

# 花青素纳米纤维智能标签对羊肉新鲜度的无损检测

孙武亮<sup>1</sup>, 李文博<sup>1</sup>, 靳志敏<sup>2</sup>, 靳 焱<sup>1</sup>, 孙文秀<sup>1\*</sup>

(1. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古自治区市场监督管理审评查验中心, 呼和浩特 010070)

**摘 要:** 为实现羊肉新鲜度的无损、实时、可视化检测, 及建立可靠的预测模型, 将花青素纳米纤维智能标签应用于市售温度 ( $10 \pm 2$ ) °C 储藏下的羊肉, 并测定了智能标签的微观结构和胺敏感性, 以及羊肉储藏过程中的新鲜度指标 (感官品质、挥发性盐基总氮含量 (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N)、pH 值、菌落总数、酸度/氧化力系数) 和纤维膜的色差。结果表明: 花青素纳米纤维膜呈淡粉色, 由 250 nm 左右的均匀纤维丝组成, 具有胺敏感性; 羊肉的各新鲜度指标指示其在储藏 72 h 时已腐败变质, 同时纤维膜由粉色变为白色; 相关性分析表明纤维膜色差与各新鲜度指标具有显著相关性 ( $P < 0.05$ ), 并建立了准确率为 88.2% 的色差对 TVB-N 的预测模型 ( $R^2 = 0.967$ )。综上所述, 羊肉新鲜度的无损、可视化和实时检测可通过花青素纳米纤维智能标签实现, 且根据标签颜色即可初步预测羊肉新鲜度级别, 为解决肉类安全问题提供了新思路。

**关键词:** 无损检测; 预测模型; 羊肉新鲜度; 智能标签; 纳米纤维膜

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.004

中图分类号: TS206

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2021)-04-0024-07

孙武亮, 李文博, 靳志敏, 等. 花青素纳米纤维智能标签对羊肉新鲜度的无损检测[J]. 农业工程学报, 2021, 37(4): 24-30. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.004 http://www.tcsae.org

Sun Wuliang, Li Wenbo, Jin Zhimin, et al. Non-destructive detection of mutton freshness using anthocyanin nanofiber smart label[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(4): 24-30. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.04.004 http://www.tcsae.org

## 0 引 言

近年来, 随着人们生活水平的提高, 食品安全问题受到了广泛重视。肉类可以为机体提供微量元素, 是重要的矿物质来源, 已成为日常饮食中不可或缺的部分, 所以对其安全性的控制与检测尤为重要<sup>[1-2]</sup>。究其根本, 要解决肉类安全性问题, 首先要实现其新鲜度的实时检测, 这样才能有效控制产品流通与销售, 进而达到提高肉类安全性指数的目的。肉类新鲜度级别由挥发性盐基总氮含量 (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) 划分, 但传统检测方法过于复杂, 且耗时较长, 不能实现实时检测。因此, 为实现肉类新鲜度的无损及可视化检测, 让普通大众也可获悉产品品质优异的目的, 研究者们开始着眼于开发可对肉类特征性腐败物质具有响应性的智能标签。

目前, 检测肉类新鲜度的智能标签大多是基于指示材料对包装环境的 pH 值敏感性而制备的, 其可以在不同 pH 值条件下显示出不同颜色, 进而实现新鲜度的分级与检测<sup>[3-4]</sup>。随着人们对肉类安全的重视, 基于合成型 pH 敏感材料 (二甲酚蓝、溴甲酚绿、溴甲酚紫、甲酚红、甲基红和溴百里酚蓝) 和天然型敏感材料 (花青素和茜素) 的智能指示标签均已被制备<sup>[4-9]</sup>。在这些研究中, 虽

然可以对肉类新鲜度进行无损、实时及可视化检测, 但大多只采用 TVB-N 和菌落总数进行新鲜度划分, 指标过于单一, 准确性不高。并且这些新鲜度指标在与标签颜色变化进行相关性分析时, 也只是粗略的用肉类腐败阈值和标签颜色进行比对, 不能实现对肉类剩余货架期的预测。由此可见, 肉类新鲜度的检测及其剩余货架期的预测尚不全面, 准确性有待进一步验证, 不利于解决肉类安全问题。综上所述, 为实现肉类新鲜度较为准确的无损、实时及可视化检测, 以及剩余货架期的预测, 明确智能标签颜色变化与新鲜度指标的关系, 参考 Sun 等<sup>[10-11]</sup>制备的纳米纤维膜方法, 制备花青素纳米纤维智能便签应用于羊肉新鲜度检测中, 结合方差分析和相关性分析, 建立智能标签对羊肉新鲜度的预测模型, 为肉类新鲜度的无损、实时及可视化检测开辟新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

材料: 纳米纤维膜由 Sun 等<sup>[10]</sup>提供; 羊肉来自内蒙古乌拉特中旗苏尼特羊育种园区, 选取 12 月龄苏尼特羊, 于 6:00 吊挂屠宰, 去除头、蹄和内脏后, 迅速在胴体上取后腿肉 100 g, 迅速放入冰盒中, 待用。

试剂: 氨水、氧化镁、硼酸、浓盐酸, 均为分析纯; PCA (plate count agar) 培养基, 广东环凯微生物科技有限公司; 甲基红、溴甲酚绿, 麦克林试剂。

### 1.2 仪器与设备

pH-STAR 型胴体 pH 计, 德国 MATTHAUS 公司;

收稿日期: 2020-12-02 修订日期: 2021-02-11

基金项目: 国家自然科学基金 (31760481)

作者简介: 孙武亮, 博士生, 研究方向为智能检测。Email: swuliang@163.com

※通信作者: 孙文秀, 博士, 教授, 研究方向为智能包装。

Email: swx122@126.com

CR-20 型色差计,日本柯尼卡美能达有限公司;Pro-Nitro A 全自动凯氏定氮仪,北京金恒祥仪器有限公司;SEM4000 扫描电镜,日本 JSM 公司;UV-2450 紫外分光光度计,岛津企业管理(中国)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 纳米纤维膜的制备

纳米纤维膜的制备参考 Sun 等<sup>[10-11]</sup>的方法,称取质量分数为 12%的聚乳酸(Polylactic Acid, PLA)置于二氯甲烷(Dichloromethane, DCM)溶液中,并在磁力搅拌器上以 500 r/min 持续搅拌直至 PLA 颗粒全部溶解;称取质量分数为 0.4%的花青素溶于二甲基甲酰胺(N,N-Dimethylformamide, DMF)中,并在磁力搅拌器上以 500 r/min 持续搅拌直至花青素全部溶解,随后将该溶液倒入 PLA 溶液中,充分混合制成纺丝溶液,其中 DCM/DMF 的质量比为 3:2。

静电纺丝步骤参考 Sun 等<sup>[10-11]</sup>的方法,将纺丝溶液注入到可以垂直沉降的注射器(体积为 10 mL)中,将其放于静电纺丝机中,选用五喷头器件进行纺丝。纺丝参数为:正电压为+ 20 kV;相对空气湿度为 20%;溶液的进料速度为 1 mL/h;转筒速度为 150 r/min;纤维丝的空间积累距离为 18 cm;空间积累时间为 30 min。最后将所得的纳米纤维膜放于 50 ℃的真空干燥箱中干燥至恒质量。

1.3.2 纳米纤维膜的表征

1) 扫描电子显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)

通过扫描电子显微镜(SEM-TM4000Plus, Hitachi High-Technologies Corporation, Japan)研究花青素纳米纤维膜的表面形貌特征。每幅图像的最大施加电压为 15 kV,工作距离为 1~5 mm。选用 image pro 6plus 作为 SEM 图像的分析软件。

2) 胺敏感性

选用氨蒸汽作为模型气体,采用顶空方法检测膜的胺敏感性。依据亨利定律,氨蒸汽浓度通过容器中氨溶液的气液平衡来控制<sup>[12-13]</sup>。传感试验在 25 ℃下、相对湿度 54%条件下进行,先向培养皿中注入 15 mL 浓度为 1~100 mg/L 的氨水,然后将膜(1 cm×2.5 cm)密封于其中,充分反应 24 h 后,通过 UV-2450 紫外分光光度计测定膜的光学吸收变化。

1.3.3 纳米纤维膜对羊肉新鲜度的检测

选取羊后腿肉,放入超净台中紫外灭菌 20 min,切除表面肉层,并将羊肉均分为 25 g 放于包装盒中,将纳米纤维膜(1 cm×2 cm)放于顶部,不接触肉样。试验温度选用大型超市的市售温度(10±2)℃,纤维膜照片拍摄在灯的位置、入射角和强度恒定的灯箱中进行。每天测定感官品质、TVB-N、菌落总数、pH 值、酸度/氧化力系数和纳米纤维膜的色差值 ΔE,直至羊肉彻底腐败变质。每次试验设置 3 个平行,重复进行 3 次,以验证结果准确性。

感官评定:选 10 名经过培训的评价员对储藏期间的羊肉进行感官评分,评分标准见表 1<sup>[14]</sup>。

表 1 羊肉感官评定表

Table 1 Sensory evaluation table of mutton					
指标 Indicators	一级鲜度 (5 分) First freshness (5 points)	二级鲜度 (4 分) Second freshness (4 points)	三级鲜度 (3 分) Third freshness (3 points)	四级鲜度 (2 分) Fourth freshness (2 points)	变质 (1 分) Spoilage (1 point)
色泽	鲜红,有光泽	较鲜红,有光泽	暗红,无光泽	灰暗或苍白,无光泽	色泽差,不能接受
气味	具有鲜羊肉特有的气味,无异味	具有羊肉味,无异味	稍有氨味	有氨味	腐败气味,不能接受
组织状态	弹性好,指压后立即恢复	弹性好,指压后能恢复	弹性一般,指压后不能恢复	无弹性,指压后不能恢复	弹性丧失,指压后凹陷严重

TVB-N: 参考 GB 5009.228—2016 的方法,利用全自动凯氏定氮法测定 TVB-N 含量,每个样品测定 3 次取平均值。

菌落总数: 参考 GB 4789.2—2016 的方法,选用平板计数法测定肉样的菌落总数,每个样品测定 3 次取平均值。

pH: 使用胴体 pH 计测定羊肉 pH 值,每个样品测定 3 次取平均值。

酸度/氧化力系数: 参考朱民望<sup>[15]</sup>的方法,取 10 g 肉样,去除筋膜,切成肉糜,加入 90 mL 蒸馏水,搅拌均匀后静置 30 min,过滤待用。取 10 mL 滤液,加入 40 mL 蒸馏水,混匀后滴加五滴酚酞试剂,用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定,当样液变为淡红色且半分钟内不褪色时,消耗的 NaOH 溶液体积即为酸度值。量取 50 mL 蒸馏水置于三角烧瓶中,依次加入 5 mL 0.2 mol/L 硫酸和 1 滴 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液,混合加热至 40~50 ℃,再加入 10 mL 肉样滤液,立即用 0.02 mol/L 高锰酸钾滴定,直至溶液呈玫瑰红色且 30 s 内不褪色即为滴定终点,所消耗的高锰酸钾溶液的体积即为氧化力值。

纳米纤维膜的色差: 使用色差仪测定纤维膜的颜色, L\*为亮度值, a\*为红度值, b\*为黄度值,每个样品测定 3 次取平均值。色差 ΔE 计算公式如下

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$
 (1)

式中 L<sub>0</sub>\*, a<sub>0</sub>\*和 b<sub>0</sub>\*为纤维膜的初始颜色值, L\*, a\*和 b\*为纤维膜使用之后的值。

1.4 数据统计与分析方法

使用 SPSS 22.0 软件对数据进行方差分析,使用 Origin2018 软件进行作图分析,选用 Image plus pro6 软件测量纤维的直径,采用 JMP Pro 14 软件进行相关性分析、预测模型的建立和模型准确度的计算。模型准确度是预测为正实际为正和预测为负实际负占总样本的比例。

2 结果与分析

2.1 纳米纤维智能标签的表征

由图 1 可知,纳米纤维智能标签宏观上呈淡粉色,且柔软轻薄。由 SEM 的图像证明,智能标签微观上由直径约为 250 nm 的平滑、均匀和连续的纳米纤维丝构成,无明显串珠现象。

2.2 胺敏感性

肉在腐败过程中产生的挥发性气体中, NH<sub>3</sub>、二甲胺

和三甲胺是几种主要的碱性特征性挥发性成分<sup>[16]</sup>。其中 $\text{NH}_3$ 是结构最为简单,且对环境 pH 值具有直接影响的气体,所以选用该气体作为检测纳米纤维智能标签敏感性的模型气体<sup>[17]</sup>。为测定纳米纤维膜的氨敏感性,将膜暴露于氨溶液中(1~100 mg/L)过夜后,使用 UV-2450 紫外分光光度计确定粉色纳米纤维复合膜的光学吸收变化,结果如图 2 所示。花青素的紫外吸收峰在 500~550 nm 之间<sup>[18]</sup>,UV-2450 紫外分光光度计检测到纳米纤维膜在 533 nm 处出现最大吸收峰。随着氨浓度的增加,膜的吸收峰逐渐下降,当浓度大于 70 mg/L 时,最大吸收峰基本消失。此反应的感应机制为:纳米纤维膜初始呈鲜艳的粉红色;当暴露于氨蒸汽后,花青素中发生亲核加成反应,电子发生转移,碳原子上的电子转移到氧原子上,形成了碳正离子;碳正离子吸引游离的氢氧根,双键断裂成单键,最终形成半缩酮;半缩酮是一种无色物质,其在一定温度下吡喃环可以被打开,进而形成顺式查尔酮结构,这种结构也是一种无色物质<sup>[19-20]</sup>。综上所述,纳米纤维膜在 533 nm 的紫外吸光度与氨浓度呈反比关系(关系式为:  $y=0.907\,06-0.003\,8x$ ,  $R^2=0.989\,7$ ),证实了纤维膜从粉色变为白色,可以被肉眼识别,为后期膜在羊肉的新鲜度检测应用中提供依据。

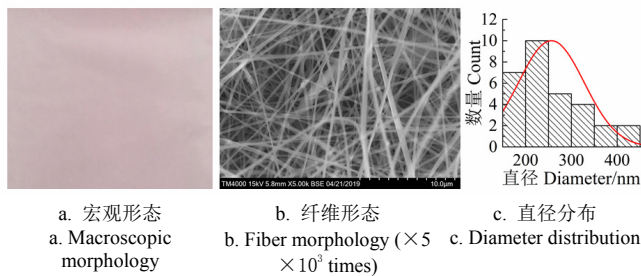


图 1 纳米纤维膜的宏观形态与微观结构  
Fig.1 Macroscopic morphology and microstructure of nanofiber film

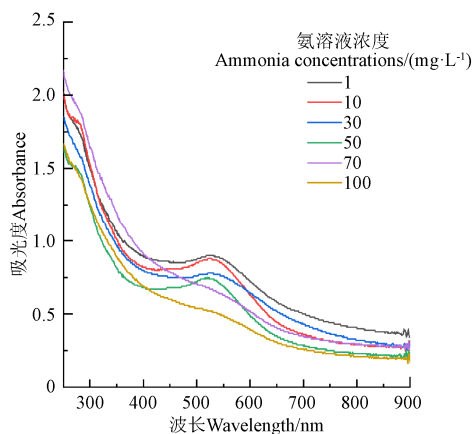


图 2 纳米纤维膜在不同浓度氨溶液中的紫外线吸收光谱图  
Fig.2 UV absorbance of the nanofiber film immersed in different ammonia concentrations

## 2.3 纳米纤维智能标签对羊肉新鲜度的监测

### 2.3.1 羊肉储藏过程中新鲜度的分级

感官评定、pH 值、TVB-N、菌落总数和酸度/氧化力系数是判定肉新鲜度的主要指标,通过测定羊肉储藏过程中上述指标的变化,实现对羊肉新鲜度的准确分级,并将分级结果与纳米纤维智能标签的色彩变化对比,分

析智能标签对羊肉新鲜度检测的准确性。

感官评定是通过气味、色泽和组织状态实现对肉新鲜度明确的分级,是最为直观的判定方法。由表 2 可知,屠宰后的新鲜羊肉具有较好的风味和色泽、肌纤维致密有序、组织状态较好,感官评分较高,具有较高的食用价值。随着储藏时间的增加,羊肉感官评分逐渐下降,在 48 h 时,羊肉的各项感官评分降至 2.20~2.70 之间,具体表现为轻微腐败味的出现、色泽变为暗红色、轻微的汁液流失、组织状态松散,食用品质明显下降。当羊肉储藏 72 h 时,出现了明显的腐败味,色泽变为深红色,有较多汁液流失,肉的表面出现粘手现象,肌肉弹性彻底消失,食用品质降至最低。

表 2 羊肉储藏过程中的感官评定结果  
Table 2 Sensory evaluation results during mutton storage

储藏时间 Storage time/h	气味 Flavor	色泽 Color	组织状态 Organization status
0	4.99±0.02 <sup>a</sup>	4.98±0.02 <sup>a</sup>	4.98±0.03 <sup>a</sup>
24	3.73±0.21 <sup>b</sup>	3.53±0.21 <sup>b</sup>	3.83±0.15 <sup>b</sup>
48	2.20±0.10 <sup>c</sup>	2.33±0.25 <sup>c</sup>	2.63±0.47 <sup>c</sup>
72	1.00±0.02 <sup>d</sup>	1.23±0.25 <sup>d</sup>	1.57±0.25 <sup>d</sup>

注:表中不同小写字母表示同一指标不同储藏时间差异显著( $P<0.05$ )。  
Note: Different lowercase letters in the table indicate that the same index has a significant difference in different storage times ( $P<0.05$ ).

肉的 pH 值不仅对嫩度、保水性等品质有较大影响,还在一定程度上影响着肌肉内源酶活性,从而影响蛋白的降解,最终对肉的腐败进程产生影响,是指示肉品新鲜度的重要指标<sup>[21-22]</sup>。如图 3a 所示,样品的初始 pH 值为 5.68,分析原因是羊肉此时已进入糖酵解阶段,产生了较多乳酸,进而导致 pH 值偏低<sup>[23]</sup>。随后,羊肉的 pH 值逐渐上升,这可能是由于肌肉氧气供应不足,肌质网被破坏,大量流失的  $\text{Ca}^{2+}$  激活了钙蛋白酶体系,促进了肌原纤维蛋白降解为小分子多肽,部分多肽继续降解为游离氨基酸,这些游离氨基酸和肽类物质又被微生物利用进而生成胺类物质,最终使 pH 值升高<sup>[24-26]</sup>。

挥发性盐基氮(TVB-N)包括氨及胺类物质,是肉在储藏过程中,蛋白质、多肽和氨基酸等含氮化合物被内源酶及细菌分解,产生的挥发性碱性物质,如氨、三甲胺、二甲胺、尸胺和腐胺等物质的统称<sup>[27-28]</sup>。肉类的 TVB-N 值小于 15 mg/100 g 为新鲜肉,15~20 mg/100 g 为次鲜肉,大于 20 mg/100 g 为腐败肉<sup>[29]</sup>。由 3b 可知,羊肉初始 TVB-N 值为 7.6 mg/100 g,储藏 24 h 后为 11.6 mg/100 g,此时羊肉处于新鲜级别;储藏 48 h 时,TVB-N 值升至 18.8 mg/100 g,此时羊肉已降至次新鲜级;当储藏 72 h 时羊肉的 TVB-N 值已增至 32.9 mg/100 g,远高于腐败阈值,已经腐败变质。

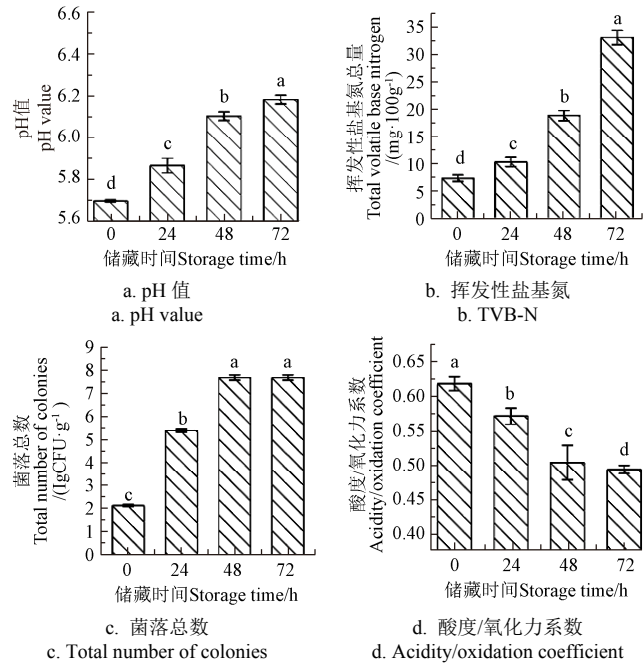
微生物是导致肉腐败的主要原因,冷鲜肉新鲜度的评定标准为:一级鲜度:小于等于 5 lgCFU/g,次级鲜度:5~7 lgCFU/g,腐败:大于等于 7 lg CFU/g<sup>[30]</sup>。由图 3c 可知,羊肉储藏前的菌落总数为 2.1 lgCFU/g,此时羊肉处于新鲜阶段。随着储藏时间的增加,菌落总数在 24 h 时大幅度增加,羊肉达到次新鲜程度。随着微生物的迅速生长繁殖,在储藏 48 h 时菌落总数增至 7.6 lg CFU/g,



高于腐败临界值，羊肉失去食用价值。

酸度/氧化力系数是肉 pH 值与氧化力的比值，是羊肉新鲜度的另一指示指标<sup>[15]</sup>。由图 3d 可知，羊肉在储藏过程中酸度/氧化力系数值呈现下降趋势（ $P<0.05$ ）。原因是羊肉在储藏期间蛋白质在微生物的作用下被分解产生胺类物质，导致肉的酸度下降，致使酸度/氧化力值整体呈下降趋势，这与 pH 值结果规律一致<sup>[31]</sup>。另一主要原因是随着羊肉微生物的大量繁殖和生长，导致氧化力增加，致使酸度/氧化力系数显著降低（ $P<0.05$ ）<sup>[32]</sup>。

综上所述，羊肉在储藏过程中，pH 值逐渐升高，酸度/氧化力系数逐渐下降，菌落总数在储藏 48 h 时达到腐败阈值；感官评定与 TVB-N 则在羊肉储藏 72 h 时，指示肉已腐败变质。综合以上指标，对羊肉进行新鲜度分级，即储藏时间  $t<24$  h（新鲜）， $24\text{ h}<t<48$  h（次新鲜）， $t>72$  h（腐败）。



注：不同小写字母表示组间差异显著（ $P<0.05$ ）。下同。  
Note: Different small letters mean significant differences between groups ( $P<0.05$ ). The same below.

图 3 羊肉储藏过程中的新鲜度指标变化  
Fig.3 Freshness index of mutton during storage

2.3.2 纳米纤维膜的色差

为探究纳米纤维智能标签对羊肉新鲜度的监测可行性，以 TVB-N 作为划分羊肉新鲜度的主要指标，分析标签颜色变化与 TVB-N 的关系，结果如图 4 所示。羊肉在储藏过程中，随着腐败程度的增加，在内源性酶和微生物作用下，生成了挥发性生物胺，如氨、三甲胺、尸胺、腐胺等，这些碱性物质挥发后导致环境 pH 值增加，花青素中的黄酮离子发生水合作用形成了无色的查尔酮结构，致使纳米纤维膜产生颜色变化<sup>[33-34]</sup>。新鲜羊肉的 TVB-N 值约为 7.2 mg/100 g，储存 1 d 后 TVB-N 微增至 11.6 mg/100 g，同时纳米纤维膜颜色从红粉色变为浅粉色， $\Delta E$ （色差值）为 4.9，已被肉眼所识别<sup>[35]</sup>。当羊肉储存 3 d 时，TVB-N 值增至 32.97 mg/100 g，表明肉已变质腐败，同时包装盒中的纳米纤维膜从淡粉色变为白色， $\Delta E$  增至 13.6，这可以让一个非专业人士裸眼识别。

但根据数据结果显示，到羊肉储藏 3d 时， $\Delta E$  误差较大，同时观察到标签颜色在组间差异比较大，个别样品依旧呈淡粉色，未变成白色。分析原因是，羊肉的初始微生物污染菌株存在差异，导致其产生的挥发性生物胺不同，进而与花青素的反应不同，最终导致标签最后呈现的颜色不同。总而言之，纳米纤维智能标签颜色变化与肉的新鲜度指示指标 TVB-N 大致呈现一致的规律，可以依据标签颜色对羊肉新鲜度进行初步无损检测。

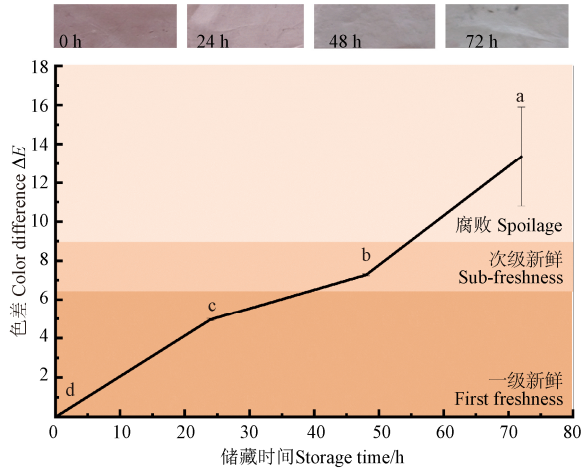


图 4 羊肉储藏过程中智能标签的色差变化  
Fig.4 Change of color difference for smart label during mutton storage

2.4 智能标签监测羊肉新鲜度的预测模型及市场应用

2.4.1 新鲜度指标与标签色差的相关性分析

为分析新鲜度指标与纤维膜  $\Delta E$  的关系，进行了相关性分析。由表 3 可知，纳米纤维膜  $\Delta E$  与感官评分呈极显著负相关（ $P<0.001$ ）、与酸度/氧化力系数呈显著负相关（ $P<0.05$ ）； $\Delta E$  与 TVB-N、菌落总数和 pH 值均呈极显著正相关（ $P<0.001$ ）。由此可知， $\Delta E$  与各指标呈较高的相关性，可以作为肉类新鲜度的评定指标。

表 3 羊肉在储藏期间各指标的相关性分析  
Table 3 Correlation analysis of various indexes of mutton during storage

指标 Indexes	感官评分 Sensory assessment	挥发性盐 基氮 TVB-N	菌落总数 Total number of colonies	pH 值 pH value	酸度/氧化 力系数 Acidity/oxidation coefficient	色差 Color difference $\Delta E$
感官评分 Sensory assessment	1					
挥发性盐基氮 TVB-N	-0.950 4***	1				
菌落总数 Total number of colonies	-0.961 3***	0.831 3***	1			
pH 值 pH value	-0.983 9***	0.907 5***	0.977 2***	1		
酸度/氧化 力系数 Acidity/oxidation coefficient	0.795 5**	-0.594 1*	-0.899 7***	-0.799 4**	1	
色差 Color difference $\Delta E$	-0.981 1***	0.962 1***	0.910 6***	0.938 1***	-0.772 8**	1

注：\*表示相关性显著（ $P<0.05$ ），\*\*表示相关性极显著（ $P<0.01$ ），\*\*\*表示相关性极其显著（ $P<0.001$ ）。  
Note: \* means the correlation is significant ( $P<0.05$ ), \*\* means the correlation is highly significant ( $P<0.01$ ), \*\*\* means the correlation is extremely significant ( $P<0.001$ ).

2.4.2 预测方程的建立

将感官评分、TVB-N、菌落总数、pH 值和酸度/氧化力系数作为因变量,将 $\Delta E$  作为自变量进行模拟。使用 JMP 软件中的标准二乘法,  $\Delta E$  的宏选项选用响应面进项。利用 JMP 软件进行方程模拟,由表 4 可以看出,经过模拟,每个指标均被成功模拟出方程,且调整后的决定系数  $R^2$  均在 0.9 以上,且极为显著,这表明模型已成功建立。由于 TVB-N 值有国标划分新鲜度的标准,所以选用 TVB-N 模型作为羊肉新鲜度的预测模型。预测模型如下

$$y_1(\text{感官评定值})=4.79-0.29\Delta E+(\Delta E-6.38)(0.007(\Delta E-6.38))$$

(2)

$$y_2(\text{TVB-N})=2.87+1.97\Delta E+(\Delta E-6.38)(0.097(\Delta E-6.38))$$

(3)

$$y_3(\text{菌落总数})=3.62+0.47\Delta E+(\Delta E-6.38)(0.039(\Delta E-6.38))$$

(4)

$$y_4(\text{pH 值})=5.75+0.04\Delta E+(\Delta E-6.38)(-0.002(\Delta E-6.38))$$

(5)

$$y_5(\text{酸度/氧化力系数})=3.23-0.46\Delta E+(\Delta E-6.38)(0.069(\Delta E-6.38))$$

(6)

表 4 模型汇总  
Table 4 Model summary

指标 Indexes	决定系数 Coefficient of determina- tion $R^2$	调整 $R^2$ Adjust $R^2$	均方根误差 Root mean square error	F 值 F-value	P 值 P-value
感官评定	0.973	0.967	0.268	162.196	0.000 1
TVB-N	0.967	0.959	2.175 mg·100 g <sup>-1</sup>	130.225	0.000 1*
菌落总数	0.963	0.955	0.517 lg CFU·g <sup>-1</sup>	117.761	0.000 1*
pH 值	0.915	0.897	0.065	48.894	0.000 1*
酸度/氧化 力系数	0.975	0.970	0.442	180.053	0.000 1*

2.4.3 市场应用及模型验证

将纳米纤维膜制成符合市场要求的智能标签,根据上述 TVB-N 模型方程对标签指示肉品新鲜度的剩余货架期进行预测,并应用于市场中做进一步验证。试验样本选取市售的内蒙古苏尼特羊后腿肉,包装方式为托盘包装,储藏温度与建立模型的温度一致((10±2)℃)。由图 5 可知,纳米纤维智能标签可对羊肉新鲜度进行初步可视化监测,消费者能通过标签明显的颜色变化裸眼识别肉品新鲜度。智能标签的价格估算如表 5 所示,一个标签总价格约为 0.002 7 元。为验证标签检测的准确性,JMP 软件自动比对了羊肉真实 TVB-N 值与预测 TVB-N 值,结果如图 6 所示,发现二者呈正相关,且误差较小,预测准确度达 88.2%。综上所述,智能标签价格低廉、方便快捷、操作简便,在肉类的无损、实时及可视化检测领域具有很大的应用前景,可实现肉类在生产、流通和销售过程中的新鲜度检测。

表 5 纳米纤维膜的价格估评

Table 5 Price evaluation of nanofiber membrane (1 cm×2 cm)		
主要材料 Main materials	质量 Content/g	价格 Price/元
PLA	0.001 008	0.001 008
氯仿	0.006 652 8	0.000 465 696
DMF	0.000 739 2	0.000 480 48
花青素	0.001	0.000 7
总价格/元		0.002 7

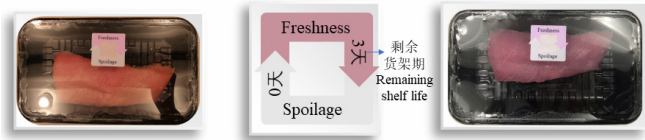


图 5 羊肉销售过程中标签的应用  
Fig.5 Application of labels in mutton sales

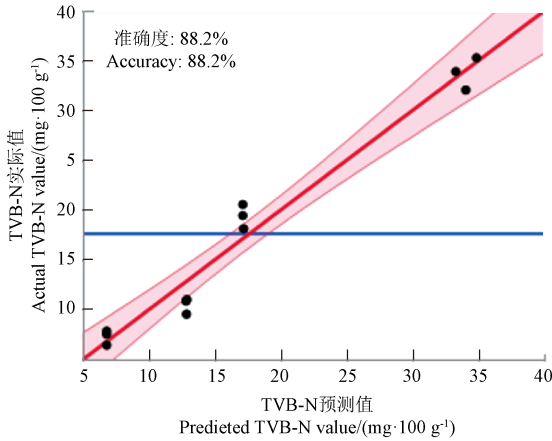


图 6 TVB-N 预测值与实际值对比图  
Fig.6 Comparison of predicted value and actual value of TVB-N

3 结 论

- 1) 花青素纳米纤维智能标签由直径约为 250 nm 的纤维丝构成,表面呈淡粉色,具有较好的胺响应性,智能标签在 533 nm 的紫外吸光度与氨浓度呈反比关系  $R^2=0.989 7$ 。
- 2) 智能标签可初步应用于羊肉新鲜度的实时及可视化检测中,其颜色变化与 TVB-N 大致呈现一致的规律。
- 3) 标签颜色变化与各新鲜度指标有明显的线性关系,  $R^2$  均大于 0.9,根据色差值  $\Delta E$  可预测羊肉新鲜度以及剩余货架期,准确率可达到 88.2%,同时该标签价格低廉,只需 0.002 7 元,为今后实现肉类新鲜度实时、无损和可视化检测提供了新的方向与选择。

[参 考 文 献]

[1] 尹靖东. 动物肌肉生物学与肉品科学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011.

[2] Kalpana S, Priyadarshini S R, Maria Leena M, et al. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems[J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 93: 145-157.

[3] Poyatos-Racionero E, Ros-Lis J V, Vivancos J, et al. Recent advances on intelligent packaging as tools to reduce food waste[J]. Journal of Cleaner Production, 2018, 172: 3398-3409.

[4] Holman B W B, Kerry J P, Hopkins D L. Meat packaging solutions to current industry challenges: A review[J]. Meat Science, 2018, 144: 159-168.

[5] Balbinot-Alfaro E, Craveiro D V, Lima K O, et al. Intelligent packaging with ph indicator potential[J]. Food Engineering Reviews, 2019, 11(4): 235-244.

[6] Kuswandi B, Nurfawaidi A. On-package dual sensors label

- based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness[J]. *Food Control*, 2017, 82: 91-100.
- [7] Mohammadian E, Sani M A, 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.
- [8] Müller P, Schmid M. Intelligent packaging in the food sector: A brief overview[J]. *Foods*, 2019, 8(1): 16-32.
- [9] Dobrucka R, Przekop R. New perspectives in active and intelligent food packaging[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, 43(11): 101-114.
- [10] Sun W, Liu Y, Jia L, et al. A smart nanofibre sensor based on anthocyanin/poly-l-lactic acid for mutton freshness monitoring[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 56(1): 342-351.
- [11] 孙武亮. 花青素基纳米纤维标签的制备及可视化监测羊肉新鲜度[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- Sun Wuliang. Preparation of Anthocyanin-based Nanofiber tags and Usage in Visualized Testing in Freshness of Lamb[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [12] Calingaert G, Huggins F E. An apparent deviation from Henry's law for the system, ammonia-water[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 45(4): 915-920.
- [13] Ji C, Ma L, Yin M, et al. A cyanine dye encapsulated porous fibrous mat for naked-eye ammonia sensing[J]. *Chemistry—An Asian Journal*, 2016, 11(16): 2316-2321.
- [14] 王利强, 贾超, 游柳青, 等. 马铃薯淀粉基抗菌可食膜对冷却肉保鲜效果的研究[J]. *功能材料*, 2015, 46(12): 12019-12024.
- Wang Liqiang, Jia Chao, You Liuqing, et al. Study on the preservation effect of potato starch-based antimicrobial edible films on the chilled meat[J]. *Journal of Functional Materials*, 2015, 46(12): 12019-12024. (in Chinese with English abstract)
- [15] 朱民望. 冷冻储藏和反复解冻对鸡肉品质的影响研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2012.
- Zhu Minwang. Studies on Frozen Storage and Repeated Freeze-thaw Influenced Chicken Quality[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2012. (in Chinese with English abstract)
- [16] Senapati M, Sahu P P. Meat quality assessment using Au patch electrode Ag-SnO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub>/Si MIS capacitive gas sensor at room temperature[J]. *Food Chemistry*, 2020, 324: 126893.
- [17] Liu Q, Mukherjee S, Huang R, et al. Naphthyl end-capped terthiophene-based chemiresistive sensors for biogenic amine detection and meat spoilage monitoring[J]. *Chemistry—An Asian Journal*, 2019, 14(15): 2751-2758.
- [18] Wu L, Tsai I, Ho Y, et al. Active and intelligent gellan gum-based packaging films for controlling anthocyanins release and monitoring food freshness[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 254: 117410.
- [19] Cooper-Driver G A. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins[J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(3): 229-236.
- [20] Zhai X, Zou X, Shi J, et al. Amine-responsive bilayer films with improved illumination stability and electrochemical writing property for visual monitoring of meat spoilage[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 302: 127130.
- [21] Pearce K L, Rosenvold K, Andersen H J, et al. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes: A review[J]. *Meat Science*, 2011, 89(2): 111-124.
- [22] Dong T, Zhang Y, Qi X, et al. Evaluation of the effects of prepared antibacterial multilayer film on the quality and shelf-life stability of chilled meat[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2017, 41(5): e13151.
- [23] Li J, Zhang L, Fu Y, et al. Creatine monohydrate and guanidinoacetic acid supplementation affects the growth performance, meat quality, and creatine metabolism of finishing pigs[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(38): 9952-9959.
- [24] Mutwakil. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review[J]. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 2011, 6(4): 486-510.
- [25] Odeyemi O A, Alegbeleye O O, Strateva M, et al. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(2): 311-331.
- [26] Calvo L, Toldra F, Aristoy M C, et al. Effect of dietary organic selenium on muscle proteolytic activity and water-holding capacity in pork[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 1-11.
- [27] Alam P, Leung N, Su H, et al. A highly sensitive bimodal detection of amine vapours based on aggregation induced emission of 1, 2-dihydroquinoxaline derivatives[J]. *Chemistry*, 2017, 23(59): 14911-14917.
- [28] Jia R, Tian W, Bai H, et al. Amine-responsive cellulose-based ratiometric fluorescent materials for real-time and visual detection of shrimp and crab freshness[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1-8.
- [29] Guo L, Wang T, Wu Z, et al. Portable food-freshness prediction platform based on colorimetric barcode combinatorics and deep convolutional neural networks[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(45): 2004805.
- [30] 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.
- [31] Schaudé C, Meindl C, Fröhlich E, et al. Developing a sensor layer for the optical detection of amines during food spoilage[J]. *Talanta*, 2017, 170: 481-487.
- [32] Casaburi A, Piombino P, Nychas G, et al. Bacterial populations and the volatile associated to meat spoilage[J]. *Food Microbiology*, 2015, 45: 83-102.
- [33] 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.

- [34] Khoo H E, Azlan A, Tang S T, et al. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits[J]. Food and Nutrition Research, 2017, 61(1): 1361721-1361779.
- [35] Zhang J, Zou X, Zhai X, et al. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness[J]. Food Chemistry, 2019, 272: 306-312.

## Non-destructive detection of mutton freshness using anthocyanin nanofiber smart label

Sun Wuliang<sup>1</sup>, Li Wenbo<sup>1</sup>, Jin Zhimin<sup>2</sup>, Jin Ye<sup>1</sup>, Sun Wenxiu<sup>1</sup>✉

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. Market Supervision, Evaluation and Inspection Center, Inner Mongolia, Hohhot 010070, China)

**Abstract:** A high demand has been growing for non-destructive, cost-saving, and online visual detection on the mutton freshness. In this study, a prepared smart label was used to detect the freshness of mutton stored at a commercially available temperature ( $10\pm 2$ )°C, and then a reliable prediction model was established. This smart label was made of a nanofiber membrane fabricated by electrospinning, which was loaded with pH-sensitive anthocyanin and biodegradable polylactic acid. A scanning electron microscope (SEM) and UV-2450 spectroscopy were used to observe and detect the microstructure and amine sensitivity of the fiber membrane. Some parameters were measured during the storage of mutton, including the sensory quality, total volatile base nitrogen (TVB-N), pH value, the total number of colonies, acidity/oxidation capacity coefficient of meat, and fiber membrane color difference. The freshness of mutton was accurately graded, thereby preliminarily evaluating the accuracy of the fiber membrane for the detection. The results showed that the fiber membrane was amine sensitive in the light pink with uniform fiber filaments of about 250 nm. The freshness indicators of mutton demonstrated that it had been putrefied and deteriorated after 72 h storage, where the fiber membrane changed from pink to white. Correlation analysis showed that the color difference of the fiber membrane had a significant correlation with each freshness index. A prediction model was successfully established for the TVB-N with an accuracy rate of 88.2% was successfully established ( $R^2=0.967$ ). Therefore, anthocyanin nanofiber smart label can be preliminarily applied to the detection of mutton freshness, where the freshness could be roughly graded according to the color of the label. The reason was that the amines were produced during meat spoilage, some of which evaporated into the packaging environment, thereby changing the pH value of the environment, whereas, the anthocyanins were color responsive to pH, which caused the label color to change in turn. The price of the label was relatively low and the overall price was only 0.0027 Yuan, indicating a great advantage in market applications. The anthocyanin smart label can be used to realize the non-destructive, visual, and real-time detection of mutton freshness, providing a new idea to solve meat safety.

**Keywords:** nondestructive detection; prediction models; mutton freshness; smart label; nanofiber membrane