

生物供电时间温度指示器在酸奶中的实验研究

杨俊伦^a, 黄珏^b, 郭永洪^a

(中国计量大学 a.机电工程学院 b.生命科学学院, 杭州 310018)

摘要: **目的** 研究生物供电时间温度指示器 (Time-temperature integrator, TTI) 放电参数与酸奶品质参数之间是否存在相关性。**方法** 实验以马铃薯为生物电池的底物, 铜片和锌片为电极制作生物供电 TTI, 将生物供电 TTI 和酸奶同时置于温度 37 °C 下存放 30 min, 其余时间置于 2~6 °C 下恒温贮存, 模拟酸奶从产地到消费者住所经历的多次温度变化, 通过自制平台实时获取时间、温度和生物供电 TTI 的放电参数, 以 2~6 °C 恒温贮存的酸奶和生物供电 TTI 为对照, 检测实验过程中酸奶的乳酸菌数和霉菌数的变化情况。**结果** 通过实验发现生物供电 TTI 的输出电压幅值和放电累积量均会随环境温度变化发生相匹配的变化, 同时与乳酸菌数的变化也满足一定的线性关系。**结论** 生物供电 TTI 具有检测酸奶变质的潜能, 通过改变 TTI 的电导池常数、底物种类、预处理温度和时间都可以改变其放电总量, 以匹配更多的食品。

关键词: 时间-温度指示器 (TTI); 放电特性; 生物供电; 酸奶

中图分类号: TS252.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2021)17-0112-06

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.17.014

Experimental Study on Bio-Powered Time-Temperature Integrator in Yogurt

YANG Jun-lun^a, HUANG Jue^b, GUO Yong-hong^a

(a.College of Mechanical and Electrical Engineering b.College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

ABSTRACT: The work aims to study the correlation between the discharge parameters of bio-powered TTI and the quality parameters of yogurt. Potato was used as the substrate of biological battery, copper and zinc were used as electrodes to make bio-powered TTI in the experiment, the bio-powered TTI and yogurt were stored at 37 °C for 30 minutes and stored at 2-6 °C for the rest of the time to simulate the multiple temperature changes experienced by the yogurt from the place of production to the consumer's residence. Time, temperature and discharge parameters of bio-powered TTI were obtained in real time by self-made platform. Taking yogurt and bio-powered TTI stored at 2-6 °C as control, the changes of the number of lactic acid bacteria and mold in yogurt were detected during the experiment. It was found that the output voltage amplitude and discharge integral of bio-powered TTI will match with the change of ambient temperature, and also have a certain linear relationship with the change of the number of lactic acid bacteria through the experiments. Bio-powered TTI has the potential to detect the deterioration of yogurt. The total amount of discharge can be changed to match more food by changing the conductance cell constant, substrate species, pretreatment temperature and time of TTI.

KEY WORDS: time-temperature integrator; discharge characteristic; bio-powered; yogurt

收稿日期: 2020-12-24

作者简介: 杨俊伦 (1996—), 男, 中国计量大学硕士生, 主攻检测技术与自动化装置。

通信作者: 郭永洪 (1967—), 女, 博士, 中国计量大学副教授, 主要研究方向检测技术、信息管理和信息系统。

随着社会经济和人民生活水平的日益提高,酸奶等乳制品已经逐步走进了千家万户中。酸奶中含有大量活性乳酸菌,可以在人体的消化环境对特定有害菌种的繁殖产生抑制,达到维持微生态平衡的作用^[1]。乳酸菌对温度较为敏感,温度较高时,乳酸菌的繁殖会使所处介质酸化,导致活菌数降低,因此贮存温度与酸奶的品质存在较强的相关性。

为了使消费者能够直观、全面地了解食品当前的品质状态,时间温度指示器(Time-temperature integrator, TTI)应运而生。TTI 可以将食品所经历的时间温度历程进行记录,并通过不可逆的变化(颜色、外观等)反映出来,使消费者及时获取食品的品质状态^[2],为冷链物流二次配送和消费者环节中存在的问题提供解决方法^[3]。

根据 TTI 的工作原理,TTI 可分为化学型、生物型和物理型^[4]。化学型^[5-7] TTI 基于化学试剂在不同时间温度累积下的颜色变化来反映食品的品质变化。生物型^[8-10] TTI 可以分为微生物型和酶型等,利用微生物的新陈代谢和酶促反应引起 pH 值变化,进而从颜色变化来反映食品品质的变化。物理型^[11-12] TTI 可以分为扩散型和电子型等,基于扩散迁移原理、单片机和射频等技术来判断食品的剩余货架期。

查阅文献可知,部分生物型 TTI 基于酶的氧化反应产生的电子迁移,进而可以输出稳定的电流或电压。在这一原理基础上, Kim 等^[13]研制了一种基于生物燃料电池的自供电 TTI,其创新点在于将 TTI 的电压输出信号变化与牛奶的质量变化进行匹配,通过电池输出恒定电压的时间长度和电压的积分值反映牛奶的货架期,其中牛奶的品质参数通过检测需氧嗜温性细菌的浓度进行标定。在此基础上, Mijanur 等^[14]利用葡萄糖氧化酶、葡萄糖和酸碱指示器制备了一种可以同时产生电信号和显色反应的生物供电 TTI,通过电流信号和吸光度预测食品的质量。

根据 Golberg 等^[15]实验分析,锌/铜马铃薯电池能量转化的进程是一个由蛋白酶催化所发生的生化反应,该反应中由蛋白酶催化所生成 H^+ 离子的量决定了电池所能输出电压的幅值。反应温度会影响酶促反应和酶活性,不同温度下输出的电压也就不同。

综上所述,文中选用马铃薯作为生物电池的底物,采用铜片和锌片为电极,制作了一种生物供电 TTI。与 Kim 等^[13]和 Mijanur 等^[14]以葡萄糖为底物制作的 TTI 相比,生物供电 TTI 本身具有清洁环保、价格低廉^[15-16]的特点,不添加有毒有害的类防腐剂,从而避免了 TTI 对食品及贮存环境造成二次污染的风险。另外,低温会降低葡萄糖在水中的溶解度,因此上述 2 种 TTI 在冷藏状态下指示时间会受到影响,而文中使用的 TTI 在冷藏状态下指示时间会更长、更稳定。不足之处是,为了得到较小的体积,TTI 的放

电总量会相应减少,在电导池常数为 5.25 cm 时 TTI 的指示时间约为 6 d,这与 Kim 等的 7 d 有效时长接近。与传统 TTI 利用颜色、外观变化的指示功能相比,生物供电 TTI 可以通过查看输出电压的幅值或放电累积量来反映食品的品质状态,因此该 TTI 还具备与物联网技术相链接的潜力。

文中主要通过自制的检测平台实时监测 TTI 的时间、温度和放电参数,同时检测酸奶的乳酸菌数和霉菌数,以标定酸奶的品质参数,旨在研究基于锌/铜马铃薯的生物供电 TTI 放电参数与酸奶品质参数之间是否存在相关性。

1 实验

1.1 材料与仪器

主要材料:马铃薯,购买于杭州市大型超市,每轮实验取一个作为样品原料,另一个备用;酸奶,购于杭州市大型超市,酸奶质量为 100 g,贮存温度为 2~6 °C,保质期为期限 7 d。

主要仪器:HH-4 数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;AB204-N 电子分析天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司;SW-CJ-1F 净化工作台,上海沪净医疗器械有限公司;HPX-9272 MBE 数显电热培养箱,上海博讯实业有限公司;MLS-3750 高压蒸汽灭菌锅,松下健康医疗器械株式会社。

1.2 微生物检测方法

乳酸菌数测定参照 GB 4789.35—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》的要求进行;霉菌的检测参照 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》的要求进行。

1.3 生物供电 TTI 的原理及制备方法

生物供电 TTI 的原理见图 1。

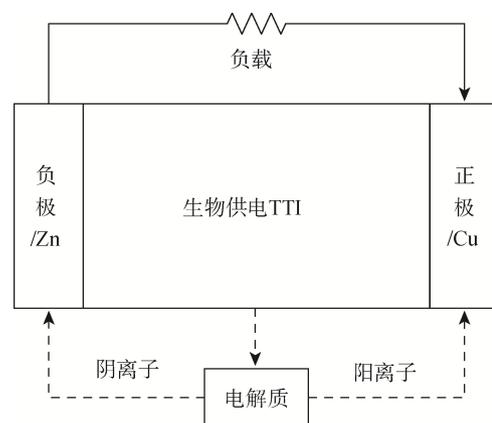


图 1 锌/铜马铃薯生物供电 TTI
Fig.1 Zn/Cu potato TTI based on bio-powered

根据生物供电 TTI 的原理,其制备步骤如下所述。

1) 将生物供电 TTI 容器、正负电极片、砂纸、保鲜膜等工具提前 2 h 放入净化工作台进行充分的紫外线杀菌。其中,正负电极片的表面需要用砂纸等工具打磨至光滑,防止金属氧化膜或杂质阻碍电化学反应。

2) 选取外表无明显裂痕且未发芽的新鲜马铃薯 2 颗(1 颗备用),将马铃薯清洗干净后,在水浴锅中以 100 °C 水浴加热 40 min。

3) 将马铃薯取出,在净化工作台上进行去皮、研磨,处理完的马铃薯用充分杀菌的保鲜膜包裹覆盖,防止马铃薯在空气中脱水氧化,影响 TTI 的放电参数。

4) 待马铃薯冷却至室温后,将马铃薯均匀地分装到 4 个生物供电 TTI 容器中(电解质与电极的有效接触面积为 3.5 cm×3 cm,板间距为 2 cm,电导池常数为 5.25 cm),采用电子分析天平称量容器装前后的质量,保证马铃薯样品的质量为(18±0.5)g。

5) 将已经充分杀菌的正负电极片分别插入生物供电 TTI 容器的两端,适当按压以确保电极片与马铃薯充分接触,最后盖上密封盖。

1.4 生物供电 TTI 放电参数的检测方法

生物供电 TTI 的实验原理见图 2。

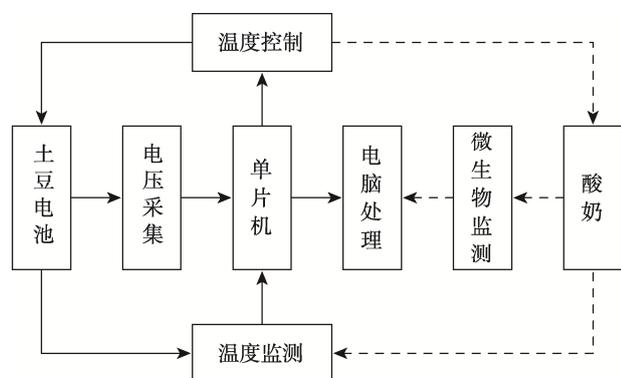


图 2 生物供电 TTI 实验原理
Fig.2 Test block diagram principle of TTI based on bio-powered

生物供电 TTI 的外部负载使用 4 个 250 Ω 的电阻,通过导线连接在正负电极上。监测平台利用 DS18B20 和 2 个 AD7705 模数转换器对贮存温度和 TTI 输出的实时电压值进行采集,采集间隔为 1.3 s,采集到的结果由串口传输至上位机进行保存和处理。为了得到 TTI 输出电压的累积量,将采集到的电压参数对时间求积分,可以得到 TTI 的放电量 C :

$$C = \int \frac{U}{R} dt = \sum_{i=1}^n \frac{U_i}{R} t \quad (1)$$

式中: C 为放电量 (mA·h); U 为 TTI 的瞬时电压 (mV); R 为外接的负载 (Ω); t 为采集间隔为数

据 (s); n 为共采集的次数。

将输出电压 U 和计算后得到的放电量 C 用作 TTI 的放电参数,乳酸菌数和霉菌数作为酸奶的品质参数,探究生物供电 TTI 放电参数与酸奶品质参数之间是否存在相关性。

1.5 实验方法

酸奶分为 4 组,每组各 5 袋,在每组的袋上分别用黑色记号笔注明 A_n, B_n, C_n, D_n (其中 $n=0, 1, 2, 3, 4$); 电池分为 4 组,每组各 1 个,在每组电池外壳上分别注明 A, B, C, D; 其中,对照组 A 始终置于 2~6 °C 下恒温箱保存。

1) 从做好记号的酸奶中取 $A_0—D_0$, 分别取样进行乳酸菌数和霉菌的检测(以下简称“分别检测”),得到的结果记为 DAY_0 , 酸奶 $B_n—D_n$ (其中 $n=1, 2, 3, 4$) 和电池 B—D 置于 37 °C 恒温存放 30 min, 30 min 后取出置于 2~6 °C 温度下保存。

2) 24 h 后从恒温箱取 $A_1—D_1$, 分别检测,得到的结果记为 DAY_1 , 酸奶 B_n, C_n (其中 $n=2, 3, 4$) 和电池 B, C 置于 37 °C 恒温存放 30 min, 30 min 后置于 2~6 °C 温度下保存。

3) 24 h 后从恒温箱取 $A_2—D_2$, 分别检测,得到的结果记为 DAY_2 , 酸奶 B_n (其中 $n=3, 4$) 和电池 B 置于 37 °C 恒温存放 30 min, 30 min 后置于 2~6 °C 温度下保存。

4) 24 h 后从恒温箱取 $A_3—D_3$, 分别检测,得到的结果记为 DAY_3 。

5) 24 h 后从恒温箱取 $A_4—D_4$, 分别检测,得到的结果记为 DAY_4 。

需要注意的是,经历了较高温度环境后的酸奶和电池不能直接放入 A 组酸奶和电池所贮存的恒温箱内,需要在另一恒温箱内预冷至 2~6 °C 后才能进行转移,以防止较高温度对 A 组酸奶造成温度波动。

2 结果与分析

2.1 不同时间温度经历下乳酸菌和霉菌的变化

由表 1 可以看出, A 组酸奶的乳酸菌减少速度最慢; B—D 组第 1 天的乳酸菌都有所升高,而 B—D 组后 3 d 的乳酸菌下降速度明显较 A 组更快。经历了更多次数温度突变的组,其乳酸菌数下降的速度更快。原因是高温环境会加速乳酸菌的繁殖,而菌体繁殖过程中会产酸,使酸奶的酸度逐渐升高,反而抑制其繁殖,从而导致活性乳酸菌数逐渐减少。

由表 2 可以看出, A 组、C 组和 D 组的酸奶没有检测出霉菌,经历了 3 次温度突变的 B 组在第 4 天检测出霉菌,虽仍满足 GB 19302—2010《食品安全国家标准 发酵乳》的要求,但仍需尽快食用。

表 1 乳酸菌数的变化
Tab.1 Changes in the number of lactic acid bacteria

时间/d	乳酸菌数($\times 10^9$)/(CFU·mL ⁻¹)			
	A 组	B 组	C 组	D 组
DAY ₀	0.75	0.75	0.75	0.75
DAY ₁	0.73	0.63	0.64	0.64
DAY ₂	0.70	0.45	0.46	0.58
DAY ₃	0.68	0.25	0.42	0.55
DAY ₄	0.65	0.21	0.39	0.52

表 2 霉菌数的变化
Tab.2 Changes in the number of mold

时间/d	霉菌数/(CFU·mL ⁻¹)			
	A 组	B 组	C 组	D 组
DAY ₀	0	0	0	0
DAY ₁	0	0	0	0
DAY ₂	0	0	0	0
DAY ₃	0	0	0	0
DAY ₄	0	10.42	0	0

2.2 不同时间温度经历下 TTI 电压参数与乳酸菌数的变化关系

由图 3 可知,A 组 TTI 输出电压下降的速度最慢,B—D 组每次经历温度突变时输出电压都会暂时增大。这是由于 TTI 中的电解质在温度突变环境下生物酶的活性增加,反应速率随温度的升高而增大,酶促反应所生成的 H⁺离子浓度也会越高,从而使得输出电压的幅值增加。

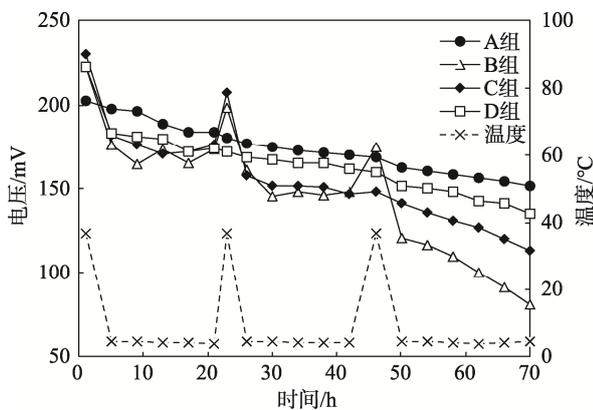


图 3 生物供电 TTI 电压输出变化
Fig.3 Change in the voltage output of TTI based on bio-powered

由图 4 可知,同为 A 组的酸奶和电池在恒定温度下,两者关系近似为一条直线;B—D 组的酸奶和电池每经历一次温度突变就会产生较大波动,当其重

新进入 2~6 °C 保存后,酸奶的品质变化与电池输出电压又会趋于平缓。

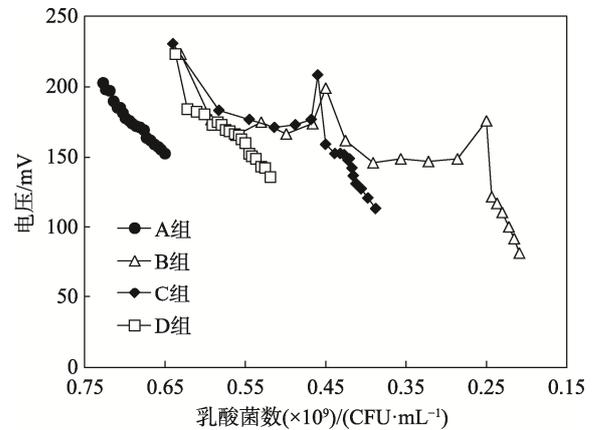


图 4 生物供电 TTI 电压输出与乳酸菌的变化关系
Fig.4 Relation, between voltage output of TTI based on bio-powered and lactic acid bacteria

由图 5 可知,不同时间温度经历下的电池输出电压随着时间的延长而降低,同时乳酸菌数也随着时间的延长而减少。当输出电压相同时,经历的突变温度次数越多,放电需要的时间就越短;当乳酸菌数相同时,经历的突变温度次数越多,需放置的时间就越短。

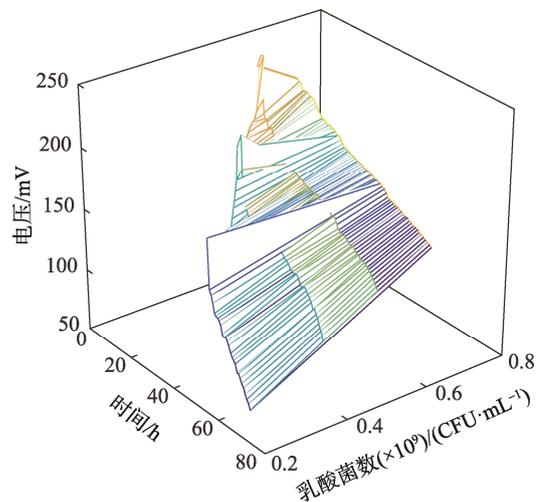


图 5 生物供电 TTI 电压输出-时间-乳酸菌变化关系
Fig.5 Relation, between voltage output of TTI based on bio-powered, time and lactic acid bacteria

2.3 不同时间温度经历下 TTI 放电量与乳酸菌数的变化关系

由式 (1) 进行计算后,得到生物供电 TTI 放电量与时间的关系见图 6。

从图 6 可知,不同时间温度经历下生物电池放电量的速率随着时间的延长而减少,不同时间温度经历下生物电池的最终放电量随着温度突变次数的增加

而减少, 经历的温度突变次数越多, 生物电池的最终放电电量越少。

由图7可知, 在相同时间下, 经历的温度突变次数越多, 关系曲线则越陡峭, 生物供电 TTI 放电速度越快, 放电的量越多, 酸奶的乳酸菌数变化速度越快, 酸奶的品质下降得越快。

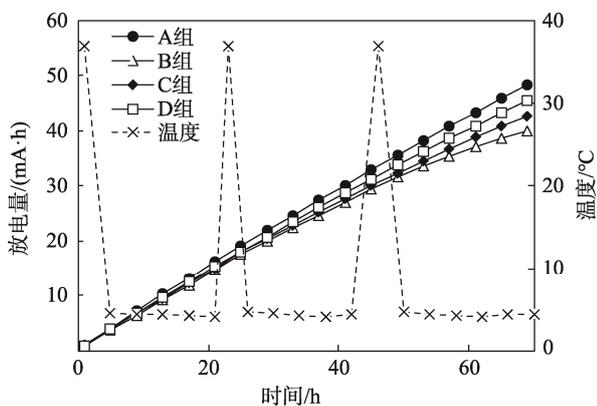


图6 生物供电 TTI 放电电量变化

Fig.6 Change in the discharge of TTI based on bio-powered

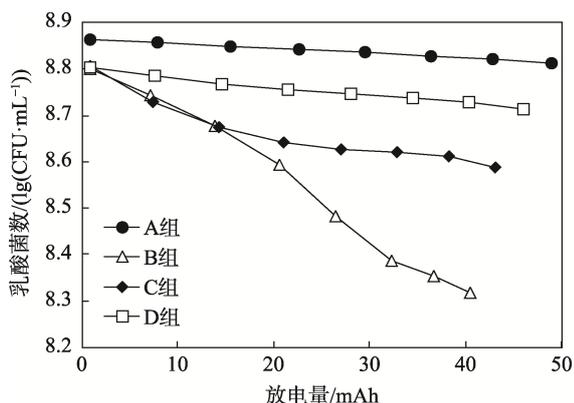


图7 生物供电 TTI 放电电量与乳酸菌变化关系

Fig.7 Relationship between the discharge of TTI based on bio-powered and lactic acid bacteria

可见在恒定的温度下, TTI 的放电电量与乳酸菌数的变化存在一定的线性关系。实验中施加的温度突变会直接影响 TTI 放电量和乳酸菌数的变化, 当实验中施加的温度突变较少时, 随着温度重新稳定后, TTI 放电电量与乳酸菌数仍呈一定的线性关系。当实验中施加的温度突变较多时, TTI 放电电量和乳酸菌数会加速耗尽和衰减, 难以维持正常的衰变速度。

3 结语

文中制作了一种基于锌/铜马铃薯生物电池的生物供电 TTI, 通过自制平台实时获取时间、温度和生物供电 TTI 的放电参数, 发现不同时间温度经历下 TTI 的输出电压幅值与放电累积量、乳酸菌数的变化存在一定关系, 可见生物供电 TTI 在酸奶的品质变化

的预测上具有一定的潜能。

由于生物电池的特性, 生物供电 TTI 本身可以产生电能, 因此还具备与物联网技术联系的潜力, 通过线上监测 TTI 的放电参数, 进而动态了解食品的品质变化。另外, 通过改变 TTI 的电导池常数、底物种类、预处理温度和时间都可以改变其放电参数, 可以用于匹配更多的食品。若要获得指示酸奶或其他食品品质进程的具体关系, 则还需要进一步的匹配实验。

参考文献:

- [1] 叶向库, 刘汉勋, 贺红军. 常温下市售酸奶乳酸菌数和 pH 值的变化研究[J]. 食品科技, 2005(11): 59—61. YE Xiang-ku, LIU Han-xun, HE Hong-jun. Research of Change of Lactic Acid Bacteria Number and pH Value of Yogurt in Normal Temperature on the Market[J]. Food Science and Technology, 2005(11): 59—61.
- [2] TAOUKIS P S, LABUZA T P. Applicability of Time-Temperature Indicators as Shelf Life Monitors of Food Products[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(4): 783—788.
- [3] 施彦之. 低温乳制品冷链管理中利用风险量模型公式对食品安全质量风险的评估、控制的探讨[J]. 轻工科技, 2019, 35(11): 16—17. SHI Yan-zhi. Discussion on the Evaluation and Control of Food Safety and Quality Risks by Using Risk Model Formula in the Cold Chain Management of Low Temperature Dairy Products[J]. Light Industry Science and Technology, 2019, 35(11): 16—17.
- [4] 谢勇, 张诗浩, 曾慧, 等. 时间温度指示器的研究与应用[J]. 包装学报, 2018, 10(6): 23—32. XIE Yong, ZHANG Shi-hao, ZENG Hui, et al. Research and Application of Time-Temperature Indicators[J]. Packaging Journal, 2018, 10(6): 23—32.
- [5] 张李璇, 余海龙, 许高垒, 等. 胶态金纳米型时间-温度指示器性能研究[J]. 包装工程, 2020, 41(19): 134—139. ZHANG Li-xuan, YU Hai-long, XU Gao-lei, et al. Colloidal Time-Temperature Indicators Based on Gold Nanoparticles[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(19): 134—139.
- [6] ALBRECHT A, IBALD R, RAAB V, et al. Implementation of Time Temperature Indicators to Improve Temperature Monitoring and Support Dynamic Shelf Life in Meat Supply Chains[J]. Journal of Packaging Technology and Research, 2019, 4(1): 23—32.
- [7] LIM S, GUNASEKARAN S, IMM J Y. Gelatin-Templated Gold Nanoparticles as Novel Time-Temperature Indicator[J]. Journal of Food science, 2012, 77(9): 45—49.
- [8] 王麟, 张岩, 李菲. 酶型时间-温度指示剂在食品包

- 装中的应用及研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 322—328.
- WANG Lin, ZHANG Yan, LI Fei. Application and Research Progress of Enzymatic Time Temperature Indicators in Food Packaging[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(13): 322—328.
- [9] 邱灵敏, 张嘉帅, 钱静, 等. 微生物型鲜牛奶时间温度指示器[J]. 包装工程, 2020, 41(9): 67—73.
- QIU Ling-min, ZHANG Jia-shuai, QIAN Jing, et al. Microbial Time-Temperature Indicator Applied in Fresh Milk[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(9): 67—73.
- [10] 徐凤娟, 葛蕾, 李振兴, 等. 固态酶型时间温度指示器的研发[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3507—3512.
- XU Feng-juan, GE Lei, LI Zhen-xing, et al. Development of a Novel Time-Temperature Indicator Based on Tyrosinase[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2017, 8(9): 3507—3512.
- [11] JAFRY A T, LIM H, SUNG W K, et al. Flexible Time-Temperature Indicator: a Versatile Platform for Laminated Paper-Based Analytical Devices[J]. Microfluidics and Nanofluidics, 2017, 21(3): 57.
- [12] WAN X L, KNOLL M. A New Type of TTI Based on an Electrochemical Pseudo Transistor[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 168: 79—83.
- [13] KIM M J, SHIN H W, LEE S J. A Novel Self-Powered Time-Temperature Integrator (TTI) Using Modified Biofuel Cell for Food Quality Monitoring[J]. Food Control, 2016, 70: 167—173.
- [14] MIJANUR R A T M, KIM D H, JANG H D, et al. Preliminary Study on Biosensor-Type Time-Temperature Integrator for Intelligent Food Packaging[J]. Sensors, 2018, 18(6): 1949.
- [15] GOLBERG A, RABINOWITCH H D, RUBINSKY B. Zn/Cu-Vegetative Batteries, Bioelectrical Characterizations, and Primary Cost Analyses[J]. Journal of Renewable and Sustainable Energy, 2010, 2(3): 3041—3045.
- [16] TALAI S M, SIAGI Z O, KIMUTAI S K, et al. Comparative Energy Generation of Irish-Potato, Tomato and Pineapple Zn/Cu Vegetative Batteries[J]. Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology, 2014, 8(1): 9—19.