



智能食品包装中指示剂的研究进展与安全评价

王利兵^{①*}, 李宁涛^②, 于艳军^②, 韩伟^②

① 湖南出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 长沙 410004;

② 天津出入境检验检疫局工业产品安全技术中心, 天津 300042

* E-mail: wanglb1@126.com

收稿日期: 2012-08-01; 接受日期: 2012-10-15

国家自然科学基金(批准号: 21175034)、国家科技支撑计划(批准号: 2012BAD29B05, 2011BAK10B05)和国家质检总局科技计划(批准号: 2011IK267)资助项目

摘要 智能食品包装以其具有自动识别、传感、记录、警示等功能于一体的特点在现代食品加工领域中取得了快速的发展和应用. 在这其中, 以指示食品在仓储、物流、货架和食用过程中包装食品所经历的内外环境变化而采用的时间-温度指示剂(time-temperature indicator, TTI)、氧指示剂(oxygen indicator, OI)、二氧化碳指示剂及新鲜度指示剂在智能食品包装的研究和开发中占据了重要地位. 针对这种情况, 本文就近年来已在国外食品包装市场上得到广泛应用的 TTI 和 OI 的研究进展进行简要综述, 并结合欧盟委员会指令 EC 450/2009 中就智能食品包装指示剂的安全问题进行评价. 本文不仅可为从事智能食品包装领域的研究人员提供 TTI 和 OI 的最新研究成果, 提出该领域存在的问题和发展方向, 而且也可为从事食品安全风险管理的政府部门就智能食品包装目前的安全监管提供科学而合理的技术支撑.

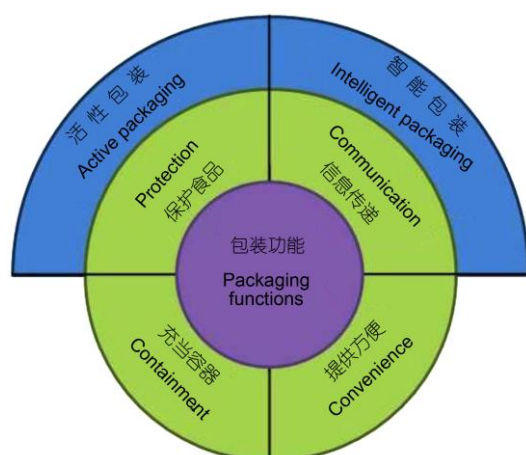
关键词
智能包装
食品包装
指示剂
研究进展
安全评价

1 引言

智能包装(intelligent packaging)是近十年来在国外食品行业中兴起的一种新型包装技术, 与活性包装(active packaging)侧重于从包装中主动释放抗菌、抗氧化物质并吸附消除食品及包装本身释放的有害物质的技术相比^[1~3], 智能包装是一种能够自动监测、传感、记录和溯源食品在流通环节中所经历的内外环境变化, 并通过复合、印刷或粘贴于包装上的标签以视觉上可感知的物理变化来告知和警示消费者食品安全状态的一种技术^[4, 5]. 与传统意义的包装技术不同, 智能包装能够与消费者就包装食品的安全信息进行主动交流, 并通过活性包装来达到提高食

品品质和延长食品货架期/保质期(shelf life)的目的. 从智能和活性包装的定义和功能来看, 活性包装更多趋向于主动保护包装食品的安全, 而智能包装则更加倾向于通过监测和传感包装食品的安全状态来与消费者进行信息传递与交流(图 1)^[6, 7].

在人们日益关注食品安全问题的今天, 通过合理而有效的措施来监控从原材料、生产加工、物流直至消费等各个环节中食品的品质是确保避免发生重大食品安全事故的有效做法. 除此之外, 利用现代科技手段来改善食品营养结构和延长食品货架期也是一种行之有效的方法. 在这些技术手段中, 智能包装被认为是一种能够在食品产业链中起到监控食品安全品质和传递食品安全信息的有效途径之一^[8]. 根据



国外多家工业市场咨询公司的评估报告分析, 2011年, 仅在美国市场应用的智能食品包装的产值就已经超过 11 亿美元^[9]; 随着全球食品贸易的快速增长, 未来全球智能食品包装市场在 2016 年以前将以年增长 8% 的速度扩大到 172.3 亿美元, 而 2021 年之前将以 7.7% 的年增长速度扩大到 246.5 亿美元^[10]。

针对市场上快速发展的智能食品包装材料, 世界发达国家和地区先后都对这种新型食品包装材料进行了立法以确保其对消费者的健康安全。2009 年 5 月, 欧盟委员会在其实施的食物接触材料¹⁾框架指令 EC 1935/2004 的指导下颁布了旨在规范活性与智能食品接触材料生产、使用、废弃处理等的特定指令 EC 450/2009^[11]。该指令不仅对活性与智能食品包装材料的定义、分类、使用范围等进行了规定, 而且对活性与智能食品包装中活性与智能成分的使用审批程序、危害评估、使用限量以及使用方式进行了强制性说明与规范, 并明确提出其中的活性与智能成分在食品加工、运输、仓储和消费等各个环节中不得向食品迁移。

针对活性与智能食品包装的法律规范源于消费者对活性与智能成分向食品迁移的可能性及其健康危害^[12]。从应用技术角度来看, 目前, 智能食品包装中的智能成分主要以能够传感和指示包装内外环境变化的指示剂为应用主体, 涉及到的物质包括无机金属络合物、有机分子、高分子聚合物以及生物分子

等, 这些化合物因其具有敏感的热致变色、光致变色和 pH-颜色效应而在智能食品包装中得到应用^[13~16]。本文将就近年来在国外智能食品包装中应用较为广泛的 TTI 和 OI 的研究进展进行综述, 并对该领域存在的问题和未来发展方向进行总结和展望。鉴于国内目前对智能食品包装的研究较少, 消费者对其了解也较少, 本文将以智能食品包装中指示剂的指示原理出发, 对各种指示剂的研究与应用、危害评估以及国外相关的安全管理规范进行总结, 为我国研究者开展智能食品包装的基础研究和安全评价提供客观公正的科学素材。

2 智能食品包装中功能指示剂的应用

2.1 时间-温度指示剂(TTI)

食品在生产、仓储、运输、货架和食用期间都需要在一定的温度下贮存以获取其最长时间的货架期。然而, 在实际的操作过程中, 温度的非正常升高会导致食品中酶和微生物催化作用的加速, 致使食品腐败, 此时印刷于包装材料外表面的有效期标识对消费者来说就失去了其正确指示的意义^[17]。TTI 可以记录食品在不同温度下所经历时间的长短(温度历史), 并通过其颜色变化向消费者传递包装食品剩余的货架期, 因此比单纯通过印刷有效期来警示消费者食品的货架期更具实际意义^[18]。从上述 TTI 的定义来看, 包装食品的货架期不仅受时间(t)的约束, 而且与其所经历的环境温度(T)直接相关。用 TTI 指示食品的货架期时, 其经历的温度历史可以用函数 $T(t)$ 表示, 由此食品在流通环节某时间点后的剩余货架期可以通过下式获取^[13]:

$$I = \int_0^t \alpha(T) dt,$$

式中, 变量 t 表示 TTI 自启用后包装食品所经历的时间, $\alpha(T)$ 是与温度相关的单调函数, 而 I 则是包装食品的时间-温度积分函数, 用以定量描述包装食品自 TTI 启用后的时间-温度历史。在包装食品流通过程中, 不同环境温度在整个时间-温度历史中所占的权重可以通过所处温度的时间段($0 \rightarrow t$)来衡量, 因此,

1) 食品接触材料, food contact materials, 指用于食品加工、存贮、消费、食用等环节中与食品直接接触的材料, 包括加工器械、包装材料、烹饪餐具等。目前国内标准中一般用“食品包装材料”来指代用于包装食品的金属、纸制、塑料、玻璃或陶瓷类材料, 但不包括加工器械和烹饪餐具等。

当包装食品在某一阶段所处的温度超过其推荐的贮存温度时, 函数 I 的值会加速上升, 即食品品质会加速腐坏. 例如, 对于某一食品来说, 时间-温度积分值是固定不变的, 其在 25°C 下存放一天的腐坏程度与在 4°C 下存放 10 天的效果是相同的^[13].

根据 TTI 的指示原理, 可将其分为全历史型 TTI (full-history TTI) 和部分历史型 TTI (partial-history TTI)^[19, 20]. 在全历史型 TTI 中, 指示剂能够连续不断地记录包装食品所处的温度变化历程(上升和下降), 当将其应用于需要在推荐温度以下贮存的食物, 尤其是当该类型的食品因非正常因素被置于高于其推荐的贮存温度下时, 全历史型 TTI 能够自动校正并传递给消费者该食品剩余的货架期, 以警示消费者食品目前的品质状态^[19]; 而采用部分历史型 TTI 时, 当包装食品一旦被置于高于其推荐的贮存温度以上时, 部分历史型 TTI 将不会再随环境温度的变化而进行时间-温度积分, 也就是说, 这种类型的 TTI 存在一个温度阈值, 当包装食品所处的温度高于其推荐的贮存温度时, TTI 会提示消费者该食品已经达到货架期^[20]. 在部分历史型 TTI 的时间-温度函数 $\alpha(T)$ 中, 当包装食品处于推荐的贮存温度之下时, 其货架期 (t) 可以是无限长, 而一旦超过推荐的贮存温度, 则 $\alpha(T)$ 变成与温度相关的单调递增函数^[13].

在目前应用的化学型 TTI 中, 含乙炔基团的单体进行固态聚合反应是应用最早的一类 TTI. 在该聚合反应中, 单体中联乙炔基团在热作用下发生 1,4-加成聚合反应生成聚联乙炔 (polydiacetylene, PDA) 化合物 (图 2)^[21]. PDA 聚合反应的速率与温度直接相关, 当温度升高时, 聚合反应从蓝色变成红色的速率就越快, 由此产生的温度-速率-颜色三者之间的变化关系就能够用来对包装食品所经历的时间-温度历史进行积分, 用以指示食品的品质^[22, 23].

在生成 PDA 的单体分子中, 共轭联乙炔基团 ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-$) 是发生热聚合反应的基本结构 (图 2), 通过对单体分子中联乙炔链 2 个端点的化学修饰, 可以获得具有不同端基的联乙炔衍生物, 如醇类、磺酸类、氨基甲酸酯类和芳环类联乙炔单体分子^[24-26]. 这些单体分子由于端基结构的不同, 热聚反应后生成 PDA 的颜色也不尽相同, 同时聚合反应所消耗的时间也有差别. PDA 对包装食品货架期的指示一般是从无色 $\rightarrow$ 红色或蓝色 $\rightarrow$ 红色的变色历程. 在 1,4-加成聚合反应过程中, 可见光激发聚联乙炔骨架中的离域 π 电子, 产

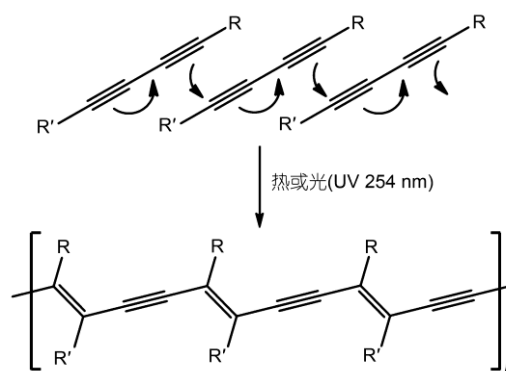


图 2 联乙炔类化合物在热或光的作用下发生 1,4-加成聚合反应

生的 $\pi-\pi^*$ 跃迁能够吸收 $\sim 640\text{ nm}$ 的可见光, 因而呈现蓝色; 当链端引入的端基影响到聚合物的构象时, PDA 骨架中离域电子状态会发生变化, 相应其对可见光的最大吸收蓝移至 $\sim 540\text{ nm}$, 最终导致 PDA 的颜色呈浅红色或红色^[27].

联乙炔单体分子链端修饰基团的引入能使 PDA 在受到热、pH 或化学因素的作用下发生可逆的颜色转换^[28-30]. 例如, 在联乙炔的一端引入酰胺键和羧基后, 酰胺键中羰基 O 与氨基 H 以及羧基中羰基 O 与 H 发生分子间相互作用形成氢键 (图 3(a)), 此时 PDA 在 640 nm 有最大的吸收而呈蓝色; 当 PDA 薄膜被缓慢加热至 90°C 后, 氢键的破坏致使 PDA 的吸收蓝移至 540 nm 而呈现出紫红色 (图 3(b)), 且这种紫红色在温度降至室温 (25°C) 后能完全变回到蓝色^[31, 32]. 当端基含有酰胺基时, 改变体系的 pH 可以使 PDA 薄膜的颜色在红色 (三乙胺处理) 和蓝色 (盐酸处理) 之间转变 (图 4(b)), 这种颜色之间的转换是由于分子链端联氨基团的质子化与去质子化造成的 (图 4(a))^[33, 34]. 分子链中偶氮苯基团之间的 $\pi-\pi$ 叠加作用在不同温度区间的加热作用下也可以发生从蓝色到红色可逆或不可逆转换 (图 5)^[35]. 另外, 分子链中引入的羧基与 Na^+ , K^+ , Zn^{2+} 等金属离子的络合作用下也可以使 PDA 发生蓝色与红色之间的可逆转变^[28, 30].

另一类化学型 TTI 是基于光致变色化合物的光诱导生色与褪色之间的可逆反应而构建的^[36]. 在这类 TTI 中, 光致变色化合物的光诱导反应常伴随其分子结构中质子、甲基或卤素原子的转移与重排. 由于反应进行时所需吉布斯自由能较高, 因此光诱导可逆反应的速率非常快 (皮秒级)^[37, 38]. 然而, 有趣的是, 这类

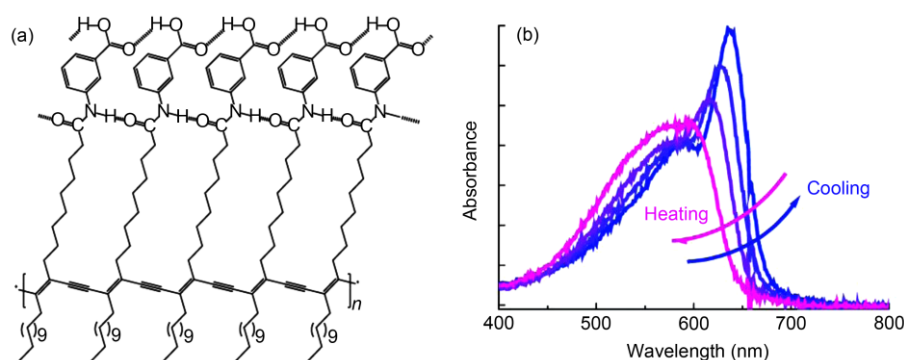


图 3 修饰有羧基和酰胺基团后聚合物分子链之间形成的氢键(a)及其在加热和冷却情况下的吸收光谱的变化(b)^[32]

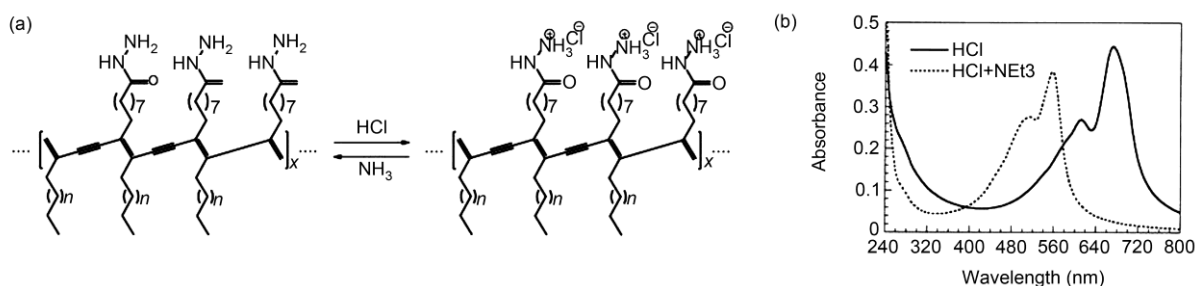


图 4 修饰有酰胺基团的聚合物分子在盐酸和三乙胺处理之后的结构转换(a)及其相应吸收光谱的变化(b)^[33]

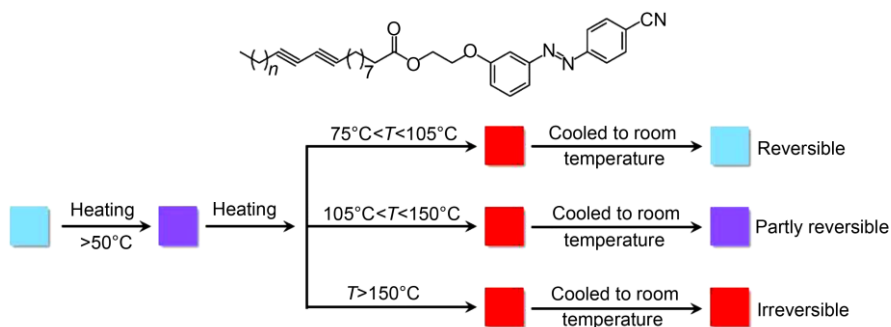


图 5 修饰有偶氮苯基团后聚合物分子在低温区间($<105^{\circ}\text{C}$)下的颜色可逆反应、中间温度区间($105\sim 150^{\circ}\text{C}$)下的颜色部分可逆反应和高温区间($>150^{\circ}\text{C}$)下的颜色不可逆反应^[35]

光致变色化合物的褪色逆反应也可由热来驱动,且热致褪色反应的速率要远低于光诱导褪色的速率(图 6),并且在不同温度下表现出不同的反应速率,根据反应过程中温度、速率与褪色程度之间的关系来推算时间-温度积分与颜色变化之间的定量关系,继而可以用来对包装食品的货架期进行指示^[39-43]。

目前,应用于智能食品包装上的光致变色化合物主要有螺芳烃类、二芳基乙烯类以及硝基苯基吡啶类化合物(图 7)^[44-48]。在螺芳烃类(螺吡喃和螺噁嗪)光致变色体系中,闭环体的吸收通常位于 $200\sim 400\text{ nm}$ 范围

内而不呈现颜色。在受到紫外光激发后,极性 $\text{C}=\text{O}$ 键的异裂导致分子发生开环反应,并伴随分子结构及电子组态的异构和重排,吸收红移至 $500\sim 600\text{ nm}$ 范围内而呈现颜色^[42, 43]。然而,螺芳烃化合物的开环体热稳定性较差,室温下即可恢复到无色闭环态。此外,光致生色过程中副反应的存在使其耐疲劳性较差,易于氧化降解,因而不适用于实际的智能包装体系^[49]。通过对螺芳烃分子中二氢吡啶基团中 N 原子、吡喃和噁嗪基团中苯环上的结构修饰可以提高螺芳烃开环体的耐疲劳性和热稳定性。经结构修饰的开环体发生光

致和热致闭环反应的速率也明显降低(反应时间延长至数天甚至数月),大大提高了其在智能食品包装领域应用的可能性^[50~53].

螺芳烃发生热致闭环褪色反应的速率受溶剂极性、化合物物理状态及所处的基质、溶液 pH 及溶液中金属离子等因素的影响^[54~61]. 当溶液的极性越大时,热致闭环褪色反应的速率就越小. 例如, 298 K 下,螺吡喃在苯中发生热致闭环反应的速率为乙醇中的 110 倍^[62],螺噁嗪在四氯化碳中的热致闭环反应速率约为甲醇中的 5 倍^[63]. 溶剂极性对螺芳烃热致闭环反应速率的影响可以由开环态分子结构中离域电子的状态进行解释. 在极性分子中,极性中心原子的电子轨道与共轭双键离域电子轨道的相互作用较强,阻碍了开环态分子进行闭环反应时所需的电子构象,而非极性分子与共轭双键的相互作用较弱,因此发生闭环反应的速率较高^[63]. 溶液中金属离子与衍生化吡喃和噁嗪的配位作用也能显著改变开环态分子热致闭环反应的速率. 在 243 K 丙酮溶液中,螺噁嗪发生热致闭环反应的速率常数为 $1.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$,当加入 Zn^{2+} 后,反应速率常数变化为 $5.01 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$,且随着 Zn^{2+} 浓度的增加,反应速率常数继续减小^[64]. 离子液体对螺芳烃热致闭环反应速率的影响也可以用离子液体的极性进行解释. 例如,当螺芳烃溶于 [BMIm][PF₆] 时,其热致闭环反应的速率常数为 $0.792 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$,开环态分子的半衰期为 14.59 min,而在强极性 [HOEMIm][PF₆] 离子液体中,闭环反应的速率为 $0.0237 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$,开环态分子的半衰期则长达 487.45 min^[62].

尽管溶剂极性和金属离子浓度能显著降低螺芳烃热致闭环反应的速率,但对于 TTI 的实际应用来说,能在数小时内完成闭环褪色反应对于要求长时间(几天至数月)贮存的食品来说缺乏实际的指示意义. 为此,将热致闭环反应从液相改为固相,或通过化学反应将开环态分子与单体分子偶联,进而通过聚合反应实现螺芳烃与聚合物薄膜的复合等方法能显著提高开环态分子的半衰期,降低热致闭环反应的速率. 例如,在 298 K 乙腈溶液中,1,3-二氢-3,3-二甲基-1-异丁基-6'-(2,3-二氢-1*H*-吡啶-1-基)螺[2*H*-吡啶-2,3'-3*H*-萘并[2,1-*b*][1,4]噁嗪]经 254 nm 的紫外光照射后,其开环态分子发生热致闭环反应为溶液中一级反应,速率常数为 1.35 s^{-1} ,而其粉晶状的固相反应则为三级反应,速率常数分别为 6.5×10^{-3} , 9.8×10^{-4} 和 $7.4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; 相

同条件下,与聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA, $M_n = 46000$) 的氯仿溶液混合、旋涂、干燥后得到的复合薄膜的热致闭环褪色反应为四级反应,速率常数分别为 7.8×10^{-2} , 1.8×10^{-2} , 2.6×10^{-3} 和 $5.7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ^[65, 66].

在 TTI 的实际应用过程中,温度对指示剂颜色变化速率的影响直接关系到消费者对包装食品货架期的判断. 从 Arrhenius 方程中温度对反应速率影响的趋势

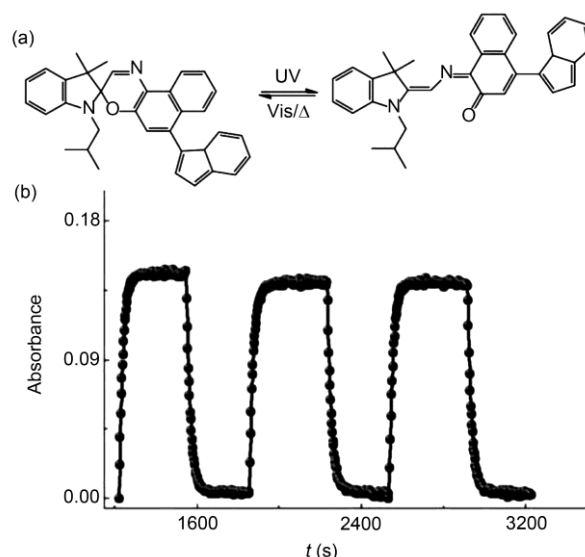


图 6 典型的螺噁嗪分子在紫外光照下的开环生色反应及其在可见光或热作用下的闭环褪色反应(a); 螺噁嗪分子在循环多次紫外-可见光照射下吸收光谱的变化情况(b)^[65]

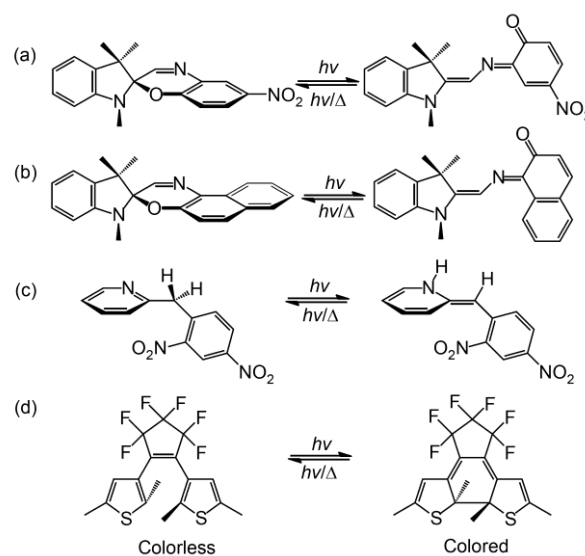


图 7 螺芳烃(a, b)、硝基苄基吡啶类(c)和二芳基乙烯基类(d)化合物发生可逆光致变色和热致褪色反应分子结构式

来看, 当温度升高时, 热致闭环反应的速率相应增大, 而当温度逐渐降低后, 热致闭环反应的速率显著降低, 褪色周期也能得到延长(图8)^[57, 65, 67], 因此以光致变色反应为基础的 TTI 多应用于流通周期短且需低温避光保存的新鲜蔬菜、肉制品、海鲜等食品上。

二芳基乙烯类和硝基苄基吡啶类光致变色化合物(图7)在近年来的智能食品接触材料中也得到了应用。与螺芳烃类光致变色分子相比, 这两类化合物对热的耐疲劳性要好, 在大于 100℃ 的温度下仍然有较大的半衰期, 且开环态分子在可见光下能保持较长时间的稳定^[68], 因此以这两类化合物为基础的智能食品包装材料多用于在可见光环境中能室温贮存的食物。例如, 通过设计合成得到的 1,2-双(2-甲基-5-苯基-3-噻吩基)全氟环戊烯的闭环态分子(图7(d))在 30℃ 下能稳定存在 1900 y, 在 100℃ 下则能稳定存在 18 d 以上^[69]。该类化合物由闭环态构象发生热致开环褪色反应的速率受化合物所处物理状态、温度以及空间位阻效应的影响。当双噻吩上 2-、2'-位的甲基被甲氧基、乙氧基、异丙氧基和环甲氧基取代后, 热致开环褪色反应的速率会显著提高。在 160℃ 时, 甲基、甲氧基、乙氧基、异丙氧基和环甲氧基取代后的半衰期分别为 51, 18, 7.4, 1.6 min 和 45 s, 而在 30℃ 时, 各取代基取代后的半衰期分别为 420, 65, 7.0 和 2.2 y^[69]。由此可见, 空间位阻对于加快闭环态分子的开环反应是有利的。根据这一效应, 人们设计合成了大量有机基团取代的二芳基乙烯类化合物, 其闭环态分子在不同温度下的半衰期也不尽相同, 以满足不同货架期食品的指示之用^[70, 71]。

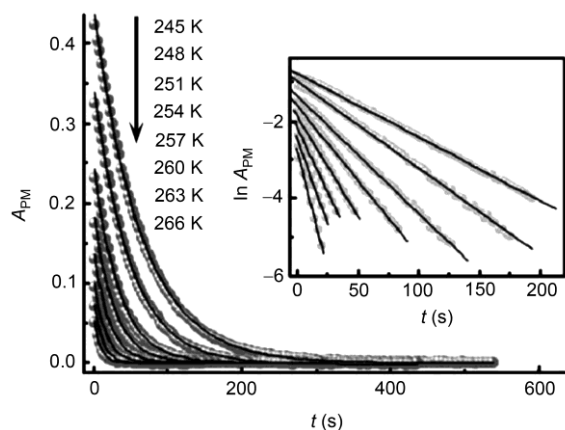


图8 1,3-二氢-3,3-二甲基-1-异丁基-6'-(2,3-二氢-1H-吡啶-1-基)螺{2H-吡啶-2,3'-3H-萘并[2,1-b][1,4]噻嗪}在不同温度乙醇溶液中的吸收光谱随时间变化的关系曲线及其(插图)一阶线性曲线^[65]

硝基苄基吡啶类化合物的光致生色和热致褪色反应是基于分子内的质子转移进行的^[72]。与以结构变化为特点的螺芳烃和二芳基乙烯类化合物相比, 以质子转移为特点的褪色反应速率一般都快, 但其反应速率受空间位阻效应的影响较为明显。例如, 2-(2,4-二硝基苄基)-3-甲基吡啶在 325 K 下的半衰期为 270 s, 当吡啶环上与 N 相邻的 C 原子上的 H 被甲基取代后, 其半衰期延长至 910 s, 当被吡啶基取代后, 其半衰期则延长至 5200 s^[73]。硝基苄基吡啶类化合物所处的基质对质子转移反应的速率影响较小, 因此目前应用于智能食品包装材料中的硝基苄基吡啶类化合物多为烷基、芳环基以及杂环基取代的衍生物^[45, 74]。

另一类用于食品包装材料中的 TTI 是以染料分子在聚合物基质中的有序/无序排列导致的颜色变化为基本原理而构成。在这类 TTI 中, 染料分子的颜色变化与聚合物基质的玻璃化温度(T_g)密切相关。在聚合物基质受热达到或超过 T_g 后, 染料分子由低温时的长程有序排列变化为高温时的无序聚集状态, 同时其紫外吸收/荧光发射产生相应的变化, 这种吸收/发射的变化是由于染料分子在聚集过程中分子内的电荷转移、激基缔合物形成或构象变化造成的, 同时其形态/颜色变化的动力学过程满足 Arrhenius 方程中温度对化学反应速率的影响, 与聚合物基质中染料分子的浓度、分子结构及基质的玻璃化温度有关^[75, 76]。

T_g 对聚合物基质形态的影响是不可逆的, 因而这种类型的 TTI 是部分历史型指示剂, 当包装食品所处温度高于基质的 T_g 时, 染料分子吸收/发射光谱的变化预示着包装食品已经达到货架期, 警示消费者该食品的品质已经恶化^[77]。目前, 用于该类型 TTI 的染料分子主要是以低聚对苯撑乙烯(OPV)为骨架结构的长链烷基衍生物。根据食品指示温度要求的不同, OPV 衍生物所处基质的 T_g 也对应有所不同。例如, 氰基取代 OPV 化合物 1,4-双-(α -氰基-4-十八烷氧基苯乙烯基)-2,5-二甲氧基苯(C18-RG)在 T_g 为 13℃ 的聚甲基丙烯酸丁酯(PBMA)中的指示温度为 23℃, 在 T_g 为 108℃ 的 PMMA 中的指示温度为 104℃, 而当 C18-RG 的基质为 PMMA 与 PBMA 共聚物时, 其指示温度可以调节为 42℃ 和 56℃(图9)^[78]。

当基质温度达到 T_g 时, 染料分子由有序排列向无序聚集的速率受染料分子本身的结构及其在基质中的浓度影响。同样是在二醇改性 PET(PETG)基质中, 当染料分子由 C18-RG 改变为 C2-RY8 后, 由于 C2-RY8

分子中苯环 2-,5 位上刚性烷基链的长度要远大于 C18-RG 分子中相应位点的烷基链, 导致其在 PETG 中迁移的速率变小, 因而发生聚集形态和颜色变化的速率随之减小^[79]. 基质中染料分子的浓度对其形态聚集和颜色变化的速率也有一定程度的影响. 例如当 C18-RG 在 PETG 中的浓度为 0.5%(重量比)时, 基质在 90~140°C 内退火 3 h 后, C18-RG 在 365 nm 紫外光照射下的单体荧光发射未发生任何改变, 说明含 0.5%染料分子的基质混合物的 T_g 要高于 140°C; 当 C18-RG 的浓度提高到 1.6%后, 对基质加热至 110°C 时就导致染料分子的单体荧光发射转变为激基缔合物荧光发射, 相应颜色由绿色转变为橙黄色(图 10), 说明含 1.6%的 PETG 基质混合物的 T_g 在 100~110°C 之间^[79, 80].

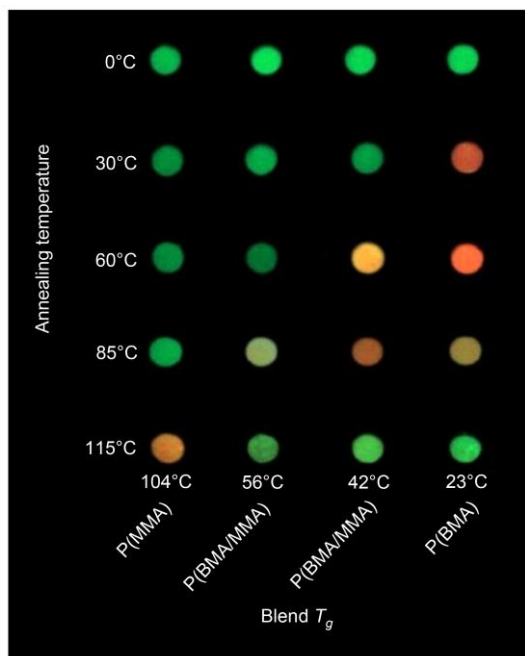


图 9 C18-RG 染料分子在聚合物基质中的颜色随玻璃化温度的不同而出现不同指示温度的情况^[78]

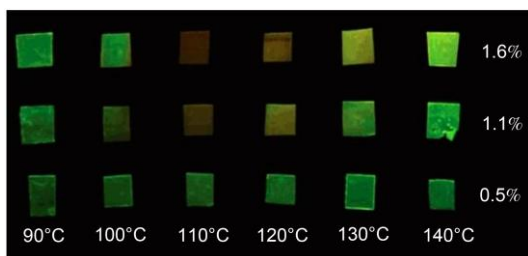


图 10 不同含量 C18-RG 染料分子在 PETG 聚合物基质中随温度升高而导致的不同玻璃化转变温度^[79]

无机化合物的热致变色性质在智能食品包装材料中也得到了应用. 其中, 以金属银为核心的无机化合物及其纳米材料是重要的一类 TTI. 例如, 由光敏材料卤化银进行光敏反应产生的单质银能够催化由脂肪酸银盐(碳链长度 10~30)和抗坏血酸棕榈酸酯、聚酚化合物、没食子酸、没食子酸丙酯以及磺酰胺苯酚等还原剂组成的热敏型氧化还原体系, 氧化还原反应速率与温度之间的关系满足 Arrhenius 方程, 因而具有时间-温度指示效应^[81]. 该体系能够指示贮存温度在 -40°C 以上的包装食品, 且其制备简单, 能够制成厚度为 500 μm 的薄膜, 因而在低温避光贮存类型的食品包装上得到广泛应用^[81]. 纳米银颗粒是近年来兴起的另外一种具有时间-温度指示效应的新型材料. 在纳米银颗粒的指示过程中, 温度导致的形貌变化是其具有指示效应的根本原因(图 11). 当银颗粒为三角片状晶体时, 其特有的面内偶极共振在可见光区表现出强烈的吸收, 而当三角片状晶体逐渐演变为圆形后, 晶体表面的偶极共振会逐渐蓝移^[82, 83].

纳米银颗粒形貌的演变源于外界热能对其表面银原子吉布斯自由能(E_s , 10^{-16} J)的影响. 理论模拟计算结果表明, 在不考虑溶剂和基底效应的前提下, 由动能(E_k , 10^{-39} J)、热能(E_h , 10^{-30} J)和抗堆垛层错能(E_i , 10^{-16} J)组成的表面银原子自由能中, 温度对 E_i 的影响最为显著. 当温度升高时, 三角片状晶体中自由能最高的棱角处银原子会发生表面原子迁移, 而迁移最先到达的地方是晶体表面和内部形成的堆垛层错. 当温度越高时, 这种表面原子迁移的速率就越快, 最终形成圆形纳米晶的时间也越短^[82]. 如图 12 所示, 当外界温度为 4°C 时, 7 d 内纳米银颗粒的表面偶极共振吸收蓝移了大约 10 nm, 而当温度升至 47°C 后, 相同时间周期内偶极共振的蓝移扩大到了约 120 nm^[82].

2.2 氧指示剂(OI)

食品腐败变质的主要原因是空气中 O_2 的存在加速了食品中需氧性微生物的快速繁殖, 同时也辅助加速了食品中酶催化和非酶催化体系反应的进程, 从而破坏了食品中富有营养、色泽和口感的各种物质. 微生物繁殖、酶催化以及非酶催化反应体系受温度和环境 O_2 浓度的影响较大, 因此在易腐败变质食品的包装上都采用冷藏或冷冻保存, 以期降低微生物繁殖和催化体系的反应速率, 达到延长食品货架期的目的^[84].

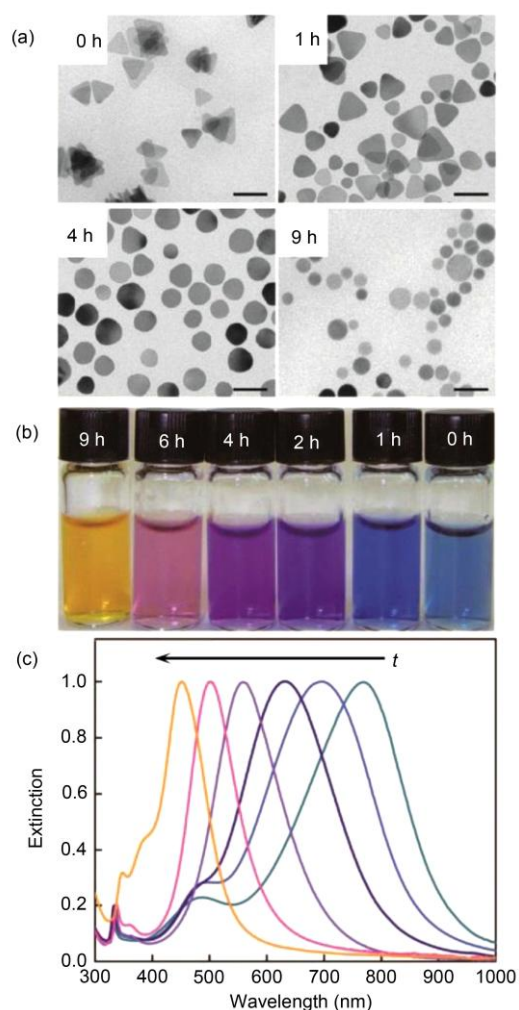


图 11 (a)由聚乙烯吡咯烷酮和柠檬酸稳定的三角片状纳米银颗粒在 80°C 下孵育 1, 4 和 9 h 的形貌演变透射电镜照片; (b)三角片状银纳米颗粒在 80°C 下孵育不同时间的外观颜色变化及其(c)吸收光谱演变情况^[82]

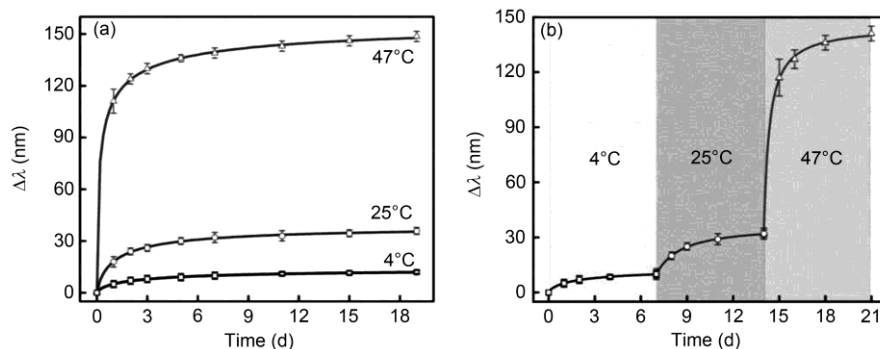


图 12 三角片状纳米银颗粒在 4°C, 25°C 和 47°C 下孵育时吸收光谱峰位移随孵育时间变化曲线图(a); 三角片状纳米银颗粒在 4°C, 25°C 和 47°C 温度下孵育 7 d 之内的吸收光谱峰位移的累计效应曲线图(b)^[82]

气调包装(modified atmosphere packaging, MAP)是另一种能显著降低食品腐败变质速率的技术。在 MAP 技术中,食品包装体系中充填有一定压力和浓度的惰性气体,如 N_2 或 CO_2 , 以此来降低包装中 O_2 浓度,达到延长食品货架期的目的。目前,MAP 的应用一般与具有吸收 O_2 的 FeO 清除剂共同使用,通过 FeO 的氧化反应来消耗掉食品包装封装过程中残留 O_2 、包装外环境中渗透 O_2 以及食品本身的释放 O_2 , 以此来增强 MAP 对延长包装食品货架期的功效^[85]。然而,从目前技术和市场应用的情况来看,尽管 MAP 结合 O_2 清除剂的包装体系能显著提升包装食品的货架期,但由于 O_2 清除剂的限量使用以及体系中 O_2 来源的不间断性(渗透和释放),如何实时监控和反馈包装体系中 O_2 浓度成为制约 MAP 应用的一个关键问题。

氧传感器的研究发展和应用为实时动态监测包装体系中 O_2 的浓度提供了可能和契机^[84, 86, 87]。在食品包装体系中,以油墨印刷或标签张贴于包装内层的氧传感器不仅能传感包装中的 O_2 , 而且能通过自身光学性质的变化来警示消费者目前包装体系中 O_2 的含量,因此被称为氧指示剂(OI)^[88]。目前,应用于食品包装体系中的 OI 大都是在可见光范围内有荧光发射和吸收的化合物。对于荧光物质来说, OI 的指示原理是通过其荧光强度/寿命与 O_2 浓度之间的关系来完成,而利用化合物的吸收来完成 O_2 含量的指示则是通过其与 O_2 的结合反应、氧化还原反应或光致氧化还原反应过程中化合物颜色的变化来完成^[89]。

在以荧光发射强度/寿命为指示原理的 OI 中,以金属 Ru(II)为核心的 1,10-邻二氮杂菲、2,2'-联吡啶及其衍生物的六配位二亚胺钌络合物和以金属 Pd(II), Pt(II)为核心的卟啉环及其衍生物的四配位钯/铂

卟啉络合物是应用最早和最为普遍的一类指示剂^[90]. 在该类指示剂中, 二亚胺络合物和卟啉络合物通过其荧光/磷光强度与包装体系中 O_2 压力之间的定量关系来反映食品包装中的 O_2 含量. 然而, 由于络合物的荧光/磷光强度不仅受体系中 O_2 含量的影响, 而且还与温度(热漂白)、光照(光漂白)以及基质环境有很大的关系, 因此在实际的应用过程中, 包装中 O_2 含量的指示通过其荧光/磷光寿命来反映^[89, 90], 并遵循如下式所给出的关系:

$$I_0 / I = \tau_0 / \tau = 1 + (K_{SV} \times pO_2), \quad (1)$$

式中, I_0 和 I 与 τ_0 和 τ 分别表示指示剂在无 O_2 和有 O_2 情况下的荧光/磷光强度与寿命; K_{SV} 为荧光/磷光遵从 Stern-Volmer 猝灭反应时的速率常数, pO_2 则表示包装体系中 O_2 的压力. 从(1)式可以看出, 指示剂的荧光/磷光寿命与猝灭速率常数 K_{SV} 和体系中 O_2 含量有关, 包装中 O_2 浓度越高, 猝灭反应的速率越大, 则指示剂的寿命就越短(图 13)^[91].

氧指示剂在包装中猝灭反应的速率与 O_2 在包装材料中的渗透率和溶解度有关. 理论模型((2)式)模拟结果表明, O_2 在包装材料中的渗透率和溶解度越高, 其猝灭反应的速率就越快. 例如, 在含有二(四苯基硼)化三(4,7-双苯基-1,10-邻二氮杂菲)钌($[Ru(dpp)_3]^{2+}$ (Ph_4B^-)₂)的硅橡胶薄膜中, O_2 的渗透率常数 A 和 B 分别为 21.9 和 12.3, 溶解度常数 b 为 1.92, 在醋酸纤维素酯薄膜中, A , B 和 b 常数分别为 0.0376, 3.27 和 0.594, 而在聚氯乙烯薄膜中时, 则分别为 0.199, 1.61 和 0.683^[90].

$$I_0 / I = 1 + A \cdot pO_2 + B \cdot pO_2 / (1 + b \cdot pO_2). \quad (2)$$

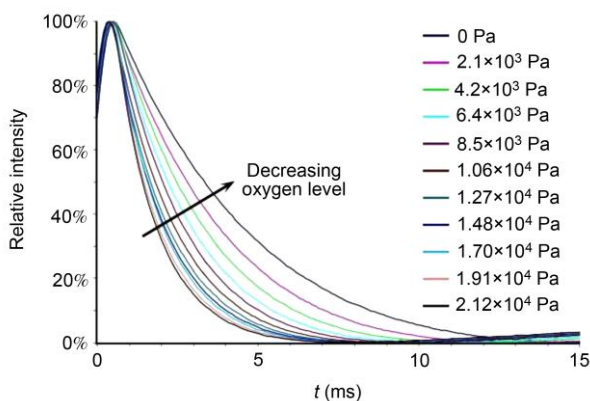
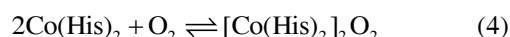
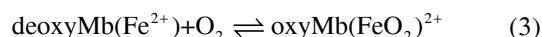


图 13 金属 Ru 配合物在不同 O_2 含量下其相对荧光强度的衰减曲线^[91]

氧指示剂对食品包装中 O_2 含量传感的灵敏度是衡量氧指示剂指示效果的一个重要指标. 氧指示剂灵敏度主要受指示剂本身激发态荧光/磷光寿命 τ_0 以及 O_2 在包装材料中的渗透率和溶解度有关. 例如, 二氯化三(4,7-双苯基-1,10-邻二氮杂菲)钌($[Ru(dpp)_3](Cl)_2$)的激发态荧光寿命 τ_0 为 5.34 μs , 能够监测到包装体系中低至 3.97×10^3 Pa 的 O_2 , 而二氯化三(2,2'-联吡啶)钌($[Ru(bpy)_3](Cl)_2$)的激发态荧光寿命则只有 0.60 μs , 其对包装体系中 O_2 的传感底限为 5.02×10^4 Pa; 对于同一指示剂来说, 其不同材质的包装中对 O_2 传感的灵敏度也有所不同. 例如, 粪卟啉钌在硅橡胶薄膜中的激发态磷光寿命为 0.80 ms, 其对 O_2 传感的底限为 4.76×10^2 Pa, 而在聚苯乙烯薄膜中, 其磷光寿命延长至 1.06 ms, 相应对 O_2 传感的底限为 9.60×10^2 Pa^[90].

某些化合物与 O_2 结合后在可见光范围内的吸收光谱会发生一定的变化, 利用这种性质也可以对食品包装体系中的 O_2 进行实时监测. 例如, 最早采用的脱氧血红蛋白, 其最大吸收发生在 435 nm 处, 当与分子 O_2 结合后生成氧化血红素, 同时吸收蓝移至 405 nm. 这种类型的氧指示剂具有可逆特性, 并且可以指示含量低至 2.67×10^3 Pa 的 O_2 ^[92]. 然而, 由于氧化血红素的稳定性较差, 易被 O_2 继续氧化成高铁血红蛋白, 同时脱氧血红蛋白的贮存条件苛刻, 因而目前应用范围较小. 肌血球素(Mb)也是一种能在结合 O_2 之后吸收发生的变化的化合物, 但其颜色变化不明显, 可见光吸收仅从脱氧态的 432 nm 蓝移至氧化态的 418 nm((3)式)^[93].



除上述天然金属络合物外, 近年来一些合成类金属络合物也得到了应用. 在这其中, 双(组氨酸)钴(II)(Co(His)_2)是研究较多的一类氧指示剂^[93]. 未结合 O_2 时, Co(His)_2 是无色的, 当结合 O_2 之后, Co(His)_2 的最大吸收红移至 408 nm 而呈现粉红色((4)式). 这些络合物发生颜色变化的原因是由于分子氧与络合物金属中心结合以后, 改变了金属中心外层价电子云的构象. 然而, 由于金属配合物的稳定性较差, 同时其脱氧态与氧化态之间颜色变化不明显, 加之脱氧态的金属络合物同时受基质 pH、湿度等因素的影响较大, 限制了其在 MAP 包装领域的广泛使用.

染料分子与 O_2 的氧化还原反应是 OI 的另外一种

指示方式. 在该体系中, 还原剂的存在可以将氧化态的染料分子还原, 同时染料分子的吸收在氧化态和还原态之间变化, 因而这类 OI 是可逆并可重复使用的^[94]. 目前, 应用于该类 OI 的染料分子有噻嗪染料、三苯甲烷染料、亚甲基蓝(MB)、甲基紫和靛蓝胭脂红等, 还原剂一般有糖类、醛类、硫醇类和无机盐类如连二亚硫酸钠、硫酸亚铁等. 另外, 碱性条件有利于氧化态染料分子与还原剂发生氧化还原反应, 因而在该类指示剂中, 一般还包含一定量的无机或有机碱如氢氧化钠、氢氧化镁、四丁基氢氧化铵和十六烷基三甲基溴化铵等^[95-97]. O_2 -MB-葡萄糖是应用较为普遍的一种 OI. 在该体系中, MB-葡萄糖对的氧化还原反应是整个氧指示体系的速率决定步骤, 该步骤受体系中酸碱度的影响较为明显. 一般来讲, OI 所处基质环境的 pH 越高, 则氧化态 MB 被葡萄糖还原的速率就越快. 另外, 在该指示体系中, 由于有还原剂的存在, 因此具有一定的可逆性, 在一定 O_2 和还原剂存在下可以反复使用多次. 例如, 将染料分子 2,6-二氯吡啶酚(DCIP)、果糖、四丁基氢氧化铵(TBAOH)与乙基纤维素溶解混合以后, 通过旋涂制备的乙基纤维素指示薄膜, 在空气(暴露 1 min)和 N_2 (暴露 25 min)中能反复使用达到 10 次以上. 在多次指示之后, 长时间在空气中的暴露能够将纤维素指示薄膜中氧化反应和还原反应修复至平衡, 继而可以应用于下一循环的多次使用(图 14)^[94].

在 O_2 -DCIP-果糖-纤维素指示薄膜中, 果糖和 TBAOH 的浓度对指示薄膜进行指示反应的速率均有影响. 一般来讲, 当薄膜中果糖的浓度越大, 基质薄膜的 pH 越高时, 指示薄膜对包装体系中 O_2 的响应就越快. 值得一提的是, 当将 OI 溶于聚合物中并制备成薄膜后, 聚合物中增塑剂的含量对指示剂进行 O_2 传感的响应速率有一定的影响. 如图 15 所示, 当聚合物薄膜中增塑剂结构由烷基长链改变为邻苯二甲酸酯结构后, 染料分子对 O_2 的响应以及氧化态染料分子发生还原反应的速率均有明显的变化, 这主要是由于不同结构的增塑剂导致聚合物薄膜形成的微观组织结构不同, 不仅影响了 O_2 在薄膜中渗透速率和溶解度, 而且影响了还原剂被氧化的速率^[94].

在上述氧化还原指示体系中, 染料分子从氧化态到还原态的还原也可以由一个不可逆的光化学反应完成. 在该过程中, 参与光化学反应的物质一般是在紫外波长范围内有吸收的半导体纳米材料(SC), 如 TiO_2 或 SnO_2 . 当能量大于带隙宽度的紫外光照射

SC 后, 其激发态(SC^*)激子(空穴-电子对)中的空穴可以被外部的电子供体(SED)氧化, 同时留下的电子($SC(e^-)$)参与染料分子的还原反应(图 16)^[98-103].

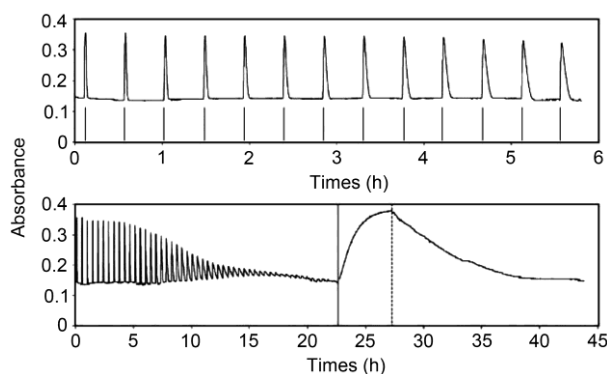


图 14 以 DCIP、果糖、TBAOH 为反应物的乙基纤维素指示薄膜在 O_2 - N_2 气氛中反复交替暴露下指示薄膜的吸收光谱变化图^[94]

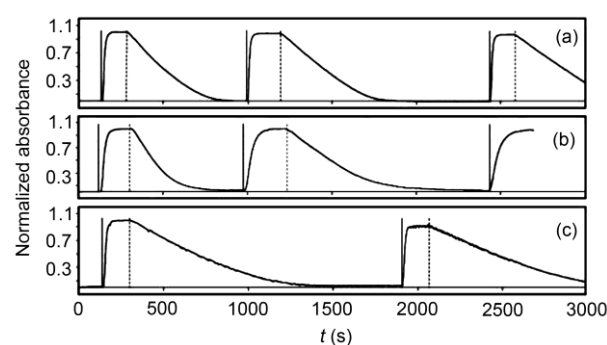


图 15 以蓖麻油(a)、Santicizer™ 278(b)和 Santicizer™ 141(c)为增塑剂时, DCIP-果糖-纤维素指示薄膜在 3 次 O_2 - N_2 气氛中反复交替暴露情况下指示薄膜的吸收光谱变化图^[94]

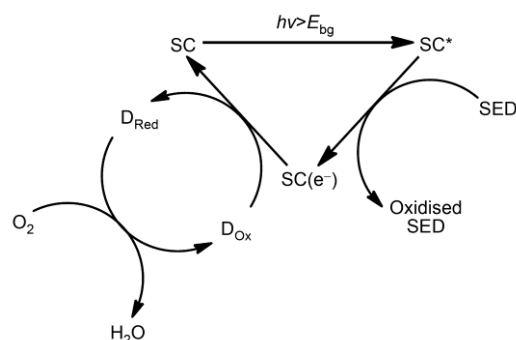


图 16 利用半导体纳米材料在光照条件产生的电子作为还原剂而完成的光引发变色氧指示体系原理示意图; 其中 D_{Ox} 和 D_{Red} 分别表示染料分子的氧化态(带色状态)和还原态(无色状态)

由半导体纳米材料通过紫外光照射吸收能量后引发的氧化还原变色反应称之为光引发变色氧指示体系. 在该体系中, 染料分子多采用 MB, 半导体纳米颗粒一般采用 TiO_2 . 例如, 以羟乙基纤维素为基质的光引发变色氧指示薄膜在紫外光照射之前呈现甲基蓝分子的典型蓝色, 当该薄膜被 100 W 的紫外光照射 2 min 后, 蓝色的薄膜褪色至无色, 随后在避光敞开的空气气氛下, 无色薄膜逐渐恢复至最初的蓝色, 完成食品包装体系氧含量的指示(图 17)^[99].

在图 16 所示的光引发变色氧指示体系中, 只有当指示薄膜接受的紫外光照射能量大于半导体材料导带的带隙宽度后, 指示薄膜才能在随后的含氧环境中进行变色反应, 且这种变色反应是不可逆的; 当变色反应达到平衡后, 需在紫外光的重新照射下才能进行后续多次 O_2 含量的指示^[101]; 另外, 染料分子在有氧环境下的氧化反应速率与食品包装体系中 O_2 含量、基质薄膜的厚度、包装体系中湿度以及包装食品贮存温度有关. 一般来讲, 当食品包装体系内泄漏/释放 O_2 的含量越高时, 染料分子的氧化反应速率越快, 其显色周期也就越短, 从图 18 可以看出, MB 在聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)薄膜中氧化的速率与包装体系中 O_2 含量成线性关系; 同时, 当 PET 薄膜的厚度从 15 μm 增加到 230 μm 以后, MB 氧化变成蓝色的时间也从约 20 min 延长至约 8 h, 反应速率显著下降. 基质薄膜厚度增加后反应速率的下降是由于分子 O_2 在薄膜中渗透时间延长的原因导致^[101]. 包装体系中湿度对薄膜中染料分子氧化速率的影响受基质薄膜亲水性的控制. 当基质薄膜材料为低密度聚乙烯时, 其较高的疏水性能有效阻隔环境中 H_2O 向薄膜的渗透, 因而染料分子的氧化速率基本不受外界相对湿度的影响; 而当基质薄膜改变成磺化聚苯乙烯(PS)后, 其亲水性特征能够提升环境中水蒸气在薄膜中的渗透, 致使分散在薄膜中的水溶性 SED

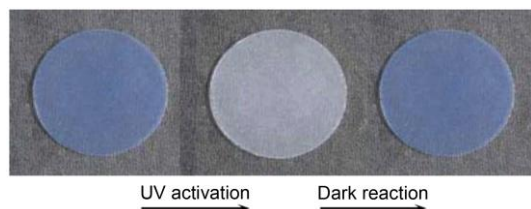


图 17 亚甲基蓝- TiO_2 -甘油-羟乙基纤维素指示薄膜经紫外光(2 min, 100 W)照射后(10 min)的褪色反应及其在暗处的颜色修复反应^[99]

以及染料分子随 H_2O 的渗透迁移出薄膜, 导致薄膜中参与氧化还原反应的化合物浓度减小, 从而降低了染料分子指示包装体系中 O_2 的响应速率^[102].

在光引发变色氧指示体系中, 染料分子由无色还原态氧化至带色氧化态的速率也可以通过控制其中光引发体系的光反应速率来进行调节. 例如, 由 TiO_2 , MB, 甘油和 SPS 组成的氧指示薄膜($\text{TiO}_2/\text{MB}/\text{glycerol}/\text{SPS}$)在一定的薄膜厚度、 O_2 含量以及贮存温度下, MB 由无色氧化至蓝色需要 5 d 时间, 而当 TiO_2 纳米颗粒中掺杂 0.38 wt% 金属 Pt 后, 相同条件下, Pt- $\text{TiO}_2/\text{MB}/\text{glycerol}/\text{SPS}$ 指示薄膜由无色变成蓝色的时间仅需要 1.5 d, 当金属 Pt 的含量提高到 1.52 wt% 后, MB 从无色恢复至蓝色的时间缩短至 12 h. 金属 Pt 颗粒对 $\text{TiO}_2/\text{MB}/\text{glycerol}/\text{SPS}$ 薄膜响应速率的调节主要是通过其固有的催化性能来实现. 当 TiO_2 接受紫外光的照射后, 掺杂的金属 Pt 原子会催化加速电子-空穴对的分离, 从而提高了电子氧化还原态染料分子至氧化态的速率^[104]. 这种以 Pt 的含量来调节指示薄膜对 O_2 响应速率的方法有望在快速消费的冷冻食品包装领域得到应用(图 19)^[104].

3 智能包装中指示剂的安全评价

食品包装对人体健康形成的危害源于包装材料或粘结、印刷、复合于包装材料中的标签、油墨等迁移至食品的化学物质^[105]. 与食品的健康危害相比, 食品包装的健康危害不仅包含化学物质的毒理学评估, 而且还包括其迁移至食品的风险评估, 即暴露评估. 在美国食品 & 药品管理局(FDA)和欧盟委员会(EC)的管理体系中, 智能食品包装隶属于食品包装的一类, 因此以评价化学物质对人体健康产生危害的毒理学评估和以评价化学物质迁移至食品中迁移量的暴露评估所组成的安全评价内容同样适用于新型的智能食品包装^[106].

3.1 毒理学评估

在组成 TTI 和 OI 的各种有机/无机化合物的毒理学评估中, 联乙炔是描述的较为全面和透彻的一类化合物. 尽管目前针对联乙炔毒理学评估的对象多为自然界植物中存在的天然化合物, 但由于其毒理学关键活性基团的相似性(联乙炔基团), 因此针对天然联乙炔化合物的毒理学评估对应用于 TTI 中的合

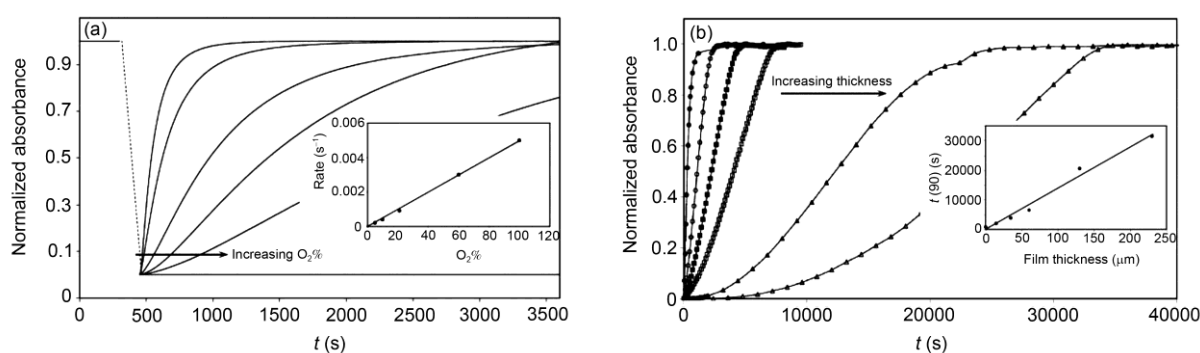


图 18 (a) PET 指示薄膜在不同 O_2 含量气氛中亚甲基蓝吸收光谱随时间变化的曲线图及亚甲基蓝最大吸收峰值与 O_2 含量的线性关系(内插图); (b) 同一 O_2 含量气氛下, 不同厚度 PET 指示薄膜中亚甲基蓝吸收光谱随时间变化的曲线图及亚甲基蓝最大吸收峰值与薄膜厚度的线性关系(内插图)^[101]

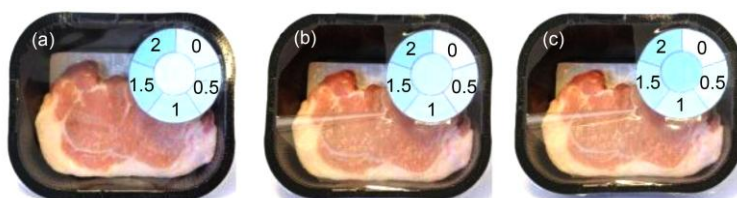


图 19 采用 $Pt-TiO_2/MB/glycerol/SPS$ 指示薄膜包装肉制品贮存于 $4^\circ C$ 后氧指示剂的指示效果示意图。其中, 圆形指示薄膜外部 5 个扇形区域为 $Pt-TiO_2/MB/glycerol/SPS$ 在 O_2 气氛中分别暴露 0, 0.5, 1, 1.5 和 2 d 后的颜色变化程度。当将肉制品用塑料薄膜密封后, 圆形指示薄膜中间区域的颜色与扇形区域中暴露 0 d 后指示薄膜的颜色一致(a); 将密封薄膜人为破坏后使得肉制品与空气接触 1 d (b)和 2 d (c)后指示薄膜中间区域的颜色与扇形区域中暴露 1 和 2 d 后的指示薄膜的颜色一致^[104]

成类联乙炔化合物仍然具有指导意义^[107]。研究表明, 具有联乙炔结构的毒芹素和水芹毒素能直接作用于中枢神经系统, 造成生物体全身抽搐及呼吸瘫痪, 最终导致死亡^[108, 109]。大鼠脑部的解剖结果表明, 毒芹素和水芹毒素的神经毒性作用缘于其能与 γ -氨基丁酸 A 型受体($GABA_A$)作用从而阻碍了 $GABA_A$ 的正常跨膜作用^[110]。构效关系研究表明, 联乙炔结构中共轭 π 键的长度越长, 其毒性效果越明显^[108, 110]。细胞毒性是联乙炔类化合物表现出的另外一种生物毒害作用。例如, 具有共轭乙炔结构的镰刀芹醇(falcarinol)、人参环氧炔醇(panaxydol)和人参炔三醇(panaxytriol)对人体成纤维细胞具有一定的毒性^[111]; 然而, 有趣的是, 这些乙炔醇对人体的胃部癌细胞、黑色素瘤细胞以及纤维原癌细胞具有比正常细胞高出 20 倍的毒性敏感性, 因而可以用来治疗和防御人类的某些癌症^[112~115]。

尽管螺芳烃在光致变色领域的早期应用被认为

是安全且无毒害作用的一类可替代有机染料的化合物, 但一项针对吞噬细胞(THP-1 细胞系)、胃细胞(AGS 细胞系)和上皮细胞(A549 细胞系)的细胞毒性试验表明, 某些结构的螺吡喃化合物表现出明显的浓度和时间依赖性。例如, 当螺吡喃化合物 1',3'-二氢-1'-乙醇基-3',3'-二甲基-8-甲氧基-6-硝基-螺(2H-1-苯并吡喃-2,2'-(2H)-吡啶)(8-甲氧基-6-硝基-BIPS)的浓度低于 10^{-4} M 时, 24 h 内通过高内涵筛选分析方法获取的细胞繁殖能力、胞膜渗透性以及 DNA 结合力等体现细胞活性的指标并没有明显的变化, 当时间延长至 72 h 后, THP-1, AGS 和 A549 细胞系的活性下降了约 50%; 而当 8-甲氧基-6-硝基-BIPS 的浓度上升至 10^{-3} M 后, 24 h 内则可以观察到明显的细胞毒性作用^[116]。

应用于 OI 中的某些染料分子也具有一定的毒性。在早期的医学诊断和解剖学中, 由于其低毒性和良好的生物相容性, MB 多被用来进行病灶组织或解剖

组织的染色,以辅助医学影像的诊断和治疗^[117];同时,由于其较强的氧化作用,**MB**还可以治疗由于高铁血红蛋白过高造成的高铁血红蛋白症^[118]。然而,新的研究结果表明,高剂量的**MB**可以引起婴幼儿溶血性贫血,进而引发急性肾功能衰竭。当**MB**在血液中与高铁血红蛋白结合后,本身被还原成无色的**MB**,同时产生血红蛋白和过氧化氢。过氧化氢可以被细胞内的谷胱甘肽还原,但是当体内存在大量的过氧化氢后,谷胱甘肽的耗尽使得过氧化氢能够氧化损伤血红素,进而引发溶血性贫血^[119]。

相比光致变色和氧化还原变色反应的有机小分子化合物,人们对无机纳米 Ag 、 TiO_2 、 SnO_2 颗粒的毒理学评估研究要充分许多。目前,大量的体外和体内细胞毒理学实验证实, Ag 纳米颗粒对生物体形成的损伤主要通过产生活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)进而形成氧化应激(oxidative stress, OS)所导致^[120]。当体相材料的尺寸急剧减小到纳米级别时,裸露在颗粒表面的原子数目增加,致使未键合的原子数目增加,形成悬置键;另外,尺寸减小导致组成晶体颗粒的晶面不连续性增加,颗粒表面和内部的晶体缺陷增加。悬置键和晶体缺陷的存在都会使得颗粒表面原子的电子结构发生改变,形成吉布斯自由能很高的活性中心。活性中心与生物体内 O_2 接触便会产生过氧根自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$, 后者再通过歧化或 Fenton 反应形成 ROS ^[121]。然而,在正常情况下,生物体细胞内的线粒体也会产生 ROS , 但其发生的几

率较低, 且很快会被体内的还原剂型谷胱甘肽(GSH)和抗氧化酶消耗掉, 因此不会对生物体造成损害。而当纳米颗粒进入细胞后, 其与线粒体的结合会导致大量 ROS 的产生, 此时 GSH 和抗氧化酶便显得不足, 于是细胞内便会聚集大量的氧化型谷胱甘肽(GSSG), 由此引发 OS 效应(图 20)。OS 效应可以导致细胞抗氧化能力的降低, 同时大量 GSSG 的存在致使细胞以细胞凋亡的形式死亡, 进而引发局部组织/器官的炎症或纤维化^[122]; 另外, 高浓度 ROS 的存在可以破坏 DNA 链中碱基对的配对, 引发链中碱基序列的异常或配对错误, 从而形成纳米颗粒的基因毒性和遗传毒性(图 20)^[123]。

由于纳米颗粒的毒理学效应不具备明显的成分依赖性, 因此 TiO_2 颗粒的毒性评估与 Ag 具有相似的尺寸依赖性, 即 TiO_2 同样会经由 ROS 引起的 OS 效应导致细胞凋亡, 从而形成组织/器官的炎症或纤维化. 这种毒性效应不因生物体内组织/器官中细胞类型的改变而变化. 例如, 针对 TiO_2 的系列综合性毒理学实验结果表明, TiO_2 颗粒在肺、皮肤和胃部中的存在均会对肺成纤维细胞、皮肤成纤维细胞和胃部上表皮细胞造成损伤, 加速细胞的凋亡, 造成功能性器官局部组织的炎症或坏死^[124-126].

3.2 暴露评估

智能食品包装的毒理学评估只是针对包装中化学物质毒理学效应的定性判断,在评估其对人体健

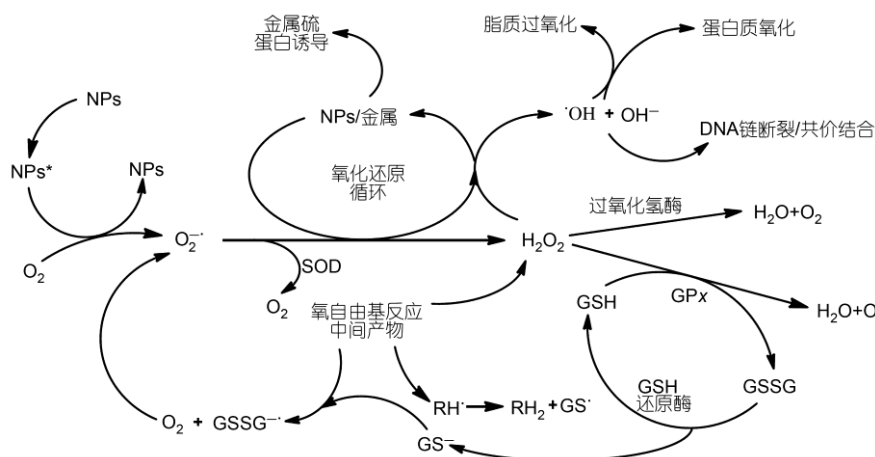


图 20 纳米颗粒通过产生 ROS 进而对细胞形成 OS 效应的机理示意图. 其中, GPx, 谷胱甘肽过氧化物酶; GSH, 还原型谷胱甘肽; GSSG, 氧化型谷胱甘肽; R, 机体内有机物分子; SOD, 超氧化歧化酶^[120]

康的潜在危害及危害程度时, 定量暴露评估是必不可少的。对于食品包装来讲, 定量暴露评估包含两方面的内容, 一方面是指包装材料中化学物质从包装中迁移至食品的迁移量, 另一方面是指对于平均体重的消费者(包括不同年龄阶段的婴幼儿及儿童)来讲, 每日/每周/每月/每年摄入含有智能包装的食品, 且含有待评估化学物质的食品的摄入量^[127]。对于摄食量暴露来说, 由于人均体重、每日/每周/每月/每年食品摄入量涉及复杂的实物分类和数据统计, 因而在本文中不予以介绍; 在迁移量暴露评估中, 系统的方法是采用食品模拟物对智能食品包装中待评估的化学物质进行迁移实验, 然后采用光谱、色谱、质谱等分析技术对其进行定性与定量检测^[128]。

在食品模拟物的选择和利用上, 欧盟指令、美国 FDA 法规以及我国国家标准都有明确的法律法规和标准规范。针对不同类型的食品, 可以采用水、乙酸溶液、乙醇溶液、正己烷/橄榄油以及聚合物多孔微球等食品模拟物进行迁移实验(表 1)^[129-136]。在迁移试验中, 迁移温度、迁移时间、食品与包装材料接触面积、待评估化合物在食品包装中的迁移率及其在模拟物中的溶解度、包装材料的密度等参数都是影响评估化合物迁移量的重要因素。一般来讲, 待评估化合物的迁移率越大、其在模拟物中的溶解度越高、包装食品所处的温度越高、流通时间越长, 食品中所含待评估化合物的浓度就越高^[137-139]。例如, 一项采用高效液相色谱、气相色谱串联质谱和吸收光谱法针对聚苯乙烯和聚砜薄膜中 Pt, Ru 金属配合物型氧指示剂 PtOEPK, PtTFPP 和 RuDPP 的迁移试验表明, 两种 Pt 配合物只在橄榄油和 95%的乙醇溶液中有迁移, 其中, PtOEPK 的最大迁移量为 19.22 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$, PtTFPP 的最大迁移量为 113.96 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$; 而 RuDPP 只在 95%乙醇和 3%的乙酸模拟物中有迁移, 其最大迁移量为 25.19 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$; 另外, 三种金属配合物在聚砜薄膜中

的稳定性要高于聚苯乙烯薄膜, 即 Pt 和 Ru 配合物在聚苯乙烯薄膜中迁移率要高于聚砜薄膜; 对于相同的薄膜基质来说, Ru 配合物的迁移率则要高于 Pt 配合物^[140]。

4 问题与展望

智能食品包装功能的逐步完善和应用的普及推广不仅改变了食品产业链中生产、销售、食用等操作人员 and 消费者对食品包装仅作为容器和提供方便等传统概念的理解, 更重要的是, 智能食品包装的应用能够引导和刺激消费者对包装食品品质和货架期的关注, 为保护消费者自身饮食的健康和间接监督食品生产者提高对食品品质的责任意识起到了积极的作用。从目前智能食品包装指示剂的应用和发展来看, 以化学反应产生的颜色变化这一物理现象作为识别基础的 TTI 和 OI 具有响应快、灵敏度高的特点, 与物理类和生物类指示剂相比具有独特的优势。然而, 由于化学反应受外界环境的影响较大, 因此在实际应用过程中还存在诸多的问题: ①指示剂的稳定性和抗干扰能力需进一步提高。在目前应用的 TTI 和 OI 中, 参与化学反应的起始物质大都为光敏性和热敏性物质, 本身具有一定的寿命, 在正常条件下, 外界自然光和温度都能降低光敏物质和热敏物质的敏感性, 因此以该类物质为基础的 TTI 和 OI 大都应用在需避光和低温贮存、且货架期较短的快速消费食品包装上, 限制了其在更大温度范围和自然条件下的应用^[141]; ②缺乏应用于智能食品包装中智能化学成分全面而有效的毒理学评估。在美国 FDA 法规、欧盟指令及其限制物质使用清单、日本食品卫生法及其肯定列表中, 有关食品包装材料风险管理的条款中都明确规定了任何一种添加于食品包装材料的化学物质都需要进行详细而全面的健

表 1 世界各主要国家和地区法律法规和标准中采用的食品模拟物清单

	水基食品	水基酸性食品	含酒精食品	含脂肪食品	固体食品	参考文献
美国	水	3%乙酸溶液	8%, 25%, 50%乙醇溶液	正庚烷	—	[129, 130]
欧盟	水 (pH>4.5 食品)	3%乙酸溶液 (pH<4.5 食品)	10%, 20%, 50%, 95%乙醇溶液	植物油	聚合物多孔微球 60~80 目	[131, 132, 133]
日本	水 (pH>5.0 食品)	4%乙酸溶液 (pH<5.0 食品)	20%乙醇溶液	正庚烷	—	[134]
中国	水	4%乙酸溶液	20%, 65%乙醇溶液	正己烷	—	[135, 136]

康和环境评估, 以此来确定该化学物质在食品包装材料中添加方式和添加量^[12, 142]; ③如前文所述, 智能食品包装的暴露评估包括迁移暴露量评估和摄入量暴露评估. 必须指出的是, 智能食品包装的暴露评估须在化学物质的毒理学评估之后进行, 在明确其毒理学效应且目前无可替代物质出现的情况下, 暴露评估才具有实际意义. 暴露评估的数据结果对指导和改进智能食品包装中智能化学成分的用量具有指导意义. 在毒理学和暴露评估过程中, 由于应用于智能包装中的化学成分较多, 因此采用化学品毒理学实验和模拟物迁移实验对其进行一对一的评估需要投入巨大的人力与物力, 消耗的时间周期也较长. 为此, 可以采用定量构效关系(QSAR)来预测和评估结构相似度较高的一类化学物质的毒理学效应^[143, 144];

而在暴露评估中, 同样可以根据化学物质结构将其进行分类, 然后在建立的迁移模型基础中, 预测和评估结构相似度较高的一类化学物质的迁移含量^[145].

各种新型光致变色和热致变色化合物的开发和利用, 尤其是近年来光致发光纳米材料和金属纳米材料的出现为完善和提高智能食品包装中 TTI 和 OI 的指示理论和功能提供了众多可供选择的材料基础. 我们有理由相信在获取全面而详细的毒理学和暴露评估的基础上, 智能食品包装能够在更广泛的领域当中应用. 在不远的将来, 智能食品包装与活性食品包装的配合使用, 可以将目前人们被动地提高包装食品品质和货架期的做法转变成包装本身能够智能识别且主动保护和提升食品品质的方式, 为消费者提供更加安全和健康的膳食环境.

参考文献

- Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, et al. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *J Food Sci*, 2003, 68: 408–420
- de Fátima F S N, Pires A C, Camilloto G P, et al. Recent patents on active packaging for food application. *Recent Pat Food Nutr Agric*, 2009, 1: 171–178
- Brody A L, Strupinsky E R, Kline L R. *Active Packaging for Food Applications*. Boca Raton: CRC Press, 2001
- Yam K L, Takhistov P T, Miltz J. Intelligent packaging: Concepts and applications. *J Food Sci*, 2005, 70: R1–R10
- Kerry J, Butler P. *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2008
- De Jong A R, Boumans H, Slaghek T, et al. Active and intelligent packaging for food: Is it the future? *Food Addit Contam*, 2005, 22: 975–979
- Dainelli D, Gontard N, Spyropoulos D, et al. Active and intelligent food packaging: Legal aspects and safety concerns. *Trends Food Sci Tech*, 2008, 19: S103–S112
- Betty A, Bugusu B, Han J H, et al. Innovative food packaging solutions. *J Food Sci*, 2008, 73: R107–R116
- Active, Controlled and Intelligent Packaging for Foods and Beverages. Report, FOD038B. BCC Research LLC, 2008
- Harrington R. Global market for active and intelligent packaging to double by 2021—report. <http://www.foodproductiondaily.com/Packaging/Global-market-for-active-and-intelligent-packaging-to-double-by-2021-report>
- Commission Regulation (EC) No 450/2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. *Official Journal of the European Union*, 2009, L135: 3–11
- Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. *Official Journal of the European Union*, 2004, L338: 4–17
- Maschietti M. Time-Temperature indicators for perishable products. *Recent Patents on Engineering*, 2010, 4: 129–144
- Mills A. Oxygen indicators and intelligent inks for packaging food. *Chem Soc Rev*, 2005, 34: 1003–1011
- Mills A, Skinner G A. Water-based colourimetric optical indicators for the detection of carbon dioxide. *Analyst*, 2010, 135: 1912–1917
- Smolander M, Hurme E, Latva-Kala K, et al. Myoglobin-based indicators for the evaluation of freshness of unmarinated broiler cuts. *Innovative Food Sci Emerging Technol*, 2002, 3: 279–288
- Shimoni E, Anderson E M, Labuza T P. Reliability of time temperature indicators under temperature abuse. *J Food Sci*, 2001, 66: 1337–1340
- Wanihsuksombat C, Hongtrakul V, Suppakul P. Development and characterization of a prototype of a lactic acid-based time-temperature indicator for monitoring food product quality. *J Food Eng*, 2010, 100: 427–434
- Taoukis P S, Koutsoumanis K, Nychas G J E. Use of timetemperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. *Int J Food Microbiol*, 1999, 53: 21–31
- Taoukis P S, Labuza T P. Time-temperature indicators (TTIs). In: Ahvenainen R, ed. *Novel Food Packaging Techniques*. UK: Woodhead Publishing Limited, 2003
- Gou M L, Guo G, Zhang J, et al. Time-temperature chromatic sensor based on polydiacetylene (PDA) vesicle and amphiphilic copolymer. *Sensor Actuat B-Chem*, 2010, 150: 406–411
- Kim J M, Lee Y B, Yang D H, et al. A Polydiacetylene-Based fluorescent sensor chip. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 17580–17581
- Pang J B, Yang L, McCaughey B F, et al. Thermochromatism and structural evolution of metastable polydiacetylenic crystals. *J Phys Chem B*, 2006,

- 110: 7221–7225
- 24 Patel G N, Yee K C. Diacetylene time-temperature indicators. US Patent, Application No.: 4228126
- 25 Patel G N, Preziosi A F, Baughman R H. Time-temperature history indicators. US Patent, Application No.: 3999946
- 26 Patel G N. Co-crystallized acetylenic compounds. US Patent, Application No.: 4189399
- 27 Sun X M, Chen T, Huang S Q, et al. Chromatic polydiacetylene with novel sensitivity. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 4244–4257
- 28 Preziosi A F, Prusik T. Metal complexed acetylenic compounds useful as environmental indicating materials. US Patent, Application No.: 4788151
- 29 Huang X, Jiang S G, Liu M H. Metal ion modulated organization and function of the Langmuir-Blodgett films of amphiphilic diacetylene: photopolymerization, thermochromism, and supramolecular chirality. *J Phys Chem B*, 2005, 109: 114–119
- 30 Kolusheva S, Shahal T, Jelinek R. Cation-Selective color sensors composed of ionophore-phospholipid-polydiacetylene mixed vesicles. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 776–780
- 31 Cheng Q, Stevens R C. Charge-induced chromatic transition of amino acid-derivatized polydiacetylene liposomes. *Langmuir*, 1998, 14: 1974–1976
- 32 Ahn D J, Chae E H, Lee G S, et al. Colorimetric reversibility of polydiacetylene supramolecules having enhanced hydrogen-bonding under thermal and pH stimuli. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 8976–8977
- 33 Jonas U, Shah K, Norvez S, et al. Reversible color switching and unusual solution polymerization of hydrazide-modified diacetylene lipids. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 4580–4588
- 34 Preziosi A F, Prusik T. Acid complexed acetylenic compounds useful as environmental indicating materials. US Patent, Application No.: 4789637
- 35 Ye Q, You X, Zou G, et al. Morphology, structure and chromatic properties of azobenzene-substituted polydiacetylene supramolecular assemblies. *J Mater Chem*, 2008, 18: 2775–2780
- 36 Kreyenschmidt J, Christiansen H, Hübner A, et al. A novel photochromic time-temperature indicator to support cold chain management. *Int J Food Sci Tech*, 2010, 45: 208–215
- 37 Tamai N, Masuhara H. Femtosecond transient absorption spectroscopy of a spirooxazine photochromic reaction. *Chem Phys Lett*, 1992, 191: 189–194
- 38 Wilkinson F, Worrall D R, Hobley J, et al. Picosecond time-resolved spectroscopy of the photocolouration reaction of photochromic naphthoxazine-spiro-indolines. *J Chem Soc Faraday Trans*, 1996, 92: 1331–1336
- 39 Roth J D, Rosenbaum J C. Time-temperature indicators activated with thermal transfer printing and methods for their production. US Patent, Application No.: 6517239B1
- 40 Reichert T, Nisbet T. Color changing indicator. US Patent, Application No.: 2010/0043695A1
- 41 Tenetov E, Salman H, Assous J, et al. Photostabilized time temperature indicator. US Patent, Application No.: 2010/0034961A1
- 42 Dürr H, Bouas-Lament H. Photochromism molecules and systems (revised edition). Amsterdam: Elsevier BY, 2003
- 43 Crano J C, Guglielmetti R J. Organic photochromic and thermochromic compounds, volume 1: main photochromic families in Topics in applied chemistry. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002
- 44 Mudaliar C D, Bahulekar N S, Shanbhag A, et al. Optimized time temperature indicator. US Patent, Application No.: 2011/0217786A1
- 45 Haarer D, Eichen Y. Substrate for packaging perishable goods or for application onto same and method for determining the quality of said goods. US Patent, Application No.: 7081364B1
- 46 Morimitsu K, Shibata K, Kobatake S, et al. Dithienylethenes with a novel photochromic performance. *J Org Chem*, 2002, 67: 4574–4578
- 47 Frank I, Grimme S, Peyerimhoff S D. Quantum chemical investigations of the thermal and photoinduced proton-transfer reactions of 2-(2',4'-dinitrobenzyl)pyridine. *J Phys Chem*, 1996, 100: 16187–16194
- 48 Li X L, Li J L, Wang Y M, et al. Synthesis of functionalized spiropyran and spirooxazine derivatives and their photochromic properties. *J Photochem Photobiol A-Chem*, 2004, 161: 201–213
- 49 Minkin V I, Metelitsa A V, Dorogan I V, et al. Spectroscopic and theoretical evidence for the elusive intermediate of the photoinitiated and thermal rearrangements of photochromic spiropyrans. *J Phys Chem A*, 2005, 109: 9605–9616
- 50 Salman H, Tenetov E, Feiler L, et al. Time-temperature indicator based on oligomeric spiroaromatics. US Patent, Application No.: 2011/0059545A1
- 51 Feiler L, Raimann T. Time temperature indicator comprising indolenin based spiropyrans containing a n-acetylamido or n-acetyloxy side chain. US Patent, Application No.: 2011/0139059A1
- 52 Reichert H, Hügin M, Dügge M, et al. Time temperature indicator comprising indolenin based spiropyrans. US Patent, Application No.: 2011/0269242A1
- 53 Salman H, Tenetov E. Time temperature indicator based on thioalkyl and thioaryl substituted spiroaromatics. US Patent, Application No.: 2011/0287549A1
- 54 Favaro G, Masetti F, Mazzucato U, et al. Photochromism, thermochromism and solvatochromism of some spiro[indolinoxazine]-photomerocyanine systems: effects of structure and solvent. *J Chem Soc Faraday Trans*, 1994, 90: 333–338
- 55 Pottier E, Dubest R, Guglielmetti R, et al. Substituent, heteroatom, and solvent effects on the thermal-bleaching kinetics and absorption spectra of photomerocyanines issued from spiroindoline-oxazines. *Helv Chim Acta*, 1990, 73: 303–315
- 56 Kinashi K, Harada Y, Ueda Y. Thermal stability of merocyanine form in spiropyran/silica composite film. *Thin Solid Films*, 2008, 516: 2532–2536
- 57 Görner H. Photoprocesses in spiropyrans and their merocyanine isomers: Effects of temperature and viscosity. *Chem Phys*, 1997, 222: 315–329
- 58 Paramonov S V, Lokshin V, Fedorova O A. Spiropyran, chromene or spirooxazine ligands: Insights into mutual relations between complexing and photochromic properties. *J Photochem Photobiol C-Photo*, 2011, 12: 209–236

- 59 Kopelman R A, Snyder S M, Frank N L. Tunable photochromism of spirooxazines via metal coordination. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 13684–13685
- 60 Shiraishi Y, Itoh M, Hirai T. Colorimetric response of spiropyran derivative for anions in aqueous or organic media. *Tetrahedron*, 2011, 67: 891–897
- 61 Samoladas A, Bikiaris D, Zorba T, et al. Photochromic behavior of spiropyran in polystyrene and polycaprolactone thin films—effect of UV absorber and antioxidant compound. *Dye Pigment*, 2008, 76: 386–393
- 62 Zhang S G, Zhang Q H, Ye B X, et al. Photochromism of spiropyran in ionic liquids: enhanced fluorescence and delayed thermal reversion. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 6012–6019
- 63 Shin T W, Cho Y S, Huh Y D, et al. Kinetics of thermal bleaching reaction of the photomerocyanine form of spironaphthooxazine. *J Photochem Photobiol A-Chem*, 2000, 137: 163–168
- 64 Tian Z Y, Stairs R A, Wyer M, et al. Spirooxazine to merocyanine interconversion in the presence and absence of zinc: Approach to a bistable photochemical switch. *J Phys Chem A*, 2010, 114: 11900–11909
- 65 di Nunzio M R, Gentili P L, Romani A, et al. Photochromic, thermochromic, and fluorescent spirooxazines and naphthopyrans: A spectrokinetic and thermodynamic study. *Chem Phys Chem*, 2008, 9: 768–775
- 66 di Nunzio M R, Gentili P L, Romani A, et al. Photochromism and thermochromism of some spirooxazines and naphthopyrans in the solid state and in polymeric film. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 6123–6131
- 67 Chibisov A K, Görner H. Photoprocesses in spiropyran-derived merocyanines. *J Phys Chem A*, 1997, 101: 4305–4312
- 68 Favaro G, Mazzucato U, Ortica F, et al. Thermal reversibility and bistability in photochromic diarylethenes. *Inorg Chim Acta*, 2007, 360: 995–999
- 69 Morimitsu K, Shibata K, Kobatake S, et al. Dithienylethenes with a novel photochromic performance. *J Org Chem*, 2002, 67: 4574–4578
- 70 Kawai S, Nakashima T, Atsumi K, et al. Novel photochromic molecules based on 4,5-dithienyl thiazole with fast thermal bleaching rate. *Chem Mater*, 2007, 19: 3479–3483
- 71 Hirose T, Matsuda K, Irie M. Self-assembly of photochromic diarylethenes with amphiphilic side chains: Reversible thermal and photochemical control. *J Org Chem*, 2006, 71: 7499–7508
- 72 Corval A, Kuldová K, Eichen Y, et al. Photochromism and thermochromism driven by intramolecular proton transfer in dinitrobenzylpyridine compounds. *J Phys Chem*, 1996, 100: 19315–19320
- 73 Scherl M, Haarer D, Fischer J, et al. Proton-transfer processes in well-defined media: Experimental investigation of photoinduced and thermal proton-transfer processes in single crystals of 2-(2,4-dinitrobenzyl)pyridine derivatives. *J Phys Chem*, 1996, 100: 16175–16186
- 74 Levy Y, Haarer D. Time-temperature indicator based on valence isomerizations. US Patent, Application No.: 2007/0172951A1
- 75 Pucci A, Bizzarri R, Ruggeri G. Polymer composites with smart optical properties. *Soft Matter*, 2011, 7: 3689–3700
- 76 Crenshaw B R, Weder C. Phase separation of excimer-forming fluorescent dyes and amorphous polymers: a versatile mechanism for sensor applications. *Adv Mater*, 2005, 17: 1471–1476
- 77 Weder C, Kinami M, Crenshaw B. Time-temperature indicators. US Patent, Application No.: 2007/0158624A1
- 78 Crenshaw B R, Kunzelman J, Sing C E, et al. Threshold temperature sensors with tunable properties. *Macromol Chem Phys*, 2007, 208: 572–580
- 79 Kinami M, Crenshaw B R, Weder C. Polyesters with built-in threshold temperature and deformation sensors. *Chem Mater*, 2006, 18: 946–955
- 80 Sing C E. Photoluminescent Dye and Polymer Blends as Tunable Time-temperature Indicators. Dissertation of Masteral Degree. Cleveland: Case Western Reserve University, 2009
- 81 Ram A T, Manico J A, Gisser K R, et al. Time and temperature integrating indicator device. US Patent, Application No.: 6103351
- 82 Zeng J, Roberts S, Xia Y N. Nanocrystal-based time-temperature indicators. *Chem Eur J*, 2010, 16: 12559–12563
- 83 Pérez-Luna V H, Betala P A. Nanoparticle based thermal history indicators. US Patent, Application No.: 8033715B2
- 84 Papkovsky D B. Sensors for food safety and security. In: Baldini F, Chester A N, Homola J, et al., eds. *Optical Chemical Sensors (NATO Science Series)*. Dordrecht: Springer, 2004
- 85 Ahvenainen R, Eilamo M, Hurme E. Detection of improper sealing and quality deterioration of modified-atmosphere-packed pizza by a colour indicator. *Food Control*, 1997, 8: 177–184
- 86 Klimant I, Wolfbeis O S. Oxygen-sensitive luminescent materials based on silicone-soluble ruthenium diimine complexes. *Anal Chem*, 1995, 67: 3160–3166
- 87 Wang X D, Chen H X, Zhao Y, et al. Optical oxygen sensors move towards colorimetric determination. *Trac-Trend Anal Chem*, 2010, 29: 319–338
- 88 Mills A. Oxygen indicators in food packaging. In: Baraton M I, ed. *Sensors for Environment, Health and Security, Advanced Materials and Technologies (NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security)*. Dordrecht: Springer, 2007
- 89 Mills A. Oxygen indicators and intelligent inks for packaging food. *Chem Soc Rev*, 2005, 34: 1003–1011
- 90 Mills A. Optical oxygen sensors, utilising the luminescence of platinum metals complexes. *Platinum Metals Rev*, 1997, 41: 115–127
- 91 ASTM Standard F 2714-2008 Standard test method for oxygen headspace analysis of packages using fluorescent decay. West Conshohocken: American Society for Testing and Materials, 2008
- 92 Zhang Z J, Seitz W R. Optical sensor for oxygen based on immobilized Hemoglobin. *Anal Chem*, 1986, 58: 220–222
- 93 Chung K E, Lan E H, Davidrron M S, et al. Measurement of dissolved oxygen in water using glass-encapsulated Myoglobin. *Anal Chem*, 1995, 67: 1505–1509
- 94 Eaton K. A novel colorimetric oxygen sensor dye redox chemistry in a thin polymer film. *Sensor Actuator B-Chem*, 2002, 85: 42–51

- 95 Yoshikawa Y, Nawata T, Goto M, et al. Oxygen indicator. US Patent, Application No.: 4169811
- 96 Hurme E, Sipiläinen-Malm T. Oxygen indicator. US Patent, Application No.: 2011/0136238A1
- 97 Adamčíková L, Pavlíková K, Ševčík P. The methylene blue-D-glucose-O₂ system. Oxidation of D-glucose by methylene blue in the presence and the absence of oxygen. *Int J Chem Kinet*, 1999, 31: 463–468
- 98 Mills A, Hazafy D. A solvent-based intelligence ink for oxygen. *Analyst*, 2008, 133: 213–218
- 99 Lee S K, Mills A, Lepre A. An intelligence ink for oxygen. *Chem Commun*, 2004, 1912–1913
- 100 Mills A, Tommons C, Bailey R T, et al. UV-activated luminescence/colourimetric O₂ indicator. *Int J Photoenergy*, 2008, 14–19
- 101 Lee S K, Sheridan M, Mills A. Novel UV-activated colorimetric oxygen indicator. *Chem Mater*, 2005, 17: 2744–2751
- 102 Mills A, Hazafy D, Lawrie K. Novel photocatalyst-based colourimetric indicator for oxygen. *Catal Today*, 2011, 161: 59–63
- 103 Mills A, Hazafy D. Nanocrystalline SnO₂-based, UVB-activated, colourimetric oxygen indicator. *Sensor Actuator B-Chem*, 2009, 136: 344–349
- 104 Mills A, Lawrie K. Novel photocatalyst-based colourimetric indicator for oxygen: Use of a platinum catalyst for controlling response times. *Sensor Actuator B-Chem*, 2011, 157: 600–605
- 105 Ozakia A, Yamaguchi Y, Fujita T, et al. Chemical analysis and genotoxicological safety assessment of paper and paperboard used for food packaging. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42: 1323–1337
- 106 Ozakia A, Yamaguchi Y, Fujita T, et al. Safety assessment of paper and board food packaging: chemical analysis and genotoxicity of possible contaminants in packaging. *Food Addit Contam*, 2005, 22: 1053–1060
- 107 Christensen L P. Bioactivity of polyacetylenes in food plants. In: Watson R R, Preedy V R, eds. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. London: Elsevier Academic Press, 2010
- 108 Wittstock U, Hadacek F, Wurz G, et al. Polyacetylenes from water hemlock *cicuta virosa*. *Planta Med*, 1995, 61: 439–445
- 109 Wittstock U, Lichtnow K H, Teuscher E. Effects of cicutoxin and related polyacetylenes from *cicuta virosa* on neuronal action potentials: A comparative study on the mechanism of the convulsive action. *Planta Med*, 1997, 63: 120–124
- 110 Uwai K, Ohashi K, Takaya Y, et al. Exploring the structural basis of neurotoxicity in C₁₇-polyacetylenes isolated from water hemlock. *J Med Chem*, 2000, 43: 4508–4515
- 111 Matsunaga H, Katano M, Yamamoto H, et al. Cytotoxic activity of poly-acetylene compounds in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Chem Pharm Bull Tokyo*, 1990, 38: 3480–3482
- 112 Shim S C, Koh H Y, Han B H. Polyacetylene compounds from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Bull Kor Chem Soc*, 1983, 4: 183–188
- 113 Fujimoto Y, Satoh M. A new cytotoxic chlorine-containing polyacetylene from the callus of *Panax ginseng*. *Chem Pharm Bull Tokyo*, 1988, 36: 4206–4208
- 114 Ahn B Z, Kim S I. Beziehung zwischen struktur und cytotoxischer aktivität von panaxydol-analogen gegen L1210 zellen. *Arch Pharm*, 1988, 321: 61–63
- 115 Matsunaga H, Katano M, Yamamoto H, et al. Studies on the panaxytriol of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Isolation, determination and antitumor activity. *Chem Pharm Bull Tokyo*, 1989, 37: 1279–1281
- 116 Movia D, Prina-Mello A, Volkov Y, et al. Determination of spiropyran cytotoxicity by high content screening and analysis for safe application in bionanosensing. *Chem Res Toxicol*, 2010, 23: 1459–1466
- 117 Sills M R, Zinkham W H. Methylene blue-induced heinz body hemolytic anemia. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 1994, 148: 306–310
- 118 Clifton I I J, Leikin J B. Methylene blue. *American Journal of Therapeutics*, 2003, 10: 289–291
- 119 Albert M, Lessin M S, Gilchrist B F. Methylene blue: dangerous dye for neonates. *J Pediatr Surg*, 2003, 38: 1244–1245
- 120 Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 2005, 113: 823–840
- 121 Johnston H J, Hutchison G, Christensen F M, et al. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Crit Rev Toxicol*, 2010, 40: 328–346
- 122 Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, et al. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C₆₀) as potential medicines: O₂^{•-} versus ¹O₂. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 12803–12809
- 123 Teodoro J S, Simões A M, Duarte F V, et al. Assessment of the toxicity of silver nanoparticles in vitro: a mitochondrial perspective. *Toxicol Vitro*, 2011, 25: 664–670
- 124 Sharma V K. Aggregation and toxicity of titanium dioxide nanoparticles in aquatic environment—a review. *J Environ Sci Health A*, 2009, 44: 1485–1495
- 125 Bhattacharya K, Davoren M, Boertz J, et al. Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 2009, 6: 17–28
- 126 Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, et al. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Res*, 2009, 69: 8784–8789
- 127 Poças M F, Hogg T. Exposure assessment of chemicals from packaging materials in foods: a review. *Trends Food Sci Technol*, 2007, 18: 219–230
- 128 Tittlemier S A, Pepper K, Seymour C, et al. Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 3203–3210
- 129 Code of Federal Regulations Title 21—Food and Drugs Chapter I—Food and Drug Administration Department of Health and Human Services Subchapter B—Food for Human Consumption (continued) Part 176 Indirect Food Additives: Paper and Paperboard Components

- 130 Code of Federal Regulations Title 21—Food and Drugs Chapter I—Food and Drug Administration Department of Health and Human Services Subchapter B—Food for Human Consumption (continued) Part 177 Indirect Food Additives: Polymers
- 131 Commission Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. Official Journal of the European Union, 2011, L12: 1–89
- 132 Council Directive laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Office for Official Publications of the European Communities, 1982, L0711: 1–10
- 133 Council Directive laying down the list of simulants to be used for testing migration of constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Official Journal of the European Communities, 1985, L372: 14–21
- 134 Specifications, standards and testing methods for foodstuffs, implements, containers and packaging, toys, detergents 2008. Japan External Trade Organization, 2009
- 135 中华人民共和国国家标准 GB 9685-2008 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准. 北京: 中国标准出版社, 2008
- 136 中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.156-2003 食品用包装材料及其制品的浸泡试验方法通则. 北京: 中国标准出版社, 2003
- 137 Munguia-Lopez E M, Soto-Valdez H. Effect of heat processing and storage time on migration of bisphenol A (BPA) and bisphenol A–diglycidyl ether (BADGE) to aqueous food simulant from mexican can coatings. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 3666–3671
- 138 Arvanitoyannis I S, Bosnea L. Migration of substances from food packaging materials to foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44: 63–76
- 139 Triantafyllou V I, Akrida-Demertzi K, Demertzis P G. A study on the migration of organic pollutants from recycled paperboard packaging materials to solid food matrices. *Food Chem*, 2007, 101: 1759–1768
- 140 O’Riordan T C, Voraberger H, Kerry J P, et al. Study of migration of active components of phosphorescent oxygen sensors for food packaging applications. *Anal Chim Acta*, 2005, 530: 135–141
- 141 Kerry J P, O’Grady M N, Hogan S A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. *Meat Sci*, 2006, 74: 113–130
- 142 Begley T H. Methods and approaches used by FDA to evaluate the safety of food packaging materials. *Food Addit Contam*, 1997, 14: 545–553
- 143 Arvidson K B, Chanderbhan R, Muldoon-Jacobs K, et al. Regulatory use of computational toxicology tools and databases at the United States Food and Drug Administration’s Office of Food Additive Safety. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2010, 6: 793–796
- 144 Matthews E J, Kruhlak N L, Benz R D, et al. Assessment of the health effects of chemicals in humans: I. QSAR estimation of the maximum recommended therapeutic dose (MRTD) and no effect level (NOEL) of organic chemicals based on clinical trial data. *Current Drug Discovery Technologies*, 2004, 1: 61–76
- 145 Lambe J. The use of food consumption data in assessments of exposure to food chemicals including the application of probabilistic modelling. *Proc Nutr Soc-Engl Scot*, 2002, 61: 11–18