

吡喃衍生物对胺的识别及其标签评价鱼肉新鲜度

钟克利¹, 胡丽娜¹, 姚远¹, 汤立军^{1*}, 李学鹏¹, 应米燕³, 励建荣^{2*}

(¹渤海大学化学与材料工程学院 辽宁锦州 121013

²渤海大学食品科学与工程学院 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青海民泽龙羊峡生态水殖有限公司 青海海南 811899)

摘要 传统 TVB-N 法检测三文鱼新鲜度存在过程繁琐、结果延迟等缺陷,开发快速、无损、实时检测三文鱼新鲜度的方法非常重要。本文通过缩合反应构建苯并吡喃衍生物 HDX,该化合物于 EtOH/H₂O(体积比 1:9)体系中,对 10 种胺类物质皆具有敏感响应。在 5 s 内便会出现显著的颜色以及荧光变化。对精胺的检测限为 0.75 μmol/L,可在活细胞内对精胺与腐胺进行荧光成像。将 HDX 负载到滤纸上,制备对鱼肉新鲜度比色和荧光双重响应的传感标签 HDXIL。该标签在三文鱼鱼肉的不同等级(通过 3 种颜色区分)识别上展现出显著的效果。评估结果精确度高且值得信赖,适用于即时、现场监测三文鱼鱼肉的新鲜程度。

关键词 苯并吡喃; 荧光探针; 有机胺; 传感标签; 三文鱼

文章编号 1009-7848(2024)11-0359-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.11.033

三文鱼 (Salmon) 是最受欢迎的深海鱼类之一,其味道鲜美,营养价值高,我国三文鱼主要从国外进口,以切片方式保存,通过冷链运输至全国各地,而其在长途运输及保存过程中容易发生变质^[1-2]。人们在误食不新鲜的鱼肉后,往往出现不同程度的不适症状,像恶心、呕吐以及腹痛等,情况较为严重时,会引起食物中毒,甚至对生命安全构成威胁^[3-5]。开发快速检测鱼肉新鲜度的方法非常重要。

大多数消费者或销售人员依靠感官法,如外观、气味或质地来评估鱼肉的新鲜度,这些方法主观性强,有时判断并不准确^[6]。目前,客观评价鱼肉新鲜度的方法主要有近红外光谱法^[7]、液相色谱法^[8]、微生物计数法^[9]、气相色谱法^[10]、电子舌电子鼻法^[11]以及测定 TVB-N 法等^[12]。这些方法可较为准确地评定鱼肉的新鲜度,然而均要将包装打开,对鱼肉样品进行破碎处理,前处理过程较为繁琐,且成本较高,不能现场判断鱼肉新鲜度^[13]。目前对

比色法的研究较多,消费者通过观察包装上指示器的颜色来快速、无损评估鱼肉的新鲜度^[14]。2023 年,Avan 等^[15]建立了监测肉类新鲜度的比色传感器,当传感器颜色由淡黄色变为棕绿色时,表明肉由新鲜变为腐败,与当前的某些传感器对比,具有检测限度低,抗干扰能力出色,携带便捷等显著优点。同年,Sharifnezhad 等^[16]制备监测鱼肉新鲜度的比色探针,该探针对 30 nmol/L~12 μmol/L 范围的腐胺响应灵敏,当探针由蓝色变为灰色时,表明鱼肉由新鲜变为腐败。虽然这些比色传感器在新鲜度检测方面取得较好的效果,然而,部分比色探针也存在一些问题,比如响应速度慢,变色不灵敏,仅能反映贮藏后期鱼肉品质,导致检测结果不准确,限制了其应用。

荧光法具有高灵敏度,良好的选择性以及操作简单等优势,与比色法结合,双通道综合评价比单通道评价更准确^[17-19]。2021 年,Zhu 等^[20]报道一种比色和荧光探针法,用于检测包括尸胺和腐胺在内的生物源伯胺,荧光检测限低至 209 nmol/L。利用该探针制作的标签颜色由黄色变为无色,荧光由无荧光变为蓝色荧光,表明鱼肉由新鲜变为腐败,表明该探针可实时现场监测鱼肉样品的新鲜度。2022 年,Teknikel 等^[21]合成一种对胺敏感的荧光探针,可根据吸收波长的变化来区分伯胺、仲

收稿日期: 2023-11-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(22278038);辽宁省教育厅科研项目(LJKMZ20221480)

第一作者: 钟克利,男,博士,教授

通信作者: 汤立军 E-mail: ljtang@bhu.edu.cn
励建荣 E-mail: lijr6491@163.com

胺和叔胺,表现出不同的颜色及荧光变化,是监测肉品新鲜度的有效方法。可见,开发比色和荧光双重响应的传感器可弥补单一比色法的不足,应用前景更广阔^[22-27]。

为了弥补传统 TVB-N 法以及单一比色法的不足,本研究设计合成了具有给体- π -受体结构的、对胺敏感的比色和荧光双重响应的荧光探针 HDX。随后以滤纸片为基质,利用简单的浸渍法,制备出负载荧光探针 HDX 的传感标签 HDXIL,为鱼肉新鲜度的准确评价提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜三文鱼,锦州市林西路水产贸易市场,平均质量为 $(2\ 500 \pm 50)$ g。三溴化磷、环己酮、三溴化硼、碳酸氢钠、2-羟基-4-甲氧基-苯甲醛、无水硫酸钠等,安耐吉有限公司。试验用水均为去离子水,所用试剂均为天津永大公司生产。

1.2 仪器与设备

JY12001 电子天平,德国赛多利斯科学仪器有限公司;DZF-1B 真空干燥箱,上海博讯实业有限公司;FSH-2A 高速均质机,上海仪电科学仪器股份有限公司;Kjeltec 8400 全自动凯式定氮仪,上海浦予工业科技有限公司;PHS-25 酸碱计,上海仪电科学仪器股份有限公司;400 MHz 核磁共振仪,美国 Agilent 公司。

1.3 方法

1.3.1 探针 HDX 的合成 首先称取 228 mg 的化合物 a(1 mmol),将其置于 5 mL 的无水乙醇中使其溶解。然后向其中添加 602 mg 的吡啶盐(2 mmol)以及 0.1 mL 的哌啶,对其进行加热回流并监测反应进程。当有固体出现时,进行过滤,再用冰乙醇反复冲洗,最终得到产物 HDX (243 mg, 63%)。

1.3.2 胺溶液的配制 不同胺溶液的浓度均通过蒸馏水统一配制为 50 mmol/L,以便后续测试。具体以环己二胺作为示例,操作流程为:取 58.26 mg 环己二胺,充分振荡促使其溶解,随后将溶液体积定容 10 mL,从而制得 50 mmol/L 浓度的环己二胺溶液。对于其它胺类,包括三乙胺、乙胺、异丙胺、正丙胺、精胺、二乙胺、尸胺、腐胺、三甲胺等,也均

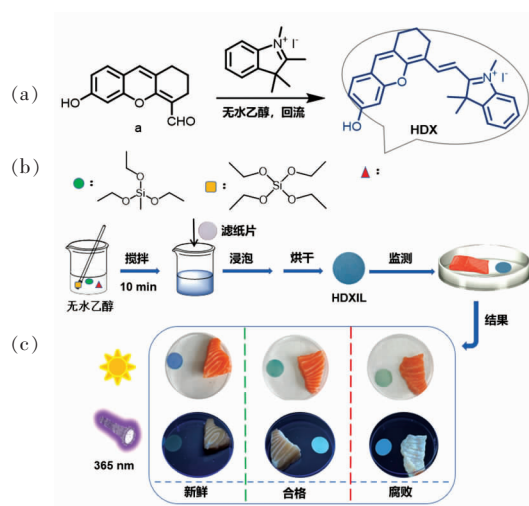


图 1 探针 HDX 的合成(a)和传感标签 HDXIL 的制备过程(b)以及 HDXIL 监测鱼肉新鲜度的应用(c)
Fig.1 Synthesis of probe HDX (a) and preparation process of sensing tag HDXIL (b) and application of tag HDXIL to monitor fish meat freshness (c)

依照此相同步骤进行配制。若需要不同测试浓度的胺溶液,则可通过进一步添加蒸馏水稀释上述 50 mmol/L 的溶液以达到所需浓度。

1.3.3 探针 HDX 溶液的配制 取 5 mg HDX 固体,将其溶解在二甲基亚砜(DMSO)中,并将溶液定容 10 mL,制得 1 mmol/L HDX 储备液。从储备液中量取 1 mL 移至 100 mL 容量瓶内,再使用乙醇-水溶液(体积比 1:9)定容,最终得到浓度为 10 μ mol/L 的 HDX 溶液,供测试使用。

1.3.4 细胞培养 在 37 $^{\circ}$ C 的环境下,把 MCF-7 细胞与 HDX 一同孵育 30 min,接着用 PBS 洗涤 3 次,接着,向体系中分别添加 0, 10, 100, 200, 500 μ mol/L 不同浓度的精胺或腐胺,并继续培养 30 min。

1.3.5 传感标签 HDXIL 的制备 将 HDX (10 mg)溶解于无水乙醇(5 mL)中,向其中加入 0.6 mL 盐酸(0.1 mol/L),并进行快速搅拌。随后,加入 1 mL 成膜剂硅酸乙酯(TEOS)以及 0.5 mL 甲基三乙氧基硅烷(MTEOS)到上述的混合溶液当中,再加入 3 滴甘油,加热至 40 $^{\circ}$ C 搅拌 30 min,得到含荧光探针的混合溶液。把直径为 2 cm 的圆形滤纸片浸入上述混合溶液中,放置一夜。取出后烘干,便得到传感标签 HDXIL。

1.3.6 鱼肉样品总挥发性碱性氮(TVB-N)和 pH 值的测定 在室温条件下,取 5 g 鱼肉样本放入绞肉机内绞成碎末,随后加入 35 mL 去离子水。接着,使用均质机对混合物进行 5 min 的均匀化处理。之后,让混合物静置 30 min,之后通过过滤取得上层清澈液体。采用全自动凯氏定氮设备对该清澈液体的总挥发性碱性氮(TVB-N)含量进行测量,并利用 pH 计检测其酸碱度。以上步骤均重复执行 3 次以保证数据的准确性。

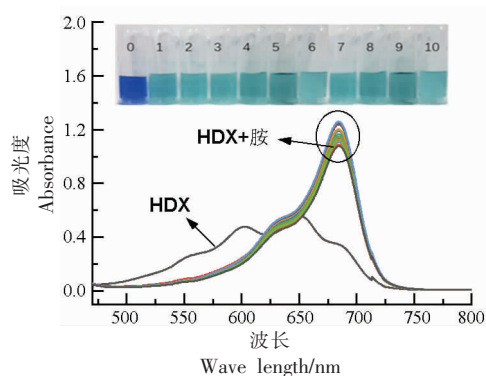
1.3.7 传感标签 HDXIL 对鱼肉新鲜度的检测 购买的冰鲜三文鱼被迅速运送至实验室后,首先去除其外皮,接着将鱼肉切割成每份 10 g 的测试样本,并放置于一次性培养皿内。使用带有小孔的薄膜对这些样本进行密封处理,同时将传感标签 HDXIL 放置在薄膜的小孔位置,然后盖上培养皿的盖子,并用橡皮筋加以稳固。样本在 4 °C 的环境下进行保存,每隔 24 h 取出鱼肉样本,对其 TVB-N 值和 pH 值进行检测,并拍摄传感标签的颜色变化以作记录。

2 结果与分析

2.1 探针 HDX 对不同胺的紫外-可见光谱分析

探针 HDX 的结构表征结果如下:熔点 107.0~109.0 °C, $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.56(d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 7.74(d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.63(d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.57~7.38(m, 4H), 6.90(s, 1H), 6.83(d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.49(d, $J = 14.8$ Hz, 1H), 3.84(s, 2H), 2.73~2.65(m, 4H), 1.83(dt, $J = 9.6, 4.9$ Hz, 2H), 1.74(s, 6H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 177.45, 162.23, 161.04, 154.56, 144.59, 142.81, 142.18, 134.45, 129.64, 129.16, 127.12, 126.10, 123.01, 115.07, 114.80, 114.05, 113.31, 104.39, 102.41, 50.49, 32.84, 28.75, 27.72, 24.01, 20.46。 HRMS(ESI⁺), 分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{NO}_2[\text{M}+\text{H}]^+$, 计算值: 385.2031, 实测值: 385.2014。

随后,为了研究 HDX 对不同胺类的反应特性,进行了紫外-可见光谱分析。由图 2 可知,10 $\mu\text{mol/L}$ HDX 于 600 nm 处显示出一个吸收峰。然而,向 HDX 溶液中加入不同的胺类溶液时,该吸收峰发生了红移,移动到了 685 nm 的位置,溶液的日光颜色也从蓝色转变为绿色,这些结果表明



注:内插图为向 HDX 溶液中加入不同胺溶液后的颜色变化; 0. HDX, 1. 三甲胺, 2. 二甲胺, 3. 正丙胺, 4. 异丙胺, 5. 环己二胺, 6. 三乙胺, 7. 二乙胺, 8. 精胺, 9. 腐胺, 10. 尸胺。

图 2 向 HDX 溶液加入不同胺溶液后的紫外光谱变化

Fig.2 UV-absorption spectra of HDX solution following the addition of different amine solutions

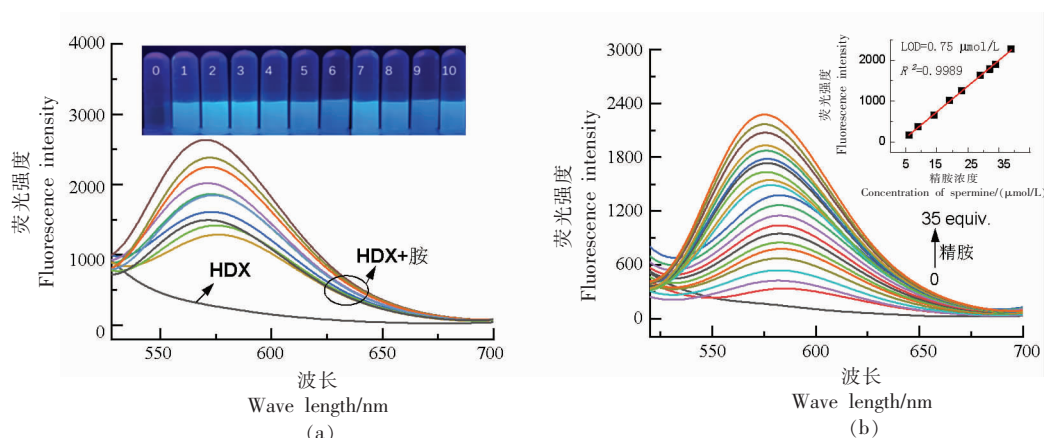
探针 HDX 对不同胺化合物均有明显的响应能力。此外,向 HDX 溶液中加入精胺后,轻微振荡 5 s 即可变色,表明 HDX 对胺化合物敏感。

2.2 探针 HDX 对不同胺的荧光光谱分析

测试 HDX 溶液的荧光光谱如图 3a 所示,探针 HDX 在 470 nm 激发下几乎无荧光。将不同种类的胺溶液添加到 HDX 中后,所有溶液均在波长 565 nm 处展现出了荧光强度的提升,并且原本无荧光的溶液转变为了不同亮度的蓝色荧光,表明 HDX 对多数胺的荧光响应效果良好。以精胺为例,借助荧光滴定试验对 HDX 的灵敏度展开探究,其结果如图 3b 呈现。在 HDX 溶液里加入不同浓度的精胺(范围为 0~35 $\mu\text{mol/L}$),可以观察到荧光强度逐渐增强,当加入 35 $\mu\text{mol/L}$ 精胺时,荧光强度不再增加,说明达到了平衡。通过荧光滴定数据,可以发现, HDX 的荧光强度与精胺浓度在 5~37.5 $\mu\text{mol/L}$ 的区间内呈现出良好的线性关系($R^2 = 0.9989$, 如图 3b 内插图所示)。依据公式 $\text{LOD} = 3S/K$, 经计算得出 HDX 的检测限为 0.75 $\mu\text{mol/L}$, 这表明 HDX 在检测精胺方面具有较高的灵敏度。

2.3 探针 HDX 在不同 pH 值下的紫外-可见和荧光光谱分析

为了研究 pH 值如何影响探针 HDX 的识别能力,本文进行了在不同 pH 值环境下的荧光及



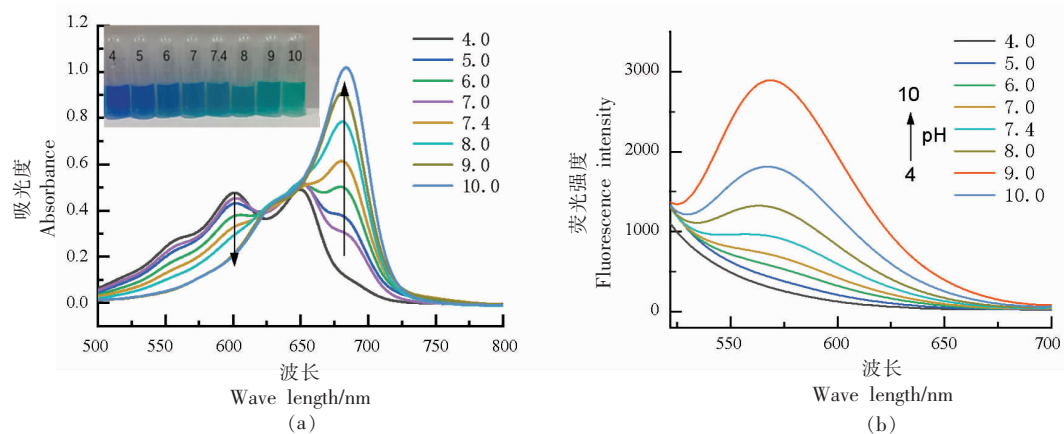
注:a 图内插图为加入不同胺溶液的荧光颜色变化,其中 0. HDX,1. 三甲胺,2. 二甲胺,3. 正丙胺,4. 异丙胺,5. 环己二胺,6. 三乙胺,7. 二乙胺,8. 精胺,9. 腐胺,10. 尸胺;b 图内插图为精胺浓度与在波长 565 nm 处探针荧光强度之间的线性相关性图。

图 3 加入不同胺溶液的荧光光谱(a)以及激发波长为 470 nm 的条件下,加入 0~350 μmol/L 精胺后荧光光谱的变化(b)

Fig.3 Fluorescence spectra with different amine solutions (a) and change of fluorescence spectra after adding 0–350 μmol/L spermine under the condition of excitation wavelength of 470 nm (b)

紫外光谱分析试验。如图 4a 所示,当 pH 值处于 4~10 范围时,HDX 溶液 (10 μmol/L) 在波长 600 nm 处的吸收强度逐渐减弱,而在波长 685 nm 处的吸收强度逐渐增强,溶液颜色随着 pH 值的增加由蓝色变为绿色(图 4a 内插图)。荧光光谱测试结果如图 4b 所示,在 470 nm 激发波长下,随着

pH 值的不断增加,HDX 溶液在波长 565 nm 处的荧光强度不断增强,综合试验结果可知,探针 HDX 在弱酸和中性(4~7.4)条件下荧光和紫外变化相对较小,表明 HDX 能在弱酸性及中性条件下检测胺。



注:a 图内插图为 HDX 溶液中在不同 pH 值下的日光颜色变化。

图 4 探针 HDX 在不同 pH 值下吸收光谱(a)和荧光光谱(b)

Fig.4 Absorption spectrum (a) and fluorescence spectrum (b) of probe HDX at different pH value

2.4 探针 HDX 对胺的细胞成像

经测试 HDX 的细胞毒性较低,可应用于生物成像。随着精胺和腐胺浓度的逐步上升,在红色和绿色荧光通道内,均可显著观察到荧光强度的增

强现象(如图 5 所示),表明 HDX 能对活细胞中的胺类化合物进行荧光成像,具有较好的生物领域应用价值。

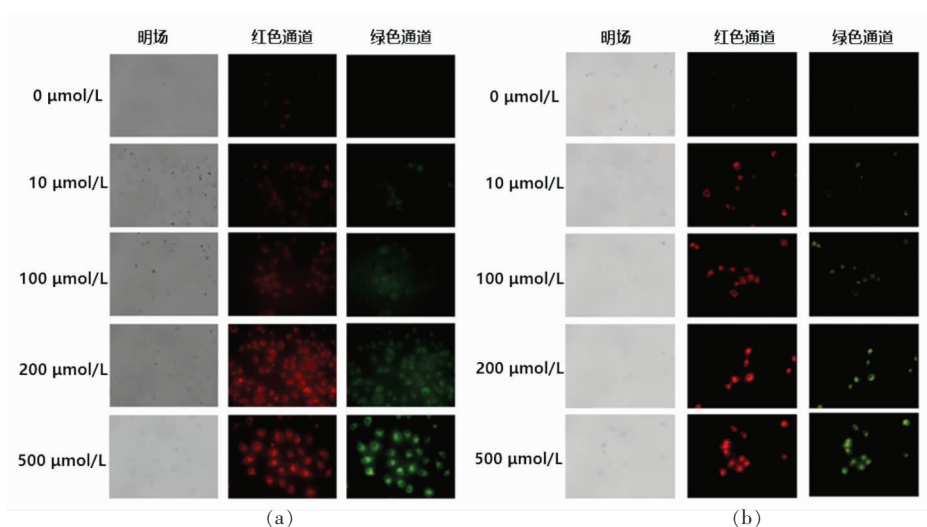


图 5 在 MCF-7 细胞中加入 HDX 溶液及不同浓度的精胺(a)和腐胺(b)后的荧光成像图片

Fig.5 Fluorescence images of HDX solution for different concentrations of putrescine (a) and spermine (b) in MCF-7 cells

2.5 实际鱼类样本检测

根据国标《鲜海水鱼通则》(GB/T 18108-2019)的规定,海水鱼中挥发性盐基氮(TVB-N)的最高含量限制为 30 mg/100 g。为了研究传感标签 HDXIL 的颜色变化与三文鱼新鲜程度之间的关系,本文将 HDXIL 与三文鱼鱼肉一同置于 4 °C 的环境中保存,并测量了它们的 TVB-N 值和 pH 值(图 6a),并记录了 HDXIL 在不同贮藏时间下的颜色变化(图 6b)。随时间流逝,pH 值先降低后升高,这一变化与鱼肉因微生物活动逐渐变质的过程相吻合。初始时,TVB-N 的含量为(5.6±0.06)mg/100 g,此时鱼肉处于新鲜状态,标签颜色为蓝色,荧光也是较暗的蓝色,之后 TVB-N 值整体呈现上升趋势,在第 5 天时达到(15.4±1.2)mg/100 g,这意味着此时的鱼肉样品处于合格状态,标签的日光颜色变为绿色,荧光颜色变为亮蓝色。在第 8 天时,TVB-N 含量达到(30.3±0.06)mg/100 g,这一数据揭示了鱼肉已开始出现腐败迹象,不可食用,标签在日光下呈现淡绿色,而在荧光照射下转变为天蓝色,据此确立了 HDXIL 颜色变化与三文鱼鱼肉新鲜程度之间的关联。

将 HDXIL 与三文鱼鱼肉一同置于 4 °C 条件下保存,并利用 HDXIL 的颜色变化来评估鱼肉的新鲜度。如图 7 所示,当 HDXIL 在日光下呈现蓝色、荧光下为较深的蓝色时,表明三文鱼鱼肉处于新鲜

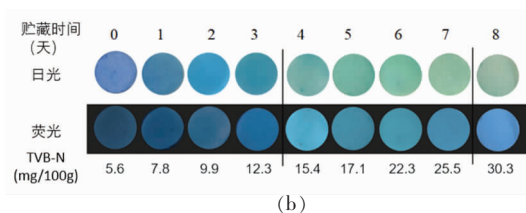
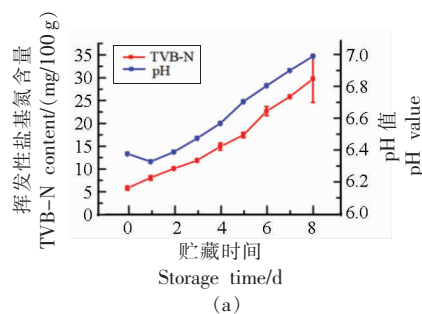


图 6 三文鱼样品的 pH 值和 TVB-N 含量(a)以及传感标签 HDXIL 颜色随贮藏时间的变化(b)
Fig.6 The pH value, TVB-N content of salmon samples and the color change of sensing tag HDXIL with storage time

状态。存储至第 4 天, HDXIL 的日光颜色转变为绿色、荧光颜色变为明亮的蓝色,表明三文鱼肉仍处于可接受的新鲜度范围内。然而,到了存储的第 8 天, HDXIL 的日光颜色变为淡绿色、荧光颜色变为天蓝色,表明三文鱼肉已经变质。这些观察结果证实, HDXIL 能够借助日光和荧光双重检测手段,精确地指示三文鱼鱼肉的新鲜度状态。

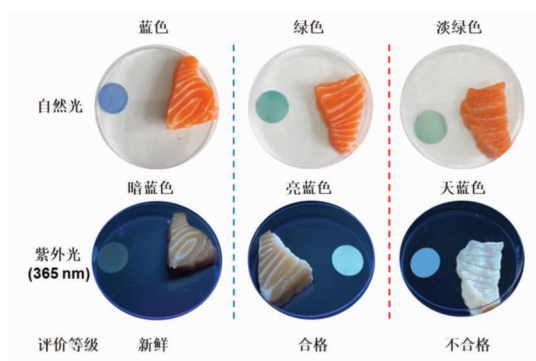


图7 传感标签 HDXIL 的日光和紫外光颜色变化及判定的三文鱼鱼肉鲜度等级

Fig.7 The color change of sensing tag HDXIL under daylight and UV light, and assessment of the freshness grade of salmon

3 结论

本文利用苯并吡喃与吡啶季铵盐缩合,成功制备了荧光探针 HDX。在 EtOH/H₂O 体积比为 1:9 的溶液中, HDX 对 10 种胺类物质展现出了极快的响应速度, 仅需 5 s 即可响应。特别地, HDX 对精胺的检测灵敏度极高, 最低可检测到 0.75 μmol/L。此外, 该探针还能够在活细胞内对精胺和腐胺进行有效的荧光成像。利用滤纸材料设计并制作了传感标签 HDXIL, 对三文鱼的 3 种等级在比色和荧光上有较好的颜色区分, 可双通道评价三文鱼鱼肉的新鲜度, 弥补了单通道评价产生的误判, 使评价结果更准确。

参 考 文 献

- [1] HEIR E, SOLBERG L E, CARLEHG M, et al. Improved control of *Listeria monocytogenes* during storage of raw salmon by treatment with the fermentate Verdaz N6 and nisin[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 336: 108895.
- [2] LI C S, ZENG H Y, ZHANG J M, et al. *Cronobacter* spp. isolated from aquatic products in China: Incidence, antibiotic resistance, molecular characteristic and CRISPR diversity[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 335: 108857.
- [3] JAASKELAINEN E, JAKOBSEN L M A, HULTMAN J, et al. Metabolomics and bacterial diversity of packaged yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and salmon (*Salmo salar*) show fish species-specific spoilage development during chilled storage[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 293: 44-52.
- [4] DONG M, ZHANG Y Y, HUANG X H, et al. Dynamic sensations of fresh and roasted salmon (*Salmo salar*) during chewing[J]. Food Chemistry, 2022, 368(22): 130844.
- [5] WANG H, MAO W F, JIANG D G, et al. Cumulative risk assessment of exposure to heavy metals through aquatic products in China[J]. Biomedical and Environmental Sciences: BES, 2021, 34(8): 606-615.
- [6] MOON E J, KIM Y, XU Y, et al. Evaluation of salmon, tuna, and beef freshness using a portable spectrometer[J]. Sensors, 2020, 20(15): 4299.
- [7] WANG L Y, RAN X G, TANG H, et al. Recent advances on reaction-based amine fluorescent probes[J]. Dyes and Pigments, 2021, 194: 109634.
- [8] YUSUFU D, MILLS A. Spectrophotometric and digital colour colourimetric (DCC) analysis of colour-based indicators[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 273: 1187-1194.
- [9] SCHIRMER B C, HEIBERG R, EIE T, et al. A novel packaging method with a dissolving CO₂ headspace combined with organic acids prolongs the shelf life of fresh salmon[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 133(1/2): 154-160.
- [10] KIMIYA T, SIVERTSEN A H, HEIA K. VIS/NIR spectroscopy for non-destructive freshness assessment of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 116(3): 758-764.
- [11] CHUN H N, KIM B, SHIN H S. Evaluation of a freshness indicator for quality of fish products during storage[J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(5): 1719-1725.
- [12] ZHAO C Z, PAN Y Z, MA L Z, et al. Assay of fish freshness using trimethylamine vapor probe based on a sensitive membrane on piezoelectric quartz crystal[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2002, 81(2/3): 218-222.
- [13] SARAIVA C, VASCONCELOS H, JMMM D A. A chemometrics approach applied to Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) for monitoring the spoilage of fresh salmon (*Salmo salar*) stored under modified atmospheres[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 331-339.

- [14] CHOW C F. Biogenic amines- and sulfides-responsive gold nanoparticles for real-time visual detection of raw meat, fish, crustaceans, and preserved meat [J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125908.
- [15] AVAN A N, KARAKAŞ O, DEMIRCI-ÇEKİÇ S, et al. Enzymatic determination of hypoxanthine in fish samples as a freshness indicator using the CUPRAC colorimetric sensor[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2023, 162: 110137.
- [16] SHARIFNEZHAD A H, DASHTIAN K, AMOURIZI F, et al. Development of peptide impregnated V/Fe bimetal Prussian blue analogue as *Robust nanozyme* for colorimetric fish freshness assessment[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2023, 1237: 340555.
- [17] PAN Y X, BAN L F, LI J J, et al. Cysteine recognition by a benzothiazole-derived fluorescent probe with 'AIE+ESIPT' characteristics[J]. *Dyes and Pigments*, 2022, 203: 110305.
- [18] PAN Y X, GUO Y T, LI Y, et al. A new aggregation-induced emission-based fluorescent probe for effective detection of Hg^{2+} and its multiple applications[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2023, 34(12): 108237.
- [19] LI Y, HUANG Y R, SUN X F, et al. An AIE mechanism-based fluorescent probe for relay recognition of HSO_3^-/H_2O_2 and its application in food detection and bioimaging [J]. *Talanta*, 2023, 258: 124412.
- [20] ZHU B T, JIANG L R, CHEN T H, et al. A colorimetric and fluorescence lighting-up probe for the determination of biogenic primary diamine during the spoilage of fish[J]. *Dyes and Pigments*, 2021, 186: 108963.
- [21] TEKNIKEL E, UNALEROGLU C. 2, 3, 5, 6-Tetrabromo-8-phenyl BODIPY as a fluorometric and colorimetric probe for amines[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2022, 422: 113549.
- [22] LI Y, JIANG X, LI Y Y, et al. A smartphone-adaptable fluorescent probe for visual monitoring of fish freshness and its application in fluorescent dyes [J]. *Food Chemistry*, 2024, 458: 140239.
- [23] LI J X, TIAN M Y, SHEN T R, et al. Rational design of an ultrabright quinolinium-fused rhodamine turn-on fluorescent probe for highly sensitive detection of SO_2 derivatives: Applications in food safety and bioimaging[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 480: 136291.
- [24] JIANG L R, CHEN T H, SONG E W, et al. High-performance near-infrared fluorescence probe for fast and specific visualization of harmful sulfite in food, living cells, and zebrafish[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 427: 131563.
- [25] DUAN C, WON M, VERWILST P, et al. *In vivo* imaging of endogenously produced HClO in zebrafish and mice using a bright, photostable ratiometric fluorescent probe[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(6): 4172-4178.
- [26] YE H, KOO S Y, ZHU B T, et al. Real-time fluorescence screening platform for meat freshness[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(44): 15423-15432.
- [27] ZHU L M, XU J C, SUN Z, et al. A twisted intramolecular charge transfer probe for rapid and specific detection of trace biological SO_2 derivatives and bio-imaging applications[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(6): 1154-1156.

Recognition of Amines by Pyran Derivatives and Evaluation of Fish Meat Freshness Using Tags

Zhong Keli¹, Hu Lina¹, Yao Yuan¹, Tang Lijun^{1*}, Li Xuepeng¹, Ying Miyan³, Li Jianrong^{2*}

¹College of Chemistry and Materials Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

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

³Qinghai Minze Longyangxia Ecological aquiculture Co., Ltd., Hainan 811899, Qinghai)

Abstract The traditional TVB-N method for evaluation of freshness has defects such as complicate process, delay result and other defects. Therefore, it is extremely significant to develop a rapid, non-destructive and real-time approach for detecting the freshness of salmon. In this paper, a benzopyran derivative HDX was constructed through condensation re-

action. HDX could sensitively recognize 10 amines, moreover, within the EtOH/H₂O (volume ratio 1:9) system, obvious color and fluorescence changes occurred within 5 s. The detection limit of HDX for spermine was 0.75 μmol/L. By utilizing HDX, fluorescence imaging of spermine and putrescine could be achieved in living cells. The sensing label HDXIL was prepared by loading HDX onto filter paper, and HDXIL could respond for fish freshness by colorimetric and fluorescence dual channels. This sensor label HDXIL showed significant recognition effect on different grades of salmon meat (distinguished by three colors). Its evaluation results were highly accurate and trustworthy, and it was suitable for real-time and on-site monitoring of the freshness of salmon meat.

Keywords benzopyran; fluorescent probe; organic amine; sensing label; salmon