

花青素/姜黄素智能标签的制备及应用

郑辉¹, 蒋昊天¹, 王荔萱¹, 刘勇¹, 王维婷², 李丹³, 李立¹

(1.上海海洋大学食品学院食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306;

2.山东省农业科学院农产品研究所农业农村部新食品资源加工重点实验室, 济南 250100;

3.中国人民解放军海军特色医学中心, 上海 200052)

摘要: **目的** 制备基于红甘蓝花青素和姜黄素混合色素的智能指示标签, 应用于猪肉的新鲜度指示, 并对指示标签的新鲜度指示效果进行评价。**方法** 将红甘蓝花青素和姜黄素按照体积比为 2:1 混合作为新鲜度指示剂, 以卡拉胶为成膜基质, 研究其针对环境 pH 值变化的响应性; 以猪肉为研究对象进行室温 (25 °C) 和冷藏环境 (4 °C) 下的保存实验, 研究其挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量变化与变色的关系, 评价智能指示标签的效果。**结果** 在猪肉的保存实验中, 随着猪肉 TVB-N 值的升高, 室温和冷藏条件下的指示标签都相应地产生 3 个不同的颜色变化, 其中当 TVB-N 值小于 0.15 g/kg 时, 指示标签呈绿色; 当 TVB-N 值在 0.15~0.20 g/kg 之间时, 指示标签开始由绿色向黄色转变; 当 TVB-N 值大于 0.20 g/kg 时, 指示标签完全呈黄色。指示标签的变色与理化指标相匹配。**结论** 红甘蓝花青素/姜黄素智能指示标签在不同温度条件下, 都具有随 TVB-N 值变化而发生变色的能力, 具有应用于猪肉新鲜度检测的潜力。

关键词: 新鲜度指示标签; 花青素; 姜黄素; 卡拉胶; 猪肉

中图分类号: TS206.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2020)19-0017-05

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2020.19.003

Development and Application of an Intelligent Label Based on Anthocyanin/Curcumin

ZHENG Hui¹, JIANG Hao-tian¹, WANG Li-xuan¹, LIU Yong¹, WANG Wei-ting², LI Dan³, LI Li¹

(1.Engineering Research Center of Food Thermal-Processing Technology, College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2.Key Laboratory of New Food Resources Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Agricultural Products, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China;

3.Four Five Fifth Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Shanghai 200052, China)

ABSTRACT: The work aims to produce a smart indicator label based on red cabbage anthocyanin and curcumin, and apply it to indicate the pork freshness to evaluate its effectiveness of freshness indication. The red cabbage anthocyanin and curcumin were mixed at a volume ratio of 2:1 to be the indicator to study its response to PH change with carrageenan as the film-formation substrate. The pork was stored under room temperature (25 °C) and refrigeration (4 °C) to deliver a preservation test. The relations between the TVB-N level changes and the discolorations of pork were studied to evaluate the smart label's effectiveness. In the preservation test of pork, with the growth of the TVB-N level, the indicator label had three corresponding color changes under both room temperature and refrigeration. The indicator label was green when the

收稿日期: 2020-05-07

基金项目: 上海市地方能力建设专项 (19050502000); 安徽省面上攻关项目 (201904a05020039)

作者简介: 郑辉 (1999—), 男, 上海海洋大学硕士生, 主攻食品贮藏保鲜。

通信作者: 李立 (1977—), 男, 博士, 上海海洋大学教授, 主要研究方向为包装材料与食品贮藏保鲜。

TVB-N level was below 0.15 g/kg, then it gradually turned to yellow when the TVB-N level was between 0.15 g/kg and 0.20 g/kg, and it finally changed to utter yellow when the TVB-N level was beyond 0.20 g/kg. The discoloration of the label tallied with the physicochemical indexes well. The red cabbage anthocyanin/ curcumin based smart indicator label could change color according to the TVB-N level despite the environment temperature changes. It is promising to be applied in pork freshness indication.

KEY WORDS: freshness indicator label; anthocyanin; curcumin; carrageenan; pork

随着对安全和新鲜食品需求的不断增加,消费者对食品包装的要求逐渐由传统的保护性转向更多元化的功能性要求。其中,对食品品质变化的实时反馈成为了当下研究的热点^[1]。

目前应用于智能标签的比色指示剂有溴甲酚紫^[2]、甲基红^[3]等化学染料。由于化学色素价格昂贵,且具有一定的毒性,因此应用在食品上存在一定的风险^[4]。花青素是一种天然色素,无毒无害,广泛存在于自然界的花朵和果实中。花青素随着环境 pH 值的变化呈现出不同的颜色,是一种极具应用潜力的比色指示剂^[5]。Wei 等^[6]以结冷胶和紫薯花青素制备了一种可指示 pH 值变化的复合膜。Silva-Pereira 等^[7]采用红甘蓝花青素作为比色剂,结合壳聚糖和玉米淀粉制备了一种生物膜,并应用于鱼类腐败检测。Zhang 等^[8]使用洛神葵花青素和 PVA 制得一种可降解的薄膜,将其应用于猪肉的新鲜度指示。姜黄素是一种广泛存在于姜黄根茎的天然多酚^[9],拥有抗氧化和抗菌的能力,处于碱性环境中时会变色^[10]。Ma 等^[11]使用秘鲁塔拉胶和姜黄素制备了一种氨气指示膜。Liu 等^[12]采用姜黄素和鹿角菜胶制备了一种氨气指示膜,并应用于猪肉和虾肉的腐败检测。

天然色素拥有无毒无害的优点,但单一的天然色素存在一定局限性。花青素性质不稳定,易受温度、光照、氧气、金属离子等因素的影响,在作为食品包装材料时,氧气是影响其性质的主要原因^[13]。姜黄素的显色范围存在局限性,仅当 pH 值在 1~7 的区间内时无任何颜色变化,无法有效地覆盖猪肉全货架生命周期。由此,文中对花青素与姜黄素复配的方式进行研究,利用姜黄素的抗氧化特性弥补花青素的不稳定性,以花青素的广变色区间补充姜黄素的变色局限范围。

猪肉在微生物和酶促反应的共同作用下易腐败,智能显色标签通过其组分对包装内部 pH 值变化和 TVB-N 值变化发生变色响应,可以实现对食品新鲜度的实时监测。文中以红甘蓝花青素、姜黄素混合色素为指示剂,以卡拉胶为成膜基质,在水浴条件下混合成溶液,并在冷冻条件下干燥成膜,分切后作为显色标签,考察其对 pH 值的响应情况,并应用于猪肉的智能包装,评估其新鲜度指示的有效性。

1 实验

1.1 材料和试剂

主要材料和试剂:新鲜红甘蓝、新鲜猪前腿肉,购自当地农工商奥特莱斯(上海临港新城店);姜黄素、卡拉胶,购自上海麦克林生化科技有限公司;丙三醇、乙醇、柠檬酸、磷酸氢二钠,购自阿拉丁试剂(上海)有限公司。

1.2 仪器设备

主要仪器设备:5810 冷冻型台式大容量高速离心机,艾本德中国有限公司;EMS-40 数显恒温磁力搅拌水浴锅,上海乔跃电子有限公司;FOSS KJELTECTM 8400 全自动凯氏定氮仪,丹麦福斯分析仪器公司。

1.3 方法

1.3.1 混合色素的制备

提取花青素参考 Pereira^[14]等的方法,并做了一定修改。将 150 g 的红甘蓝碾碎,并浸入 80 mL 的乙醇水溶液中(体积比为 7:3)。将红甘蓝乙醇混合物放在 4 °C 条件下保存 24 h。随后过滤得到红甘蓝花青素乙醇溶液,在 4 °C, 1500 r/min 条件下离心分离 10 min,取上清液,得到红甘蓝花青素溶液。将花青素溶液存放在 4 °C 的暗室内直至使用。

姜黄素溶液按照 Liu 等^[15]的方法进行配制,在 10 mL 的乙醇水溶液(体积比为 4:1)中溶解 0.25 g 的姜黄素粉末,得到姜黄素溶液。将姜黄素溶液存放在 4 °C 的暗室内直至使用。

将姜黄素和红甘蓝花青素溶液按照体积比分别为 1:1, 1:2, 1:3 的比例融合,搅拌得到混合色素,并分别标记为第 1 组、第 2 组、第 3 组,观察其溶液在不同 pH 值环境下的变色情况,以筛选理想的混合比例。使用柠檬酸/磷酸二氢钠标准液将混合色素的 pH 值调制到 6.0。将混合色素存放于 4 °C 的暗室内直至使用。

1.3.2 智能指示标签的制备

在 100 mL 蒸馏水中溶解 2 g 卡拉胶,并加入 2 mL 丙三醇,在 60 °C 水浴下使用磁力搅拌机,搅拌至卡

拉胶完全溶解。取 20 mL 卡拉胶溶液，并滴入 1 mL 的混合色素搅拌均匀。随后将混合溶液转移到 90 mm 培养皿中，在-20℃条件下冷却成型，并保存在-20℃冰箱内直至使用。

1.3.3 智能指示标签对 pH 值变化的响应

使用柠檬酸和磷酸二氢钠配制得到 pH 值为 2.2~8.0 的标准溶液，将混合色素依次滴入标准溶液中，观察并记录颜色变化。

在制得的混合色素智能指示标签上，依次滴加标准溶液，观察并记录颜色变化。

1.3.4 智能指示标签在猪肉新鲜度指示中的应用

1) 猪肉新鲜度指示标签的制备。取当日购买的猪肉 50 g，放入杀菌后的培养皿中。在培养皿内的空位放入 1 cm×1 cm 的正方形指示标签，指示标签与猪肉不发生接触。将培养皿放入 PE 材质的均质袋密封，分别在冷藏条件（4℃）下观察 7 d，在室温环境（25℃）下观察 4 d。每隔 24 h 记录 1 次指示膜的颜色变化，并测量内部猪肉的理化指标。

2) 挥发性氨基盐（TVB-N）含量的测定。取部分瘦猪肉，将肉均匀碾碎后，称取 2 g 装入凯氏定氮仪消化管中，记录凯氏定氮仪数据。每组设置 3 个平行样，取其平均值。

3) 对比智能标签变色情况和猪肉对应的 TVB-N 值数值，建立颜色-新鲜度对应指示关系。

2 结果与讨论

2.1 不同混合比例的智能指示标签对环境 pH 值变化的响应

由图 1 可知，当 pH 为 2.2~8.0 时，不同组呈现不同的颜色变化趋势。当 pH 值小于 3.0 时，第 1 组混合色素呈橙黄色，第 2 组和第 3 组都呈红色；当 pH 值处于 3.0~5.0 时，第 1 组混合色素呈现黄色，第 2 组混合色素呈现棕色，第 3 组混合色素呈绿色；当

pH 值大于 5.0 时，第 1 组混合色素黄色逐渐加深，第 2 组混合色素由棕色逐渐转变为绿色，第 3 组混合色素仍呈绿色。对比 3 组显色结果可知，第 2 组拥有 3 个明显变色的 pH 值响应区间段，而第 1 组和第 3 组仅有 2 个明显的区间段，因而第 2 组拥有较优秀的 pH 变化指示能力，选择第 2 组（姜黄素与红甘蓝花青素的体积比为 2：1）作为余下实验中的使用比例。

智能指示标签在 pH 值为 2.2~8.0 时的变色情况见图 2，混合色素与透明无色的卡拉胶结合固定后，相较溶液颜色有所变淡。当 pH 值小于 3.0 时，指示标签呈橙红色；当 pH 值处于 3.0~6.0 时，指示标签由橙红色变为黄色；当 pH 值大于 6.0 时，指示标签变为绿色。指示标签在不同 pH 值的环境下发生颜色改变的原因是 2 种色素自身结构的改变。红甘蓝花青素（C₁₅H₁₁O₆）在不同 pH 值的环境下会呈现出黄烺盐花青苷、花青苷假碱、醌式花色苷、查尔酮结构^[16]，其显色变体结构见图 3a。姜黄素（C₂₁H₂₀O₆）在酸性、中性条件下，主要以黄色的 H₃A 和棕黄色的 H₂A⁻的形式存在^[17]，其显色变体结构见图 3b。当 pH 值小于 3.0 时，花青素在酸性条件下主要以红色的黄烺盐花青苷形式存在，同时姜黄素呈黄色，指示标签显现橙红色；随着酸性逐渐减弱，花青素转变为假碱或查尔酮，红色减淡，姜黄素的黄色逐渐在标签上显现；当 pH 值上升至中性时，花青素转变为蓝色的醌式苷，与棕黄色的姜黄素协同显现出绿色。

2.2 猪肉贮藏过程中挥发性盐基氮含量的变化

挥发性盐基氮含量是肉制品新鲜度的关键理化指标之一。贮存期间猪肉的 TVB-N 值变化见图 4a—b。冷藏贮存组的猪肉在贮藏 1~4 d 时增长速率相对平缓，在贮藏 5~7 d 时增长速率加快；其中贮藏第 1 天的 TVB-N 值在 0.10 g/kg 以下；从贮藏第 4 天起，TVB-N 值达到 0.15 g/kg，超过了 GB/T 2707—2016 中的上限值（0.15 g/kg）^[18]；在贮藏第 5 天时猪肉的

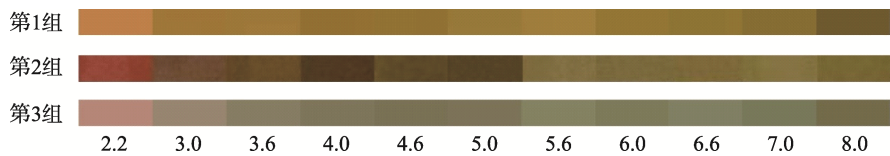


图 1 不同比例混合色素在 pH 值为 2.2~8.0 时的变色情况
Fig.1 Discoloration of mixed pigment by different blending ratios at pH=2.2~8.0

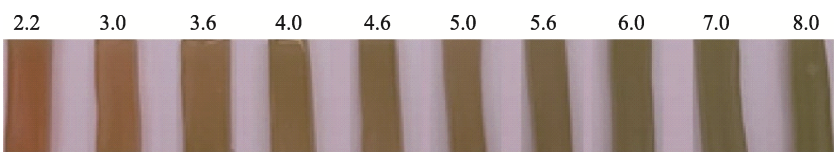


图 2 智能指示标签在 pH 值为 2.2~8.0 时的颜色
Fig.2 Discolorations of the smart indicator label at pH=2.2~8.0

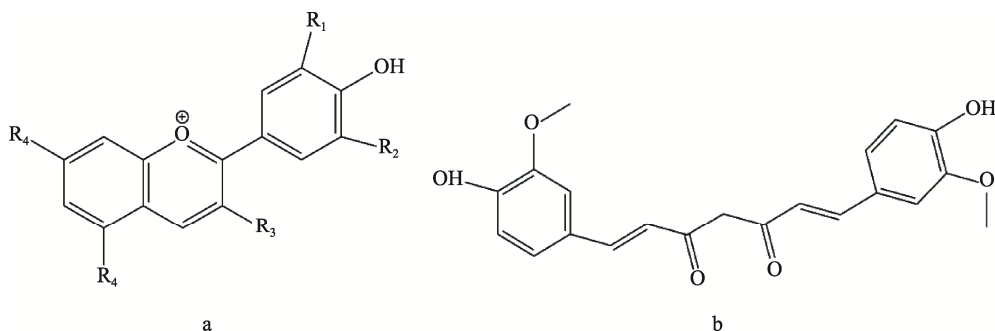


图3 花青素与姜黄素的显色变体结构

Fig.3 Discoloration structures of anthocyanin and curcumin

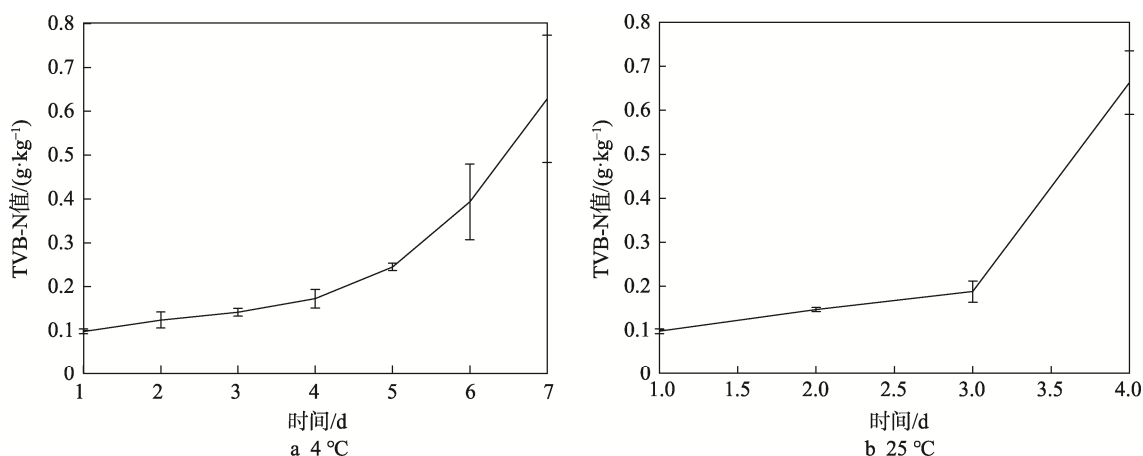


图4 猪肉在冷藏(4℃)和室温(25℃)贮藏期间挥发性氨基盐含量的变化情况

Fig.4 TVB-N values of pork storage under refrigeration (4℃) and room temperature (25℃)

TVB-N 值超过了 0.20 g/kg, 此时猪肉有明显异味, 处于腐败状态。室温贮存组的猪肉在贮藏第 2 天时, TVB-N 值就达到 0.15 g/kg, 在贮藏第 3 天时临近 0.20 g/kg, 此时猪肉已出现明显异味。

2.3 智能指示标签的变色与猪肉新鲜度的关系

随着贮藏时间的推移和猪肉品质的变化, 指示标签的颜色也会随之发生变化。贮藏期间混合色素指示标签的颜色变化见图 5。其中, 在室温下贮存时, 指示标签在第 1 天呈绿色, 表明猪肉内部仍处于新鲜状态; 在第 2 天时, 标签绿色存在明显减弱趋势, 标签呈黄绿色, 此时猪肉内部的理化指标已处于次新鲜状态; 在第 3 天时, 标签完全呈黄色, 此时猪肉内部已存在明显气味, 处于变质状态; 在第 4 天时, 标签上黄色继续加深, 总体呈橙红色, 此时猪肉内部已完全变质腐坏。

冷藏贮存下的指示标签颜色变化见图 5, 冷藏贮存 1~3 d 的 TVB-N 指标均低于 GB/T 2707—2016 所规定的 0.15 g/kg, 指示标签呈绿色, 变色情况与室温下第 1 天的变色情况相符。冷藏贮存第 4 天时 TVB-N 值已经超标, 处于次新鲜状态, 指示标签的绿色减淡, 并呈现黄色, 变色情况基本对应室温贮存第 2 天时的状态。在冷藏贮存第 5 天时 TVB-N 值达到 0.20 g/kg, 膜体完全呈黄色, 符合室温贮存第 3 天时的颜色变化

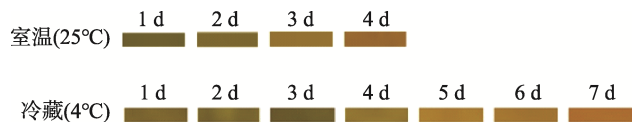


图5 室温及冷藏贮藏期间指示标签颜色的变化情况

Fig.5 Discolorations of indicator label at room temperature and in refrigerated storage

情况。在冷藏贮存 5~7 d 时, 标签颜色加深的趋势与理化指标快速上升的趋势相吻合, 同时与室温组贮藏 3~4 d 时的变色情况相对应。

智能指示标签在室温和冷藏下的颜色变化趋势基本一致, 与指示标签对环境 pH 值变化的变色情况基本一致。这说明不管是在冷藏条件还是室温条件下, 只要 TVB-N 值发生变化, 都会使标签出现明显变色, 因此该标签在实际应用中不受使用温度的影响, 仅在其品质变化时出现显色反应, 结果准确, 易于对照分辨。

3 结语

文中研究了卡拉胶和混合色素制备的新鲜度指示标签的变化情况, 发现花青素与姜黄素的复配弥补了单一姜黄素色素指示范围小的局限性, 在猪肉由新鲜级变为次新鲜级, 次新鲜级变为腐败级时均存在明显的色差, 对猪肉的新鲜程度有较好的区分能力。对

比室温和冷藏等2组实验结果发现,在不同温度下的颜色变化均与TVB-N理化指标的变化呈现对应关系,即当TVB-N值小于0.15 g/kg时,指示标签呈绿色,此时猪肉处于新鲜状态;当TVB-N值在0.15~0.20 g/kg之间时,指示标签呈黄绿色,此时猪肉为次新鲜状态;当TVB-N值大于0.20 g/kg时,指示标签呈黄色并不断加深,此时猪肉为完全变质状态。该指示标签在不同温度下都具有适用性,当TVB-N值发生变化时标签也会产生颜色变化,最终起到指示新鲜度的目的,直观性和便捷性均较好。研究开发的智能标签采用天然色素和天然基质,可直接与食品接触,通过在产品包装内置一张智能标签,使猪肉和智能标签处于同一环境内,消费者可通过透明视窗观察智能标签的变色情况,从而了解猪肉的新鲜程度,实现生鲜产品质量的可视化,在生鲜、肉类市场具有良好的应用潜力。

参考文献:

- [1] 孙媛媛. 食品新鲜度指示型智能包装的研究与应用[J]. 包装学报, 2012(3): 16—20.
SUN Yuan-yuan. Research and Application of Freshness Indicative Smart Packaging for Food[J]. Packaging Journal, 2012(3): 16—20.
- [2] 陈慧芝. 基于智能包装标签的典型生鲜配菜新鲜度无损检测的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 3—4.
CHEN Hui-zhi. Development of Intelligent Packaging Labels for Non-destructively Monitoring Freshness of Typical Prepared Fresh Foods[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019: 3—4.
- [3] 冯刚. 蓝莓智能包装新鲜度指示剂研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019: 7—8.
FENG Gang. Blueberry Intelligent Packaging Freshness Indicator Research[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2019: 7—8.
- [4] 王利兵, 李宁涛, 于艳军, 等. 智能食品包装中指示剂的研究进展与安全评价[J]. 中国科学: 技术科学, 2013, 43(1): 1—19.
WANG Li-bing, LI Ning-tao, YU Yan-jun, et al. The Research Progress and Safety Evaluation on Smart Food Packaging Indicators[J]. Scientia Sinica (Technologica), 2013, 43(1): 1—19.
- [5] 邹堂斌, 凌文华. 桑葚花色苷含量测定及种类分析[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(24): 197—200.
ZOU Tang-bin, LIN Wen-hua. Analysis of Content and Breeds of Anthocyanins in Mulberry[J]. Food Research and Development, 2013, 34(24): 197—200.
- [6] WEI Yu-chia, CHENG Chia-hsiung, HO Yi-cheng, et al. Active Gellan Gum/Purple Sweet Potato Composite Films Capable of Monitoring pH Variations[J]. Food Hydrocolloids, 2017(69): 491—502.
- [7] SILVA-PEREIRA M C, TEIXEIRA J A, PEREIRA V A, et al. Chitosan/Corn Starch Blend Films with Extract from Brassica Oleraceae(Red Cabbage) as a Visual Indicator of Fish Deterioration[J]. LWT-food Science and Technology, 2015, 1(61): 258—262.
- [8] ZHANG Jun-jun, ZOU Xiao-bo, ZHAI Xiao-dong, et al. Preparation of an Intelligent pH Film Based on Biodegradable Polymers and Roselle Anthocyanins for Monitoring Pork Freshness[J]. Food Chemistry, 2019(272): 306—312.
- [9] 胡静祎. 天然产物姜黄素的结构改造及生物活性的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016: 1—2.
HU Jing-yi. Structural Transformation of Nature Products Curcumin and Study on Bioactivities of Curcumin Analogs[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016: 1—2.
- [10] 陈莉, 李潇. 姜黄染色织物的pH值敏感变色性能[J]. 纺织学报, 2017, 38(4): 80—84.
CHEN Li, LI Xiao. Discoloration Property for pH-sensitivity of Fabric Dyed by Turmeric[J]. Journal of Textile Research, 2017, 38(4): 80—84.
- [11] MA Qian-yun, LIN Du, WANG Li-juan. Tara Gum/Polyvinyl Alcohol-based Colorimetric NH₃ Indicator Films Incorporating Curcumin for Intelligent Packaging[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017(244): 759—766.
- [12] LIU Jing-rong, WANG Hua-lin, WANG Peng-fei, et al. Films Based on K-carrageenan Incorporated with Curcumin for Freshness Monitoring[J]. Food Hydrocolloids, 2018(83): 134—142.
- [13] 邹小波, 薛瑾, 黄晓玮, 等. 一种双层智能膜的制备及在指示三文鱼新鲜度中的应用[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 206—212.
ZOU Xiao-bo, XUE Jin, HUANG Xiao-wei, et al. Development and Application of an Intelligent Biolayer Packaging Film as a Freshness Indicator for Salmon[J]. Food Science, 2019, 40(23): 206—212.
- [14] PEREIRA V A, De ARRUDA I N Q, STEFANI R. Active Chitosan/PVA Films with Anthocyanins from Brassica Oleraceae(Red Cabbage) as Time-temperature Indicators for Application in Intelligent Food Packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2015(43): 180—188.
- [15] LIU Jing-rong, WANG Hua-lin, WANG Peng-fei, et al. Films Based on K-carrageenan Incorporated with Curcumin for Freshness Monitoring[J]. Food Hydrocolloids, 2018(83): 134—142.
- [16] 李浩明. 甘蓝红色素的提取与性质研究[J]. 中国食品添加剂, 1999(3): 12—18.
LI Hao-ming. Extraction and Characterization of Red Cabbage Colour[J]. China Food Additives, 1999(3): 12—18.
- [17] 侯丽丽, 任海霞, 孙晓丹, 等. 好多元分辨-交替最小二乘法研究姜黄素的性质及降解过程[J]. 计算机与应用化学, 2012, 29(12): 1443—1446.
HOU Li-li, REN Hai-xia, SUN Xiao-dan, et al. Study of Characterization and Degradation Process of Curcumin Using Multivariate Curve Resolution-alternating Least Squares[J]. Computers and Applied Chemistry, 2012, 29(12): 1443—1446.
- [18] GB 20799—2016, 食品安全国家标准 肉和肉制品经营卫生规范[S].
GB 20799—2016, Safety Standard for National Food, Hygienic Standards for Management of Meat and Meat Products[S].