تأثير التغليف بأغشية كربوكسي مثيل سيليلوز وكربوكسي مثيل سيليلوز النانوية المعززة بمستخلص ثمار التوت (*Morus rubra L.*) في بعض خصائص لحوم الابقار المحفوظة بالتبريد

كاظم حسن عبد السيد* [(1)] والاء غازي الهاشمي [(1)] وكريمة مجيد زيدان [(2)]

(1). قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.

(2). قسم الفيزياء، كلية العلوم جامعة البصرة، العراق.

(* للمراسلة: م. كاظم حسن عبد السيد، البريد الإلكتروني: kadem.hassan22@gmail.com)

تاريخ الاستلام:2022/12/20 تاريخ القبول:11 /2023/02

الملخص

نفذ العمل في مختبرات قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة لدراسة تأثير مستخلص الأنثوسيانين من ثمار التوت (*Morus rubra* L.) في الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للأغشية الحيوية القابلة للأكل القائمة على كربوكسي مثيل سيليلوز (CMC) أو كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية (NCMC) وتأثير التغليف بالأغشية في خصائص شرائح اللحم البقري المحفوظة بالتبريد. بينت النتائج ان التوزيع التراكمي لأبعاد جزيئات NCMC كانت (40–300) نانومتر، وأظهرت النتائج زيادة فعالية الأغشية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات مع زيادة تركيز المستخلص وسجل غشاء NCMC3M أعلى فعالية مضادة للأكسدة بلغت 40.43% وأعلى قطر تثبيط 20.43 ملم تجاه بكتيريا *Staphylococcus aureus*، وكان الغشاء النانوي النشط أقل نفاذية للضوء مقارنة بأغشية السليلوز الأخرى مع أعلى درجة للعتامة وبلغت 2.363، سجلت شرائح اللحم البقري المغلفة بأغشية NCMC3M أقل القيم للرقم الهيدروجيني (PH) وقيم الثايوباربيوترك (TBA) ورقم البيروكسيد (PV) وكانت 6.15 و1.95 ملغم مالون الديهايد كغم$^{-1}$ لحم و4.60 ملي مكافئ O_2/كغم زيت على التوالي، ويمكن الاستنتاج ان أغشية NCMC3M النشطة تزيد من العمر الافتراضي لشرائح اللحم المحفوظة بالتبريد حتى 12 يوما من الخزن.

الكلمات المفتاحية: غشاء، كربوكسي مثيل سيليلوز، النانوي، الأنثوسيانين، مضادة للأكسدة، مضادة للميكروبات.

المقدمة

يعد كربوكسي مثيل السيللوز (CMC) من أهم مشتقات السيليلوز الذائبة بالماء وهو من السكريات المتعددة ذات السلسلة المستقيمة من وحدات الكلوكوز مع ملح الصوديوم لمجاميع الكربوكسي مثيل إيثر (–O–CH2–COO–Na+)، وهو غير سام وعديم الطعم والرائحة ومن المصادر الرئيسية في تحضير الأغشية الحيوية (Bono *et al*., 2009 and Gupta *et al*., 2020). إن الأغشية القائمة على السيليلوز أو مشتقاته غالباً ما تكون غير ملبية للتطبيقات العملية لحفظ الأغذية، لذا زاد الاهتمام بالسليلوز النانوي كمضافات لتحسين خواص الطلاءات والأغشية القابلة للأكل وذلك بسبب المساحة السطحية العالية والخواص الميكانيكية والفيزيائية للأغشية وزيادة فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات (Jannatyha *et al*., 2020; Zhang *et al*., 2021). تعرف

الأغشية النانوية النشطة بانها أغشية تحتوي على مواد نانوية اما ان تكون بوليمرات أو جزيئات أو مركبات نانوية يتم إدخالها في مصفوفة البوليمر، استُخدمتْ العديد من البوليمرات الحيوية النانوية في صناعة الأغشية الحيوية القابلة للأكل في تغليف المنتجات الغذائية (Bahrami Feridoni and Khademi Shurmasti, 2020; Cao *et al*., 2020). ويهدف تغليف الأغذية بالأغشية القائمة على البوليمرات النانوية الى تحسين الخصائص الفيزيائية والميكانيكية الحجزية للأغشية من جهة وزيادة فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات من جهة أخرى بهدف إطالة فترة صلاحية المنتجات الغذائية (Kumar et al., 2021).

تحضر جزيئات الكربوكسي مثيل سيليلوز النانوية Carboxymethyl cellulose nanoparticles (NCMC) بأبعاد أقل من 100 نانومتر عن طريق التحلل الحامضي لجزيئات السيليلوز وانتاج جزيئات السليلوز النانوية ثم معاملتها مع 15% من هيدروكسيد الصوديوم NaOH ومحلول monochloroacetic acid لإنتاج جزيئات كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية والتي تتميز بخواص فريدة مقارنةً بجزيئاتها في الحجم الطبيعي (Kadry, 2019).

ينتمي التوت *Morus rubra* L. الى العائلة التوتية Moraceae ينمو في مناطق واسعة من قارة اسيا ودول اليونان وتركيا والهند، تمتاز بمحتواها العالي من الفلافونيدات، وازداد الإهتمام بثمار التوت لاكتشاف العديد من الفوائد الصحية للمستهلك عند تناوله وبالأخص المضادة للأكسدة والميكروبات وتخفيف الالتهابات والحد من أمراض القلب وتصلب الشرايين (Chan *et al*., 2016). تعمل مستخلصات الأنثوسيانين من التوت الأسود (*Morus nigra* L.) كمواد محسنة للخصائص المضادة للأكسدة، وان زيادة الفعالية المضادة للأكسدة ترجع الى إن هذه المستخلصات تعمل على حجب الأشعةِ فوق البنفسجية وإطلاق المركبات النشطة بيولوجياً والمضادة للأكسدة، ويمكن إستخدام الأغشية النشطة كبديلاً جيداً في أنظمة تغليف الأغذية (Sganzerla *et al*., 2021; Fernández-Marín *et al*., 2022).

إن أكسدة الدهون من أهم المشاكل الرئيسية لتلف اللحوم ومنتجاتها أثناء عمليات التصنيع والتعبئة والتوزيع، لذا نالت العبوات النشطة اهتماماً كبيراً كبديل لعبوات الحفظ التقليدية بهدف زيادة فترة حفظ هذه المنتجات (Domínguez *et al*., 2018). ويعد الضوء والأشعة فوق البنفسجية من أهم الاسباب لحدوث الأكسدة، وان قابلية الأغشية النشطة على حجز الضوء يعتبر من الصفات المرغوبة سبب هيكل الانثوسيانين ووفرة الحلقات العطرية في تركيبها والتي تؤدي الى امتصاص الاشعة فوق البنفسجية (Peralta *et al*., 2019; Ma *et al*., 2018). تنخفض نفاذية الضوء والأشعة فوق البنفسجية وتزداد درجة العتامة عند الاطوال الموجية من 250 الى 750 نانومتر بإضافة مستخلصات الأنثوسيانين للأغشية الحيوية النشطة والذي قد يكون بسبب امتصاص الضوء من الحلقات العطرية للانثوسيانين(Fernández-Marín *et al*., 2022). وان الأنثوسيانينات من المركبات المانحة للهيدروجين والماسكة للأيونات المعدنية (De Oliveira Filho *et al*., 2021; He and Giusti 2010; Smaoui *et al*., 2019).

أوضحت العديد من الدراسات فعالية الأنثوسيانين في الحد من نمو الأحياء المجهرية المسببة للأمراض وتلف الأغذية وأظهرت الأغشية النشطة والقابلة للتحلل الحيوي مع مستخلصات الأنثوسيانين فعالية عالية ضد العديد من البكتيريا المرضية (Qin *et al*., 2019; Wu *et al*., 2020; Zhang *et al*., 2019b; Li *et al*., 2022). ونظراً لقلة الدراسات المتعلقة بتأثير الأغشية النشطة القائمة على جزيئات كربوكسي مثيل سليلوز النانوية، هدفت الدراسة الحالية الى دراسة تحضير أغشية قائمة على جزيئات كربوكسي مثيل سليلوز النانوية مع مستخلصات الأنثوسيانين ودراسة تأثير التغليف في بعض خواص شرائح لحوم الابقار المحفوظة بالتبريد.

مواد البحث وطرائقه

تم الحصول على قشور الرز (Rice husks) صنف الياسمين من المطحنة المحلية في محافظة ذي قار، إذ تم تنظيفها وحفظها في أكياس من البولي اثيلين على درجة حرارة 4 م. تم الحصول على ثمار التوت الطازجة واللحم البقري (منطقة الفخذ) من الأسواق المحلية في محافظة البصرة وقطع اللحم البقري بطول 5سم وارتفاع 2سم.

تحضير كربوكسي مثيل سيليلوز وكربوكسي مثيل سيليلوز النانوي

– اسُتخلص السليلوز من قشور الرز بحسب الطريقة الموصوفة من قبل Lu and Hsieh (2012). أضيف 30 غم من قشور الرز الى 450 مل من خليط من التلوين والايثانول بنسبة 2: 1 لمدة 20 ساعة مع التحريك، بعدها رشحت باستخدام ورق ترشيح ثم جففت على 70م لمدة 24 ساعة، بعدها وضع الناتج في 1000 مل من محلول هيبوكلورات الصوديوم NaOCI2 1.4% (وزن/ حجم) وعدل الرقم الهيدروجيني الى 4 وسخن الى 70 مْ لمدة 5 ساعات وبعد تحول اللون الى الأصفر غسل الناتج بالماء المقطر عدة مرات الى ان اصبح الراشح متعادلا وجفف على درجة 70م لمدة 24 ساعة للحصول على (Hemicellulose and silica)ثم وضع الناتج في 600 مل من محلول KOH 5% مع التحريك ولمدة 24 ساعة ثم سخن على 90 مْ لمدة ساعتان، طرد مركزياً عند 4000 دورة / الدقيقة لمدة 20 دقيقة ثم غسل الناتج بكمية كافية من الماء المقطر حتى وصل الراشح الى التعادل وجفف على 100 مْ لحين ثبات الوزن للحصول على السيليلوز (C).

–حضر السيليلوز النانوي بطريقة التحلل الحامضي وحسب طريقة Phanthong *et al.* (2016) والموجات فوق الصوتية (Nasri-Nasrabadi *et al.* 2014). أضيف 10غرام من السليلوز الى 90 مل من 47٪ حامض الكبريتيك (9 مل حامض/ غم من السليلوز) وسخن إلى 45 مْ مع التقليب لمدة 90 دقيقة، ثم أُجريَّ الطرد المركزي (8000 دورة/ الدقيقة) لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 10 مْ. تكررت عملية الطرد المركزي ثلاث مرات. بعد ذلك، وضع الناتج في أكياس ديلزة (12–14 كيلودالتن) ووضعت في الماء المقطر للوصول الى الرقم الهيدروجيني المتعادل، تم عُرِضَ عالق السليلوز للموجات فوق الصوتية (400 واط و20 كيلو هيرتز) لمدة 30 دقيقة، تم وُضِعتْ العينات في التجميد عند –20 مْ وجُفدتْ باستخدام جهاز المجفف بالتجميد freeze-dryer للحصول على مسحوق السليلوز النانوي.

–حُضِرَ كربوكسي مثيل سيليلوز (CMC) من السيليلوز وحضر كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي (NCMC) من السيليلوز النانوي (NC) وفقا للطريقة الموصوفة من قبل Jeddi and Mahkam (2019) وبخطوتين:

1– الالكلة Alkalization pretreatment: وزن 2غم من السيليلوز والسيليلوز النانوي وأضيف اليه 150 مل من الايزوبروبانول ومزج على مازج مغناطيسي (500 دورة/ دقيقة) بعدها أضيف 20 مل من NaOH 20% نقطة نقطة خلال ساعة واحدة على 10 مْ ثم مزج لمدة 2 ساعة إضافية.

2 – تفاعل الأيثرة Etherification reaction: أضيف 3.5 غم من monochloroacetic acid الى الخليط ثم سُخِنَ الى 70م مع التحريك لمدة 4 ساعات وبعد انتهاء مدة التفاعل أضيف 200 مل من محلول الايثانول ثم عدل الرقم الهيدروجيني الى (6-8) باستخدام حامض الخليك ثم استبعد الراشح وغسل الناتج ثلاث مرات بمحلول الايثانول ثم جفف الناتج على 40 مْ لمدة 24 ساعة.

استخلاص الأنثوسيانينات Extraction of anthocyanin

تم استخلاص الأنثوسيانين من ثمار التوت وفقا للطريقة التي وصفها AlHussainy (2010)، وزن 30 غم من ثمار التوت (M) mulberry fruits وأضيف اليه 100 مل من الميثانول المحمض (85 مل من الميثانول +15 مل من حمض الخليك 1 ٪).

ومزجت لمدة 24 ساعة، بعيدًا عن الضوء ثم رشحت وغسل الراسب بالميثانول المحمض حتى يصبح اللون باهتاً. رُكِزَ المستخلص تحت التفريغ باستخدام المبخر الدوار Vaccum Rotary Evaporator وعلى 40 مْ وتم الاحتفاظ به تحت التجميد في عبوات بلاستيكية معتمة.

تحضير أغشية CMC وNCMC البسيطة والنشطة

حُضِرتْ الأغشية البسيطة والنشطة حسب Yong *et al*. (2019) مع اجراء بعض التحويرات، وأُذيبَ 2غم من كربوكسي مثيل سيليلوز وكربوكسي مثيل سيليلوز النانوي في 100 مل من الماء المقطر، ووُضِعتْ المحاليل على مازج مغناطيسي وعُرضتْ للموجات فوق الصوتية لمدة 20 دقيقة، أضيف 0.8 مل (40% من وزن مادة الغشاء) من الكليسيرول كملدن ومزجت لمدة ساعة، وأضيف 0.06 غم (3% من وزن مادة الغشاء) من السيليلوز النانوي لمحلول عشاء كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي لتحضير أغشية NCMC، بعدها عرضت المحاليل للموجات فوق الصوتية لمدة 20 دقيقة لإزالة الفقاعات, أضيفت الأنثوسيانين المستخلص من ثمار التوت بنسبة 1 و2 و3% من وزن مادة غشاء CMC وNCMC لتحضير الأغشية النشطة CMC1M وCMC2M وCMC3M والأغشية النانوية النشطة NCMC1M وNCMC2M وNCMC3M على التوالي، مزجت مرةً اخرى لمدة ساعة واحدة، صب 18 مل من المحلول في أطباق زجاجية بقطر 9 سم تركت لمدة 48 ساعة لتجف على درجة حرارة المختبر، بعدها نزعت من الاطباق ووضعت في مجفف زجاجي Desiccator مكيفة الى رطوبة نسبية 55±1 يحتوي على محلول بروميد الصوديوم المشبع في قاع المجففة وعند درجة حرارة الغرفة 23 – 25 م ولمدة 48 ساعة.

تشخيص جزيئات NCMC باستخدام مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopy (AFM)

تمت حسب Safer *et al*., (2019) مع اجراء بعض التحويرات، حضر عالق البوليمرات النانوية بتركيز 1% ثم عرضت للموجات فوق الصوتية على 100 واط لمدة 10 دقائق وضعت بضع قطرات من العالق على سطح شرائح زجاجية وتركت لتجف ثم وضعت في الجهاز وتم التقاط الصور مباشرةً منها.

دراسة خصائص الأغشية

– تم قياس **نفاذية الضوء للأغشية** على أطوال موجية مختلفة (350 –800 نانومتر) وتم قياس درجة العتمة للأغشية عند الطول الموجي 600 نانومتر حسب طريقة Niroomand *et al*. (2016).

– تم قياس **الفعالية المضادة للأكسدة للأغشية** البسيطة والنشطة بإتباع الطريقة الموصوفة من قبل Wang *et al*. (2019) باستخدام الجذر الحر DPPH (2,2 -diphenyl 1,1-picryl hydrazyl). وذلك بأخذ 50 ملغم من الأغشية وذوبت في 4 مل محلول (DPPH في الميثانول تركيزه 100 µM) حضن في مكان مظلم على درجة 25 م لمدة 60 دقيقة، بعدها قيست الامتصاصية على طول موجي 517nm وحسبت امكانية اخماد الجذور الحرة كما يلي: –

$$\text{الفعالية المضادة للأكسدة\%} = \frac{\text{قراءة الامتصاصية للعينة الضابطة} - \text{قراءة الامتصاصية للنموذج}}{\text{قراءة الامتصاصية للعينة الضابطة}} \times 100$$

– قُدرت **الفعالية المضادة للأحياء المجهرية** بحسب الطريقة التي اتبعها Dashipour *et al*. (2014)، اختبرت عدة أنواع من العزلات البكتيرية تم الحصول عليها من جامعة البصرة / كلية العلوم /قسم البيئة *Esherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Bacillus cereus* و *Klebsiella pneumonia*.

تغليف قطع اللحوم

قُطعت شرائح لحم البقر الى قطع صغيرة بطول 5 سم وارتفاع 2 سم، بعدما قُسِّمتْ الى خمسة مجاميع وبطريقة عشوائية إذ غلفت القطع بأنواع الأغشية المختلفة لتكوين خمسة معاملات وهي عينات بدون تغليف (T0)، عينات مغلفة بغلاف CMC (T1)، عينات مغلفة بغلاف كربوكسي مثيل سيليلوز النشط مع 3% من مستخلص الأنثوسيانين من ثمار التوت CMC3M (T2)، عينات مغلفة بغلاف NCMC (T3)، عينات مغلفة بغلاف كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي مع 3% مستخلص أنثوسيانين التوت NCMC3M (T4) ثم حفظت في الثلاجة (1-+5م) اجريت الفحوصات الفيزيوكيميائية على فترات مختلفة الحفظ بالتبريد للمدد (0 و4 و8 و12) يوم

– تم قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات المحفوظة بالتبريد للمدد باستخدام PH meter وذلك بأخذ 10 غم من العينة فرمت جيدا وخلطت مع 20 مل ماء مقطر وتم اخذ القياس بعد 5 دقائق.

– قُدرَتْ قيمة البيروكسيد **Peroxide Value (P.V)** للنماذج المغلفة وغير المغلفة والمحفوظة بالتبريد حسب الطريقة الموصوفة من قبل Maghami *et al*. (2019) مع اجراء بعض التحويرات، مزج 20 غم من العينة مع خليط مكون من الكلوروفورم والميثانول وبنسبة (2:1، حجم/حجم)، سحبت طبقة الكلوروفورم وتم تبخير المذيب، أضيف خليط من الكلوروفورم وحامض الخليك بنسبة 3:2 و0.5 مل من محلول يوديد البوتاسيوم المشبع Potassium Iodide، ونقل الى مكان مظلم لمدة 5 دقائق ثم أضيف 50 مل من الماء المقطر ومزج الخليط بصورة جيدة. ثم وضع 0.5 مل من دليل النشأ (1%) ثم سحح الخليط مع محلول ثايوسلفات الصوديوم بتركيز 0.01N لحين اختفاء اللون وحسبت قيمة البيروكسيد (P.V) حسب المعادلة الأتية:

$$\text{قيمة البيروكسيد (ملي مكافئ/كغم)} = \frac{\text{حجم ثايوسلفات الصوديوم (ملم)} \times 0.01}{\text{وزن العينة (غم)}} \times 1000$$

– **قُدرَتْ قيمة حامض الثايوباربيوترك Thiobarbituric acid value (TBA)** حسب الطريقة الموصوفة من قبل Egan *et al*. (1988) بنقع 10 غرام من اللحم البقري مع 47.5 مل من ماء مقطر بعدها أضيف 2.5 مل من المحلول 4 عياري حامض HCl واكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر ثم وضع على مسخن كهربائي لمدة 5 دقائق وبعدها رشحت العينة واخذ 5 مل من الراشح ومزج مع 5 مل من محلول TBA (المحضر بإذابة 0.2883 غم في 100 مل من 90% حامض الخليك الثلجي) وضعت الانابيب في حمام مائي مغلي مده 30 الى 35 دقيقة وقيست الامتصاصية على الطول موجي 532 نانومتر وحسب رقم TBA وفق المعادلة التالية:

TBA ملغم مالون الدهايد/ كغم عينة = الامتصاصية× 7.8

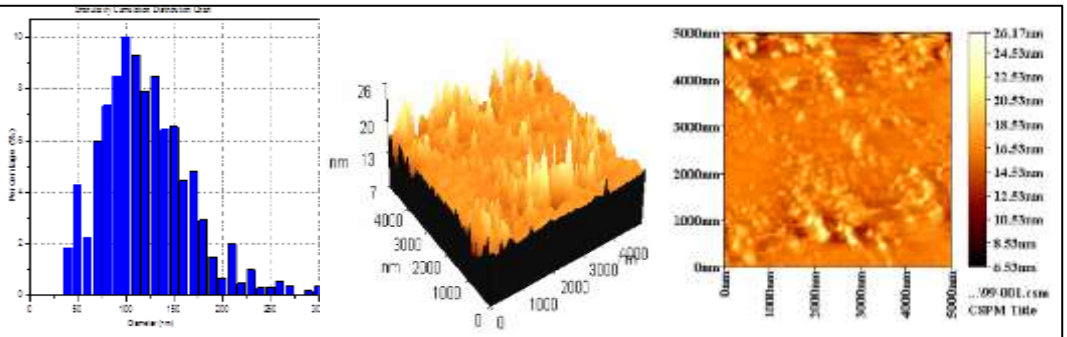
التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم تحليل البيانات إحصائياً وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS (2018)، وأخذت فروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى معنوية 0.05، وكررت كل تجربة ثلاث مرات.

النتائج والمناقشة

يوضح الشكل (1) صور مجهر القوة الذرية AFM لجزيئات كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية وتضاريس سطح الأغشية، يلاحظ ان المعدل التراكمي لأبعاد جزيئات CMC النانوية بحدود (40–300 نانومتر). ويوضح الشكل تضاريس سطح غشاء CMC النانوي

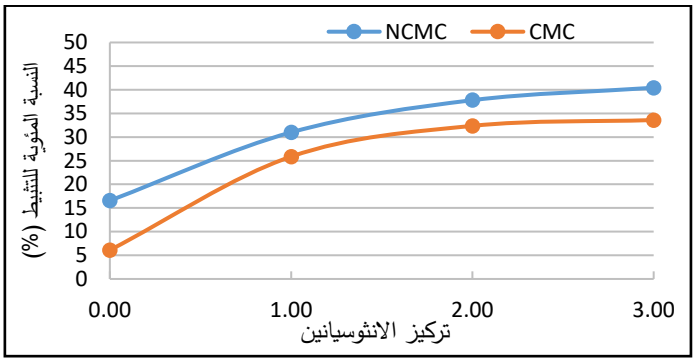
اذ كان معدل الخشونة Roughness average 0.906 نانومتر. وكانت النتائج متفقة مع ما بينه Jeddi and Mahkam (2019) الذي حضر جزيئات كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية من جزيئات السيليلوز النانوية وقد كانت بحدود (50– 350) نانومتر. وان ارتفاع معدل أبعاد الجزيئات النانوية قد يعود الى خاصية التجميع للبوليمرات وخاصة في مرحلة التجفيف بالتجميد freeze-drying اذ بين Lu and Hsieh (2012) انه يمكن ان تتجمع بلورات السيليلوز النانوية بصورة ذاتية بسبب تكوين الأواصر الهيدروجينية بين الجزيئات.



شكل (1) التشخيص والتوزيع التراكمي لجزيئات كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية باستخدام جهاز AFM

فعالية الأغشية المضادة للأكسدة

تعد إطالة فترة حفظ الأغذية والحد من مسببات الاكسدة والتلف الميكروبي من أهم الأسباب لاستعمال الاغلفة النشطة والتي يمكن تحقيقها من خلال إضافة المستخلصات الغنية الأنثوسيانينات وإنتاج أغلفة نشطة قابلة للتحلل الحيوي وصديقة للبيئة وبكلف منخفضة مقارنة بالأغلفة الصناعية (Mushtaq *et al*., 2018; Fernández-Marín *et al*., 2022). يبين الشكل (2) زيادة الفعالية للأغشية النشطة مع زيادة تركيز مستخلصات الأنثوسيانينات المضافة، وإن أعلى فعالية مضادة للأكسدة كانت للأغشية النشطة المحضرة بإضافة 3% من مستخلصات الأنثوسيانين لثمار التوت والتي سجلت 33.60% و40.43% لغشاء CMCM وغشاء NCMCM على التوالي، ويلاحظ إرتفاع الفعالية المضادة للأكسدة لأغشية NCMC النشطة مقارنة بأغشية CMCM النشطة، كانت النتائج متوافقة مع Ezati *et al*. (2020) الذي بين انخفاض الفعالية المضادة للأكسدة للغشاء السليلوزي البسيط والتي بلغت 10.2% مقارنة بغشاء السليلوزي النانوي والتي بلغت 32.5% والتي يعزى الى المساحة السطحية العالية للسيليلوز النانوي وزيادة مجاميع الهيدروكسيل المتاحة والتي يمكن ان تعمل على اخماد الجذور الحرة من خلال منح الالكترونات. توافقت النتائج مع العديد من الباحثين (Kurek *et al*., 2018; Qin *et al*., 2019; Wu *et al*., 2020; Sganzerla *et al*., 2021; Roy *et al*., 2021) الذين وجدوا زيادة الفعالية المضادة للأكسدة للأغشية النشطة المحضرة من إضافة مستخلصات الأنثوسيانين من مصادر متعددة لأغشية البوليمرات الحيوية والتي تسهم في الحد من تفاعلات الأكسدة في الأغذية بسبب احتوائها على الحلقات الفينولية ومجاميع الهيدروكسيل المتعددة التي تعمل كعامل مختزل أو مانح للهيدروجين أو عامل مسك الأيونات المعدنية.

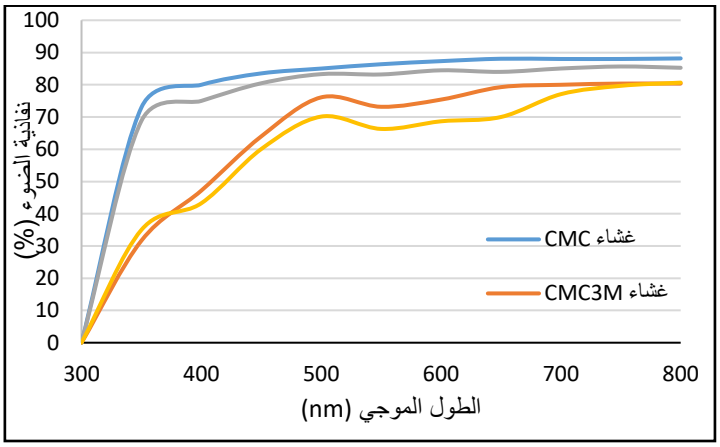


الشكل (2): الفعالية المضادة للأكسدة لأغشية CMC وأغشية NCMC مع نسب مختلفة من مستخلصات الأنثوسيانين لثمار التوت

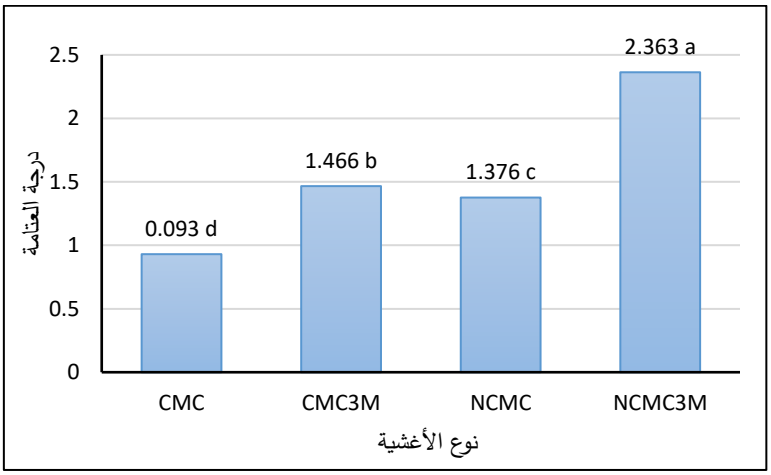
نفاذية الضوء ودرجة العتامة

تعد خاصية نفاذية الضوء ودرجة العتامة من الخواص المهمة للأغشية المختلفة التي يمكن من خلالها حفظ الأغذية والفيتامينات والصبغات من الأكسدة في الأغذية المختلفة بسبب التعرض للأشعة فوق البنفسجية، يمكن تحسين قدرة الأغشية على الحد من نفاذية الضوء من خلال دمج مستخلصات الأنثوسيانينات من مصادر نباتية مختلفة، وتعزى قدرة الأنثوسيانين على حجز الضوء والاشعة فوق البنفسجية الى محتواها العالي من الحلقات العطرية والمركبات الفينولية (Gasti *et al*., 2021; Zhang *et al*., 2020; Sani *et al*., 2022)

يوضح الشكلان (3) و (4) نفاذية الضوء ودرجة العتامة لأغشية CMC وNCMC البسيطة والنشطة بإضافة 3% من مستخلصات التوت، إذ يبين الشكل (2) إنخفاض نفاذية الضوء والأشعة فوق البنفسجية عند الاطوال الموجية (350– 800) نانومتر وزيادة درجة العتامة عند الطول الموجي 600 نانومتر للأغشية النشطة مقارنةً بالأغشية البسيطة. انخفضت نفاذية الاشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 350 نانومتر (اطوال الأشعة فوق البنفسجية 200– 400) الى 31.67% لأغشية CMCM النشطة و35.00% لأغشية NCMCM النشطة. ويلاحظ زيادة نفاذية الضوء للأغشية مع زيادة الطول الموجي في المنطقة المرئية (أعلى من 400 نانومتر). فقد كانت عند الطول الموجي 550 نانومتر 73.17 و66.30% لغشاء CMCM النشط وغشاء NCMCM النشط على التوالي، مع الحفاظ على خصائص بصرية وشفافية جيدة. ويبين الشكل (3) إرتفاع درجة العتامة للأغشية النشطة مقارنةً بالأغشية الخالية من المستخلصات، وكانت درجة العتمة 0.930 و1.376 لغشاء CMC وNCMC على التوالي، في حين ارتفعت درجة العتمة معنويا الى 1.466 و2.363 لغشاء CMCM وNCMCM. توافقت النتائج مع Alizadeh-Sani *et al*. (2021) الذي بين ان إضافة مستخلصات الأنثوسيانين من نبات barberry (*Berberis vulgaris*) والياف الكيتوزان النانوية لأغشية مثيل سيليلوز أدى الى خفض نفاذية الضوء المرئي (أعلى من 400 نانومتر) والاشعة فوق البنفسجية (أقل من 370 نانومتر)، ومع ما بينه Tong *et al*. (2020) عند تحضيره لغشاء حيوي نشط من glucomannan وجزيئات كربوكسي مثيل سيليلوز النانوية بأقطار 4–10 نانومتر واطوال 100–500 نانومتر ومستخلص الأنثوسيانين من قشور العنب اذ وجد انخفاض نفاذية الأغشية عند إضافة جزيئات الكربوكسي مثيل سيليلوز النانوية وزاد الانخفاض بإضافة مستخلصات الأنثوسيانين للأغشية بسبب إمتصاص الضوء من قبل الحلقات الفينولية في مستخلصات الأنثوسيانين في قشور العنب. كما لاحظ Sganzerla *et al*. (2021) زيادة درجة العتامة لأغشية CMC بزيادة تركيز الأنثوسيانين فقد زادت من 0.77 الى 7.99 عند زيادة التركيز من 0 الى 50% (v/v).



الشكل (3): نفاذية الضوء لأغشية، كربوكسي مثيل سيليلوز (CMC)، كربوكسي مثيل سيليلوز المضاف له 3% مستخلص انثوسيانين التوت (CMC3M)، كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي (NCMC)، كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي المضاف له 3% مستخلص انثوسيانين التوت (NCMC3M)



الشكل (4): درجة العتامة لأغشية، كربوكسي مثيل سيليلوز (CMC)، كربوكسي مثيل سيليلوز المضاف له 3% مستخلص انثوسيانين التوت (CMC3M)، كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي (NCMC)، كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي المضاف له 3% مستخلص انثوسيانين التوت (NCMC3M)

الفعالية التثبيطية للأغشية النشطة تجاه البكتريا المرضية

تعد الخاصية المضادة للميكروبات من الخواص المهمة للأغشية المستخدمة في حفظ الأغذية وتقليل تلف المنتجات الغذائية المحفوظة من خلال خفض انتقال الميكروبات المرضية للأغذية والتي تسبب تلفها، أظهرت نتائج الجدول (1) والشكل (3) وجود فعالية تثبيطية عالية لمحاليل أغشية NCMC3M النانوي النشطة مقارنة بباقي محاليل أنواع الأغشية الاخرى تجاه جميع أنواع البكتريا المرضية المستعملة، وأعلى فعالية تثبيطية تم الحصول عليها لغشاء كربوكسي مثيل سيليلوز النانوي النشط اتجاه بكتريا *staphylococcus aureus* وبقطر منطقة تثبيط 20 ملمتر، قد يكون بسبب جدارها المتكون من طبقة واحدة (Oussalah *et al*., 2007)، في حين بلغ قطر منطقة التثبيط 16 و15.5 و17.67 و15.33 ملم لبكتريا *Esherichia coli* و*pseudomonas* aeruginosa و *Bacillus cereus* و*Klebsiella pneumonia* على التوالي، في حين لم يظهر غشاء كربوكسي مثيل سيليلوز أي فعالية تثبيطية جميع أنواع البكتريا. وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما توصل الية Dashipour *et al*. (2015)، الذي بين ان غشاء CMC لم يعطي فعالية تثبيطية ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

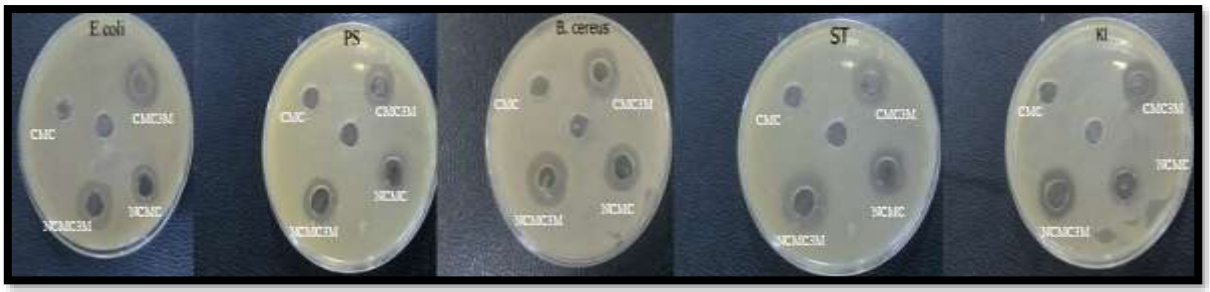
جاءت النتائج مشابهة لما وجده Huang *et al.* (2021) الذي بين ان إضافة مستخلصات الأنثوسيانين لثمار الكجرات roselle anthocyanin extracts للغشاء بولي فينول الكحول polyvinyl alcohol (PVA) وهيدروكسي بروبيل مثيل سيليلوز hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) أدى الى زيادة الفعالية التثبيطية الى 146.91 و59.18% ضد بكتريا *E. coli* و*S. aureus* على التوالي مقارنة بالفعالية المنخفضة للأغشية البسيطة. وبين Chen *et al.* (2020) إرتفاع الفعالية المضادة للميكروبات المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام لغشاء الياف السيليلوز النانوية ومستخلص الأنثوسيانين من البطاطا الحلوة الارجوانية وزيت essential oil (oregano) تجاه بكتريا *E. coli* و*Listeria monocytogenes* بنسبة 99.99% مقارنة بالأغشية البسيطة.

وتوافقت النتائج مع Qin *et al.* (2019) الذي حضر غشاء نشط وذكي من الكيتوزان وجزيئات الفضة النانوية ومستخلص الأنثوسيانين من الذرة الارجوانية (Anthocyanin-rich purple corn extract) اذ بين زيادة اقطار التثبيط لأغشية الكيتوزان النانوية النشطة معنويا ضد البكتريا المرضية (*E. coli* و*Salmonella* و*S. Aureus* و*L. Monocytogenes*) وبلغت 8.99 و8.81 و8.63 و8.23 ملم مقارنةً بأغشية الكيتوزان البسيطة والتي بلغت 1.30 و1.67 و1.69 و1.39 ملم على التوالي.

الجدول (1): أقطار التثبيط لمحاليل الأغشية المختلفة تجاه بعض البكتريا المرضية

Kl	*B.Cereus*	*St*	*PS*	*E. coli*	نوع الغشاء
0± 0.00 c	0± 0.00 c	0± 0.00 d	0± 0.00 d	0± 0.00 c	CMC
14.17± 1.26 a	13.00± 2.00 b	16.17± 1.04 b	13.00±1.00 b	13.83± 1.76 a	CMC3M
8.50± 0.50 b	12.47± 0.81b	10.83± 0.76 c	7.33± 0.58 c	9.00± 0.50 b	NCMC
15.33± 0.58 a	17.67± 1.15 a	20.43± 1.40 a	15.50± 0.50a	16.00± 2.00 a	NCMC3M

[a, b, c] الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود اختلاف معنوي



الشكل (4): أقطار التثبيط لمحاليل الأغشية المختلفة تجاه بعض البكتريا المرضية

تأثير التغليف على بعض المعايير الفيزيوكيميائية لشرائح لحوم الابقار

1- الاس الهيدروجيني

تبين نتائج الجدول (2) انخفاض قيم الرقم الهيدروجيني للعينات المغلفة والتي وتراوحت بين (5.72 – 6.45)، مقارنةً بعينة السيطرة التي بلغت 7.20 في نهاية مدة التخزين (12) يوم، وإن أقل قيم للرقم الهيدروجيني بلغ 6.15 للمعاملة T8، ويعزى سبب الارتفاع الى تكوين مركبات التحلل الذاتي (مركبات النيتروجين) القاعدية نتيجة لنمو الميكروبات التي تسبب تحلل البروتين، وجاءت هذه النتائج متقاربةً مع ما توصل اليه Pabast *et al.* (2018) إذ وجد إن تغليف الأغذية يخفض من النشاط الميكروبي والذي أدى بدوره الى انخفاض قيم الرقم الهيدروجيني مقارنةً بعينات السيطرة. وتقاربت مع ما توصل اليه Ge *et al.* (2020) الذي بين ان إستخدام غلاف الجيلاتين المدعم بالكايتين النانوي والأنثوسيانين المستخلص من قشور الرز البني في تغليف الروبيان أدى الى تقليل الارتفاع في قيم الرقم الهيدروجيني في نهاية الخزن مقارنة بعينات السيطرة. وكذلك وجد Azarifar *et al.* (2020) ان إضافة

الياف الكيتوزان النانوي الى غشاء كربوكسي مثيل سيليلوز والجيلاتين المركب الذي يحتوي على زيت نبات الكمون الملكي اذ خفض التغليف من قيمة الرقم الهيدروجيني الى 6.22 و6.12 مقارنةً بعينات السيطرة التي بلغت 6.7 بعد 12 يوماً من الحفظ عند زيادة الياف الكيتوزان النانوية من 2% الى 4%.

الجدول (2): قيم PH لشرائح اللحم المحفوظة بالتبريد (4± 2 م°) غير المغلفة والمغلفة بأغشية السيليلوز المختلفة

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			
	0	4	8	12
T0	5.73±0.12a	6.02±0.02b	6.32±0.02b	7.05±0.05c
T1	5.72±0.10a	5.79±0.19a	6.27± 0.07a	6.45± 0.05b
T2	5.74±0.15a	5.76±0.23a	6.25± 0.05a	6.40±0.00b
T3	5.72±0.12a	5.74± 0.09a	6.25± 0.01a	6.40 ±0.05b
T4	5.73±0.06a	5.75± 0.09a	6.26 ±0.01a	6.15±0.18 a

a, b, c الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود اختلاف معنوي

2- قيم TBA لشرائح اللحم

يُعد فحص TBA من أهم الفحوصات التي توضح جودة اللحوم ومنتجاتها، وتقدر على أساس مركب malondialdehyde (MDA) الذي يمثل أهم نواتج الأكسدة الثانوية (Kilinc *et al.*, 2009). توضح نتائج الجدول (3) زيادة قيم TBA مع زيادة مدة الخزن وكانت الزيادة بمعدل ابطأ لعينات اللحم البقري المغلفة مقارنةً مع معاملة السيطرة. إذ ارتفعت قيم TBA في اليوم الثامن لمعاملة السيطرة (T0) من 0.35 ملغم مالون الديهايد/ كغم لحم إلى 2.533 ملغم مالون الديهايد/ كغم لحم، وبذلك تكون قد تجاوزت الحد المسموح به (Zhang *et al.*, 2019a; Zhao *et al.*, 2022)، في حين حافظت العينات المغلفة على بقائها ضمن الحدود المسموحة باستثناء المعاملة T5 والتي بلغت 2.16 ملغم مالون الديهايد/ كغم لحم. واستمر هذا التفاوت في القيم الى نهاية مدة الخزن (12) يوم فقد سجلت المعاملة T4 1.95 ملغم مالون الديهايد/ كغم زيت، وهذا يؤشر الى دور غشاء NCMCM النانوي النشط في خفض أكسدة الدهن من خلال نفاذيته المنخفضة للضوء والاشعة فوق البنفسجية وفعاليته المضادة للأكسدة والمضادة لنمو الميكروبات العالية (Zarei *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019b) وكذلك مسك العناصر المعدنية في اللحوم (Osheba *et al.*, 2013). وان امتلاك مستخلص الأنثوسيانين للمجاميع الفعالة التي لها القابلية على اقتناص الجذور الحرة وايقاف سلسلة تفاعلات الاكسدة، وان تثبيط اكسدة الدهون من خلال كبح نشاط الجذور الحرة سيزيد من مدة المرحلة الاولى لعملية الاكسدة والذي يبطئ من تكوين البيروكسيدات ومن ثم تكوين الهيدروبيروكسيدات وبالتالي إنخفاض كمية المالون الديهايد في اللحوم ومنتجاتها (Zhang *et al.*, 2019b)

الجدول (3): قيم TBA لشرائح اللحم المحفوظة بالتبريد غير المغلفة والمغلفة بأغشية السيليلوز المختلفة

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			
	0	4	8	12
T0	0.351±0.010a	1.671±0.131b	2.553±0.155c	3.187±0.306d
T1	0.351±0.078a	1.200±0.155a	2.157± 0.311c	2.917±0.165ac
T2	0.352±0.010a	0.910±0.046a	1.893± 0.110b	2.743±0.146bc
T3	0.351±0.016a	0.817± 0.068a	1.737± 0.123b	2.350±0.056b
T4	0.350±0.05a	0.730± 0.110a	1.270±0.311a	1.950±0.138a

a, b, c,d الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود اختلاف معنوي

3- قيم البيروكسيد لشرائح اللحم البقري

يعد رقم البيروكسيد من المؤشرات المهمة لجودة اللحوم اثناء الإنتاج والتخزين، وتبين نتائج الجدول (4) الزيادة المستمرة لقيم البيروكسيد لشرائح اللحم البقري والمغلفة وغير المغلفة مع زيادة مدة الخزن المبرد (0، 4، 8، 12) يوم، وبلغت لمعاملة السيطرة T0 7.60 ملغم مكافئ/كغم في نهاية مدة الخزن، إذ تجاوزت الحد السموح بها في اليوم الثامن من الخزن، يعزى سبب الارتفاع الى احتواء اللحوم ومنتجاتها على نسب عالية من الاحماض الدهنية والعناصر المعدنية (Pateiro *et al* 2018). إذ بين Piedrahíta Márquez *et al.* (2019) ان الزيت او الدهن يصبح غير مقبول إذا تجاوزت قيمة البيروكسيد 5 ملغم مكافئ/كغم. اشارت النتائج إلى حدوث إنخفاض في قيم البيروكسيد لجميع المعاملات المغلفة مقارنةً بمعاملة السيطرة، وكان أقل ارتفاع لقيم البيروكسيد عند نهاية مدة الخزن (12) يوم للمعاملة T4 فقد بلغت 4.60 (ملي مكافئ O_2 /كغم زيت)، قد يرجع السبب الى الفعل التازري للجزيئات النانوية والمركبات الفينولية في اخماد الجذور الحرة التي تعمل على منح للهيدروجين ومنع أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة وإنهاء سلسلة تفاعلات الأكسدة وبالتالي خفض قيمة البيروكسيد. فقد وجد Priyadarshi *et al.* (2021) ان الأغشية الوظيفية القائمة على CMC المركب الذي يحتوي على جزيئات أوكسيد الزنك النانوية ومستخلص بذور العنب بنسبة 3% أدى الى خفض قيمة البيروكسيد مقارنة بعينات اللحم المغلفة بغلاف CMC البسيط الى 2.08 و16.66 ملغم/كغم. وكذلك فان وجود مستخلصات الأنثوسيانينات في الأغشية النشطة أدى الى الحد من نفاذية الضوء والاشعة فوق البنفسجية وبالتالي خفض معدل اكسدة الدهون في اللحوم المغلفة (Zhao *et al.*, 2022).

الجدول (4): قيم البيروكسيد لشرائح اللحم المحفوظة بالتبريد غير المغلفة والمغلفة بأغشية السيليلوز المختلفة

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			
	0	4	8	12
T0	0.46±0.05a	2.70±0.02c	5.17±0.40c	7.607±0.10e
T1	0.45±0.03a	1.93±0.63b	3.36± 0.23b	5.94± 0.45d
T2	0.46±0.03a	1.52±0.08ab	3.08± 0.33ab	5.70±0.10cd
T3	0.46±0.01a	1.60± 0.14ab	3.18± 0.02b	5.13±0.15b
T4	0.45±0.03a	1.43± 0.35ab	2.80±0.55b	4.60 ±0.20 a

$^{a, b, c, d}$ الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود اختلاف معنوي

الاستنتاجات

ادت إضافة الأنثوسيانين المستخلصة من ثمار التوت الى زياده الفعالية المضادة للأكسدة وانخفاض في نفاذية الضوء وزيادة في درجة العتامة لأغشية CMC وNCMC الحيوية القابلة للأكل، وتميزت أغشية السيليلوز النانوية النشطة بانها كانت أعلى فعالية مضاد للأكسدة وأقل نفاذية الضوء وأعلى درجة عتامة مقارنةً بالأغشية السليلوزية الأخرى، كما زادت الفعالية المضادة للميكروبات وكانت أعلى فعالية لغشاء NCMC ضد بكتيريا *staphylococcus aureus*، وأظهرت الأغشية النانوية النشطة دوراً كبيراً في الحد من ارتفاع الاس الهيدروجيني وقيم TBA ورقم البيروكسيد، وسجلت أقل القيم مقارنة بالأغشية الأخرى.

التوصيات:

نظرا لفعالية البوليمرات النانوية ومستخلصات الأنثوسيانين المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات نوصي باستخدام مواد بوليميرية اخرى كالنشا والكيتوزان كما نوصي باستخدام مستخلصات الأنثوسيانين من مصادر اخرى مثل اللهانة والباذنجان والفراولة والعنب بهدف دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للأغشية المختلفة من اجل زيادة مدة صلاحية اللحوم ومنتجاتها الغذائية المختلفة.

المراجع:

AlHussainy, A.G. (2010). Spectrophotometric study of compelex formationbetween anthocyanin Deys and lead (II), cadmium (II), Merecury (II) ions. Thesis submit. Department of chemistry, college of science.University of Babylon.

Alizadeh-Sani, M.; Tavassoli, M.; Mohammadian, E.; Ehsani, A; Khaniki, G. J; Priyadarshi, R. and Rhim, J. W. (2021). pH-responsive color indicator films based on methylcellulose/chitosan nanofiber and barberry anthocyanins for real-time monitoring of meat freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, *166*, 741-750.

Azarifar, M; Ghanbarzadeh, B. and Abdulkhani, A. (2020). The effects of gelatin-CMC films incorporated with chitin nanofiber and Trachyspermum ammi essential oil on the shelf life characteristics of refrigerated raw beef. *International Journal of Food Microbiology, 318*, 108493.

Bahrami Feridoni, S. and Khademi Shurmasti, D. (2020). Effect of the nanoencapsulated sour tea (Hibiscus sabdariffa L.) extract with carboxymethylcellulose on quality and shelf life of chicken nugget. *Food Science & Nutrition*, *8*(7), 3704-3715.

Bono, A.; Ying, P. H.; Yan, F. Y.; Muei, C. L.; Sarbatly, R. and Krishnaiah, D. (2009). Synthesis and characterization of carboxymethyl cellulose from palm kernel cake. *Advances in Natural and Applied Sciences*. 3(1): 5-12.

Cao, L.; Ge, T.; Meng, F.; Xu, S.; Li, J. and Wang, L. (2020). An edible oil packaging film with improved barrier properties and heat sealability from cassia gum incorporating carboxylated cellulose nano crystal whisker. *Food hydrocolloids*, *98*, 105251.

Chan, E. W. C.; Phui-Yan, L. Y. E. and Siu-Kuin, W. O. N. G. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of Morus alba. *Chinese journal of natural medicines*, *14*(1), 17-30.

Chen, S.; Wu, M.; Lu, P.; Gao, L.; Yan, S. and Wang, S. (2020). Development of pH indicator and antimicrobial cellulose nanofibre packaging film based on purple sweet potato anthocyanin and oregano essential oil. *International journal of biological macromolecules*, *149*, 271-280.

Dashipour, A.; Razavilar, V.; Hosseini, H.; Shojaee-Aliabadi, S.; German, J. B.; Ghanati, K.; ... and Khaksar, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil. *International journal of biological macromolecules*, *72*, 606-613.

Dashipour, A..; Khaksar, R..; Hosseini, H..; Shojaee-Aliabadi, S. and Kiandokht, G. (2014). Physical, antioxidant and antimicrobial characteristics of carboxymethyl cellulose edible film cooperated with clove essential oil. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 16(8): 34-42.

De Oliveira Filho, J. G.; Braga, A. R. C.; de Oliveira, B. R.; Gomes, F. P.; Moreira, V. L.; Pereira, V. A. C. and Egea, M. B. (2021). The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films: A review. *Food Research International*, *142*, 110202.

Domínguez, R.; Barba, F. J.; Gómez, B.; Putnik, P.; Kovačević, D. B.; Pateiro, M.; Santos, E. M. and Lorenzo, J. M. (2018). Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. Food research international, 113, 93-101.

Egan, H..; Kirk, R. and Sawyer, R.1988. Pearson's Chemical Analysis of Food. 8thed. Longman Scientific and Technical. 591. Australia.

Ezati, P; Rhim, J. W; Moradi, M; Tajik, H. and Molaei, R. (2020). CMC and CNF-based alizarin incorporated reversible pH-responsive color indicator films. *Carbohydrate polymers*, *246*, 116614.

Fernández-Marín, R; Fernandes, S. C; Sánchez, M. Á. A. and Labidi, J. (2022). Halochromic and antioxidant capacity of smart films of chitosan/chitin nanocrystals with curcuma oil and anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, *123*, 107119.

Gasti, T.; Dixit, S.; D'souza, O. J.; Hiremani, V. D.; Vootla, S. K.; Masti, S. P.; Chougale, R. B. and Malabadi, R. B. (2021). Smart biodegradable films based on chitosan/methylcellulose containing Phyllanthus reticulatus anthocyanin for monitoring the freshness of fish fillet. International Journal of Biological Macromolecules, 187, 451-461.

Ge, Y.; Li, Y.; Bai, Y.; Yuan, C.; Wu, C. and Hu, Y. (2020). Intelligent gelatin/oxidized chitin nanocrystals nanocomposite films containing black rice bran anthocyanins for fish freshness monitorings. *International Journal of Biological Macromolecules*, *155*, 1296-1306.

Gupta, H.; Kumar, H.; Kumar, M.; Gehlaut, A. K.; Gaur, A., Sachan, S. and Park, J. W. (2020). Synthesis of biodegradable films obtained from rice husk and sugarcane bagasse to be used as food packaging material. *Environmental Engineering Research*, *25*(4), 506-514.

He, J. and Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, *1*(1), 163-187.

Huang, J.; Liu, J.; Chen, M.; Yao, Q. and Hu, Y. (2021). Immobilization of roselle anthocyanins into polyvinyl alcohol/hydroxypropyl methylcellulose film matrix: Study on the interaction behavior and mechanism for better shrimp freshness monitoring. *International Journal of Biological Macromolecules*, *184*, 666-677.

Jannatyha, N.; Shojaee-Aliabadi, S.; Moslehishad, M. and Moradi, E. (2020). Comparing mechanical, barrier and antimicrobial properties of nanocellulose/CMC and nanochitosan/CMC composite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 2323-2328.

Jeddi, M. K. and Mahkam, M. (2019). Magnetic nano carboxymethyl cellulose-alginate/chitosan hydrogel beads as biodegradable devices for controlled drug delivery. *International journal of biological macromolecules*, *135*, 829-838.

Kadry, G. (2019). Comparison between gelatin/carboxymethyl cellulose and gelatin/carboxymethyl nanocellulose in tramadol drug loaded capsule. *Heliyon*, *5*(9), e02404.

Kilinc, B.; Cakli, S.; Dincer, T. and Tolasa, S. (2009). Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4 C. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *18*(1-2), 3-17.

Kumar, L.; Ramakanth, D.; Akhila, K. and Gaikwad, K. K. (2021). Edible films and coatings for food packaging applications: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-26.

Kurek, M.; Garofulić, I. E.; Bakić, M. T.; Ščetar, M.; Uzelac, V. D. and Galić, K. (2018). Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on chitosan and food waste sources of antioxidants. *Food Hydrocolloids*, *84*, 238-246.

Li, N.; Zhou, Z.; Wu, F.; Lu, Y.; Jiang, D.; Zhong, L. and Xie, F. (2022). Development of pH-Indicative and Antimicrobial Films Based on Polyvinyl Alcohol/Starch Incorporated with Ethyl Lauroyl Arginate and Mulberry Anthocyanin for Active Packaging. *Coatings*, *12*(10), 1392.

Lu, P. and Hsieh, Y. L. (2012). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydrate Polymers*, *87*(1), 564-573.

Ma, Q.; Liang, T.; Cao, L. and Wang, L. (2018). Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. *International Journal of Biological Macromolecules*, *108*, 576-584.

Maghami, M.; Motalebi, A. A. and Anvar, S. A. A. (2019). Influence of chitosan nanoparticles and fennel essential oils (Foeniculum vulgare) on the shelf life of Huso huso fish fillets during the storage. *Food science & nutrition*, *7*(9), 3030-3041.

Mushtaq, M.; Gani, A.; Gani, A.; Punoo, H. A. and Masoodi, F. A. (2018). Use of pomegranate peel extract incorporated zein film with improved properties for prolonged shelf life of fresh Himalayan cheese (Kalari/kradi). Innovative Food Science & Emerging Technologies, 48, 25–32.

Nasri-Nasrabadi, B.; Behzad, T. and Bagheri, R. (2014). Extraction and characterization of rice straw cellulose nanofibers by an optimized chemomechanical method. *Journal of Applied Polymer Science*, *131*(7).

Niroomand, F.; Khosravani, A. and Younesi, H. (2016). Fabrication and properties of cellulose-nanochitosan biocomposite film using ionic liquid. *Cellulose*, *23*(2), 1311-1324.

Osheba, A.; Sorour, M. and Abdou, E. S. (2013). Effect of chitosan nanoparticles as active coating on chemical quality and oil uptake of fish fingers. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, *2*(1), 1-14.

Oussalah, M.; Caillet, S.; Saucier, L. and Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. *Food control*, *18*(5), 414-420.

Pabast, M.; Shariatifar, N.; Beikzadeh, S. and Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*, *91*, 185-192.

Pateiro, M.; Barba, F. J.; Domínguez, R.; Sant'Ana, A. S.; Mousavi Khaneghah, A.; Gavahian, M. and Lorenzo, J. M. (2018). Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, *113*, 156–166.

Peralta, J.; Bitencourt-Cervi, C. M.; Maciel, V. B.; Yoshida, C. M. and Carvalho, R. A. (2019). Aqueous hibiscus extract as a potential natural pH indicator incorporated in natural polymeric films. *Food Packaging and Shelf Life*, *19*, 47-55.

Phanthong, P.; Guan, G.; Ma, Y.; Hao, X. and Abudula, A. (2016). Effect of ball milling on the production of nanocellulose using mild acid hydrolysis method. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, *60*, 617-622.

Piedrahíta Márquez, D. G.; Fuenmayor, C. A. and Suarez Mahecha, H. (2019). Effect of chitosan-propolis edible coatings on stability of refrigerated cachama (Piaractus brachypomus) vacuum-packed fish fillets. *Packaging Technology and Science*, *32*(3), 143-153.

Priyadarshi, R.; Kim, S. M. and Rhim, J. W. (2021). Carboxymethyl cellulose-based multifunctional film combined with zinc oxide nanoparticles and grape seed extract for the preservation of high-fat meat products. *Sustainable Materials and Technologies*, *29*, e00325

Qin, Y.; Liu, Y.; Yuan, L.; Yong, H. and Liu, J. (2019). Preparation and characterization of antioxidant, antimicrobial and pH-sensitive films based on chitosan, silver nanoparticles and purple corn extract. *Food Hydrocolloids*, *96*, 102-111.

Roy, S.; Kim, H. J. and Rhim, J. W. (2021). Effect of blended colorants of anthocyanin and shikonin on carboxymethyl cellulose/agar-based smart packaging film. *International Journal of Biological Macromolecules*, *183*, 305-315.

Safer, A. M.; Leporatti, S.; Jose, J. and Soliman, M. S. (2019). Conjugation of EGCG and chitosan NPs as a novel nano-drug delivery system. *International Journal of Nanomedicine*, *14*, 8033.

Sani, M. A.; Tavassoli, M.; Salim, S. A.; Azizi-lalabadi, M. and McClements, D. J. (2022). Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO2 nanoparticle- and anthocyanin-loaded gelatin/κ-carrageenan films. *Food Hydrocolloids*, *124*, 107324.

Sganzerla, W. G.; Ribeiro, C. P. P.; Uliana, N. R.; Rodrigues, M. B. C.; da Rosa, C. G.; Ferrareze, J. P.; ... and Nunes, M. R. (2021). Bioactive and pH-sensitive films based on carboxymethyl cellulose and blackberry (Morus nigra L.) anthocyanin-rich extract: A perspective coating material to improve the shelf life of cherry tomato (Solanum lycopersicum L. var. cerasiforme). *Biocatalysis and Agricultural* Biotechnology, 33, 101989.

Smaoui, S.; Hlima, H. B.; Mtibaa, A. C.; Fourati, M; Sellem, I; Elhadef, K; ... and Mellouli, L. (2019). Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products. Meat sc*ience, 158*,107914.

Tong, C.; Wu, Z.; Sun, J.; Lin, L.; Wang, L.; Guo, Y.; Wu, C. and Pang, J. (2020). Effect of carboxylation cellulose nanocrystal and grape peel extracts on the physical, mechanical and antioxidant properties of konjac glucomannan films. International journal of biological macromolecules, 156, 874-884.

Wang, X.; Yong, H.; Gao, L.; Li, L.; Jin, M. and Liu, J. (2019). Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on chitosan and black soybean seed coat extract. *Food hydrocolloids*, *89*, 56-66.

Wu, C.; Li, Y.; Sun, J.; Lu, Y.; Tong, C.; Wang, L.; Yan, Z. and Pang, J. (2020). Novel konjac glucomannan films with oxidized chitin nanocrystals immobilized red cabbage anthocyanins for intelligent food packaging. Food Hydrocolloids, 98, 105245.

Yong, H.; Wang, X.; Zhang, X.; Liu, Y.; Qin, Y. and Liu, J. (2019). Effects of anthocyanin-rich purple and black eggplant extracts on the physical, antioxidant and pH-sensitive properties of chitosan film. *Food hydrocolloids*, *94*, 93-104.

Zarei, M.; Ramezani, Z.; Ein-Tavasoly, S. and Chadorbaf, M. (2015). Coating effects of orange and pomegranate peel extracts combined with chitosan nanoparticles on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Journal of food processing and preservation*, *39*(6), 2180-2187.

Zhang, H..; Li, X. and Kang, H. (2019a). Chitosan coatings incorporated with free or nano-encapsulated Paulownia Tomentosa essential oil to improve shelf-life of ready-to-cook pork chops. Lwt, 116, 108580.

Zhang, K.; Huang, T. S.; Yan, H.; Hu, X. and Ren, T. (2020). Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp deterioration. International Journal of Biological Macromolecules, 145, 768–776.

Zhang, W.; Zhang, Y.; Cao, J. and Jiang, W. (2021). Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *International Journal of Biological Macromolecules*, *166*, 288-296.

Zhang, X.; Liu, Y.; Yong, H.; Qin, Y.; Liu, J. and Liu, J. (2019b). Development of multifunctional food packaging films based on chitosan, TiO2 nanoparticles and anthocyanin-rich black plum peel extract. *Food hydrocolloids*, *94*, 80-92.

Zhao, R.; Guan, W.; Zhou, X.; Lao, M. and Cai, L. (2022). The physiochemical and preservation properties of anthocyanidin/chitosan nanocomposite-based edible films containing cinnamon-perilla essential oil pickering nanoemulsions. *LWT*, *153*, 112506.

Effect of Coating with Carboxymethyl Cellulose and Carboxymethyl Cellulose Nanoparticles Films Enhanced with Mulberry Fruit Extract (*Morus rubra* L.) on Some Properties of Cryopreserved Beef

Kadthim H. Abdul Sayed [(1)*], Alaa G. Al-Hashimi[(1)] and Kareema M. Ziadan[(2)]

(1). Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq.

(2). Department of Physics, College of Science, University of Basrah, Basrah, Iraq.

(*Corresponding author: Kadthim Sayed. Email: kadem.hassan22@gmail.com)

Received: 20/12/2022 Accepted: 11/02/2023

Abstract

This study was conducted in the laboratories of the Department of Food Sciences, College of Agriculture, University of Basrah to study the effect of anthocyanin extract from mulberry fruits (*Morus rubra* L.) on the antioxidant and antimicrobial properties of edible biofilms based on carboxymethyl cellulose (CMC) or carboxymethyl cellulose nanoparticles (NCMC) and the effect of film coating on the properties of cryopreserved beef slices. The results showed that the cumulative distribution of the dimensions of NCMC particles was (40-300) nm, It was observed that the effectiveness of the antioxidant and antimicrobial films increased with increasing the concentration of the extract, and the NCMC3M film recorded the highest antioxidant activity of 40.43% and the highest inhibition diameter of 20.43 mm against *Staphylococcus aureus* bacteria, and the active nanoparticles film was less permeable to light compared to other cellulose films and the highest degree of opacity reaching 2.363. Beef slices coated with NCMC3M films recorded the lowest values for pH, Thiobarbituric acid values (TBA) and peroxide number (PV), they were 6.15, 1.95 mg malonaldehyde kg-1 meat and 4.60 equivalent O2/kg oil, respectively, and it can be concluded that NCMC3M active film increase the shelf life of vacuum-preserved steaks D up to 12 days of storage.

Keywords: Film, Carboxymethyl Cellulose Nanoparticles, Anthocyanin, Antioxidant.