



<http://uard.bg>

## New Knowledge Journal of Science

### Списание за наука „Ново знание”

University of Agribusiness and Rural Development Academic Publishing House  
Bulgaria

Академично издателство на Висше училище по агробизнес и развитие на регионите  
Пловдив

#### АНАЛИЗ НА МИКРОБИОЛОГИЧНАТА БЕЗОПАСНОСТ И КАЧЕСТВО НА ПАРЧЕНЦА ПЪПЕШ С ЯДИВНИ ПОКРИТИЯ ОТ ХИТОЗАН

Стоил Желязков, Светослав Александров, Боряна Бръшлянова

Институт за изследване и развитие на храните – Пловдив

**Ключови думи:**

ядивни покрития  
хитозан  
парченца пъпеш  
патогенни микроорганизми  
микробиологична развала

**Резюме**

В настоящото изследване е проведено микробиологично изпитване на охладени парченца пъпеш с и без ядивни покрития от хитозан. При използваните суровини и технологични операции в нито една от анализираниите проби не е установено наличие на патогенните микроорганизми: *Escherichia coli*, колиформи, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* над допустимите норми. В установения срок на годност на охладени парченца пъпеш (5 дни) и такива с покрития от хитозан и хитозан с калциев лактат (7 дни) не са установени патогенни микроорганизми в количества, които застрашават здравето на консуматора. Микрофлората, която преобладава в продуктите и е фактор за микробна развала, са плесени и дрожди.

#### ANALYSIS OF MICROBIOLOGICAL SAFETY AND QUALITY OF FRESH-CUT MELON WITH CHITOSAN EDIBLE COATINGS

Stoil Zhelyazkov, Svetoslav Aleksandrov, Boryana Brashlyanova

Food Research and Development Institute - Plovdiv

**Key words:**

edible coatings  
chitosan  
fresh-cut melon  
pathogens  
microbial spoilage

**Abstract**

Microbiological testing of chilled fresh-cut melon without and with chitosan coatings was conducted. In any analyzed samples are not detected pathogens: *Escherichia coli*, coliforms, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* above the permissible limits independent of used raw materials and process steps. There aren't pathogenic microorganisms in quantities that threaten the consumer health after 5 days shelf life of chilled fresh cut melon and 7 days for both chitosan coating and chitosan with calcium lactate. The predominant microflora in products and also factor for microbial spoilage are molds and yeasts.

## ВЪВЕДЕНИЕ

Потребителите все повече осъзнават ползите за здравето си и рисковете, свързани с консумацията на хранителни продукти. Нараства търсенето на плодове и зеленчуци за директна консумация, които са безопасни, запазили своите характеристики за по-дълъг период от време, без да са термично преработени (Ahvenainen *et al.*, 1996). За постигането на тези изисквания са проведени много изследвания за разработване и използване на ядивни опаковки, които под формата на слой върху плодовете и зеленчуците могат да създават вътрешна модифицирана атмосфера (Park *et al.*, 1994). Това забавя процесите на зреене, окисление, газообмен, загуба на влага и промяна на цвета им (Baldwin, 1995; McHugh and Krochta, 1994; Park *et al.*, 1994). Чрез използването на ядивни опаковки се запазват или подобряват текстурните и сензорните характеристики, което е предпоставка за удължаване срока на годност на растителните продукти по един екологичен начин (Guilbert *et al.*, 1996). Концепцията на ядивните опаковки като защитни слоеве е била формулирана още през 1800 г., като първата ядивна опаковка е създадена от восък върху ябълки в Китай през 12 век (Guilbert *et al.*, 1996, Park, 1999).

През 1999, Arvanitoyannis и Gorris обобщават следните изисквания, на които да отговарят ядивните опаковки. Те трябва да:

- са безопасни;
- са водоустойчиви и обхващат всички части от продукта;
- не елиминират наличния кислород и да не създават условия за натрупване на въглероден диоксид;
- намаляват пропускливостта на водните пари;
- запазват или подобряват външния вид, структурната цялост, механичните свойства и количеството на биологично ценни вещества;
- задържат летливи и други съединения определящи вкусовите и ароматични качества на продукта.

Ядивните покрития са тънки слоеве от хранителни вещества, приложени към повърхността на продукта в допълнение или като заместител на естественото защитно покритие, които са бариера за влагата, кислорода и разтворимите вещества в хранителния продукт (Avena-Bustillos *et al.*, 1997; Guilbert *et al.*, 1996; Lerdthanangkul and Krochta, 1996; McHugh and Senesi, 2000; Nisperos-Carriedo *et al.*, 1992; Smith *et al.*, 1987). Ядивните покрития се прилагат директно върху повърхността чрез потапяне, пръскане или механично насляване (Guilbert *et al.*, 1996; Krochta and Mulder-Johnston, 1997; McHugh and Senesi, 2000). Като идеално покритие

се определя това, което може да удължи срока на съхранение, без да причинява анаеробни процеси и да намалява гниенето, без това да повлияе на качеството на продукта (El Ghaouth *et al.*, 1992).

В литературата са представени редица примери за използването на ядивни покрития за удължаване срока на годност на различни пресни плодове и зеленчуци. Пчелният восък е използван като покритие върху цитрусови плодове и ябълки, а минерално масло при консервирането на домати. Успешно са приложени различни восъчни покрития върху краставици. В настоящия момент са по-малко проучени ядивни покрития върху кайсии, ананаси, банани, череша, гуава, манго, пъпеша, нектарини и праскови (Baldwin, 1995).

## Състав на ядивните покрития

Компонентите, използвани за получаването на ядивни покрития, могат да бъдат класифицирани в три категории: хидроколоиди (протеини, полизахариди), липиди (мастни киселини, ацилглицерол, восъци) и композити (Donhowe and Fennema, 1993). В състава на ядивните покрития могат се включват и хранителни вещества с антиоксидантна и/или антимикробна активност, които да забавят процесите на развала. Ядивните покрития биват консумирани заедно с хранителния продукт, което от своя страна налага филмообразуващият материал да е безопасен за консуматора (Park *et al.*, 1994; Krochta and Mulder-Johnston, 1997)

## Ядивни покрития на база полизахариди

Полизахариди, които са използвани за създаването на ядивни опаковки, са: нишесте, пектин (Baldwin, 1995), целулоза (Tien *et al.*, 2001; Li and Barth, 1998; Baldwin, 1995), хитозан (Baldwin, 1995; Cheah *et al.*, 1997; Jiang and Li, 2001; Li and Yu 2000; Zhang and Quantick, 1998) и алгинат (Baldwin, 1995; Tien *et al.*, 2001). Тези покрития осигуряват здравина и структурна цялост; но не са ефективни бариери за влага поради тяхната хидрофилна природа (Krochta, 2001; Kester и Fennema, 1986). Кислородните бариерни свойства се дължат на тяхната плътно опакована, подредена водородно свързана мрежова структура и ниска разтворимост (Banker, 1966).

## Хитозанът като компонент на ядивни покрития и филми

Хитозанът е катионен полизахарид, който се получава при деацетилиране на хитин. Той е разтворим в разредени органични киселини (Cheah *et al.*, 1997; El Ghaouth *et al.*, 1991;

El Ghaouth *et al.*, 1992b; Jiang и Li, 2001; Zhang and Quantick, 1998; Zhang and Quantick, 1997). Изследвания на редица колективи са показали, че хитозанът е нетоксичен и биологично безопасен полизахарид (Cheah *et al.*, 1997; Jiang and Li, 2001; Zhang and Quantick, 1998). Освен в хранителни добавки законодателството на Япония и Канада е разрешило използването на хитозан за влагане в различни хранителни продукти. Редица изследвания са доказали съответствието на опаковките от хитозан с изисквания за ядивните опаковки. El Ghaouth и колектив, 1992а установяват забавяне на зреенето на плодове и зеленчуци с хитозаново покритие. Намаляване процесите на дишане и газообмен са потвърдени при обработката на кълнове, моркови, домати, праскови, манго, малини и други растителни суровини (Ghaouth *et al.*, 1991; Jiang and Li, 2001; Zhang and Quantick, 1998).

#### **Микробиологичен риск при консумацията на плодове и зеленчуци**

Плодовете и зеленчуците, които се консумират непреработени, все повече се асоциират като продукти, чрез които се пренасят патогенни за човека микроорганизми, които традиционно са свързани с храни от животински произход (Berger *et al.*, 2010). В периода 2007-2011 г. в Европа е отчетена ясна тенденция за нарастване на относителния дял на хранителните инфекции, причинени от храни от неживотински произход. В научното становище на Панела по биологични опасности (Biological Hazard, BIOHAZ Panel) към EFSA се съобщава, че храни от неживотински произход са причина за 10% от хранителните взривове, 26% от заболялите хора, 35% от хоспитализираните и 46% от смъртните случаи в ЕС. В периодите от 1973-1987 и 1988-1992 Центърът за контрол на заболяванията и превенция (САЩ) също отчита ръст в броя на документираните огнища на заразени хора, свързани с консумацията на сурови плодове, зеленчуци и непастеризирани плодови сокове. При огнищата с идентифициран етиологичен агент от бактериален произход основно са установени салмонелни бактерии ( $\approx 60\%$ ) и *E. coli* (Sivapalasingam, 2004). През септември 2006 в САЩ са регистрирани 26 огнища с 200 случая на хранително отравяне с *E. coli* O157:H1, като 3 от тях са били с фатален изход (Abadias, 2008). От храни от растителен произход са изолирани и щамове на *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *E. coli* O157:H1, колиформи, щамове от *Enterobacteriaceae* и *Yersinia enterocolitica*. Източниците на замърсяване с изброените

патогени са разнообразни и включват - органичния тор, замърсени поливни води, директно замърсяване от животни и лоша хигиена на следберитбените технологични процеси. Механизмите на устойчивост на патогенните микроорганизми за оцеляване в различните плодови и зеленчукови продукти са подробно изследвани и установени.

Цел на изследването е микробиологично изпитване на охладени парченца пъпеш с и без ядивни покрития от хитозан по време на съхранение в охладено състояние.

#### **МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

**Технологични етапи за получаване на охладени парченца пъпеш с ядивно покритие** – инспекция на плодовете, почистване и измиване, приготвяне на филмообразуващите разтвори, нанасяне на покритието чрез потапяне, отцеждане, подсушаване, опаковане в дишащи опаковки, съхранение в хладилни условия ( $+2 \div +6^\circ\text{C}$ ).

#### **Методи за анализ на продуктите**

Наличието на условно патогенни и патогенни микроорганизми в анализираните проби е извършено съгласно следните стандарти: *E. coli* и колиформи - ISO 16649:2001, ISO 4832:2006; *Salmonella* spp. -ISO 6579:2002; Коагулазоположителни стафилококи (*Staphylococcus aureus*) БДС EN ISO 6888-2003, *Listeria monocytogenes* БДС EN ISO 11290-2:2000/A1:2005, Общо микробно число ISO 4833:2003

#### **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ**

##### **Микробиологичен анализ на използваните суровини**

Безопасността, качеството и срокът на годност на готовите за консумация храни до голяма степен се определят от видовия състав и количество на патогенните микроорганизми и от тези, предизвикващи развала (Arzu *et al.*, 2004). За гарантиране на микробиологичната стабилност и безвредност на продукта – парченца пъпеш с и без ядивни покрития от хитозан и хитозан с калциев лактат първоначално е извършен микробиологичен контрол на входящите суровини. Посочените в сертификатите им микробиологични критерии са напълно адекватни и позволяват производството на безопасен продукт, който да запази микробиологичното си качество и стабилност. Резултатите от проведения микробиологичен анализ са представени в табл. 1.

При изследването на хитозан, калциев лактат и приготвените от тях 1% филмообразуващи разтвори не са установени щамове на патогенните микроорганизми: *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *E. coli* и Коагулазоположителни стафилококи. В резултат на проведените микробиологични изпитвания е установено съответствие на получените от нас резултати с тези, декларирани от производителя. Отсъствието на упоменатите патогенни микроорганизми в суровините е доказателство за спазване на Добрите Хигиенни и Производствени Практики (ДХПП) от страна на производителя. Отсъствие на патогенни микроорганизми над допустимите количества в използваните суровини е основен фактор - предпоставка за последващо производство на безопасен продукт. Ниското ниво на микробна контаминация с общ брой микроорганизми, дрожди и плесени съответно под 100 и под 10 cfu/g е показател за добра хигиена на технологичните операции и отсъствието на вторично контаминиране от околната среда. Индикаторните микроорганизми оказват влияние върху качеството на продукта,

тъй като те са основните причинители на развалата на плодовете и зеленчуците.

#### Микробиологичен анализ на охладени парченца пъпеш с и без ядивни покрития

За доказване на микробиологичната безопасност на охладените продукти, същите са изпитани по основни микробиологични показатели за безопасност (Таблица 2).

Съгласно Регламент (ЕО) № 1441/2007 в готови за консумация храни, които не подпомагат растежа на *L. monocytogenes*, бактерията не трябва да се установява в 25g от продукта. В изпитаните проби не са установени щамове на *L. monocytogenes* в нито един от продуктите по време срока на съхранение. Основен микробиологичен показател за гарантиране безопасността на пресни и минимално преработени храни от растителен произход е отсъствието на салмонелни бактерии в 25 g от продукта. В настоящото изпитване на охладени парченца пъпеш с и без ядивни покрития на база хитозан не са изолирани щамове на *Salmonella spp* в 25 g през установения срок на съхранение.

**Таблица 1. Микробиологична характеристика на компонентите на ядивните покрития и разтвори**

Обект на изпитването	Хитозан	Покритие от хитозан	Калциев Лактат	Покритие от Хитозан и лактат
Микробиологичен критерий				
Общ брой микроорганизми cfu/g (1000)	<100	<10	<100	< 10
Плесени cfu/g (1000 - 10 000)	<100	<10	<10	<10
Дрожди cfu/g (1000- 10 000)	<100	<10	<100	<10
<i>L. monocytogenes</i> cfu/25g (не се допуска)	не се уст.	не се уст.	не се уст.	не се уст.
<i>Salmonella</i> cfu/25g (не се допуска)	не се уст.	не се уст.	не се уст.	не се уст.
Коагулазоположителни стафилококи cfu (не се допуска)	не се уст.	не се уст.	не се уст.	не се уст.
Колиформи cfu/g (не се допуска)	не се уст.	не се уст.	не се уст.	не се уст.
<i>E.coli</i> cfu/g (не се допуска)	не се уст.	не се уст.	не се уст.	не се уст.

Таблица 2. Условно патогенни и патогенни микроорганизми в охладени парченца пълеш с и без ядивно покритие

Продукт	ден	Пълеш (измит нарязан, охладен)	Охладени парченца пълеш с покритие от хитозан	Охладени парченца пълеш с покритие от хитозан и лактат
Микробиологичен Показател				
L. monocytogenes cfu/25g (не се допуска)	1	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	3	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	5	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	7	не се уст.	не се уст.	не се уст.
Salmonella cfu/25g (не се допуска)	1	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	3	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	5	не се уст.	не се уст.	не се уст.
	7	не се уст.	не се уст.	не се уст.
Коагулазоположителни стафилококи cfu (10-100)	1	< 1	< 1	< 1
	3	< 1	< 1	< 1
	5	< 1	< 1	< 1
	7	-	< 1	< 1
Колиформи cfu/g (100 - 1000)	1	< 10	< 10	< 10
	3	< 10	< 10	< 10
	5	< 10	< 10	< 10
	7	-	< 10	< 10
E.coli cfu/g (100 - 1000)	1	< 10	< 1	< 1
	3	< 10	< 1	< 1
	5	< 10	< 1	< 1

Таблица 3. Индикаторни микроорганизми в охладени парченца пълеш (контрола) и продуктите от тях

Продукт	ден	Пълеш (измит нарязан, охладен)	Охладени парченца пълеш с покритие от хитозан	Охладени парченца пълеш с покритие от хитозан и лактат
Показател				
Общ брой микроорганизми cfu/g	1	450	7	12
	3	95.10 <sup>3</sup>	32.10 <sup>3</sup>	13.10 <sup>2</sup>
	5	32.10 <sup>6</sup>	90.10 <sup>3</sup>	2.10 <sup>3</sup>
	7	-	76.10 <sup>5</sup>	58.10 <sup>5</sup>
Плесени cfu/g	1	<10	<10	<10
	3	15	10	10
	5	26	15	10
	7	-	-	
Дрожди cfu/	1	130	< 10	<10
	3	12.10 <sup>2</sup>	15.10 <sup>1</sup>	17
	5	65.10 <sup>3</sup>	58.10 <sup>2</sup>	25.10 <sup>2</sup>
	7	-	35.10 <sup>3</sup>	11.10 <sup>3</sup>

Въз основа на анализ на микробиологичния риск при минимално обработени плодове и зеленчуци направен от Institute of environmental science and research – Нова Зеландия, основната суровина (пъпеш) и разработените продукти са изпитани за наличие на колиформи и коагулазоположителни стафилококи. Резултатите от микробиологичния анализ (табл. 2) на анализиранияте проби показват, че количеството на щамове от съответните видове във всички изпитани проби е в допустимите граници на посочените показатели. Въз основа на получените резултати може да се приеме извода, че използваните суровини не са източник на колиформи и коагулазоположителни стафилококи и при технологичната обработка са спазени всички хигиенни норми.

Съгласно европейските микробиологични критерии, готовите за консумация плодове се приемат за безопасни, когато количеството на *E. coli* във всички проби е под 100 cfu/g и не надхвърля 1000 cfu/g. Микробиологичният анализ на суровината и готовите продукти установи количество на *E. coli* под 10 cfu/g, което доказва безопасността на използваната партида пъпеш и продуктите от нея.

Плодове се характеризират с високо съдържание на въглехидрати и ниски стойности на активна киселинност (рН), което благоприятства растежа на специфични видове бактерии (млечно кисели, *Pseudomonas spp.*, *Erwinia spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Acidovorax spp.*), дрожди (*Candida spp.*, *p. Torulopsis spp.*, *Rhodotorula spp.*) и плесени (*p. Penicillium*, *p. Fusarium*, *p. Botrytis*, *p. Mucor*, *p. Rhizopus*, *p. Phthyophthora*) Като цяло, количеството на микробните асоциации върху плодовете варира от  $10^3$  до  $10^6$  cfu/g. Плесените, дрождите и бактериите предизвикват различни видове развала. Естествената микрофлора, особено дрождите предизвикват ферментация на растителната маса. (Bibek Ray, 2004).

Въз основа на литературните данни за целите на настоящето изследване всички охладени плодове с и без ядивни покрития от хитозан и хитозан и калциев лактат са изследвани по следните показатели: Общ брой микроорганизми, плесени и дрожди Резултатите микробиологичния анализ на охладени парченца пъпеш и продуктите от него са представени в табл. 3.

По - високото ниво на микробна контаминация на продуктите от нарязан пъпеш в сравнение с други цели плодове се дължи на факта, че микроорганизмите имат пряк контакт до въглехидратите и другите биологично ценни вещества на клетката, поради нарязването на продукта. То осигурява по-голяма контактна повърхност и достъп до кислород на микроорганизмите. В началото на съхранението на охладените парченца пъпеш количеството микроорганизми достига 450 cfu/g, като на петия

ден от хладилното им съхранение достигат количество от  $32 \cdot 10^6$  cfu/g. Поради създадените се условия за развала (ферментация) и промяна в органолептичните, физикохимични и реологични показатели на петия ден от съхранението е преустановено изпитването на продукта (охладени парченца пъпеш). При използването на ядивни покрития от хитозан и хитозан с калциев лактат се наблюдава по – бавно нарастване на количеството мезофилни микроорганизми. На седмия ден от хладилното им съхранение е отчетен общ брой микроорганизми над  $10^5$  cfu/g, което вече е индикация за влошено микробиологично качество и създаване на условия за микробна развала. Проведеното микробиологично изпитване на продуктите (парченца пъпеш с и без ядивни покрития от хитозан) се установи, че основната група микроорганизми, причиняващи развалата на продукта са дрождите. В изпитаните образци се регистрира концентрация от дрождеви клетки в порядъка от  $11 \cdot 10^3$  в парченца пъпеш с ядивен филм от хитозан и лактат до  $65 \cdot 10^3$  cfu/g в не обработени парченца пъпеш. Микробиологичният анализ за установяване на плесени не отчете висока концентрация на плесени, която да предизвика развалата на продуктите.

#### Заклучение

Резултатите от микробиологичното изпитване показват, че при продуктите с ядивни покрития от хитозан се забавя развитието на микрофлората, причинител на развалата в продуктите. При използваните технологични етапи за получаване на парченца пъпеш с ядивни покрития не се установи контаминиране на продукта с изследваните патогенни микроорганизми. В установеният срок на годност на охладени парченца пъпеш (5 дни) и парченца пъпеш с покрития от хитозан и хитозан с калциев лактат (7 дни) не са установени патогенни микроорганизми в количества, които застрашават здравето на консуматора.

#### Литература

1. Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.*, 123: 121-129.
2. Ahvenainen R., (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables, *Trends Food Sci. Technol.*, 7: 179–187.
3. Arvanitoyannis, I., and Gorris, L.G.M. (1999). Edible and biodegradable polymeric materials for food packaging or coating in *Processing foods: Quality optimization and process assessment*. CRC Press, Boca Raton, Fla, page 357-371.
4. Avena-Bustillos, R.J., Krochta, J.M., and Saltveit, M.E. (1997). Water vapor resistance of red delicious apples and celery sticks coated with edible caseinate-

- acetylated monoglyceride films. *Journal of Food Science*. 62(2): 351-354.
5. Arzu, C., Ustunol, Z. and Ryser, E. T. (2004). Antimicrobial Edible Films and Coatings. *Journal of Food Protection*, Vol. 67, 4: 833-848.
6. Berger C., Sodha S., Shaw R., Griffin P., Pink D., Hand P. and Frankel G. (2010). Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*. 12(9): 2385–2397.
7. Baldwin, E.A, Nisperos-Carriedo, M.O., and Baker, R.A. (1995). Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35(6): 509-52.
8. Banker, G.S. (1966). Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55:81-89.
9. Commission regulation No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
10. Cheah, L.H., Page, B.B.C., and Shepherd, R. (1997). Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25:89-92.
11. El Ghaouth, A., J. Arul, R. Ponnampalam, and M. Boulet (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.* 56:1618–1620.
12. El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J., and Asselin, A. 1992a: Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology*, 82(4):398-402.
13. El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J., and Asselin, A. (1992b). Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology*. 82(4):398-402.
14. Ghaouth, A.E., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M. (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries; *Journal of Food Science*. 56(6): 1618-1620.
15. Guilbert, S., Gontard, N., and Gorris, L.G.M. (1996). Prolongation of the shelf- life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 29(1):10-17.
16. Jiang, Y., and Li, Y. (2001). Effects of chitosan on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*. 73: 139-143.
17. Krochta, J.M. and Mulder-Johnston, C.D. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunities. *Food Technology*. 51(2): 61-74.
18. Krochta, J.M. (2001). FAQ about edible films and coatings  
19. <http://www.dairybiz.com/feature.htm> 5/7/02.
20. Lerdthanankul, S., and Krochta, J.M. (1996). Edible coating effects on post harvest quality of green bell peppers. *Journal of Food Science*. 61(1): 176-179.
21. Kester, J.J and Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings. A review. *Food Technology*. 40(12): 47-59.
22. Li, P., and Barth, M.M. (1998). Impact of edible coatings on nutritional and physiological changes in lightly processed carrots. *Postharvest Biology and Technology*, 14: 51-60.
23. Li, H., and Yu, T. (2000). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 269-274.
24. McHugh, T.H. and Krochta, J.M. (1994). Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4): 41-45.
25. McHugh, T.H., and Senesi, E. (2000). Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science* 65(3): 480-485.
26. Nisperos-Carriedo, M.O., Baldwin, E.A., and Shaw, P.E. (1992). Development of an edible coating for extending postharvest life of selected fruits and vegetables. *Proceedings at the annual meeting of Florida State Horticultural Society*, 104: 122-125.
27. Park, H.J., Chinnan, M.S., and Shewfelt, R. (1994). Edible corn-zein film coatings to extend storage life of tomatoes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 18: 317-331.
28. Park, H.J. (1999). Development of advanced edible coatings for fruits. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 254-260.
29. Ray Bibek. (2004). *Fundamental Food Microbiology*. Third edition. London: CRC Press
30. Smith, S., Geeson, J., and Stow, J. 1987: Production of modified atmospheres in deciduous fruits by the use of films and coatings. *Horticultural Science*. 22(5): 772-776.
31. Sivapalasingam S., Friedman C.R., Cohen, L. and Tauxe R.V. (2004). Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *J Food Prot* 67: 2342–2353.
32. Tien, C.L., Vachon, C., Mateescu, M.A. and Lacroix. (2001). Milk protein coatings prevent oxidative browning of apples and potatoes. *Journal of Food Science*, 66(4):512.
33. Zhang, D., and Quantick, P.C. (1997). Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 12: 195-202.
34. Zhang, D., and Quantick, P.C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 73(6): 763-767.