

## Fabrication of Nanocellulosic biosensor as an indicator of meat spoilage

Ali Ghasemi Chahardehi<sup>\*1</sup>, Ghase m Asadpour<sup>2</sup>, Esmail Rasooly Garmarody<sup>3</sup>  
and Seyed Majid Zabihzadeh<sup>2</sup>

1\*-Corresponding Author, Ph.D. Student of Cellulose industries, Agricultural Sciences and Natural Resources of Sari University. Iran, Email: ghasemyali58@yahoo.com

2-Associate Professor, Department of Wood and cellulose products. Faculty of Natural Resources, Sari University of Agricultural Sciences and Natural resources, Iran

3-Assistant professor, Faculty of New Technologies, Shahid Beheshti University, Iran

Received: October 2024

Revised: December 2024

Accepted: February 2025

### Abstract

**Background and purpose:** The annual volume of food waste including meat is almost one third of the global production of edible food. One of the main causes of meat deterioration is the disease caused by microorganisms. However, by continuous and real-time tracking of food spoilage, the waste can be significantly reduced. One of the main procedures to identify the change in the quality of the food inside the package is the change in pH by employing natural polymers containing pH-sensitive substances. Applying such polymers, it is possible to characterize the condition of the meat inside the package. Anthocyanins are natural substances sensitive to pH. This research investigated the use of eggplant peel extract to make a pH-sensitive Nanocellulosic biofilm as an indicator of meat spoilage inside the package.

**Materials and methods:** Eggplant peel, after crushing and passing through a sieve, was subjected to extraction in two separate methods (with and without formic acid). The amount of anthocyanin in each method was investigated and then the appropriate extraction method was selected based on the amount of anthocyanin obtained. The resulting anthocyanin, as the main substance sensitive to pH changes, was used in different percentages until the desired result was reached, to make nanocellulose film. In the production of nanocellulose film, anthocyanin was stabilized with the help of two types of cross-linking polymers, namely Penta sodium triphosphate and polyvinyl alcohol, in two separate paths, inside the nanofibrocellulose film, by casting method, at a temperature of 38C for 72 hours in an oven. The resulting film, as an indicator of meat spoilage, was placed inside the packaging of meat products. Some of the test packages were kept at room temperature for three days and others were kept in the refrigerator for seven days. The change in color of the films was evident in both cases, which indicated the microbial contamination of the meat.

**Result:** The results showed that the amount of anthocyanin in the extraction method with formic acid is twice that of the extraction without it. The L a b test related to Nanocellulosic films showed that the b factor increased three and half times in the films inside the package after spoilage. Examination of the films with XRD showed that the addition of the binding polymer as well as the extract increases the degree of crystallinity of the nanocellulose film. Also, the results of FTIR showed that by adding binding polymers, new functional groups are created in the

nanocellulose film, before and after being placed inside the packaging.

**Conclusion:** In this research, eggplant peel extract was used to make pH-sensitive nanocellulose film. In terms of anthocyanin content, the method with formic acid was superior to the method without it. Nanocellulose film, in the vicinity of deteriorated meat changed color and became greenish yellow. The results show an increase in the degree of crystallinity due to the interaction between the components of the film. The extract itself also turned red in acidic pH and greenish-brown in alkaline pH. Finally, it was found that by using the visible color change of the aforementioned biodegradable nanocellulose film, it is possible to visually know the condition of the food inside the package.

**Keywords:** Nanocellulose, anthocyanin, eggplant peel, meat spoilage indicator and pH.

## ساخت بیوسنسور نانوسلولزی به عنوان نشان دهنده فساد گوشت

علی قاسمی چهاردهی<sup>۱\*</sup>، قاسم اسدپور<sup>۲</sup>، اسماعیل رسولی گرمارودی<sup>۳</sup> و سیدمجید ذبیح زاده<sup>۲</sup>

\*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترای رشته صنایع سلولزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران،

پست الکترونیک: ghasemy.ali58@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۳- استادیار، گروه مهندسی پالایش زیستی، پردیس زیرآب، دانشکده مهندسی فناوری های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۳

### چکیده

سابقه و هدف: مقدار سالیانه ضایعات مواد غذایی، حدود یک سوم مقدار تولید جهانی غذای خوراکی را شامل می شود. یکی از دلایل اصلی ضایعات مواد گوشتی، بیماری ایجاد شده توسط میکروارگانیسم ها است. با استفاده از ردیابی پیوسته و لحظه ای تخریب ماده غذایی، می توان به طور چشمگیری ضایعات را کاهش داد. یکی از روش های اصلی شناسایی تغییر کیفیت ماده غذایی درون بسته بندی، تغییر pH است. با به کارگیری پلیمرهای طبیعی، حاوی مواد حساس به pH، می توان از وضعیت مواد گوشتی داخل بسته بندی، آگاه شد. از مواد طبیعی حساس به pH، آنتوسیانین ها است. این پژوهش، به بررسی استفاده از ماده استخراجی از پوست بادمجان برای ساخت فیلم زیستی نانوسلولزی حساس به pH، به عنوان نشان دهنده فساد گوشت داخل بسته بندی، پرداخته است.

مواد و روش ها: پوست بادمجان، پس از خرد شدن و عبور از الک، در دو روش مجزا (با و بدون اسید فرمیک)، تحت عصاره گیری قرار گرفت. مقدار آنتوسیانین، در هر روش بررسی شد و بعد بر اساس مقدار آنتوسیانین به دست آمده، روش مناسب عصاره گیری انتخاب گردید. آنتوسیانین حاصل، به عنوان ماده اصلی حساس به تغییرات pH، در درصد های مختلف تا رسیدن به نتیجه مطلوب، برای ساخت فیلم نانوسلولزی، استفاده شد. در ساخت فیلم نانوسلولزی، آنتوسیانین با کمک دو نوع پلیمر اتصال دهنده عرضی، به نام های پنتاسدیم تری فسفات و پلی وینیل الکل، در دو مسیر جدا، در داخل فیلم نانوفیبر سلولزی، با روش casting، در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، به مدت ۷۲ ساعت در آون، تثبیت گردید. فیلم حاصل، به عنوان نشانگر (Indicator) فساد گوشت، در فضای داخلی بسته بندی مواد گوشتی قرار گرفت. تعدادی از بسته بندی های مذکور، سه روز در دمای محیط و تعدادی دیگر، هفت روز در یخچال قرار گرفتند. تغییر رنگ فیلم ها در هر دو مورد، که نشان از آلودگی میکروبی گوشت داشت، مشهود بود.

یافته ها: نتایج نشان داد، مقدار آنتوسیانین در روش عصاره گیری با اسید فرمیک، دو برابر روش عصاره گیری بدون استفاده از اسید فرمیک است. آزمون Lab مربوط به فیلم های نانوسلولزی، نشان داد که برای فیلم های داخل بسته بندی پس از فساد گوشت، فاکتور b به اندازه سه و نیم برابر، افزایش داشته است. بررسی فیلم ها با کمک XRD، نشان داد اضافه شدن پلیمر اتصال دهنده و عصاره، باعث افزایش درجه کریستالیت فیلم نانوسلولزی می گردد. همچنین، بررسی فیلم ها به وسیله دستگاه FTIR نشان داد با افزودن پلیمرهای اتصال دهنده، گروه های عاملی جدید در فیلم نانوسلولزی، قبل و بعد از قرارگیری داخل بسته بندی، ایجاد می شود.

نتیجه گیری: در این تحقیق، از عصاره پوست بادمجان برای ساخت فیلم نانوسلولزی حساس به pH، استفاده شده است. در استخراج عصاره، از نظر مقدار آنتوسیانین حاصل، روش با اسید فرمیک، بر روش بدون آن، برتری داشت. فیلم نانوسلولزی ساخته شده، در مجاورت گوشت فاسد، تغییر رنگ داده و به رنگ زرد مایل به سبز درآمد. نتایج حاصل نشان از افزایش درجه کریستالیت، در اثر برهم کنش بین اجزای فیلم دارد. خود عصاره نیز در pH اسیدی، به رنگ قرمز و در pH قلیایی، به رنگ قهوه ای مایل به سبز درآمد. در نهایت مشخص گردید، با استفاده از تغییر رنگ مشهود فیلم نانوسلولزی زیست تخریب پذیر مذکور، می توان به طور چشمی از وضعیت ماده غذایی داخل بسته بندی، اطلاع پیدا کرد.

واژه های کلیدی: نانوسلولز، آنتوسیانین، پوست بادمجان، نشانگر فساد گوشت و pH.

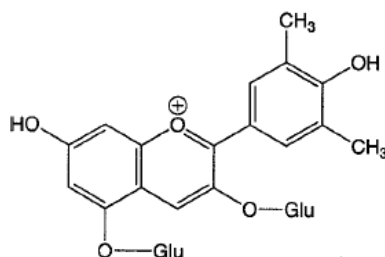
## مقدمه

پلیمرها توجه زیادی به خود جلب کرده و برای جانشینی مواد، از این بیوپلیمرها برای تولید فیلم استفاده می‌شود. این بیوپلیمرها، جایگزینی مناسب برای مواد پلیمری سنتزی به منظور کاهش آلودگی محیط زیست است (Liang and Wang, 2017). مثال‌هایی از چند فیلم بیونانو کامپوزیتی که برای بسته‌بندی مواد غذایی تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است، مانند فیلم پلی لیزین (Wu et al., 2019)، فیلم نشاسته که با سیلیکات پوشانده شده (Campos-Requena et al., 2018) و فیلم نانوسلولزی (Sobhan et al., 2019) می‌باشد. همچنین، بسیاری از محققان، اخیراً بر روی تبدیل پسماندهای گیاهی به مواد زیستی به دلیل تجدیدپذیری، فراوانی و توزیع گسترده در طبیعت، متمرکز شده‌اند (Yoshida et al., 2013; Phan et al., 2005). مواد زیستی از قبیل پلی ساکاریدها، چربی‌ها و پروتئین‌ها برای ساخت فیلم‌ها استفاده شدند. پلی ساکاریدها شامل سلولز، نشاسته، همی سلولز، کیتوزان و مشتقات آنها، به طور گسترده در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده شده است (Yousefi et al., 2015; Maciel et al., 2020). در بین این بیوپلیمرها، سلولز فراوان‌ترین پلیمر طبیعی است که به دلیل تجدیدپذیری، قابلیت بازیافت شدن، تخریب پذیری در طبیعت و قابلیت استفاده در انواع کاربردها، دارای ویژگی‌های منحصر به فردی است (Neubauerova et al., 2020; Vilela et al., 2019). وقتی که سلولز با تلفیق مناسب تیمارهای مکانیکی، شیمیایی و آنزیمی، تبدیل به نانوسلولز می‌شود، دارای ویژگی‌های برجسته‌ای مانند سطح ویژه بالا و قابلیت استفاده آسان به عنوان بستری برای تثبیت (Golmohammadi et al., 2017)، استحکام مکانیکی زیاد، دوام گرمایی و شیمیایی بالا و نیز توانایی تشکیل فیلم می‌گردد. نانوسلولز دارای ویژگی کریستالین بالا نیز است. به دلیل ویژگی‌های جالب، نانوسلولز یکی از جذاب‌ترین نانو مواد بر پایه سلولز بوده که در بیوحسگرها و بیومواد کاربرد دارد (Neubauerova et al., 2020). در این راستا، از میوه‌هایی مانند توت سیاه، شاه توت، زغال اخته، کلم قرمز، انگور سیاه، توت‌فرنگی، آلو،

آلودگی مواد غذایی، یکی از نگرانی‌های عمده مصرف‌کنندگان در دهه‌های اخیر است (Nerin et al., 2016). اگرچه آلودگی غذایی به دلایل مختلف شیمیایی، مکانیکی و بیولوژیکی در طول سال رخ می‌دهد، اما دلیل اصلی آلودگی مواد غذایی، بیماری ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌ها است (Kuswandi et al., 2011). اگرچه تعدادی از روش‌های شناسایی اولیه مانند رنگ ماده غذایی، بو و بافت غذا، معمولاً بیانگر کیفیت آن قبل از بسته‌بندی است، اما به دلیل قرار گرفتن در پوشش‌های بسته‌بندی، ارزیابی کیفیت غذا بعد از بسته‌بندی مشکل است (Ghaani et al., 2016). در چنین شرایطی، تکنولوژی پیشرفته بسته‌بندی مواد غذایی، برای ارتباط بهتر بین مصرف‌کننده و غذای بسته‌بندی شده، ضروریست. علاوه بر این، جامعه مدرن امروزی تمایل دارد که بسته‌بندی‌های مواد غذایی را با کمک نانوتکنولوژی بررسی کند. کاربرد فناوری‌های جدید در بسته‌بندی مواد غذایی، به منظور حفظ و ارزشیابی کیفیت غذا که معروف به NFP یا Novel Food Packaging است، می‌توان به دو بخش تقسیم کرد: بسته‌بندی فعال (AFP) (Active Food Packaging) و بسته‌بندی هوشمند (SFP) (Smart Food Packaging) (Sobhan et al., 2021; Ahari et al., 2021). بسته‌بندی هوشمند، وضعیت غذای بسته‌بندی شده را پیش می‌کند تا اطلاعاتی درباره کیفیت و مواد مغذی آن، قبل از مصرف فراهم کند. در حالی که در بسته‌بندی فعال، سازوکارهایی برای کنترل رشد میکروبی، رطوبت و اکسیداسیون وجود دارد. طبق آمار سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد، FAO، مقدار جهانی مصرف پلاستیک در بسته‌بندی مواد غذایی در سال ۲۰۱۹ میلادی بالغ بر ۳۷/۳ میلیون تن بوده است (FAO., 2019). برای محدود کردن مصرف این پلاستیک‌های رایج در بسته‌بندی مواد غذایی، بیونانو کامپوزیتها به عنوان اجزای عالی برای بسته‌بندی مواد غذایی مورد توجه ویژه قرار گرفته است (Wu et al., 2019). در دهه‌های گذشته، پلیمرهای طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر مانند سلولز، کیتوزان، آگار، پکتین و دیگر

که در واکنش سلول‌های بافت گیاهی یافت می‌شود، برحسب تغییرات pH می‌تواند در رنگ‌های مختلفی شامل قرمز، صورتی، آبی و سیاه، نمود پیدا کند. آنتوسیانین‌ها در همه جای گیاه از جمله برگ، ساقه، ریشه، گل و میوه می‌تواند وجود داشته باشد. البته این مواد، نقش‌های حفاظتی و ضدباکتریایی را نیز در گیاه ایفا می‌کنند. آنتوسیانین‌ها زیرمجموعه گروهی از مولکول‌ها به نام فلاونوئیدها هستند که از طریق مسیر فنیل پروپانوید ساخته می‌شوند (Davies KM., 2004). ساختار یک نوع آنتوسیانین به نام Malvidin 3, 5-glucoside در شکل ۱ نشان داده شده است (Davies KM., 2004). این ماده با قرار گرفتن درون بسته‌بندی مواد غذایی و تغییر pH، تغییر رنگ می‌دهد که می‌تواند فساد ماده غذایی را نشان دهد.

کلم قرمز و بادمجان که دارای رنگ‌های متنوعی هستند، می‌توان در ساخت بیوسنسورها استفاده کرد. میوه بادمجان (eggplant) با نام علمی *Solanum melongena* یکی از میوه‌های مورد استفاده در کشور است که به دلیل ویژگی‌های خاصی که دارد می‌تواند در تولید بیوسنسورها استفاده شود. طبق آمار رسمی FAO، ایران در سال ۲۰۱۹ با تولید ۶۷۰ هزار تن در سال، به عنوان پنجمین کشور تولیدکننده بادمجان در دنیا بوده است (FAO, 2021). اگر با فرض اینکه ۱۰ درصد از بادمجان را پوست آن تشکیل دهد، ضایعات پوست، رقم قابل ملاحظه‌ای خواهد شد که هم از جنبه اقتصادی و هم از نظر زیست‌محیطی قابل توجه است. در ساختار پوست بادمجان ترکیباتی مانند آنتوسیانین وجود دارد که می‌تواند در ترکیب بیونانوکامپوزیت‌ها به عنوان یک نشانگر استفاده شود. آنتوسیانین به عنوان یک رنگدانه (pigment) محلول در آب



شکل ۱- ساختار یک نوع آنتوسیانین به نام Malvidin 3, 5-glucoside

Figure 1. Structure of a type of anthocyanin: Malvidin 3, 5-glucoside (Davies KM., 2004)

یکی از مواردی است که تازگی و سلامت آن همیشه مورد توجه مصرف‌کنندگان بوده است. گوشت سالم گاو، هنگام ذبح به‌طور طبیعی دارای pH حدود ۷ است که پس از ۲۴ ساعت پس از ذبح، به دلیل تجزیه گلیکوزن به اسیدلاکتیک، pH آن به ۵/۴ تا ۵/۷ می‌رسد. بعد از این مرحله، pH به تدریج شروع به افزایش می‌کند که در محدوده pH برابر با ۶/۵، مستعد فاسد شدن می‌شود. در مورد فساد گوشت، آلودگی میکروبی یکی از مهمترین موارد آلوده‌کننده است. با توجه به اهمیت سلامت مواد گوشتی در تغذیه انسان، هدف از این تحقیق، بررسی استفاده از روش ساده، جدید و

یکی از اصلی‌ترین نشانه‌های فساد در محصولات غذایی غنی از پروتئین، از قبیل گوشت و ماهی، افزایش غلظت نیتروژن پایه فرار (total volatile basic nitrogen) یا TVBN است. TVBN در حقیقت شامل تری‌متیل‌آمین، دی-متیل‌آمین و آمونیاک است که در اثر شکست متابولیکی ماده غذایی، از اسیدهای آمینه حاصل می‌شود (Alamdari et al., 2020). با گذشت زمان، میزان TVBN در بسته‌بندی محصولات گوشتی افزایش می‌یابد که باعث افزایش pH در محفظه بسته‌بندی از حدود ۵/۳ به ۶/۵ می‌گردد (Hu et al., 2019). در بین مواد غذایی بسته‌بندی شده، گوشت گاو،

اسید فرمیک و با اسید فرمیک (سه قطره اسید فرمیک ۰/۲ درصد)، (Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2008; Davies KM., 2004) ریخته شد و بعد به مدت ۴۰ دقیقه با مگنت هم زده شد، در ادامه، محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه تحت عمل سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت (Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2008). سرباره، خارج شده و دوباره پنج میلی لیتر از حلال مذکور به محلول زیرین اضافه شده و دوباره مسیر هم زدن تا سانتریفیوژ تکرار گردید. در پایان، سرباره، خارج و عصاره زیرین، با استفاده از قیف بوخنر تحت مکش، صاف و جمع آوری شد (Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2013).

#### ساخت فیلم نانوسلولزی حساس به pH

ابتدا سوسپانسیون ۰/۲ درصد نانوسلولز بر مبنای وزن نانوسلولز (wt.%)، ساخته شد (Yong *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2012). هیدروژل یک درصد پلی وینیل الکل، بعد از ساخت، به عنوان بهبوددهنده اتصالات عرضی بین نانوسلولز و عصاره استخراجی، با نسبت سه (PVA) به هفت (CNF)، به سوسپانسیون اضافه گردید (Ozkan *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2014; Pereira, *et al.*, 2016). سپس عصاره استخراج شده از پوست بادمجان، با دو نسبت ۸ درصد و ۱۰ درصد نسبت به حجم سوسپانسیون حاصل، به سوسپانسیون اضافه شد و با همزن به مدت کافی، مخلوط گردید (Yong *et al.*, 2019). مخلوط حاصل درون ظروف پلی پروپیلن ریخته شد و به مدت ۳ روز در آن دارای دمای ۴۰ درجه سلسیوس، قرارداد شد (casting method). بعد از تشکیل فیلم و جدا کردن فیلم از ظروف پلی پروپیلن، چون فیلم های حاوی ۱۰ درصد عصاره، رنگ واضح تر و در آزمون های بعدی تغییر رنگ، تغییر رنگ واضح تری داشتند، مسیر ۱۰ درصد، انتخاب شد. فیلم حاصل با ابعاد سه در چهار سانتیمتر، درون بسته بندی های شفاف، حاوی ۵۰ گرم گوشت گاو تازه (بدون تماس با گوشت)، قرار گرفت. بسته بندی های ذکر شده، در دو مسیر مجزا و به موازات هم مسیر اول، سه

کاربردی برای ساخت بیوسنسور، با استفاده از دورریز مواد خوراکی و سازگار با محیط زیست (پوست بادمجان)، برای اطلاع مصرف کننده از وضعیت سلامت گوشت بسته بندی شده است.

#### مواد و روش ها

##### مواد

نانوفایبرسلولز (CNF) از شرکت نانونوین پلیمر ایران، خریداری گردید (نانوفایبرسلولز این شرکت با استفاده از روش مکانیکی سوپراسیاب، با قطر متوسط ۳۵ نانومتر، از انواع منابع سلولزی تهیه می شود). پلی وینیل الکل (PVA)، ساخت کشور چین، شرکت Wanwei، با کد ۲۴۸۸، با ویسکوزیته ۴۰ تا ۵۰ mPa.s و مقدار Ash کمتر از ۰/۷ درصد و pH بین ۵ تا ۷، خریداری گردید. پنتاسدیم تری فسفات ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ )، ساخت کشور چین، با مشخصات درصد خلوص ۹۸ درصد، جرم مولی ۳۶۷/۸۶ گرم بر مول و شماره شناسایی ۴-۲۹-۷۷۵۸ تهیه شد. واکنشگرهای مربوط به تعیین مقدار آنتوسیانین، شامل کلرید پتاسیم، اسید کلریدریک و استات سدیم و نیز ساخت محلول با pH های مختلف با استفاده از هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک، از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. بادمجان، از مزارع شهرستان قائم شهر در استان مازندران، تهیه شد.

#### روش ها

##### استخراج عصاره

ابتدا بعد از انتخاب بادمجان های سالم و شستشوی کامل، با یک چاقوی تیز، پوست آن جدا گردید. سپس در دمای اتاق (سایه) به مدت چهار روز، خشک شد و با کمک دستگاه خردکن خانگی، به یودر تبدیل گردید (Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2013; Todaro *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2008). سپس مقدار یک گرم از پوست بادمجان خرد شده، در دو مسیر مجزا، بدون عبور از الک و با عبور از الک (مش ۴۰)، به داخل ۱۰ میلی لیتر از حلال (متانول ۷۰ درصد) در حال هم خوردن که بازهم در دو مسیر مجزا، بدون

$$[(A510 - A700)_{pH1.0} - (A510 - A700)_{pH4.5}] = A$$

MW = وزن مولکولی آنتوسیانین از نوع delphinidin-3-glucoside، که برابر با ۴۶۵ گرم بر مول است.

DF = فاکتور رقیق‌سازی که برابر 2/25 است.

$\epsilon$  = ضریب جذب مولی مربوط به نوعی از آنتوسیانین، به نام delphinidin-3-glucoside بوده که برابر با ۲۹۰۰۰ لیتر بر مول بر سانتی‌متر است.

L = عرض استوانه کووت یا سیل آزمایشگاهی (مسافتی که نور در استوانه کووت حاوی عصاره، طی می‌کند) که برابر یک سانتی‌متر است.

#### تغییر رنگ فیلم‌ها در مجاورت گوشت

برای بررسی تأثیر فساد گوشت بر رنگ فیلم، دو مسیر مجزا انتخاب شد. ابتدا مقدار ۵۰ گرم گوشت تازه گاو، درون بسته‌بندی ظروف پلاستیکی پت (PET)، قرار گرفته و فیلم ساخته‌شده، بدون تماس با گوشت، به درب بالایی ظروف (قسمت داخلی)، چسبانده شد و درب ظروف پلاستیکی، محکم، بسته شد. تعدادی از ظروف حاوی نمونه، در یخچال و تعدادی دیگر، در هوای آزاد قرار داده شد. ضمناً تعداد دیگری از فیلم‌ها، درون بسته‌بندی ظروف پلاستیکی خالی (بدون گوشت)، چه در یخچال و چه در هوای آزاد، با طی همان مدت، به‌عنوان شاهد، قرار داده شد. پس از گذشت سه روز در هوای آزاد و هفت روز در یخچال، فیلم‌های مذکور، از ظروف بسته‌بندی خارج و تغییر رنگ آنها با فیلم‌های شاهد، مقایسه و بررسی گردید.

#### آنالیز رنگ‌سنجی (سیستم CIE-Lab)

تغییر رنگ فیلم‌های داخل بسته‌بندی، با دستگاه Colorimeter مدل ZB-A و سیستم تعیین رنگ CIE-Lab، بررسی شد.

#### آزمون UV-Visible Spectrophotometer

با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم و اسیدکلریدریک

روز در دمای محیط و مسیر دوم، هفت روز در یخچال، قرار گرفت و تغییر رنگ فیلم‌های مذکور بررسی شد. در مسیر دیگری با همان شرایط مشابه، از یک نوع اتصال‌دهنده عرضی (Cross linker) دیگر به نام پنتاسدیم‌تری‌فسفات ( $Na_5P_3O_{10}$ ) استفاده گردید. به این صورت که با اضافه کردن پنتاسدیم‌تری‌فسفات ۰/۱ درصد (w/v)، به میزان ۱/۵ درصد حجم کل مخلوط (Pereira *et al.*, 2014)، همان مسیر مشابه، طی شد. سپس فیلم‌ها تحت آزمون تعیین رنگ در سیستم CIELAB و آنالیز ساختاری XRD و FT-IR قرار گرفتند. همچنین عصاره، تحت آزمون‌های تعیین مقدار آنتوسیانین و نیز UV-Visible spectrophotometry، در pHهای مختلف، قرار گرفت.

#### تعیین مقدار آنتوسیانین

آزمایش تعیین مقدار آنتوسیانین، با ترکیب روش‌های مختلف و انتخاب بهترین شیوه، انجام گردید. ابتدا دو میلی‌لیتر از عصاره استخراج‌شده از دو روش مذکور (با و بدون الک، با و بدون اسید فرمیک)، با استفاده از محلول حاصل از ترکیب ۱۲۵ میلی‌لیتر محلول ۰۰۲ مولار کلریدپتاسیم و ۳۷۵ میلی‌لیتر محلول ۰۰۲ مولار اسیدکلریدریک، با pH برابر یک، به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس دو میلی‌لیتر دیگر از عصاره استخراج‌شده از روش‌های مذکور، با استفاده از محلول بافر با pH برابر ۴،۵، شامل ترکیب حاصل از ۴۰۰ میلی‌لیتر از محلول یک مولار  $CH_3CO_2Na$ ، ۲۴۰ میلی‌لیتر محلول یک مولار اسیدکلریدریک و ۳۶۰ میلی‌لیتر آب، به حجم ۲۵ میلی‌لیتر، رسانده شد (Rapisarda *et al.*, 2000). مقدار جذب نمونه‌های مذکور، در طول موجهای ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، تعیین شد و بعد با استفاده از فرمول زیر مقدار آنتوسیانین بدست آمد (Ulekbatche-Makhlouf *et al.*, 2013).

$$\text{مقدار آنتوسیانین } C \text{ (mg/l)} = \frac{A.MW.DF.1000}{\epsilon L}$$

که در رابطه ذکر شده:

### آنالیز FTIR

ساختار شیمیایی فیلم‌ها و پیوندهای بین مولکولی، از طریق طیف‌سنج تبدیل فوریر مادون قرمز (FT-IR, Cary 630, Agilent, US)، مطالعه گردید. طیف‌های جذب بین طول موج‌های بین ۴۰۰۰ و ۵۰۰  $\text{cm}^{-1}$ ، با مجموع ۱۷۹۷ اسکن برای هر نمونه، در دمای اتاق و درجه تفکیک‌پذیری ۴  $\text{cm}^{-1}$ ، ثبت و منحنی مربوطه رسم شد. نمودارهای نهایی با استفاده از نرم‌افزار OriginPro 2024، ترسیم شد.

### نتایج

#### تعیین مقدار آنتوسیانین

مقدار آنتوسیانین موجود در عصاره، طبق جدول ۱ به دست آمد.

و آب مقطر، محلول‌هایی با pHهای مختلف، ساخته شده و تغییر رنگ عصاره استخراج شده از پوست بادمجان، به صورت چشمی و نیز مقدار جذب نور مرئی با استفاده از دستگاه Double Beam Spectrophotometer UV-Visible مدل T92+ بررسی گردید.

### آنالیز XRD

فیلم‌های ساخته شده، با استفاده از دستگاه پراش اشعه ایکس، مدل GNR Explorer 2022، ۴۰ کیلوولت با زاویه پهنج تا ۸۰ درجه ( $2\theta$ )، با ۰.۰۰۱ گام، زمان اسکن یک ثانیه و با آند مس، تحت آنالیز قرار گرفت. رسم نمودارها و شاخص کریستالین، با استفاده از نرم‌افزار OriginPro 2024، انجام شد.

جدول ۱- مقدار آنتوسیانین در عصاره پوست بادمجان، با روش‌های عصاره‌گیری متفاوت

**Table 1- Amount of anthocyanin in eggplant peel extract, with different extraction methods**

Type of extraction method	Anthocyanin content (mg/L)
After mesh No.40, with formic acid	0.436
After mesh No.40, without formic acid	0.281
Without mesh, with formic acid	0.394
Without mesh, without formic acid	0.180

نمونه‌ها، با استفاده از اسید فرمیک و با عبور از الک، به دست آمد.

#### تغییر رنگ فیلم‌ها در مجاورت گوشت

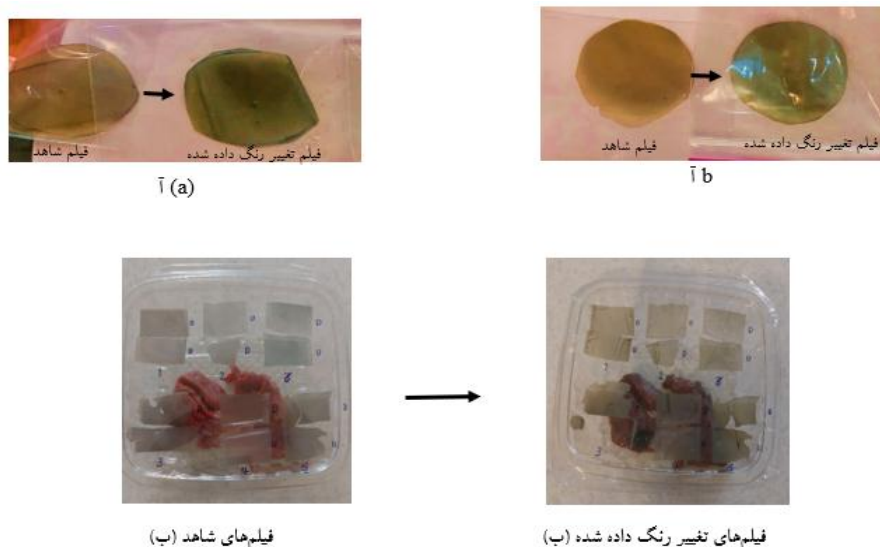
رنگ فیلم‌های داخل بسته‌بندی گوشت، در دو مسیر متفاوت، هفت روز در یخچال و سه روز در دمای محیط، تغییر کرد که شکل ۲ بیانگر تغییر رنگ مشهود در فیلم‌هاست.

#### آنالیز رنگ‌سنجی (سیستم CIE-Lab)

نتایج حاصل از طیف رنگی نمونه‌ها، در جدول ۲ ثبت شده است.

نتایج آزمون اسپکتروفوتومتر نشان داد که مقدار آنتوسیانین در نمونه‌های به دست آمده با حلال حاوی اسید فرمیک، دو برابر نمونه‌های بدون اسید فرمیک است، زیرا حضور اسید فرمیک در حلال، به منظور حذف ترکیبات ناخواسته مانند قندها، اسیدها، اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها است که می‌تواند در آنالیز تعیین مقدار آنتوسیانین، مؤثر باشد (Todaro *et al.*, 2009). همین‌طور نمونه‌های عبور کرده از الک، به علت دارا بودن ذرات ریز و هم‌اندازه که سطح دسترسی ماده شیمیایی به ذرات، نسبت به نمونه‌های بدون الک بیشتر است، دارای مقادیر بیشتری از آنتوسیانین، نسبت به نمونه‌های بدون الک هستند که در ادامه آزمایش‌ها، تمامی





شکل ۲- تغییر رنگ فیلم داخل بسته‌بندی گوشت. آ: پس از طی هفت روز در یخچال  
 مسیر PVA و b: مسیر  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  و ب: پس از سه روز در دمای محیط

Figure 2. Color change of the film inside the packaging of meat. A: after one week in the refrigerator (a: PVA path & b:  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  path) and B: after three days at ambient temperature.

جدول ۲- طیف رنگی فیلم‌های شاهد و فیلم‌های داخل بسته‌بندی مواد گوشتی

Table 2- Color spectrum of control films and films inside meat packaging

Samples	L	A	b	EA
(CNF + EA) Blank Film	60	-0.8	6.7	0
CNF+EA+PVA	54	3.5	8.4	7.57
(CNF+EA+PVA) meat	54	5.5	27	22.09
CNF+EA+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	53	-0.9	5.5	7.10
(CNF+EA+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) meat	53	1.2	22.7	17.58

و در فیلم‌های حاوی PVA، قبل از قرارگیری در محفظه بسته‌بندی، نسبت به فیلم شاهد، مقدار a به سمت مثبت، یعنی به سمت قرمزی پیش رفته ولی در نمونه‌های حاوی  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ، قبل از قرارگیری در محفظه بسته‌بندی، مقدار a، به مقدار خیلی کم، به سمت منفی، یعنی به سمت سبزی پیش رفته است. در مورد مقدار b برای نمونه‌های حاوی PVA، قبل از قرارگیری در محفظه بسته‌بندی، مقدار b افزایش و

اختلاف رنگ بین نمونه‌ها با استفاده از مقادیر مختصات مثلثی و رابطه:

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

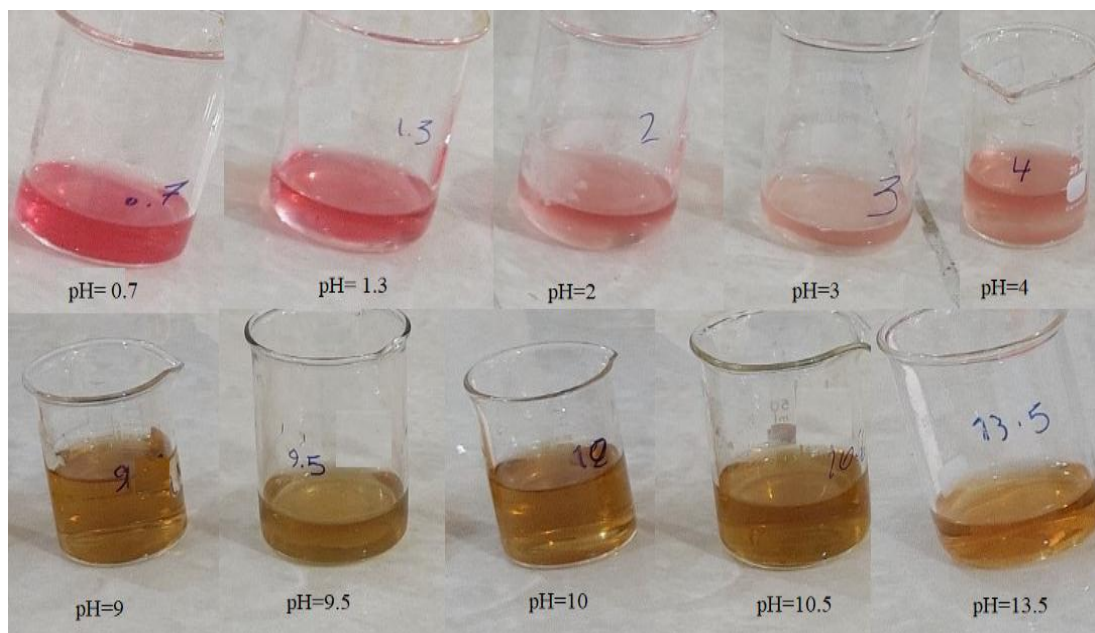
مشخص گردید. با مقایسه طیف‌های حاصل در جدول ۲، مشخص شد میزان سفیدی در نمونه‌های حاوی اتصال‌دهنده‌های عرضی، نسبت به فیلم شاهد، کاهش یافته

از شدت رنگ قرمز کاسته می‌شود. در pHهای بالا (۹ تا ۱۳)، عصاره به رنگ قهوه‌ای متمایل می‌شود. در تحقیقات پیشین (Erna *et al.*, 2022) هم ذکر شده که در pH بین یک تا سه، کاتیون فلاویوم تشکیل می‌گردد که مسبب ایجاد رنگ قرمز در pH مذکور است. در pH حدود پنج، مولکول آنتوسیانین با از دست دادن هیدروژن، تبدیل به ترکیب کاربینولی شده و در pH حدود هشت، ترکیب کینونی تشکیل می‌گردد. با افزایش pH (۱۲ تا ۱۴)، به دلیل تخریب آنتوسیانین در pHهای بالا، محلول به رنگ سبز تا قهوه‌ای، متمایل می‌گردد.

در نمونه‌های حاوی  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  قبل از قرارگیری در محفظه بسته‌بندی، مقدار b کمی کاهش داشته است. ولی در هر دو نمونه، پس از قرارگیری در بسته‌بندی و تغییر رنگ در اثر فساد گوشت، به‌ویژه در محور b، افزایش شدیدی داشته که حکایت از تغییر رنگ نمونه‌ها و متمایل به زرد شدن پس از گذشت زمان در مجاورت گوشت دارد.

### آزمون UV-Visible Spectrophotometer

همان‌طور که با چشم غیر مسلح قابل مشاهده است (شکل ۳)، در pH زیر ۲، عصاره به رنگ قرمز پررنگ درمی‌آید. در pHهای بالاتر از پنج، به دلیل تشکیل ترکیب پایه کینونی،



شکل ۳- تغییر رنگ عصاره استخراج شده از پوست بادمجان در pHهای مختلف  
Figure 3. Color change of extract from eggplant peel at different pH

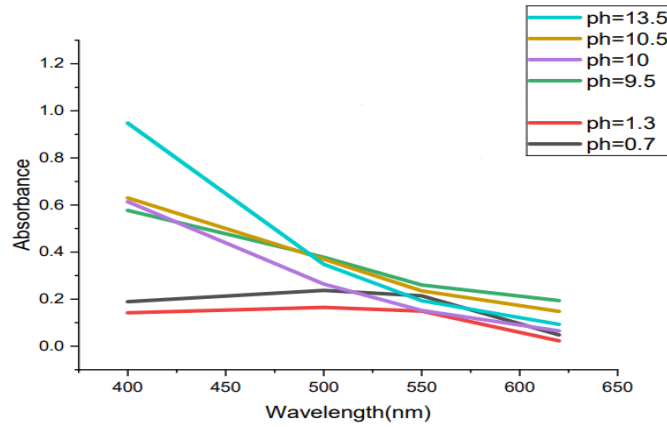
رنگ قرمز شده است. در pH بالای ۹ هم سیر نزولی منحنی تا ۵۵۰ نانومتر و بعد در ادامه با شیب کمتر، بیانگر بیشترین جذب در ۴۰۰ تا ۴۳۰ نانومتر و بازتابش نور زرد مایل به سبز است.

محلول‌های مذکور، در pHهای مختلف، با استفاده از دستگاه UV-Visible Spectrophotometer، بررسی شد. طبق منحنی‌های به دست آمده در شکل ۴، در pH زیر ۳، بیشترین جذب در طول موج ۵۰۰ تا ۵۲۰ نانومتر است که مربوط به جذب طیف نور سبز و بازتابش نور قرمز (براساس آنالیز رنگ‌سنجی CIE-Lab) بوده که محلول حاصل نیز به

### آنالیز XRD

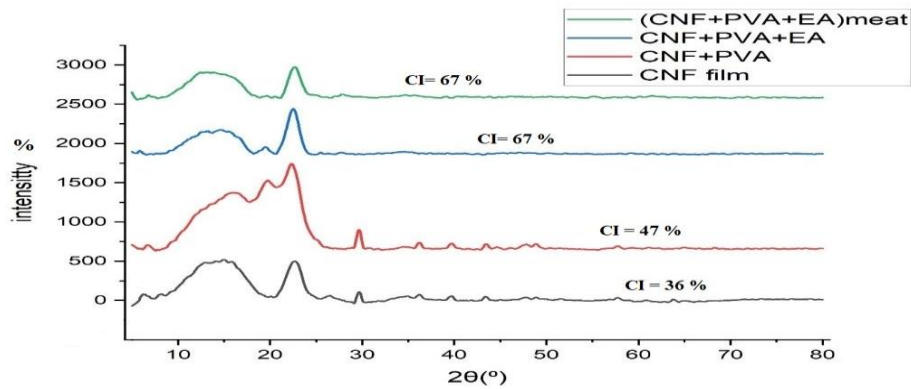
رسم نمودارها و شاخص کریستالیت، با استفاده از

نرم افزار OriginPro 2024، انجام شد (شکل ۵ و ۶).



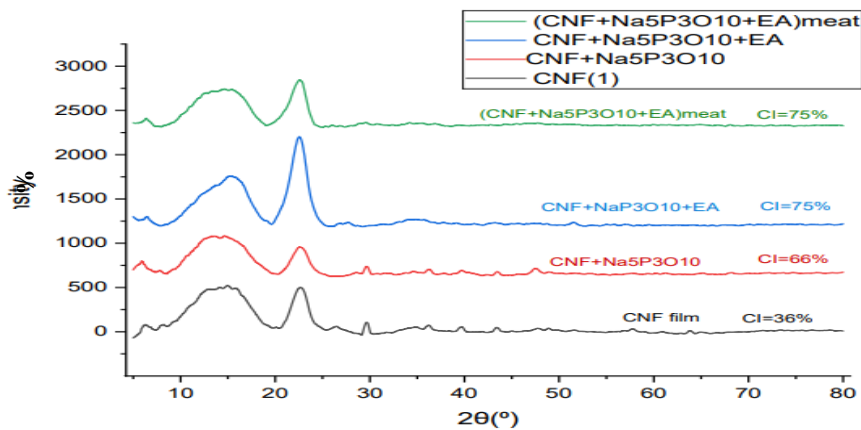
شکل ۴- طیف نور مرئی عصاره در pHهای مختلف

Figure 4. The visible light spectrum of the extract at different pH



شکل ۵- الگوی پراش اشعه ایکس مربوط به فیلم‌های ساخته شده و فیلم داخل بسته بندی مواد گوشتی (مسیر PVA)

Figure 5. X-ray diffraction pattern of the films made and the film inside the packaging of meat products (PVA path)



شکل ۶- الگوی پراش اشعه ایکس مربوط به فیلم‌های ساخته شده و فیلم داخل بسته بندی مواد گوشتی (مسیر  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ )

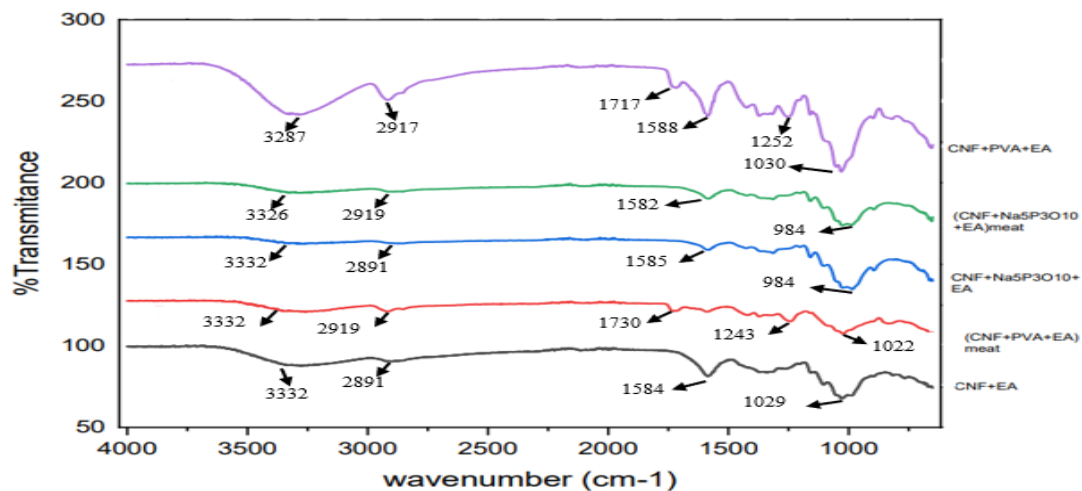
Figure 6. X-ray diffraction pattern of the films made and the film inside the packaging of meat products ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  path)

درجه، شدت پیک، بالا رفته و در اینجا هم چون بستر ساخت فیلم، سلولز نانوفایبر می‌باشد، شبیه الگوی پراش اشعه ایکس سلولز I است. ضمناً با توجه به درجه کریستالیت، مشخص شد که افزودن  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  و عصاره، باعث افزایش درجه کریستالیت شده، در حالی که قرارگیری در محفظه بسته‌بندی مواد گوشتی، تأثیر چندانی بر کریستالیت نداشته است.

### آنالیز FTIR

با استفاده از نرم‌افزار OriginPro 2024، منحنی مربوط به طیف حاصل از آنالیز FTIR نمونه‌ها، ترسیم شد (شکل ۷).

طبق نمودارهای به‌دست‌آمده برای مسیر PVA، پیک‌های حاصل در ۱۵ درجه و ۲۲۰۵ درجه، منطبق بر الگوی پراش اشعه ایکس سلولز I است که به ترتیب، مربوط به صفحات ۱۰۱ و ۰۰۲ سلولز I است. با توجه به اینکه، بستر ساخت فیلم، سلولز نانوفایبر می‌باشد، الگوهای پراش اشعه ایکس، شبیه نانوسلولز است. با بررسی نمودارها، پیداست که با اضافه کردن PVA و عصاره به فیلم نانوسلولزی، درجه کریستالیت سیر صعودی داشته ولی فیلم‌هایی که در بسته‌بندی تحت تأثیر گوشت فاسد قرار گرفتند، تغییر خاصی در میزان کریستالیت آنها، مشاهده نشد. در مورد مسیر  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  با توجه به منحنی‌ها، مشخص می‌گردد که در ۱۵ درجه و ۲۲۰۵



شکل ۷- طیف FTIR فیلم‌های ساخته‌شده و فیلم‌های داخل بسته‌بندی مواد گوشتی در دو مسیر مجزا شامل PVA و  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$   
Figure 7. FTIR spectra of the manufactured films and the films inside the packaging of meat products in two separate paths including PVA and  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$

ساختارهای آنتوسیانین، نانوسلولز و پلی‌وینیل‌الکل است (Choi et al., 2016; Soni et al., 2015). جذب در طول موج  $1580\text{ cm}^{-1}$ ، مربوط به ارتعاش کششی حلقه آروماتیک و باندهای دوگانه  $\text{C}=\text{C}$ ، در ساختار آنتوسیانین است. جذب در طول موج محدوده ۱۷۱۷ تا  $1730\text{ cm}^{-1}$ ، فقط در فیلم‌های حاوی پلی‌وینیل‌الکل، مربوط به ارتعاش کششی باندهای دوگانه  $\text{C}=\text{O}$  است که حکایت از تأثیر متقابل حلقه‌های آروماتیک، آنتوسیانین و PVA و تشکیل پیوند

با توجه به شکل ۷، میزان جذب در طول موج‌های  $\text{cm}^{-1}$  ۳۲۸۷ تا  $3332\text{ cm}^{-1}$ ، مربوط به جذب پیوندهای OH، در نانوفایبر سلولز، آنتوسیانین و پلی‌وینیل‌الکل است. ضمن اینکه در فیلم حاوی پلی‌وینیل‌الکل، محدوده جذب در طول موج مذکور، با توجه به ماهیت ساختاری این ماده، گسترده‌تر است (Safitri et al., 2021; Choi et al., 2016; Soni et al., 2015). جذب در محدوده طول موج  $2890\text{ cm}^{-1}$  تا  $2919\text{ cm}^{-1}$ ، مربوط به ارتعاش کششی باند C-H، در

قهوه‌ای مایل به سبز است. در ادامه، فیلم ساخته‌شده، داخل بسته‌بندی گوشت قرار گرفت. آنالیز رنگ‌سنجی (سیستم CIE-Lab)، نشان از افزایش شدید فاکتور  $b$  و زردی نسبی نمونه‌ها پس از فساد گوشت است. اصول اولیه این آنالیز، بیانگر این است که اگر  $\Delta E$  دو نمونه، سه واحد با هم اختلاف داشته باشد، رنگ دو نمونه، به راحتی با چشم غیر مسلح قابل تفکیک است (Golasz *et al.*, 2013). در آنالیز مذکور هم مقدار  $\Delta E$ ، در فیلم‌های حاوی PVA، نسبت به فیلم‌های پس از فساد گوشت، ۱۵ واحد افزایش و در فیلم‌های حاوی  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ، نسبت به فیلم‌های پس از فساد گوشت، ۱۰ واحد افزایش داشته که حکایت از تغییر شدید رنگ فیلم‌ها پس از فساد گوشت دارد که با چشم غیر مسلح، به راحتی قابل تشخیص است. در آنالیز XRD، درجه کریستالیت فیلم‌ها بررسی شد که نتایج نشان داد، افزودن اتصال‌دهنده عرضی (Cross Linker) و آنتوسیانین، به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی جدید (Erna *et al.*, 2022; Ueda *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022; Anghel *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2020)، باعث افزایش درجه کریستالیت شده است. ولی تغییر رنگ نمونه‌ها پس از فساد گوشت، تأثیری بر درجه کریستالیت ندارد. نتایج آزمون FT-IR، نشان از تغییر در ساختار آنتوسیانین و ایجاد برهم‌کنش بین آنتوسیانین، اتصال‌دهنده عرضی و سلولز نانوفایبر و تغییر باندهای ارتعاشی پیوندهای مربوطه است. با بررسی طیف مربوط به فیلم‌های مختلف، مشخص می‌گردد که تغییرات در ساختار فیلم‌های حاوی PVA، قبل از قرارگیری در بسته‌بندی گوشت، شدیدتر بوده است که به دلیل ماهیت ساختار پلی‌وینیل الکل و تمایل آن برای ایجاد پیوند با سلولز نانوفایبر و آنتوسیانین است. سخن آخر اینکه در آینده، می‌توان به‌طور گسترده از فیلم‌های ساخته‌شده بر مبنای نانوسلوز، اتصال‌دهنده عرضی و آنتوسیانین استخراج شده از پوست بادمجان، به عنوان حسگرهای هوشمند دوستدار محیط‌زیست، در صنعت گوشت برای نظارت بر تازه بودن انواع گوشت، مانند گوشت گاو، گوشت مرغ و انواع ماهی و میگو استفاده کرد.

مذکور دارد (Sonker *et al.*, 2017). جذب در طول موج‌های بین ۹۸۰ تا  $1250 \text{ cm}^{-1}$ ، متعلق به منطقه اثر انگشت و مربوط به پیوندهای بین کربن و هیدروژن است.

## بحث

در این پژوهش، ابتدا مناسب‌ترین روش برای استخراج عصاره پوست بادمجان، استفاده شد. نتایج آزمون اسپکتروفوتومتری نشان داد که مقدار آنتوسیانین در روش استخراج عصاره با اسید فرمیک، دو برابر استخراج بدون اسید فرمیک است. علت این موضوع، کمک به پایداری کاتیون فلاویلوم که در شرایط اسیدی قوی (pH حدود ۳) ثبات دارد، است که از اسید ضعیف (اسید فرمیک) استفاده شده است (Tena & Asuero, 2022). در ادامه، با موفقیت، یک فیلم پلیمری زیستی، با آنتوسیانین موجود در عصاره پوست بادمجان، در بستری از نانوسلوز، ساخته شد. خصوصیات ساختاری فیلم نشان داد که آنتوسیانین و نانوفایبر سلولز می‌توانند با کمک اتصال‌دهنده عرضی، توسط پیوندهای هیدروژنی، با یکدیگر اتصال برقرار کنند. عصاره استخراجی، نسبت به سطوح مختلف pH، واکنش حساسی را ایجاد کرد، به طوری که از رنگ قرمز در pH اسیدی، به رنگ قهوه‌ای و زرد مایل به سبز در pH قلیایی، تغییر کرد. این تغییر رنگ، ناشی از تغییر در ساختار آنتوسیانین بوده که معروف به تشکیل کاتیون فلاویلوم است. در pH پایین، مولکول سیانیدین، پروتون‌دار شده و تشکیل یون مثبت یا کاتیون می‌دهد. وقتی pH افزایش می‌یابد، مولکول، پروتون از دست داده و تشکیل یون منفی یا آنیون می‌دهد که باعث تغییر رنگ از قرمز به قهوه‌ای مایل به سبز می‌شود (Wahyuningsih *et al.*, 2017). نتایج آزمون UV-Visible spectrophotometry عصاره نیز نشان داد که در pH اسیدی، بیشترین جذب در طول موج ۵۰۰ تا ۵۲۰ نانومتر است که مربوط به جذب طیف نور سبز و بازتابش نور قرمز و قرمز شدن محلول است. در pH قلیایی هم سیر نزولی منحنی تا ۵۵۰ نانومتر و بعد در ادامه با شیب کمتر، بیانگر جذب در ۴۰۰ تا ۴۳۰ نانومتر و بازتابش نور زرد و

## References

- Ahari, H. and Soufiani, S., 2021. Smart and active food packaging insights in novel food packaging. *Frontiers in Microbiology*, 12: 657233.
- Alamdari, NE., Aksoy, B., Aksoy, M., Beck, BH. and Jiang, Z., 2020. A novel paper-based and pH-sensitive intelligent detector in meat and seafood packaging. *Talanta*, 224: 121913.
- Anghel, N., Dinu, MV., Zaltariov, M., Pamfil, D. and Spiridon, L., 2021. New cellulose-collagen-alginate materials incorporated with quercetin, anthocyanins and lipoic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181: 30-40.
- Boulekbache-Makhlouf, L., Medouni, L., Medouni-Adrar, S., Arkoub, L. and Madani, K., 2013. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Industrial Crops and Products*, 49: 668– 674.
- Campos-Requena, VH., Rivas, BL., Perez, MA., Garrido-Miranda, KA. and Pereira, ED., 2018. Release of essential oil constituent from thermoplastic starch/layered silicate bio nanocomposite film as a potential active packaging material. *European Polymer Journal*, 109: 64-71.
- Choi, I., Lee, JY., Lacroix, M. and Han, J., 2016. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 218: 122-128.
- Davies, KM., 2004. *Plant Pigments and Their Manipulation*, Annual Plant Reviews, Volume 14. CRC Press, USA, 352p.
- Erna, KH., Felicia, WXL., Vonnie, JM., Rovina, K., Yin, KH. and Nur'Aqilah, MN., 2022. Synthesis and physicochemical characterization of polymer film-based anthocyanin and starch. *Biosensor*, 12(4): 211.
- Ghaani, M., Cozzolino, CA., Castelli, G. and Farris, S., 2016. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology*, 51: 1-11.
- Golasz, LB., Silva, J. and Silva, SB., 2013. Film with anthocyanin as an indicator of chilled pork deterioration. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Food Science and Technology)*, 33 (suppl 1).
- Golmohammadi, H., Morales-Narvaez, E., Naghdi, T. and Merkoci, A., 2017. Nanocellulose in sensing and biosensing. *Chemistry of Materials*, 29(13): 5426-5446.
- Hu, Y., Wang, Y. and Tang, Y., 2019. Analysis of the correlation between the freshness indices of pork and its pork exudate. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*, 23: no.1.
- Kuswandi, B., Wicaksono, Y., Jayus., Abdullah, A., Heng, LY. and Ahmad, M., 2011. Smart packaging: sensors for monitoring of food quality and safety. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 5: 137-146.
- Liang, T. and Wang, L., 2017. A pH-sensing film from tamarind seed polysaccharide with litmus lichen extract as an indicator. *Polymers*, 10(1): 1-10.
- Maciel, VBV., Yoshida, CMP. and Franco, TT., 2015. Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. *Carbohydrate Polymers*, 132: 537-545.
- Nerin, C., Aznar, M. and Carrizo, D., 2016. Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48: 63-68.
- Neubauerova, K., Carneiro, MCG., Rodrigues, LR., Moreira, FTC. and Sales, MGF., 2020. Nanocellulose-based biosensor for colorimetric detection of glucose. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 29: 100368.
- Ozkan, M., Karakoç, A., Borghei, M., Wiklund, J., Rojas, OJ. and Paltakari, J., 2019. Machine learning assisted design of tailor-made nanocellulose films: a combination of experimental and computational studies. *Polymer Composites*, 40(10): 4013-4022.
- Pereira Jr, VA., de Arruda, INQ. and Stefani, R., 2014. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43: 180-188.
- Phan, D., Debeaufort, F., Luu, D. and Voilley, A., 2005. Functional properties of edible agar-based and starch-based films for food quality preservation. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4): 973-981.
- Rapisarda, P., Fanella, F. and Maccarone, E., 2000. Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanins in Blood Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): 2249-2252.
- Safitri, E., Humaira, H., Murniana, M., Nazaruddin, N., Iqhrammullah, M., Md Sani, ND., Esmaili, CH., Susilawati, S., Mahathir, M. and Nazaruddin, SL., 2021. Optical pH Sensor Based on Immobilization Anthocyanin from *Dioscorea alata* L. onto Polyelectrolyte Complex Pectin-Chitosan Membrane for a Determination Method of Salivary pH. *Polymers*, 13(8): 1276.
- Sobhan, A., Muthukumarappan, K. and Wei, L., 2021. Biosensors and biopolymer-based nanocomposites for smart food packaging: challenges and opportunities. *Food Packaging and Shelf Life*, 30: 100745.
- Sobhan, A., Muthukumarappan, K., Cen, Z. and Wei, L., 2019. Characterization of nanocellulose and activated carbon nanocomposite films' biosensing properties for smart packaging. *Carbohydrate Polymers*, 225: 115189.

- Song, T., Tanpichai, S. and Oksman, K., 2016. Cross-linked polyvinyl alcohol (PVA) foams reinforced with cellulose nanocrystals (CNCs). *Cellulose*, 23: 1925-1938.
- Soni, B., Hassan, EB. and Mahmoud, B., 2015. Chemical isolation and characterization of different cellulose nanofibers from cotton stalks. *Carbohydrate Polymers*, 134: 581-589.
- Sonker, AK., Rathore, K., Nagarale, RK. and Verma, V., 2017. Crosslinking of Polyvinyl Alcohol (PVA) and Effect of Crosslinker Shape (Aliphatic and Aromatic) Thereof. *Journal of Polymers and the Environment*, 26: 1782-1794.
- Tena, N. and Asuero, AG., 2022. Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants*, 11(2): 286.
- Todaro, A., Cimino, F., Rapisarda, P., Catalano, AE., Barbagallo, RN. and Spagna, G., 2008. Recovery of anthocyanins from eggplant peel. *Food Chemistry*, 114(2): 434-439.
- Ueda, T., Ishigami, A., Thumsorn, S., Kurose, T., Kobayashi, Y. and Ito, H., 2022. Structural, Rheological, and Mechanical Properties of Polyvinyl Alcohol Composites Reinforced with Cellulose Nanofiber Treated by Ultrahigh-Pressure Homogenizer. *Materials today communications*, 33: 104316.
- Vilela, C., Moreirinha, C., Domingues, EM., Figueiredo, FML., Almeida, A. and Freire, CSR., 2019. Antimicrobial and Conductive Nanocellulose-Based Films for Active and Intelligent Food Packaging. *Nanomaterials*, 9(7): 980.
- Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Wartono, MW., Munawaroh, H. and Ramelan, AH., 2017. The Effect of pH and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193: 012047.
- Wang, SY., Bowman, L. and Ding, M., 2008. Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus* sp.) and promotes antiproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry*, 107(3): 1261-1269.
- Wu, C., Sun, J., Lu, Y., Wu, T., Pang, J. and Hu, Y., 2019. In situ self-assembly chitosan/ $\epsilon$ -polylysine bio nanocomposite film with enhanced antimicrobial properties for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132: 385-392.
- Www.fao.org/newsroom/detail/plastics in agrifood systems the good the bad and the ugly/en.
- Yang, Y., Yu, X., Zhu, Y., Zeng, Y., Fang, C., Liu, Y., Hu, S., Ge, Y. and Jiang, W., 2022. Preparation and application of a colorimetric film based on sodium alginate/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with rose anthocyanins. *Food Chemistry*, 393: 133342.
- Yong, H., Wang, X., Bai, R., Miao, Z., Zhang X. and Liu, J., 2019. Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. *Food Hydrocolloids*, 90: 216-224.
- 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.
- Yoshida, CMP., Maciel, VBV., Mendonca, MED. and Franco, TT., 2013. Chitosan biobased and intelligent films: monitoring pH variations. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1): 83-89.
- Yousefi, P., Hamed, S., garmaroody, ER. and Koosha, M., 2020. Antibacterial nanobiocomposite based on halloysite nanotubes and extracted xylan from bagasse pith. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160: 276-287.
- Zhou, YM., Fu, SY., Zheng, LM. and Zhan, HY., 2012. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly (vinyl alcohol) nanocomposite films. *Express Polymer Letters*, 6(10): 794-804.