

苏木色素-滤纸指示标签的制备及其对猪肉新鲜度的监测

赵洪喜, 周景廉, 尹兆京, 余祥英*

(东莞理工学院 生命健康技术学院, 广东 东莞 523808)

摘要: **目的** 以天然色素苏木色素为 pH 指示剂, 制备一种可视化监测猪肉新鲜度的指示标签, 并探究其实际应用效果。**方法** 以苏木色素提取液为指示剂, 以定性滤纸为载体制备指示标签。利用比色分析和氨敏感性分析, 测试表征标签的指示性能, 并进一步将指示标签应用于猪肉的新鲜度监测。**结果** 比色分析结果显示标签在 pH 4~12 范围内会随着 pH 的增大逐渐由黄色变为暗红色, 颜色变化明显; 氨敏感性分析结果表明, 氨水浓度越高, 则标签变色越显著, 且变色速度越快。猪肉新鲜度监测实验结果表明, 随着猪肉腐败程度的加深, 指示标签的颜色由黄色变为暗红色, 颜色变化明显, 且标签的 ΔE 与猪肉的 pH、挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量呈良好的线性关系 (R^2 分别为 0.989 7、0.916 3), 可用于猪肉新鲜度的监测。**结论** 以天然色素苏木色素为 pH 指示剂、以定性滤纸为载体可构建一种基于色差变化或色差变化时间来监测肉制品新鲜度的指示标签, 研究结果可为构建新型天然色素类食品新鲜度指示标签提供参考。

关键词: 苏木色素; 滤纸; 指示标签; 比色分析; 氨敏感性分析; 猪肉新鲜度

中图分类号: TB332

文献标志码: A

文章编号: 1001-3563(2024)19-0190-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2024.19.019

Preparation of Sappanwood Pigment/Filter Paper Indicator Label and Its Application in Monitoring Pork Freshness

ZHAO Hongxi, ZHOU Jinglian, YIN Zhaojing, YU Xiangying*

(School of Life and Health Technology, Dongguan University of Technology, Guangdong Dongguan 523808, China)

ABSTRACT: The work aims to prepare a visual indicator label for monitoring pork freshness and explore its practical application with natural pigment from sappanwood as pH indicator. The indicator label was prepared with the pigment from sappanwood as indicator and qualitative filter paper as carrier. Colorimetric analysis and ammonia sensitivity analysis were conducted to test the indicating performance of the label, and the label was further applied in monitoring the pork freshness. Colorimetric analysis showed that the label changed obviously from yellow to dark red with the increase of pH value in the range of 4-12. Ammonia sensitivity analysis showed that the higher the ammonia concentration, the more significant and faster the color of the label changed. The application of the label in monitoring pork freshness showed that, with the deepening of pork corruption, the color of indicator label changed obviously from yellow to dark red, the ΔE value of the label showed a good linear relationship with pH value and volatile nitrogen (TVB-N) content of pork ($R^2=0.989\ 7$ and $0.916\ 3$, respectively), which could be used for monitoring pork freshness. With the natural pigment from sappanwood as pH indicator and qualitative filter paper as carrier, an indicator label for monitoring the freshness of

收稿日期: 2024-06-13

基金项目: 国家自然科学基金 (32202011); 广东省创新强校创新团队项目 (2021KCXTD035); 东莞理工学院大学生创新创业训练计划 (S202311819132)

*通信作者

pork products could be constructed based on chromatic change or time required for the color change. The results of this study could provide reference for the construction of new natural pigment of indicator label for monitoring food freshness.

KEY WORDS: sappanwood pigment; filter paper; indicator label; colorimetric analysis; ammonia sensitivity analysis; pork freshness

随着国民经济的快速发展,人们的生活节奏越来越快,新鲜便捷、安全卫生、营养丰富的生鲜食品越来越受到人们的青睐,进一步促进了预制菜产业的发展。生鲜食品易腐败变质、货架期较短,目前常用的食品新鲜度检测技术需要借助试剂和仪器,如电导率法^[1]、微生物指标法^[2]、总挥发性盐基氮法^[3]、荧光光谱法^[4]、近红外光谱法^[5]、气相色谱-质谱法^[6]和电子鼻技术^[7]等。这些检测技术操作烦琐、耗时较长,不适用于实时快速检测,更不适用于广大消费者自行使用,因此开发快速、成本低、可视化的生鲜食品实时无损检测方法具有很大的应用前景。

肉类食品智能指示标签通过对食品包装内部或外部环境的变化作出响应,从而监测食品的新鲜度,具有实时、无损、直观等特点^[8]。目前,常用的指示标签基于甲基红、溴甲酚绿、溴百里酚蓝等合成色素制备而成^[9-10],但是由合成色素制备的食品新鲜度指示标签存在指示剂迁移或扩散等安全隐患。天然色素具有安全无毒的特点,广泛存在于植物的根、茎、叶、花中,有些天然色素具有 pH 敏感性,可作为 pH 指示剂,因此基于天然色素的指示标签成为肉类食品新鲜度监测的首要选择^[11]。陈良哲等^[12]基于黑果枸杞花青素和多孔滤纸,构建了纸基指示标签,用于监测鱼肉的新鲜度,随着鱼肉的腐败该标签由粉红色变成灰蓝色,具有良好的响应速度和灵敏度,且能多次重复使用。方仕阳等^[13]以乙基纤维素为聚合物基材,通过添加蓝莓花青素制备的指示标签可用于牛奶的新鲜度监测。董春娟等^[14]以马铃薯氧化羟丙基淀粉和果胶为成膜基材,通过添加蝶豆花提取物制备了智能指示标签,它具有物理性能良好,且对冷鲜牛肉新鲜度的变化响应能力强,具有成为预测冷鲜牛肉新鲜度智能包装材料的潜在应用价值。

为了进一步扩充天然色素的来源,前期预实验探究了不同植物提取色素(苏木色素、玫瑰茄色素和紫草色素)在不同 pH 下的颜色响应,结果显示,在不同 pH 下苏木色素相较于玫瑰茄色素、紫草色素具有更明显的颜色变化特征,因此本研究拟以苏木为原料,制备基于天然色素的指示标签,并探究其实际应用效果。苏木又称苏方木、赤木、红紫,为豆科云实属植物苏木(*Caesalpinia sappan* L.)的干燥心材,它天然存在于亚洲各地,包括中国、泰国和日本等^[15]。苏木的价格低廉、无独特风味,因此常被作为天然色素用于各种食品,包括红鸡蛋、糖果、饮料和肉制品^[16-17]。另外,苏木还具有活血祛瘀、消肿止痛、杀菌抗癌、免疫抑制等药理活性^[17-19]。目前,将苏木提取物作为

天然着色剂并应用于食品中,已得到多个监管机构的批准,如欧盟(EU)和美国食品药品监督管理局(FDA)^[20]。苏木的主要活性成分是一种无色的酚类化合物——苏木素,苏木素中的邻苯二酚环易在空气中被迅速氧化成烯醇酮环,从而转化为深色的氧化苏木精^[21]。由于氧化苏木精中烯醇酮环的羟基在一定 pH 范围内存在羟基和氧负离子的离解平衡^[22],因此 pH 的变化将会引起苏木色素发生颜色的改变,推测基于苏木色素可以制备一种可视化检测生鲜食品新鲜度的 pH 响应型指示标签^[23]。

本研究拟以乙醇(体积分数 50%)为溶剂,从苏木中提取苏木色素,分析苏木色素在不同 pH 下的颜色响应情况,并使用紫外-可见光光谱法(UV-Vis)分析苏木色素的指示机理。然后,以定性滤纸为载体,制备食品新鲜度指示标签,并对指示标签的 pH 响应性能和氨敏感性进行测试。最后,将标签应用于生鲜猪肉常温(20℃)贮存中,以考察指示标签的指示效果,为新型天然色素类食品新鲜度指示标签的开发和应用提供参考。

1 实验

1.1 材料与试剂

主要材料:苏木,产自四川德阳;鲜猪肉,购自东莞市大岭山元岭综合市场;滤纸($\phi 7$ cm),购自杭州特种纸业有限公司。

主要试剂:氨水(质量分数为 37%),上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇(分析纯),上海麦克林生化科技有限公司;氢氧化钠(分析纯),上海麦克林生化科技有限公司;甲基红(分析纯),上海麦克林生化科技有限公司;溴甲酚绿(分析纯),上海麦克林生化科技有限公司;磷酸氢二钠(99%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;磷酸二氢钠(分析纯,99%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氧化苏木精(40%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

主要仪器与设备:DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司;FW100 高速粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;S210pH 计,梅特雷斯-托利多仪器(上海)有限公司;XHF-DY 高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司;CM-5 分光测色计,柯尼卡美能达办公系统(中国)有限公司;NR145+色差仪,广东三恩时智能科技有限公司;

Kjeltec™8100 半自动定氮仪, 丹麦福斯有限公司; 840-210600 紫外-可见分光光度计, 赛默飞世尔科技公司; Nicolet iS50 FTIR 光谱仪, 赛默飞世尔科技公司。

1.3 方法

1.3.1 苏木色素的提取和指示标签的制备

将苏木粉碎, 过 60 目筛, 准确称取 10.0 g 苏木粉末, 按 1 g : 5 mL 的料液比加入乙醇 (50%) 作为浸提溶剂, 在 60 °C 水浴锅中浸提 30 min^[24], 冷却至室温后过滤, 收集滤液即得到苏木色素溶液。然后, 将定性滤纸置于苏木色素溶液中浸泡 2 min, 取出后于干燥箱 (60 °C) 中烘干 30 min, 制得指示标签, 将其裁剪为 1 cm×1 cm 待用。

1.3.2 苏木色素提取液和指示标签中色素含量的检测

以氧化苏木精为标准品绘制标准曲线。配制质量浓度分别为 1.20、2.40、3.60、4.80、6.00 μg/mL 的氧化苏木精标准液, 使用紫外分光光度计测定溶液在最大吸收波长 445 nm 处的吸光度。以吸光度为纵坐标, 以氧化苏木精的质量浓度 (μg/mL) 为横坐标, 制作标准曲线。根据该标准曲线和苏木色素提取液在 445 nm 处的吸光度, 可计算苏木色素提取液中对应的氧化苏木精浓度, 将苏木色素提取液中的色素含量用每毫升提取液中含有的氧化苏木精当量来表示 (mg/mL)。根据指示标签吸附前后苏木色素提取液的体积和对应的氧化苏木精浓度, 可计算得出指示标签中吸附的色素含量, 结果以每平方厘米滤纸吸附的氧化苏木精当量表示 (μg/cm²)。

1.3.3 苏木色素和指示标签在不同 pH 下的变色响应

配制 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10、11、12 的磷酸缓冲溶液。取不同 pH 的缓冲溶液 5.0 mL, 分别加入 0.1 mL 苏木色素溶液混匀, 用测色计进行色差分析。另取 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10、11、12 的缓冲溶液滴在 1.3.1 节制备的指示标签上, 待指示标签干燥后进行色差分析。用色差仪分别提取色素溶液和指示标签的亮度 (L^*)、红绿度 (a^*)、黄蓝度 (b^*), 按照式 (1) 计算总色差 ΔE 。

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (1)$$

式中: ΔE 为测定样品颜色与对照组颜色的色差; $\Delta L^* = L^* - L_0^*$; $\Delta a^* = a^* - a_0^*$; $\Delta b^* = b^* - b_0^*$; L^* 、 a^* 、 b^* 为不同 pH 下样品的值; L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 为对照组的值。

以蒸馏水代替苏木色素溶液作为对照组, 计算色素溶液的 ΔE 。以干燥未滴加液体的指示标签作为对照组, 计算指示标签的 ΔE ^[25]。

1.3.4 苏木色素的紫外可见光谱

准确吸取 pH 为 4、5、6、7、8、9、10、11、12

的缓冲溶液 10.00 mL, 分别加入苏木色素溶液 0.10 mL, 与其混匀。以对应 pH 的缓冲溶液为参比液, 采用紫外-分光光度计进行紫外可见光谱扫描, 扫描波长范围为 300~800 nm, 扫描间隔为 1 nm。

1.3.5 傅里叶变换红外光谱分析

用傅里叶红外光谱仪测定指示标签、滤纸、苏木色素的吸收光谱, 扫描次数为 32, 分辨率为 4 cm⁻¹, 测量范围为 400~4 000 cm⁻¹。

1.3.6 指示标签的氨敏感性

参照杜月红等^[26]的方法, 并稍作改进。将标签置于培养皿盖内侧, 在培养皿中分别加入 10 mL 不同质量浓度 (7.5、15、30、60、120 μg/mL) 的氨水, 迅速盖上贴有标签的培养皿盖, 待指示标签全部变色后, 用色差仪测定 L^* 、 a^* 、 b^* 。按照式 (1) 计算总色差 ΔE , 并记录标签全部区域 (1 cm×1 cm) 内均变色所需要的时间。其中, ΔE 为测定样品颜色与对照组颜色的色差, $\Delta L^* = L^* - L_0^*$, $\Delta a^* = a^* - a_0^*$, $\Delta b^* = b^* - b_0^*$ 。 L^* 、 a^* 、 b^* 为不同氨水浓度下样品的值, L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 为对照组的值 (以蒸馏水代替氨水作为对照组)。

1.3.7 指示标签的稳定性

将指示标签置于 25 °C (室温) 下, 隔 1 周和半年取出, 用色差仪提取 L^* 、 a^* 、 b^* 。按照式 (1) 计算总色差 ΔE 。其中, ΔE 为测定样品颜色与对照组颜色的色差, $\Delta L^* = L^* - L_0^*$, $\Delta a^* = a^* - a_0^*$, $\Delta b^* = b^* - b_0^*$; L^* 、 a^* 、 b^* 为不同存放时间下指示标签的值, L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 为对照组的值 (以空白滤纸为对照组)。

1.3.8 指示标签应用于猪肉新鲜度的监测

1) 猪肉样品处理。将从市场购买的新鲜猪肉切分成质量为 100 g 的块, 放入密封盒中, 用贴好指示标签的盖子密封, 在室温 (20 °C) 下分别放置 12、24、36、48、60 h。

2) 指示标签的 ΔE 变化。用色差仪提取不同存放时间下猪肉对应指示标签的 L^* 、 a^* 、 b^* , 按照式 (1) 计算总色差 ΔE 。其中, ΔE 为测定样品与初始实验组的色差, $\Delta L^* = L^* - L_0^*$, $\Delta a^* = a^* - a_0^*$, $\Delta b^* = b^* - b_0^*$; L^* 、 a^* 、 b^* 为不同存放时间下猪肉指示标签的值, L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 为初始实验组的值。

3) 指示标签的响应时间。对不同存放时间的猪肉样品, 用另一贴有指示标签的盖子迅速替换存放期间的盖子, 记录指示标签全部区域 (1 cm×1 cm) 内均变色所需要的时间。

4) pH。分别准确称取 (10.00±0.01) g 不同存放时间的猪肉样品, 加入 75 mL 蒸馏水, 然后用高速分散器匀浆, 用 pH 计测定匀浆猪肉的 pH。

5) 挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量。参照 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性

盐基氮的测定》^[27], 采用凯式定氮法测定不同猪肉样品中的 TVB-N 含量。

1.3.9 数据分析

每组实验均进行 3 次平行试验, 结果用平均值±标准偏差来表示。采用 SPSS Statistics 27 软件对实验结果进行差异显著性分析 ($P<0.05$ 表示差异显著) 和相关性分析, 采用 Origin 2019 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 苏木色素提取液和滤纸吸附苏木色素的含量检测

苏木的主要活性成分苏木素为无色化合物, 它易被氧化成深色的氧化苏木精^[21], 故苏木色素提取液是同时包含苏木素、氧化苏木精及其他物质的混合物。这里用氧化苏木精来反映苏木色素提取液和滤纸吸附的色素含量, 即以氧化苏木精为标准品, 测定不同浓度氧化苏木精溶液在 445 nm 处的吸光度, 可知氧化苏木精在 1.20~6.00 μg/mL 范围内具有良好的线性关系 ($y=0.161x-0.062$, y 表示吸光度, x 表示氧化苏木精的质量浓度, 相关系数 R^2 为 0.992 3)。基于该标准曲线, 可测得苏木色素提取液质量浓度为 (0.52±0.01) mg/mL; 滤纸吸收的苏木色素质量浓度为 (26.26±1.25) μg/cm²。综合苏木、乙醇和滤纸的价格, 可估算 1 000 份标签 (1 cm×1 cm) 的成本约为 5 元, 价格低廉, 应用前景广阔。

2.2 指示标签的稳定性

将指示标签用于食品新鲜度检测时, 其自身颜色的变化直接影响检测结果的准确性, 因此本节测定了指示标签在存放 1 周和半年的总色差。结果显示, 制备当天指示标签的 ΔE 为 (54.47±0.58), 存放 1 周后指示标签的 ΔE 为 (55.16±0.89), 变化幅度为 1% (ΔE 的变化值不超过 1), 存放半年后指示标签的 ΔE 为 (60.57±0.26), 变化幅度为 11% (ΔE 的变化值约为 6), 说明基于苏木色素制备的指示标签具有较好的稳定性。

2.3 苏木色素和指示标签在不同 pH 下的比色分析

苏木色素和指示标签在不同 pH 下的颜色响应及其色度、总色差的变化如图 1 所示。由图 1 可知, 色素溶液和指示标签在 pH 低于 7 时呈黄色, 在溶液呈碱性 (即 pH 为 7~9) 时逐渐变为红色, 在 pH=10 时呈红色, 在 pH 为 11~12 时逐渐由红色变为深红色。色素溶液和指示标签的 L^* 随着 pH 的升高呈现降低趋势, 表示其颜色随着 pH 的增加逐渐变暗; 色素溶液和指示标签的 ΔE 随着 pH 的升高而增大。Prietto 等^[28]研究表明, 人眼可感知 ΔE 大于 5 的颜色变化。通过与对照组相比可知, 指示标签的 ΔE 在 pH 为 6~12 的范围内均大于 10, 表明指示标签的颜色明显变化, 便于人肉眼感知, 因此基于苏木色素的指示标签适用于监测食品包装环境内 pH 的变化。

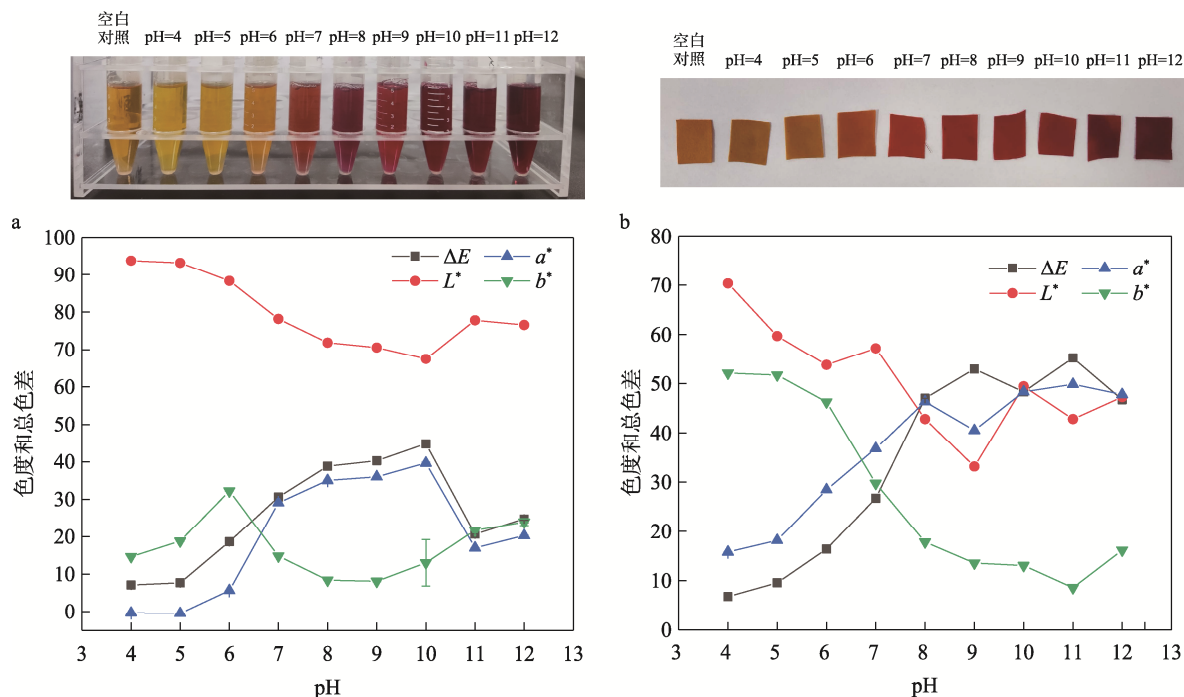


图 1 苏木色素 (a) 和指示标签 (b) 在不同 pH 下的颜色响应及其色度、总色差的变化
Fig.1 Color response, changes in colorimetric values and total color difference of sappanwood pigment (a) and indicator label (b) at different pH values

2.4 苏木色素和指示标签的傅里叶变换红外光谱分析

傅里叶变换红外光谱分析 (Fourier transform infrared spectrogram, FT-IR) 用于表征滤纸、苏木色素的化学结构, 并确定滤纸与苏木色素间可能存在的相互作用。苏木色素、空白滤纸及复合苏木色素的指示标签 FT-IR 谱图如图 2 所示。可以观察到, 苏木色素、滤纸和指示标签在 $3\,335\text{ cm}^{-1}$ 附近均有较宽的吸收峰, 对应苏木色素和滤纸纤维素中 O—H 键的伸缩振动; 在 $2\,903$ 、 $1\,633$ 、 $1\,031\text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰分别对应纤维素中 C—H 键的伸缩振动、O—H 键的变形振动及 C—O—H 键的变形振动; 在 $2\,916$ 、 $1\,598$ 、 $1\,027\text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰分别对应苏木色素中 C—H 键的伸缩振动、苯环骨架的伸缩振动及 C—O—H 键的变形振动^[29], 是苏木色素的特征峰。将苏木色素复合在滤纸上后, 这些吸收峰会发生偏移, 提示苏木色素已复合在滤纸中, 但未对滤纸的分子结构产生明显的影响。

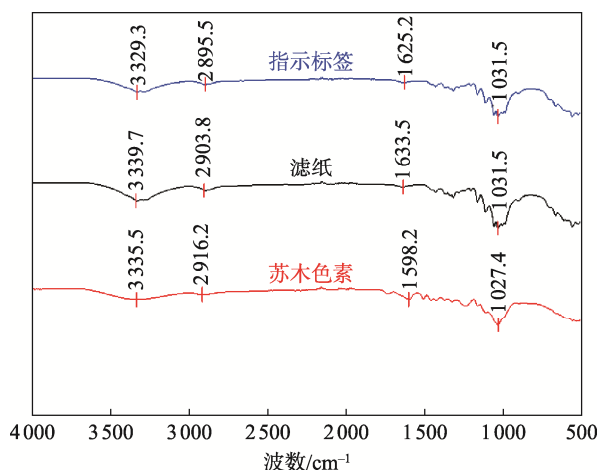


图 2 傅里叶变换红外光谱
Fig.2 Fourier transform infrared spectrogram

2.5 苏木色素的指示机理

苏木色素的分子结构在一定 pH 范围内存在离解平衡, 从而引起颜色的变化^[23]。结合紫外-可见光谱, 分析考察了苏木色素在不同 pH 缓冲溶液中的颜色变化情况, 结果如图 3 所示。由图 3a 可知, 在 pH 为 4~7 时, 溶液随着 pH 的增加, 由黄色逐渐变深为橙色; 在 pH 为 8~12 时, 溶液进一步变深, 逐渐变为深红色, 说明苏木色素的分子结构发生了转变, 其变化原理如图 3b 所示。当 pH=5 时, 最大吸收峰位于 445 nm 处, 此时苏木色素的羟基保持原型。随着 pH 的增大, 羟基转化成共轭程度更高的氧负离子, 吸收峰发生红移和增色效应, 因而其紫外-可见光谱的最大吸收峰波长从 445 nm 红移至 536 nm , 溶液颜色变深, 逐渐变为红色, 这与 Rondão 等^[21]的研究结论一致。

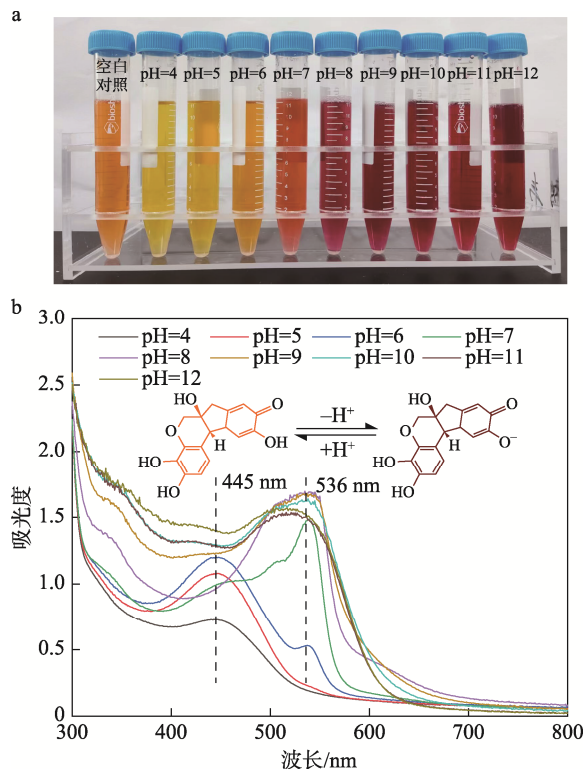


图 3 苏木色素在 pH 为 4~12 时缓冲溶液中的颜色响应 (a) 和 UV-Vis 谱 (b)

Fig.3 Color response (a) and UV-Vis spectra (b) of sappanwood pigment in buffer solution at pH=4-12

2.6 指示标签的氨敏感性分析

为了模拟所制备的指示标签对猪肉腐败期间产生的挥发性化合物的响应, 进一步测试了指示标签在不同浓度氨水氛围下的颜色响应情况, 结果如图 4a 所示。随着氨水浓度的增加, 指示标签的颜色由黄色逐渐变为浅红色。这是因为氨水挥发出的 NH_3 导致密闭环境中的 pH 增大, 因而指示标签的颜色随之变化。指示标签在不同浓度氨水下色度和总色差的变化情况如图 4b 所示。在氨水的质量浓度为 $7.5\sim 30\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时, 指示标签的 ΔE 随着氨水浓度的增加显著增大, 在 $30\text{ }\mu\text{g/mL}$ 氨水氛围下达到 (31.73 ± 3.06) 。当氨水浓度进一步增大时, 指示标签的 ΔE 无明显变化, 说明此时指示标签的颜色已饱和。根据 Prietto 等^[28]的研究结果可知, 在总色差大于 5 时, 其颜色的变化可以用肉眼分辨, 因此所制备的指示标签具有检测食品新鲜度的潜力。

在不同浓度氨水下, 指示标签的全部区域 ($1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$) 均变色所需的时间如表 1 所示。由表 1 可知, 在氨水的质量浓度超过 $30\text{ }\mu\text{g/mL}$ (即指示标签颜色达到饱和) 后, 其全部区域 ($1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$) 均变色所需的时间随着氨水浓度的增加而减小, 提示指示标签的全部区域 ($1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$) 均变色所需时间亦可作为猪肉新鲜度的评价指标。

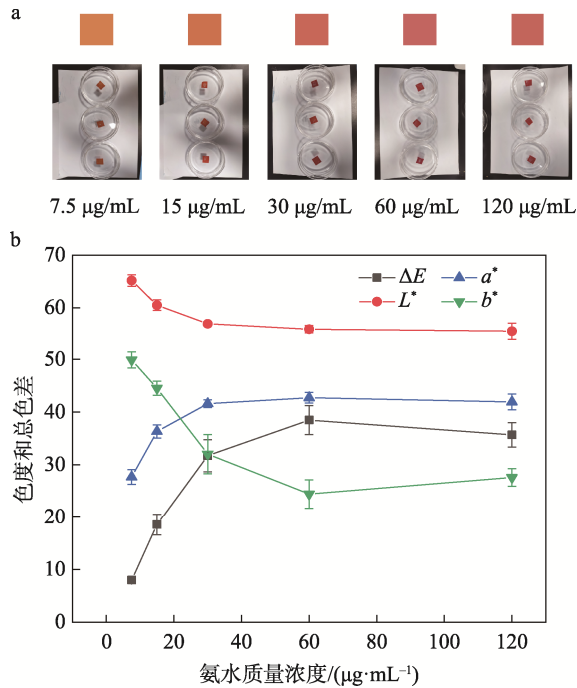


图 4 指示标签在不同浓度氨水下的颜色响应 (a) 和色度、总色差的变化 (b)

Fig.4 Color response (a) and changes in colorimetric values and total color difference (b) of indicator label at different concentrations of aqueous ammonia

表 1 在不同浓度氨水下指示标签的全部区域均变色所需的时间

Tab.1 Time required for indicator label to change color everywhere under different concentrations of aqueous ammonia

氨水质量浓度/(µg·mL ⁻¹)	7.5	15	30	60	120
完全变色时间	10 min 内	(8'31"±23") ^a	(7'7"±11") ^b	(4'35"±9") ^c	
未完全变色					

注: 不同小写字母表示具有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.7 指示标签应用于猪肉新鲜度的监测

挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量是判断猪肉品质的重要指标^[30]。随着存放时间的延长, 环境中的微生物会利用猪肉中的氨基酸、肽、核苷酸等营养成分生长代谢, 并发生脱氨、脱羧等反应, 形成了大量的挥发性含氮物质, TVB-N 含量不断增加^[31]。通常, TVB-N 值 ≤ 15 mg/(100 g) 表示猪肉新鲜, TVB-N 值 ≤ 25 mg/(100 g) 表示猪肉次级新鲜, TVB-N 值 >25 mg/(100 g) 表示猪肉已腐败^[32]。

由图 5 可知, 刚买的猪肉 (存放第 0 h) 的 TVB-N 值为 (10.42 ± 0.07) mg/(100 g), pH 为 (6.06 ± 0.10) 。在室温下存放 12 h 后, 猪肉的 TVB-N 值升至 (14.55 ± 0.07) mg/(100 g), pH 降至 (5.77 ± 0.04) , 可能源自猪肉中的肌糖原分解, 产生了酸性物质 (如乳酸)^[33], 此时猪肉依旧新鲜可食。在室温下存放 24 h 后, 猪肉的 TVB-N 值升至 (20.73 ± 0.07) mg/(100 g), pH 为 (6.04 ± 0.13) , 此时猪肉处于次级新鲜状态。在室温下存放 36 h 后,

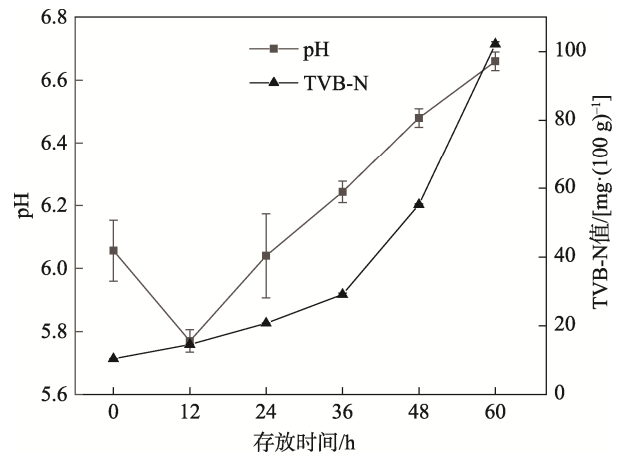


图 5 不同腐败时间下猪肉的 pH、TVB-N 含量的变化

Fig.5 Changes in pH value and TVB-N content of pork under different corrupt degrees

猪肉的 TVB-N 值进一步升至 (29.10 ± 0.42) mg/(100 g), 超过了限定值, 猪肉已经腐败变质, pH 则升至 (6.24 ± 0.03) , 进一步促进了微生物的生长, 因此贮藏后期猪肉的腐败变质更加明显。在室温下存放 48 h 后, 猪肉的 TVB-N 值大幅增至 (55.22 ± 0.25) mg/(100 g)。

TVB-N 含量的增加会引起体系 pH 的变化, 因而也会改变指示标签的颜色。猪肉在室温下存放 12~60 h 内指示标签的颜色和总色差变化情况如图 6 所示。结合上述 TVB-N 含量可知, 在室温下存放 24 h 后为次级新鲜猪肉, 此时指示标签的颜色为黄色。在室温下存放 36 h 后为腐败猪肉, 此时指示标签变为橙红色,

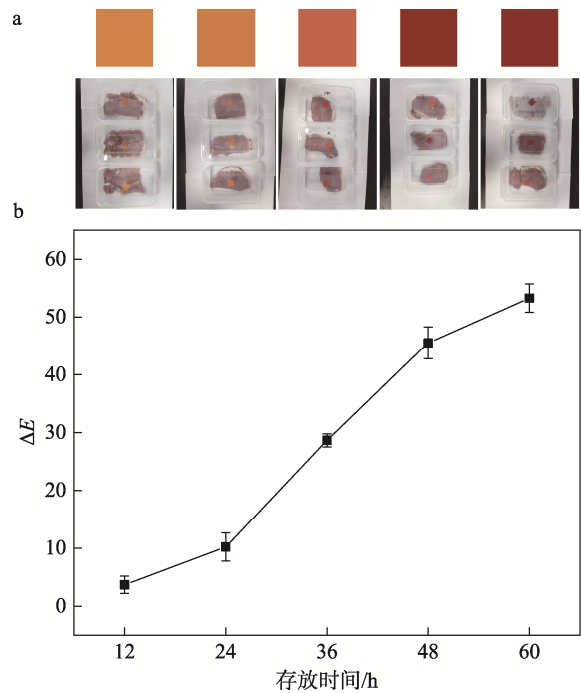


图 6 指示标签在猪肉新鲜度监测应用中的颜色变化 (a) 和总色差变化 (b)

Fig.6 Color changes (a) and total color difference (b) of indicator label applied in monitoring pork freshness

ΔE 为 (28.63 ± 1.12) , 颜色变化肉眼可见。随着腐败程度的加深, 颜色变化更明显, 指示标签变为红色, 在室温下存放 48 h 时 ΔE 为 (45.50 ± 2.76) 。

进一步分析了在室温下存放 12~60 h 的猪肉新鲜度指标 (pH、TVB-N 值) 与指示标签的 ΔE 的相关性, 结果见表 2。由表 2 可知, 指示标签的 ΔE 与猪肉在室温下存放过程中的 pH、TVB-N 含量的显著性 (双尾) 分别为 0.002、0.036, 均小于 0.05, 相关性系数分别为 0.984、0.903, 说明 pH 和 TVB-N 值与 ΔE 之间存在显著相关性。进一步对室温下存放 12~60 h 的猪肉新鲜度指标 (pH、TVB-N 值) 与指示标签的 ΔE 进行回归拟合, 结果如图 7 所示,

表 2 指示标签 ΔE 与猪肉 pH、TVB-N 含量的相关性和显著性分析

Tab.2 Correlation and significance analysis between ΔE value of indicator label and pH value and TVB-N content of pork

指标	检验项目	结果
pH 值	Pearson 相关性	0.984
	显著性 (双侧)	0.002
TVB-N 值	Pearson 相关性	0.903
	显著性 (双侧)	0.036

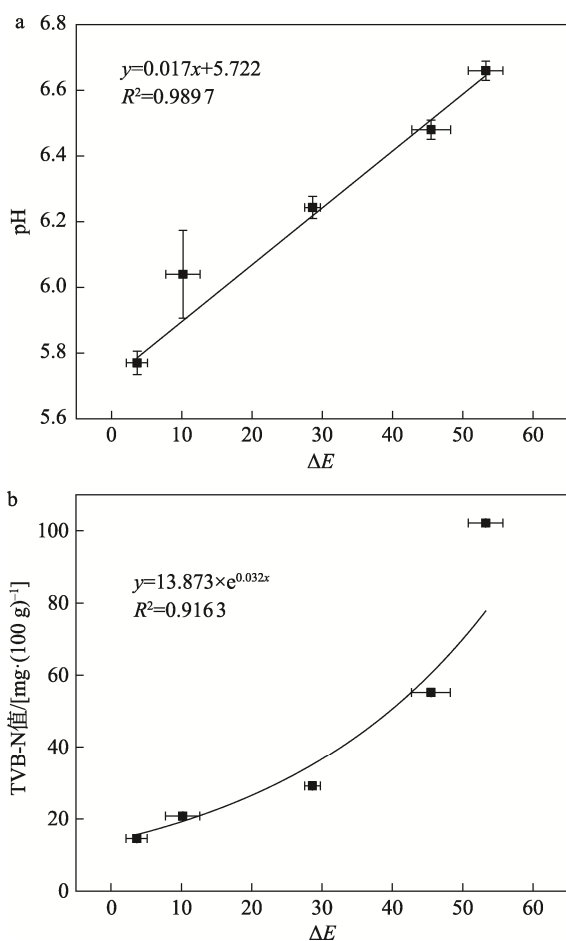


图 7 指示标签 ΔE 与猪肉 pH (a) 和 TVB-N 值 (b) 的回归拟合分析结果
Fig.7 Regression fitting analysis results of ΔE value of indicator label versus pH value (a) and TVB-N content (b) of pork

可得线性相关系数 (R^2) 分别为 0.989 7、0.916 3。表明指示标签的 ΔE 和猪肉腐败过程中的 pH、TVB-N 值存在相关性。证明所制备的苏木色素指示标签可用于猪肉的新鲜度监测。

指示标签在不同腐败程度猪肉中其全部区域均变色所需要的时间如表 3 所示。由表 3 可知, 猪肉变质后, 指示标签全部区域均变色所需的时间在 10 min 内, 且随着猪肉腐败程度的增加而减小, 表明可将指示标签全部区域均变色所需的时间作为猪肉新鲜度的评价指标, 且基于时间来判断新鲜度提升了消费者的使用便利性。

表 3 在不同腐败程度猪肉中指示标签的全部区域均变色所需的时间

Tab.3 Time required for indicator label to change color everywhere in pork with different corruption degrees

腐败时间/h	12	24	36	48	60
完全变色时间	10 min 内				
未完全变色	$(7'56'' \pm 17'')^a$ $(6'42'' \pm 7'')^b$ $(5'54'' \pm 8'')^c$				

注: 不同小写字母表示具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

3 结语

以天然苏木色素为 pH 指示剂, 以定性滤纸为载体, 制备了一种可视化监测猪肉新鲜度的指示标签。利用比色分析和氨敏感性分析对标签的指示性能进行了测试表征, 结果表明, 标签随着 pH 的增大由黄色变为暗红色, 颜色变化明显。将该标签应用于常温下猪肉新鲜度监测, 标签在猪肉腐败过程中由黄色变为橙红色, 颜色变化肉眼可见, 且随着猪肉腐败程度的增大, 标签逐渐变为红色。相关性分析表明, 在猪肉腐败过程中 pH、TVB-N 含量与指示标签的 ΔE 存在显著相关性。此外, 指示标签全部区域均变色所需的时间也与猪肉腐败程度相关, 说明基于苏木色素制作的新鲜度指示标签可通过色差变化或色差的变化时间来监测猪肉的新鲜度, 这为新型天然色素类食品新鲜度指示标签的开发和应用提供了数据参考。

参考文献:

- [1] 林亚青, 房子舒. 猪肉新鲜度检测方法综述[J]. 肉类研究, 2011, 25(5): 62-65.
LIN Y Q, FANG Z S. A Review on Detection Methods for Pork Freshness[J]. Meat Research, 2011, 25(5): 62-65.
- [2] DAS J, MISHRA H N. A Comprehensive Review of the Spoilage of Shrimp and Advances in Various Indicators/Sensors for Shrimp Spoilage Monitoring[J]. Food Research International, 2023, 173: 113270.
- [3] HOLMAN B W B, BEKHIT A E D A, WALLER M, et

- al. The Association between Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Concentration and Other Biomarkers of Quality and Spoilage for Vacuum Packaged Beef[J]. *Meat Science*, 2021, 179: 108551.
- [4] 李静仪, 杨欣, 张宁, 等. 基于功能化 MOFs 气敏材料结合荧光光谱技术检测冷鲜猪肉新鲜度的可行性研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2023, 43(7): 2105-2111.
LI J Y, YANG X, ZHANG N, et al. Feasibility Study on Detecting the Freshness of Chilled Pork Based on Functionalized MOFs Gas-Sensitive Materials Combined with Fluorescence Spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2023, 43(7): 2105-2111.
- [5] 蓝蔚青, 孙雨晴, 张楠楠, 等. 基于近红外光谱建立大黄鱼新鲜度预测模型[J]. *包装工程*, 2020, 41(17): 1-6.
LAN W Q, SUN Y Q, ZHANG N N, et al. Prediction Model for Freshness of Large Yellow Croaker Based on near Infrared Spectroscopy[J]. *Packaging Engineering*, 2020, 41(17): 1-6.
- [6] 马瑜璐. 气相色谱-质谱-指纹图谱技术分析猪肉新鲜度的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 10-12.
MA Y L. Study on the Pork Freshness by GC-MS and Fingerprints[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011: 10-12.
- [7] WOJNOWSKI W, KALINOWSKA K, MAJCHRAZAK T, et al. Prediction of the Biogenic Amines Index of Poultry Meat Using an Electronic Nose[J]. *Sensors*, 2019, 19(7): 1580.
- [8] WU D, ZHANG M, CHEN H Z, et al. Freshness Monitoring Technology of Fish Products in Intelligent Packaging[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(8): 1279-1292.
- [9] WELLS N, YUSUFU D, MILLS A. Colourimetric Plastic Film Indicator for the Detection of the Volatile Basic Nitrogen Compounds Associated with Fish Spoilage[J]. *Talanta*, 2019, 194: 830-836.
- [10] CHEN H Z, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Development of a Novel Colorimetric Food Package Label for Monitoring Lean Pork Freshness[J]. *LWT*, 2019, 99: 43-49.
- [11] MOHAMMADIAN E, ALIZADEH-SANI M, JAFARI S M. Smart Monitoring of Gas/Temperature Changes within Food Packaging Based on Natural Colorants[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(6): 2885-2931.
- [12] 陈良哲, 熊泽宇, 贾丹丹, 等. 基于黑果枸杞花青素的智能标签: 新鲜度指示性能和机理[J]. *材料导报*, 2022, 36(23): 168-173.
CHEN L Z, XIONG Z Y, JIA D D, et al. Intelligent Label of Anthocyanins Based on Lycium Ruthenicum Murray: Freshness Indicator Property and Mechanism[J]. *Materials Reports*, 2022, 36(23): 168-173.
- [13] 方仕阳, 钟秋夏, 张一弛, 等. 乙基纤维素/蓝莓花青素浸泡型标签对牛奶新鲜度的指示[J]. *包装工程*, 2023, 44(11): 27-37.
FANG S Y, ZHONG Q X, ZHANG Y C, et al. Indication of Milk Freshness by Ethyl Cellulose/Blueberry Anthocyanin Immersion Label[J]. *Packaging Engineering*, 2023, 44(11): 27-37.
- [14] 董春娟, 曹银娟, 苟俏敏, 等. 蝶豆花提取物-马铃薯氧化羟丙基淀粉/果胶指示标签的制备及应用[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(5): 156-163.
DONG C J, CAO Y J, GOU Q M, et al. Preparation and Application of Potato Oxidized Hydroxypropyl Starch/Pectin-Clitoria Ternatea Extract Indicator Label[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(5): 156-163.
- [15] ROSTINI I, JUNIANTO, WARSIKI E. Designing Bio-Based Color Sensor from Myofibrillar-Protein-Based Edible Film Incorporated with Sappan Wood (*Caesalpinia Sappan* L) Extract for Smart Food Packaging[J]. *Applied Sciences*, 2023, 13(14): 8205.
- [16] NATHAN V K, RANI M E. Natural Dye from *Caesalpinia Sappan* L. Heartwood for Eco-Friendly Coloring of Recycled Paper Based Packing Material and Its in Silico Toxicity Analysis[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(22): 28713-28719.
- [17] NIRMAL N P, PANICHAYUPAKARANANT P. Antioxidant, Antibacterial, and Anti-Inflammatory Activities of Standardized Brazilin-Rich *Caesalpinia Sappan* Extract[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2015, 53(9): 1339-1343.
- [18] 夏丽, 陈向梅, 彭莉蓉, 等. 苏木对红花中羟基红花黄色素 A 的药代动力学影响[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(2): 269-272.
XIA L, CHEN X M, PENG L R, et al. Pharmacokinetic Effect of Sappan Lignum on Hydroxysafflor Yellow a in *Carthami Flos*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(2): 269-272.
- [19] 邓成杰, 刘爽, 徐晓云, 等. 苏木化学成分及药理作用的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2020, 22(5): 810-826.
DENG C J, LIU S, XU X Y, et al. Research Progress on Chemical Constituents and Pharmacological Effects of Sappan Lignum[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2020, 22(5): 810-826.
- [20] VIJ T, ANIL P P, SHAMS R, et al. A Comprehensive Review on Bioactive Compounds Found in *Caesalpinia*

- sappan[J]. *Molecules*, 2023, 28(17): 6247.
- [21] RONDÃO R, SEIXAS DE MELO J S, PINA J, et al. Brazilwood Reds: The (Photo)Chemistry of Brazilin and Brazilein[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2013, 117(41): 10650-10660.
- [22] NGAMWONGLUMLERT L, DEVAHASTIN S, CHIEWCHAN N, et al. Color and Molecular Structure Alterations of Brazilein Extracted from *Caesalpinia Sappan* L under Different pH and Heating Conditions[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 12386.
- [23] 王芳, 陈满儒, 赵郁聪, 等. 冷鲜肉新鲜度指示标签的研究及应用进展[J]. *包装工程*, 2020, 41(5): 83-90.
- WANG F, CHEN M R, ZHAO Y C, et al. Progress in Study and Application of Chilled Meat Freshness Indicator[J]. *Packaging Engineering*, 2020, 41(5): 83-90.
- [24] 李佳茜, 祁忆青. 超声波辅助浸提苏木色素及其稳定性研究[J]. *林产工业*, 2022, 59(12): 20-26.
- LI J X, QI Y Q. Study on Ultrasonic Assisted Extraction of Sappanwood Pigment and Its Stability[J]. *China Forest Products Industry*, 2022, 59(12): 20-26.
- [25] 田鑫. 基于天然色素的虾新鲜度监测指示标签的研究与制作[D]. 石河子: 石河子大学, 2021: 10.
- TIAN X. Research and Production of Indicator Labels for Shrimp Freshness Monitoring Based on Natural Pigments[D]. Shihezi: Shihezi University, 2021: 10.
- [26] 杜月红, 王琳, 高晓光, 等. 猪肉新鲜度指示标签的制备及应用[J]. *肉类研究*, 2020, 34(5): 41-47.
- DU Y H, WANG L, GAO X G, et al. Preparation and Application of Indicator Labels for Identification of Pork Freshness[J]. *Meat Research*, 2020, 34(5): 41-47.
- [27] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定: GB 5009.228—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 3-5.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standards Determination of Volatile Base Nitrogen in Food: GB 5009.228-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 3-5.
- [28] PRIETTO L, MIRAPALHETE T C, PINTO V Z, et al. pH-Sensitive Films Containing Anthocyanins Extracted from Black Bean Seed Coat and Red Cabbage[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2017, 80: 492-500.
- [29] 渠磊. 七种茎木类药材红外表征鉴定方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016: 45.
- QU L. Research on Infrared Characterization and Identification of Seven Caulis and Lignum Chinese Medicines[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2016: 45.
- [30] LI H H, CHEN Q S, ZHAO J W, et al. Nondestructive Detection of Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Content in Pork Meat by Integrating Hyperspectral Imaging and Colorimetric Sensor Combined with a Nonlinear Data Fusion[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 63(1): 268-274.
- [31] 董越, 李文博, 孙武亮, 等. 基于肉中挥发性生物胺的新鲜度检测智能标签研究进展[J]. *包装工程*, 2021, 42(19): 129-135.
- DONG Y, LI W B, SUN W L, et al. Research Progress of Smart Labels for Freshness Detection Based on Volatile Biogenic Amines in Meat[J]. *Packaging Engineering*, 2021, 42(19): 129-135.
- [32] 王冰雪, 宋向颖, 张爱武, 等. 猪肉新鲜度溴甲酚紫基指示卡的研究[J]. *包装与食品机械*, 2014, 32(6): 18-21.
- WANG B X, SONG X Y, ZHANG A W, et al. Development of Indicating Cards for Freshness of Pork Based on Bromocresol Purple[J]. *Packaging and Food Machinery*, 2014, 32(6): 18-21.
- [33] 袁宝多, 马坤瑛, 端肖楠, 等. 猪肉新鲜度快速检测方法及相关性分析[J]. *食品工业*, 2021, 42(8): 270-274.
- YUAN B D, MA K Y, DUAN X N, et al. The Method for Rapid Detection and Correlation Analysis of Pork Freshness[J]. *The Food Industry*, 2021, 42(8): 270-274.