Agricultural Engineering (Scientific Journal of Agriculture), 43 (3), Autumn, 2021

Research Article

Agricultural Engineering., 43(3) (2020) 331-348 ISSN (P): 2588-526X
DOI: 10.22055/AGEN.2020.32308.1543 ISSN (E): 2588-5944

The effect of Chitosan-clay nano composite, wax coatings and olive oil on some quality properties of sweet lemon during shelf-life storage

F. Moradi Ganjeh[1], R. Meamar Dastjerdi[2*], M. Heydari[3] and M.A. Movahed Nezhad[4]

1- M.Sc. student of Biosystems Engineering Department, Department of Agricultural Machinery and Mechanization Engineering, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
2- Assistant Professor, Department of Agricultural Machinery and Mechanization Engineering, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
3- Associate professor, Department of Horticultural Science Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
4- Assistant professor of Agricultural Engineering Department, Shahrood University of Technology, Semnan, Iran.

Received: 14 February 2020 Accepted: 12 August 2020

Abstract

Introduction: Citrus fruit is a major agricultural product worldwide and a favorite in the diet. The most well-known varieties of citrus fruits include oranges, lemons, grapefruits and tangerines. Cultivation of sweet lemon requires a specific climate situation found in many regions of Iran. However, the high-quality cultivars are in Jahrom, Ghasre Shirin, Dezfool, Jiroft and south of Iran. Two major limitations of long-term storage for citrus fruits include decay caused by pathogens (especially fungi skin fruit damage) and water loss, which could cause wrinkles and reduce product marketability and consumer acceptability. Edible coatings are one of the most effective methods to maintain the fruit quality. Today, edible coatings can preserve citrus quality and provide attractive approach to satisfactory performance. Chitosan is used for film or edible coatings to extend the shelf life of foods such as fruits, meat and fish and foods. The results of several studies indicated the effective role of chitosan in controlling fruit quality during storage. Wax in the fruit is used to prevent moisture loss and wrinkle; furthermore, it maintains the appearance of the product and its marketability. Thus, the final goal of this study is to investigate the effect of edible coatings (chitosan-clay Nano composite, Wax coatings and olive oil) on some quality attributes of sweet lemon during shelf-life storage.

Materials and Methods: Sweet lemon's fruits (216 N.) were harvested randomly from a citrus orchard in Dezfool, Iran. The samples immediately were sent into the laboratory for storage after necessary treatments. All fruits were disinfected by immersion in 4% chlorox for 3 minutes and then dried. Chitosan with low molecular weight (43 KD) was bought from Sigma Aldrich Company. Clay was purchased from Sefid Sang Aligoodarz Company and wax coating was provided from Pooshesh Hayat Sabz Company. The chitosan-clay coating was prepared by dissolving a mixture of chitosan (3w/v% to solution), clay (5, 10 and 15% wt to chitosan) and glycerol (10v/w% to chitosan) and tween 80(5% v/w to chitosan) in acid lactic solution (2%). Nano structure of chitosan-clay nano-composite was approved by XRD analysis. The chemical parameters of fruit juice such as TSS (%), pH and TA (%) of lemon juice were measured. TSS was determined by digital refractometer (model MA882, made in Japan). pH was measured by pHmeter (portable p-755 model) and TA was determined by AOAC standard method. The experiment was performed at three levels of chitosan-clay nanocomposite, olive oil, Carnoba wax and uncoated samples during 12 days shelf-life storage. The experimental design was factorial

© 2020 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

based on completely randomized design with three replications. Limon samples were maintained at ambient temperature of 25 ℃ and relative humidity of 80-85%. Chemical characteristics (pH, citric acid, fruit juice TSS, vitamin C) and mechanical characteristics (weight loss percentage, sphericity coefficient, maximum shear force, maximum fracture force and maximum tensile strength of the fruit skin) were measured during storage.

Results and Discussion: The results of experiments showed that vitamin C content decreased during storage. But this decrease was slower in the different percentages of chitosan-clay, olive oil coating and carnoba wax than in the control samples.

The results showed the significant differences at 1% and 5% levels between different coatings at maximum fracture force, percent weight loss and pH. In addition, the effect of storage times on TSS, pH and maximum fracture force was significant. The lowest and highest percentage of weight loss for uncoated samples and olive oil coating were 12.3% and 10.23%, respectively. Results showed that the coating had better performance in preserving the quality of properties of fruits than the uncoated samples and 5% chitosan-clay nanocomposite coatings had higher performance than the other coatings.

Conclusion: In this study, the effect of chitosan-clay nanocomposite, olive oil, Carnoba wax and uncoated samples during 12 days shelf-life storage on Chemical characteristics (pH, citric acid, fruit juice TSS, and vitamin C) and mechanical characteristics (weight loss percentage, sphericity coefficient, maximum shear force, maximum fracture force and maximum tensile strength of the fruit skin) were investigated. The results of this study showed that 5% chitosan-clay nanocomposite coatings had higher performance than the other coatings.

Key words: Sweet lemon, nanocomposite, clay, chitosan, mechanical properties, chemical properties, shelf life

مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی) جلد ۴۳ شماره ۳، پائیز ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پوشش‌های نانوکامپوزیت کیتوسان-رس، واکس و روغن زیتون روی برخی ویژگی‌های کیفی لیموشیرین در طی انبارمانی عمر قفسه‌ای

فاطمه مرادی گنجه[۱]، رسول معمار دستجردی[۲*]، مختار حیدری[۳] و محمد هادی موحدنژاد[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مکانیک بیوسیستم ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران
۲- استادیار گروه ماشینهای کشاورزی و مکانیزاسیون، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران
۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران
۴- استادیار گروه مهندسی کشاورزی، عضو هیات علمی دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۲

کلمات کلیدی:
لیمو شیرین،
نانو کامپوزیت،
کیتوسان،
رس،
خواص مکانیکی،
خواص شیمیایی،
انبارمانی،

* عهده دار مکاتبات

Email: rasoul.memar@gmail.com

چکیده

مرکبات به عنوان یک محصول عمده و قابل دسترس در تمام جهان و میوه‌ای محبوب در رژیم غذایی است. پوسیدگی ناشی از عوامل بیماری‌زا به‌خصوص قارچ‌ها، وارد آمدن آسیب به پوست میوه ،کاهش رطوبت و چروکیدگی پس از برداشت همگی سبب کاهش بازار پسندی این محصول می‌گردند. استفاده از پوشش‌های خوراکی یکی از مؤثرترین راه‌ها در حفظ کیفیت میوه‌ها است. لذا در این پژوهش کیفیت میوه لیموشیرین بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با پوشش خوراکی نانوکامپوزیت کیتوسان-رس در سه سطح(۵، ۱۰ و ۱۵ درصد)، روغن زیتون و واکس کارنوبا در مقایسه با نمونه بدون پوشش طی ۱۲ روز انبارمانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های لیموشیرین در شرایط محیطی با دمای ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۸۰، ۸۵ درصد نگهداری شدند و ویژگی‌های شیمیایی، pH، اسیدیته ، TSS آب میوه، درصد کاهش وزن، ویتامین سی و ویژگی‌های مکانیکی، ضریب کرویت، ، حداکثر نیروی برش پوست، حداکثر نیروی شکست وحداکثر نیروی کشش پوست میوه طی دوره انبارمانی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪ بین پوشش‌های مختلف در حداکثر نیروی شکست، درصد کاهش وزن و pH بود. در ضمن تاثیر زمان‌های مختلف انبارمانی بر میزان مواد جامد محلول در آب، pH و حداکثر نیروی شکست نیز معنی‌دار بود. پوشش کیتوسان-رس ۵ ٪ کمترین میزان درصد کاهش وزن را داشت و بیشترین میزان درصد کاهش وزن به ترتیب برای تیمار بدون پوشش و روغن زیتون ۱۲/۳ و ۱۰/۲۳ درصد بود. به طور کلی نتایج نشان داد میوه‌های پوشش داده در حفظ خواص کیفی و مکانیکی نسبت به نمونه‌های بدون پوشش عملکرد بهتری داشتند و در بین پوشش‌های مصرف شده پوشش نانو کامپوزیت کیتوسان-۵ ٪ رس موفقیت بالاتری در حفظ خواص مکانیکی و شیمیایی نسبت به سایر پوشش‌ها داشت.

مقدمه

مرکبات به عنوان یک محصول عمده و قابل دسترس در تمام جهان و میوه‌ای محبوب در رژیم غذایی است. شناخته‌شده‌ترین گونه‌های تجاری مرکبات شامل پرتقال، لیمو، گریپ‌فروت و نارنگی هستند. مرکبات در بیش از ۱۴۰ کشور در سراسر جهان پرورش داده می‌شوند. بیشترین تولید انواع مرکبات در دو طرف خط استوا در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه شمالی و جنوبی و عمده تمرکز آن در منطقه وسیعی از نیمکره شمالی است(۲۸). مرکبات یکی از مهم‌ترین محصولات باغی در جهان با تولید سالانه‌ی ۱۳۶ میلیون تن می‌باشد و کشور ایران ازنظر تولید مرکبات مقاوم هفتم جهان را به خود اختصاص داده است(۱۴). لیموشیرین با نام علمی (*Citrus limetta L.*) متعلق به تیره مرکبات سانان (*Rutaceae*) و از جنس مرکبات (*Citrus*) است(۱۷).یکی از مشکلات تجاری میوه وسبزی‌ها عمر کوتاه پس از برداشت آنها است(۴۴). تولید لیموشیرین در تعداد محدودی از کشورها از جمله ایران صورت می‌گیرد. قصرشیرین، دزفول، جهرم و جیرفت از بهترین مناطق پرورش لیموشیرین در ایران هستند. در ایران تولید لیموشیرین به دلیل شرایط آب و هوایی خاص مورد نیاز این گیاه، منحصر به مناطق جنوب کشور است(۱). کیتوسان یک پلیمر و ماکرومولکول طبیعی شبیه سلولز است. کتین و سلولز هر دو پلی‌ساکارید هستند. کیتوسان در ابتدا به‌عنوان ماده‌ای با پتانسیل زیست فعال معرفی شد(۳۴). کتین دارای مشتقات مختلفی با کاربردهای درمانی گوناگون به صورت شیمیایی و آنزیمی با اثرات ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد سرطانی و ضد کلسترولی می‌باشد. کیتوسان از دی‌استیله شدن کیتین پوسته سخت پوستانی مثل خرچنگ و میگو و تبدیل به شکل نمک‌های آمینی محلول تولید شده است. حضور گروه‌های آمینو ابتدایی واکنش دار ویژگی خاصی را در کیتوسان ایجاد کرده که در کاربردهای داروسازی مفید است(۶). کیتوسان با وزن مولکولی کم، تأثیر بسزایی در کاهش فعالیت ضد قارچی دارد و بیشتر در حفظ کیفیت مرکبات مؤثر است(۹). از کیتوسان به‌منظور فیلم یا پوشش خوراکی برای افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی مثل میوه‌ها، گوشت و ماهی استفاده می‌شود(۷). نتایج تحقیقات متعدد نشان‌دهنده نقش مؤثر کیتوسان در کنترل پوسیدگی میوه‌ها در طی دوره انبارمانی می‌باشد(۴۷). در پژوهشی که روی نارنگی، پرتقال و گریپ فورت صورت گرفت ابتدا میوه‌ها به مدت ۴ هفته و در دمای ۵ درجه سلسیوس انبارمانی شدند. بعد از آن به مدت ۵ روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند سپس محققین با استفاده از یک لایه خوراکی مبتنی بر کربوکسی متیل سلولز و کیتوسان برای حفظ کیفیت و مدت انبارمانی دریافتند که این پوشش در براق نگه‌داشتن و صاف بودن پوست میوه مخصوصاً پرتقال و گریپ فورت همچون موم پلی‌اتیلن تجاری تأثیر دارد، اما در جلوگیری از کاهش وزن بعد از انبارمانی موفق نبود. علاوه براین کیفیت عطر و طعم در نارنگی کاهش یافت ولی در پرتقال و گریپ فورت تغییر چندانی رخ نداد(۳). عمل واکس زدن یا چرب کردن عبارت است از ایجاد پوشش نازک واکس روی سطوح تعدادی از میوه‌ها که جهت جلوگیری از کاهش رطوبت، پژمرده و چروکیده شدن محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌علاوه این عمل، ظاهر محصول را ازنظر بازارپسندی بهبود می‌بخشد. به‌هرحال عمل واکس‌زنی یک امر مکمل در بسته‌بندی و فروش محصول است و نمی‌توان آن را به‌عنوان یک عمل در بهبود کیفیت محصولات نامرغوب تلقی نمود(۱۳). چینی‌ها در قرن ۱۲ و ۱۳ از این ماده برای پوشش دهی پرتقال و لیموترش استفاده می‌کردند(۱۸). کارنوبا از برگ نخل کارنوبا (*Copernicia prunifera*) است که بومی برزیل بوده و جلا دهنده میوه بدون ایجاد لک سفید می‌باشد(۵). واکس کارنوبا یک واکس گیاهی سالم بوده که دارای نفوذپذیری متوسط، برای گازها بوده و به شکل میکروامولوسیون و به‌طور کامل براق می‌باشد. از مشکلات اصلی آن کاهش جلا

در طی انبارمانی و نفوذپذیری متوسط نسبت به گاز و نداشتن تأثیر در به تأخیر انداختن رسیدن میوه است(۳۲). عمل واکس‌زدن میوه جهت جلوگیری از کاهش رطوبت و پژمرده و چروکیده شدن میوه مورد استفاده قرار می-گیرد و همچنین باعث حفظ ظاهر محصول و بازارپسندی آن می‌شود(۱۳).استفاده از واکس در انبارمانی میوه آناناس باعث حفظ سفتی میوه واکس‌دار نسبت به میوه بدون واکس می شود(۲۱). میزان مواد جامد در میوه آناناس واکس‌دار در انبار تغییرات کمتری نسبت به شاهد داشت و این میزان در میوه بدون پوشش بیشتر بود. واکس کارنوبا در مرحله‌ی پس از برداشت پرتقال ناول مورد بررسی قرار گرفت و در جلوگیری از کاهش وزن و اتلاف رطوبت این واکس مؤثرتر از واکس‌های نوع دیگر بود(۲۷). استفاده از موم زنبورعسل به‌عنوان واکس بر روی پرتقال خونی باعث حفظ سفتی، پ هاش، مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، نسبت مواد جامد محلول به اسید و میزان اسید آسکوربیک نسبت به میوه-های بدون پوشش شد(۳۵). لذا هدف کلی از این پژوهش بررسی خواص فیزیکی و کیفی لیموشیرین طی عمر قفسه مانی با پوشش‌های مختلف می‌باشد. همچنین این تحقیق با بکارگیری نانوتکنولوژی برای تولید پوششهای جدید به منظور بهبود خواص میوه و کاهش نقاط ضعف پوشش‌های متداول ، به دنبال جایگزین کردن آن با پوشش‌های متداول می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه ها و پوشش ها

در این پژوهش تعداد ۲۱۶ عدد میوه لیموشیرین(رقم دزفولی) به صورت تصادفی از باغی واقع در شهرستان دزفول برداشت و به آزمایشگاه انتقال داده شد. تمامی میوه‌ها با استفاده از غوطه‌ور شدن در کلراکس ۴ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شدند و سپس با قرار گرفتن در معرض هوای آزاد خشک شدند. سپس میوه ها به طور تصادفی به شش دسته مساوی از نظر تعداد تقسیم-بندی شده، که دسته اول با ترکیب نانو کیتوسان-۵ ٪ رس، دسته دوم با ترکیب نانو کامپوزیت کیتوسان-۱۰٪رس ، دسته سوم با ترکیب نانو کاپوزیت کیتوسان-۱۵٪رس ، دسته چهارم با واکس کارنوبا، دسته پنجم با استفاده از روغن زیتون فرابکر پوشش داده شد و دسته ششم شاهد (بدون پوشش) بود. پوشش کیتوسان-رس از ترکیب ۳ ٪ کیتوسان(نسبت به محلول) با سه نسبت وزنی رس به کیتوسان(۵،۱۰و ۱۵ ٪)، توین ۸۰ (۵ ٪ وزنی کیتوسان) و گلیسرول (۱۰٪ وزنی کیتوسان) در محلول اسید لاکتیک ۲ درصد ساخته شد. کیتوسان مورد استفاده دارای وزن مولکولی پایین با درجه دی‌استیلیشن ۸۵٪، ساخت شرکت سیگما آلدریچ کشور آمریکا و خاک رس مورد استفاده از نوع بنتونیت از شرکت خاک سفید الیگودرز تهیه گردید. همچنین از توئین ۸۰ ساخت کشور سیگما آلدریچ آمریکا، با شماره تولید P8074 برای افزایش کشش سطحی ترکیب کیتوسان-رس استفاده شد. اندازه‌گیری فاصله لایه‌های رس برای تایید نانو کامپوزیت بودن ترکیب کیتوسان-رس، با آزمون XRD توسط دستگاه دیفراکتومتر(MiniflexDefractometer) مدل D80-ADVANCE ساخت کشور آلمان انجام گرفت(۳۶). پوشش واکس از شرکت حیات پوشش حیاط سبز (تولید کننده پوشش محاظ میوه‌جات) تهیه شد و طبق دستوالعمل پیشنهادی شرکت واکس به صورت خالص و غلظت ۱۰۰ درصد استفاده گردید و در تیمار دیگر از روغن زیتون فرا بکر ساخت کشور ایتالیا استفاده شد که به صورت مالشی روی سطح میوه‌ها اعمال گردید. در تیمار کیتوسان_رس میوه‌ها به مدت سه دقیقه در محلول آماده شده غوطه‌ور شده و میوه‌های لیمو شیرین تیمار شده روی یک لایه پارچه نخی در معرض هوای آزاد قرار داده شدند تا خشک شوند. سپس خواص شیمیایی،فیزیکی و مکانیکی میوه‌های پوشش داده شده به همراه نمونه شاهد، طی مدت ۱۲ روز در دمای اتاق مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری خواص کیفی

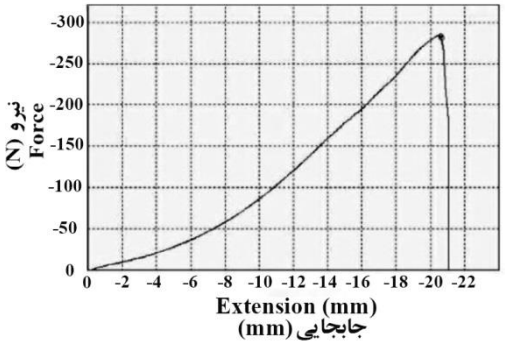
جهت تعیین میزان مواد جامد محلول آب‌میوه(TSS)، از دستگاه رفراکتومتر[1] دیجیتالی (مدل MA882- ساخت کشور ژاپن) استفاده شد. تعیین pH عصاره میوه نیز توسط pH سنج (مدل P-755 قابل‌حمل، ساخت ژاپن) انجام شد. اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر(TA) بر اساس استاندارد AOAC (۲) انجام گردید. برای اندازه‌گیری درصد کاهش وزن از رابطه (۱) استفاده شد.

$$(W_1-W_2)/W_1\times100 \qquad (۱)$$

که در این رابطه W_1، وزن اندازه‌گیری شده قبل از نگهداری و W_2، وزن اندازه‌گیری شده بعد از نگهداری می‌باشد.

اندازه‌گیری خواص مکانیکی

برای تعیین خواص مکانیکی از دستگاه آزمون مواد ساخت شرکت سنتام(مدل STM-20) ساخت کشور ایران استفاده شد. بارسنج مورد استفاده در دستگاه آزمون مواد از نوع S شکل ساخت کشور کره در کلاس ۰/۵ با حداکثر خطا ۰/۵ درصد در بازه ۲ تا ۱۰۰ درصد ظرفیت بارسنج بود. آزمون نیروی شکست روی نمونه کامل میوه با آهنگ بارگذاری ثابت و معادل ۹۰^{-1} mmmin انجام گرفت(۴). شکل ۱ منحنی نیرو-جابجایی رسم شده برای یکی از نمونه‌های لیمو شیرین را نشان می دهد.



شکل (۱)منحنی نیرو-جابجایی برای یک نمونه لیمو با پوشش کیتوسان-رس ۵ ٪

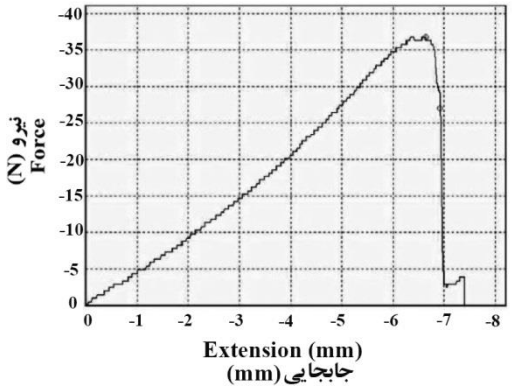
Figure (1) Force-deformation curve for a lemon sample with 5% chitosan-clay coating

آزمون نفوذ پوست

برای انجام این آزمون یک تکه پوست میوه را به ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر با چاقو جدا کرده سپس آن را بین دو صفحه آلومینیومی به ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر قرار داده و دو صفحه توسط پیچ محکم شدند. در مرکز صفحات آلومینیومی، سوراخی به قطر ۳ سانتی‌متر تعبیه شده که بعد از قرار گرفتن پوست بین دو صفحه، استونه فولادی لبه تیز به قطر۲/۵ سانتی‌متر با سرعت $۶۰\ mmmin^{-1}$ به سمت سوراخ حرکت کرد و موجب سوراخ کردن پوست میوه گردید(۱۵). شکل ۲ منحنی رسم شده برای یکی از نمونه‌ها را نشان می دهد.

آزمون کشش پوست

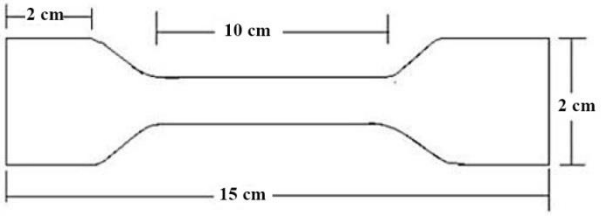
این آزمون روی محصولات صاف و تخت انجام می‌شود. لذا پوست نمونه‌ها مانند شکل(۳) برش داده شد. طول نمونه مورد آزمایش ۱۵۰ میلی‌متر بود. برای انجام این آزمون، از دستگاه آزمون مواد استفاده گردید. این آزمایش با سرعت $0/5\ mmmin^{-1}$ انجام پذیرفت، مقدار نیرویی که باعث گسیختگی می‌شود با استفاده از نمودار نیرو- جابجایی بدست آمد(۱۵). شکل ۴ منحنی رسم شده برای یکی از نمونه‌ها را نشان می دهد.



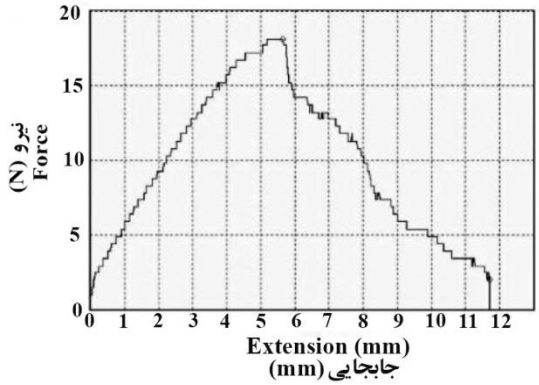
شکل (۲) منحنی نیرو - تغییر شکل در آزمون پانچ برای یک نمونه پوست میوه با پوشش کیتوسان-رس ۵ ٪

Figure (2) Force-deformation curve of the puncture test for a lemon peel sample with 5% chitosan-clay coating

1- Refractometer



شکل(۳) نمونه مورد استفاده برای آزمون کشش
Figure (3) Sample used in the tensile test



شکل (۴) نمودارنیروی کششی - جابجایی پوست نمونه با پوشش کیتوسان-۵ ٪ رس
Figure (4) Force-deformation curve of the tensile test for a lemon peel sample with 5% chitosan-clay coating

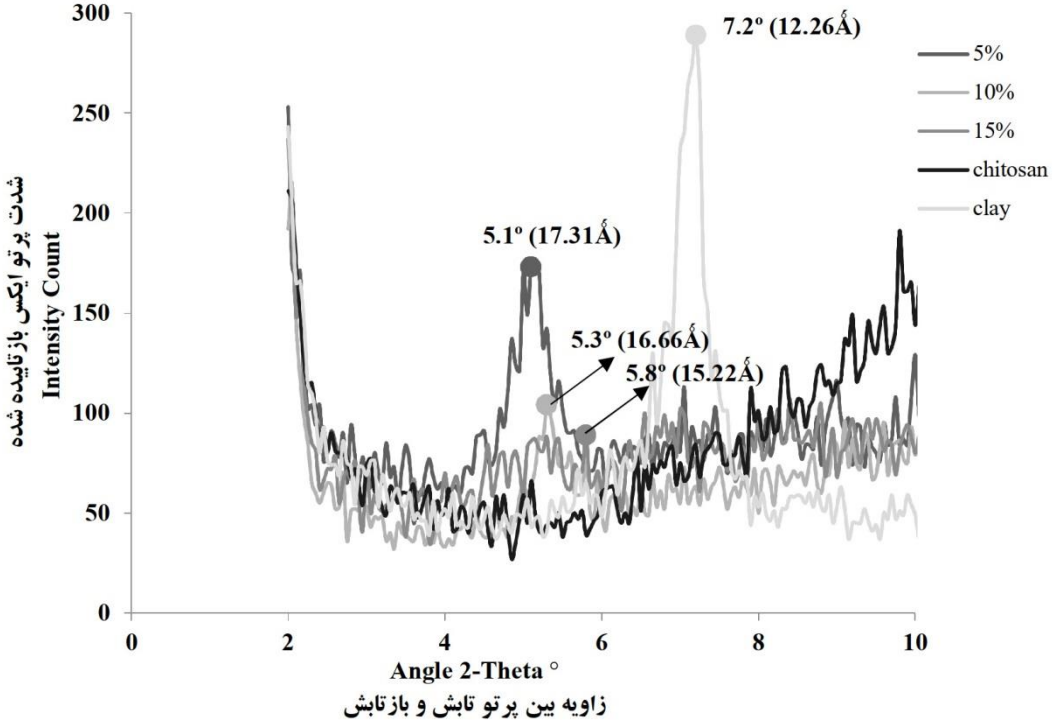
نرم افزار و طرح آماری

آزمایش‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل درقالب طرح کاملا تصادفی با ۹ تکرار در شرایط عمر قفسه-ای(۱۲ روزه در دمای محیط) انجام گرفت. متغیرهای مستقل در این آزمایش‌ها نوع پوشش‌دهی ۶ حالت (پوشش نانوکامپوزیت در ۳ ترکیب، ۲ پوشش رایج (واکس و روغن زیتون)و بدون پوشش) و متغیرهای وابسته شامل خواص فیزیکی- شیمیایی در طی زمان انبارداری می‌باشند. تجزیه و تحلیل پارامترهای بدست آمده در نرم‌افزار Excel 2013 صورت گرفت و همچنین برای آزمون‌های مقایسه میانگین و تجزیه واریانس، از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد.

نتایج و بحث

نانو کامپوزیت بودن ترکیب کیتوسان-رس

از آزمون XRD جهت بررسی میزان برهمکنش بین زنجیره‌های کیتوسان و صفحات نانورس استفاده شد. این آزمون برای سه فیلم نانوکامپوزیت با درصد رس ۵، ۱۰ و ۱۵٪ کیتوسان انجام گرفت. درشکل (۵) منحنی XRD و پیک های شاخص بدست آمده نشان داده شده است. زاویه ۲θ برای سه فیلم نانوکامپوزیت با درصد رس ۵، ۱۰ و ۱۵٪ کیتوسان به ترتیب ۵/۱، ۵/۳ و ۵/۸ درجه می‌باشد. همچنین زاویه ۲θ برای رس به تنهایی نیز ۷٫۲ درجه شد.



شکل (۵) منحنی XRD برای پنج نمونه شامل سه فیلم نانوکامپوزیت با درصد رس ۵، ۱۰ و ۱۵٪، رس و کیتوسان
Figure (5) XRD curves for five samples including three nanocomposite film containing 5, 10 and 15% clay, clay and chitosan

فاصله لایه‌های رس نیز بر اساس زوایای بدست آمده به ترتیب ۱۷٫۳۱، ۱۶٫۶۶و۱۵/۲۲ آنگستروم است که با نتایج سایر محقیقین مطابقت دارد(۲۰، ۲۶، ۳۱، ۳۳، ۴۰ و ۴۲). بیشترین فاصله صفحات رس در فیلم نانوکامپوزیت 5% رس مشاهده شد. با توجه به اندازه ۱۲٫۲۶ آنگستروم برای لایه های رس، افزایش فاصله صفحه‌های رس در فیلم نانوکامپوزیت قابل مشاهده می‌باشد. زیرا میزان فاصله نانو کامپوزیت به ترتیب ۱۷٫۳۱، ۱۶٫۶۶و۱۵/۲۲ آنگستروم است که از فاصله لایه های رس که ۱۲٫۲۶ آنگستروم بیشتر است. کاهش فاصله لایه های رس در درصدهای بالا به خاطر افزایش کلوخه‌ای شدن نانو ذرات یا تجمع ذرات رس درکنار یکدیگر می‌باشد(شماره منابع). در پژوهشی برای رس فاصله لایه‌ای را ۱۲ آنگستروم و فاصله لایه های نانو رس در نانوکامپوزیت کیتوسان-رس (با نسبت ۵۰٪) را ۱۳٫۴ آنگستروم و برای ۱۰٪ رس مقدار ۲۰٫۰۹ آنگستروم گزارش دادند (۱۶). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت قرارگیری رس در کیتوسان فاصله ذرات رس[1] را افزایش داده و نانو کامپوزیت مورد نظر تشکیل یافته شده است.

نتایج اندازه گیری خواص شیمیایی و مکانیکی میوه لیموشیرین

میزان ویتامین سی آب میوه

بر اساس جدول ۱ اثر متقابل پوشش در مدت زمان نگهداری روی میزان ویتامین سی میوه در سطح احتمال ۱ ٪ معنی دار شد. روند تغییرات میزان ویتامین سی طی ۱۲ روز انبارمانی در شکل (۶) نشان داد که بیشترین میزان ویتامین سی میوه را در شروع آزمایش می توان مشاهده کرد که میزان آن در طی مدت نگهداری در انبار کاهش یافت اما این کاهش در در صدهای مختلف کیتوسان-رس و پوشش روغن زیتون و واکس کارنوبا نسبت به نمونه شاهد کندتر بود. مطابق شکل نمونه‌هایی که با پوشش کیتوسان-۵٪ رس پوشیده شده بودند بهترین عمکرد را در کاهش روند نزولی نمودار داشتند. در پژوهشی دریافتند که میزان ویتامین سی

1- D-spacing

در میوه های تیمار شده با کیتوسان نسبت به سایر تیمارهای آزمایش و تیمار شاهد بیشتر بوده است که دلیل آن می تواند مربوط به تنفس کمتر میوه ها در این تیمار باشد(۲۲). سطوح بالاتر ویتامین سی در میوه‌های پوشش داده شده با کیتوسان ممکن است به دلیل کاهش اکسیژن و مهار تنفس باشد(۱۲). جیانگ و همکاران[1] (۲۰۱۲) طی گزارشاتی بیان کردند که میزان ویتامین سی در میوه های تیمار شده با کیتوسان نسبت به سایر تیمارهای آزمایش و تیمار شاهد بیشتر بوده است که دلیل آن می تواند مربوط به تنفس کمتر میوه ها در این تیمار باشد.

اسیدیته کل قابل تیتراسیون آب میوه

مطابق جدول ۱ اثر زمان انبارمانی بر میزان اسیدیته کل قابل تیتراسیون آب میوه در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. مطابق شکل ۷ میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در ابتدای دوره زیاد بود و با گذشت زمان انبارمانی کاهش یافت.

کاهش اسیدیته در هنگام رسیدن و یا در دوران پس از برداشت به علت شرکت اسید در تنفس یا تبدیل آن به قند است(۳۹). در حقیقت با افزایش مدت زمان انبارمانی از اسید آلی به عنوان منبع انرژی و تنفس استفاده می گردد و میزان آن کاهش می‌یابد(۴۳ و۴۶).

ضریب کرویت

مطابق جدول شماره ۱ اثر متقابل تیمار و زمان روی ضریب کرویت در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. ضریب کرویت در مرکبات نشان دهنده‌ی سلامت میوه از نظر فیزیکی می‌باشد(۳۲) و طی ۱۲ روز آزمایش مشخص گردید پوشش واکس، کیتوسان-رس در هر سه سطح (۵، ۱۰ و ۱۵درصد) در حفظ ضریب کرویت موفق بوده اند و باعث جلوگیری از تغییر شکل میوه ها نسبت به تیمار شاهد و روغن زیتون تا آخرین روز انبارمانی بوده اند. علت این پدیده ممکن است به دلیل کاهش نفوذپذیری پوشش های نانوکامپوزیت نسبت به گاز بوده که موجب کاهش تنفس میوه گردید(۸).

درصد کاهش وزن

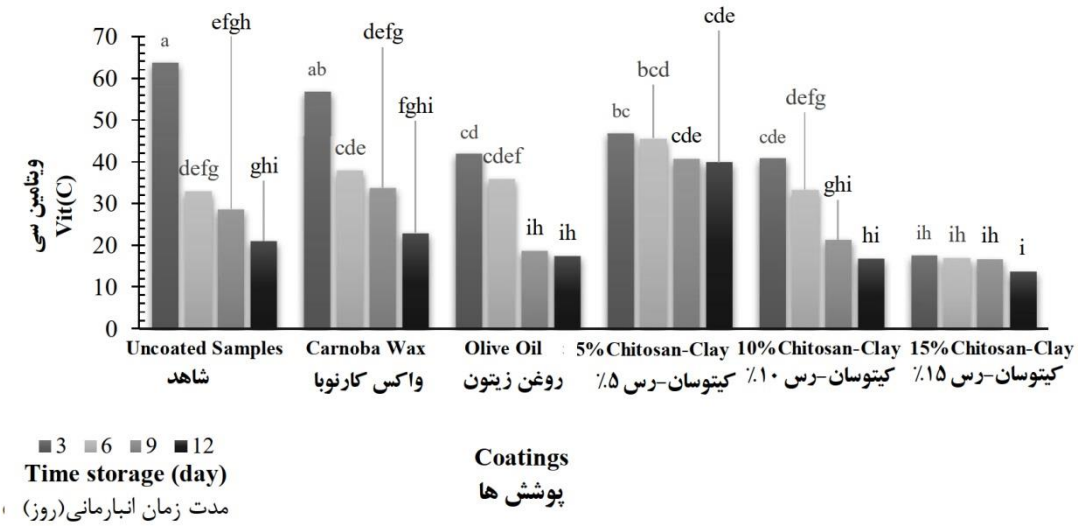
مطابق جدول ۱ بررسی اثر تیمار پوششهای واکس، کیتوسان-رس در سه سطح و روغن زیتون بر درصد کاهش وزن میوه لیموشیرین در طی زمان انبارمانی ۱۲ روز در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد و تیمار شاهد بیشترین میزان افت وزن را نسبت به دیگر پوشش ها داشت(شکل۸). میزان افت وزن بین پوشش ها با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشت. پوشش کیتوسان-۵٪ رس کمترین میزان درصد کاهش وزن (۵/۶٪) را داشت و بیشترین میزان درصد کاهش وزن به ترتیب برای پوشش شاهد و روغن زیتون ۱۲/۳ و ۱۰/۲۳ درصد بود. کاهش وزن میوه ها در انبار به دلیل از دست دادن آب ناشی از فرآیند تنفس و تعرق در میوه‌ها به وقوع می پیوندد(۱۹). پوشش های کیتوسان-رس ۱۰ و ۱۵ درصد به نسبت پوشش کیتوسان-رس ۵ درصد مقدار بیشتری کاهش وزن داشتند که علت آن را می توان صدمه بافت‌های میوه در غلظت بالای کیتوسان بیان کرد، که این نتایج با تحقیقات(۱۶) هم پوشانی دارد. در حقیقت به دلیل ساختار بهتر نانو کامپوزیت رس ۵٪ (بر اساس نتایج XRD) ساختار ذرات رس بهتر ازهم دور شده اند و در نتیجه خاصیت نفوذناپذیری پوشش بهتر عمل میکند. پوشش نانوکامپوزیت ۵٪ با ساختار بهتر، با ایجاد سدی بر سطح بیرونی محصول موجب کاهش تبخیر و تنفس میوه می‌شود. در نهایت این امر باعث کاهش وزن کمتر می‌گردد(۸ و ۹). در پژوهشی که روی پوشش دهی پرتقال صورت گرفت محققین دریافتند که واکس کارنوبا باعث افت کمتر وزن پرتقال طی زمان انبارمانی نسبت به شاهد شده است که با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت دارد و پوشش واکس کارنوبا نسبت به نمونه شاهد و روغن زیتون عملکرد بهتری داشته است(۳۰و۲۳). در پژوهشی دیگر روی نارنگی نیز مشخص شد که کیتوسان می‌تواند مانع کاهش وزن شود و این به دلیل خاصیت آبگریزی کیتوسان می باشد(۴۵).

1- Jiang *et al.*

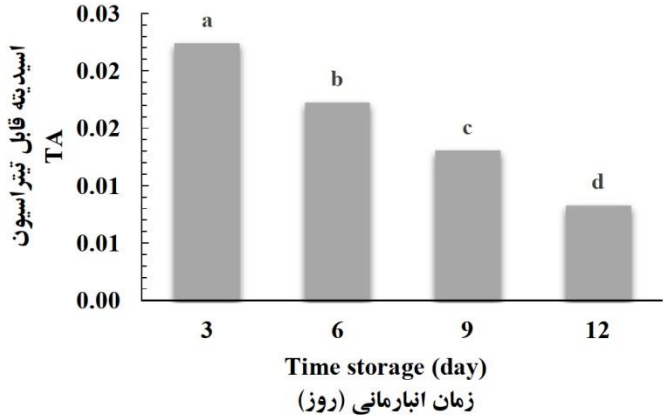
جدول (۱) تجزیه واریانس تاثیر پوشش و زمان انبارمانی بر ویژگی‌های شیمیایی و مکانیکی میوه لیموشیرین در ۱۲ روز

Table(1) Analysis of variance (ANOVA) effect of coating and time storage on chemical and mechanical properties of sweet lemon in 12 days

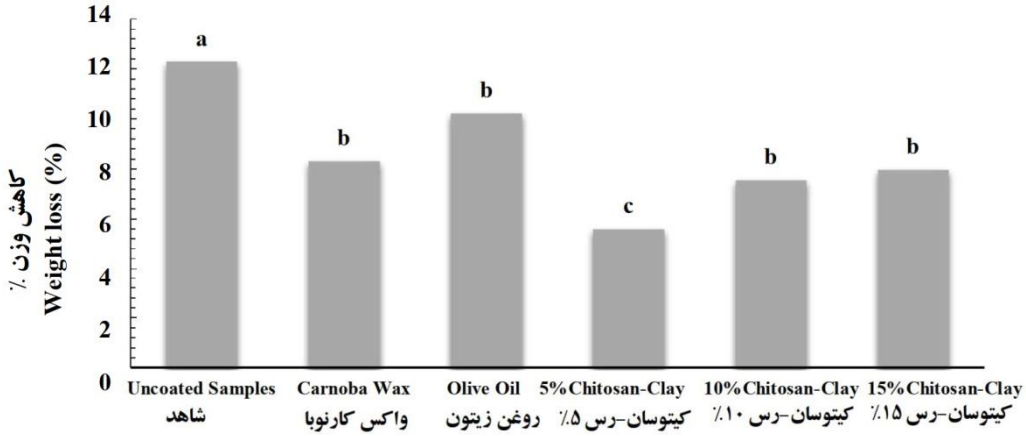
		میانگین مربعات MS									
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	اسیدیته(٪) TA	حداکثر نیروی شکست(N) $F_{break(max)}$	ویتامین سی (٪) Vit C(%)	ضریب کرویت Sphericity	درصد کاهش وزن(٪) Weight losses (%)	چگالی Density	مواد جامد محلول درآب(٪) TSS	pH	حداکثر نیروی برش پوست(N) $F_{punch(max)}$	حداکثر نیروی کشش پوست(N) $F_{Tensile (max)}$
پوشش Coating	5	0.00003^{ns}	152298.6*	147.8^{ns}	0.009^{ns}	407.6**	0.0004^{ns}	5.3^{ns}	0.31**	0.0006^{ns}	544.7^{ns}
زمان انبارمانی Storage time	3	0.00001*	1251566.1**	2730.2^{ns}	0.004^{ns}	275.9^{ns}	0.0002^{ns}	2.2*	0.19**	0.01^{ns}	245^{ns}
پوشش در زمان انبارمانی C×T	15	0.00003^{ns}	85225.4^{ns}	271.7**	0.012**	73.3^{ns}	0.0002**	2^{ns}	0.09^{ns}	0.006^{ns}	10.2**
خطا Error	48	0.00002	148850.6	60.6	0.002	100.8	0.00007	2.3	0.4	0.006	2.6



شکل (٦) اثرمتقابل زمان انبارمانی در پوشش روی میزان تغییرات ویتامین سی
Figure (6) Interactions of the time × coating on changing in the vit(c)



شکل(۷) تغییرات میزان اسیدیته در طی زمان انبارمانی
Figure (7) changing TA during the shelf life storage



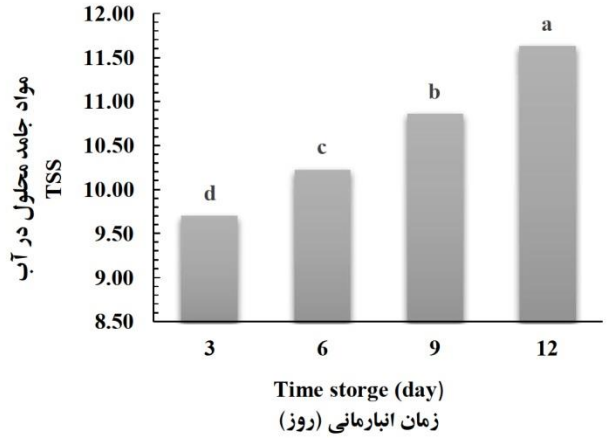
شکل(۸)نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار پوشش بر میزان کاهش وزن
Figure (8) Effect of surface coating on weight loss

مواد جامد محلول در آب

مطابق جدول (۱) بررسی اثر تیمارهای پوشش بر مواد جامد محلول کل آب میوه لیموشیرین معنی‌دار نشد. اثر زمان انبارمانی بر مواد جامد محلول کل آب میوه در سطح احتمال ۵ ٪ معنی‌دار گشت. مطابق شکل (۹) میزان مواد جامد محلول در ۱۲ روز نسبت به زمان برداشت افزایش یافت. این افزایش به دلیل جدا سازی دیواره سلولی میوه و کاهش محتوای آب میوه در طی انبارمانی اتفاق می‌افتد(۱۰،۱۱و۲۴).

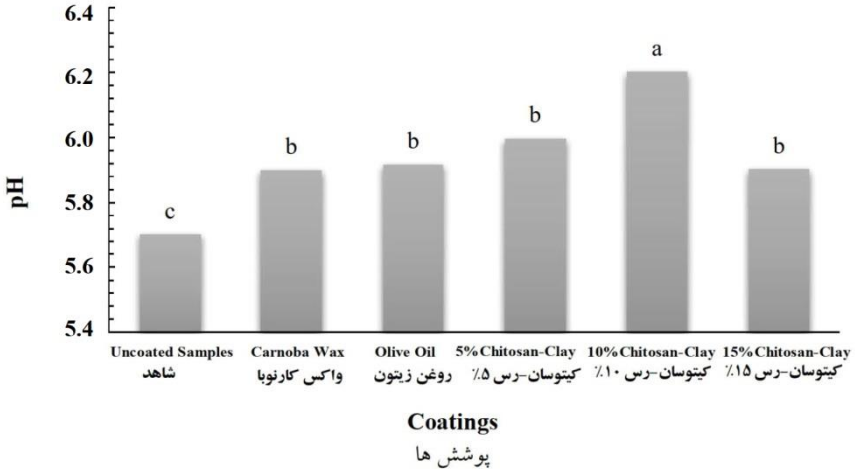
pH آب میوه

مطابق جدول تجزیه واریانس (۱) اثر تیمار پوشش بر pH آب میوه لیموشیرین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همانطور که در شکل ۱۰ نشان داده شده است در بین تیمارها، تیمار کیتوسان-رس ۱۰ ٪ با میزان pH، ۶/۲ اختلاف معنی داری با سایر تیمار ها داشت. اثر زمان انبارمانی بر میزان pH نیز در سطح ۱ ٪ معنی‌دار شد و در مدت زمان انبارمانی ۱۲ روز روند pH میوه به صورت صعودی بود (شکل ۱۱). می توان گفت با افزایش زمان انبارمانی به دلیل رسیدگی بیشتر میوه pH افزایش می‌یابد (۹). مارتین دیانا و همکاران نیز در بررسی پوشش‌های کیتوسان مختلف برای پوشش‌دهی پرتقال روند تغییرات pH در طی زمان انبارمانی را صعودی گزارش دادند(۲۹).



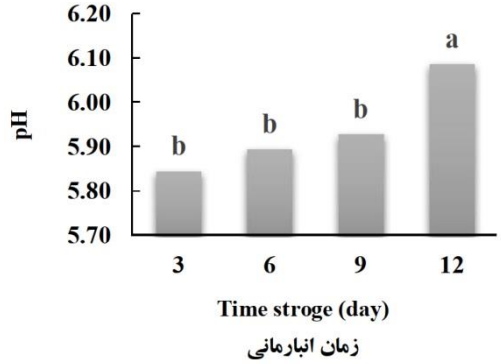
شکل (۹) تغییرات مواد جامد محلول در طی زمان انبارمانی

Figure (9) TSS changes during the shelf life storage



شکل (۱۰) اثر تیمار پوشش بر میزان تغییرات pH

Figure (10) Effect of surface coating on pH changes



شکل (۱۱) تغییرات میزان pH در طی زمان انبارمانی
Figure (11) pH changes during the shelf-life storage

حداکثر نیروی برش پوست

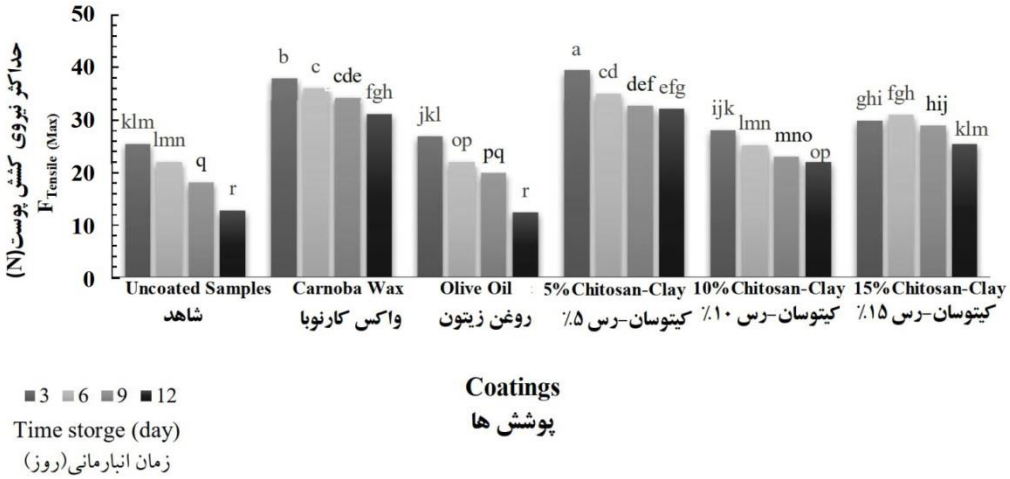
طبق جدول تجزیه واریانس ۱ زمان انبارمانی و نوع پوشش تاثیر معنی‌داری بر حداکثر نیروی برش پوست در طی ۱۲ روز انبارمانی نداشت.

حداکثر نیروی کشش پوست

اثر متقابل زمان در پوشش روی حداکثر نیروی کشش پوست در سطح احتمال ۱٪معنی‌دار شد(جدول ۱). در طی زمان انبارمانی نیروی کشش پوست به طور کلی روند نزولی داشت و در پوشش‌های مختلف نیز این روند نزولی است (شکل ۱۲). با افزایش زمان انبارمانی مقاومت کششی در پوست کاهش می‌یابد. علت اصلی این پدیده کاهش رطوبت پوست و تغییر خواص الاستیک پوست می‌باشد که احتمالا این امر در اثر فعالیت‌های آنزیمی در پوست رخ می دهد(۲۵).در نمونه های شاهد کمترین میزان کشش پوست مشاهده گردید (۲۵/۶۶N) که باعث پارگی پوست میوه می‌شد و در طی زمان انبارمانی این نیرو کاهش یافت (۱۳/۰۶N) . بیشترین نیرو برای پارگی پوست را طی ۱۲ روز انبارمانی در تیمار پوشش تیمار کیتوسان-رس ۵ ٪ (N ۳۹/۵۶)و واکس کارنوبا (۳۸N) مشاهده شد.می توان گفت در ساختار نانو کامپوزیت رس ۵ ٪ بر اساس نتایج XRD ساختار ذرات رس بهتر ازهم دور شده اند. در نتیجه خاصیت نفوذناپذیری پوشش بهتر عمل کرده و به تبع آن تنفس و تعرق در میوه کاهش یافته و ساختار پوست بهتر حفظ می گردد. ولی در درصدهای بالاتر رس به دلیل افزایش نفوذ پذیری به گاز ساختار کششی پوست تغییرات بیشتری داشت(۸ و ۹).

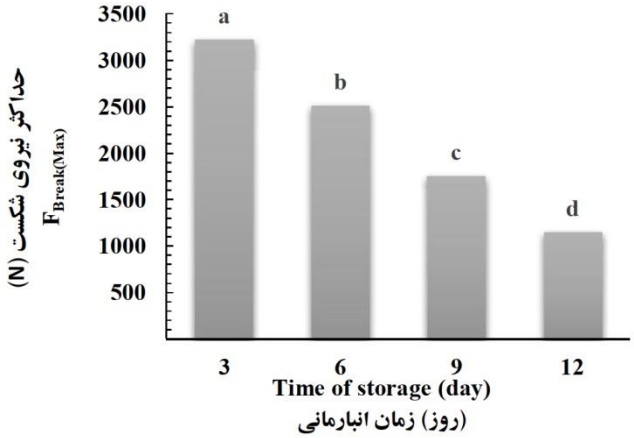
حداکثر نیروی شکست

تاثیر زمان انبارمانی بر حداکثر نیروی شکست میوه در سطح ۵٪ معنی دار شد (جدول ۱). مطابق شکل ۱۳ طی ۱۲ روز انبارمانی حداکثر نیروی شکست روند نزولی داشت و تفاوت معنی‌داری بین روزهای مختلف انبارمانی بود. همانطورکه گفته شد با افزایش زمان انبارمانی آب درون محصول کاهش می‌یابد و در نتیجه آن فشار تورژسانس سلولی کاهش یافته و سفتی میوه کم می-گردد (۳۷ و۱۵) . همچنین نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (۱) نشان داد اثر تیمار پوشش بر نیروی شکست میوه لیموشیرین در سطح احتمال ۱٪ معنی دار است. نتایج با تحقیقات تقی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۱) که روی میوه پرتقال تامسون انجام داده بودند مطابقت دارد. مطابق شکل ۱۴ تیمارهای با پوشش کیتوسان–رس اختلاف معنی داری با سایر پوشش‌ها داشتند ولی بین پوشش‌های کیتوسان–رس با درصدهای مختلف رس اختلاف معنی داری وجود نداشت. هرچه مقدار این نیرو بیشتر باشد یعنی پوشش در حفظ و نگهداری سفتی میوه موثرتر عمل کرده و روند کاهش سفتی را کندتر کرده است. در بین پوشش‌ها، پوشش کیتوسان رس ۵٪ تاثیر بیشتری در حفظ است حکام بافت میوه لیموشیرین داشت (شکل ۱۴).



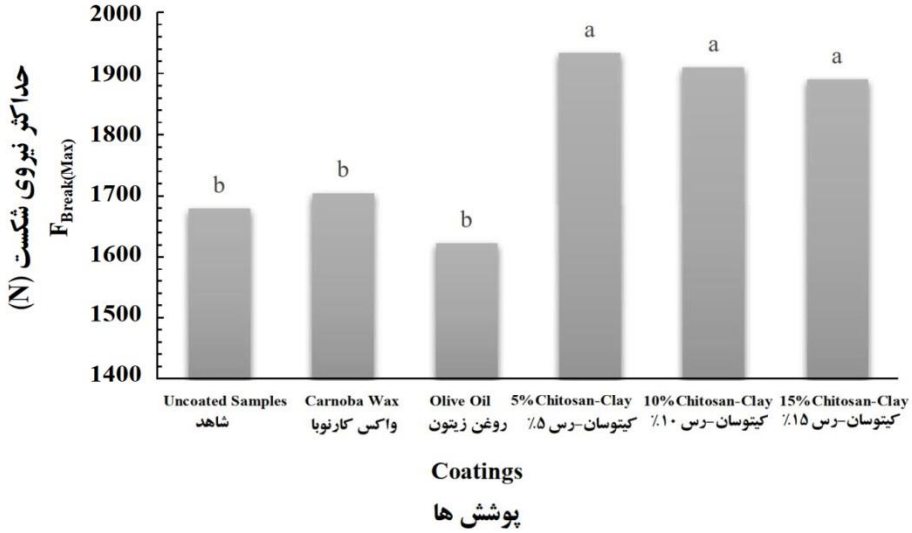
شکل (۱۲) اثر مقابل زمان انبارمانی در پوشش روی میزان تغییرات حداکثر نیروی کشش پوست لیموشیرین

Figure (12) Interactions of the time × coating on the maximum tensile force



شکل (۱۳) تغییرات حداکثر نیروی شکست در طی زمان انبارمانی

Figure (13) Maximum break force changes during the shelf-life storage



شکل(۱٤) اثر تیمار پوشش بر میزان تغییرات حداکثر نیروی شکست

Figure (14) Effect of surface coating on the maximum break force changes

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد روند تغییرات میزان ویتامین سی در طی انبارمانی کاهش یافت. اما این کاهش در درصدهای مختلف کیتوسان-رس، پوشش روغن زیتون و واکس کارنوبا نسبت به نمونه شاهد کندتر بود. اثر زمان انبارمانی بر میزان اسیدیته کل قابل تیتراسیون آب میوه در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. میزان اسیدیته قایل تیتراسیون در ابتدای دوره زیاد بود و با گذشت زمان انبارمانی کاهش یافت. طی ۱۲ روز آزمایش مشخص گردید پوشش واکس و کیتوسان-رس در هر سه سطح (۵، ۱۰ و ۱۵درصد) در حفظ ضریب کرویت موفق بوده‌اند. بررسی اثر تیمار پوششهای واکس، کیتوسان-رس در سه سطح و روغن زیتون بر درصد کاهش وزن میوه لیموشیرین در طی زمان انبارمانی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد و تیمار شاهد بیشترین میزان افت وزن را نسبت به دیگر پوشش ها داشت. پوشش کیتوسان-رس ۵ ٪ کمترین میزان درصد کاهش وزن (۵/۶٪) را داشت و بیشترین میزان درصد کاهش وزن به ترتیب برای پوشش شاهد و روغن زیتون ۱۲/۳ و ۱۰/۲۳ درصد بود. بررسی اثر زمان انبارمانی بر میزان pH

در سطح ۱ ٪ معنی‌دار شد و در مدت زمان انبارمانی روند تغییرات pH میوه به صورت صعودی بود. اثر متقابل زمان در پوشش روی حداکثر نیروی کشش پوست در سطح احتمال ۱٪معنی‌دار شد. در طی زمان انبارمانی نیروی کشش پوست به طور کلی روند نزولی دارد و در پوشش‌های مختلف نیز این روند نزولی بود. نتایج نشان داد اثر تیمار پوشش بر سفتی میوه لیموشیرین در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود و تیمار کیتوسان-رس ۵ و ۱۰ درصد عملکرد بهتری نسبت به نمونه شاهد و روغن زیتون دارند. به طور کلی نتایج نشان داد میوه‌های پوشش داده در حفظ خواص کیفی و مکانیکی نسبت به نمونه‌های بدون پوشش عملکرد بهتری داشتند و در بین پوشش‌های مصرف شده پوشش نانو کامپوزیت کیتوسان-رس ۵ ٪ موفقیت بالاتری در حفظ خواص مکانیکی و شیمیایی نسبت به سایر پوشش‌ها داشت.

References

1. Aboutalebi, A. and Tafazoli, E. 2009. Study on the effect of rootstock and salinity on concentration of micro elements in sweet lime (Citrus limetta L.) leaves. *Journal of Horticultural Sciences*, 23(2): 85-93 (In Farsi)

2. A.O.A.C.,and Horwitz, W. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. AOAC International, Arlington VA.

3. Arnon, H., Granit, R., Porat, R., and Poverenov, E. 2015. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. *Food chemistry*, 166: 465-472.

4. ASABE. 2017. ASABE S368.4 DEC2000, Compression test of food materials of convex shape. St Joseph, MI, U.S.A.

5. Baldwin, E. A. 2007. Surface treatments and edible coatings in food preservation. Handbook of Food Preservation. CRC Press. Boca Raton, FL. USA.

6. Bansal, V., Sharma, P. K., Sharma, N., Pal, O. P., and Malviya, R. 2011. Applications of chitosan and chitosan derivatives in drug delivery. *Advances in Biological Research*, *5*(1): 28-37.

7. Bautista-Baños, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquez-Del Valle, M. G., Hernández-López, M., Barka, E. A., Bosquez-Molina, E., and Wilson, C. L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop protection*, 25(2): 108-118.

8. Casariego A., Souza B.W.S., Cerqueira M.A., Teixeira J.A., Cruz L., Diaz R., Vicente A.A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. Food Hydrocolloids 23: 1895–1902.

9. Chein, P., Sheu, F. and Lin, H. 2007. Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increase postharvest quality and shelf life. *Food chemistry*. 100: 1160-1164.

10. Cordenusi, B.R., Genovese, M.I., Do Nascimento, J.R.O., Hassimoto, N.M.A., Dos Santos, R.J. and Lajolo, F.M. 2005. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry*. 91: 113–121.

11. Dhall, R. K. 2013. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *53*(5): 435-450.

12. Dong, H., Cheng, L., Tan, J., Zheng, K., and Jiang, Y. 2004. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *Journal of Food Engineering*, 64(3): 355-358.

13. Esna-Ashari, M. and Zokaee Khosroshahi, M.R. 2009. Post-harvest physiology and technology. *Bu-Ali Sina University publication*. Pp. 658.

14. FAO. 2012. URL: http://faostat.fao.org http://www.fao. Org /fileadmin /templates /est-/COMM_MARKETS_MONITORING/Citrus/Documents/CITRUS_BULLETIN _2012.

15. Fidelibus, M.W., Teixeira,A.A. and Davis, F.S. 2002. Mechanical properties of orange peel and fruit treated pre- harvest with Gibberellic acid. *American Society of Agricultural Engineers*, 45(4): 1057-1062.

16. Mostifi, Y., Dehestani Ardakani, M. and Razavi, S.H. 2011. The effect of chitosan on postharvest extension and qualitative characteristics of table grape "Shahroodi". *Iranian Journal of Food Science* 30(8): 93-102. (In Farsi).

17. Fotouhi Ghazvini, R. and Fattahi Moghaddam, J. 2007. Citrus Growing in Iran. Second Edition. University of Guilan Press, Iran. pp: 305. (In Farsi)

18. Galed, G., Fernández-Valle, M. E., Martınez, A., and Heras, A. 2004. Application of MRI to monitor the process of ripening and decay in citrus treated with chitosan solutions. *Magnetic Resonance Imaging*, *22*(1): 127-137.

19. Ghasemnezhad, M., and Shiri, M. A. 2010. Effect of chitosan coatings on some quality indices of apricot (Prunus armeniaca L.) during cold storage. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, *8*(1): 25-33.

20. Giannakas, A., Grigoriadi, K., Leontiou, A., Barkoula, N.M. and Ladavos, A. 2014. Preparation, characterization, mechanical and barrier properties investigation of chitosan–clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*. 108: 103-111

21. Hu, H., Li, X., Dong, C., and Chen, W. 2011. Effects of wax treatment on quality and postharvest physiology of pineapple fruit in cold storage. *African Journal of Biotechnology*, 10(39): 7592-7603.

22. Jiang, T., Feng, L., and Li, J. 2012. Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (Lentinus edodes) treated with chitosan–glucose complex coating under cold storage. *Food Chemistry*, *131*(3): 780-786.

23. Kellerman, M., Liebenberg, E., Njombolwana, N., Erasmus, A., and Fourie, P. H. 2018. Postharvest dip, drench and wax coating application of pyrimethanil on citrus fruit: Residue loading and green mould control. *Crop protection*, *103*: 115-129.

24. Khorram, F., Ramezanian, A., and Hosseini, S. M. H. 2017. Shellac, gelatin and Persian gum as alternative coating for orange fruit. *Scientia horticulturae*, *225*: 22-28.

25. Krishna K. Singh,B. Sreenivasula Reddy (2006)Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit. Journal of Food Engineering, Elsevier, 73(2):112-120.

26. Lavorgna, M., Piscitelli,F., Mangiacapra, P. and Buonocore,G.G. 2010. Stady of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*. 82: 291-298

27. Lindhout, K. 2007. PHysiology of chilling-related postharvest rind breakdown of navel oranges (Citrus sinensis L.) osbek. PH.D. Thesis. La Trobe University Bundroora, Victoria, Australia. 191 P.

28. Liu, Y., Heying, E. and Tanumihardjo, S.A. 2012. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Foodfety*. 11(6): 530-545.

29. Martín-Diana, A. B., D. Rico, J. Barat, and C. Barry-Ryan. 2009. Orange juices enriched with chitosan: optimisation for extending the shelf-life. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10: 590-600.

30. Njombolwana, N. S., Erasmus, A., Van Zyl, J. G., du Plooy, W., Cronje, P. J., and Fourie, P. H. 2013. Effects of citrus wax coating and brush type on imazalil residue loading, green mould control and fruit quality retention of sweet oranges. *Postharvest biology and technology*, *86*: 362-371.

31. Oguzlu, H., and Tihminlioglu, F. 2010. Preparation and barrier properties of chitosan-layered silicate nanocomposite films. In *Macromolecular Symposia*, 298(1): 91-98.

32. Olivas, G. I., and Barbosa-Cánovas, G. 2009. Edible films and coatings for fruits and vegetables. In *Edible films and coatings for food applications* (pp. 211-244). Springer, New York, NY.

33. Rhim, J.W., Hong. S.I., Park, H.M. and Ng, P.K. 2006. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 54: 5814-5822.

34. Ray, S. D. 2011. Potential aspects of chitosan as pharmaceutical excipient. *Acta Pol. Pharm*, *68*(5): 619-622.

35. Shahid, M. N., and Abbasi, N. A. 2011. Effect of beewax coatings on physiological changes in Fruits of sweet orange cv."blood red". *Sarhad Journal of Agriculture*, *27*(3), 385-394.

36. Shokoohfar, A, and Moemeni, K. 2006. Introduction to Nanotechnology. *Nashr Gostar publication*. Pp.318 (In Farsi)

37. Singh, K.K. and Reddy, B.S. 2006. Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit. *Journal of Food Engineering*, 73(2): 112– 120.

38. Taghinejad, E., Khoshtaghaza, M.H., Faghih nasiri, M. and Movahed nejad, M.H. 2012. A Comparison of Chitosan-Clay and Fungicide-Wax Coatings on some Quality Properties of Thomson Navel Orange during Storage. *Iranian journal of biosystem engineering*, 43(1): 37-45 (In Farsi).

39. Takahashi, T., and Kakehi, J. I. 2009. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*, *105*(1): 1-6.

40. Tang, C., Chen, N., Zhang, Q., Wang, K.,Fu, Q. and Zhang, X. 2009. Preparation and properties of chitosan nanocomposites with nanofillers of different dimensions. *Polymer Degradation and Stability*, 94(1): 124-131

41. Vartiainen J., Tuominen M., Nättinen K. N. (2010).Bio-hybrid nanocomposite coatings from sonicated chitosan and nanoclay. *Available at www.interscience.wiley.com*.

42. Wang, S.F., Shen, L., Tong, Y.J., Chen, L.,Phang, I.Y., and Lim, P.Q. 2005. Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability*, 90(1): 123-131

43. Wills, R. B. H., Miller, J. B., and Matawie, K. M. 1998. Relationship between glycaemic index and nutrient composition of fruit and vegetables. *International Journal of Food Properties*, *1*(2): 89-94.

44. Wills, R.B.H., and Golding, J.B. 2016. Post-harvest, An introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables. 6th Edition. *New South Publishing*. Pp.293

45. Xu, D., Qin, H., and Ren, D. 2018. Prolonged preservation of tangerine fruits using chitosan/montmorillonite composite coating. *Postharvest Biology and Technology*, *143*: 50-57.

46. Yaman, O., and Bayoındırlı, L. 2002. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *LWT-Food science and Technology*, *35*(2): 146-150.

47. Zhang, K., Peschel, D., Helm, J., Groth, T., and Fischer, S. 2011. FT Raman investigation of novel chitosan sulfates exhibiting osteogenic capacity. *Carbohydrate polymers*, 83(1): 60-65.