

# NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO MÀNG SINH HỌC PECTIN-ALGINATE SỬ DỤNG PECTIN TỪ VỎ QUẢ CHANH DÂY TÍA (*Passiflora edulis* Sims.) VÀ ỨNG DỤNG TRONG BẢO QUẢN CHANH DÂY

Nguyễn Trọng Thăng\*, Nguyễn Thị Bích Thủy, Hoàng Thị Minh Nguyệt

*Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: trongthang6886@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 03.03.2021

Ngày chấp nhận đăng: 03.06.2021

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng công thức tạo màng phức hợp pectin-alginate (Pec-Alg) với thành phần cơ bản là pectin chiết xuất từ vỏ quả chanh dây kết hợp với alginate, glycerol và  $Ca^{2+}$ . Dung dịch tạo màng Pec-Alg được chế tạo thông qua phối trộn và đồng hóa. Đặc tính kỹ thuật của màng được xác định bằng các chỉ tiêu: độ dày, sức căng, độ giãn đứt, độ thấm hơi nước, độ hấp thu ẩm. Các mẫu quả chanh dây được phủ màng bằng phương pháp nhúng, sau đó tiến hành bảo quản ở điều kiện thường và đánh giá sự biến đổi chất lượng thông qua các chỉ tiêu sinh lý, cơ lý, hóa sinh. Kết quả đã xây dựng được công thức tạo màng phức hợp Pec-Alg với thành phần như sau: tỉ lệ pectin: nước 2,5% (w/v), tỉ lệ pectin: alginate 65:35 (v/v), tỉ lệ glycerol 20% (w/w) và  $Ca^{2+}$  5% (w/w) là hiệu quả nhất để tạo màng bảo quản quả chanh dây tươi. Đồng thời, đã xác định được các thông số kỹ thuật của màng Pec-Alg: Độ dày  $0,139 \pm 0,007$  (mm); Sức căng  $30,84 \pm 1,87$  (MPa); Độ giãn đứt  $28,23 \pm 0,82\%$ ; Độ thấm hơi nước  $2,48 \pm 0,08$  ( $\times 10^{-7} g \cdot m^{-1} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$ ); Độ hấp thu ẩm  $10,03 \pm 0,48\%$ . Kết quả thực tế cho thấy màng Pec-Alg có tác dụng duy trì chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản chanh dây tươi lên đến 12 ngày (thêm được 4 ngày so với quả không phủ màng) trong điều kiện thường (nhiệt độ môi trường dao động 29-35°C). Kết quả này mở ra hướng ứng dụng tiềm năng của màng sinh học Pec-Alg trong bảo quản an toàn rau quả tươi.

Từ khóa: Màng sinh học, pectin, alginate, vỏ chanh dây.

## Development of Pectin-Alginate Biofilm Based on Pectin from Purple Passion Fruit Peel (*Passiflora edulis* Sims.) and its Application in Preservation of Fresh Passion Fruits

## ABSTRACT

This study aimed to develop pectin-alginate (Pec-Alg) composite biofilm based on pectin extracted from purple passion fruit peel incorporated with alginate, glycerol and  $Ca^{2+}$ . Mixing and homogenization methods were used to prepare the Pec-Alg film-forming solution. The technical characteristics of the biofilm were determined by the following parameters: Film thickness, tensile strength, elongation at break, water vapor permeability, moisture absorption. Passion fruit samples were coated by dipping method, then preserved under ambient conditions and evaluated the quality change through physiological, mechanical and biochemical parameters. This study found the Pec-Alg biofilm formulation that suitable for preserving passion fruit with the following mixing proportion: pectin: water of 2.5% (w/v), pectin: alginate of 65:35 (v/v), 20% glycerol (w/w) and 5%  $Ca^{2+}$  (w/w). In addition, the specifications of Pec-Alg biofilm were also determined: Thickness of  $0.139 \pm 0.007$  (mm), Tensile strength of  $30.84 \pm 1.87$  (MPa), Elongation at break of  $28.23 \pm 0.82\%$ , Water vapor permeability of  $2.48 \pm 0.08$  ( $\times 10^{-7} g \cdot m^{-1} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$ ), Moisture absorption of  $10.03 \pm 0.48\%$ . The actual results have shown that Pec-Alg biofilm could maintain the quality and prolong the storage time of fresh passion fruit up to 12 days (4 more days) under normal conditions (ambient temperature range of 29 to 35°C). These results open up potential applications of Pec-Alg biofilm in preserving fresh fruits and vegetables.

Keywords: Biofilm, pectin, alginate, purple passion fruit peel.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Màng sinh học để bảo quản rau quả tươi là xu hướng trên thế giới do nhu cầu của con người ngày càng quan tâm hơn đến sức khỏe, an toàn thực phẩm và các vấn đề về môi trường (Falguera & cs., 2011). Mạng pectin gây được sự chú ý bởi tính không độc hại, không mùi và phân hủy sinh học. Hơn nữa, loại màng này có tính thấm khí thấp do đó tạo nên một lớp rào cản tốt để ngăn chặn sự trao đổi khí (Espitia & cs., 2014). Nguồn chiết xuất pectin thì rất dồi dào, tuy nhiên không phải loại pectin nào cũng có thể chế tạo màng bảo quản. Tính chất của màng phụ thuộc vào các đặc tính hóa lý của pectin như độ este hóa, chỉ số methoxyl, đương lượng, hàm lượng axit anhydrouronic (Nisar & cs., 2018). Vì vậy, nghiên cứu này sử dụng pectin được chiết xuất từ vỏ quả chanh dây tía, đã được xác định đặc tính hóa lý thuộc loại LMP (Low Methoxyl Pectin) - loại pectin có chỉ số DE (Degree Esterification) < 50% và chỉ số MI (Methoxyl Index) < 7% nên có tính tan thấp, có khả năng tạo gel không thuận nghịch, có độ đàn hồi, độ dẻo dai và sức căng bề mặt cao, do đó phù hợp cho mục đích tạo màng (Yapo & Koffi, 2014).

Các màng phủ từ pectin nhìn chung có khả năng chống thấm khí tốt nhưng lại có tốc độ thấm hơi nước cao do bản chất ưa nước của chúng. Vì vậy, để tăng cường tính năng bảo quản cho màng pectin thì alginate được phối trộn vào để làm tăng tính cản trở hơi ẩm, cải thiện độ bền, độ đàn hồi và không dính bết. Sự kết hợp giữa pectin và alginate tạo ra một loại màng phức hợp có khả năng ngăn cản oxy thấm qua vì thế sẽ ức chế được hiện tượng oxy hóa thực phẩm. Bên cạnh đó, màng còn có khả năng làm giảm thất thoát ẩm vì lượng ẩm trong màng sẽ bốc hơi trước nước trong thực phẩm, từ đó màng bao sẽ hơi khô và co lại làm cho lượng ẩm bên trong không thoát ra được (Seixas & cs., 2013).

Thêm vào đó, sự hóa dẻo của màng có thể được nâng cao bằng cách thêm vào các tác nhân làm dẻo. Các chất hóa dẻo thường sử dụng là những chất có khối lượng phân tử nhỏ và có thể làm tăng độ bền cũng như tính linh động của lớp phủ. Các chất hóa dẻo phổ biến như glycerol, sorbitol, propylene glycol... Các chất này phải

cùng hoạt tính tan với polymer, phải được giữ lại trong hỗn hợp lâu, ổn định cao, không bay hơi và quan trọng là mùi của các chất này không làm ảnh hưởng tiêu cực đến tính chất của màng (Guibert & Biquet, 1996). Hơn nữa, đối với pectin loại LMP thì việc bổ sung  $Ca^{2+}$  có tác dụng tăng cường liên kết ngang, làm cho mạng lưới trong chuỗi phân tử chặt chẽ hơn đồng thời làm tăng khả năng kéo dãn của màng (Seixas & cs., 2013).

Thực tế nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, một số loại màng có các chỉ tiêu kỹ thuật rất khả quan để bảo quản. Tuy nhiên, khi áp dụng thực tế lại không có hiệu quả. Do đó, để kiểm định hiệu quả thực tế của màng Pec-Alg, quả chanh dây tươi đã được phủ màng và tiến hành theo dõi sự biến đổi chất lượng trong suốt thời gian bảo quản.

Như vậy, việc tạo màng với thành phần cơ bản là pectin, kết hợp với alginate, glycerol,  $Ca^{2+}$  có tác dụng tăng cường chất lượng và tính năng bảo quản của màng. Tuy nhiên, câu hỏi đặt ra là cần phối trộn các thành phần này với tỉ lệ bao nhiêu là phù hợp. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là chế tạo màng sinh học Pec-Alg đáp ứng yêu cầu bảo quản quả tươi và đánh giá hiệu quả của nó trên quả chanh dây.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Pectin có độ tinh khiết 76% thuộc loại LMP được chiết xuất từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis Sims.*) trồng tại tỉnh Sơn La theo quy trình có chỉnh sửa của Ranganna & cs. (2001). Tất cả hóa chất được sử dụng là hóa chất tinh khiết thương mại có xuất xứ từ Đức, Ấn Độ, Trung Quốc. Pectin đối chứng là pectin thương mại thuộc loại HMP (High Methoxyl Pectin) của hãng HiMedia (Ấn Độ), sodium alginate được chiết xuất từ tảo nâu (hãng Zhanyun, Trung Quốc), glycerol nguồn gốc thực vật (hãng Duchefa, Hà Lan).

### 2.2. Chế tạo màng phức hợp Pec-Alg

Dựa trên phương pháp của Galus & Lenart (2013) có chỉnh sửa. Pectin và sodium alginate

Nghiên cứu chế tạo màng sinh học pectin-alginate sử dụng pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims.) và ứng dụng trong bảo quản chanh dây

được hòa tan riêng rẽ trong nước cất ấm (60°C) bằng máy đồng hóa với tốc độ 800 vòng/phút trong 15 phút để thu được dung dịch pectin với các nồng độ khác nhau 1,5; 2,0; 2,5; 3,0% (w/v) và dung dịch alginate 2% (w/v). Sau đó, dung dịch pectin được trộn với dung dịch sodium alginate theo tỉ lệ trong bảng 1. Bổ sung glycerol vào hỗn hợp, phối trộn đều bằng máy đồng hóa với tốc độ 800 vòng/phút trong 30 phút. Tiếp theo, tăng nhiệt độ của dung dịch lên 70°C bằng bể ổn nhiệt và 30ml dung dịch calcium chloride dihydrate được thêm vào với tốc độ chảy 1 ml/phút, khuấy đều rồi để yên trong 2 giờ. Sau đó, đổ 20ml dung dịch tạo màng vào đĩa petri có đường kính 14cm. Đĩa petri này được sấy khô ở 45°C trong 10 giờ. Bảo quản màng trong bình hút ẩm ở độ ẩm tương đối 52% đến khi phân tích.

### 2.3. phương pháp xác định đặc tính kĩ thuật của màng Pec-Alg

#### 2.3.1. Độ dày màng

Được xác định bằng thước đo kĩ thuật số digital micrometer (Mitutoyo Co., Tokyo, Japan) với độ chính xác  $\pm 0,001$ mm. Đo 5 lần tại 5 vị trí ngẫu nhiên đối với mỗi mẫu màng film, lấy giá trị trung bình. Giá trị trung bình này được dùng để tính toán các chỉ tiêu khác như: tính chất cơ học, độ thấm hơi nước.

#### 2.3.2. Sức căng và độ giãn đứt

Sức căng (TS) và độ giãn đứt (EB) được xác định theo phương pháp chuẩn ASTM standard method D882 (ASTM, 2002), sử dụng máy Mark-10, USA. Màng được cắt thành các miếng hình chữ nhật kích thước  $8 \times 2$ cm. Cài đặt

khoảng cách ban đầu của 2 đầu kẹp là 60mm, sử dụng cảm biến tải trọng 100N. Sức căng được tính bằng công thức sau:

$$TS(\text{MPa}) = \frac{F_{\max}}{\Phi}$$

Trong đó:

$F_{\max}$ : lực lớn nhất đo được (N);

$\Phi$ : diện tích mặt cắt ngang của màng ( $\text{mm}^2$ ).

Độ giãn đứt được tính bằng công thức sau:

$$EB(\%) = \frac{\Delta_1}{l_0} \times 100$$

Trong đó:

$\Delta_1$ : khoảng cách giãn dài thêm của mẫu (mm);

$l_0$ : chiều dài ban đầu của mẫu (mm).

#### 2.3.3. Độ thấm hơi nước

Được xác định dựa trên phương pháp tiêu chuẩn của ASTM E-996-00 (ASTM, 2000) với một vài chỉnh sửa. Sử dụng các lọ thủy tinh có đường kính miệng là 3cm, chiều cao 5,3cm. Để tạo ra độ ẩm tương đối 100%, lấy 8ml nước cất đổ vào mỗi lọ thủy tinh. Sau đó, dùng màng (mẫu test) để bọc kín miệng lọ. Tiếp theo, đặt các lọ này trong bình hút ẩm có chứa silica gel (0% RH) ở phòng nhiệt độ 25°C. Lọ thủy tinh được cân mỗi 6giờ một lần (độ chính xác 0,0001g, đo ít nhất 5 lần). Theo dõi sự thay đổi của khối lượng theo thời gian để tìm hồi quy tuyến tính. Tốc độ truyền hơi nước (WVTR ( $\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ )) được xác định bằng độ dốc của phần tuyến tính của đường cong chia cho phần diện tích màng thấm thấu.

**Bảng 1. Các công thức tạo màng phức hợp Pec-Alg**

Công thức	Tỉ lệ pectin : nước (w/v)	Tỉ lệ pectin : alginate (v/v)	Tỉ lệ glycerol bổ sung (w/w)	Tỉ lệ $\text{Ca}^{2+}$ bổ sung (w/w)
P1	1,5 %	75:25	30 %	3 %
P2	2,0 %	70:30	25 %	4 %
P3	2,5 %	65:35	20 %	5 %
P4	3,0 %	60:40	15 %	6 %
ĐC	3,0 %	50:50	30 %	4 %

Ghi chú: ĐC: sử dụng pectin thị trường; P1, P2, P3, P4: sử dụng pectin từ vỏ quả chanh dây tía

Độ thấm hơi nước của màng được tính bằng công thức sau:

$$WVP = \frac{\Delta m \times d}{A \times \Delta t \times \Delta P}$$

Trong đó:

WVP: độ thấm hơi nước của mẫu ( $g \cdot m^{-1} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$ );

$\Delta m$ : sự hao hụt khối lượng của nước trong lọ thủy tinh (g);

A: diện tích phần màng có hơi nước thấm qua ( $= 7,06 \times 10^{-4} m^2$ );

$\Delta t$ : thời gian (giờ);

d: độ dày của mẫu (m);

$\Delta P$ : độ chênh lệch áp suất hơi nước riêng phần giữa 2 mặt của màng ( $\Delta P = 3,179 \times 10^{-3} Pa$ ).

### 2.3.4. Độ hấp thu ẩm

Được xác định dựa theo phương pháp của Chaichi & cs. (2016). Sử dụng mẫu màng khô ( $2cm \times 2cm$ ) đã sấy ở  $105^\circ C$  trong 24 giờ (đến khối lượng không đổi) và cân được khối lượng ( $W_d$ ). Tiếp theo, mẫu được đặt trong bình hút ẩm có chứa dung dịch  $NaNO_3$  bão hòa để đảm bảo có độ ẩm tương đối là 74% ở nhiệt độ  $20-25^\circ C$ . Mẫu sẽ được cân đến khi đạt trạng thái cân bằng ( $W_f$ ). Độ hấp thu ẩm của màng được tính theo công thức sau:

$$MA(\%) = \frac{W_f - W_d}{W_d}$$

## 2.4. Đánh giá hiệu quả của màng Pec-Alg trong bảo quản quả chanh dây

### 2.4.1. Chuẩn bị mẫu quả chanh dây bảo quản

Quả chanh dây tía (*Passiflora edulis Sims.*) trồng tại tỉnh Sơn La được lấy mẫu theo TCVN 5102-90 (ISO 874-1980). Các quả được lựa chọn tương đồng về màu sắc, kích thước, độ cứng, được thu hoạch cẩn thận, tránh làm tổn thương quả và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong cùng ngày thu hoạch. Sau đó, rửa sạch bụi bẩn, để ráo nước và chia thành 3 lô quả tương ứng với 3 công thức.

### 2.4.2. Bố trí thí nghiệm phủ màng quả chanh dây

Bố trí 3 công thức (CT): Công thức đối chứng không phủ màng (ĐC), công thức phủ màng pectin thị trường (CT1) và công thức phủ màng Pec-Alg được lựa chọn (CT2) để bảo quản quả chanh dây. Mỗi CT sử dụng 30 quả (cùng với 3 lần lặp lại). Tiến hành phủ màng bằng cách nhúng ngập các quả chanh dây vào các dung dịch trong 1 phút, sau đó để màng se lại tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Các mẫu quả được bảo quản ở điều kiện thường (nhiệt độ môi trường dao động  $29-35^\circ C$ ).

### 2.4.3. Phân tích các chỉ tiêu sinh lý, cơ lý, hóa sinh của quả chanh dây trong quá trình bảo quản

Cường độ hô hấp và lượng ethylene sản sinh được xác định dựa trên phương pháp của Maftoonazad & Ramaswamy (2008) sử dụng máy đo  $CO_2$ ,  $O_2$  Dual gas analyser ICA250, UK và Ethylene analyser ICA56, UK; Tỷ lệ hao hụt khối lượng tự nhiên của quả được xác định bằng phương pháp cân (độ chính xác  $0,01g$ ); Độ cứng của quả được xác định bằng phương pháp không phá mẫu sử dụng thiết bị Mark 10, USA; Sự biến đổi màu sắc vỏ quả được xác định bằng máy đo màu Chromameter CR400, Nhật Bản; Hàm lượng chất khô hoà tan tổng số được xác định theo TCVN 4417-87 sử dụng chiết quang kế kỹ thuật số ATAGO (Atago, Tokyo, Nhật Bản); Hàm lượng axit hữu cơ tổng số được xác định theo TCVN 5483-91 (ISO 750-1981); Hàm lượng vitamin C được xác định theo TCVN 6427-2: 1998 (ISO 6557/2: 1984).

## 2.5. Phân tích số liệu

Tất cả các số liệu thu thập là đại diện của ít nhất 3 thí nghiệm lặp lại. Kết quả thí nghiệm được phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) trên phần mềm Microsoft Excel và Statgraphics Centurion 18. Sự khác biệt của giá trị trung bình giữa các công thức được đánh giá nhờ phép so sánh Tukey với mức tin cậy 95%.

**Bảng 2. Đặc tính kỹ thuật của màng Pec-Alg**

Công thức	Độ dày (mm)	Sức căng (MPa)	Độ giãn đứt (%)	Độ thấm hơi nước ( $\times 10^{-7}$ g. m <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> .Pa <sup>-1</sup> )	Độ hấp thu ẩm (%)
P1	0,087 <sup>e</sup> ± 0,006	16,68 <sup>c</sup> ± 1,45	27,53 <sup>a</sup> ± 0,39	9,12 <sup>b</sup> ± 0,32	5,54 <sup>c</sup> ± 0,63
P2	0,116 <sup>d</sup> ± 0,002	22,57 <sup>b</sup> ± 2,11	30,01 <sup>a</sup> ± 0,76	6,34 <sup>c</sup> ± 0,22	9,66 <sup>b</sup> ± 0,34
P3	0,139 <sup>c</sup> ± 0,007	30,84 <sup>a</sup> ± 1,87	28,23 <sup>a</sup> ± 0,82	2,48 <sup>d</sup> ± 0,08	10,03 <sup>b</sup> ± 0,48
P4	0,168 <sup>b</sup> ± 0,008	29,52 <sup>a</sup> ± 2,16	19,43 <sup>b</sup> ± 0,67	2,79 <sup>d</sup> ± 0,36	8,91 <sup>b</sup> ± 0,64
ĐC	0,187 <sup>a</sup> ± 0,005	6,17 <sup>d</sup> ± 0,97	5,69 <sup>e</sup> ± 0,26	33,12 <sup>a</sup> ± 0,78	18,54 <sup>a</sup> ± 0,67

Ghi chú: Số liệu được thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). ĐC: sử dụng pectin thị trường; P1, P2, P3, P4: sử dụng pectin từ vỏ quả chanh dây tía.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đặc tính kỹ thuật của màng phức hợp Pec-Alg

##### 3.1.1. Độ dày màng

Độ dày màng là khoảng cách giữa bề mặt trên và dưới của màng. Bảng 2 cho thấy giữa các CT đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ), trong đó độ dày ở công thức P1 là thấp nhất và ĐC là cao nhất. Nguyên nhân chính dẫn đến sự khác biệt giữa các CT thí nghiệm là do hàm lượng pectin và Ca<sup>2+</sup> tăng dần từ công thức P1 đến P4. Đối với pectin loại LMP, Ca<sup>2+</sup> giúp tăng cường liên kết ngang làm cho độ dày màng tăng lên (Seixas & cs., 2013). Trong khi đó công thức ĐC sử dụng pectin loại HMP và tỉ lệ glycerol bổ sung gấp đôi so với P4. Glycerol có vai trò làm chất hóa dẻo và chất làm dày nên công thức ĐC có độ dày màng cao nhất. Độ dày có ảnh hưởng đến độ thấm hơi nước và việc tính toán các chỉ tiêu kỹ thuật khác của màng (Lei & cs., 2019). Bởi vậy không phải lúc nào màng dày nhất cũng là tốt nhất, phải dựa trên nhiều chỉ tiêu khác nhau mới đánh giá được CT tạo màng phù hợp nhất.

##### 3.1.2. Sức căng

Bảng 2 cho thấy sức căng của các CT thí nghiệm đều lớn hơn 3 đến 5 lần so với ĐC, trong đó P3 cao nhất (30,84MPa) và có sự sai khác có ý nghĩa so với các CT còn lại ( $P < 0,05$ ). Mặc dù công thức P3 sử dụng lượng glycerol ít hơn so với P1 và P2, nhưng do có hàm lượng pectin cao hơn nên công thức P3 vẫn có sức căng cao nhất. Điều đó chứng tỏ vai trò rất quan

trọng của pectin trong các thành phần tạo màng phức hợp Pec-Alg. Sức căng thể hiện lực kéo căng lớn nhất có thể làm đứt gãy màng trên một đơn vị diện tích mặt cắt ngang của màng. Màng có sức căng càng lớn thì càng dai, bền, đàn hồi tốt (Almasi & cs., 2020).

Kết quả này tương đồng với công bố của Lei & cs. (2019) và Galus & cs. (2013) khi đánh giá vai trò của pectin trong màng phức hợp. So sánh với các nghiên cứu liên quan, sức căng cao nhất ở P3 vẫn thấp hơn một chút so với màng pectin của Seixas & cs. (2013) (đạt  $37,22 \pm 4,55$ MPa), nhưng lại cao hơn nhiều so với sức căng của màng pectin/gel nha đam (đạt từ 5,04 đến 7,11MPa) theo công bố của Mata & cs. (2018)

##### 3.1.3. Độ giãn đứt

Độ giãn đứt là tỉ lệ phần giãn dài tối đa khi bị tác dụng lực kéo căng trên độ dài ban đầu của màng. Bảng 2 cho thấy so với các CT thí nghiệm thì ĐC có độ giãn đứt rất thấp, chỉ 5,69% trong khi các CT thí nghiệm dao động từ 19-30%. Độ giãn đứt ở công thức P1, P2, P3 nằm trong khoảng giá trị cao nhất và sự khác biệt không có ý nghĩa giữa 3 CT này. Bên cạnh đó, độ giãn đứt của công thức P4 thấp hơn so với 3 CT thí nghiệm còn lại do trong CT này sử dụng nhiều alginate hơn nhưng lại ít glycerol hơn, mà glycerol là chất hóa dẻo, có tác dụng tăng cường độ dẻo dai của màng, còn Ca<sup>2+</sup> giúp làm tăng khả năng kéo dãn của màng, nhưng nếu lượng Ca<sup>2+</sup> bổ sung nhiều quá sẽ làm màng bị cứng. So sánh với công bố của Nisar & cs. (2018), màng Pec-Alg có độ giãn đứt cao hơn hẳn so với màng pectin từ vỏ cam (chỉ đạt từ 8,96 đến 11,75%).

Độ giãn đứt thể hiện độ dẻo dai của màng, độ giãn đứt càng cao thì màng càng dai chắc, khó bị rách (Nisar & cs., 2018).

### 3.1.4. Độ thấm hơi nước

Bảng 2 cho thấy độ thấm hơi nước của các CT thí nghiệm đều nhỏ hơn từ 4-13 lần so với ĐC. Nguyên nhân chính ở đây là do các CT thí nghiệm sử dụng pectin chiết xuất từ vỏ chanh dây tía, thuộc loại LMP - loại pectin đã được nhiều nhà khoa học chứng minh có tác dụng tạo màng vì có chỉ số DE và MI thấp dẫn đến thuộc tính cản trở hơi nước tốt hơn. Trong khi đó, công thức ĐC sử dụng pectin thông thường trên thị trường, thuộc loại HMP. Độ thấm hơi nước ở công thức P3 và P4 là thấp nhất và có sự sai khác có ý nghĩa so với các CT còn lại ( $P < 0,05$ ). Điều này được giải thích là do P3 và P4 sử dụng hàm lượng pectin cao hơn, đồng thời lượng alginate và tỉ lệ  $Ca^{2+}$  cũng tăng lên. Trong một khoảng giá trị nhất định, khi hàm lượng pectin tăng lên sẽ làm màng dày hơn, từ đó tăng cường khả năng cản trở sự thấm nước của màng, tuy nhiên nếu hàm lượng pectin tăng quá cao thì khả năng cản thấm hơi nước lại giảm đi do pectin là hợp chất ưa nước. Thêm vào đó, alginate là chất có khả năng ngăn cản thấm nước tốt, còn  $Ca^{2+}$  giúp tăng cường liên kết ngang, làm cho mạng lưới trong chuỗi phân tử chặt chẽ hơn, từ đó làm giảm tính thấm hơi nước của màng. Theo công bố của Nisar & cs. (2018), độ thấm hơi nước của màng pectin chiết xuất từ vỏ cam nằm trong khoảng 6,52-9,48 ( $\times 10^{-7} \text{ g.m}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ ), như vậy độ thấm hơi nước ở công thức P3 và P4 đều thấp hơn nhiều (2,48-2,79 ( $\times 10^{-7} \text{ g.m}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ )). Độ thấm hơi nước thể hiện tốc độ truyền hơi nước qua màng từ nơi có áp suất hơi nước cao đến nơi có áp suất thấp. Độ thấm hơi nước thấp thì tốt hơn bởi sẽ cản trở hơi nước từ quả thoát ra ngoài, từ đó làm giảm sự tổn thất khối lượng của quả và giữ được quả tươi lâu hơn (Almasi & cs., 2020).

### 3.1.5. Độ hấp thu ẩm

Kết quả ở bảng 2 đã chỉ ra rằng độ hấp thu ẩm của các CT thí nghiệm đều thấp hơn hẳn so với ĐC. Nguyên nhân chính là do pectin loại LMP (của các CT thí nghiệm) có tính hấp thu

nước thấp hơn hẳn so với pectin loại HMP của ĐC. Khi so sánh với màng pectin/nanocellulose của Chaichi & cs. (2016) thì độ hấp thu ẩm của màng Pec-Alg trong nghiên cứu này thấp hơn hẳn (5,54-10,03% so với 28,76-33,66%). Điều này khẳng định vai trò quan trọng của thành phần alginate bổ sung trong việc giảm độ thấm ẩm của màng phức hợp. Độ hấp thu ẩm cho thấy khả năng hút hơi nước từ mẫu quả hoặc môi trường bên ngoài vào trong màng. Màng có độ hấp thu ẩm cao sẽ dễ bị hư hỏng, tính chất của màng cũng bị thay đổi, ngoài ra còn gây cảm giác bết dính dẫn đến giảm chất lượng cảm quan (Chaichi & cs., 2016).

Tổng hợp tất cả những phân tích ở trên cho thấy công thức P3 tạo nên màng sinh học có độ thấm hơi nước thấp nhất, sức căng bề mặt cao nhất giúp màng có độ dẻo dai, bền và cản trở sự thoát hơi nước tốt. Đồng thời, độ giãn đứt cũng nằm trong khoảng giá trị cao nhất và độ hấp thu ẩm nằm trong khoảng giá trị chấp nhận được. Vì vậy, có thể kết luận rằng công thức P3 phù hợp nhất để tạo màng bảo quản Pec-Alg.

## 3.2. Đánh giá hiệu quả bảo quản của màng Pec-Alg áp dụng trên quả chanh dây

### 3.2.1. Cường độ hô hấp

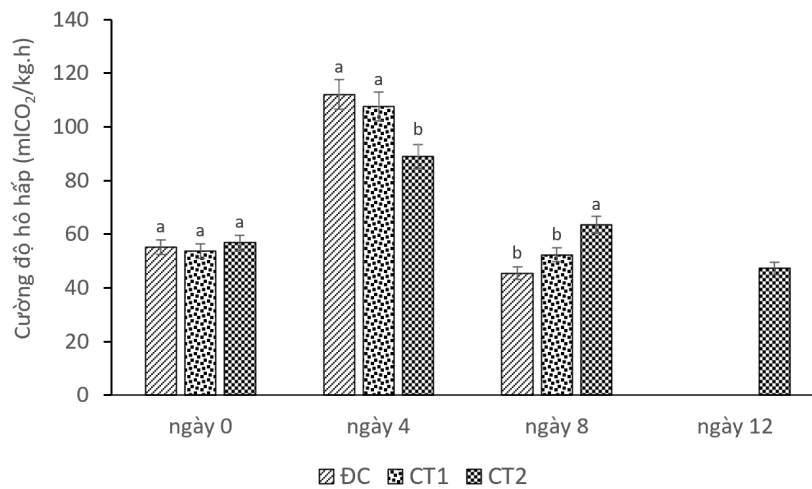
Cường độ hô hấp (CĐHH) có liên quan chặt chẽ đến quá trình chín của quả và sự biến đổi của các chỉ tiêu khác. Kết quả hình 1 cho thấy CĐHH của quả chanh dây trong quá trình bảo quản đều có xu hướng tăng đột biến trong những ngày đầu, sau đó giảm dần xuống. Hơn nữa, phân tích thống kê cũng chỉ ra rằng có sự khác biệt rõ ràng giữa CT2 so với hai CT còn lại. Cụ thể, ở ngày thứ 4 CĐHH của chanh dây ở CT2 thấp hơn hẳn so với CT1 và ĐC. Ở các ngày tiếp theo, trong khi CĐHH của ĐC và CT1 đều giảm mạnh thì CT2 lại giảm chậm hơn hẳn. Điều đó chứng tỏ quá trình chín của quả chanh dây ở CT2 diễn ra chậm hơn so với 2 CT còn lại. Nguyên nhân là do màng Pec-Alg đã tạo ra một rào chắn khá hiệu quả ngăn cản sự cung cấp oxy cho quá trình hô hấp, đồng thời cản trở sự thoát  $CO_2$  ra bên ngoài (Espitia & cs. 2014). Theo Falguera & cs. (2011), việc quan trọng khi xây dựng công thức tạo màng sinh học là phải dựa trên đặc điểm sinh lý của loại rau quả mục tiêu

dự định áp dụng. Như vậy, màng Pec-Alg ở CT2 có tác dụng tích cực trong việc làm chậm CĐHH của quả chanh dây.

### 3.2.2. Sự sản sinh ethylene

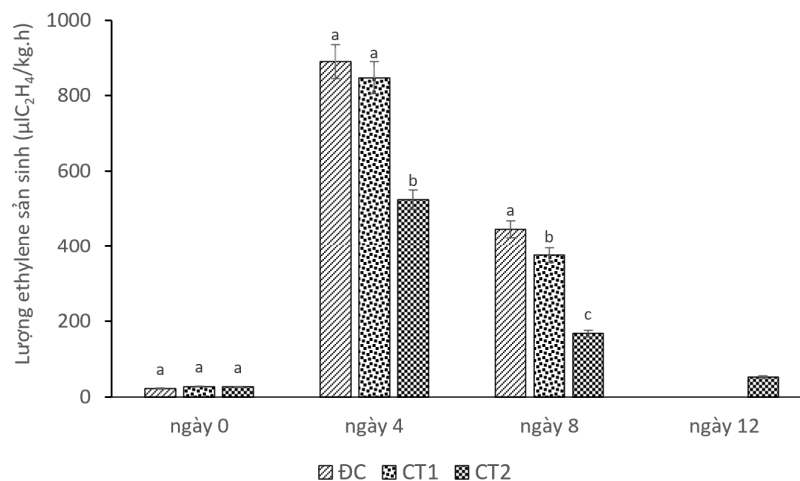
Kết quả ở hình 2 cho thấy xu hướng chung là ethylene ở cả 3 CT đều tăng rất mạnh ở ngày bảo quản thứ 4 tương ứng với thời điểm đạt đỉnh chín của quả, sau đó giảm dần. Tuy nhiên, ở tất cả các thời điểm phân tích, ethylene ở CT2 luôn ít hơn hẳn so với 2 CT còn lại (giảm tới 41,1% so với ĐC tại ngày thứ 4). Nguyên nhân là do màng Pec-Alg đã làm cản trở sự thấm khí O<sub>2</sub>

vào bên trong và giảm sự thoát khí CO<sub>2</sub> ra bên ngoài quả. Mà chính môi trường có nồng độ O<sub>2</sub> thấp và CO<sub>2</sub> cao có tác dụng hiệp đồng trong việc ngăn cản sự sinh tổng hợp ethylene (Maftoonazad & cs. 2019). Điều đó chứng tỏ màng Pec-Alg được chọn có hiệu quả rất đáng kể trong việc làm chậm chín quả chanh dây. Khả năng kiểm soát hô hấp và sản sinh ethylene của một số loại màng pectin cũng đã được chứng minh có hiệu quả trong bảo quản các loại quả khác như quả xoài, dưa chuột (Moalemiyan & cs. 2012); dâu tây (Abdi & cs., 2017; Garza & cs., 2015).



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Hình 1. Sự biến đổi cường độ hô hấp của quả chanh dây trong quá trình bảo quản**



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Hình 2. Sự sản sinh ethylene của quả chanh dây trong quá trình bảo quản**

### 3.2.3. Độ cứng

Hình 3 cho thấy ở thời điểm đầu thì không có sự khác biệt về độ cứng giữa 3 CT. Sau đó, độ cứng của cả 3 CT đều giảm xuống, tuy nhiên CT2 có tốc độ giảm chậm hơn hẳn so với ĐC và CT1. Nguyên nhân của sự giảm độ cứng trong quá trình chín là do hoạt động của các enzyme pectinesterase ở phần vỏ quả xúc tác cho sự thủy phân methyl ester trong chuỗi pectin và enzyme polygalacturonase phá vỡ cấu trúc chuỗi pectin làm biến đổi protopectin thành pectin hòa tan, làm cho mô quả mềm và liên kết giữa các mô yếu đi (Huber, 1983). Thêm vào đó, sự thoát hơi nước cũng là nguyên nhân làm cho quả bị giảm độ cứng. Màng Pec-Alg ở CT2 đã được chứng minh có khả năng ngăn cản sự thấm hơi nước tốt hơn hẳn, do đó góp phần duy trì độ cứng của quả. Hiệu quả của một loại màng pectin khác trong việc duy trì độ cứng của quả bơ cũng được ghi nhận bởi Maftoonazad & cs. (2008).

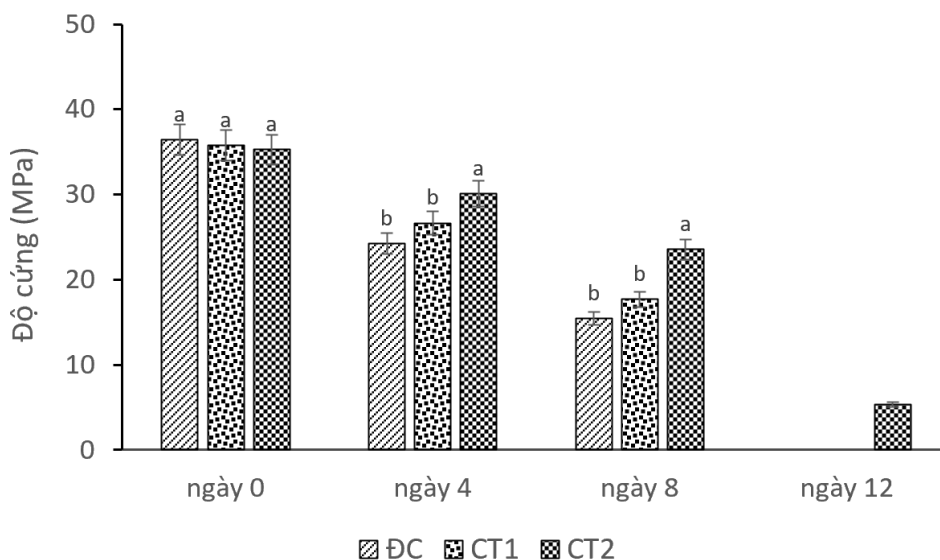
### 3.2.4. Sự biến đổi màu sắc vỏ quả

Màu sắc của quả được khảo sát thông qua sự sai khác về màu ( $\Delta E$ ). Hình 4 cho thấy chỉ số  $\Delta E$  đều có xu hướng tăng lên trong quá trình bảo quản ở tất cả các CT (tăng nhanh thời gian đầu và tăng nhẹ về sau). Mặt khác, tại

từng thời điểm phân tích, chỉ số  $\Delta E$  của CT2 luôn nhỏ hơn so với 2 CT còn lại một cách có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Điều đó chứng tỏ rằng vỏ quả chanh dây ở CT2 chậm biến đổi màu sắc hơn tương ứng với quá trình chín diễn ra chậm hơn. Đây là một đặc điểm có lợi cho giá trị cảm quan của quả chanh dây. Tác dụng này được giải thích là do màng Pec-Alg đã tạo ra môi trường có nồng độ  $O_2$  thấp và  $CO_2$  cao giúp ngăn chặn sự phân hủy của chlorophyll (Moalemiyan & cs. 2012).

### 3.2.5. Tỷ lệ hao hụt khối lượng tự nhiên

Quá trình thoát hơi nước là nguyên nhân chính làm giảm khối lượng của quả. Quả chanh dây có hàm lượng nước cao nên quá trình sinh lý xảy ra rất nhanh và mạnh. Khi quả tiếp xúc trực tiếp với môi trường có sự lưu thông không khí lớn, hàm lượng  $O_2$  cao thì CĐHH và tốc độ bay hơi nước ra bên ngoài rất lớn. Hình 5 cho thấy CT2 có tỷ lệ hao hụt khối lượng thấp hơn hẳn do chanh dây được phủ màng Pec-Alg với tính năng ngăn cản sự thấm hơi nước rất hiệu quả. Maftoonazad & cs. (2019) cũng đã cho thấy một loại màng pectin có khả năng làm giảm rất đáng kể sự hao hụt khối lượng của quả chanh ta (*Citrus aurantifolium*).

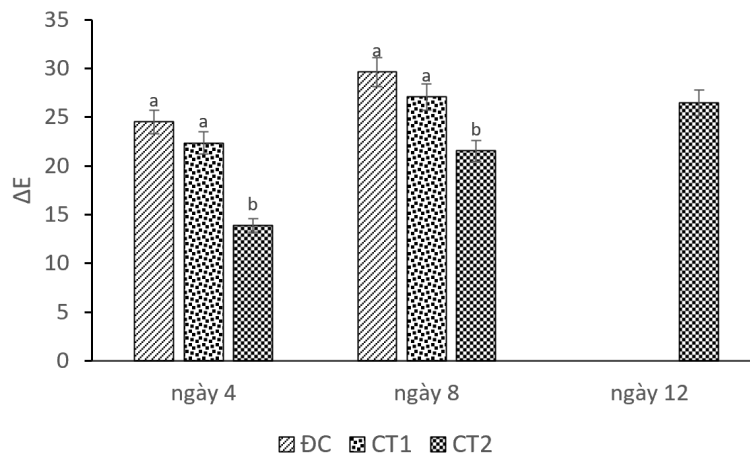


Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Hình 3. Sự biến đổi độ cứng của chanh dây trong quá trình bảo quản

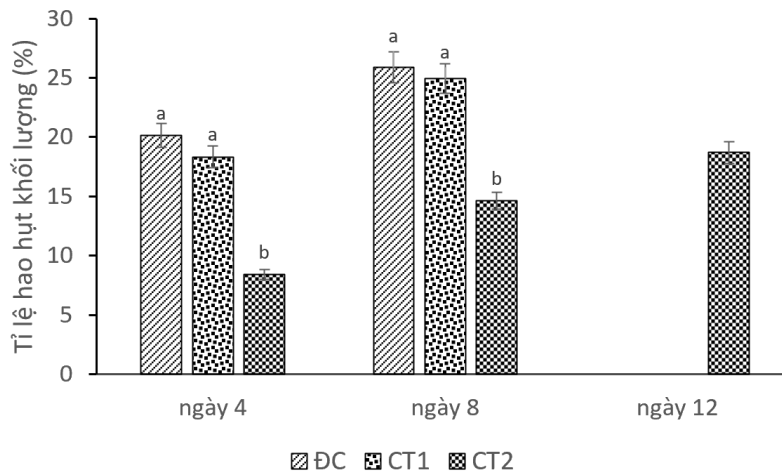


Nghiên cứu chế tạo màng sinh học pectin-alginate sử dụng pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims.) và ứng dụng trong bảo quản chanh dây



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )

**Hình 4. Sự biến đổi màu sắc của chanh dây trong quá trình bảo quản**



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )

**Hình 5. Tỷ lệ hao hụt khối lượng tự nhiên của chanh dây trong quá trình bảo quản**

### 3.2.6. Chất khô hòa tan tổng số (TSS)

Cùng với sự thay đổi hình thức bên ngoài, chất lượng dinh dưỡng của quả chanh dây cũng thay đổi trong thời gian bảo quản. Hình 6 cho thấy TSS của tất cả các CT tăng nhẹ ở ngày thứ 4 và sau đó giảm xuống. Ở thời điểm ban đầu và ngày thứ 4, giá trị TSS không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa 3 CT ( $P < 0,05$ ). Tuy nhiên, đến ngày thứ 8, TSS của công thức ĐC giảm mạnh hơn nhiều so với 2 CT còn lại, đồng thời CT2 duy trì được TSS cao nhất đến ngày bảo quản cuối cùng. Để hiểu rằng CT2 duy trì được TSS là

do màng Pec-Alg đã có tác dụng làm giảm CĐHH và các hoạt động sinh lý của quả chanh dây. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Yimenu & cs. (2017).

### 3.2.7. Axit hữu cơ tổng số

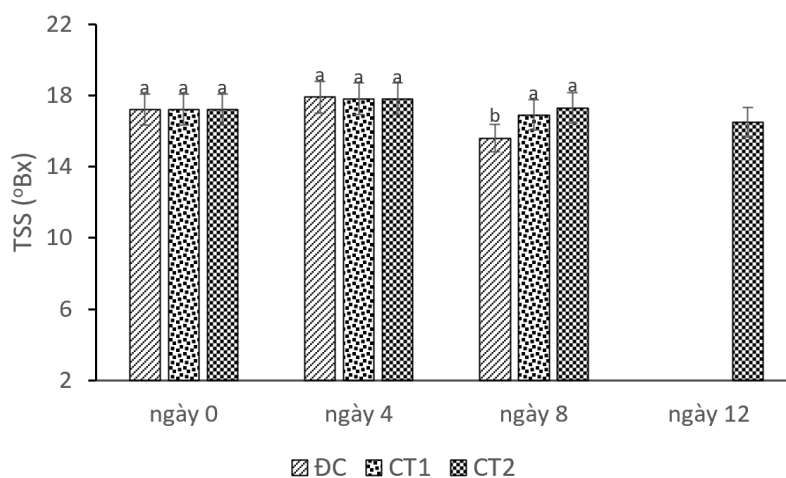
Trong quá trình bảo quản, hạn chế được sự giảm axit hữu cơ giúp giữ được hương vị của quả tươi. Hình 7 cho thấy xu hướng biến đổi chung của chỉ tiêu này là giảm dần trong quá trình bảo quản. Tuy nhiên, tại các thời điểm phân tích CT2 luôn giữ được hàm lượng axit hữu cơ cao

hơn hẳn so với CT1 và ĐC ( $P < 0,05$ ). Dễ hiểu rằng nguyên nhân ở đây là do màng Pec-Alg đã làm giảm CDHH dẫn đến sự tiêu tốn ít hàm lượng axit hữu cơ và làm chậm sự biến đổi hóa sinh trong quá trình chín. Các kết quả tương tự của màng pectin cũng được ghi nhận trên quả hồng xiêm, quả chanh vàng bởi Menezes & Athmaselvi (2016), Maftoonazad & cs. (2019), tương ứng.

### 3.2.8. Vitamin C

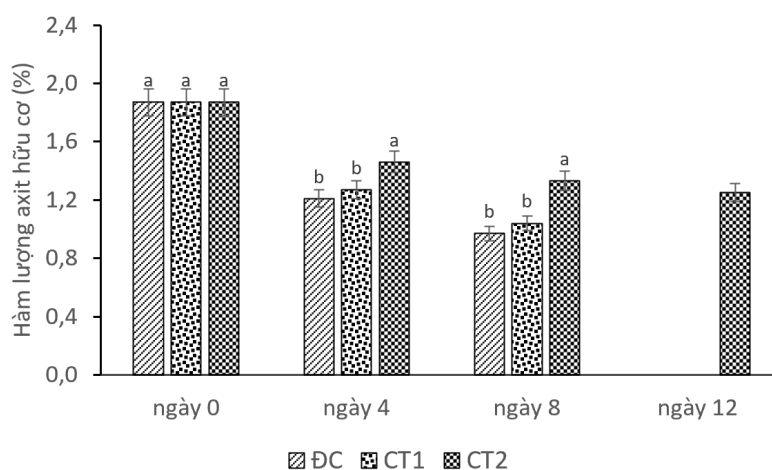
Hàm lượng vitamin C thường giảm trong quá trình bảo quản, vì vậy cần tìm ra CT phù

hợp nhằm giữ được vitamin C nhiều nhất có thể. Hình 8 cho thấy ở các thời điểm phân tích, hàm lượng vitamin C của công thức ĐC và CT1 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, chứng tỏ màng pectin thị trường không có hiệu quả trong việc làm giảm sự mất vitamin C. Đồng thời, CT2 cho thấy khả năng giữ được vitamin C tốt hơn hẳn so với 2 CT còn lại. Gần đây, một công bố của Mditshwa & cs. (2017) đã chứng minh rằng các thành phần khí xung quanh quả có vai trò quan trọng trong việc duy trì hàm lượng vitamin C. Khi nồng độ  $O_2$  tăng lên sẽ làm tăng sự tổn hao vitamin C.



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

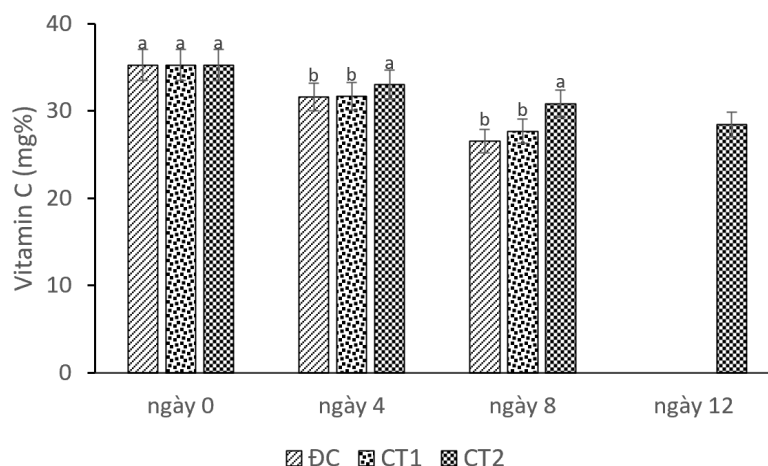
**Hình 6. Sự biến đổi TSS của quả chanh dây trong quá trình bảo quản**



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Hình 7. Sự biến đổi axit hữu cơ của chanh dây trong quá trình bảo quản**

Nghiên cứu chế tạo màng sinh học pectin-alginate sử dụng pectin từ vỏ quả chanh dây tía (*Passiflora edulis* Sims.) và ứng dụng trong bảo quản chanh dây



Ghi chú: ĐC: không phủ màng, CT1: phủ màng pectin thị trường, CT2: phủ màng Pec-Alg; Tại cùng một thời điểm phân tích, các cột có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )

**Hình 8. Sự biến đổi vitamin C của chanh dây trong quá trình bảo quản**

Tổng hợp tất cả các phân tích ở trên, có thể thấy rằng màng Pec-Alg được lựa chọn đã thể hiện khả năng bảo quản rất hiệu quả đối với quả chanh dây tươi. Đồng thời, kết quả cũng cho thấy công thức ĐC và CT1 chỉ bảo quản chanh dây tươi được 8 ngày, trong khi CT2 kéo dài thời gian bảo quản lên đến 12 ngày ở điều kiện thường.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xây dựng được công thức tạo màng sinh học Pec-Alg với thành phần như sau: tỉ lệ pectin:nước 2,5% (w/v), tỉ lệ pectin:alginate 65:35 (v/v), tỉ lệ glycerol 20% (w/w) và  $\text{Ca}^{2+}$  5% (w/w). Màng Pec-Alg có đặc tính kỹ thuật phù hợp cho mục đích bảo quản quả tươi. Màng Pec-Alg được ứng dụng trong bảo quản quả chanh dây đã có tác dụng làm chậm sự biến đổi sinh lý - hóa sinh, đồng thời duy trì chất lượng và kéo dài thời gian bảo quản được 12 ngày ở điều kiện thường (thêm 4 ngày so với quả chanh dây không phủ màng).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdi S., Rooein Z., Erfanimoghadam J. & Aziznia S. (2017). Application of pectin coating containing essential oil for increasing quality of strawberry fruit. *Journal of Postharvest Technology*. 5: 83-94.

Almasi H., Azizi S. & Amjadi S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*. 99: 105338.

Chaichi M., Hashemi M., Badii F. & Mohammadi A. (2016). Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*. 157: 167-175.

Espitia P.J.P., Du W.X., Soares N.F.F. & McHugh T.H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - a review. *Food Hydrocolloids*. 35: 287-296.

Falguera V., Quintero J.P., Jimenez A., Munoz J.A. & Ibarz A. (2011). Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Science Technology*. 22: 292-303.

Galus S. & Lenart A. (2013). Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*. 115: 459-465.

Garza T., Garcia S., Gonzalez S.F. & Nino A.K. (2015). Edible active coatings based on pectin, pullulan and chitosan increase quality and shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Food Science*. 80: 1823-1830.

Guibert S. & Biquet B. (1996). Edible films and coatings. In: Bureau G., Multon J. (Eds.). *Food packaging technology*. Vol. 1. VCH Publishers, Inc., New Jersey, USA. 315-353.

Huber D.J. (1983). The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*. 5: 169-219.

- Kastner H., Stoll U. & Senge B. (2012). Structure formation in sugar containing pectin gels influence of Ca<sup>2+</sup> on the gelation of low methoxylated pectin at acidic pH. *Food Hydrocolloids*. 27: 42-49
- Lei Y., Wu H., Jiao C., Jiang Y., Liu R., Xiao D., Lu J., Zhang Z., Shen G. & Li S. (2019). Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol. *Food Hydrocolloids*. 94: 128-135.
- Maftoonazad N. & Ramaswamy H. (2008). Effect of pectin-based coating on the kinetics of quality change associated with stored avocados. *Journal of Food Process Preservation*. 32: 621-643.
- Maftoonazad N. & Ramaswamy H. (2015). Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT-Food Science Technology*. 38: 617-624.
- Maftoonazad N. & Ramaswamy H. (2019). Application and evaluation of a pectin-based edible coating process for quality change kinetics and shelf-life extension of lime fruit (*Citrus aurantifolium*). *Coatings*. 9(5): 285.
- Mata M.A., Cabrera M.G. & Onofre J.E. (2018). Physicochemical properties of novel pectin/Aloe gel membranes. *Iranian Polymer Journal*. 27: 545-553.
- Mditshwa A., Magwaza L.S., Tesfay S.Z. & Opara U.L. (2017). Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. *Scientia Horticulturae*. 218: 95-104.
- Menezes J. & Athmaselvi K. (2016). Study on effect of pectin based edible coating on the shelf life of sapota fruits. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 13(2): 1195-1199.
- Moalemiyan M. & Ramaswamy H. (2012). Quality retention and shelf-life extension in mediterranean cucumbers coated with a pectin-based film. *Journal of Food Research*. 1(3): 159-168
- Moalemiyan M., Ramaswamy H. & Maftoonazad N. (2012). Pectin-based edible coating for shelf-life extension of ataulfo mango. *Journal of Food Process Engineering*. 35: 572-600.
- Nisar T., Wang Z.C., Yang X., Tian Y., Iqbal M. & Guo Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 106: 670-680.
- Oliveira T.I.S., Redondo L., Moates G.K., Wellner N., Cross K. & Waldron K.W. (2016). Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite. *Food Chemistry*. 198: 107-112.
- Ranganna S. (2001). Pectin: handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. Tata McGraw-Hill Publishing, USA. pp. 31-47.
- Seixasa F.L., Turbianib R.B., Salomaob P.G., Souzaa R.P. & Gimenesa M.L. (2013). Biofilms composed of alginate and pectin: effect of concentration of crosslinker and plasticizer agents. *Chemical Engineering Transactions*. 32: 1693-1698.
- Yapo B.M. & Foffi K.L. (2014). Extraction and characterization of highly gelling low methoxy pectin from cashew apple pomace. *Foods*. 3: 1-12.
- Yimenu S.M., Abera S. & Solomon W. (2017). Effect of bee wax and linseed oil coatings and frequency of dipping on the biochemical and organoleptic quality of fresh orange juice (*Citrus sinensis* cv. Valencia). *Journal of Postharvest Technology*. 5: 17-28.