

## 花色苷用作鱼肉鲜度指示标签

李琛, 康怡帆

(东北林业大学, 哈尔滨 150040)

**摘要:** **目的** 采取花色苷做鲜度指示剂, 研究一种可用于生活中的天然指示剂标签。**方法** 通过提取紫甘薯、凤仙花瓣、杜鹃花瓣的色素, 制作成标签。研究温度、pH 值和鱼肉变质对指示标签的影响。**结果** 温度对标签颜色没有影响。紫甘薯标签和凤仙标签在 pH 值达到 12.35 时分别变为灰色和灰绿色。检测鱼肉鲜度时紫甘薯和凤仙指示标签产生明显的颜色变化, 杜鹃标签变化不明显。以凤仙指示标签为例进行结构分析, 主要由于花色苷主体上的官能团在碱性条件下发生亲核或亲电重排反应, 形成类黄酮等物质, 使之颜色变化。**结论** 花色苷可以用作鱼肉鲜度指示标签, 效果较好。

**关键词:** 鲜度指示剂; 鱼肉腐败; 色素标签

中图分类号: TB484 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2017)01-0092-05

## Anthocyanin as Fish Freshness Indicator

LI Chen, KANG Yi-fan

(Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**ABSTRACT:** The work aims to study one natural indication label used for daily life with anthocyanins as the freshness indicator. The indication label was made by different pigments extracted from purple sweet potato, impatiens petals and azalea petals. The effect of temperature, pH value and fish spoilage on the indication label was studied. It was found that the temperature had no effect on the label color. Purple sweet potato indication label was graying when the pH was 12.35, and impatiens indication label turned to greyish green. The colors of purple sweet potato label and impatiens label were changed obviously, and the color of azalea label was changed inconspicuously in the process of checking fish freshness. Taking impatiens indication label as an example for structural analysis, the color of functional groups on the main body of anthocyanin changed because of the products --- flavonoids and other substances resulting from nucleophilic or electrophilic rearrangement reaction under alkaline conditions. Anthocyanin can be used as freshness indicator of fish with good effects.

**KEY WORDS:** freshness indicator; fish spoilage; pigment label

近年来人们对食品质量和食品安全的关注度越来越高, 这使得活性智能包装进入了大家的视线。智能包装是通过监视包装食品的环境条件, 获得食品在运输和贮藏期间其品质和安全性信息的包装技术<sup>[1-3]</sup>。现在市场上智能包装标签占到活性智能包装材料的 10%, 而活性智能包装材料占到市场总份额的 90%。在以后, 智能型包装将占到食品包装总数量的 20%~40%<sup>[4]</sup>。在食品智能包装的领域里, 有一个非

常重要的方向——鲜度指示剂, 它主要是通过敏感材料与食品代谢产物反应所显现的可观性颜色变化达到指示效果。这种直观的方式也得到了许多研究者争先试之。近年来, 我国天然食用色素的产量是合成色素的 21 倍, 全球天然色素销售额约占食用着色剂的 60%, 且市场需求增长率一直保持在 10%以上。天然色素最大的优点是色调柔和、自然, 且具有一定的营养价值和药理作用<sup>[5-6]</sup>。天然色素中最为常见之一就

收稿日期: 2016-07-15

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金 (2572014CB09); 哈尔滨市应用技术与开发项目(2015RQXJ037); 东北林业大学 2016 年度专业建设项目

作者简介: 李琛 (1979—), 女, 博士, 东北林业大学副教授, 主要研究方向为包装工艺与技术。

是从大多数植物花瓣中提取花色苷。

研究的目的是为了通过提取花色苷并制作指示标签,以色空间法(Lab)定义标签颜色,并通过检测颜色在试验变量影响下的前后对比,研究温度、酸碱度对标签的影响。以鱼肉挥发性氮含量作为鱼肉鲜度指标,判断鱼肉变质过程中指示标签的颜色变化,并且加以分析。

## 1 实验

### 1.1 材料

紫甘薯、新鲜多宝鱼,于超市购买;红色凤仙花、杜鹃花,于哈尔滨花卉市场购买。主要用到的试验仪器包括:RE52CS-2 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SP62-162 型积分球式分光光度仪(X-rite),PHS-3E 型 pH 计(仪电科学仪器),K9840 型自动凯氏定氮仪(海能仪器),TGL-20B 型离心机(上海安亭科学仪器厂),另外还需 40 目不锈钢筛、纱布、滤纸、pH 试纸、研钵等。

### 1.2 Lab 色空间法

采用 Lab 色空间法指示标签的颜色特征,用数字化的方法来描述视觉感应。其中  $L$  分量用于表示像素的亮度,取值范围是[0,100],表示从纯黑到纯白; $a$  表示从红色到绿色,取值范围是[127,-128]; $b$  表示从黄色到蓝色,取值范围是[127,-128]。经由电脑软件可在计算机上直观的对比颜色变化<sup>[7]</sup>。

### 1.3 挥发性盐基氮含量检测

根据 SC/T 3032—2007 测得表征鱼新鲜度的挥发性盐基氮(TVB-N)含量。根据淡水鱼卫生标准技术要求及检验方法,挥发性盐基氮指标超过 20 mg/100 g 即为鱼肉变质<sup>[8]</sup>。分别记录每次测量的盐酸消耗量和滴定量,根据公式计算出挥发性盐基氮的含量。

$$X = \frac{V_1 \times (V_2 - V_3) \times c \times 14}{m \times 5 / 100}$$

式中: $X$  为样品中挥发性盐基氮的含量(mg/100 g); $V_1$  为样品的定容总体积(mL); $V_2$  为测定用样液消耗盐酸标准溶液的体积(mL); $V_3$  为空白消耗标准盐酸溶液的体积(mL); $c$  为盐酸标准溶液的实际浓度(mol/L); $m$  为样品质量(g)。

### 1.4 过程

#### 1.4.1 色素的粗提取

将 10 g 经过干燥粉碎的紫甘薯粉末和 300 mL 体积分数为 80% 的酸化乙醇( $\rho_{\text{乙醇}} : \rho_{\text{盐酸}} = 85 : 15$ )放入烧杯中,在 60 °C 的温度下水浴浸提 2 h,浸提好的混合液经过滤纸抽滤后,经过旋转蒸发得到紫甘薯色素的浓缩液<sup>[9]</sup>。将 10 g 经过洗净切碎的凤仙花瓣,200

mL 的 75%乙醇放入烧杯中,在 80 °C 的温度下水浴浸提 2 h,浸提好的混合液经过纱布过滤,将过滤后的澄清液体旋转蒸发,得到凤仙花瓣色素的浓缩液。将 50 g 经过洗净切碎的杜鹃花瓣和 500 mL 的 1%柠檬酸液放入烧杯中,在 50 °C 的温度下水浴浸提 3 h,浸提好的混合液经过纱布过滤,将过滤后的澄清液体旋转蒸发,得到杜鹃花瓣色素的浓缩液<sup>[10]</sup>。

将滤纸条(长 5 cm,宽 2 cm)浸入到制备好的色素浓缩液中 60 s,自然干燥后得到若干组色素标签,并测量每个标签的 Lab 值。

#### 1.4.2 检测不同温度下指示标签变色情况

将制备好的标签分成 4 组,每组 5 片分别装在聚乙烯塑料袋内,放置在不同温度环境中模拟不同的包装环境。第 1 组放置在室温状态(温度为 20 °C),第 2 组放置在恒温恒湿箱内(温度为 40 °C),第 3 组放置在冰箱冷藏室内(温度为 7 °C),第 4 组放置在冰箱冷冻室内(温度为 -15 °C)。每隔 1 d 用积分球式分光光度仪检测每组标签的 Lab 值。

#### 1.4.3 检测不同 pH 值下指示标签变色情况

用盐酸、NaOH 溶液和蒸馏水分别配制不同 pH 的溶液,pH 值分别为 2.07, 4.55, 5.92, 7, 8.12, 10.15, 12.35。将不同 pH 值的溶液分别滴到已制备的指示标签上,观察颜色变化,并在标签干燥后检测标签的 Lab 值。

#### 1.4.4 指示标签检测鱼肉鲜度

模拟指示标签包装环境见图 1。将新鲜的多宝鱼放入大烧杯中,将双层保鲜薄膜覆于烧杯口上,底层薄膜表面穿孔,将指示标签夹在底层薄膜与顶层薄膜之间,并在薄膜中心穿孔。中心孔可使鱼肉在通风环境下变质。指示标签夹在两层薄膜中间可以避免标签直接与鱼体或者其周边溶液接触而发生反应,另外,底层薄膜的小孔可以使标签与鱼肉变质时产生的气体相接触,进而发生变色反应。将烧杯放置在室温通风的环境中,每隔一段时间取部分鱼肉检测挥发性盐基氮含量并记录指示标签的 Lab 颜色值,观察标签颜色变化与鱼肉变质之间的规律。

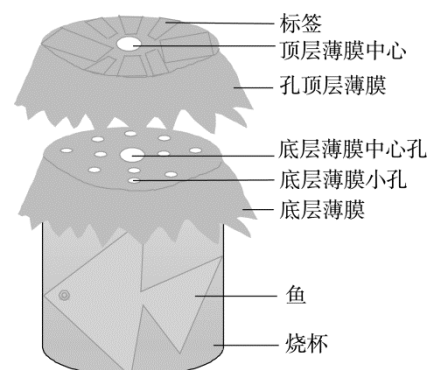


图 1 鱼肉储存环境

Fig.1 Fish storage environment

## 2 结果与讨论

### 2.1 温度对指示标签的影响

通过每天对标签颜色 *Lab* 值的检测,得到若干组数据。分析可知,在 20, 40, 7, -15 °C 4 种不同温度下随着时间的变化颜色值都没有明显的变化,说明温度对指示标签的指示作用并没有影响。

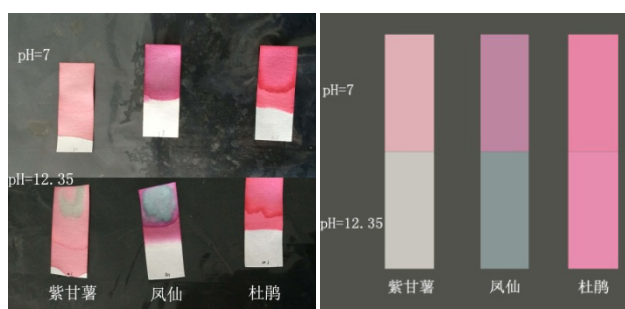
### 2.2 pH 值对指示标签的影响

pH 值对紫甘薯、凤仙、杜鹃指示标签颜色变化的影响见表 1, 标签在酸性、中性和弱碱环境下没有明显变色,但在 pH 值为 12.35 时紫甘薯和凤仙指示标签的 *a* 值会明显变小,使得标签明显变灰变绿,颜色对比照片,见图 2。

表 1 pH 值对标签颜色影响

Tab.1 The effect of pH on the color of the purple sweet potato label

标签	pH值	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值
紫甘薯	2.07	76.02	19.75	4.84
	4.55	77.26	16.53	5.18
	5.92	76.38	18.48	4.46
	7	76.11	18.91	4.48
	8.12	80.99	17.24	2.46
	10.15	76.64	18.47	4.64
凤仙	12.35	79.64	-0.3	4.47
	2.07	61.36	35.87	-0.4
	4.55	59.56	30.05	-4.41
	5.92	61.04	29.42	-4.42
	7	61.54	25.76	-6.37
	8.12	62.95	27.3	-5.08
杜鹃	10.15	60.31	28.49	-5.17
	12.35	60.65	-5.04	-2
	2.07	69.96	39.34	-1.16
	4.55	68.99	40.37	0.1
	5.92	69.01	40.3	0.09
	7	67.19	41.76	0.34
杜鹃	8.12	69.3	39.97	-0.16
	10.15	69.11	40.44	0.13
	12.35	69.29	39.08	-2.33



a 实物颜色对比

b 软件制作颜色对比

图 2 pH 值在 7 和 12.35 下指示便签变色现象

Fig.2 Discoloration of indicating labels at pH value of 7 and 12.35

### 2.3 鱼肉鲜度对紫甘薯指示标签的影响

鱼肉的水分含量高,肌纤维短,肌肉组织脆弱,对细菌的生长繁殖十分有利。鱼离开水后,周边温度变高,会使得鱼体内酶的活力变强。鱼肉本身的糖元含量很少,很短的时间内就进入自溶状态,此时的肌肉组织 pH 值在 7 以上<sup>[11]</sup>。

紫甘薯标签由于在酸性条件下提取,其色素主要以吡喃型阳离子结构存在,而吡喃型阳离子结构呈现红色<sup>[12]</sup>。紫甘薯指示标签在挥发性盐基氮含量小于 19.71 mg/100 g 时颜色变化不明显,随着鱼肉新鲜度的降低,挥发性盐基氮含量增加,标签产生灰角,再向上蔓延,直至最后标签上的红色褪去,标签进而变成灰黄色。根据颜色检测,紫甘薯标签颜色值见表 2,在鱼肉挥发性盐基氮含量达到 19.71 mg/100 g 时 *L* 值上升, *a* 值下降, *b* 值稍微增大。

表 2 挥发性盐基氮含量对紫甘薯标签颜色影响 0

Tab.2 The effect of TVB-N on the color of the purple sweet potato label

挥发性盐基氮含量/(mg·(100g) <sup>-1</sup> )	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值
8.4	73.99	23.49	3.48
8.96	74.68	22.6	5.4
13.10	74.12	22.78	5.98
19.71	88.03	4.49	10.74
21.28	87.43	5.54	12.16

### 2.4 鱼肉鲜度对凤仙指示标签的影响

凤仙指示标签初始为玫红色,随着鱼肉新鲜度下降,挥发性盐基氮含量增加,标签局部出现淡紫偏灰的色斑,这些色斑渐渐蔓延到整个标签使标签变为紫灰色,最后由于灰角的产生标签的颜色褪去。在鱼肉缓慢变质过程中,根据颜色检测,凤仙标签颜色值见表 3, *L* 值先增大再降低, *a* 值呈波动状态, *b* 值基本不变。凤仙指示标签在鱼肉通风放置过程中颜色会先由深玫红变为浅玫红色,从浅玫红色过渡到浅紫灰色,再慢慢褪色。

表 3 挥发性盐基氮含量对凤仙指示标签颜色影响

Tab.3 The effect of TVB-N on the color of the impatiens label

挥发性盐基氮含量/(mg·(100 g) <sup>-1</sup> )	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值
8.4	57.12	28.37	-6.24
8.96	65.28	22.02	-5.24
13.10	66.78	11.26	-5.73
19.71	81.98	29.55	-2.62
21.28	74.3	11.13	-2.49

### 2.5 鱼肉鲜度对杜鹃指示标签的影响

杜鹃指示标签初始颜色为粉红色,随着鱼肉新鲜度下降,标签颜色变化比较缓慢,直到挥发性盐基为

氮含量达到 21.28 mg/100 g 时才出现边角的颜色褪去，标签由红色变为浅粉色。根据颜色检测，杜鹃标签颜色值见表 4，*a* 值减小后增加，*b* 值在挥发性盐基氮含量达到 21.28 mg/100 g 后略有减小。

表 4 挥发性盐基氮含量对杜鹃指示标签颜色影响  
Tab.4 The effect of TVB-N on the color of the azalea label

挥发性盐基氮含量/(mg·(100 g) <sup>-1</sup> )	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值
8.4	68.13	42.94	3.07
8.96	64.25	43.16	2.9
13.10	64.46	43.57	3.14
19.71	77	8.64	2.01
21.28	79.56	28.79	-7.12

### 3 探究色素结构对其变色反应的影响 (以凤仙为例)

花色苷是花青素与糖以糖苷键的形式结合而成的化合物。天然花色苷糖苷配基的基本结构为 3,5,7-三羟基-2-苯基苯并吡喃<sup>[13]</sup>，见图 3。而紫甘薯、凤仙花瓣和杜鹃花瓣中主要的色素成分就是花色苷。

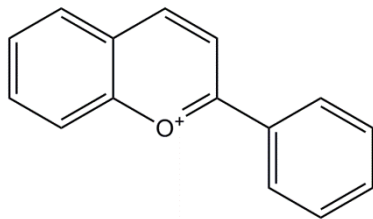


图 3 花色苷结构式  
Fig.3 Anthocyanin structure

在鱼肉变质的过程中会不断产生挥发性盐基氮，使得指示标签在碱性环境中产生变色。又由于不同材料的指示标签对酸碱性的敏感程度不同，导致在紫甘薯、凤仙、杜鹃三者中凤仙指示标签的现象最为明显，其次是紫甘薯指示标签，而杜鹃指示标签的反应并没有那么显著。

凤仙色素的花苷素主要是矢车菊素和天竺葵素，结合糖主要是葡萄糖苷、二葡萄糖苷和芸香糖苷<sup>[14]</sup>。将提取的凤仙色素浓缩液放入真空干燥箱干燥后取适量固体通过傅里叶红外光谱仪测试，得到其红外光谱图，见图 4。根据对凤仙色素红外光谱图的分析，位于 686 cm<sup>-1</sup> 处的峰主要归于 C—H 面外变形振动，位于 1393 cm<sup>-1</sup> 的峰主要归于苯环中 C=C 骨架伸缩，说明其中含有苯环；位于 782 cm<sup>-1</sup> 处的峰主要归于 —CH<sub>2</sub>—外面变形振动，说明所测物质中含有碳链；位于 1180 cm<sup>-1</sup> 的峰主要归于酚羟基中的 C—OH 伸缩振动，位于 3295 cm<sup>-1</sup> 的峰主要归于酚羟基中的 O—H 伸缩振动，说明其中含有酚羟基；位于 1718 cm<sup>-1</sup> 处的峰主要归于 C=O 伸缩振动；位于 3469 cm<sup>-1</sup>

的峰主要是指所测物质中含有杂质结晶水。根据分析发现，提取物的官能团基本符合凤仙花瓣色素成分。

由凤仙中的花色苷成分结构式可知，花色苷骨架在碱性条件下可能被破坏而发生结构变化，其余支链结构的官能团在碱性条件下基本不会发生反应，因此可以推断是花色苷上的基团被破坏，发生亲核或亲电重排反应，形成类黄酮等物质。矢车菊素分子在碱性条件下的结构变化<sup>[15]</sup>见图 5，图 5a 为原始矢车菊素分子结构，图 5b 为 pH=8~11 时矢车菊素分子结构，图 5c 为 pH>11 时矢车菊素分子结构，这使得色素的颜色会与之之前不同，再加之其他环境因素的影响，才使得指示标签呈现灰色，达到指示新鲜度的目的。

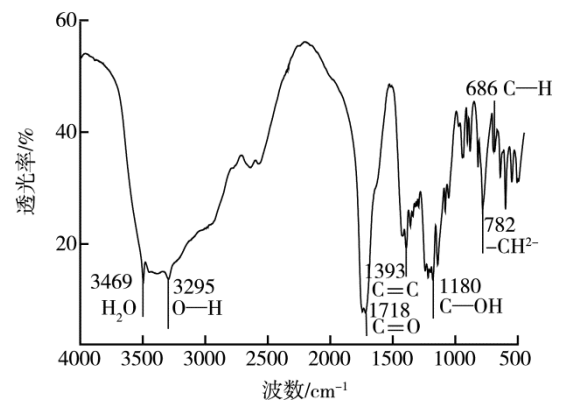


图 4 凤仙提取色素红外光谱  
Fig.4 The infrared spectra of extracted impatiens pigment

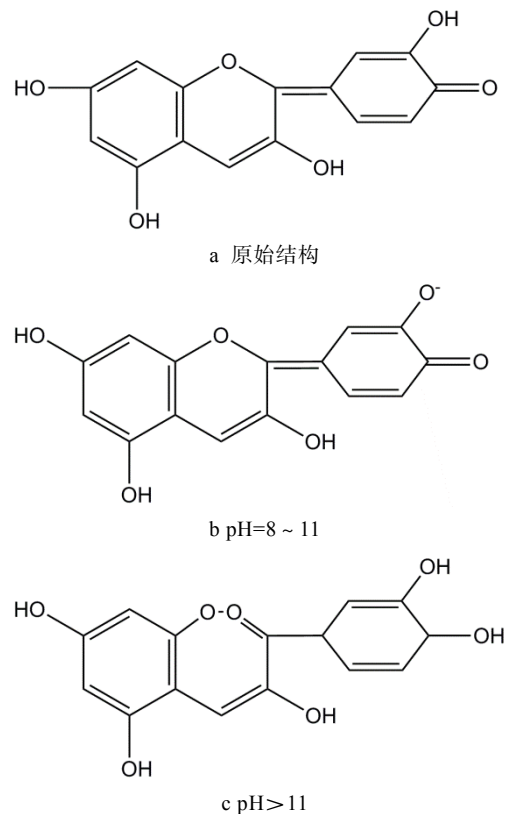


图 5 矢车菊素分子结构变化  
Fig.5 Cyanidin molecular structure reaction

## 4 结语

文中通过提取紫甘薯、凤仙花瓣、杜鹃花瓣的花色苷溶液制成标签,运用其检测多宝鱼随新鲜度的变化标签的变色情况。研究发现,温度对这3种标签的变色没有影响,鱼肉的变质腐败过程中随挥发性盐基氮含量的增加,碱性逐渐增加,并使周围环境呈碱性,而花色苷分子在pH值增大时有一定的敏感性,致使3种标签都发生了不同程度的颜色变化。该研究成果表明运用天然植物提取出的色素制作指示标签,可以用于鱼肉包装中做为智能指示标签,该标签成本低廉,取自天然植物,无毒无害有利于食品安全,方便消费者辨识鱼肉品质,为食品包装智能标签的研发提供参考依据。

### 参考文献:

- [1] DE K N, VANBEEST M, RIJK R, et al. Active and Intelligent Packing: Applications and Regulatory Aspects[J]. Food Additives and Contaminants, 2002, 19(4): 144—162.
- [2] PJP E, NDFE S, JSR C, et al. Bioactive Peptides: Synthesis, Properties, and Applications in the Packaging and Preservation of Food[J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2012, 11(2): 187—204.
- [3] RESTUCCIA D, CIRILLO G, CURCIO M, et al. New EU Regulation Aspects and Global Market of Active and Intelligent Packaging for Food Industry Applications[J]. Food Control, 2010, 21(11): 1425—1435.
- [4] 许文才, 付亚波, 李东立, 等. 食品活性包装与智能标签的研究及应用进展[J]. 包装工程, 2015, 36(5): 1—15.  
XU Wen-cai, FU Ya-bo, LI Dong-li, et al. Research and Application Progress of Food Active Packaging and Smart Labels[J]. Packaging Engineering, 2015, 36(5): 1—15.
- [5] 曹雁平. 我国天然食用色素研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 80—84.  
CAO Yan-ping. Current Research Situation of Nature Edible Pigment in China[J]. Food and Fermentation Industries Editorial Staff, 2007, 33(1): 80—84.
- [6] 施宁. 鱼鲜度检测仪的设计[D]. 大连: 大连理工大学, 2003.  
SHI Ning. Design of Fish Freshness Detector[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2003.
- [7] 张宏建. Lab 色彩模式在图像处理中的应用[J]. 福建电脑, 2011, 27(1): 146—147.  
ZHANG Hong-jian. Application of Lab Color Model in Image Processing[J]. Fujian Computer, 2011, 27(1): 146—147.
- [8] 方静. 不同致死方式对罗非鱼生化特性的影响及其机理[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.  
FANG Jing. Effect and Mechanism of Different Slaughter Methods to Change of Biochemical Property of Tilapia Muscle[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [9] 陈杰, 李进伟, 张连富. 紫甘薯色素的提取及稳定性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 154—158.  
CHEN Jie, LI Jin-wei, ZHANG Lian-fu. Extraction and Stability of Purple Sweet Potato Pigment[J]. Food Science, 2011, 32(18): 154—158.
- [10] 崔福顺, 金清, 李铨军, 等. 兴安杜鹃花色素提取及理化性质研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(4): 61—64.  
CUI Fu-shun, JIN Qing, LI Xian-jun, et al. Study on Extraction and Properties of Pigment from Rhododendron Dauricum L[J]. Food & Machinery, 2011, 27(4): 61—64.
- [11] 王仲礼. 鱼类腐败的机理及其防腐保鲜法[J]. 肉品卫生, 1998(7): 16.  
WANG Zhong-li. Mechanism and Antisepsis Methods of Fish[J]. Meat Hygiene, 1998(7): 16.
- [12] 杨朝霞. 紫甘薯花色苷色素提取纯化工艺研究及组分分析[D]. 青岛: 青岛大学, 2004.  
YANG Zhao-xia. The Study on the Technology Conditions of Extraction and Purification and Component Analysis of Anthocyanins Pigment from Purple Sweet Potato[D]. Qingdao: Qingdao University, 2004.
- [13] 庞志申. 花色苷研究概况[J]. 北京农业科学, 2000, 18(5): 37—42.  
PANG Zhi-shen. Survey of Anthocyanins Research[J]. Beijing agricultural sciences, 2000, 18(5): 37—42.
- [14] 高杨. 新几内亚凤仙花色苷的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2004.  
GAO Yang. Studies on the Anthocyanins of Impatiens Hawkeri Flowers[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2004.
- [15] 魏厚刚. 植物色素的提取及其对酸碱的适应性试验[J]. 林产化工通讯, 1998(1): 22—24.  
WEI Hou-gang. Extraction of Plant Pigment and Its Adaptability to Acid and Alkali[J]. Journal of Chemical Industry of Forest Products(Bimonthly), 1998(1): 22—24.