

荧光探针在食品智能包装中的应用

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2017.06.007

张晋美 陈良哲 黎厚斌

武汉大学

印刷与包装系

湖北 武汉 430079

摘要: 通过监测食品包装内一些理化指标 (O_2 、 H_2S 、 CO_2 、酸碱度、碳水化合物) 判定食品的新鲜程度, 是新时代下智能包装领域的一大研究热点及难点。荧光探针法因具有专一性强、灵敏度高、响应速度快、可控性强等特点, 被广泛应用于识别某些理化指标, 具备判断食品新鲜度的功能。首先对荧光探针的荧光机理进行简介, 然后对近十多年来 O_2 荧光探针、 H_2S 荧光探针、碳水化合物荧光探针以及其他类型的荧光探针的研究现状进行了归纳总结, 最后对荧光探针在食品智能包装中的应用前景进行了展望。

关键词: 荧光探针; 荧光机理; 智能包装; 食品新鲜度

中图分类号: O657.3; TB381

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2017)06-0045-11

0 引言

中国进入新时代后, 食品安全问题受到了前所未有的重视, 人们越来越追求无防腐剂、无添加剂、保鲜时间长的绿色安全食品。如何让消费者更快速、更便捷地辨别出包装内食品的新鲜程度, 是近年来快速兴起的智能包装技术的主要研究热点^[1-2]。常用表征食品新鲜度的主要指标有: 加快食品腐败的 O_2 的含量, 腐烂变质释放的 H_2S 的含量, 保鲜除菌的 CO_2 的含量, 反映环境变化的酸碱度以及提供营养的碳水化合物的含量等。因此, 检测出这些量的变化就可以指示出部分食品的新鲜度^[3]。通过使用智能包装指示剂, 可以自主地监测产品在运输及存储过程中, 包装内的环境指标变化, 包括 O_2 、 H_2S 、 CO_2 、酸碱度、碳水化合物含量等理化指标^[4-5]。

对这些理化指标常用的检测方法有: 电化学法、气相色谱法、半导体传感法、荧光探针法等^[6]。其中, 前3种检测方法所需设备仪器复杂、成本较大,

关键是检测不够灵敏、可操作性不强。相比之下, 荧光探针法的检测仪器体积较小、成本较低、专一性较强、灵敏度高、响应迅速、可调控性强, 且具有可特异性识别并无损产品的优势。目前, 该方法已成为生物、化学界的一大研究热点^[7]。然而, 目前国内有关荧光探针法检测食品理化指标的研究较少, 国内的研究起步较晚, 消费者对此的认知也较浅。

本文首先对荧光探针的荧光机理进行简介, 然后对近年来 O_2 荧光探针、 H_2S 荧光探针、 CO_2 荧光探针、酸碱度荧光探针以及碳水化合物荧光探针的研究现状进行归纳总结, 并对此类荧光探针在食品智能包装中的应用提出设想。

1 荧光探针简介

荧光探针是指荧光探针分子能够特异性识别目标检测物, 并与之结合, 然后利用探针分子的荧光性, 通过荧光光度计、荧光活体成像、荧光显微镜等将

收稿日期: 2017-09-23

基金项目: 国家国防科技工业局基础产品创新计划基金资助项目

作者简介: 张晋美 (1992-), 女, 山西吕梁人, 武汉大学硕士生, 主要研究方向为包装材料,

E-mail: Bella_zjm@outlook.com

通信作者: 黎厚斌 (1963-), 男, 湖北荆门人, 武汉大学教授, 博士生导师, 主要从事绿色包装材料与智能包装方面的研究,

E-mail: lhb@whu.edu.cn

二者结合的信息转换成可视的荧光信号，从而实现定位监测目标检测物的一种特殊方法^[8]。荧光探针一般由3个部分组成^[9]：1) 用来特异性识别并结合目标检测物的识别基团 (receptor)；2) 用来发射荧光信号的荧光发色团 (fluorophore)；3) 用来将荧光发色团和识别基团串联起来的连接体 (spacer)。当荧光探针用于监测目标检测物时，必须满足3个性质^[10]：1) 能与目标检测物进行特异性识别，并且结合相对稳定；2) 不会对目标检测物的结构特征造成影响，二者性质保持相对独立；3) 荧光探针的荧光要能和某些自带荧光的目标检测物的荧光区分开来，

避免混乱。

目前荧光探针发射荧光主要有以下4种机制：光诱导电子转移 (photoinduced electron transfer, PET) 机制、分子内部电荷转移 (internal charge transfer, ICT) 机制、荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 机制、聚集诱导发光 (aggregation-induced emission, AIE) 机制。

1.1 光诱导电子转移机制

光诱导电子转移 (PET) 机制是在设计荧光探针中使用最早，也是应用最普遍的传感机理，其工作原理如图1所示^[11]。

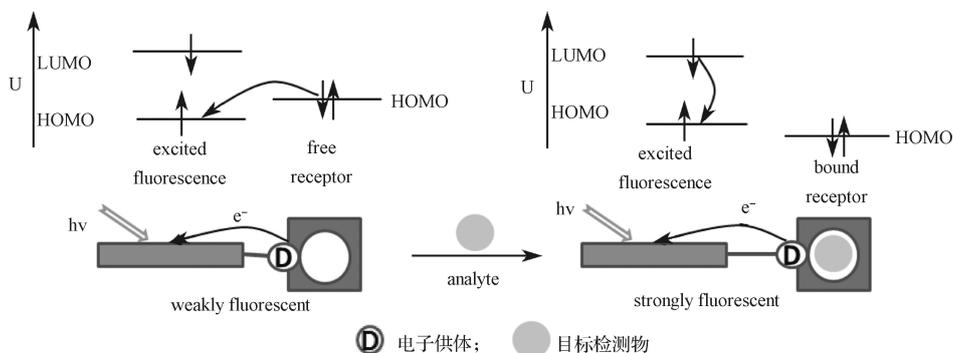


图1 PET 机制的工作原理
Fig. 1 The mechanism of PET

图中 HOMO 为最高占据分子轨道，LUMO 为最低未占分子轨道。探针未与目标检测物结合前，荧光发色团受到光的激发后，其 HOMO 上的电子会跃迁至 LUMO 上，而处于激发态的 LUMO 电子会发生非辐射跃迁至识别基团的 HOMO 上，使得荧光发色团的荧光降低甚至猝灭，该过程为 PET 效应。当识别基团与目标检测物 (analyte) 结合后，识别基团的 HOMO 能级的能量小于或等于荧光发色团 HOMO 的能量，PET 过程受到了抑制。此时激发态电子从荧光发色团的 HOMO 发生辐射跃迁至其 LUMO，荧光得到恢复甚至增强。基于 PET 机制设计的荧光探针，可通过观察荧光探针与目标检测物结合前后的荧光强度变化检测出目标检测物。如 Wang R. 等人^[12] 制备了一种近红外 H₂S 荧光探针，荧光探针在未接触 H₂S 前，发生 PET 效应，探针无荧光发射；接触 H₂S 后，PET 效应受到抑制，释放出近红外的荧光。

1.2 分子内部电荷转移机制

不同于上述 PET 体系，分子内部电荷转移 (ICT) 体系是由电子供体的荧光发色团与电子受体的识别

基团，经过共轭形成的推-拉体系。其中，荧光探针分子必须是具有平面共轭结构的、可在分子内转移电荷的物质^[13]。当使用光去激发荧光探针时，探针分子内部产生电子，电子从供体转移到受体并释放出荧光。ICT 机制的工作原理如图2所示^[14]。

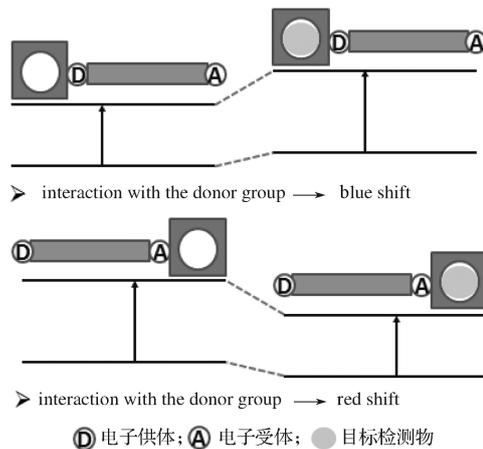


图2 ICT 机制的工作原理
Fig. 2 The mechanism of ICT

当目标检测物与电子供体结合后，供体的供电子能力被削弱，体系的平面共轭程度降低，探针分子

HOMO 和 LUMO 之间的能级差增大, 吸收峰发生蓝移 (blue shift)。与之相反, 当目标检测物与电子受体发生作用时, 体系的吸电子能力增强, 探针分子 HOMO 和 LUMO 之间能级差降低, 吸收峰发生红移 (red shift)。利用荧光吸收波长或者发射波长的变化可制成 ICT 比率型荧光探针。如 Chen Y. 等人^[15]基于亲核反应制备了一种比率型 H₂S 荧光探针。该荧光探针在未接触 H₂S 前, 发射出 652 nm 的荧光; 接触 H₂S 后, 荧光发生蓝移, 510 nm 处的荧光增强。

1.3 荧光共振能量转移机制

在荧光共振能量转移 (FRET) 机制中, 荧光探针分子有 2 个相异的荧光发色团, 分别为能量供体 (donor) 和能量受体 (acceptor), 其工作原理如图 3^[16] 所示。当供体的荧光发射波长与受体的紫外吸收波长在一定范围内发生重叠时, 用光去激发供体, 使供体的能量以非辐射的方式转移至受体, 从而激发受体发射荧光, 此过程为 FRET 效应。当目标检测物与荧光探针供体和受体之间的识别位点相结合, 连接供体与受体的键发生断裂, FRET 过程受阻; 再用光激发荧光探针, 此时只能看到供体释放的荧光信号, 受体无荧光信号。因此, 利用供体和受体释放的荧光颜色不同, 可制成比率型荧光探针。如 Yuan L. 等人^[17]制备了一种双光子比率型 H₂S 荧光探针。荧光探针在未接触 H₂S 前, 由于 FRET 效应, 探针发射出受体的橙红色荧光 (620 nm); 接触 H₂S 后, FRET 效应受到抑制, 发射出供体的青色荧光 (500 nm)。

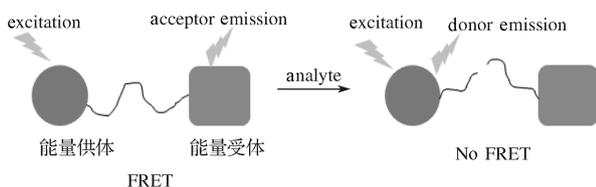


图 3 FRET 机制的工作原理

Fig. 3 The mechanism of FRET

1.4 聚集诱导发光机制

聚集诱导发光 (AIE) 效应, 由唐本忠院士于 2001 年首次提出后, 得到了全世界的关注, 并持续引领这一领域的发展^[18]。通常荧光探针分子在稀溶液中保持很高的荧光强度, 然而实际应用中一般是聚集态或固态, 此时, 由于荧光探针分子会发生团聚使荧光降低甚至发生猝灭, 这大大限制了荧光探针的应用^[19]。AIE 的发现恰好解决了这个多年的难题, 它指的是一类化合物在单分子状态下荧光微弱

或者无荧光, 在聚集状态下荧光反而会显著增强^[18]。目前, 解释 AIE 效应的机理^[20]主要分为 3 种: 分子内旋转受阻、分子内振动受阻以及分子内运动受阻。经过十多年的快速发展, 有关 AIE 的研究越来越成熟, 目前已发现的具有 AIE 效应的荧光物质主要有多苯基噻咯、四苯基乙烯、二苯乙烯基蒽、三苯乙烯以及四苯基-1, 4-二丁烯等^[21]。

2 食品智能包装中相关理化指标的荧光探针

通过检测食品的理化指标, 如 O₂、H₂S、CO₂、酸碱度、碳水化合物含量的变化来判断食品的新鲜度, 是当今智能包装领域的一大难点。相比其他传统的检测方法, 荧光探针法因专一性强、体积小、灵敏度高、响应迅速、可操控性强、可特异性识别并且无损产品等特性和优势而被广泛应用于识别某些食品理化指标, 如 O₂ 荧光探针、H₂S 荧光探针、CO₂ 荧光探针、酸碱度荧光探针、碳水化合物荧光探针。

2.1 O₂ 荧光探针

如果食品包装中存在大量的 O₂, 不仅会导致食品氧化腐败, 还会加快微生物生长繁殖, 破坏食物的色泽度、营养成分以及食用口感, 给消费者的身体带来危害^[22]。因此, 实时监测包装内 O₂ 的含量变化可以在一定程度上反映食品的新鲜度。荧光探针法可实时监测包装中 O₂ 的含量, 它是利用荧光探针与 O₂ 发生化学反应, 通过观察荧光强度/寿命的变化, 达到实时监测 O₂ 含量的目的^[23]。

世界上应用最早也最普遍的一类 O₂ 荧光探针, 是利用卟啉络合物或二亚胺络合物与 O₂ 发生接触, 使荧光猝灭, 通过测试这类荧光探针的荧光/磷光发射强度与寿命, 从而监测出 O₂ 的含量^[24]。有研究表明: 荧光探针的猝灭速率与包装内 O₂ 的浓度、渗透率以及溶解度有关。一般情况下, O₂ 的浓度、溶解度和渗透率越高, 荧光探针的猝灭速度越快, 除此之外, 还与温度、光照以及不同材质的包装等有关^[25]。

2011 年, Zhou X. F. 等人^[26]制备了一种既可检测 O₂ 含量又可以用于检测温度变化的双功能荧光探针, 其合成路线如图 4 所示。该探针中的 poly(NIPAAm-co-PtPorphyrin) 是由卟啉铂 (II) 与 N-异丙基丙烯酰胺聚合而成。当温度高于最低临界溶解温度时, 探针分子表现出线性的荧光猝灭性质。

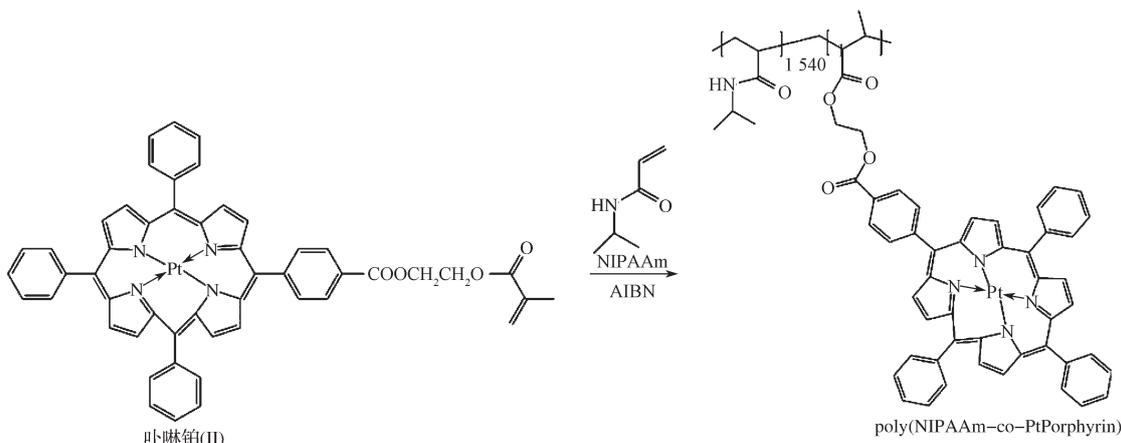


图4 poly(NIPAAm-co-PtPorphyrin) 合成路线
Fig. 4 Synthesis of poly(NIPAAm-co-PtPorphyrin)

2.2 H₂S 荧光探针

H₂S 气体是肉质食品在腐败变质过程中, 含氢硫基(-SH)的氨基酸在腐败菌、大肠杆菌等细菌产生的脱氢硫基酶的分解作用下, 释放出来的具有臭鸡蛋气味的气体^[27]。常见的植物中, 如菠菜、黄瓜、苜蓿等, 植物叶片主要通过酶对半胱氨酸的催化分解产生 H₂S^[28]。因此检测食品包装内 H₂S 气体的浓度, 即可判断某些食品的新鲜度。近年来, H₂S 荧光探针在分子修饰等领域的应用取得了飞跃式的进展。从反应机理来看, H₂S 荧光探针主要分为基于还原反应的 H₂S 荧光探针、基于亲核加成反应的 H₂S 荧光探针以及基于硫化铜沉淀反应的 H₂S 荧光探针。

2.2.1 基于还原反应的 H₂S 荧光探针

当荧光探针中含有叠氮基团(-N₃)、羟胺基团(-NHOH)、硝基基团(-NO₂)时, 会产生荧光猝灭现象。但当这类基团与 H₂S 接触时, 会被还原成氨基(-NH₂), 这样探针的荧光性不仅得到恢复还会在一定程度上有所增强。

2011年, A. R. Lippert 等人^[29]以罗丹明衍生物为荧光发色团、以-N₃为识别基团, 制备了一系列的 H₂S 荧光探针, 如荧光探针 1, 其分子结构如图 5a 所示。未与 H₂S 接触前, 该探针的螺内酯闭环, 无荧光发射; 当与 H₂S 接触时, 该探针的-N₃被 H₂S 还原成-NH₂, 同时螺内酯开环, 分子变成完全平面的共轭结构, 并且释放出荧光。然而, 这种荧光探针响应时间长达 1 h, 无法实现实时监控。随后, Peng H. 等人^[30]基于上述 ICT 机理合成出一种由-N₃修饰丹酰荧光基团的磺酰基的荧光探针 2, 其分子结构如图 5b 所示。该探针是利用 H₂S 将-N₃

还原成-NH₂。此外, 该课题组发现-NHOH 也可被 H₂S 还原为-NH₂, 从而设计出荧光探针 3, 其分子结构如图 5c 所示。不久后, L. A. Montoya 等人^[31]报道了 H₂S 荧光探针 4, 其分子结构如图 5d 所示。它是利用-NO₂被 H₂S 还原为-NH₂。

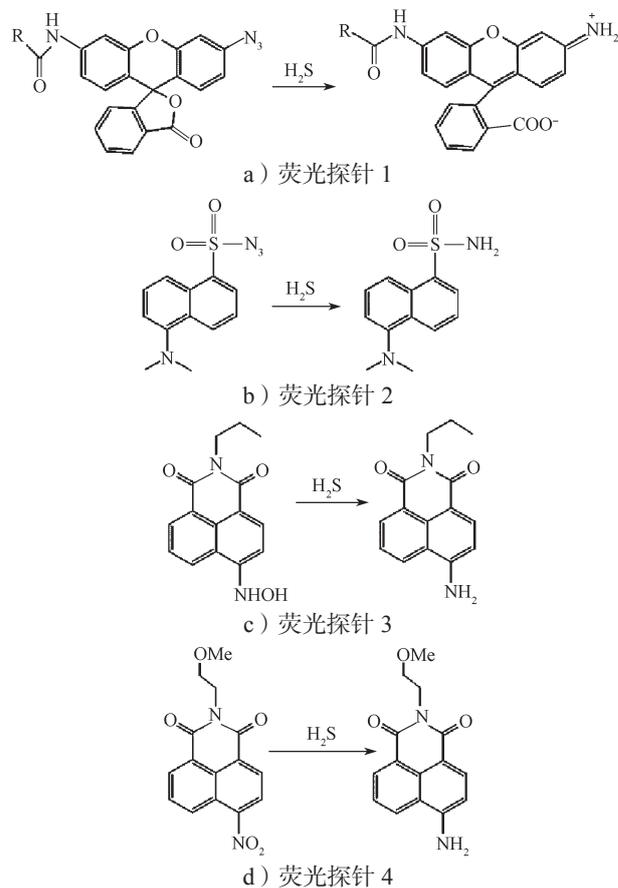


图5 基于还原反应的 H₂S 荧光探针分子结构式
Fig. 5 The structural formulas of H₂S fluorescence probe molecules based on reduction reaction

2.2.2 基于亲核加成反应的 H₂S 荧光探针

除了还原反应, H₂S 也可以与荧光探针分子发生亲核加成反应, 生成硫醇类物质, 再经过后续的反应, 得到一种新的荧光物质, 从而实现 H₂S 的检测。

2011 年, Liu C. 等人^[32] 率先设计出一种基于亲核加成反应的 H₂S 荧光探针 5, 其分子结构如图 6a 所示。该探针分子由于含有双硫键的酯基, 故无荧光。但当 H₂S 亲核取代探针的硫吡啶部分时, 生成的过硫键与相邻位置的酯基发生环化反应, 得到甲基荧光素以及苯基二硫化物。

由于荧光探针的荧光强度与低浓度的 H₂S 有着较好的线性相关关系, 基于上述 ICT 机理, Wang X. 等人^[33] 利用花菁染料设计出了近红外比率型 H₂S 荧光探针 6, 其分子结构如图 6b 所示。该荧光探针主要利用了 H₂S 对醛基的亲核加成反应。

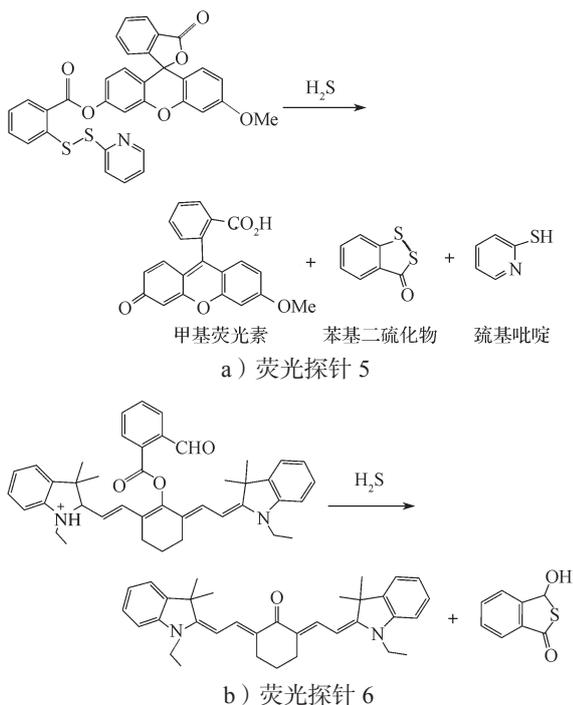


图 6 基于亲核加成反应的 H₂S 荧光探针分子结构式

Fig. 6 The structural formulas of H₂S fluorescence probe molecules based on nucleophilic addition

2.2.3 基于硫化铜沉淀反应的 H₂S 荧光探针

基于上述 PET 机理, 荧光探针分子与 Cu²⁺ 发生络合作用, 形成的金属化合物会使荧光探针猝灭; 但当与 H₂S 接触时, 生成的 CuS 破坏了络合结构, 使荧光探针的荧光性得以复原甚至加强。基于这一反应机理, 越来越多的对 H₂S 高特异性识别和高响应速率的荧光探针被设计并合成出来。

2011 年, K. Sasakura 等人^[34] 设计并合成出具有稳定金属络合物的 H₂S 荧光探针 7, 其分子结构如图 7a 所示。该探针内的硫唑嘌呤环与 Cu²⁺ 相结合, 导致其荧光猝灭; 当接触 H₂S 时, 该探针重新恢复荧光并得到增强。Choi M. G. 等人^[35] 制备了一种荧光素-二吡啶甲氨基 H₂S 荧光探针 8, 其中氨基与 Cu²⁺ 螯合, 对 H₂S 具有良好的识别作用, 其分子结构如图 7b 所示。Cao X. 等人^[36] 制备出一种近红外 H₂S 荧光探针 9, 其分子结构如图 7c 所示。该探针是由花菁染料、哌嗪连接体、Cu²⁺ 与其 8-氨基喹啉配体结合形成的复合物, 当与 H₂S 接触时, 生成 CuS 沉淀, 荧光探针的荧光强度得到了极大的增强。

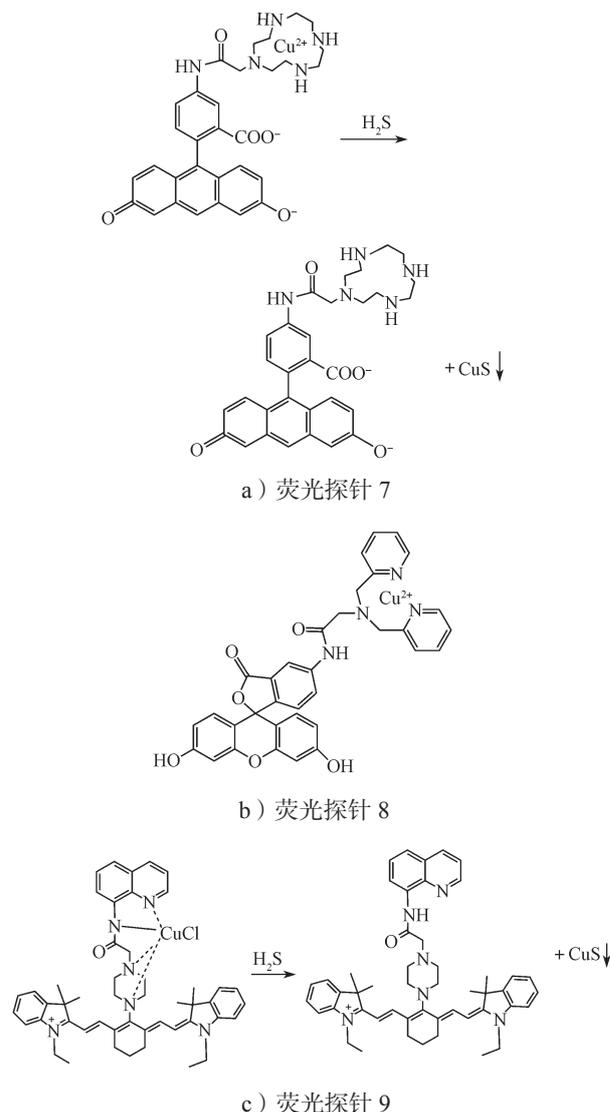


图 7 基于硫化铜沉淀反应的 H₂S 荧光探针分子结构式

Fig. 7 The structural formulas of H₂S fluorescence probe molecules based on copper sulfide precipitate reaction

2.3 CO₂ 荧光探针

CO₂ 因具有抑制腐败菌生长、减缓食品有氧呼吸以及抑制部分酶活性的作用, 目前已被广泛应用于生鲜食品、水果蔬菜、饮料及乳制品甚至烘烤食品的气调保鲜中^[37]。作为未来新鲜食品的主要包装形式, 气调包装(modified atmosphere packaging, MAP)就是通过充入一定量的CO₂等气体, 降低包装内O₂的浓度, 从而降低食品的腐败变质速率^[38-39]。因此使用荧光探针法实时监测包装内CO₂的浓度变化很有必要^[40]。

2010年, Liu Y. 等人^[41]制备出一种可通过观察荧光变化从而定量监测CO₂的新方法: 利用具有AIE效应的六苯基硅胶(hexaphenyl silica, HPS)在二丙胺(dipropyl-amine, DPA)液体中表现无荧光, 当通入CO₂后, CO₂与DPA反应生成黏稠状的氨基甲酸酯离子液体(carbamate ionic liquid, CIL), 随着CIL的极性和黏度的增加, HPS被激发, 释放出很强的荧光, 从而实现对CO₂的检测。其中, HPS的结构式如图8a所示, CO₂与DPA反应生成CIL的过程如图8b所示。

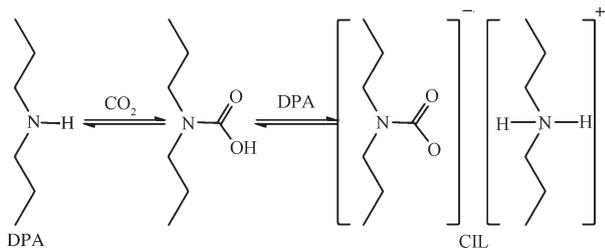
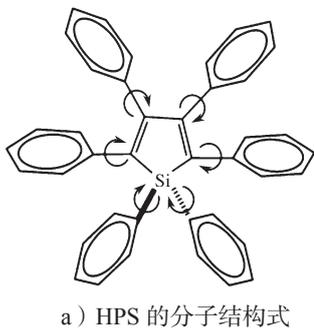


图8 具有AIE效应的HPS结构式及离子液体CIL的形成过程

Fig. 8 Structure of AIE compound HPS and the formation of ionic liquid CIL

基于同样的AIE效应, 2012年, Tian T. 等人^[42]利用加入CO₂后, 1,8-二氮杂二环十一碳-7-烯(1,8-diazabicycloundec-7-ene, DBU)与5-氨基-1-戊

醇(5-amino-1-pentanol, APN)的—OH端或—NH₂端发生反应, 得到黏度更大的离子液体, 使得四苯乙烯(tetraphenylethylene, TPE)发出荧光。其中, TPE、APN的分子结构式分别如图9a、9b所示, 而DBU与APN的—OH端或—NH₂端反应形成离子液体过程分别如图9c、9d所示。

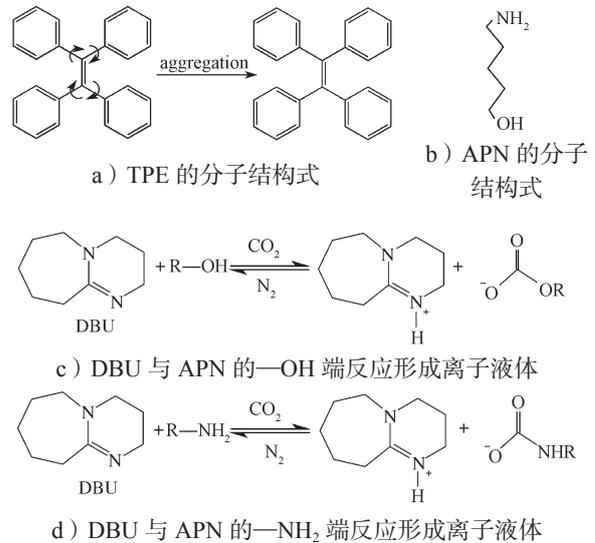


图9 具有AIE效应的TPE结构式及2种离子液体的形成过程

Fig. 9 Structure of AIE compound TPE and the formation of two types of ionic liquids

2.4 酸碱度荧光探针

肉类食品在腐败变质过程中, 蛋白质在细菌的分解下释放出酸、碱性气体, 导致食品包装内的pH值发生变化。因此, 酸碱度是判定食品是否新鲜的重要指标之一。相比传统的检测手段, 荧光探针法灵敏度高、操作简单、便于观察^[43]。

2000年, M. S. Briggs 等人^[44]制备出一种羧基和磺酸基取代纯菁两端的酸碱度荧光探针10, 其分子结构式如图10a所示。该探针的pH值响应范围为6.0~8.0。为了使探针具有水溶性并与蛋白质等分子连接, 加入磺酸基和羧基, 随着氢离子浓度的增加, 探针的荧光强度增强。

同年, Lu H. 等人^[45]制备出一种酸碱度荧光探针11, 其分子结构式如图10b所示。该探针的荧光发色团为葱, 其pH值响应范围为6.0~9.0。当pH值小于4.0时, 探针会形成铵盐导致荧光猝灭, 但随着随pH值的增加, 探针在弱碱性环境下会发生荧光强度增强现象。

2014年, N. I. Georgiev 等人^[46]利用上述PET和

FRET 机制制备出以萘酰亚胺为主体的酸碱度荧光探针 12 和 13, 其分子结构式如图 10c 所示。在探针未接触 H^+ 前, 用光激发荧光探针, 分子内部发生 PET 效应, 发生非辐射跃迁, 探针呈现微弱的荧光; 在探针接触 H^+ 后, PET 效应受到抑制, 发生 FRET 效应, 供体 (4- 烷氧基部分) 的能量转移至受体 (4- 烷氨基部分), 受体被激发, 释放出黄绿色荧光。

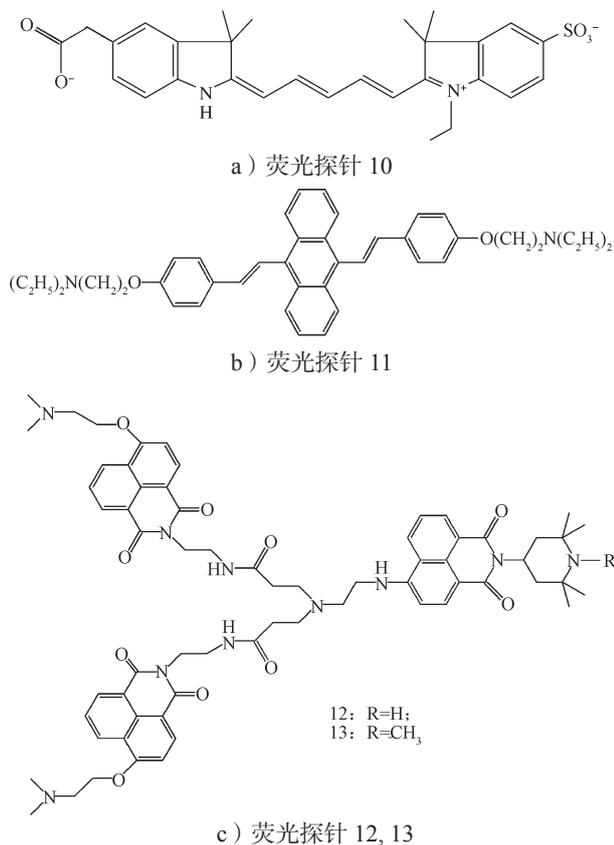


图 10 酸碱度荧光探针分子结构式
Fig. 10 The structural formulas of pH fluorescence probe molecules

2.5 碳水化合物荧光探针

碳水化合物也称为糖类, 是生物三大不可或缺的营养物质之一。目前检测碳水化合物最常用的方法是酶检测法, 但是由于很多糖分子的化学结构非常相似, 检测效果不好。相比之下, 荧光物质成本低、种类多、性能优异, 可以与识别糖分子的硼酸结合构成新型的碳水化合物荧光探针^[47]。

1992 年, Yoon J. 等^[48] 制备出第一个以硼酸为识别基团, 蒽为荧光发色团的糖荧光探针 14, 其分子结构式如图 11a 所示。结果发现, 作为识别基团的硼酸对葡萄糖的吸引力远小于果糖, 因此对葡萄糖的检

测效果较差。

T. D. James 等人^[49] 创新性地使用仲胺或叔胺基团将硼酸与蒽连接起来, 制成糖荧光探针 15, 其分子结构式如图 11b 所示。在酸性条件下, 硼酸与糖分子结合后增强了 B—N 键的作用, 使得荧光增强。

2009 年, M. D. Phillips 等人^[50] 基于上述 PET 原理制备出一种镊子状的荧光探针, 其分子结构式如图 11c 所示。该探针以邻苯基硼酸为识别基团, 蒽为荧光发色团, 通过叔胺基团连接。结果发现, 当激发光波长为 377 nm 时, 探针的荧光强度随着 4 种单糖分子浓度的增加而增加, 且对 4 种单糖的识别敏感度不同。

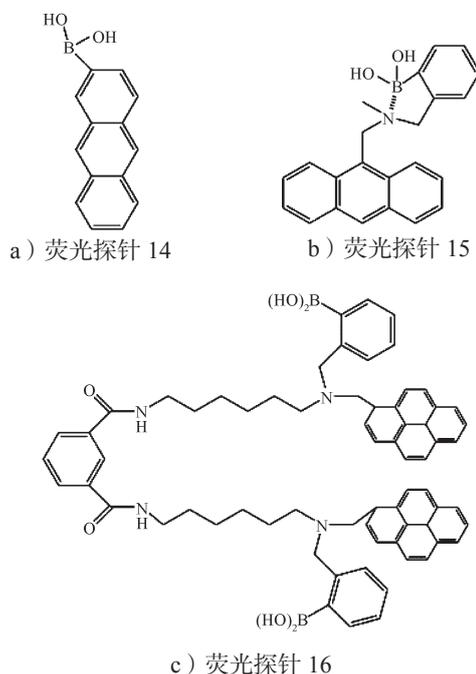


图 11 碳水化合物荧光探针分子结构式
Fig. 11 The structural formulas of carbohydrates fluorescence probe molecules

3 荧光探针在食品智能包装中的应用展望

目前, 已被广泛应用的荧光探针主要有荧光素类^[51]、罗丹明类^[52]、香豆素类^[15]、菁染料类^[36]、绿色荧光蛋白类^[53]、BODIPY (氟硼吡咯, boron dipyrromethene) 染料类^[54] 等。尽管部分荧光探针已用于前文所述的 O_2 、 H_2S 、 CO_2 、酸碱度以及碳水化合物的检测中, 但是距离真正商业化和产业化还有较长一段距离。若将荧光探针应用于食品智能包装中指示食品的新鲜度, 就必须满足以下条件^[55]: 1) 反应不可逆、识别准确高效、成本低、颜色变化广、易储存;

2) 绿色无毒、安全、不会对包装内的食品造成影响;
3) 操作简单、只需用紫外灯照射,即可通过荧光强度的变化,直观反映出食品的新鲜度。气调保鲜包装作为未来食品包装的主流,若能将荧光探针以油墨的形式制成智能指示标签,置于气调包装盒内,通过观察标签的荧光强度变化,直观地显示出 O_2 、 H_2S 、 CO_2 、酸碱度以及碳水化合物的变化,将极大地丰富食品智能包装的应用领域^[56]。

鉴于目前将荧光探针实际应用于食品智能包装的研究较少,笔者以最常见的在腐败变质过程中会释放出 H_2S 的鱼肉为例,设计一种无毒无害的、使用叠氮基修饰的香豆素可食性 H_2S 荧光探针。此荧光探针加入一些助剂后制成油墨,以喷墨印刷的方式打印在标签纸上,粘贴于气调包装盒内,预计测试效果如图 12 所示。其中图 a 是鱼肉腐败之前,包装内无 H_2S 气体,此时表现无荧光,且香豆素本身为白色;图 b 是鱼肉开始腐败,包装内出现 H_2S 气体,叠氮基被还原为氨基,紫外光照射下指示标签发出香豆素原有的蓝色荧光。通过观察前后荧光强度的变化,可以监测包装内 H_2S 的浓度,从而判断出包装盒内鱼肉的新鲜程度。



a) 鱼肉腐败之前



b) 鱼肉开始腐败(紫外灯照射)

图 12 香豆素可食性 H_2S 荧光探针指示鱼肉新鲜度
Fig. 12 Edible coumarin H_2S fluorescent probe indicating the freshness of fish

如何设计出更多指示包装内食品新鲜程度的荧光探针,如何确定荧光探针的荧光强度变化速率与食品新鲜度之间的定量关系,以及如何开发更多的无毒或可食性荧光探针,还需要生物、化学等领域的学者进行更多研究。未来食品安全战略将会推动智能包装发生质的飞跃,探索荧光探针法对食品包装的更多理化指标的动态监测,将开启荧光探针在食品智能包装应用中的新篇章,这对于新时代下的食品安全问题具有重大的理论和实际意义。

参考文献:

- [1] YAM K L, TAKHISTOV P T, MILTZ J. Intelligent Packaging: Concepts and Applications[J]. Journal of Food Science, 2004, 70(1): 1-10.
- [2] KERRY J, BUTLER P, KERRY J, et al. Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods[M]. England: John Wiley & Sons, Inc., 2008: 33-34.
- [3] 都凤军, 孙彬, 孙炳新, 等. 活性与智能包装技术在食品工业中的研究进展[J]. 包装工程, 2014, 35(1): 135-140.
DU Fengjun, SUN Bin, SUN Bingxin, et al. Progresses in Active and Intelligent Food Packaging Technology[J]. Packaging Engineering, 2014, 35(1): 135-140.
- [4] 王利兵, 李宁涛, 于艳军, 等. 智能食品包装中指示剂的研究进展与安全评价[J]. 中国科学: 技术科学, 2013, 43(1): 1-19.
WANG Libing, LI Ningtao, YU Yanjun, et al. Research Progress and Safety Evaluation of Intelligent Food Packaging Indicator[J]. Scientia Sinica: Technologica, 2013, 43(1): 1-19.
- [5] 李冬梅, 黄元庆, 张佳平, 等. 几种常见气体传感器的研究进展[J]. 传感器世界, 2006(1): 6-11.
LI Dongmei, HUANG Yuanqing, ZHANG Jiaping, et al. The Development of Several Normal Gas Sensors[J]. Sensors World, 2006(1): 6-11.
- [6] 严义勇, 张玲, 吴谦, 等. 气体信号分子的荧光小分子探针[J]. 中国科学: 化学, 2015, 45(8): 812-828.
YAN Yiyong, ZHANG Ling, WU Qian, et al. The Small Molecule Fluorescent Probes for Gasotransmitters[J]. Scientia Sinica: Chimica, 2015, 45(8): 812-828.
- [7] 孙媛媛. 食品新鲜度指示型智能包装的研究与应用[J]. 包装学报, 2012, 4(3): 16-20.

- SUN Yuanyuan. Research and Application of Freshness Indicative Smart Packaging for Food[J]. *Packaging Journal*, 2012, 4(3): 16–20.
- [8] 欧阳帆. 用于硫化氢和醌氧化还原酶 1 检测的新型荧光探针 [D]. 长沙: 湖南大学, 2016.
- OUYANG Fan. Novel Fluorescent Probes for Hydrogen Sulfide and NAD(P)H:Quinone Oxidoreductase 1 Detection[D]. Changsha: Hunan University, 2016.
- [9] LAKOWICZ J R. Principles of Fluorescence Spectroscopy[M]. Beijing: Science Press, 2008: 456–457.
- [10] 翟晶莹. 新型荧光探针在光学传感器和生物分析中的应用 [D]. 南京: 南京大学, 2013.
- ZHAI Jingying. Application of New Fluorescent Probes in Optical Sensors and Bioanalysis[D]. Nanjing: Nanjing University, 2013.
- [11] HUANG T J, BROUGH B, HO C M, et al. A Nanomechanical Device Based on Linear Molecular Motors[J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 85(22): 5391–5393.
- [12] WANG R, YU F, CHEN L, et al. A Highly Selective Turn-on Near-Infrared Fluorescent Probe for Hydrogen Sulfide Detection and Imaging in Living Cells[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(96): 11757–11759.
- [13] BADJIC J D, RONCONI C M, STODDART J F, et al. Operating Molecular Elevators[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(5): 1489–1499.
- [14] 何隆薇. 系列比率型有机荧光探针的设计、合成及其生物应用研究 [D]. 长沙: 湖南大学, 2012.
- HE Longwei. Design, Synthesis, and Applications of a Series of Ratiometric Organic Fluorescent Probes[D]. Changsha: Hunan University, 2012.
- [15] CHEN Y, ZHU C, YANG Z, et al. A Ratiometric Fluorescent Probe for Rapid Detection of Hydrogen Sulfide in Mitochondria[J]. *Angewandte Chemie*, 2013, 52(6): 1688–1691.
- [16] KIKUCHI K, TAKAKUSA H, NAGANO T. Recent Advances in the Design of Small Molecule-Based FRET Probes for Cell Biology[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23(6): 407–415.
- [17] YUAN L, JIN F P, ZENG Z B, et al. Engineering a FRET Strategy to Achieve a Ratiometric Two-Photon Fluorescence Response with a Large Emission Shift and Its Application to Fluorescence Imaging[J]. *Chemical Science*, 2015, 6(4): 2360–2365.
- [18] LUO J, XIE Z, LAM J W, et al. Aggregation-Induced Emission: of 1-Methyl-1,2,3,4,5-Pentaphenylsilole[J]. *Chemical Communications*, 2001(18): 1740.
- [19] MEI J, LEUNG N L, KWOK R T, et al. Aggregation-Induced Emission: Together We Shine, United We Soar![J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(21): 11718–11940.
- [20] 张双, 秦安军, 孙景志, 等. 聚集诱导发光机理研究 [J]. *化学进展*, 2011, 23(4): 623–636.
- ZHANG Shuang, QIN Anjun, SUN Jingzhi, et al. Mechanism Study of Aggregation-Induced Emission[J]. *Progress in Chemistry*, 2011, 23(4): 623–636.
- [21] 闫继明, 秦安军, 孙景志, 等. 聚集诱导发光分子在生物检测领域的应用 [J]. *科学通报*, 2010, 55(13): 1206–1213.
- YAN Jiming, QIN Anjun, SUN Jingzhi, et al. Application of AIE-Active Molecules in Biosensing[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2010, 55(13): 1206–1213.
- [22] 陈丹青, 廖雨瑶, 李伟, 等. 泄漏指示剂在气调包装中的应用研究 [J]. *包装学报*, 2016, 8(4): 71–77.
- CHEN Danqing, LIAO Yuyao, LI Wei, et al. Research on Leakage Indicators Applied in MAP[J]. *Packaging Journal*, 2016, 8(4): 71–77.
- [23] SMOLANDER M, HURME E, AHVENAINEN R. Leak Indicators for Modified-Atmosphere Packages[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1997, 8(4): 101–106.
- [24] MILLS A. Optical Oxygen Sensors: Utilising the Luminescence of Platinum Metals Complexes[J]. *Platinum Metals Review*, 1997, 41(3): 115–127.
- [25] American Society for Testing and Materials. Standard Test Method for Oxygen Headspace Analysis of Packages Using Fluorescent Decay: ASTM F2714—2008(2013)[S]. West Conshohocken: American Society for Testing and Materials, 2013: 1–4.
- [26] ZHOU X F, SU F Y, TIANY Q, et al. Platinum(II) Porphyrin-Containing Thermoresponsive Poly(*N*-Isopropylacrylamide) Copolymer as Fluorescence Dual Oxygen and Temperature Sensor[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2011, 159(1): 135–141.
- [27] 庄玉亭, 赵月兰. 肉品新鲜度检测方法 [J]. *河北科技大学学报*, 1999, 20(2): 63–65.
- ZHUANG Yuting, ZHAO Yuelan. Examination of Meat Fresh Level[J]. *Journal of Hebei University of Science and Technology*, 1999, 20(2): 63–65.
- [28] 裴雁曦. 植物中的气体信号分子硫化氢: 无香而立, 其臭如兰 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(7): 721–733.
- PEI Yanxi. Gasotransmitter Hydrogen Sulfide in Plants: Stinking to High Heaven, but Refreshing to Fine

- Life[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2016, 32(7): 721-733.
- [29] LIPPERT A R, NEW E J, CHANG C J. Reaction-Based Fluorescent Probes for Selective Imaging of Hydrogen Sulfide in Living Cells[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(26): 10078-10080.
- [30] PENG H, CHENG Y, DAI C, et al. A Fluorescent Probe for Fast and Quantitative Detection of Hydrogen Sulfide in Blood[J]. Angewandte Chemie, 2011, 50(41): 9672-9673.
- [31] MONTROYA L A, PLUTH M D. Selective Turn-on Fluorescent Probes for Imaging Hydrogen Sulfide in Living Cells[J]. Chemical Communications, 2012, 48(39): 4767-4768.
- [32] LIU C, PAN J, LI S, et al. Capture and Visualization of Hydrogen Sulfide by a Fluorescent Probe[J]. Angewandte Chemie, 2011, 50(44): 10327-10335.
- [33] WANG X, SUN J, ZHANG W, et al. A Near-Infrared Ratiometric Fluorescent Probe for Rapid and Highly Sensitive Imaging of Endogenous Hydrogen Sulfide in Living Cells[J]. Chemical Science, 2013, 4(6): 2551-2556.
- [34] SASAKURA K, HANAOKA K, SHIBUYA N, et al. Development of a Highly Selective Fluorescence Probe for Hydrogen Sulfide[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(45): 18003-18005.
- [35] CHOI M G, CHA S, LEE H, et al. Sulfide-Selective Chemosignaling by a Cu^{2+} Complex of Dipicolylamine Appended Fluorescein[J]. Chemical Communications, 2009, 47(47): 7390-7393.
- [36] CAO X, LIN W, HE L. A Near-Infrared Fluorescence Turn-on Sensor for Sulfide Anions[J]. Organic Letters, 2011, 13(17): 4716-4719.
- [37] 李浪花, 任国谱, 李梦怡. 二氧化碳在乳制品及农产品保鲜领域中的研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2017, 30(4): 17-20.
LI Langhua, REN Guopu, LI Mengyi. Research Progress of Carbon Dioxide in Preservation of Dairy and Agricultural Products[J]. Cereals and Oils, 2017, 30(4): 17-20.
- [38] BHANDARI B. Recent Application of Modified Atmosphere Packaging (MAP) in Fresh and Fresh-Cut Foods[J]. Food Reviews International, 2015, 31(2): 172-193.
- [39] 伍思良, 陈于隄, 徐玉娟, 等. 盒式气调包装下温度对薄膜透气性能的影响 [J]. 包装学报, 2013, 5(3): 63-68.
WU Siliang, CHEN Yulong, XU Yujuan, et al. Effect of Temperature on Gas Permeability of Films Under Cassette Modified Atmosphere Packaging[J]. Packaging Journal, 2013, 5(3): 63-68.
- [40] 阮程燕. 二氧化碳催化转化及其检测的理论和实验研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
RUAN Chengyan. A Combining Theoretical and Experimental Study on the Catalytic Transformation and Sensing of Carbon Dioxide[D]. Nanchang: Nanchang University, 2015.
- [41] LIU Y, TANG Y, BARASHKOV N N, et al. Fluorescent Chemosensor for Detection and Quantitation of Carbon Dioxide Gas[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(40): 13951-13953.
- [42] TIAN T, CHEN X, LI H, et al. Amidine-Based Fluorescent Chemosensor with High Applicability for Detection of CO_2 : A Facile Way to "See" CO_2 [J]. The Analyst, 2013, 138(4): 991-994.
- [43] 刘晓东. 有机小分子荧光探针的合成及性能研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
LIU Xiaodong. Design and Synthesis of Organic Molecule Fluorescent Probes for Bioimaging[D]. Suzhou: Soochow University, 2014.
- [44] BRIGGS M S, BURNS D D, COOPER M E, et al. Cheminform Abstract: A pH Sensitive Fluorescent Cyanine Dye for Biological Applications[J]. Cheminform, 2001, 32(14): 2323-2324.
- [45] LU H, XU B, DONG Y, et al. Novel Fluorescent pH Sensors and a Biological Probe Based on Anthracene Derivatives with Aggregation-Induced Emission Characteristics[J]. Langmuir the ACS Journal of Surfaces & Colloids, 2010, 26(9): 6838-6844.
- [46] GEORGIEV N I, ASIRI A M, QUSTI A H, et al. Design and Synthesis of pH-Selective Fluorescence Sensing PAMAM Light-Harvesting Dendrons Based on 1,8-Naphthalimides[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2014, 190(1): 185-198.
- [47] 黄智玉, 赵书林, 王胜娥, 等. 新型单硼酸衍生物的合成及作为荧光探针对糖的选择性识别 [J]. 分析测试学报, 2008, 27(3): 266-269.
HUANG Zhiyu, ZHAO Shulin, WANG Sheng'e, et al. Synthesis of a New Single Boric Acid Derivative and Its Application to the Selective Identification of Sugar as a Fluorescent Probe[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008, 27(3): 266-269.
- [48] YOON J, CZARNIK A W. Fluorescent Chemosensors of Carbohydrates: A Means of Chemically Commcating the Binding of Polyols in Water Based on Chelation-Enhanced Quenching[J]. Journal of the American

- Chemical Society, 1992, 114(14): 276–277.
- [49] JAMES T D, SANDANAYAKE K R A S, SHINKAI S. Novel Photoinduced Electron-Transfer Sensor for Saccharides Based on the Interaction of Boronic Acid and Amine[J]. Journal of the Chemical Society Chemical Communications, 1994, 47(4): 477–478.
- [50] PHILLIPS M D, FYLES T M, BARWELL N P, et al. Carbohydrate Sensing Using a Fluorescent Molecular Tweezer[J]. Chemical Communications, 2009, 43(43): 6557–6559.
- [51] 刘春霞, 马 兴, 魏国华, 等. 一种基于荧光素的高选择性硫化氢荧光探针 [J]. 环境化学, 2014, 33(10): 1762–1767.
LIU Chunxia, MA Xing, WEI Guohua, et al. A Fluorescein-Based Probe for Hydrogen Sulfide Detection with High Selectivity[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(10): 1762–1767.
- [52] OLIVEIRA E, LORENZO J, CID A, et al. Non-Toxic Fluorescent Alanine-Fluorescein Probe with Green Emission for Dual Colorimetric/Fluorimetric Sensing[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2013, 269(1): 17–26.
- [53] CHEN S, CHEN Z J, REN W, et al. Reaction-Based Genetically Encoded Fluorescent Hydrogen Sulfide Sensors[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(23): 9589–9592.
- [54] QIAN Y, KARPUS J, KABIL O, et al. Selective Fluorescent Probes for Live-Cell Monitoring of Sulphide[J]. Nature Communications, 2011, 2(3): 495–497.
- [55] 谢思源, 刘兴海, 黎厚斌. 氧气指示剂在食品包装中的应用进展 [J]. 中国包装工业, 2014(24): 162–164.
XIE Siyuan, LIU Xinghai, LI Houbin. Application of Oxygen Indicator in Food Packaging[J]. China Packaging Industry, 2014(24): 162–164.
- [56] 孙红旗, 李子繁, 胡焱清, 等. 一种适合高速印刷机使用的氧指示剂油墨及其制备方法: 中国, CN102002282A[P]. 2011–04–06.
SUN Hongqi, LI Zifan, HU Yanqing, et al. An Oxygen Indicator Ink Suitable for Use in High Speed Printing Presses and Its Preparation Method: China, CN102002282A[P]. 2011–04–06.

Application of Fluorescent Probes in Food Intelligent Packaging

ZHANG Jinmei, CHEN Liangzhe, LI Houbin

(School of Printing and Packaging, Wuhan University, Wuhan 430079, China)

Abstract: Determining the freshness of food by detecting some physical and chemical indexes including O₂, H₂S, CO₂, pH and carbohydrates is a hot and difficult research spot in food intelligent packaging in the new era. Owing to its strong specificity, high sensitivity, rapid response and strong controllability, the fluorescence probes, were widely applied to identify some physical and chemical indexes, so with the function of judging the freshness of food. The mechanisms of the fluorescent probes were introduced firstly. Then the research progress of oxygen fluorescence probes, hydrogen sulfide fluorescence probes, carbon dioxide fluorescence probes and other types of fluorescence probes over the past decade were reviewed. Furthermore, the application prospect of fluorescent probes in food intelligent packaging was prospected.

Keywords: fluorescence probes; fluorescence mechanism; intelligent packaging; freshness of food