

基于 2 种色素的 pH 响应型指示膜的制备及性能研究

黄少云^{a,b*}, 阮诗鑫^a

(荆楚理工学院 a.新能源学院 b.功能性印刷包装材料与技术研究中心, 湖北 荆门 448000)

摘要: **目的** 色素是 pH 响应型指示膜的重要组成, 其性质关系着智能指示膜的响应性能, 为了探究不同色素对智能指示膜性能的影响。**方法** 以紫草色素 (AERE) 和紫甘薯色素 (ATH) 为 pH 显色剂, 以琼脂糖 (AG) 为成膜基质、甘油为增塑剂, 采用流延法制备得到了 AG-AERE 和 AG-ATH 2 种体系 pH 响应型指示膜。采用 FT-IR、SEM 对指示膜的微观结构进行了表征, 对指示膜的力学性能、水溶解性、水溶胀性、水蒸气透过性等进行了测定, 同时还考察了其 pH 响应性、颜色稳定性及体系中染料迁移等性能。**结果** AG-AERE 体系指示膜在 4 种实验条件下的颜色稳定性均好于 AG-ATH 体系指示膜, AG-ATH 体系指示膜在不同 pH 区间的颜色响应变化值明显大于 AG-AERE 体系指示膜。**结论** AG-ATH 体系指示膜对 pH 变化更为敏感, 更适合作为 pH 响应型新鲜度指示膜, AG-AERE 体系指示膜在水性和酸性食品模拟液中染料迁移较低, 而 AG-ATH 体系指示膜在油脂类食品模拟液中几乎无染料迁移, 更适合用于油脂类食品的指示包装。

关键词: pH 响应型指示膜; 紫甘薯色素提取物; 紫草色素提取物; 智能包装

中图分类号: TB34; TB48

文献标志码: A

文章编号: 1001-3563(2024)17-0060-10

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2024.17.007

Preparation and Performance of pH Responsive Indicator Films Based on Two Pigments

HUANG Shaoyun^{a,b*}, RUAN Shixin^a

(a. College of New Energy, b. Research Center of Functional Printing and Packaging Materials and Technology, Jingchu University of Technology, Hubei Jingmen 448000, China)

ABSTRACT: Pigment is an important component of pH-responsive indicator films, and its properties are related to the response performance of intelligent indicator films. The work aims to investigate the influence of different pigments on the performance of intelligent indicator films. With Arnebia euchroma roots extract (AERE) and Anthocyanins (ATH) pigments as pH indicators, agarose (AG) as a film-forming matrix, and glycerol as a plasticizer, AG-AERE and AG-ATH pH-responsive indicator films were prepared by the casting method. The microstructure of the indicator films was characterized by FT-IR and SEM, and their mechanical properties, water solubility, water swelling, and water vapor permeability were measured. The pH-responsive properties, color stability, and dye migration of the two system films were also evaluated. Through experiments, it was discovered that the color stability of the AG-AERE indicator film was better than that of the AG-ATH indicator film under the four experimental conditions, and the AG-ATH indicator film had a larger color change in different pH ranges than the AG-AERE indicator film. The AG-ATH indicator film is more

收稿日期: 2024-06-01

基金项目: 湖北省教育厅科研计划项目 (Q20214305, B2021267); 荆楚理工学院校级科研项目 (YY202103)

*通信作者

sensitive to pH changes and is more suitable as a pH-responsive freshness indicator. The dye migration of the AG-AERE indicator film is lower in water and acidic food simulant solutions, while the AG-ATH indicator film has almost no dye migration in oil-based food simulant solutions. Therefore, the AG-ATH indicator film was more suitable for indicating the freshness of oil-based foods.

KEY WORDS: pH-responsive indicator film; Anthocyanins extract; Arnebia euchroma roots extract; intelligent packaging

随着物质文化和生活水平的提升,人们对食品在运输和储存过程中的质量和安全的关注度逐渐增加,这也对食品包装的功能提出了新的要求^[1]。如今,活性和智能包装系统已处于食品供应链尖端技术的最前沿,该系统旨在与食品或其环境相互作用,可以实时监控食品的新鲜度或质量变化^[2-3]。最近,各种基于变色材料和食品着色剂的比色指示膜越来越多地用于智能食品包装^[4]。该指示膜会随着食品 pH 值的变化而改变颜色,因此消费者可以在不打开包装的情况下区分食品的实时品质(新鲜或变质)。

pH 响应型指示膜主要由 pH 显色剂和载体基质两部分组成^[5]。对于 pH 显色剂,天然多酚化合物如姜黄素、花青素、甜菜红和茜草素已被用于制备 pH 响应型智能指示薄膜^[6-10]。其中,花青素(Anthocyanins, ATH)因其优异的颜色稳定性和良好的变色潜力而受到研究人员的青睐^[11-14]。此前,从蓝莓、桑葚、紫甘薯、茄子、红甘蓝等中提取的花青素,已被用作生物基 pH 敏感指示膜,用于监测食品的新鲜度^[15-19]。紫草素(Arnebia Euchroma Root Extracts, AERE)是一种从紫草根中提取的脂溶性萘醌类天然色素,pH 变化会引起其结构转变,它在酸性和碱性条件下表现出良好的颜色变化^[20]。此外,紫草素还具有出色的抗氧化和抗菌活性,因此它是活性和智能食品包装的理想候选材料^[21-22]。然而,不同类型的 pH 指示剂 pH 响应变色范围、溶解性、生物相容性均不相同,也会给指示标签带来不同的影响,在这方面的对比研究鲜有文献报道。

本研究以 2 种不同类型的 pH 显色剂做对比,选择紫甘薯色素提取物作为花青素的代表,将其与紫草色素提取物分别作为显色剂,以生物化学领域常用的惰性固定介质——琼脂糖(Agarose, AG)作为载体基质,以甘油为增塑剂,采用流延法制备得到了 AG-AERE 和 AG-ATH 2 种体系的 pH 响应型指示膜。通过傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、扫描电子显微镜(SEM)等表征手段对指示膜的微观结构、成分间化学作用等进行分析。同时对指示膜力学性能、水溶性、水溶胀性、水蒸气透过性等进行了测定与分析。此外,重点考察 2 种体系指示膜作为智能包装应用时的 pH 响应性、颜色稳定性及体系中不同食品染料迁移等性能,以期 pH 响应型指示膜等智能包装领域的开发应用提供一定参考。

1 实验

1.1 材料与试剂

主要材料与试剂:紫甘薯色素提取物和紫草色素提取物由实验室自行提取;无水乙醇($\geq 99.7\%$)、95%乙醇(95%)、甘油、溴化钾、冰醋酸($\geq 99.5\%$)、硫酸钾、氯化钠、氯化镁,均为分析纯级别,来自国药化学试剂;琼脂糖(BR级),上海如吉生物。

1.2 仪器与设备

实验所用仪器设备:WGL-65B 鼓风干燥箱,天津泰斯特仪器有限公司;PTX-FA210 高精度电子秤,美国康州华志电子有限公司;KQ3200E 超声波清洗机,昆山超声仪器有限公司;3343 型材料试验机,美国英斯特朗公司;SIGMA 扫描电子显微镜,英国 Carl Zeiss 公司;UV-3600 紫外-可见分光光度计,日本岛津仪器有限公司;Nicolet 5700 傅里叶红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;SpectroEye 分光密度计,美国爱色丽公司。

1.3 方法

1.3.1 指示膜的制备

1) 色素稀释液配置。量取 1 mL 紫草色素提取物浓缩液,采用无水乙醇稀释至 10 mL,得到紫草色素储备液 A,经标准曲线法测定(以左旋紫草素作为对照品),A 中有效色素质量浓度为 1.26 mg/mL。称取 100 mg 紫甘薯色素提取物溶于 10 mL 去离子水得到紫甘薯色素储备液 B,采用 pH 示差法测定,B 中花青素质量浓度为 1.48 mg/mL。按表 1 配方配制 1[#]~6[#]色素稀释液,使 1[#]~3[#]色素稀释液(AERE)中色素有效成分含量与 4[#]~6[#]色素稀释液(ATH)中保持一致。

2) 指示膜的制备。称取 0.3 g 琼脂糖(AG)溶于 30 mL 沸水中,AG 充分溶解溶液变澄清后滴加 0.06 g 甘油继续搅拌 1 min 停止加热,待温度降至 50℃左右,加入上一步配制的色素稀释液,置于 40℃超声振荡半分钟得到均一的成膜液后迅速倒入 90 mm 的洁净圆形培养皿中,静置 20 min 待其完全凝胶化后移入 37℃烘箱干燥 24 h,揭膜即可得到指示膜。AG-AERE-1/2/3、AG-ATH-1/2/3 分别代表采用以上 1[#]~6[#]色素稀释液制备得到的指示膜,其中 AG-AERE-x

表 1 色素稀释液配方
Tab.1 Formulation of pigment diluent

编号	储备液 A 体积/ μL	储备液 B 体积/ μL	加水定容/ mL	色素质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1 [#]	353	—	10	0.044
2 [#]	706	—	10	0.089
3 [#]	1 059	—	10	0.134
4 [#]	—	300	10	0.044
5 [#]	—	600	10	0.089
6 [#]	—	900	10	0.134

注：“—”表示未添加。

代表以紫草色素提取物为 pH 显色剂的指示膜体系，AG-ATH-x 代表以紫甘薯色素提取物作为 pH 显色剂的指示膜体系。制备得到的指示膜在性能测试前需放置于干燥器中避光保存。同等条件制备未添加色素、仅添加等量增塑剂的 AG-0 样品作为实验对照组。

1.3.2 指示膜的表征

1.3.2.1 红外光谱

将指示膜剪碎后加入 KBr 干燥粉末研磨混合均匀后制样，采用傅里叶变换红外光谱仪对样品进行扫描测试，扫描波长范围为 $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ，扫描次数为 32，扫描分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.2.2 微观结构形貌

采用场发射扫描电子显微镜观察指示膜的微观形貌结构，将薄膜样品固定在测试样品台上喷金后直接观察薄膜表面，实验时加速电压 5 kV，放大倍率为 10 000 倍。

1.3.2.3 力学性能

指示膜的力学性能参照 ASTM D882-18 试验方法^[23]，最大拉伸强度 T_s (MPa)、断裂伸长率 E_b (%) 及弹性模量 Y_m (MPa) 等指标参数通过拉伸试验得到。薄膜样品尺寸为 $80\text{ mm}\times 15\text{ mm}$ ，标称距离为 40 mm，拉伸速度为 3 mm/min ，每组样品进行 5 次平行测试，标签膜的厚度 d (μm) 采用数字式游标卡尺多次测量取平均值得到。

1.3.2.4 水溶性

参考文献[24]的方法，测定指示膜在水中的溶解性，以溶解率 W_s (%) 表示。具体步骤：按 $15\text{ mm}\times 20\text{ mm}$ 的规格裁取薄膜样品，在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下烘干 24 h 后称取初始质量，记为 m_i ，将烘干后的薄膜样品浸入装有 50 mL 蒸馏水的烧杯中常温下保持 24 h，期间进行不定期的搅拌，取出擦干薄膜样品表面水分并于 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 温度下烘干 24 h 后称取最终质量，记为 m_f 。样品的水溶解率 W_s (%) 按式 (1) 计算，每组设置 3 个平行样品。

$$W_s = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.2.5 溶胀率

指示膜在水中的溶胀性能采用称重法测定，以溶胀率 S_r (%) 表示^[25]。首先，按 $15\text{ mm}\times 20\text{ mm}$ 的规格裁取薄膜样品，将薄膜样品于干燥器中放置 7 d 后称取初始质量，记为 m_0 ，样品浸泡在 50 mL 去离子水中，隔一段时间（前 12 h 每隔 2 h，之后间隔 6 h）取出擦干后称量直至平衡，取样时样品质量记为 m_t ，样品的 S_r (%) 按式 (2) 进行计算，每组设置 3 个平行样品。

$$S_r = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.2.6 水蒸气透过性

指示膜的水蒸气透过性按 ASTM E96/E96M-16 中的水法（称量瓶中为水）进行测试^[26]，测试条件为温度 $(20\pm 2)\text{ }^\circ\text{C}$ 。具体方法：精确量取 20 mL 蒸馏水倒入称量瓶，按称量瓶口略大的尺寸规格裁取表面无瑕疵的薄膜样品，用薄膜样品盖在称量瓶口并用橡皮筋捆扎固定（相对湿度为 100%），称取初始质量后将其移入底部装有干燥硅胶的棕色干燥器中（相对湿度为 0%），每隔 4 h 取出称重直至质量变化稳定，薄膜样品的水蒸气透过率 P_{wv} ($10^{-10}\text{ g}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$) 按式 (3) 进行计算，每组设置 3 个平行样品。

$$P_{wv} = \frac{(\Delta m / \Delta t) \times T}{A \times \Delta p} \quad (3)$$

式中： $\Delta m / \Delta t$ 为某个时间段的质量变化，g/s； T 为样品的厚度，mm； A 为测试区域面积， m^2 ； Δp 为测试样品两面的气压差，Pa，取 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 时水的饱和蒸汽压 2 339 Pa 代入计算。

1.3.2.7 pH 响应性能

指示膜 pH 响应性能参照文献[27]进行测试。具体方法：将指示膜裁成 $10\text{ mm}\times 10\text{ mm}$ 的小片，置于 pH 为 3.0~12.0 的缓冲溶液中浸泡 1 min，迅速取出擦干薄膜样品表面水分后，采用分光密度仪测定其色度参数 L 、 a 、 b 值。 L 值代表颜色亮度， a 值代表“红-绿”色度， b 值代表“黄-蓝”色度。按式 (4) 计算出不同 pH 缓冲溶液样品之间的色差 ΔE 。

$$\Delta E = \sqrt{(L - L^*)^2 + (a - a^*)^2 + (b - b^*)^2} \quad (4)$$

式中： L 、 a 、 b 为测试样品的色度值； L^* 、 a^* 、 b^* 为参照样品的色度值。

1.3.2.8 颜色稳定性能

为了考察指示膜在各种环境下的稳定性，参照文献[28]方法，将制备得到的指示膜置于 4 种不同的温湿度条件下（ $25\text{ }^\circ\text{C}/97\%\text{ RH}$ 、 $25\text{ }^\circ\text{C}/75\%\text{ RH}$ 、 $25\text{ }^\circ\text{C}/33\%\text{ RH}$ 、 $4\text{ }^\circ\text{C}/75\%\text{ RH}$ ，不同相对湿度条件采用饱和盐溶液法得到）考察其颜色稳定性，每天测试薄膜样品的颜色参数 R 、 G 、 B 值，共 14 d，颜色稳定性用颜色相对变化率 S (%) 表示，按式 (5) 计算得到。

图 1 空白膜及指示膜 FT-IR 谱图
Fig.1 FT-IR spectra of blank film and indicator film

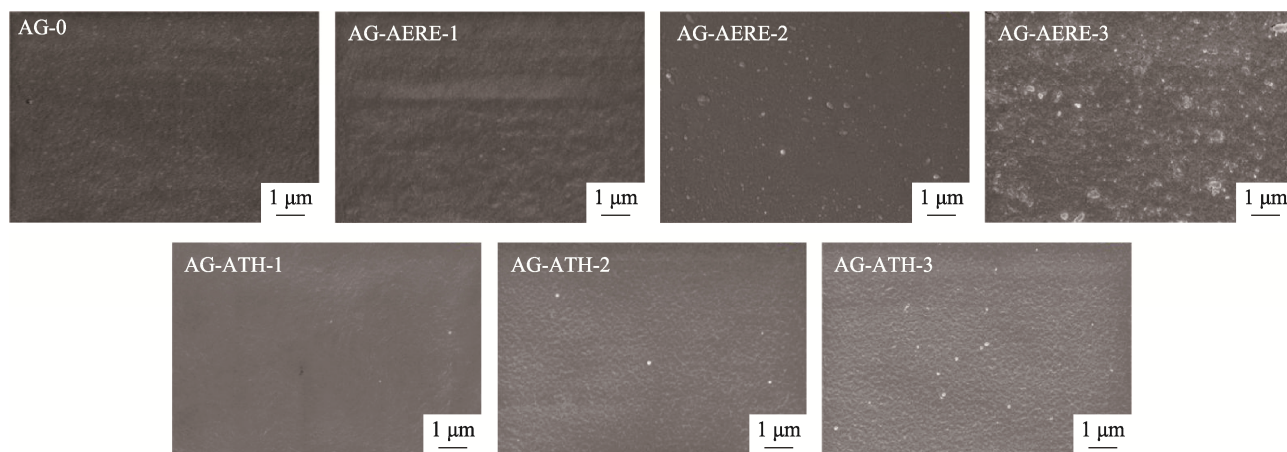


图2 空白膜和指示膜的 SEM 图
Fig.2 SEM images of blank film and indicator film

2.2 指示膜的力学性能

空白膜和指示膜的厚度及力学性能参数测试结果如表 2 所示。2 种体系指示膜的厚度相对空白膜均有一定程度的增加,当色素质量浓度较低时,厚度改变没有显著差异 ($P>0.05$)。就拉伸强度 (T_s) 而言,当色素质量浓度不高于 0.089 mg/mL 时,指示膜的 T_s 呈现增大趋势,说明 2 种色素的加入均能显著提升琼脂糖膜的强度 ($P\leq 0.05$),这是因为色素分子与多糖之间的氢键连接使得其抗拉伸作用有所增强所致^[38-39],同时 AERE 分子本身的刚性会进一步促进指示膜力学性能提升^[40];当色素质量浓度继续增加至 0.134 mg/mL 时,AG-AERE 体系指示膜的拉伸强度下降明显 ($P\leq 0.05$),这是因为多余的色素发生聚集会破坏薄膜原有微观结构,这与 SEM 结果一致,而 AG-ATH 体系指示膜的拉伸强度相比 AG-ATH-2 未产生显著改变 ($P>0.05$)。弹性模量 (Y_m) 主要表征材料的弹性,从表 2 中数据可以看出,AG-AERE 体系指示膜的 Y_m 随色素质量浓度增加先增大后略微下降,而 AG-ATH 体系指示膜的 Y_m 随色素质量浓度增加而增大,这可能是因为色素与高分子之间的氢键结合导致其抵抗拉伸形变能力提升所致。断裂伸长率 (E_b) 是反映指示膜柔韧性的指标,AG-AERE 体系指示膜的 E_b 随着

色素质量浓度有略微下降但未表现显著差异 ($P>0.05$),当色素质量浓度达到 0.134 mg/mL 时,此时 E_b 显著下降 ($P\leq 0.05$),这是由于此时指示膜过量的色素造成薄膜微观结构破坏进而造成延展性降低。AG-ATH 体系指示膜的断裂伸长率随色素质量浓度未发生显著改变 ($P>0.05$),说明紫甘薯色素的添加未影响基质膜的柔韧性。

2.3 指示膜的水溶性、溶胀性、水蒸气透过性

指示膜的水溶性 (W_s)、溶胀率 (S_r)、水蒸气透过率 (P_{wv}) 测试结果如表 3 所示。水溶性是反映薄膜对水敏感性的主要指标,较低的水溶性对其作为智能包装应用时保持标签膜的稳定性有利^[25]。从表 3 中数据可以看出,2 种体系指示膜相比空白膜其 W_s 表现出 2 种不同的变化趋势,即 AG-AERE 体系指示膜的 W_s 随色素质量浓度增加而下降,而 AG-ATH 体系指示膜的 W_s 随色素添加而升高。这是由色素的水溶性性质所决定的,紫甘薯色素属于花青素类色素,易溶于水,随着色素质量浓度增加,指示膜中可溶性成分比例增大;而紫草色素属于萘醌类色素,在水中溶解性差,随着色素质量浓度增加,指示膜中可溶性成分占比减少,因而造成 W_s 因色素加入而下降^[24]。

表 2 2 种体系指示膜的厚度及力学性能
Tab.2 Thickness and mechanical properties of 2 indicator films

样品	厚度 $d/\mu\text{m}$	拉伸强度 T_s/MPa	弹性模量 Y_m/MPa	断裂伸长率 $E_b/\%$
AG-0	39.92±0.38 ^d	20.31±0.67 ^c	629.21±30.16 ^c	19.25±1.19 ^a
AG-AERE-1	40.58±0.38 ^{bcd}	23.20±0.83 ^b	663.90±15.32 ^{abc}	18.83±1.00 ^{ab}
AG-AERE-2	41.23±0.25 ^{ab}	25.65±0.65 ^a	685.81±7.19 ^a	18.16±0.91 ^{abc}
AG-AERE-3	41.67±0.29 ^a	21.24±0.89 ^c	681.69±12.47 ^a	16.54±0.57 ^c
AG-ATH-1	40.19±0.23 ^{cd}	22.25±1.59 ^{bc}	641.50±13.09 ^{bc}	18.95±0.68 ^{ab}
AG-ATH-2	40.49±0.26 ^{cd}	24.57±1.13 ^{ab}	652.17±12.78 ^{abc}	17.99±0.62 ^{abc}
AG-ATH-3	40.64±0.46 ^{bc}	24.44±1.63 ^{ab}	663.33±22.12 ^{abc}	18.45±0.42 ^a

注:表中数据表示为平均值±标准差 ($n=5$);同列数据间上标为不同字母表示组间有显著差异 ($P\leq 0.05$),上标有相同字母表示组间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 3 2 种体系指示膜的水溶性、溶胀率、水蒸气透过率
Tab.3 Water solubility, swelling rate, and water vapor permeability of 2 indicator films

样品	水溶性 $W_s/\%$	溶胀率 $S_r/\%$	水蒸气透过率 $P_{wv}/(10^{-10} \text{ g}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1})$
AG-0	17.54±0.50 ^{cd}	311.80±4.80 ^c	0.560 6±0.011 6 ^{cd}
AG-AERE-1	16.81±0.36 ^{de}	292.05±5.50 ^d	0.540 7±0.007 9 ^d
AG-AERE-2	15.53±0.71 ^{de}	273.24±6.83 ^e	0.575 5±0.010 3 ^{bc}
AG-AERE-3	14.76±0.40 ^e	261.51±4.77 ^e	0.626 6±0.011 1 ^a
AG-ATH-1	19.81±0.78 ^{bc}	323.54±3.69 ^{bc}	0.509 5±0.002 9 ^e
AG-ATH-2	22.03±1.80 ^b	329.89±4.08 ^{ab}	0.559 4±0.014 1 ^{cd}
AG-ATH-3	25.46±0.95 ^a	344.01±3.69 ^a	0.573 6±0.003 7 ^{bc}

注: 表中数据表示为平均值±标准差 (n=3); 同列数据间上标为不同字母表示组间有显著差异 ($P\leq 0.05$), 上标有相同字母表示组间无显著差异 ($P>0.05$)。

溶胀率是指示膜另一个关键指标, 溶胀性能不仅反映了指示膜的持水力^[41], 还会对指示膜响应变色造成一定影响^[42]。分析表 3 数据可得, 2 种体系指示膜在水中达到饱和时的溶胀率呈现和水溶解性一致的变化趋势, AG-AERE 体系指示膜的 S_r 随色素质量浓度增加而显著下降 ($P\leq 0.05$), 而 AG-ATH 体系指示膜的 S_r 随色素添加而显著升高 ($P\leq 0.05$)。就 AG-AERE 体系而言, 紫草色素的加入会与多糖形成氢键作用, 原有的一些 H_2O 分子的结合位点会被占据, 这样指示膜持水力降低, 导致其 S_r 下降^[24,43]; 而对 AG-ATH 体系, 花青素本身亲水, 原本与多糖膜基质以氢键结合的色素溶于水后空出了 H_2O 分子结合位点, 会促进指示膜吸附更多的水分子, 使得其持水力增强。

水蒸气透过率 P_{wv} 反映了一定时间内透过单位面积薄膜的水蒸气量, 水蒸气透过率越高越有利于指示膜响应变色, 因为挥发性碱性气体的质子化过程需要 H_2O 分子的参与。从结果可以看出, 当色素质量浓度为 0.044 mg/mL 时, AG-AERE 体系指示膜的 P_{wv} 轻微下降, 而 AG-ATH 体系指示膜的 P_{wv} 下降显著 ($P\leq 0.05$)。这是由于色素添加后其与琼脂糖基质之间作用力使指示膜形成了更为紧密的结构, 使得 H_2O 分子通过变得困难^[24,43]。随着色素添加量增加, 2 种体系指示膜的 P_{wv} 均增大, 这主要归因于色素聚集在指示膜表面产生了一些裂缝或孔洞等微观缺陷所致, 色素添加量越多, 指示膜微观结构上的缺陷越明显, H_2O 分子通过微观结构缺陷相对容易^[24]。

2.4 指示膜的 pH 响应、颜色稳定性和染料迁移性能

依据国际照明委员会 CIE 关于色差的规定^[44], 2 个颜色之间色差 ΔE 值大于 6 时, 人眼能明显区分, 以此作为指示膜颜色突变区间的临界值。指示膜在不同 pH 缓冲溶液中浸泡后其颜色变化如图 3 所示, 分析结果可以看出, AG-AERE-1 指示膜仅在 pH 由 9.0 升高至 10.0 时 ΔE 值为 6.37, 其余均小于 6; AG-AERE-2 和 AG-AERE-3 指示膜有 2 个颜色突变区间, 分别为 pH 在 8.0~9.0 和 9.0~10.0, 在此 pH 区间

2 种指示膜颜色变化值 ΔE 均大于 6, 且色素质量浓度高的 AG-AERE-3 指示膜颜色改变更为明显, 这是因为指示膜浸泡在缓冲溶液中意味着 H^+ 或 OH^- 过量, 色素质量浓度高的指示膜发生结构转变的色素更多^[45]。对 AG-ATH 体系指示膜而言, 其表现出多个颜色突变区间, 如 AG-ATH-1 指示膜在 pH 在 3.0~4.0、4.0~5.0、5.0~6.0、6.0~7.0、7.0~8.0、9.0~10.0 和 11.0~12.0 区间其颜色变化值 ΔE 均大于 6。AG-ATH-2 和 AG-ATH-3 这 2 组指示膜的颜色突变区间和 AG-ATH-1 相同。进一步分析得到, AG-ATH 体系指示膜在其颜色突变区间的 ΔE 值明显大于 AG-AERE 体系指示膜, 这说明相比 AG-AERE 体系, AG-ATH 体系指示膜对 pH 变化更为敏感。

天然色素易受光、热、氧气等外界因素的影响, 进而对指示膜的颜色稳定性产生影响。指示膜在不同温湿度环境下的颜色稳定性测试结果如图 4 所示, 从图 4 可以看出, 在 4 种温湿度条件下 AG-AERE 体系指示膜颜色相对变化率 $S(\%)$ 均低于 AG-ATH 体系指示膜, 这说明 AG-AERE 体系指示膜在一般环境下颜色稳定性优于 AG-ATH 体系指示膜。对于 AG-AERE 体系, AG-AERE-1 指示膜的颜色相对变化率 S 高于色素质量浓度高的指示膜 (AG-AERE-2 和 AG-AERE-3) 的, 这是因为同种条件下在 AG-AERE-1 指示膜中被氧化的色素占色素总含量相对比例高的缘故, 在 AG-ATH 体系中也有相同的规律^[43]。就储存环境而言, 2 种体系指示膜的颜色稳定性均随相对湿度升高而变差, 随温度降低而变好, 这是因为高湿度、高温会促进色素的质子化或去质子化 (结构变化) 及氧化过程, 进而导致指示膜颜色稳定性下降^[46]。AG-AERE 体系指示膜在 4 种条件下颜色相对变化率 S 均小于 5%, 而 AG-ATH 体系指示膜在高湿度条件下 (相对湿度 97% 和 75%) 存放后期其颜色相对变化率 S 大于 5%, 说明 AG-ATH 体系指示膜随时间延长其颜色稳定性变差, 因此在实际应用时储存环境的温湿度条件引起的指示膜自身颜色相对变化率是不容忽视的。

指示膜中的染料在不同食品模拟液中的迁移实验结果如图 5 所示, 从图 5 可以看出, AG-AERE 体

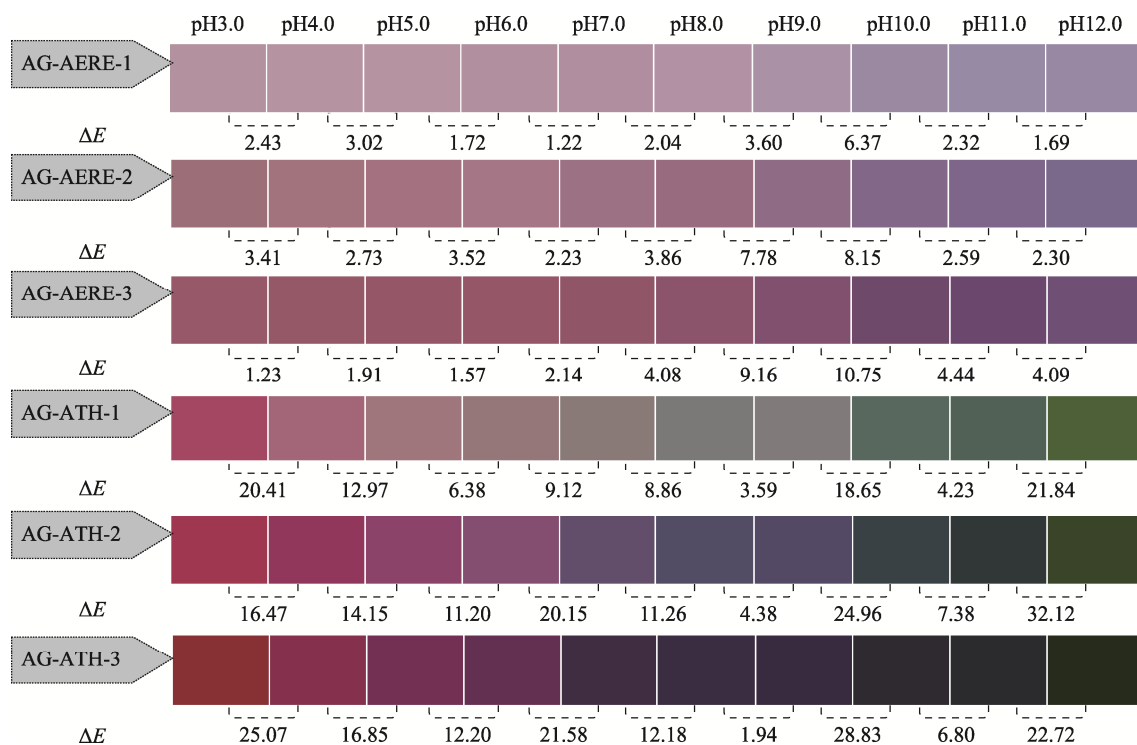
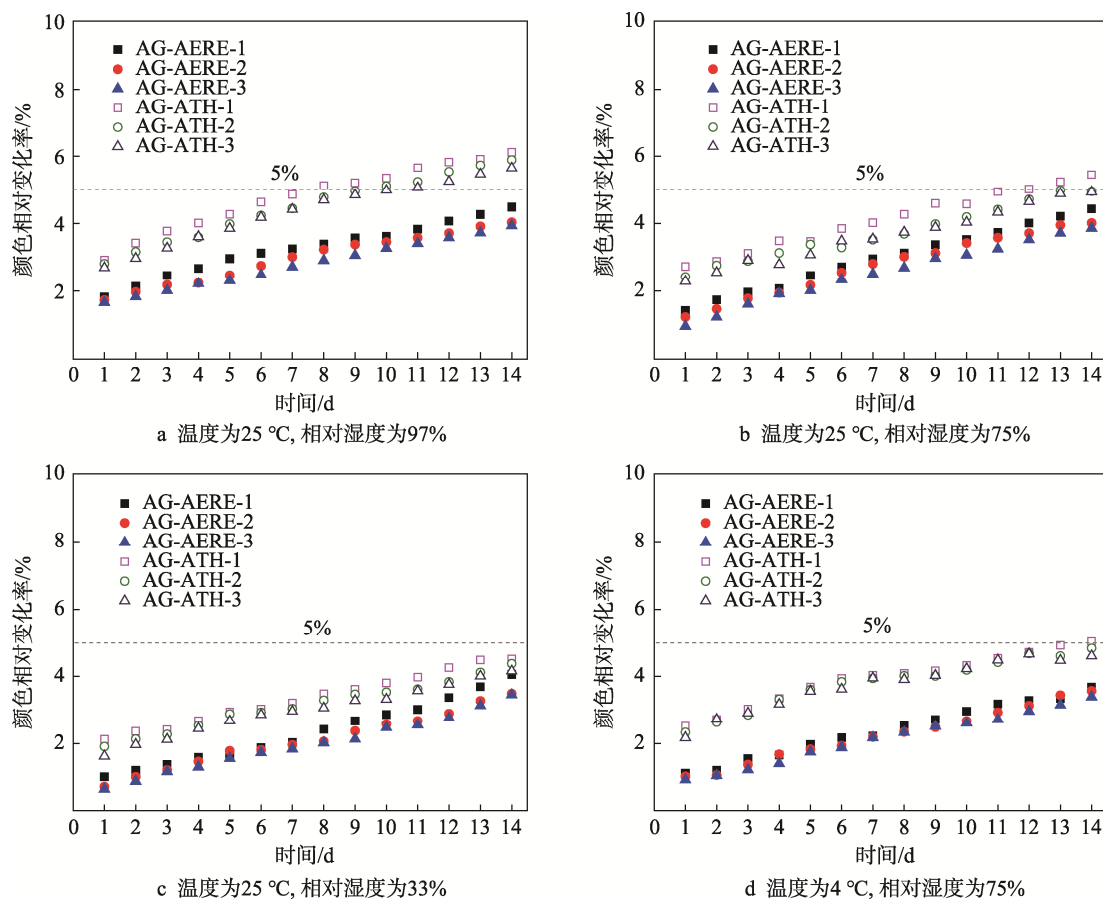
图 3 2 种体系指示膜在不同 pH 缓冲溶液的图片及颜色变化值 (ΔE)Fig.3 Images and color change values (ΔE) of 2 indicator films in different pH buffer solutions

图 4 2 种体系指示膜在 4 种温湿度条件下的颜色相对变化率

Fig.4 Relative color change rate of 2 indicator films under different temperature and humidity conditions

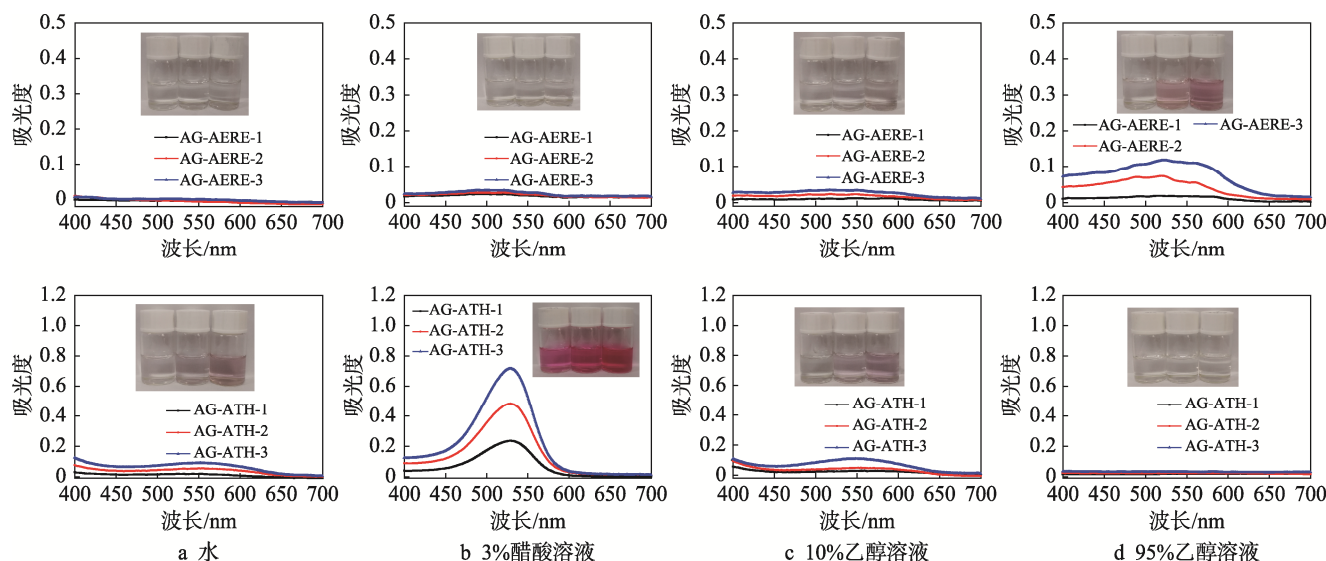


图 5 2 种体系指示膜在不同食品模拟液中染料迁移实验结果
Fig.5 Dye migration of 2 indicator films in different food simulants

系指示膜在水和体积分数为 3% 的醋酸溶液中几乎不发生染料迁移, 在体积分数为 10% 的乙醇溶液仅发生少量迁移, 而在体积分数为 95% 的乙醇溶液中染料迁移明显, 这是因为紫草色素不溶于水而在醇中易溶解的原因。AG-ATH 体系指示膜在水、体积分数为 3% 的醋酸溶液和体积分数为 10% 的乙醇溶液中均发生了染料迁移, 随着色素质量浓度增加迁移越明显。AG-ATH 体系指示膜在酸性食品模拟液中染料迁移尤其显著, 这是因为在酸性条件下花青素向黄洋盐阳离子转变的结果。AG-ATH 体系指示膜在体积分数为 95% 的乙醇溶液中几乎不发生染料迁移, 表明 AG-ATH 体系指示膜更适合作为油脂类食品的指示包装。另外, 高分子复合薄膜中活性材料迁移还受迁移物质化学成分、聚合物基质材料特性、模拟液介质等诸多因素影响^[47]。

3 结语

通过研究, 得出以下结论:

1) 由 FT-IR 分析, AERE 和 ATH 均已成功地引入了琼脂糖基质中, 指示膜中色素与多糖基质间主要靠氢键连接。从 SEM 图可以看出, 当色素质量浓度较低时, 色素能较好地分布于多糖基质中, 指示膜表面完整平滑; 当色素添加量增大时, 薄膜表面微观瑕疵点逐渐增多, AG-AERE 体系指示膜由于色素分子与高分子基质之间相容性差会出现相分离现象。

2) 当色素质量浓度较低时, 2 种体系指示膜的力学性能均随色素的加入而增强, 当色素质量浓度继续增加时, AERE 由于与多糖基质相分离造成指示膜拉伸强度和断裂伸长率下降明显, 而 AG-ATH 体系指示膜则无显著差异。

3) AG-ATH 体系指示膜水溶解性和水溶胀性随

ATH 添加浓度增大而升高, 相反, AERE 的加入会降低基质膜的水溶解性和水溶胀性。2 种体系指示膜的水蒸气透过性能随色素质量浓度增加呈现先下降后增大的趋势。

4) AG-ATH 体系指示膜在不同 pH 区间的 ΔE 明显大于 AG-AERE 体系指示膜, 说明相比 AG-AERE 体系, AG-ATH 体系指示膜对 pH 变化更为敏感, 更适合作为 pH 响应型新鲜度指示膜。2 种体系指示膜的颜色稳定性随时间、温度、相对湿度的增加而变差, 对比而言, AG-AERE 体系指示膜的颜色稳定性均好于 AG-ATH 体系指示膜。AG-AERE 体系指示膜在水性和酸性食品模拟液中染料迁移较低, 而 AG-ATH 体系指示膜在油脂类食品模拟液中几乎无染料迁移。

参考文献:

- [1] ROY S, PRIYADARSHI R, EZATI P, et al. Curcumin and Its Uses in Active and Smart Food Packaging Applications - a Comprehensive Review[J]. Food Chemistry, 2022, 375: 131885.
- [2] MOHAMMADALINEJHAD S, ALMASI H, MORADI M. Immobilization of Echium Amoenum Anthocyanins into Bacterial Cellulose Film: A Novel Colorimetric pH Indicator for Freshness/Spoilage Monitoring of Shrimp[J]. Food Control, 2020, 113: 107169.
- [3] SHARMA N, SHARMA U K, MALIK S, et al. Isolation and Purification of Acetylshikonin and Beta-Acetoxyisovalerylshikonin from Cell Suspension Cultures of Arnebia Euchroma (Royle) Johnston Using Rapid Preparative HPLC[J]. Journal of Separation Science, 2008, 31(4): 629-635.
- [4] ALIZADEH-SANI M, MOHAMMADIAN E, RHIM J

- W, et al. PH-Sensitive (Halochromic) Smart Packaging Films Based on Natural Food Colorants for the Monitoring of Food Quality and Safety[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 105: 93-144.
- [5] MA Y L, WEN L, LIU Y B, et al. Chitosan-Enhanced PH-Sensitive Anthocyanin Indicator Film for the Accurate Monitoring of Mutton Freshness[J]. Polymers, 2024, 16(6): 849.
- [6] WANG W Q, LIU X W, GUO F, et al. Biodegradable Cellulose/Curcumin Films with Janus Structure for Food Packaging and Freshness Monitoring[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 324: 121516.
- [7] ZHANG J J, HUANG X W, ZOU X B, et al. A Visual Indicator Based on Curcumin with High Stability for Monitoring the Freshness of Freshwater Shrimp, *Macrobrachium Rosenbergii*[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 292: 110290.
- [8] 余惠容, 张利, 李兴梅, 等. 基于甜菜红素的 pH 指示膜性能研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(7): 190-196.
- YU H R, ZHANG L, LI X M, et al. Study of pH Indicator Film Properties Based on Betacyanins[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(7): 190-196.
- [9] ZHANG J N, ZHANG J J, ZHANG X N, et al. Ammonia-Responsive Colorimetric Film of Phytochemical Formulation (Alizarin) Grafted Onto ZIF-8 Carrier with Poly(vinyl alcohol) and Sodium Alginate for Beef Freshness Monitoring[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(20): 11706-11715.
- [10] GUPTA A, COSTA A P, XU X M, et al. Formulation and Characterization of Curcumin Loaded Polymeric Micelles Produced via Continuous Processing[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2020, 583: 119340.
- [11] SWARUP R, HYUN-JI K, JONG-WHAN R. Effect of Blended Colorants of Anthocyanin and Shikonin on Carboxymethyl Cellulose/Agar-Based Smart Packaging Film[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 305-315.
- [12] BENDOKAS V, SKEMIENE K, TRUMBECKAITE S, et al. Anthocyanins: From Plant Pigments to Health Benefits at Mitochondrial Level[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(19): 3352-3365.
- [13] SAIGO T, WANG T, WATANABE M, et al. Diversity of Anthocyanin and Proanthocyanin Biosynthesis in Land Plants[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2020, 55: 93-99.
- [14] SWARUP R, JONG-WHAN R. Anthocyanin Food Colorant and Its Application in pH-Responsive Color Change Indicator Films[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 61(14): 1-29.
- [15] NEVES D, ANDRADE P B, VIDEIRA R A, et al. Anthocyanin-Based Films in Smart Food Packaging: A Mini-Review[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 133: 107885.
- [16] ZENG P, CHEN X, QIN Y R, et al. Preparation and Characterization of a Novel Colorimetric Indicator Film Based on Gelatin/Polyvinyl Alcohol Incorporating Mulberry Anthocyanin Extracts for Monitoring Fish Freshness[J]. Food Research International, 2019, 126: 108604.
- [17] YONG H M, WANG X C, BAI R Y, et al. Development of Antioxidant and Intelligent PH-Sensing Packaging Films by Incorporating Purple-Fleshed Sweet Potato Extract into Chitosan Matrix[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 216-224.
- [18] YONG H M, WANG X C, ZHANG X, et al. Effects of Anthocyanin-Rich Purple and Black Eggplant Extracts on the Physical, Antioxidant and PH-Sensitive Properties of Chitosan Film[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 94: 93-104.
- [19] YOON H J, LEE G, KIM J T, et al. Biodegradable, Three-Dimensional Colorimetric Fliers for Environmental Monitoring[J]. Science Advances, 2022, 8(51): 3201.
- [20] HUANG X Y, FU H L, TANG H Q, et al. Optimization Extraction of Shikonin Using Ultrasound-Assisted Response Surface Methodology and Antibacterial Studies[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020: 1208617.
- [21] JANSEN G, FLAMME W. Coloured Potatoes (*Solanum Tuberosum* L.)-Anthocyanin Content and Tuber Quality[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006, 53(7): 1321-1331.
- [22] ROY S, WHAN J R. Preparation of Gelatin/ Carrageenan-Based Color-Indicator Film Integrated with Shikonin and Propolis for Smart Food Packaging Applications[J]. ACS APPLIED BIO MATERIALS, 2021, 4(1): 770-779.
- [23] American Society of Testing Materials. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheet: ASTM D882-18[S]. American Society of Testing Materials, 2018: 1-3.
- [24] GUTIÉRREZ T J. Active and Intelligent Films Made from Starchy Sources/Blackberry Pulp[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2018, 26(6): 2374-2391.
- [25] ATEF M, REZAEI M, BEHROOZ R. Preparation and Characterization Agar-Based Nanocomposite Film Reinforced by Nanocrystalline Cellulose[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 70: 537-544.

- [26] American Society of Testing Materials. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials: ASTM E96/E96M-16[S]. American Society of Testing Materials, 2016: 1-2.
- [27] MA Q Y, REN Y M, GU Z X, et al. Developing an Intelligent Film Containing Vitis Amurensis Husk Extracts: The Effects of pH Value of the Film-Forming Solution[J]. Journal of Cleaner Production, 2017, 166: 851-859.
- [28] HUANG X, ZOU X, ZHAO J, et al. Monitoring the Biogenic Amines in Chinese Traditional Salted Pork in Jelly (Yao-Meat) by Colorimetric Sensor Array Based on Nine Natural Pigments[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 50: 203-209.
- [29] LUCHESE C L, GARRIDO T, SPADA J C, et al. Development and Characterization of Cassava Starch Films Incorporated with Blueberry Pomace[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 834-839.
- [30] SHAMSURI A A, DAIK R, Utilization of an Ionic Liquid/Urea Mixture as a Physical Coupling Agent for Agarose/Talc Composite Films[J]. Materials, 2013, 6: 682-698.
- [31] SHAMSURI A A., ABDULLAH D K, DAIK R, Fabrication of Agar/Biopolymer Blend Aerogels in Ionic Liquid and Co-Solvent Mixture[J]. Cellulose Chemistry and Technology, 2012,46: 45-52.
- [32] HU Z, HONG P, LI, et al. Study on the Preparation of Quaternized Chitosan/Agarose Microspheres for Berbamine Delivery[J]. Journal of Materials Science, 2012, 29: 459-464.
- [33] HU Z, HONG P Z, LIAO M N, et al. Preparation and Characterization of Chitosan-Agarose Composite Films[J]. Materials, 2016, 9(10): 816.
- [34] CAO Q Q, ZHANG Y, CHEN W, et al. Hydrophobicity and Physicochemical Properties of Agarose Film as Affected by Chitosan Addition[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 1307-1313.
- [35] WU Y, GENG F Y, CHANG P R, et al. Effect of Agar on the Microstructure and Performance of Potato Starch Film[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 76(2): 299-304.
- [36] KANG S L, WANG H L, XIA L, et al. Colorimetric Film Based on Polyvinyl Alcohol/Okra Mucilage Polysaccharide Incorporated with Rose Anthocyanins for Shrimp Freshness Monitoring[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115402.
- [37] 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.
- [38] PEREDA M, AMICA G, RÁCZ I, et al. Preparation and Characterization of Sodium Caseinate Films Reinforced with Cellulose Derivatives[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(2): 1014-1021.
- [39] SIQUEIRA G, BRAS J, DUFRESENE A, et al. Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation Properties and Applications[J]. Polymers, 2010, 2: 728-765.
- [40] DONG H L, LING Z, ZHANG X, et al. Smart Colorimetric Sensing Films with High Mechanical Strength and Hydrophobic Properties for Visual Monitoring of Shrimp and Pork Freshness[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 309: 127752.
- [41] JIANG Y F, LI Y X, CHAI Z, et al. Study of the Physical Properties of Whey Protein Isolate and Gelatin Composite Films[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(8): 5100-5108.
- [42] POURJAVAHER S, ALMASI H, MESHKINI S, et al. Development of a Colorimetric pH Indicator Based on Bacterial Cellulose Nanofibers and Red Cabbage (Brassica Oleraceae) Extract[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 193-201.
- [43] 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.
- [44] FRANCIS F J. Colorimetry of Foods. In: Peleg, M. and Bagly, E.B., Eds., Physical Properties of Foods[M]. Westport: The AVI Publishing Company Inc., 1983: 105-123.
- [45] QIN Y, LIU Y P, ZHANG X, et al. Development of Active and Intelligent Packaging by Incorporating Betalains from Red Pitaya (Hylocereus Polyrhizus) Peel into Starch/Polyvinyl Alcohol Films[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105410.
- [46] LEWIS C E, WALKER J R L, LANCASTER J E. Effect of Polysaccharides on the Colour of Anthocyanins[J]. Food Chemistry, 1995, 54(3): 315-319.
- [47] BUONOCORE G G, DEL NOBILE M A, PANIZZA A, et al. A General Approach to Describe the Antimicrobial Agent Release from Highly Swellable Films Intended for Food Packaging Applications[J]. Journal of Controlled Release, 2003, 90(1): 97-107.