

蓝莓花青素智能指示膜的制备及应用

封晴霞¹, 王利强^{1,2*}

(¹ 江南大学 江苏无锡 214122

² 江苏省食品先进制造装备技术重点实验室 江苏无锡 214122)

摘要 以蓝莓花青素(BA)作为新鲜度指示剂,以玉米淀粉(CS)、羧甲基纤维素(CMC)为成膜基材,采用流延法制备智能指示膜。分析不同质量分数花青素对复合膜在机械性能、含水率、水蒸气透过率、热稳定性、红外光谱、表面微结构以及灵敏度等的影响。结果表明:当 BA 质量分数为 3%时,指示膜的断裂伸长率最高,含水率与水蒸气透过率最低,且灵敏度最好;当 BA 质量分数为 18%时,抗拉伸强度最高,热稳定性最好。傅里叶红外光谱及扫描电镜分析表明,BA 与其它两种成膜基质相容性良好,且能改善各分子间的相容性。将指示膜用于牛肉新鲜度的监测,在 25 ℃下牛肉贮藏 24 h,挥发性盐基氮达 15.94 mg/100 g,表明牛肉开始腐败,此时指示膜颜色变为浅紫色,贮藏 48 h 后变为浅蓝色。本研究结果可为蓝莓花青素智能指示膜的开发应用提供参考。

关键词 蓝莓花青素; 指示膜; 玉米淀粉; 羧甲基纤维素; 新鲜度

文章编号 1009-7848(2022)02-0281-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.02.030

智能包装是通过监测、感知、识别等智能系统,对环境或包装内装物的质量问题作出反馈,提高产品质量安全的一种包装技术^[1]。用于检测食品新鲜度的指示标签的原理是利用食品中的一些特征性气体,例如挥发性含氮、含硫化合物、CO₂、乙烯等与特定试剂发生反应,从而产生指示标签颜色的变化,使人们可以直观地观察到食品新鲜与否^[2]。目前,新鲜度指示智能标签已成为食品包装的一个主要趋势,随着越来越多人的关注,快捷方便、灵敏度高、稳定性好的新鲜度指示标签成为国内外众多研究人员、学者的研究重点^[3]。

目前常用的溴甲酚绿、甲基红、溴甲酚紫等化学合成的新鲜度指示剂含有一定毒性,存在安全隐患。来源广泛、安全无污染的天然色素受到广泛关注。花青素是一类黄酮的天然水溶性色素,在不同 pH 值溶液环境中呈现不同的颜色,可作为 pH 值指示剂。Liu 等^[4]设计了一种以 κ-卡拉胶与枸杞花青素为原料的 pH 值敏感指示膜,用来检

测牛奶和虾类的新鲜度。试验表明,该指示膜不仅可检测牛奶、虾类的新鲜度,还具有良好的抗氧化性。Zhang 等^[5]制备了一种基于淀粉/聚乙烯醇的花青素 pH 值指示膜,以紫薯花青素和红甘蓝花青素作为指示剂,用于检测虾肉的新鲜度。蓝莓有“花青素之王”的称号,其花青素含量高,种类多,无毒、无污染且显色灵敏,对肉类腐败产生的挥发性含氮化合物具有较高的灵敏度^[6]。另外,新鲜度指示剂的载体材料主要包括一些安全无毒、具有良好的降解性和生物相容性的天然高分子材料,如淀粉、壳聚糖、羧甲基纤维素^[7]、琼脂^[8]、聚乙烯醇以及它们的复合物等。

本研究以蓝莓花青素(Blueberry anthocyanin, BA)作为指示剂,以玉米淀粉(Corn starch, CS)、羧甲基纤维素(Carboxymethyl cellulose, CMC)为成膜基材,通过流延法制备智能指示膜。通过比较不同 BA 含量复合膜的机械性能、含水率、水蒸气透过率、热稳定性、红外光谱、表面微结构及灵敏度等,分析其性能和可行性,并用于牛肉新鲜度的监测。研究结果旨在为花青素智能指示膜在肉类食品的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝莓花青素(30%),陕西萃雅佳生物科技有

收稿日期: 2021-02-01

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(JUSRP 21115);江苏省食品先进制造装备技术重点实验室自主研究课题资助项目(FMZ201902);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX 20_0756)

作者简介: 封晴霞(1995—),女,硕士生

通信作者: 王利强 E-mail: wlqcom@163.com

限公司;玉米淀粉、甘油,上海麦克林生化科技有限公司;羧甲基纤维素、氨水,国药集团化学试剂有限公司;无水氯化钙,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;试验所用水均为去离子水。

1.2 仪器与设备

CH-1-ST型千分台式薄膜测厚仪,上海精密仪器仪表有限公司;UTM5205X型微机控制电子万能试验机,深圳三思纵横科技股份有限公司;UV-1800紫外分光光度计,日本岛津公司;DK-S22型电热恒温水浴锅、DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;FE28-Standard台式pH计,美国梅特勒-托利多仪器有限公司;RQH-350型人工气候箱,上海右一仪器有限公司;AX124ZH/E型电子天平,常州奥豪斯仪器有限公司;Nicolet is10型傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;DSC Q2000型差示扫描量热仪,美国沃特世公司;su1510型扫描电子显微镜,日本日立株式会社;CR-400/410型色彩色差计,柯尼卡美能达。

1.3 方法

1.3.1 蓝莓花青素溶液对pH值变化的响应 将13份等量蓝莓花青素溶液置于pH值为1~13的缓冲液中,观察花青素在不同pH值所经历的颜色变化。用紫外-可见分光光度计测定溶液的吸光度曲线,扫描波长设置为400~800 nm。

1.3.2 智能指示膜的制备 称取2.0 g玉米淀粉(Corn starch, CS)放入100 mL蒸馏水中,在水浴温度为75℃下磁力搅拌25 min至淀粉全部糊化,温度冷却至50℃,加入2.0 g羧甲基纤维素(Carboxymethyl cellulose, CMC),继续搅拌使其完全溶解,再加入1.0 mL甘油持续搅拌,使各成分相互交联形成均匀的混合溶液,冷却至室温。分别向上述混合溶液中加入成膜基质干重0%,3%,6%,12%,18%的蓝莓花青素,磁力搅拌15 min后超声消泡。将制得的蓝莓花青素混合溶液缓慢均匀地流延至干净光滑的塑料板上,在温度为35℃的烘箱中干燥24 h。将复合膜避光放入温度25℃,相对湿度55%的恒温恒湿箱中平衡48 h,测定复合膜性能。

1.3.3 指示膜的表征

1.3.3.1 厚度与机械性能测试 用千分台式薄膜

测厚仪测试膜厚度,在待测膜表面随机测8个点,取平均值,单位 μm 。拉伸强度(Tensile strength, TS)和断裂伸长率(Elongation at break, EB)参考GB/T 13022-1991《塑料 拉伸性能的测定》^[9],将待测样品裁剪成60 mm×20 mm的长方形规格,初始夹距40 mm,拉伸速度36 mm/min,每组样品测试5个平行。拉伸强度和断裂伸长率公式见式(1)和(2)。

$$\text{TS}(\text{MPa}) = \frac{F_m}{w \times d} \quad (1)$$

式中, F_m ——试样断裂时承受的最大拉力,N; w ——试样的宽度,mm; d ——试样厚度,mm。

$$\text{EB}(\%) = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \times 100 \quad (2)$$

式中, L_1 ——膜断裂时达到的最大拉伸长度,mm; L_0 ——初始夹距长度,mm。

1.3.3.2 含水率及水蒸气透过率 称取质量为 m_0 (g)的膜样品置于105℃烘箱内烘干至恒重,记录此时的样品质量 m_1 (g),每组样品重复测定3次。含水率(MC)计算公式如(3)所示。

$$\text{MC}(\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100 \quad (3)$$

称取5 g无水氯化钙于直径50 mm,高30 mm的干燥圆形称量瓶中,取待测膜样品覆于瓶口位置,橡皮筋缠绕密封,称量后放入温度25℃,相对湿度75%的恒温、恒湿箱中,放置5 d后称重。每组样品测试3个平行。按公式(4)计算膜样品的水蒸气透过系数(WVP)。

$$\text{WVP}[\text{g} \cdot \text{mm}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa})] = \frac{\Delta m}{t \times A} \times \frac{D}{\Delta P} \quad (4)$$

式中, Δm ——样品中水分透过的质量,g; t ——放置时间,h; A ——样品透过水分的有效面积, m^2 ; D ——膜厚度,mm; ΔP ——膜两侧水蒸气压力差,Pa。

1.3.3.3 膜的热稳定性 采用差示扫描量热仪(DSC)研究蓝莓花青素指示膜的热稳定性。称取质量为5~7 mg的膜材料放入固体坩埚中,测试温度范围为30~250℃,升温速度10℃/min,并在30℃稳定5 min, N_2 的泵入速度为60 mL/min。

1.3.3.4 膜的红外光谱图(FT-IR) 使用傅里叶变换红外光谱仪测定成膜材料及指示膜的红外光谱。扫描范围为4 000~600 cm^{-1} ,扫描次数32次,

分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.3.5 膜的表面微观结构 使用扫描电子显微镜采集膜的表面微观结构并拍照记录。试样检测前,先将指示膜裁剪成 $10 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ 的正方形试样,真空溅射喷金,加速电压设置为 5 kV 。

1.3.3.6 膜对挥发氨的响应 牛肉变质过程中产生的挥发性盐基氮包括氨及胺类等挥发性有毒气体,其中以氨气为主要气体^[10],因此利用氨气来模拟肉类食品在腐败变质过程中挥发性盐基氮的释放。参考 Zhai 等^[11]和陈慧芝^[12]的方法,并进行适当调整。在 50 mL 离心管中加入 45 mL 浓度为 8 mmol/L 的氨水,将膜 ($2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$) 固定于培养基内,倒扣于瓶口,在室温条件下采集膜的图像信息,每 3 min 一次,共 21 min 。使用 Photoshop 2018 颜色取样器提取膜的 RGB 值各 10 组,取均值,计算膜的灵敏度。计算公式如(5)所示。

$$S(\%) = \frac{|R-R_0|+|G-G_0|+|B-B_0|}{R+G+B} \times 100 \quad (5)$$

式中, R_0 —— 0 min 的红色值; G_0 —— 0 min 的绿色值; B_0 —— 0 min 的蓝色值; R ——测试时红色值; G ——测试时绿色值; B ——测试时蓝色值。

1.3.4 牛肉新鲜度的检测 取 10 g 当天购买的新鲜牛肉置于 $8 \text{ cm} \times 8 \text{ cm} \times 4 \text{ cm}$ 的塑料展示盒内,将大小为 $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ 的正方形指示膜放置在盒顶部,并用保鲜膜密封后置于 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温恒湿箱中贮藏 48 h ,每隔 12 h 利用色差仪测定膜的 L^* 值(亮度)、 a^* 值(红绿度)、 b^* 值(黄蓝度),按照公式(6)计算 ΔE 值,当 $\Delta E > 5$ 时,颜色变化可被肉眼区分^[13]。根据 GB 5009.228-2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》测定牛肉的 TVB-N 值^[14]。

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2} \quad (6)$$

式中, L^* ——样品实测亮度值; a^* ——样品实测红绿度值; b^* ——样品实测黄蓝度值; L_0 ——样品初始亮度值; a_0 ——样品初始红绿度值; b_0 ——样品初始黄蓝度值。

1.4 数据统计与分析

使用 SPSS 17.0、Origin 2018、Excel 2014 进行数据处理,试验结果以平均值 \pm 标准差表示,利用方差分析进行显著性分析, $P < 0.05$ 说明差异显著。

2 结果与分析

2.1 蓝莓花青素溶液在不同 pH 值下的颜色变化及可见光谱分析

花青素在不同 pH 值条件下会呈现不同的颜色。如图 1a 所示,在 pH 1~13 范围,蓝莓花青素的颜色变化依次为红色 \rightarrow 浅红色 \rightarrow 紫色 \rightarrow 蓝色 \rightarrow 绿色 \rightarrow 黄褐色。溶液颜色的变化是由于花青素分子中含有高度分子共轭体系,在不同酸、碱条件下,自身结构会发生转变^[15]。在强酸性条件下,花青素主要以黄烊盐阳离子的分子形式存在,溶液呈红色^[16],随着 pH 值的升高,黄烊盐阳离子吸收氢氧根离子形成无色甲醇假碱,红色逐渐消失^[17],当 $\text{pH} > 8$ 时,花青素失去氢离子发生质子电子转移反应,在溶液中主要以蓝色的醌型碱结构形式存在,溶液逐渐变为蓝色^[18],最后,在强碱条件下,花青素因中心环打开而被降解,形成查尔酮,溶液变为黄褐色^[19]。因此,蓝莓花青素在不同 pH 值条件下 4 种结构的转变而呈现的不同颜色变化,使其可作为对 pH 值的响应指标。

图 1b 为 BA 溶液的紫外-可见光谱,一般来说,可见光谱的吸光度越大,溶液的显色程度越深^[20]。由图可知,在 pH 值 1~5 范围内,随着 pH 值的升高,溶液的最大吸收波长由 523 nm 移至 540 nm 处,吸光度值随之明显下降。当溶液 pH 值增至 8 时,最大吸收波长移动到 576 nm 。当 pH 值处于 9~13 范围时,最大吸收波长位于 593 nm 附近。

由于在可见光区的波长范围内,溶液显示的颜色是其吸光度互补色光的颜色,因此在绿色光波段,溶液呈现红色。 $A_{640\text{nm}}/A_{540\text{nm}}$ 表示红光波长与绿光波长的吸光度比值,可反映溶液红绿色的变化情况^[21],比值越小,说明溶液红色越深。由图 1c 可以看出,在 pH 1~13 范围内,吸光度比值呈线性关系。随着 pH 值的升高,比值增大,溶液由红色向绿色转变,且绿色逐步加深, $A_{640\text{nm}}/A_{540\text{nm}}$ 的线性回归方程为 $y = 0.0573x - 0.05451$, $R^2 = 0.96772$ 。花青素吸光度和波长随结构的转变不断发生变化,是一种良好的天然指示剂。

2.2 指示膜的表征

2.2.1 指示膜的特性 从表 1 中可以看出,BA 的加入对膜的厚度有显著性影响 ($P < 0.05$),可能是 BA 的加入使得指示膜分子间距离增加,提高了膜

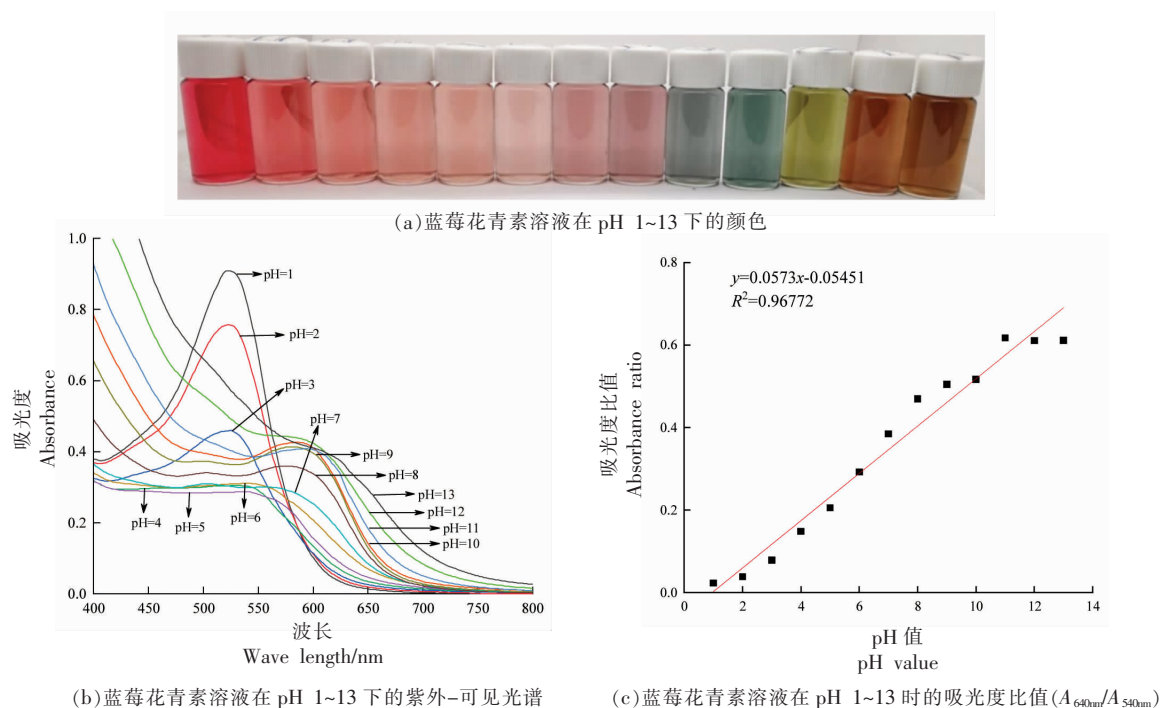


图 1 蓝莓花青素溶液在 pH 1~13 下的颜色及可见光谱吸收特征图

Fig.1 Color and visible spectral absorption characteristics of blueberry anthocyanin solution at pH 1~13

厚度。抗拉伸强度与断裂伸长率是评价包装材料性能好坏的最基本指标,良好的机械性能可提高食品运输过程中抗压能力和对食品的保护性^[22]。BA 含量为 3% 时指示膜的抗拉强度最小为 22.53 MPa,随着 BA 添加量的增加,膜的抗拉强度逐渐增加。抗拉强度的变化与指示膜分子中的氢键等分子间作用力和晶体结构有关^[23]。指示膜的断裂伸长率随着 BA 的加入先增加至 39.22% 后降低到 28.35%,断裂伸长率增加可能是因为 BA 的加入打破了成膜基质的晶体结构,降低了刚性结构,增加了可流动的聚合物数量^[24],随着 BA 含量的不断

增加,降低了成膜基质与水分子间的交联作用,断裂伸长率随之下降。指示膜含水率呈先增长后减小的趋势,当 BA 含量由 3% 增加至 6% 时,水分含量显著增加,可能因为 BA 是一种水溶性物质,使得指示膜中亲水性基团增加,含水率升高。水蒸气透过率是评价食品包装材料阻湿性能好坏的重要指标,是影响被包装产品质量的重要因素^[25],水蒸气透过率系数越小说明产品阻隔外部水蒸气的能力越好,因此水蒸气透过率系数(WVP)不应过大。随着 BA 的加入,水蒸气透过率系数逐渐增加,在 BA 添加量为 18% 时,水蒸气透过率最大,达 3.37×

表 1 指示膜的机械性能、含水率及水蒸气透过率

Table 1 Mechanical properties, moisture content and water vapor permeability of indicator films

指示膜名称	厚度/ μm	抗拉伸强度/MPa	断裂伸长率/%	含水率/%	水蒸气透过率 $\times 10^{-4}$ / $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$
CS/CMC	57.35 ± 1.23^b	26.30 ± 1.28^b	21.64 ± 1.02^d	13.60 ± 0.50^c	2.06 ± 0.12^c
CS/CMC-3% BA	64.42 ± 2.21^a	22.53 ± 2.01^c	39.22 ± 1.40^a	16.63 ± 0.75^d	2.22 ± 0.10^c
CS/CMC-6% BA	64.48 ± 1.96^a	26.93 ± 0.55^b	36.69 ± 3.53^{ab}	22.60 ± 0.92^b	2.85 ± 0.11^b
CS/CMC-12% BA	67.93 ± 2.48^a	28.13 ± 1.58^{ab}	34.85 ± 2.47^b	24.51 ± 1.31^a	3.25 ± 0.25^a
CS/CMC-18% BA	65.25 ± 2.11^a	30.60 ± 1.25^a	28.35 ± 1.57^c	18.93 ± 1.10^c	3.37 ± 0.31^a

注:同列数值中肩标的小写字母不同表示有显著性差异($P < 0.05$)。

$10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mm}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{Pa})$, 可能是因为 BA 具有多个酚羟基, 提高了膜的亲水性, 使膜吸附外界水分子的能力增强。

2.2.2 指示膜的热稳定性分析 差示扫描量热仪是用来测定物质在升降温过程中吸收或释放的热量, 测量样品和参比物的热流量差值随温度变化的一种热分析法^[26]。图 2 是花青素原料及 5 种复合膜的 DSC 曲线图。由图 2 可以看出, 花青素原料的峰值温度为 $123.41 \text{ }^\circ\text{C}$, 此温度为蓝莓花青素的多晶转变温度, CS/CMC 复合膜的峰值温度为 $124.20 \text{ }^\circ\text{C}$, 随着花青素的加入, 膜样品的峰值温度升高, 且花青素添加量越多, 峰值温度越大。可能是花青素与其它两种成膜基材的相互作用, 提高了指示膜材料整体结构的热稳定性。

热焓变和玻璃化转变温度 (T_g) 也可以反映试样的热稳定性, 一般情况下, 热焓变和玻璃化转变温度越高, 热稳定性越好^[27]。由表 2 可知, 18% 花青素含量的指示膜热焓值为 307.71 J/g , 与花青素粉末相比, 热焓值显著增加, 且花青素与玉米淀粉、羧甲基纤维素结合能明显提高 CS/CMC 膜的热焓值, 花青素含量越多, 指示膜多晶转变热焓值越大, 说明花青素指示膜发生相转变所吸收的热量增加, 热稳定性提高。CS/CMC-3% BA 指示膜的热焓值略小于 CS/CMC 膜, 可能是花青素含量太少, 不足以降低整体的总自由能。随着花青素的添加, 指示膜玻璃化转变温度逐渐升高, 18% 花青素添加量的膜材料玻璃化转变温度最高, 为 $109.91 \text{ }^\circ\text{C}$, 耐温性最好。综上, 花青素添加量越多, 膜的热稳定性越好。

2.2.3 指示膜的红外光谱图分析 FT-IR 可对物质进行定性分析, 有效表征有机物的分子结构和分子间的交联情况。在图 3 中可以看出, 成膜基材、CS/CMC 复合膜、智能指示膜在 3281 cm^{-1} 附近有明显强而宽的 O-H 伸缩振动峰, 这是由于 CS、CMC、BA 以及甘油等原料中均含有羟基。在 2927 cm^{-1} 和 2876 cm^{-1} 处的两个特征峰分别是有机物 $-\text{CH}_2$ 及 $-\text{CH}$ 的伸缩振动特征峰^[28]。BA 在 1609 cm^{-1} 和 1522 cm^{-1} 处的特征峰是花青素芳香环骨架上 $\text{C}=\text{C}$ 的伸缩振动引起的^[29], 另外蓝莓花青素是黄酮类物质, 其结构中的吡

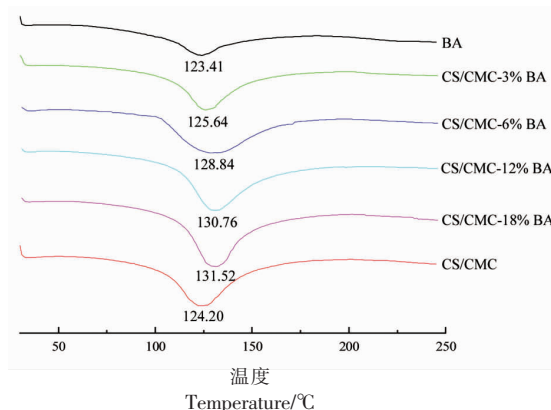


图 2 蓝莓花青素粉末及复合膜的 DSC 曲线图

Fig.2 DSC curves of blueberry anthocyanin powder and composite films

表 2 蓝莓花青素粉末及复合膜的热焓变及玻璃化转变温度
Table 2 Heat enthalpy change and glass transition temperature of blueberry anthocyanin powder and composite films

指示膜名称	热焓变/ $\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$	玻璃化转变温度/ $^\circ\text{C}$
BA	113.89	101.66
CS/CMC	240.31	101.58
CS/CMC-3% BA	219.60	102.75
CS/CMC-6% BA	280.76	103.05
CS/CMC-12% BA	300.99	108.66
CS/CMC-18% BA	307.71	109.91

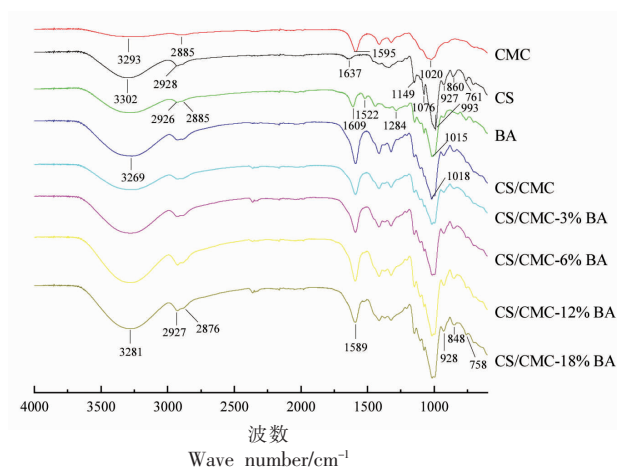


图 3 成膜基材和指示膜的红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of film-forming substrate and indicator films

喃环伸缩振动引起了 $1\ 284\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰的出现^[30], $1\ 015\ \text{cm}^{-1}$ 可能是由于芳香环上 C-H 的弯曲振动引起的。由 CMC、CS/CMC 复合膜的光谱图可知, 加入淀粉后 CMC $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰向低波数有所偏移, 说明基质间存在相互作用力。 $1\ 594\ \text{cm}^{-1}$ 处是 CMC 的特征结构 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动引起的, 在 CS/CMC-BA 智能指示膜中偏移至 $1\ 589\ \text{cm}^{-1}$ 处, 说明淀粉、羧甲基纤维素、蓝莓花青素等分子相互作用, 产生了分子间作用力^[31]。CS 光谱中 $761\sim 1\ 149\ \text{cm}^{-1}$ 波段处的吸收峰可能是由于结构中 C-O、C-C、C-O-C 的伸缩振动以及 O-H 的弯曲振动引起的, 这些特征峰在 CS/CMC 复合膜以及 CS/CMC-BA 智能指示膜中均有体现, 在 $1\ 637\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰是由于淀粉易吸收水分, 与水分子密切结合产生的。加入蓝莓花青素后, $750\sim 950\ \text{cm}^{-1}$ 范围内吸收峰强度明显增强, 指示膜的力学性能有所改变, 这可能是花青素芳香环结构发生了邻位取代引起的^[32]。在指示膜的光谱图中并未观察有新峰产生, 表明在成膜后没有产生新的共价键。因此, FT-IR 图分析结果表明, BA 能很好地嵌入到成膜基材中, 与成膜基材 CS、CMC 的相容

性良好, 指示膜的性能主要由分子间作用力决定, 各成膜基材的化学成分均未受到影响。

2.2.4 膜的扫描电镜分析 通过 SEM 图可以判断复合膜内部各成分的分散状态及相容性情况, 一般情况下, 膜的表面平整光滑, 结构均匀, 无明显凸起和褶皱, 说明成膜性良好, 复合膜各成分间相容性高, 反之, 膜表面出现粗糙颗粒和明显孔隙^[33]。图 4 为 5 种复合膜放大 1 000 倍的表面微观结构, 由图可知, 5 种膜表面平整均匀, 未出现明显颗粒聚集和裂痕, 说明成膜基质间相容性良好。此外, 相比于未添加蓝莓花青素的 CS/CMC 复合膜, 加入蓝莓花青素的指示膜表面更加紧致光滑, 说明蓝莓花青素不仅与 CS/CMC 具有良好的相容性, 同时还可改善 CS 与 CMC 分子间的相容性, 与 CS-CMC 之间形成了更强的相互作用力, 这一结果与 Liu 等^[34]关于淀粉/聚乙烯醇-紫薯花青素智能指示膜的结果一致。可能是蓝莓花青素分子中的酚羟基与 CS/CMC 中羟基形成分子间氢键, 降低了聚合物链分子缠绕现象和 CS、CMC 的分子间氢键, 提高了膜的机械性能和相容性。

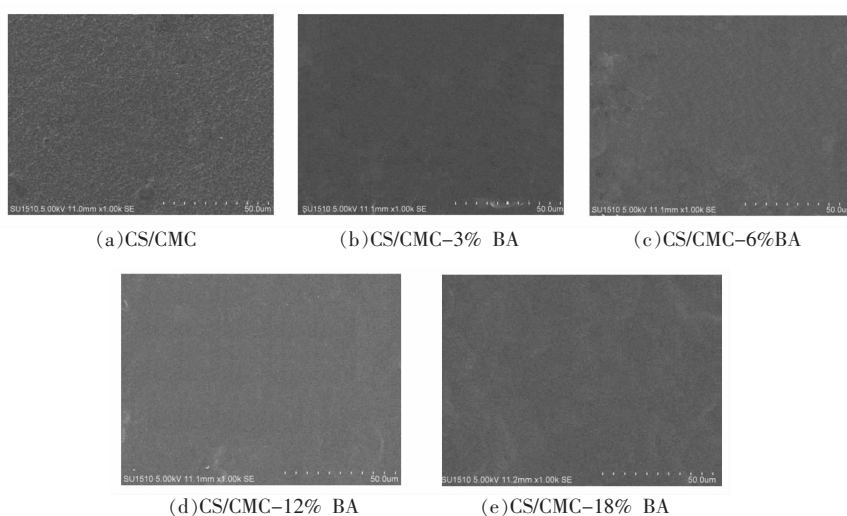


图 4 复合膜表面的扫描电镜图 (1 000 \times)

Fig.4 Scanning electron microscope of surface of composite films (1 000 \times)

2.2.5 指示膜对氨气的响应性分析 肉类食品在腐败变质过程中会产生氨气、三甲胺和二甲胺等挥发性含氮化合物, 导致食品包装内 pH 值发生改变, 由酸性变为碱性^[35]。利用氨气模拟牛肉在腐

败变质过程中产生的挥发性气体, 随着氨气的增加, 花青素周围环境中碱性增强, pH 值增大, 使得指示膜颜色发生变化。图 5a 为蓝莓花青素指示膜对氨气响应的灵敏度, 由图可知, 随着时间的延

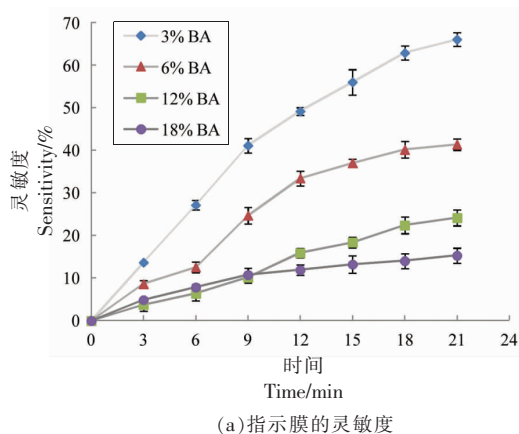
长,容器内氨气浓度不断增加,4种不同BA含量的指示膜RGB变化率均不断升高,3%BA含量的指示膜灵敏度最高,21min是灵敏度达到66.09%,18%BA含量的指示膜灵敏度最低,在21min时灵敏度为15.31%,由此可见,指示膜灵敏度与BA添加量呈负相关关系,BA含量越低,指示膜灵敏度越高,由膜的扫描电镜图可知,添加蓝莓色素的膜材料更加紧致均匀,可能使得膜对氨气的阻隔性增强,导致指示膜灵敏度随BA含量的增加而降低。由图5b可知,在氨气环境中,3%BA膜由粉色变为灰色,6%BA膜由粉色变为灰粉色,12%BA膜与18%BA膜的颜色变化相对不明显,且其原有的深红色也会影响显色效果,与上述BA增加使得膜材料气体阻隔性增强的推断一致。

2.3 智能指示膜初步应用于牛肉新鲜度监测

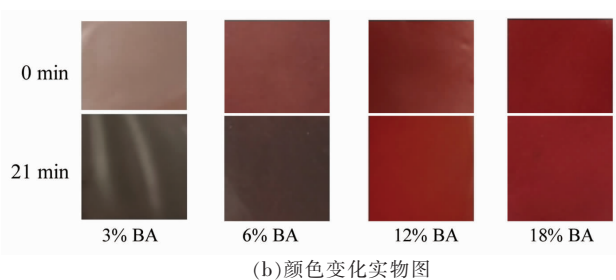
选用灵敏度最高且机械强度较好的3%BA指示膜用于牛肉新鲜度的初步监测。由图6b可知,随着贮藏时间的延长,TVB-N值及 ΔE 均不断升高。TVB-N的初始值为7.13 mg/100g,根据GB 2707-2016《鲜(冻)畜肉卫生标准》规定,新鲜牛肉的TVB-N值应小于15 mg/100g,此时指示膜呈红色,牛肉为新鲜状态。当贮藏时间为24h,TVB-N值为15.94 mg/100g,超过了牛肉新鲜度标准,此时 ΔE 为10.86,能通过肉眼直接观察到颜色由初始红色变为浅紫色,且颜色变化明显。当贮藏时间达48h时,牛肉中TVB-N含量达到33.62 mg/100g, ΔE 值为22.43,指示膜颜色为浅蓝色,且颜色变化极为明显,此时牛肉已完全腐败。综上所述,在整个贮藏期,智能指示膜的颜色变化与牛肉品质变化密切相关,可用于检测牛肉新鲜度。Jiang等^[36]以紫薯花青素作为指示剂用于检测鱼肉的新鲜度,指示膜颜色从红色变为蓝色,与本研究结果相似。

3 结论

利用蓝莓花青素与玉米淀粉、羧甲基纤维素制得智能指示膜。FT-IR与表面微结构分析表明:各成分之间相容性良好,膜表面平整均匀。随着BA含量的增加,指示膜的抗拉强度、水蒸气透过率增加,断裂伸长率,含水率先增后降。DSC分析



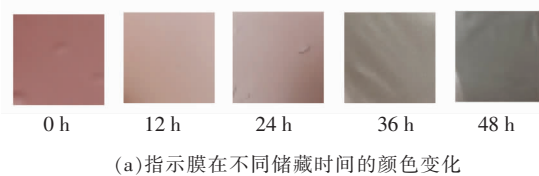
(a) 指示膜的灵敏度



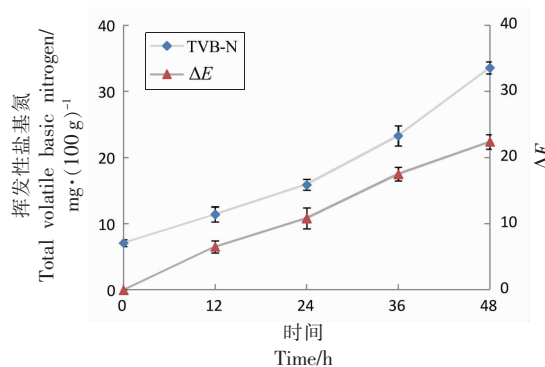
(b) 颜色变化实物图

图 5 指示膜对氨气的响应

Fig.5 Indicator films response toward ammonia vapor



(a) 指示膜在不同储藏时间的颜色变化



(b) TVB-N 值与 ΔE 的变化

图 6 牛肉贮藏期间 TVB-N 值的变化及指示膜颜色变化

Fig.6 TVB-N values and color changes of indicator film during beef storage

表明:CS/CMC-BA膜能提高花青素粉末及CS/CMC复合膜的热稳定性。利用氨气模拟肉类腐败

过程中产生的挥发性气体,其中CS/CMC-3% BA的指示膜变色明显,灵敏度最高。在25℃条件下利用3% BA含量的指示膜对牛肉进行新鲜度监测,结果表明:在贮藏48 h过程中,牛肉逐渐腐败变质,智能指示膜由红色渐变为浅紫色,最后变为浅蓝色。综上,蓝莓花青素是一种理想的智能包装指示剂,在肉类食品新鲜度检测方面具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] GHAANI M, COZZOLINO C A, CASTELLI G, et al. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 51: 1-11.
- [2] SHILLINGFORD C, RUSSELL C W, BURGESS I B, et al. Bioinspired artificial melanosomes as colorimetric indicators of oxygen exposure[J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(7): 4314-4317.
- [3] NIPONSAK A, LAOHAKUNJIT N, KERD-CHOECHUEN O, et al. Development of smart colorimetric starch-based indicator for liberated volatiles during durian ripeness[J]. Food Research International, 2016, 89(1): 365-372.
- [4] LIU J R, WANG H L, GUO M, et al. Extract from *Lycium ruthenicum* Murr. Incorporating κ -carrageenan colorimetric film with a wide pH-sensing range for food freshness monitoring[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 94: 1-10.
- [5] ZHANG K L, HUANG T S, YAN H, et al. Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp deterioration[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 768-776.
- [6] 袁亚明, 沈鑫, 周萌, 等. 花青素的提取技术及其在食品中的应用[J]. 现代食品, 2019, 5(9): 55-56, 61.
YUAN Y M, SHEN X, ZHOU M, et al. Extraction technology of anthocyanin and its application in food[J]. Modern Food, 2019, 5(9): 55-56, 61.
- [7] HU J L, NIE S P, LI C, et al. Ultrasonic irradiation induces degradation and improves prebiotic properties of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. during, *in vitro*, fermentation by human fecal microbiota[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 76(1): 60-66.
- [8] ROY S, RHIM J W. Agar-based antioxidant composite films incorporated with melanin nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 94: 391-398.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 塑料 拉伸性能的测定 第1部分: 总则: GB/T 1040.1-2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 1-10.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Plastics - determination of tensile Properties - Part 1: general principles: GB/T 1040.1-2006[S]. Beijing: China Standard Press, 2006: 1-10.
- [10] 李司琪. 利用挥发物红外光谱鉴别牛肉变质状态[J]. 现代食品, 2017, 2(24): 110-111, 115.
LI S Q. Identification of beef metamorphic state by infrared spectrum of volatiles[J]. Modern Food, 2017, 2(24): 110-111, 115.
- [11] ZHAI X D, SHI J Y, ZOU X B, et al. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 69: 308-317.
- [12] 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.
CHEN H Z. Development of intelligent packaging labels for non-destructively monitoring freshness of typical prepared fresh foods[D]. Wuxin: Jiangnan University, 2019.
- [13] MA Q, LIANG T, CAO L, et al. Intelligent poly(vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 576-584.
- [14] 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, 2016: 3-5.
National Health and Family Planning Commission. National standard for food safety-determination of volatile base nitrogen in foods: GB 5009.228-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016: 3-5.
- [15] 童馨苇, 韩辉, 王丽, 等. 花青素类物质对pH响应的紫外光谱学和理论研究[J]. 化学研究与应用, 2017, 29(3): 401-406.

- TONG X W, HAN H, WANG L, et al. A combined experimental and theoretical studies on UV-Vis spectral response of two anthocyanins to different pH [J]. *Chemical Research and Application*, 2017, 29(3): 401-406.
- [16] 邹小波, 张俊俊, 石吉勇, 等. 基于玫瑰茄花青素的猪肉新鲜度智能指示膜研究[J]. *食品科学*, 2017, 38(23): 243-248.
- ZOU X B, ZHANG J J, SHI J Y, et al. Development of intelligent indicator films based on roselle anthocyanins for monitoring pork freshness[J]. *Food Science*, 2017, 38(23): 243-248.
- [17] 蒋光阳, 肖力源, 王章英, 等. 不同基材复配紫薯花青素制备智能指示膜及其应用[J]. *食品科学*, 2019, 40(13): 267-273.
- JIANG G Y, XIAO L Y, WANG Z Y, et al. Development and application of intelligent indicator films using blended film-forming solutions combined with purple sweet potato anthocyanins[J]. *Food Science*, 2019, 40(13): 267-273.
- [18] 贾代涛, 卢立新, 潘嘹, 等. 改性花青素涂覆聚丙烯新鲜度指示膜的制备与研究[J]. *功能材料*, 2019, 50(6): 6211-6215.
- JIA D T, LU L X, PAN L, et al. Preparation and study of modified roselle anthocyanin coated polypropylene freshness indicator film[J]. *Journal of Functional Materials*, 2019, 50(6): 6211-6215.
- [19] 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.
- [20] CHOI I, LEE J Y, LACROIX M, et al. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato [J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 122-128.
- [21] 郭娜, 朱桂兰, 张方艳, 等. 结冷胶-沙蒿胶-蓝莓花青素可食性膜的制备及其性能分析[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(1): 172-176.
- GUO N, ZHU G L, ZHANG F Y, et al. Preparation and characteristics analysis of gellan gum - *Artemisia sphaerocephala* Krasch gum-blueberry anthocyanin edible film[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(1): 172-176.
- [22] RAMBABU K, BHARATH G, BANAT F, et al. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 126: 1234-1243.
- [23] 王明, 郝文婷, 杨丽丽, 等. 壳聚糖分子质量对原位改性纳米 CaCO_3 -壳聚糖涂膜食品保鲜性能的影响[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(8): 191-200.
- WANG M, HAO W T, YANG L L, et al. Effects of chitosan's molecular weight on the food preservation properties of the *in-situ* modified Nano CaCO_3 -chitosan coatings[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 191-200.
- [24] MA Q Y, WANG L J. Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 235: 401-407.
- [25] 董宇豪, 陈浩, 吴志宇, 等. 海藻酸钠-鱼明胶复合可食膜的制备及特性研究[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(1): 134-140.
- DONG Y H, CHEN H, WU Z Y, et al. Research on the preparation and properties of the sodium alginate-fish gelatin composite edible film[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(1): 134-140.
- [26] 苏小琴, 龙伟, 刘秀兰, 等. 差示扫描量热仪的影响因素及测试技术[J]. *分析仪器*, 2019(4): 74-79.
- SU X Q, LONG W, LIU X L, et al. Influence factors and testing techniques for differential scanning calorimeter[J]. *Analytical Instrumentation*, 2019(4): 74-79.
- [27] 陈程莉, 李丰泉, 刁倩, 等. 黑枸杞花青素微胶囊优化及理化特性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(5): 208-214.
- CHEN C L, LI F Q, DIAO Q, et al. Optimization and analysis of physical and chemical properties of black *Lycium ruthenicum* Murr anthocyanin microcapsules[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(5): 208-214.
- [28] HONG J, CHEN R J, ZENG X A, et al. Effect of pulsed electric fields assisted acetylation on morphological, structural and functional characteristics of potato starch[J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 15-24.
- [29] PEREIRA V A, DE ARRUDA I N Q, STEFANI R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (red cabbage) as time: Tempera-

- ture indicators for application in intelligent food packaging[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 43: 180–188.
- [30] 蒋光阳, 侯晓艳, 任文, 等. 淀粉-羧甲基纤维素钠-花青素指示膜的制备及在鱼肉鲜度指示中的应用[J]. *食品科学*, 2020, 41(12): 250–258.
- JIANG G Y, HOU X Y, REN W, et al. Preparation of indicator films based on sodium carboxymethyl cellulose/starch and purple sweet potato anthocyanins for monitoring fish freshness[J]. *Food Science*, 2020, 41(12): 250–258.
- [31] 杜林楠, 武玉洁, 周冠霖, 等. 羧甲基纤维素钠红外及变温红外光谱研究[J]. *煤炭与化工*, 2019, 42(9): 146–149, 152.
- DU L N, WU Y J, ZHOU G L, et al. Study on infrared and temperature-dependent infrared spectrum of carboxymethylcellulose sodium[J]. *Coal and Chemical Industry*, 2019, 42(9): 146–149, 152.
- [32] MACIEL V B V, YOSHIDA C M P, FRANCO T T. Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 132: 537–545.
- [33] KOCHKINA N E, LUKIN N D. Structure and properties of biodegradable maize starch/chitosan composite films as affected by PVA additions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 157: 377–384.
- [34] LIU B, XU H, ZHAO H Y, et al. Preparation and characterization of intelligent starch/PVA films for simultaneous colorimetric indication and antimicrobial activity for food packaging applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157: 842–849.
- [35] 罗章, 辜雪冬, 马美湖, 等. 牦牛肉气味指纹分析及其在鲜度评价中的应用[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(9): 245–254.
- LUO Z, GU X D, MA M H, et al. Fingerprint analysis of yak meat and its application in freshness evaluation[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(9): 245–254.
- [36] JIANG G Y, HOU X Y, ZENG X D, et al. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 143: 359–372.

Preparation and Application of Blueberry Anthocyanin Intelligent Indicator Films

Feng Qingxia¹, Wang Liqiang^{1,2}

(¹Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu

²Jiangsu Key Laboratory of Advanced Food Manufacturing Equipment & Technology, Wuxi 214122, Jiangsu)

Abstract In this study, blueberry anthocyanin (BA) as the freshness indicator, corn starch (CS) and carboxymethyl cellulose (CMC) were used as film-forming substrates to prepare smart indicator films by casting. The effects of different mass fraction of anthocyanins on the mechanical properties, moisture content, water vapor transmittance, thermal stability, infrared spectrum, surface microstructure and sensitivity of the composite film were analyzed and compared. The results showed that when the BA mass fraction was 3%, the elongation at break of the indicator film was the highest, the moisture content and water vapor transmission rate were the lowest, and the sensitivity was the best. When the BA mass fraction was 18%, the tensile strength was the highest, and the thermal stability was the best. Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy showed that the BA had good compatibility with the other two film-forming substrates and could improve the intermolecular compatibility. The indicator film was used to monitor the freshness of beef at 25 °C. The total volatile basic nitrogen content was 15.94 mg/100 g after 24 h, indicating the occurrence of beef spoilage. At the same time, the color of the indicator film changed to light purple, and changed to light blue after 48 h storage. The research results could provide reference for the development and application of blueberry anthocyanin intelligent indicator films.

Keywords blueberry anthocyanins; indicator film; corn starch; carboxymethyl cellulose; freshness