.* Infrared analyzers for the measurement of breast milk macronutrient content in the clinical setting [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2020, 20(9): 867-887.
- [11] WANG QY, BOVENHUIS H. Combined use of milk infrared spectra and genotypes can improve prediction of milk fat composition [J]. J Dairy Sci, 2020, 103(3): 2514-2522.
- [12] CHENG L, MENG QH, LILIENTHAL AJ, *et al.* Development of compact electronic noses: A review [J]. Meas Sci Technol, 2021, 32(6): 062002.
- [13] WEN T, ZHENG LZ, DONG S, *et al.* Rapid detection and classification of citrus fruits infestation by *Bactrocera dorsalis* (hendel) based on electronic nose [J]. Postharvest Biol Technol, 2019, 147: 156-165.
- [14] ZENG YY, LIANG DM, ZHENG PM, *et al.* A Simple and rapid immunochromatography test based on readily available filter paper modified with chitosan to screen for 13 sulfonamides in milk [J]. J Dairy Sci, 2021, 104(1): 126-133.
- [15] FERESHTE MG, AKHOND M, BAHRAM H. A three-dimensional origami microfluidic device for paper chromatography: Application to quantification of tartrazine and indigo carmine in food samples [J]. J Chromatogr A, 2020, 1621: 461049.
- [16] GAN ZY, HU XT, XU XC, *et al.* A portable test strip based on fluorescent europium-based metal-organic framework for rapid and visual detection of tetracycline in food samples [J]. Food Chem, 2021, 354: 129501.
- [17] AMIT KB, RAJAN S, YUDHISHTHIR SR, *et al.* A rapid paper chromatographic method for detection of anionic detergent in milk [J]. J Food Sci, 2013, 50(4): 826-829.
- [18] 李萍, 王秀峰, 岳桂贞, 等. 乳制品质量快速检测原理与技术研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7175-7183.
LI P, WANG XF, YUE GZ, *et al.* Research progress on principle and technology of rapid detection of dairy products quality [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(18): 7175-7183.
- [19] GALFI A, RADINOVIĆ M, MILANOV D, *et al.* Electrical conductivity of milk and bacteriological findings in cows with subclinical mastitis [J]. Biotechnol Anim Husband, 2015, 31(4): 533-541.
- [20] KUROPATWINSKI AI, BOGUICKI M, MILLER M, *et al.* Relationships between milk electrical conductivity, daily milk yield, and milking ability of primiparous and multiparous cows [J]. J Anim Plant Sci, 2020, 30(2): 298-304.
- [21] SHEN WZ, YU WX, KONG QM, *et al.* Research on milk conductivity real-time online monitoring system [J]. Int J Smart Home, 2015, 9(5): 1-10.
- [22] AMPARO R, GEMA R, MANUEL A, *et al.* Milk electrical conductivity in Manchega ewes: Variation throughout milking and relation with mammary gland health status [J]. Czech J Anim Sci, 2019, 64: 300-308.

- [23] JOANNA KB, RYSZARD Ź, JERZY S, *et al.* Possibilities of using electrical parameters of milk for assessing its adulteration with water [J]. *Int J Food Prop*, 2012, 15(2): 274-280.
- [24] PAUDYAL S, MELENDEZ P, MANRIQUEZ D, *et al.* Use of milk electrical conductivity for the differentiation of mastitis causing pathogens in Holstein cows [J]. *Animal*, 2019, 14(3): 588-596
- [25] MARIA C, GIOVANNI C, LELIA M, *et al.* Development and test of a portable device to monitor the health status of Sarda breed sheep by the measurement of the milk electrical conductivity [J]. *Ital J Anim Sci*, 2016, 15(2): 275-282.
- [26] LIEN CC, WAN YN, TING CH. Online detection of dairy cow subclinical mastitis using electrical conductivity indices of milk [J]. *Eng Agric Environ Food*, 2016, 9(3): 201-207.
- [27] CONZUELO F, GAMELLA M, CAMPUZANO S, *et al.* An integrated amperometric biosensor for the determination of lactose in milk and dairy products [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(12): 7141-7148.
- [28] MAHADEVA SK, KANG BW, KIM J. Detection of urea and rancidity of milk using inter-digitated cellulose-tin oxide hybrid composite [J]. *Sensor Lett*, 2014, 12(1): 39-43.
- [29] MABROOK MF, PETTY MC. A novel technique for the detection of added water to full fat milk using single frequency admittance measurements [J]. *Sens Actuator B-Chem*, 2003, 96(1-2): 215-218.
- [30] 康霞霞, 胡戛, 吕玉祥. 基于介电参数的牛奶新鲜度非接触检测技术研究[J]. *电子器件*, 2020, 43(3): 709-714.
- KANG XX, HU Y, LV YX. Non-contact detection technology of milk freshness based on dielectric parameters [J]. *Electronics*, 2020, 43(3): 709-714.
- [31] 靳啸, 吕玉祥. 基于数据训练模型的牛奶新鲜度实时无损检测技术研究[J]. *电子器件*, 2020, 43(4): 945-948.
- JIN X, LV YX. Research on real-time non-destructive testing technology of milk freshness based on data training model [J]. *Electronics*, 2020, 43(4): 945-948.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



李 萍, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量传感材料与器件。
E-mail: 2932287079@qq.com



王秀峰, 博士, 教授, 主要研究方向为传感材料与器件、功能复合材料及其应用。
E-mail: 553159292@qq.com