

文章编号: 0254-5357(2008)03-0169-05

## 手持式消光光度计的研制及用于掺杂牛奶的现场快速检测

花榕<sup>1</sup>, 张兴磊<sup>1</sup>, 周跃明<sup>1</sup>, 胡燕<sup>1</sup>, 张燮<sup>1</sup>, 陈焕文<sup>1, 2\*</sup>

(1. 东华理工大学应用化学系, 江西 抚州 344000;

2. 吉林大学化学学院, 吉林 长春 130021)

**摘要:**自行设计新型消光池, 研制了一种廉价的手持式消光光度计, 并在此基础上建立了掺杂牛奶的现场检测方法。实验结果表明, 所建立的方法无需对牛奶进行复杂处理, 可对常见掺杂(如掺水、米汤、奶粉、豆浆、尿素等)牛奶和含重金属离子汞的牛奶, 进行现场检测。由于采用新型消光池, 有效地减小了蛋白质粒子因重力沉降所带来的误差, 能够成功区分同密度劣质牛奶。该方法灵敏度高, 对掺水牛奶的检出限低于2%, 对重金属(如汞)的检出限为0.005 μg/g。单个样品测定时间不到2 min, 适合于牛奶品质的现场快速检测。

**关键词:**牛奶; 掺杂; 手持式消光光度计; 散射; 现场快速检测

**中图分类号:** O657.32      **文献标识码:** A

## Development of a Portable Extinction Photometer and Its Application to *in situ* Rapid Detection of Adulterated Milk

HUA Rong<sup>1</sup>, ZHANG Xing-lei<sup>1</sup>, ZHOU Yue-ming<sup>1</sup>, HU Yan<sup>1</sup>,  
ZHANG Xie<sup>1</sup>, CHEN Huan-wen<sup>1, 2\*</sup>

(1. Department of Applied Chemistry, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China;

2. College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract:** Based on Mie theory of light scattering of spherical particles, a novel homemade extinction cuvette was used to construct a handheld extinction photometer for *in situ* detection of milk adulteration without any complicated pretreatment of the milk samples. Adulteration of cow milk with various substances such as water, soup, powdered milk, soy milk, carbamide, heavy metal salts, etc. were *in situ* detected with minimal sample pretreatment. Surprisingly, the inferior milk adulterated with powdered milk, soup and/or other materials that could not be distinguished by a density meter was successfully differentiated *in situ* by the method reported. The detection limits of the method for spiked water and heavy metal such as mercury were lower than 2% and 0.005 μg/g respectively. The average time for single sample detection was less than 2 minutes using the current method, providing a practically useful tool for *in situ* gradation of milk quality.

**Key words:** milk; adulteration; portable extinction photometer; scattering light; *in situ* rapid detection

在过去的100多年, 光谱技术有了长足的发展。在提高了光谱仪器分辨率、灵敏度、稳定性的同时, 光谱技术在分析方法和研究对象上都得到极大的拓宽<sup>[1]</sup>; 但是, 传统的光谱仪器不但是“大型

精密仪器”, 而且对工作时的温度、湿度、振动、电磁干扰等环境条件和操作规程有着严格的要求, 很难在现场分析中直接应用。随着光谱仪器小型化和检测方式现场化, 研发小型光谱仪器已成为各国

收稿日期: 2008-04-08; 修订日期: 2008-04-14

作者简介: 花榕(1980-)男, 江西抚州人, 在读硕士研究生, 主要从事光谱化学方面的研究。

通讯作者: 陈焕文(1973-)男, 江西兴国人, 教授, 美国普渡大学博士后, 主要从事分析化学研究。

E-mail: zhw8868@gmail.com。

科技、产业部门关注的重点<sup>[2-3]</sup>。吉林大学等研制了系列高灵敏度手持式光度计,仪器体积小、重量轻、能耗低,配合专用的特种试剂包,能够对大部分真溶液进行现场快速测定,在众多领域的现场快速检测中具有广泛的应用<sup>[4-9]</sup>。然而,迄今为止,对非均相复杂样品(如牛奶、蛋白质药物等)的现场快速分析仍然未见报道。

随着人们生活水平的提高,鲜牛奶、纯牛奶等奶制品消费量迅速增加。我国奶牛以散养为主,牛奶质量难以控制,导致由掺杂伪劣成分引起的牛奶品质问题十分突出<sup>[10]</sup>,不但危害了消费者身心健康,也使乳品加工企业造成巨大的经济损失。目前,牛奶掺杂的物质主要有水、豆浆、米汤、奶粉、尿素或者牛尿等<sup>[10]</sup>,而牛奶品质快速检测方法主要有密度计法<sup>[11]</sup>、电子鼻检测法<sup>[10]</sup>、传感器检测法<sup>[12]</sup>、激光散透比检测法<sup>[13]</sup>和超声波检测法<sup>[14]</sup>等。由于牛奶不是真溶液,而是典型的非均相复杂体系,掺杂的物质多种多样,难以用单一手段或普通的手持式光度计对牛奶品质进行廉价、快速、准确的现场检测。实际上,消费者往往不关心掺杂的具体化学组分,只要能够将正常牛奶与掺杂某一成分的劣质牛奶区分出来,则可以基本满足现场牛奶品质快速鉴定的需要。作者在前期工作的基础上<sup>[4-9]</sup>,以光散射理论为依据,自行开发了新型手持式消光光度计,建立了用于牛奶等非均相体系现场检测的消光光度分析方法,对多种不同掺杂牛奶的现场检测均获得了满意结果。

## 1 消光光度法的原理简介

光通过媒质时,使光强减弱的因素主要有两个:一是光的吸收;二是光的散射。前者是入射光能转化为媒质的热能等其他形式的能量,后者则改变光能量的空间分布。虽然这两种因素的本质不同,但都使透射光强减弱,称为物质的消光性。

当入射光为一束平行单色光,媒质为任何均匀、非散射的介质(如真溶液),透射光强度的减弱只与媒质对光的吸收有关。这种吸收若以吸光度( $A$ )来表示,即符合 Bouguer - Beer(朗伯 - 比尔)定律,但是,若媒质为非均匀媒质(如牛奶),由于牛奶中脂肪和蛋白质等颗粒与周围的介质之间存在着不均匀结构,故当光通过它时,必然出现光散射现象。当测量光进入样品内部后,与样品发生复杂的相互作用,经过多次反射、折射、吸收和散射后,将有一部分光返回样品表面(如图 1a),而另一部分光会透射过溶液体系(如图 1b),因此漫反射光和漫透射光都是与样品内部分子发生作用后的光,负载了样品的结构和组成的信息。

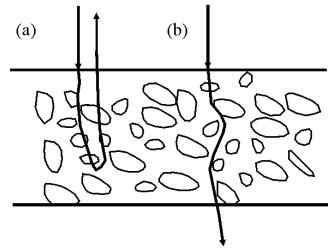


图1 光与物质相互作用示意图

Fig.1 Schematic diagram of the interaction of light and particles

当一束强度为  $I_0$  的单色平行光通过一含有均匀悬浮颗粒的介质时,由于颗粒对入射光的散射及吸收作用,出射光强会得到一定程度的衰减,出射光强度( $I$ )与入射光强度( $I_0$ )的关系为:

$$I = I_0 [1 - \exp(-\tau L)] \quad T = \frac{I}{I_0} \quad (1)$$

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{1}{1 - \exp(-\tau L)} \quad (2)$$

式(1)称为 Bouguer 定律<sup>[15-16]</sup>。式中, $\tau$  为浊度; $L$  为光程。对于真溶液体系,光强度的减弱仅仅由于吸收引起,则式(2)可以简化为 Beer 定律。

在牛奶稀溶液中,体系不存在明显吸收(详见后文讨论),光强度的减弱主要由于体系的散射作用引起。米氏(G Mie)理论指出,对于平面单色波通过一个均匀媒质中具有任意直径及任意成分均匀微粒体系,散射光强取决于微粒的直径和相对折射率,微粒的分散程度,入射光的光强、波长和偏振度以及散射角。因此,当粒子的相对折射率、分布情况,入射光的光强、波长、偏振度以及散射角均一致时,散射光的强度与粒子的直径和形状相关,而且单位体积的总散射光强度就等于单个微粒散射的光强与散射粒子总数的乘积<sup>[15]</sup>。当不同品质的牛奶稀释相同倍数(如400倍)时,虽然牛奶中粒子的浓度变化可能很小,其效应难以用普通光度法检测,但是粒子的尺寸和形状的变化将引起散射作用发生可测量的变化。

在掺杂了其他成分的牛奶体系中,粒子的尺寸和形状与真品牛奶的体系中不完全一样。因此,虽然这些体系的吸收光谱基本一致,但是它们的散射能力可能不同,导致光强度减弱的程度不一致。正常牛奶的蛋白质含量高,采用 LED 作光源时,透射光强度太小。为了提高测量的可靠性,需要将样品稀释,以增加透射光的强度。为了保证样品检测结果的准确性,每次采用与配制标准曲线一致的稀释倍率。只要每次取样体积一致,就可以控制样品被稀释同样的倍数。为此,将给仪器配备专一的取样器,以保证在快速取样时取样体积的一致性。

## 2 手持式消光光度计的研制

本文设计的手持式消光光度计由光源、消光池、光电管、信号微处理控制器及显示系统构成(见图2),无可动部件,整机结构紧凑,自动化程度高,能够直接在液晶屏上显示被测样品的信息,采用高强度轻质材料封装后,外形尺寸为 $12\text{ cm} \times 8\text{ cm} \times 25\text{ cm}$ ,整机质量不超过 $300\text{ g}$ 。

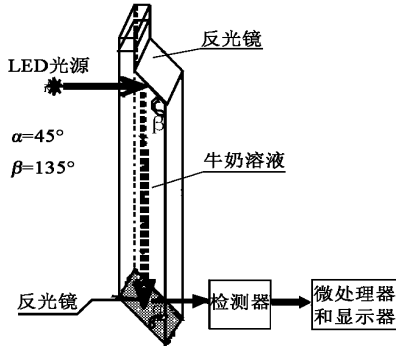


图2 手持式消光光度计原理示意图

Fig.2 Schematic diagram of portable extinction photometer

仪器各个部件简要介绍如下。

(1) 光源:常规光源难于在手持式消光光度计上使用。为了达到现场快速测定的要求,采用高强度窄带发光二极管(LED)作为光源。该光源性能稳定,使用寿命长达 $10^5\text{ h}$ ,但不同的LED所发射出的光的波长各不相同,在安装前应通过检测其发射光谱进行严格筛选。为了进一步降低整个仪器的能耗,采用脉冲方式来驱动LED发光。

(2) 特种吸收池:与普通的手持式光度计不同,单色光不再是水平照射样品,而是通过消光池上镜面(镀银)反射后垂直向下照射在整个牛奶体系,经过一系列散射、吸收后到达下镜面,再通过下镜面反射到达光电检测器给出响应信号。采用这样的设计,不但在相对较小的体积内有效地增加了光程,而且减小了牛奶体系自身不均匀性、受重力场作用而分层等对测量的影响,可提高测量精度。

(3) 检测器:作为光谱仪的检测器,其功能是将光信号转换成电信号,一般要求其灵敏度高,响应速度快,暗电流小,响应范围宽。为进行模数转换,大多数仪器如意大利HANNA公司生产的比色计中均采用了A/D转换卡。参考吉林大学的方法<sup>[4]</sup>,采用了一种特殊的TS-5传感器,能够将光信号直接转换为频率数字信号输出,不需要光电转换卡,进一步降低了仪器成本,减小了体积,提高了仪器的信噪比,保证了仪器的精密度和可靠性。

(4) 显示器:检测器输出的信号经过放大器放

大后进入读数系统,读出的结果直接显示在仪器的显示器上。本仪器采用的是液晶显示屏,能够将分析结果清晰地显示在屏幕上。

(5) 电源:同其他的手持式光度计一样,仪器除高强度发光二极管外,采用的元器件都是能耗非常低的器件。为降低LED的能耗,采用脉冲方式供电,只有在进行测量的瞬间,LED才被点亮。由于脉冲时间只有 $0.1\text{ s}$ ,大大降低了LED的能耗。另外,仪器还具有自动断电功能,即在待机 $10\text{ min}$ 后仪器自行切断电源。因此,采用 $9\text{ V}$ 电池供电,连续工作的时间可达 $50\text{ h}$ 。

## 3 实验部分

### 3.1 仪器

手持式消光光度计(实验室自行研制)。

TU 1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

### 3.2 样品和主要试剂

鲜牛奶(市内某奶站提供);纯豆浆(自制);米汤(自制);雀巢牌全脂奶粉;尿素(分析纯,中国联试化工试剂有限公司);牛尿(某农场现取)。

汞标准溶液 $0.1\text{ g/L}$ 。实验用水均为去离子水。

### 3.3 实验方法

掺杂牛奶的配制:称取定量新鲜奶样,按照预定质量分数分别往鲜牛奶中加入水、米汤、豆浆、同密度奶粉奶、尿素、牛尿、汞标准溶液等,搅拌均匀。从感官指标上无法将掺杂牛奶与真品牛奶进行区分。

牛奶样品的检测:用微量进样器分别准确移取 $0.125\text{ mL}$ 纯牛奶和掺杂牛奶于 $50\text{ mL}$ 容量瓶中,用去离子水定容至刻度,摇匀,以纯牛奶稀释液作空白,分别采用消光光度计和TU 1810紫外可见分光光度计( $1\text{ cm}$ 比色皿)测量吸光度之差值。

消光光度计的使用:将去离子水沿池壁注入消光池中,避免加入过程中产生气泡。放入样品盒中,盖上样品盒盖,按ON键,接通仪器电源,按ZERO键,液晶屏上显示 $0.000$ 时,空白调零已完成。取出消光池,倒干去离子水,向消光池中注入待测样品,放入样品盒中,盖上样品盒盖,按READ键,液晶屏上出现的数值即为被测样品的透射率。按OFF键,关闭仪器,测量结束。

## 4 结果与讨论

### 4.1 检测波长的选择

将纯牛奶稀释后,用 $1\text{ cm}$ 比色皿在TU 1810紫外可见分光光度计上进行波长扫描后,发现牛奶在波长 $500\sim 700\text{ nm}$ 处有恒定的消光作用,但是没有明显的吸收峰。由于在波长 $660\text{ nm}$ 处LED具

有发光强度大而且稳定、器件廉价易得等优点,故本文选择 660 nm 作检测波长。

#### 4.2 稀释倍数的选择

用去离子水将鲜牛奶稀释成不同浓度后,采用消光光度计和 TU 1810 光度计分别进行测量,以牛奶浓度为横坐标,对应测得的吸光度为纵坐标,绘制得到两条工作曲线(如图 3 所示)。

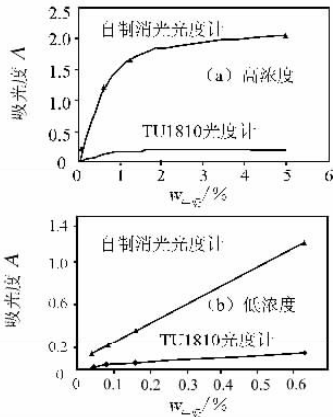


图3 牛奶浓度与吸光度曲线

Fig. 3 The curve of concentration of milk and absorbance

通过对比发现,两条曲线趋势基本一致,但自制消光光度计上得到的响应信号是 TU 1810 得到的信号的 10 倍以上,说明自制消光光度计比普通光度计更灵敏。经过实验发现,高浓度的牛奶所绘制的曲线不具有线性(如图 3a 所示),这可能是光源强度不够的原因。如果继续增加其光强度,则线性范围将得到拓宽<sup>[9]</sup>。随着牛奶浓度的降低线性逐渐变好,当牛奶浓度低于 1.25%(稀释 80 倍)后,消光光度计读数所绘制曲线的相关系数  $r^2 = 0.966$ ,TU 1810 光度计读数所绘制曲线的相关系数  $r^2 = 0.915$ 。对于分光光度法,只有使待测溶液的透射率  $T$  在 15%~65%(即吸光度在 0.2~0.8),才能保证测量的相对误差较小。如图 3b 所示,只有牛奶的浓度在 0.1%~0.4% 时,消光光度计上透射率的读数才是在这个范围内。本文对掺杂牛奶的检测实验均将样品稀释 400 倍(牛奶浓度为 0.25%)此时相关系数  $r^2 = 0.994$ 。

#### 4.3 对掺假牛奶的检测

##### 4.3.1 对掺杂水牛奶的检测

在牛奶中掺水是商家最常见、最廉价的掺假手段。一般情况下,劣质牛奶的掺水量高于 5%,否则达不到其获得非法利润的目的。牛奶中掺杂水后并没有引起牛奶中主要成分的种类变化,而不同的是单位体积内的粒子数目降低了,因此导致发生

散射作用的能力下降。实验发现,在掺水牛奶中,消光光度计能对牛奶中的含水量作出清晰的反映(见图 4),而 TU 1810 光度计的区分度比较小。将牛奶浓度与对应测得的光度变化值( $A/E$ )作图,发现采用消光光度计所得的关系曲线线性关系更好( $r^2 = 0.994$ )。实验表明,只要每次检测均采用与配制标准曲线时一致的倍率,将所获得结果与标准曲线比较,就能够准确地得到被测样品中掺水量,从而实现掺杂牛奶的定量检测。对数据分析后,发现消光光度计对掺水的检测限达到 2% 以下(方法精密性  $RSD = 0.44\%$   $n = 6$ )。

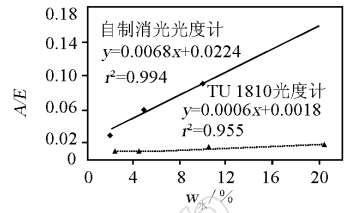


图4 牛奶掺水量与  $A/E$  关系曲线

Fig. 4 The curve of water content adulterated in milk with  $A/E$

##### 4.3.2 对掺杂尿素、牛尿牛奶的检测

检测牛奶中蛋白质含量的经典方法是凯氏定氮法,通过检测含氮量来确定牛奶中蛋白质含量的高低,该方法的局限在于不能判断出牛奶中是否加入尿素。在消光光度计中,仪器的读数与添加尿素的含量具有明显的相关性(见表 1),因而能够正确区分真品牛奶与掺杂牛奶;从掺杂程度来看,该仪器还能够正确地地区分不同程度的掺杂样品。这可能是由于尿素的加入会使牛奶中的蛋白质构象发生变化,导致发生散射作用的蛋白质分子半径变大。根据 Mie 理论,在散射粒子的相对折射率、散射粒子单位体积的个数、入射光的光强、波长和偏振度以及散射角均一致的情况下,散射粒子半径增大,体系的消光程度增强,透射光强度减弱,与实际检测数据相符。

##### 4.3.3 对掺杂豆浆、米汤和奶粉牛奶的检测

对牛奶品质现场测定的国家标准方法是密度计法<sup>[11]</sup>。牛奶的密度为 1.0280~1.0320 kg/L,而对于与真品牛奶密度一致的掺假奶,密度计法则无法检测。实验中,将配好的掺杂牛奶分别用普通分光光度计和自制的消光光度计进行检测,普通的光度计无法对此类掺假牛奶进行区分,而自制的消光光度计能够对此系列掺假产品进行灵敏的检测(见表 1)。这可能是由于掺杂牛奶中粒子的形状、尺寸甚至数量等均与真品牛奶体系不同,导致二者的散射能力不同,因而消光光度法对此类掺假有较

强的响应信号,能够清晰地反映出各种掺假样品中的掺假程度。实验表明,本方法对此类掺杂牛奶的检测限在5%以下,是对密度计检测这一国家标准方法的有效补充。

表1 掺杂尿素、牛尿、米汤、豆浆和奶粉牛奶的检测结果  
Table 1 Detection results of cow milk adulterated with bovine urine, carbamide, rice soup, soybean milk and powdered milk

μ(检测液中掺杂物浓度)/%	A/E									
	掺尿素		掺牛尿		掺米汤		掺豆浆		掺奶粉	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.013	-0.041	-0.004	-0.037	-0.004	-0.038	-0.003	-0.030	-0.003	-0.024	-0.002
0.025	-0.078	-0.008	-0.065	-0.007	-0.068	-0.005	-0.058	-0.005	-0.048	-0.003
0.05	-0.132	-0.011	-0.134	-0.011	-0.113	-0.010	-0.081	-0.007	-0.099	-0.007

#### 4.4 对含重金属离子牛奶的检测

重金属的检测是食品检测中的一个重要项目。重金属含量过高将直接危害人体健康。根据国标《生鲜牛乳收购标准》<sup>[11]</sup>,牛奶中重金属(汞)含量 $\leq 0.01 \mu\text{g/g}$ 。用消光光度计对加入不同含量汞的牛奶进行了分别测定,结果见表2。重金属的加入能够使牛奶中的氨基酸、蛋白质的功能和构像发生变化,以至于牛奶体系中发生散射的蛋白质分子形状、直径以及相对折射率都发生了变化,而此变异则能够反映在体系的消光度中,从而被消光光度计灵敏地检测。实验发现,自制消光光度计对加入不同重金属离子的牛奶均能够很快地正确区分,但是对于痕量重金属离子种类的鉴定,还需要使用其他分析手段(如吸收光度法<sup>[6-9]</sup>)才能够完成。

表2 加入不同含量重金属汞的牛奶的检测<sup>①</sup>

Table 2 Detection results of milk spiked with different amount of heavy metal mercury

μ(Hg)/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	手持式消光光度计		TU 1810 分光光度计	
	A/E	RSD/%	A/E	RSD/%
0.005	-0.016	0.46	-0.009	0.33
0.01	-0.035	0.41	-0.012	0.32
0.02	-0.059	0.38	-0.017	0.30

① 测定次数  $n=6$ 。

## 5 结语

以散射理论为依据,在自行设计新型消光池的基础上开发了一种手持式消光光度计,建立了掺杂牛奶的消光光度现场快速检测方法。该仪器具有结构简单小巧、能耗低、灵敏度好、操作方便等优点,

方法对掺杂水牛奶的检出限低于2%;对重金属(如汞)的检出限为 $0.005 \mu\text{g/g}$ ,单个样品测定时间不到2 min。使用该仪器能快速检测含有不同掺杂物(如水、豆浆、米汤、尿素、牛尿、奶粉等)的牛奶,可准确判别牛奶中重金属(汞)是否超标,可正确区分采用奶粉、米汤等材料配制的密度与正常牛奶一致的劣质牛奶。相比于其他检测方法,本法具有检测手段简单、检测时间短、检出限低和受外界环境影响小等优势,适合于牛奶品质的现场快速检测。

## 6 参考文献

- [1] 张存洲,朱箭,李加,等.现场光谱技术[J].现代科学仪器,1998(4):13-15.
- [2] 万峰,孙宏伟,范世福.便携式紫外-可见分光光度计的设计[J].光谱学与光谱分析,2006,26(4):779-783.
- [3] 鞠挥,吴一辉.微型光谱仪的发展[J].微纳电子技术,2003(1):30-37.
- [4] 金钦汉,陈焕文,曹彦波,等.高灵敏小型光度计[P].中国 ZL99254233.2.
- [5] 陈焕文,曹彦波,韩松柏,等.一种高灵敏度小型光度计[J].分析仪器,2000(3):17-21.
- [6] 陈焕文,曹彦波,韩松柏,等.用手持式测碘仪现场测定食盐中的碘[J].分析化学,2001,29(7):855-858.
- [7] 陈焕文,金钦汉,杨立泉,等.采用手持式光度计的 $\Delta I$ 测量模式快速测定尿样中白蛋白[J].高等学校化学学报,2001,22(6):928-930.
- [8] 陈焕文,郑健,李明,等.甲醛检测方法及其仪器[J].分析化学,2004,32(7):969-972.
- [9] 杨蕊,陈焕文,张寒琦,等.溶解氧的快速现场测定[J].高等学校化学学报,2002,23(8):1501-1503.
- [10] 徐亚丹,王俊,赵国军.基于电子鼻的对掺假的“伊利”牛奶的检测[J].中国食品学报,2006,6(5):111-118.
- [11] GB/T 6914-86,生鲜牛乳收购标准[S].
- [12] 孙光伟,蒋志坚,牟英峰,等.高精度阻尼式波美度在线检测装置的研制[J].仪器仪表学报,2002,23(4):380-381.
- [13] 周真,吴娟,李中刚,等.基于激光散透比的牛奶成分检测的研究[J].仪器仪表学报,2006,27(增刊6):1185-1186.
- [14] 孙选,徐可欣,艾长胜,等.牛乳主要成分浓度超声快速检测技术[J].食品科学,2006,27(3):191-193.
- [15] Uwe Kreibitz, Michael Vollmer. Optical properties of metal clusters series[M]. Berlin Heidelberg:Springer Press,1995:28-29.
- [16] Michael I Mishchenko, Larry D Travis, Andrew A Lacis. Scattering, absorption and emission of light by small particles[M]. New York:Cambridge University Press,2002:115-158.