

姜黄素/茜素 pH 敏感蛋白纤维膜的制备及对金枪鱼鲜度的指示作用

李秋莹^{1,2}, 于昕睿^{1,2}, 刘 铮^{1,2}, 林 洪³, 孙 彤^{1,2}, 郭晓华⁴,
王明丽⁵, 周小敏⁶, 励建荣^{1,2*}

¹渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121013

²生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心 辽宁锦州 121013

³中国海洋大学食品科学与工程学院 山东青岛 266100

⁴山东美佳集团有限公司 山东日照 276800

⁵蓬莱京鲁渔业有限公司 山东烟台 265600

⁶浙江兴业集团有限公司 浙江舟山 316120

摘要 采用静电纺丝技术制备载姜黄素(CUR)和茜素(ALI)及其混合色素的 pH 敏感玉米醇溶蛋白/明胶(ZG)纤维膜。分析各纤维膜的 pH 敏感度,通过扫描电镜(SEM)、红外光谱(FTIR)、X 射线衍射(XRD)、差示扫描量热法(DSC)、水接触角(WCA)比较不同色素对 ZG 纤维膜形貌、结构、耐热及耐水性性能的影响,并评价不同 ZG 纤维膜对 4℃贮藏金枪鱼鱼片新鲜度的指示作用。结果表明,3 种纤维膜在 pH 6~12 时,具有显著的颜色变化,CUR/ZG、ALI/ZG 和 CUR/ALI/ZG 的纤维直径较 ZG 增大。FTIR 和 XRD 结果表明,CUR 和 ALI 通过分子间相互作用结合于 ZG 蛋白膜基质中。DSC 结果表明,CUR/ZG 和 CUR/ALI/ZG 较 ZG 膜的耐热性降低,而 ALI/ZG 较 ZG 膜耐热性提高。添加色素的 ZG 膜疏水性降低,然而,仍具有良好的耐水性。其中,CUR/ALI/ZG 耐水性更强,在鱼类鲜度指示中更具应用前景。在金枪鱼鱼片贮藏的前 5 d,3 种纤维膜无明显的颜色变化,之后在第 6 天和第 7 天,3 种纤维膜发生肉眼可见的颜色变化,指示鱼肉腐败。比色结果与金枪鱼贮藏期间菌落总数和 TVB-N 变化有良好的相关性。

关键词 静电纺丝; 玉米醇溶蛋白; 姜黄素; 茜素; 鱼类新鲜度; 指示标签

文章编号 1009-7848(2022)10-0260-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.10.028

随着消费者对即食食品 and 高质量食品需求的不断增加,对食品新鲜度进行监测的食品智能包装逐渐成为研究热点。新鲜度指示标签作为智能包装的一种,可用于检测、监测和量化商品的新鲜度,消费者通过指示标签实时、方便地获知食品新鲜度信息^[1]。指示标签中可以引入对温度、pH 或气体等敏感物质,直接检测食品储存过程中代谢产生的某一化合物或某一组化合物(如氮、胺、氨、乙醇、硫化氢、pH 值,甚至 CO₂)等食品腐败标志产物,直观、实时地反映食品的新鲜程度^[2]。肉类腐败过程中,随着微生物的代谢和化学物质的降解,释放的挥发性胺导致包装顶空 pH 值升高,因此,基于 pH 敏感指示剂的新鲜度指示标签是监测生鲜肉类新鲜度的有效方法^[3-4]。杜月红等^[5]以甲基纤维

素和聚乙二醇-6000 为基材,添加溴甲酚紫、溴百里酚蓝等酸碱指示剂,采用流延法制得 6 种方便、无损的新鲜度指示标签,用于生鲜猪肉在 4℃条件下贮存的新鲜度监测。Zhang 等^[6]基于蒽醌和偶氮发色团,采用打印技术制备 2 种 pH 敏感智能变色纸,用于熟蟹的新鲜度检测试验。Chen 等^[7]制备了含有姜黄素和花青素的新型 pH 敏感性流延膜,用于鱼肉新鲜度的监测。

pH 敏感色素的新鲜度指示效果与其膜基质有关,与普通浇筑法或流延法制备的混合膜基质相比,纳米纤维膜基质具有更大的优势。静电纺丝技术是一种制备纳米纤维的有效技术,其制备的纤维膜利于负载活性物质,具有孔隙率高、比表面积大等优良特性,更利于色素与挥发性物质的接触,灵敏度增加,是制备 pH 敏感智能包装的良好材料^[8]。在鱼肉贮藏过程中,由于包装内部水分较大,会影响纤维膜指示标签的显色,因此需要制备耐水性的静电纺丝膜用于鱼肉鲜度指示。在制备静电纺丝膜的生物聚合物中,玉米醇溶蛋白

收稿日期: 2021-10-16

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2019YFD0901702)

作者简介: 李秋莹(1986—),女,博士,讲师

通信作者: 励建荣 E-mail: lij6491@163.com

(Zein, Z)和明胶(Gelatin, G)作为天然来源的蛋白质是制备具有良好机械性能和耐溶剂性能的疏水静电纺丝纤维膜的一种可行方法^[9]。

姜黄素(Curcumin, CUR)是一种从姜科植物姜黄等的根茎中提取得到的天然色素,在中性、酸性条件下呈黄色,在碱性条件下呈红褐色,对还原剂的稳定性较强,着色性强,着色后不易褪色^[10]。茜素(Alizarin, ALI)是一种从茜草根部分提取的天然色素,在酸性条件下呈黄色,于弱碱性条件下呈红色,强碱性条件下呈蓝紫色^[11]。CUR和ALI都是制备pH敏感指示标签的良好材料,然而,目前未见关于这2种色素对鱼肉显色性能的比较及混合应用的报道。

本研究采用静电纺丝技术制备载天然色素CUR、ALI及其混合色素的pH敏感ZG纤维膜。分析各纤维膜的pH敏感度,比较不同色素对ZG纤维膜的形貌、结构、耐热及耐水性能的影响。评价3种ZG纤维膜对4℃贮藏金枪鱼鱼片新鲜度的指示作用,为pH敏感的ZG蛋白纤维膜在水产品贮藏中的应用提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

玉米醇溶蛋白(Zein)、姜黄素(CUR)、茜素(ALI),上海麦克林科技股份有限公司;明胶(Gel),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;PCA营养琼脂,青岛高科园海博生物技术有限公司;分析级醋酸、氨水、氯化钠、氢氧化钠、硼酸、氧化镁,天津永晟精细化工有限公司。试验所用冷冻金枪鱼,辽宁省锦州市水产市场(冷冻总时间小于3d)。

1.2 主要仪器

ET-2535H型静电纺丝仪,北京永康乐业科技发展有限公司;S-4800型场发射扫描电镜,日本日立公司;Scimitar 2000 Near FT-IR Spectrometer型傅里叶变换红外光谱仪,美国安捷伦公司;Rigaku Ultima IV型X射线粉末衍射仪,日本理学Rigaku公司;Q2000-3236型差示扫描量热仪,美国TA仪器公司;OCA25型光学视频接触角测量仪,北京东方德菲仪器有限公司;CR-400型色差仪,日本柯尼卡美能达控股公司;K9840型半自

动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;FE20型pH计,METTLER TOLEDO公司。

1.3 纺丝液的制备

1.5 g Zein和1.5 g Gel溶于体积分数80%的醋酸水溶液中,配制聚合物总质量浓度为300 g/L的ZG纺丝溶液,在60℃磁力搅拌至完全溶解,超声脱气后备用。待ZG溶液冷却至室温后分别加入质量分数为3%的CUR、ALI以及CUR:ALI=2:1(质量比)的混合色素,配制CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG纺丝液,在室温下磁力搅拌至完全溶解,超声脱气后备用。

1.4 纺丝膜的制备

将纺丝液加入注射器,选用型号20的纺丝针,组装后装入纺丝仪,设置纺丝参数为:温度25℃,湿度40%,纺丝速度0.5 mL/h。在15 kV静电电压,接收距离18 cm条件下,使用铝箔纸滚动接收得到ZG纺丝膜;在17 kV静电电压,接收距离15 cm条件下,使用铝箔纸滚动接收得到CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG纺丝膜。

1.5 纤维膜在不同pH条件下的显色效果分析

应用醋酸与蒸馏水分别配制pH 2~6的挥发性酸性溶液,应用氨水与蒸馏水分别配制pH 7~12的挥发性碱性溶液。将纤维膜裁剪成1 cm²的小片作为指示标签,粘贴在含有5 mL不同pH值溶液的无菌培养皿的盖子内侧,用封口膜密封培养皿。在室温条件下,静置显色30 min。采用色差计测试各组指示标签颜色的L, a, b值。L为亮度,取值为0~100(纯黑~纯白);a为从红色至绿色的范围,取值为+127~-128(红~绿);b为从黄色到蓝色的范围,取值为+12~-128(黄~蓝)^[12]。按公式(1)计算其总色差值ΔE。

$$\Delta E = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \quad (1)$$

式中, L_1, a_1, b_1 ——白色标准品的各项色度值; L_2, a_2, b_2 ——所测样品的各项色度值。

1.6 扫描电镜(SEM)

纺丝膜样品喷金处理后使用场发射扫描电镜观察纳米纤维膜的形态和直径,并使用Image J图像分析软件在SEM图像中随机取100根纳米纤维测量纳米纤维的平均直径。

1.7 红外光谱(FTIR)

参考Deng等^[13]的方法制备KBr压片,将纤维

膜剪碎,放入玛瑙研钵中与干燥的KBr粉末(约80~100 mg)一起研磨后装入模具内压片,将成片固定在样品板上,使用傅里叶变换红外光谱仪对纤维膜进行4 000~500 cm^{-1} 区域的红外光谱扫描。

1.8 X射线衍射(XRD)

使用Rigaku Ultima IV X射线粉末衍射仪分析纤维膜的晶体性质。在实验管电压40 kV、电流200 mA条件下扫描,扫描范围为 5° ~ 90° 。

1.9 差示扫描量热(DSC)

使用差示扫描量热仪分析纤维膜的热性能。扫描速度为 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$,温度范围为 $25\sim 250^{\circ}\text{C}$ 。

1.10 水接触角(WCA)

使用接触角测量仪测量纤维膜的水接触角。将 $2\ \mu\text{L}$ 的液滴滴在纤维表面,在0 s和60 s后进行测量。在纤维膜的5个不同位置进行测试,WCA用“平均值 \pm 标准差”表示。

1.11 纤维膜在金枪鱼鲜度指示中的应用

1.11.1 原料处理与贮藏 将纤维膜裁剪成 $1\ \text{cm}^2$ 的小块,置于紫外下照射30 min备用。将未开封的冷冻的金枪鱼块在 4°C 冰箱中完全解冻,在冰盘上切成薄片。将鱼片随机分成2组,一组样品放入无菌蒸煮袋,一组样品分别放入多个无菌培养皿中(每个培养皿中10 g鱼肉),每个培养皿均加盖附有3种指示膜的盖子。两组样品密封后均于 4°C 条件下贮存。分别在0,3,6,9 d测定蒸煮袋中金枪鱼片的菌落总数(TVC)、pH值和挥发性盐基氮值(TVB-N),并拍摄记录培养皿中的纺丝膜颜色,测定色差。

1.11.2 鱼片的鲜度指标测定 采用倾注法测定鱼片样品的TVC。准确称量10 g鱼片加入含有90 mL 0.85%无菌生理盐水的蒸煮袋中,拍打均质60 s。将均质液进行10倍梯度稀释。并选取适当稀释倍数的稀释液1 mL与PCA培养基混匀。平板于 28°C 倒置培养48 h后计数,结果用 $\lg N$ 形式表示,其中 N 为每克样品(CFU/g)中菌落的单位数。准确称量5 g绞碎鱼肉加入45 mL中性蒸馏水中,均质后静置30 min,使用FE20型pH计测定金枪鱼片的pH值,每组试样重复3次。准确称量10 g绞碎鱼肉加入70 mL无菌蒸馏水,均质,加入1 g氧化镁,使用K9840型半自动凯氏定氮仪,对金枪鱼鱼片的TVB-N值进行测定,结果表示为

mg N/100 g。

1.11.3 纤维膜颜色变化与鱼片新鲜度的相关性分析 在鱼片贮藏期间,纤维膜的色差值 ΔE 值测定方法同1.5节。使用SPSS对纤维膜的色差值与TVC值、pH值和TVB-N值的相关性和显著性进行分析。

1.12 数据分析

每个测试均做3次重复,采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,计算分析获得数据的平均值和标准偏差,当 $P<0.05$,数值具有显著性差异。另外,采用Origin 9和Image J图像分析软件生成所需图表。

2 结果与分析

2.1 纤维膜的pH敏感性分析

CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG纤维膜在不同pH值条件下的颜色变化及色差值 ΔE 如图1所示。随着pH值的升高,CUR/ZG纤维膜的颜色由金黄色逐渐变为红色,这与Yanina等^[14]制备的CUR/Gel膜的显色结果相似;ALI/ZG纤维膜的颜色由黄褐色逐渐变为红褐色,并在强碱性条件下变为紫灰色,Parya等^[15]的研究也发现了类似结果;CUR/ALI/ZG纤维膜的颜色由金黄色逐渐变为红褐色,并在强碱性条件下变为黑褐色(图1a)。随着pH值的升高,3种纺丝膜的总色差值 ΔE 整体上均呈上升趋势(图1b)。在pH 2~6范围内,CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG纤维膜的 ΔE 变化不大,从pH 2至pH 6, ΔE 的差值均小于6,说明3种纤维膜在pH 2~6范围内均无明显颜色变化,这与视觉观察结果一致(图1)。在pH 7~12范围内,CUR/ZG的 ΔE 值增加了18.51;ALI/ZG的 ΔE 值增加了32.48;CUR/ALI/ZG的 ΔE 值增加了28.48。以上结果表明3种纤维膜在pH值较高时,具有显著的颜色变化,有望应用在鱼类的新鲜度指示中,然而3种纤维膜的性能需要进一步比较。

2.2 纤维膜的形态分析

采用扫描电镜对ZG、CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 4种纤维膜的形态进行观察(图2)。4种纤维均呈表面光滑的圆柱形。ZG纤维的平均直径为 $(810\pm 240)\ \text{nm}$,CUR/ZG、ALI/ZG和CUR/ALI/ZG纺丝膜的纤维直径分别为 $(990\pm 150)\ \text{nm}$,

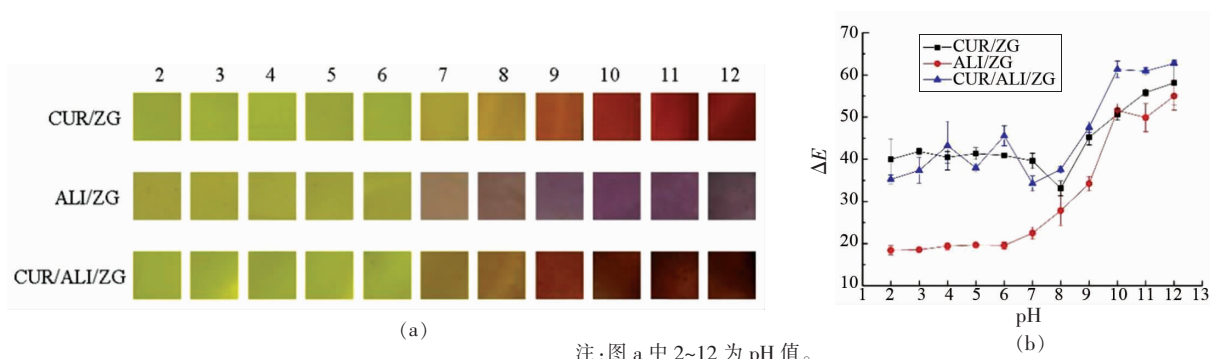
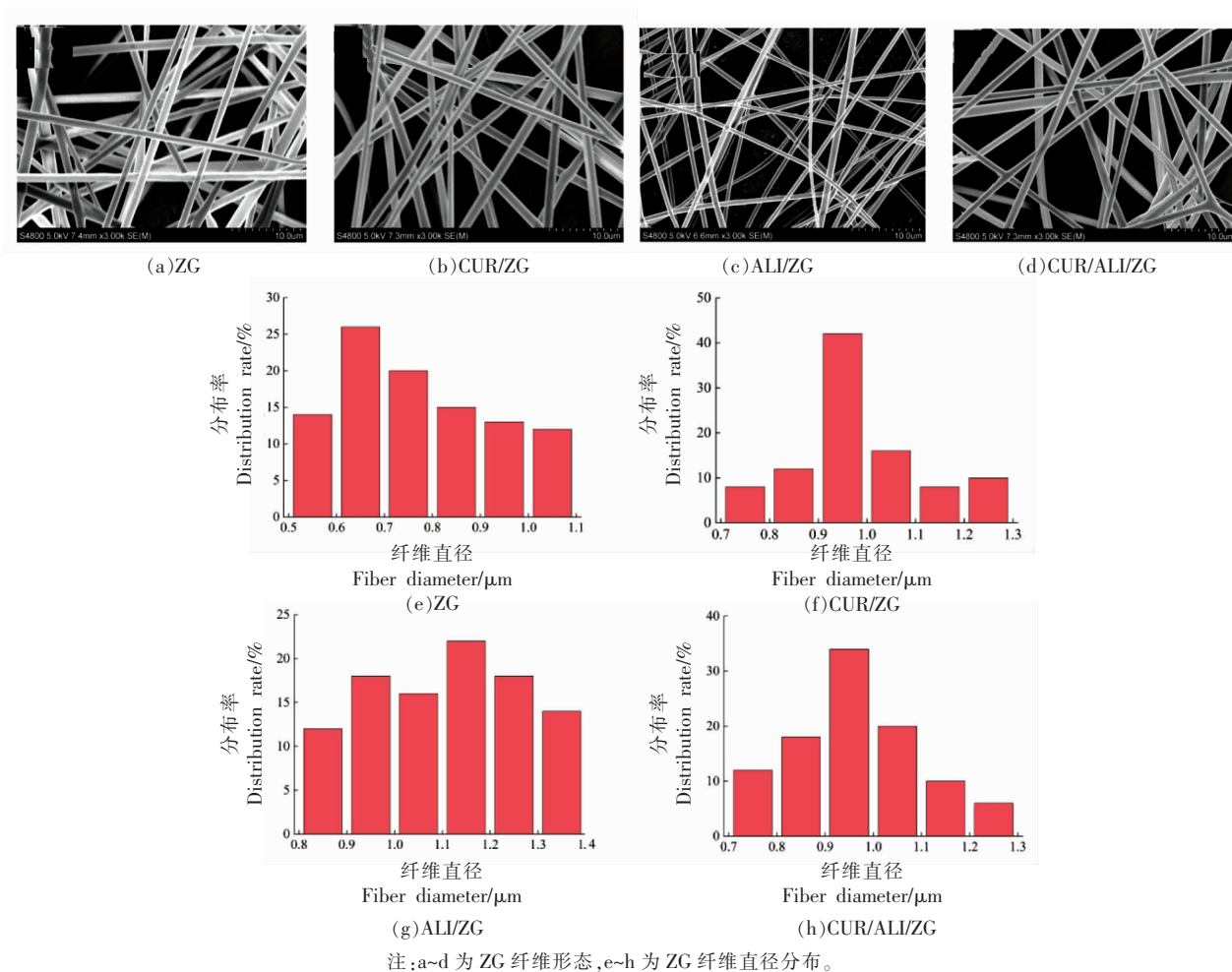


图 1 纤维膜在不同 pH 值条件下的颜色变化 (a) 及 ΔE 值 (b)

Fig.1 The color variation and ΔE value of CUR/ZG, ALI/ZG, CUR/ALI/ZG nanofiber membranes under different pH conditions

(1120±210) nm 和 (960±140) nm。其中, CUR/ZG 和 CUR/ALI/ZG 的纤维直径分布较为集中, 而 ALI/ZG 的纤维直径不均匀。显然, CUR 和 ALI 色素的添加使 ZG 直径增大, 然而形貌没有明显变

化。静电纺丝过程中, 表面张力、黏度和电导率是影响纳米纤维直径分布的关键因素^[6]。ZG 纤维直径的增加可能与色素添加后纺丝液的黏度和表面张力变化有关。陈艳^[7]的研究表明, CUR 的添加会



注: a~d 为 ZG 纤维形态, e~h 为 ZG 纤维直径分布。

图 2 ZG 纤维膜的形态和直径分布

Fig.2 Morphologies and diameter distribution of the ZG nanofiber membranes

使纺丝液的黏度和表面张力减小。此外纤维直径的改变也与纺丝电压有关。Zhao 等^[18]研究发现降低电压会导致静电场对带电溶液射流的影响减小,从而降低了射流的飞行速度。较长的飞行时间将使纤维在沉积于收集器上之前有较长的延伸时间,因此很容易形成细纤维。CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 纤维膜的纺丝电压较 ZG 膜增大,可能使纤维直径增加。

2.3 纤维膜的化学组成分析

图 3a 为 ZG、CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 纤维膜的 FTIR 谱图。4 种纤维膜的主峰相似,而振幅有所变化,有些峰发生了位移。ZG 的 FTIR 谱图显示了蛋白的特征峰:3 305 cm^{-1} 处是 N-H 和 O-H 的伸缩振动峰;1 658 cm^{-1} 为 C-O 的伸缩振动峰,属于酰胺 I 带;1 539 cm^{-1} 为 N-H 平面内弯曲振动和 C-N 振动,属于酰胺 II 带;1 244 cm^{-1} 为 N-H 弯曲振动,属于酰胺 III 带^[9]。CUR/ZG 纤维膜中酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III 相关的峰分别由 1 658 cm^{-1} 迁移到 1 652 cm^{-1} , 由 1 539 cm^{-1} 迁移到 1 541 cm^{-1} , 由 1 244 cm^{-1} 迁移到 1 236 cm^{-1} ;ALI/ZG 纤维膜中酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III 相关峰分别由 1 658 cm^{-1} 迁移到 1 653 cm^{-1} , 由 1 539 cm^{-1} 迁移到 1 540 cm^{-1} , 由 1 244 cm^{-1} 迁移到 1 241 cm^{-1} ;CUR/ALI/ZG 纤维膜中酰胺 I 相关的峰分别由

1 658 cm^{-1} 迁移到 1 652 cm^{-1} ;这可能是由于 CUR 和 ALI 色素的添加与 ZG 膜组分之间发生了氢键等相互作用,从而引起 C=O 和 N-H 基团在聚酰胺结构中的弱化^[19]。由于蛋白质的酰胺 I 带为二级结构(如 α -螺旋)相关的碱性带组成,加入 CUR 和 ALI 色素后,CUR/ALI/ZG 的酰胺 I 谱带强度降低,表明其 α -螺旋结构减弱^[19]。CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 纤维膜在 1 280 cm^{-1} 和 1 283 cm^{-1} 处出现了 ZG 膜中不存在的特征峰,表明 CUR 和 ALI 被添加到了 ZG 膜中。

采用 XRD 对 ZG、CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 4 种纤维膜的结晶性进行分析,结果如图 3b 所示。ZG 纤维膜在 $2\theta = 20.7^\circ$ 附近存在一个相对平缓的宽峰,表明 ZG 纤维膜存在的是非晶态结构。添加了 CUR 的 CUR/ZG 和 CUR/ALI/ZG 纤维膜均在 $2\theta = 9.4^\circ$ 和 $2\theta = 17.5^\circ$ 两处存在尖锐的特征峰,这是由于 CUR 本身具有结晶结构所致^[20];添加了 ALI 的 ALI/ZG 和 CUR/ALI/ZG 纤维膜均在 $2\theta = 12.4^\circ$ 处有一个较弱的尖锐特征峰,这是由于 ALI 本身的蒽醌结构具有一定结晶性所致^[21];同时 4 种纤维膜均在 $2\theta = 20.7^\circ$ 附近存在宽峰,表明 CUR 和 ALI 这两种天然色素经静电纺丝成功地添加到了 ZG 膜中,并保持了其原有的晶体结构。

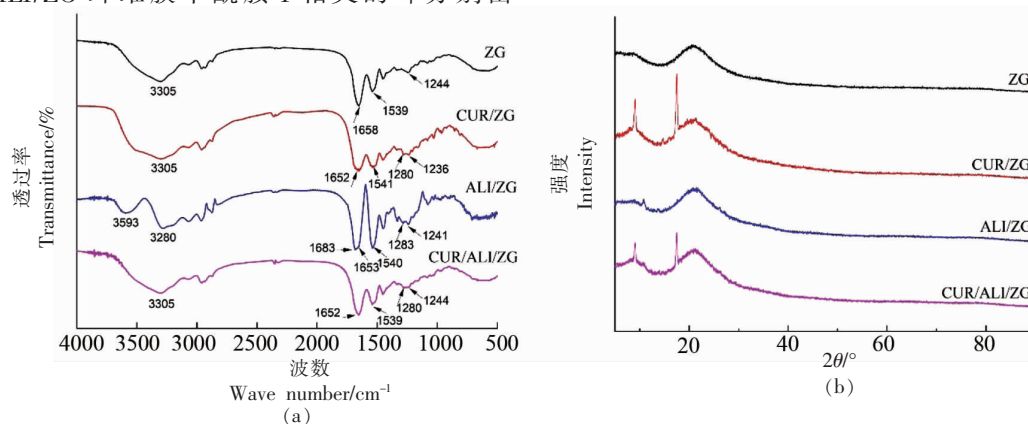


图 3 ZG 纤维膜的 FTIR(a)和 XRD(b)谱图

Fig.3 FTIR (a) and XRD (b) spectra of ZG nanofiber membranes

2.4 纤维膜的耐热性能分析

ZG、CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 4 种纤维膜的 DSC 结果如图 4 所示。从图中可以看出,ZG、CUR/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 4 种膜在 65 $^\circ\text{C}$ 处均有较小的吸热峰,这可能与高聚物的玻璃化转

变有关。ZG 纤维膜在 142 $^\circ\text{C}$ 附近出现明显吸热峰,CUR/ZG 的吸收峰在 138 $^\circ\text{C}$,CUR/ALI/ZG 的吸收峰在 130 $^\circ\text{C}$ 附近出现,这说明 CUR 的加入降低了 ZG 纺丝膜的熔融温度。CUR/ZG、CUR/ALI/ZG 纤维膜在 173 $^\circ\text{C}$ 处有较小的吸收峰,这是由于此

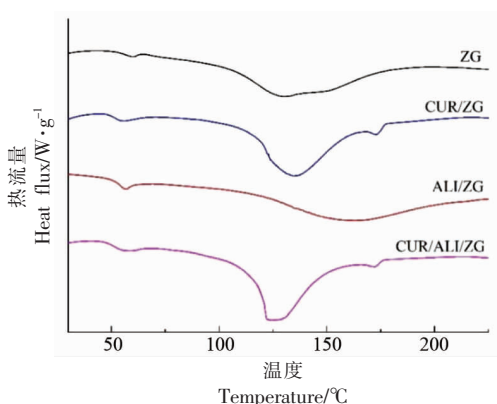


图 4 ZG 纤维膜的 DSC 图

Fig.4 DSC graphs of ZG nanofiber membranes

处为 CUR 粉末的熔点^[22],也说明在纺丝膜中依然存在 CUR 的晶体结构,这与 XRD 的结果一致。ALI/ZG 在 161 °C 处出现吸收峰,相对 ZG 纺丝膜发生了明显的偏移,这可能是由于 ALI 与 Zein/Gel 的疏水性基团相互作用结合在一起,形成了纳米结合体结构从而提高了纤维膜的熔融温度^[21]。

2.5 纤维膜的表面疏水性分析

图 5 为 ZG、CRU/ZG、ALI/ZG、CUR/ALI/ZG 4 种纤维膜的水接触角测量结果。ZG 纤维膜的水接触角从 $141.16^{\circ} \pm 4.47^{\circ}$ 在 60 s 下降到 $136.53^{\circ} \pm 5.57^{\circ}$,说明其水溶性较低,耐水性较好,这与陈霞^[23]的研究结果相似。CRU/ZG 纤维膜的水接触角从 $134.46^{\circ} \pm 3.27^{\circ}$ 降低到 $110.68^{\circ} \pm 5.22^{\circ}$,ALI/ZG 纤维膜的水接触角从 $135.78^{\circ} \pm 4.16^{\circ}$ 在 60 s 后下降到 $105.14^{\circ} \pm 4.37^{\circ}$,两种纤维膜的耐水性均有所降低,这可能是由于 CUR 和 ALI 的添加增加了大量的亲水基团(-OH),从而导致纤维膜耐水性的降低^[21,24]。CUR/ALI/ZG 纤维膜的水接触角从 $140.23^{\circ} \pm 3.82^{\circ}$ 下降到 $116.36^{\circ} \pm 3.67^{\circ}$,其耐水性较 ZG 纤维膜明显下降,然而相对 CRU/ZG 和 ALI/ZG 提升。结果表明,CRU 和 ALI 的添加会降低 ZG 纤维膜的疏水性,然而 CRU 和 ALI 复合添加可以降低这种影响。较好的耐水性可以防止纤维膜在应用中被水蒸气润湿而导致的显色效果不佳,因此纤维膜的耐水性越高其应用价值越高。

2.6 纤维膜对金枪鱼新鲜度指示作用

2.6.1 金枪鱼片 4 °C 贮藏期间的品质变化

采用 TVC、pH 值和 TVB-N 等鲜度指标来评价金枪鱼片 4 °C 贮藏期间的品质变化。鲜鱼 TVC 水平为

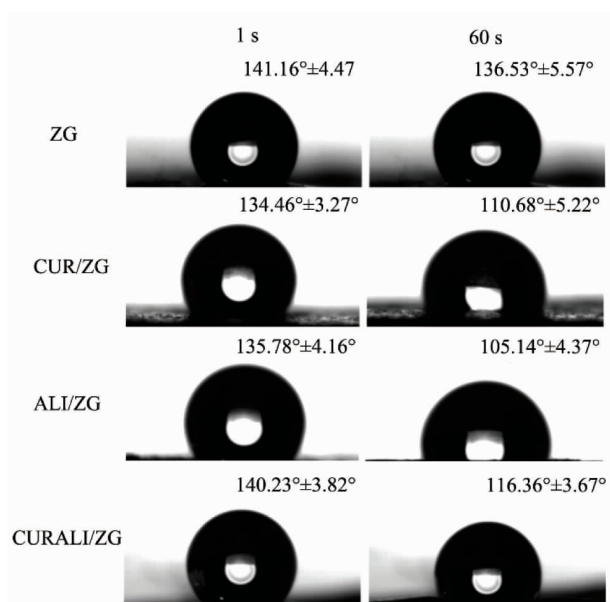


图 5 ZG 纤维膜的水接触角图

Fig.5 Water contact angle graphs of ZG fiber membranes

2.52 ± 0.25 lg (CFU/g), 4 °C 条件下贮藏 6 d 后为 6.36 ± 0.10 lg(CFU/g),超过国际食品微生物委员会(ICMSF)的规定鲜度限值 10^6 CFU/g,表明此时金枪鱼开始腐败(表 1)。金枪鱼鱼片在贮藏期间的 pH 值呈先降低后升高的趋势(表 1),在第 3 天时 pH 值最低,这是由于鱼类死后酸性化合物的生成和乳酸、磷酸等积累,使得 pH 值下降^[25],而后随着微生物和内源酶的作用,分解蛋白质产生碱性物质,导致 pH 值升高,表明贮藏后期鱼类腐败程度加重。从表 1 数据可知,金枪鱼鱼片的 TVB-N 值随着贮藏时间的延长而逐渐增加。初始 TVB-N 含量为 (10.19 ± 0.21) mg N/100 g,表明此时鱼肉是新鲜的。贮藏 6 d 后,TVB-N 值增加到 (15.03 ± 0.16) mg N/100 g。虽然 6 d 后 TVB-N 值尚未超过 Giménez 等^[26]提出的 25 mg N/100 g 的可接受上限,而贮藏 6 d 时的样品出现了腐败和变质。有时,TVB-N 值不能准确地反映鱼的新鲜度,有些研究发现感官评价拒绝的样品 TVB-N 值仍然在可以接受的范围^[27]。因此,金枪鱼在 4 °C 下的货架期为 6 d 左右。

2.6.2 金枪鱼鱼片贮藏过程中纤维膜的颜色变化

如图 6a 所示,在 0~5 d,3 种纤维膜未发生明显的颜色变化,而在第 6 天和第 7 天发生了显著的

表1 TVC、pH值、TVB-N在金枪鱼片4℃贮藏期间的变化

Table 1 Changes in TVC, pH value, and TVB-N of tuna fillets during 4℃ storage

贮存时间/d	TVC/lg(CFU·g ⁻¹)	pH	TVB-N/mg N·(100 g) ⁻¹
0	2.63 ± 0.16 ^b	5.94 ± 0.02 ^d	10.19 ± 0.21 ^h
1	3.22 ± 0.12 ^g	5.90 ± 0.01 ^e	10.65 ± 0.08 ^g
2	3.83 ± 0.14 ^f	5.87 ± 0.01 ^f	11.48 ± 0.18 ^f
3	4.35 ± 0.08 ^e	5.83 ± 0.01 ^g	12.47 ± 0.25 ^e
4	5.07 ± 0.14 ^d	5.93 ± 0.02 ^d	13.37 ± 0.16 ^d
5	5.67 ± 0.12 ^c	6.02 ± 0.01 ^c	14.09 ± 0.22 ^c
6	6.36 ± 0.10 ^b	6.07 ± 0.02 ^b	15.03 ± 0.16 ^b
7	6.95 ± 0.10 ^a	6.12 ± 0.01 ^a	15.98 ± 0.14 ^a

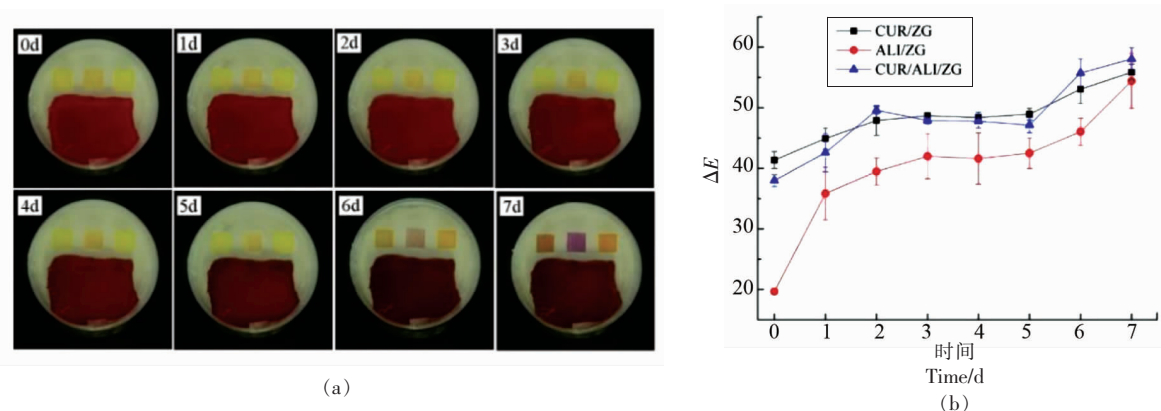
注:同一列上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

颜色变化,CUR/ZG 指示标签由金黄色变为橙色,ALI/ZG 指示标签的颜色由暗黄色变为紫色,CUR/ALI/ZG 指示标签的颜色由金黄色变为黄褐色。由于金枪鱼从第6天开始发生腐败变质,表明指示标签的颜色变化与金枪鱼鱼片的腐败密切相关。

指示标签在金枪鱼片4℃贮藏期间的色差值变化如图6b所示。在0~2 d,CUR/ZG、ALI/ZG 和 CUR/ALI/ZG 指示标签的 ΔE 值波动较大,然而其感官上此时颜色并未发生明显变化,这可能是由于指示标签在鱼片贮藏初期被包装内散发的水蒸气润湿,从而改变了指示标签的亮度所致,其中ALI/ZG 指示标签所受影响最大,这与前文讨论其耐水性不佳的结果相符。在2~5 d,3种指示标签的 ΔE 值变化不大,根据新鲜度指标测定结果,此时金枪鱼片仍保持较新鲜的状态,包装内pH值变化不大。在5~6 d,CUR/ZG 和 ALI/ZG 指示标签

的 ΔE 差值均小于CUR/ALI/ZG 指示标签的 ΔE 差值,表明CUR/ALI/ZG 指示标签在金枪鱼鱼片腐败时发生的颜色变化更显著。

2.6.3 纤维膜的颜色变化与金枪鱼鱼片品质变化的相关性分析 金枪鱼鱼片贮藏过程中纤维膜的颜色变化与TVC、pH、TVB-N值变化之间的相关性分析如表2所示,其各新鲜度指标与总色差值 ΔE 均为显著相关($P < 0.05$)。其中各指示标签 ΔE 与TVC和TVB-N值之间的Pearson相关系数绝对值均为高度相关(≥ 0.08),随着TVC和TVB-N的增加,颜色变化更加明显。这可能由于TVC与TVB-N的变化均为线性增长,而pH值的变化为先下降后升高。3种指示标签均对TVB-N和TVC值有高度相关性,表明纤维膜颜色变化可以反映金枪鱼鱼片品质变化。



注:(a)左标签:CUR/ALI/ZG,中标签:ALI/ZG,右标签:CUR/ZG。

图6 指示标签在金枪鱼鱼片4℃贮藏期间的颜色变化(a)及 ΔE 值(b)Fig.6 Color variation (a) and ΔE value (b) of the indicator labels during 4℃ storage of tuna fillets

表 2 3 种指示膜的色差值与 TVC、pH、TVB-N 变化的相关性和显著性分析

Table 2 Correlation and significance analysis between color difference and TVC, pH, TVB-N change of three kinds of indicator labels

指标		CUR/ZG	ALI/ZG	CUR/ALI/ZG
TVC	Pearson 相关性	0.928**	0.949**	0.970**
	显著性	0.008	0.004	0.01
pH	Pearson 相关性	0.817*	0.843*	0.959**
	显著性	0.047	0.035	0.02
TVB-N	Pearson 相关性	0.982**	0.987**	0.931**
	显著性	0.001	0.000	0.007

注:*. $P < 0.05$; **. $P < 0.001$ 。

3 结论

本研究采用静电纺丝技术,成功制备了可用于金枪鱼贮藏过程中新鲜度指示的载 CUR 和 ALI 的 pH 敏感 ZG 蛋白纤维膜。CUR 和 ALI 的添加使 ZG 的纤维直径略有增大,然而未对纤维形态造成其它不良影响。将 CUR 和 ALI 经静电纺丝成功地添加到了 ZG 蛋白膜基质中,并保持了其原有的晶体结构。CUR 和 ALI 对 ZG 膜的耐热性和耐水性具有一定影响,其中 CUR 和 ALI 均降低了 ZG 膜的耐水性,而 CUR/ALI 复合添加对耐水性的影响更小。CUR/ZG、ALI/ZG 和 CUR/ALI/ZG 均可以通过显著的颜色变化指示金枪鱼鱼片的腐败情况,且与 TVC 和 TVB-N 的新鲜度指标的变化有良好的相关性。其中,CUR/ALI/ZG 耐水性更强,在鱼类鲜度指示中具有更广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] GHOSHAL G. Chapter 10 - Recent trends in active, smart, and intelligent packaging for food products[J]. Food Packaging and Preservation Handbook of Food Bioengineering, 2018, 2018: 343-374.
- [2] NIINA H, PETRA S, ANDREA B, et al. Bio-based smart materials for food packaging and sensors - A review[J]. Frontiers in Materials, 2020, 7(82): 1-14.
- [3] TAHERKHANI E, MORADI M, TAJIK H, et al. Preparation of on-package halochromic freshness/spoilage nanocellulose label for the visual shelf life estimation of meat[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 2632-2640.
- [4] EZATI P, BANG Y J, RHIM J W. Preparation of a shikonin-based pH-sensitive color indicator for monitoring the freshness of fish and pork[J]. Food Chemistry, 2021, 337: 127995.
- [5] 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.
- [6] ZHANG H, HOU A, XIE K, et al. Smart color-changing paper packaging sensors with pH sensitive chromophores based on azo-anthraquinone reactive dyes[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 286: 362-369.
- [7] CHEN H, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105438.
- [8] LEIDY R, MARIA XIMENA Q C. Use of electrospinning technique to produce nanofibers for food industries: A perspective from regulations to characterizations[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 85: 92-106.
- [9] DENG L, KANG X, LIU Y, et al. Characterization of gelatin/zein films fabricated by electrospinning vs solvent casting [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 74 (1): 324-332.
- [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 L, LI X. Discoloration property for pH-sensitivity of fabric dyed by turmeric[J]. Journal of Textile Research, 2017, 38(4): 80-84.
- [11] 韦苏娟, 张瑞萍, 李彤彤, 等. 中药茜草染色棉织物的 pH 值响应变色性能[J]. 针织工业, 2020(8):

- 28-33.
- WEI S J, ZHANG R P, LI T T, et al. pH-responsive discoloration of cotton fabric dyed by *Rubia cordifolia*[J]. Knitting Industries, 2020(8): 28-33.
- [12] 刘景荣. pH 颜色响应智能食品包装膜的制备、性能与应用[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019.
- LIU J R. Research on the preparation, properties and application of pH-sensing smart food packaging [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2019.
- [13] DENG L, ZHANG X, LI Y, et al. Characterization of gelatin/zein nanofibers by hybrid electrospinning[J]. Food Hydrocolloids, 2018(75): 72-85.
- [14] YANINA M, PABLO R, ADRIANA M. Smart edible films based on gelatin and curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 66: 8-15.
- [15] PARYA E, HOSSEIN T, MEHRAN M, et al. Intelligent pH-sensitive indicator based on starch-cellulose and alizarindye to track freshness of rainbow trout fillet [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 157-165.
- [16] DENG L, KANG X, LIU Y, et al. Effects of surfactants on the formation of gelatin nanofibres for controlled release of curcumin[J]. Food Chemistry, 2017, 231: 70-77.
- [17] 陈艳. 静电纺 PLA/姜黄素复合薄膜的制备及其性能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.
- CHEN Y. Preparation and property study of electrospun PLA/Curcumin composite membranes[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011.
- [18] ZHAO S, WU X, WANG L, et al. Electrospinning of ethyl-cyanoethyl cellulose/tetrahydrofuran solutions [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2004, 91 (1): 242-246.
- [19] AGHAEI Z, GHORANI B, EMADZADEH B, et al. Protein-based halochromic electrospun nanosensor for monitoring trout fish freshness[J]. Food Control, 2020, 111: 107065
- [20] 金晓春, 安琪, 王心雅, 等. 玉米醇溶蛋白/聚环氧乙烷同轴静电纺丝负载姜黄素及其释放特性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 61-69.
- JIN X C, AN Q, WANG X Y, et al. Release characteristics of curcumin loaded on zein/poly(ethylene oxide) by coaxial electrospinning[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42 (14): 61-69.
- [21] EZATI P, RHIM J W. pH-responsive chitosan-based film incorporated with alizarin for intelligent packaging applications[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 102: 105629.
- [22] 邓伶俐. 基于静电纺丝技术的明胶复合纳米纤维的构建及其应用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- DENG L L. Fabrication of electrospun gelatin composite nanofibers and its relevant application [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [23] 陈霞. 玉米醇溶蛋白/明胶可食性膜的构建及活性调控研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- CHEN X. Fabrication of zein/gelatin films and their applications in controlled release of active compounds [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [24] 乔延超. 负载姜黄素的聚乙烯醇缩丁醛膜的制备及其抗菌性能研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2020.
- QIAO Y C. Preparation and study on the antibacterial properties of curcumin-loaded polyvinyl butyral membrane [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2020.
- [25] MANJU S, JOSE L, GOPAL T K S, et al. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlsot (*Etroplus suratensis*) during chill storage[J]. Food Chemistry, 2006, 102 (1): 27-35.
- [26] GIMÉNEZ P, RONCALÉS J A, BELTRÁN J A. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2002, 82(10): 1154-1159.
- [27] VOLPE M G, SIANO F, PAOLUCCI M, et al. Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets[J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60 (1): 615-622.

Preparation of pH Sensitive Protein Fiber Membranes incorporated Curcumin/Alizarin and Its Indicative Effect on the Freshness of Tuna

Li Qiuying^{1,2}, Yu Xinrui^{1,2}, Liu Zheng^{1,2}, Lin Hong³, Sun Tong^{1,2}, Guo Xiaohua⁴,
Wang Mingli⁵, Zhou Xiaomin⁵, Li Jianrong^{1,2*}

(¹College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

²National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, Liaoning

³College of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong

⁴Shandong Meijia Group Co., Ltd, Rizhao 276800, Shandong

⁵Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd, Yantai 265600, Shandong

⁶Zhejiang Xingye Industrial Group Co., Ltd., Zhoushan 316120, Zhejiang)

Abstract In this paper, pH-sensitive zein/gelatin (ZG) fiber membranes incorporated with curcumin (CUR) and/or alizarin (ALI) were prepared by electrospinning. The pH sensitivity of each ZG fiber membrane was analyzed. The influences of different pigments on the morphology, structure, heat resistance and water resistance of ZG fiber membrane were compared by scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC) and water contact angle (WCA). Furthermore, the freshness indicator effect of different ZG fiber membranes on tuna fillets stored at 4 °C was evaluated. The results showed that the three fiber membranes presented significant color change at pH 6–12, and the fiber diameters of CUR/ZG, ALI/ZG, and CUR/ALI/ZG were all larger than that of ZG. FTIR and XRD results showed that CUR and ALI were incorporated in the ZG protein membrane matrix through intermolecular interaction. DSC results showed that the heat resistance of CUR/ZG and CUR/ALI/ZG is lower than that of ZG, while the heat resistance of ALI/ZG is higher than that of ZG. ZG films with pigment possessed lower hydrophobicity, but still had good water resistance. Among them, CUR/ALI/ZG is more resistant to water and has a better application prospect in the indicator of fish freshness. During the first 5 days of storage, the three fiber membranes showed no obvious color changes, and then on the 6th and 7th days, the membranes showed visible color changes, indicating fish spoilage. The colorimetric results correlated well with the changes of total viable count and TVB-N during tuna storage.

Keywords electrospinning; zein; curcumin; alizarin; fish freshness; indicator label