

**גישות חדשניות לקידום יישומם של ציפויים אכילים המשפרים איכות ובטיחות של תוצרת טרייה ומזון.**

**New approaches to promote applications of edible coatings that improve safety and quality of fresh agricultural and food products.**

הדו"ח מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ופיתוח הכפר ע"י

**ילנה פוברנוב** (חוקרת ראשית) - חקר אחסון ואיכות תוצרת חקלאית ומזון, מינהל המחקר החקלאי.  
אלי פליק, ויקטור רודוב ומשה שמש - אחסון ואיכות תוצרת חקלאית ומזון, מינהל המחקר החקלאי.  
עופר דנאי- מו"פ צפון

Elena Poverenov ([elenap@volcani.agri.gov.il](mailto:elenap@volcani.agri.gov.il)), Eli Fallik ([efallik@volcani.agri.gov.il](mailto:efallik@volcani.agri.gov.il)),  
Victor Rodov ([vrodov@agri.gov.il](mailto:vrodov@agri.gov.il)), Moshe Shemesh ([moshesh@volcani.agri.gov.il](mailto:moshesh@volcani.agri.gov.il))  
The Volcani Center, P.O.B. 6, Bet Dagan 50250. Ofer Danai ([ofer@migal.org.il](mailto:ofer@migal.org.il))  
Migal Galilee Technology Center P.O.B. 90000, Rosh Pinna, 12100.

## **תקציר**

הצגת בעיה. התכלות פיסילוגית ונזקים מיקרוביאליים אינם מאפשרים לשמור על איכות פירות וירקות באחסון ממושך. מטרות המחקר. הארכת חיי המדף של תוצרת חקלאית ומוצרי מזון תוך שימוש בציפויים אכילים ומועילים. מטרות פרטניות: (א) פתוח חומרי ציפוי אכילים בעלי תכונות מיטביות - בטוחים, זולים, פעילים ופשוטים ליישום (ב) אבחון השפעתם של ציפויים חדשים על פלפל ומלון - שני גידולים חשובים מאוד בארץ הסובלים במיוחד מחוסר יכולת אחסון ממושך. שיטות עבודה (1) הכנת ציפויים בעלי עובי ואדהזיה אופטימאליים. (2) הכנת ציפויים משולבים בגישות Blending ו-Layer-by-Layer. (3) הפקת חומר ציפוי כיטוזן מפסולת של תעשיית פטריות. (4) אבחון השפעתם של הציפויים על איכות פלפל ומלון בתנאי הדמיה להובלה ושיווק. תוצאות עיקריות. (1) פותחו תחילה פורמולציות וטכניקות ציפוי שאינם פוגעות במדדי האיכות של הפרי. נמצא כי ציפוי Blended של כיטוזן וג'לטין אפשרה אחסנה ממושכת של פירות פלפל בקירור לתקופות של 21 ואף 28 ימים. הפירות המצופים הראו עיכוב בירידה במשקל, ערכי מוצקות גבוהים יותר ואחוזי ריקבון נמוכים יותר. נראה כי הציפויים אינם פוגעים בפרמטרים הביוכימיים והערכים התזונתיים, כגון כלל המוצקים המומסים, סך הפנולים, החומצה אסקורבית והאנטיאוקסידנטים. העבודה סוכמה במאמר. (2) פותחו ציפויים משולבים בגישה חדשנית Layer-by-Layer ויושמו על מלון חתוך בתנאי אחסנה

מקובלים. ציפויים תרמו רבות להגנה מפני מזיקים מיקרוביאליים, שמירה על מרקם הפרי והארכת חיי מדף. גם כן הושווה שתי גישות Layer-by-Layer ו-Blending. השפעה של שתי הגישות על איכות פיזיולוגית ומיקרוביאלית של מלון חתוך וגם על איכות מכאנית ופיזיקאלית של הציפוי עצמו נבדקו. העבודה סוכמה בשני מאמרים. (3) פותח תהליך פרוטוקול מסודר להפקתו של כיטוזן ממקור פטרייתי, מקור כשר ונמצא בשפע. נמצא כי לכיטוזן פונגלי יש פוטנציאל לשמש כחומר ציפוי אלטרנטיבי. מסקנות והמלצות. השיטה של ציפויים אכילים הינה פשוטה, זולה, בטוחה ובעלת פוטנציאל יישומי. אנו מצפים כי הממצאים הנוכחיים יתרמו ליישום המסחרי של הציפויים האכילים להארכת האחסון לאחר הקטיפה של פירות וירקות טריים.

### מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

1. ד"ר רון פורת, המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר קטיפה, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
2. פרופ' אלי שעה, המחלקה לחקר איכות מזון ובטיחות, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני
3. פרופ' עוזי רביד, מינהל המחקר החקלאי, מרכז מחקר נווה יער.

### הצהרת החוקר הראשי:

**הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.**

**הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא**

תאריך: \_\_\_\_\_



חתימת החוקר

### רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר:

1. **Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y. and Rodov, V. (2014).** Layer-by-Layer electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon model: anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. *Food Bioprocess Technol.* 7, 1424-1432.
2. **Poverenov, E., Cohen, R., Yefremov, T., Vinokur, Y. and Rodov, V. (2014).** Effects of polysaccharide-based edible coatings on fresh-cut melon quality. *Acta Horticulturae 1015: pp.145.*
3. **Poverenov, E., Zaitsev, Y., Arnon, H., Granit, R., Perzelan, Y. and Fallik, E. (2014).** Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 106-109.
4. **Poverenov, E., Rutenberg, R., Danino, S., Horev, B. and Rodov, V. (2014).** Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer by Layer vs. blended formulations. *Food Bioprocess Technol.* 214, 3319-3327.
5. **Poverenov, E. (2014).** Layer-by-Layer edible coatings to improve quality of fresh agricultural products. Israel Agriculture, 8. Invited paper. Publisher Nobel Green Ltd, Tel Aviv, Israel
6. **Poverenov, E. (2014).** Advanced edible coatings to improve quality and to prolong shelf life of fresh agricultural products. Volcani Voice. Invited paper. Publisher Agricultural Research Organization the Volcani Center, Israel

**מבוא**

תוצרת טרייה סובלת מהתכלות פיסילוגית הנגרמת בעיקר כתוצאה מאיבוד מים ומהתכלות פתולוגית כתוצאה מתקיפת מחוללי מחלה עוד בשדה, או לאחר הקטיפה. כדי לשמור על טריות ואיכות המזון ניתן ליישם ציפויים אקטיביים אכילים.<sup>1</sup> תחום הציפויים האקטיביים מתפתח בשנים האחרונות ומהווה מוקד למחקרים בכל רחבי העולם כי לציפויים אכילים יש מספר יתרונות מעשיים - הם מבוססים על חומרים טבעיים ולכן בטוחים ואינם מזהמים, בעלי עלות נמוכה ומראה אסתטי. ציפויים מפחיתים את קצב איבוד הנוזלים והחלפת הגזים.<sup>2</sup>

למרות כל היתרונות, הציפויים האכילים עדיין לא הגיעו לשימוש מסחרי וזה מאחר וטרם נמצא האופטימום, מבחינת המבנה ויציבותם, בעיקר בכל הנוגע לתכונות הפיסיקליות הכוללות עובי ואדהזיה שלהם אשר יאפשר יישום.<sup>3</sup> בנוסף ישנם הגבלות הקשורות לכך שציפויים מיועדים לאכילה. למשל, כיטוזן הוא חומר טבעי בעל פעילות אנטימיקרוביאלית מוכחת. הוא היפואלרגני ויציב, אינו טוקסי ומתכלה על ידי תסיסה ביולוגית.<sup>4</sup> בין היתר נמצא כי כיטוזן יכול לקלוט שומנים, לנטרל מתכות רעילות, לעודד תגובות חיסון של הגוף ולפעול כחומר לציפוי לשם הארכת חיי מדף של תוצרי מזון.<sup>5</sup> באופן מסורתי מפיקים כיטוזן מפסולת סרטנים אך לחומר מוצא זה יש הגבלות וחסרונות ובעיקר בארץ בין היתר מטעמי כשרות. לפיכך, יש צורך למצוא מקור חילופי להפקת הכיטוזן כדי לממש את הפוטנציאל הגדול של החומר המועיל הזה. דופן של תאי פטריות עילאיות מכילה כיטין - חומר מוצא לכיטוזן. הפקת כיטוזן ממקור פטרייתי מהווה אלטרנטיבה נטולת מגבלות כשרות וצמחונות. בספרות ישנם פרוטוקולים להפקת כיטוזן ממקור פטרייתי, אך התיעוד בכל הנוגע להפקת כיטוזן פטרייתי בכמויות מסחריות - הוא דל. דיווחים על מימוש של כיטוזן פטרייתי כחומר לצפוי אכיל לא קיימים כלל. להפקת כיטוזן אין צורך בפטריות המשווקות וניתן להשתמש בפסולת רגלי הפטריות ובכך להשיג יתרון סביבתי חשוב.

בפריקט הזה הוקדש לפיתוח גישות חדשניות המאפשרות להתגבר על בעיות שקיימות היום בתחום של הציפויים האכילים. בתור חומרים לציפוי גויסו פולימרים טבעיים עם דגש על הפקה ויישום של כיטוזן.

## **מטרות המחקר**

**מטרת הכללית** של המחקר היא הארכת חיי המדף של תוצרת חקלאית ומוצרי מזון תוך שימוש בציפויים אכילים ומועילים. אנחנו שואפים לפתח גישות חדשניות שיקדמו את היישום של ציפויים אכילים בתעשיית המזון.

כדי להשיג את מטרתנו נבצע שלבים כדלקמן:

### **1. פתוח חומרי ציפוי אכילים בעלי תכונות מיטביות - בטוחים, זולים, פעילים ופשוטים ליישום.**

א. הגדרה של עובי אופטימאלי של שכבת הציפוי.

ב. פיתוח שיטות קומפלקסציה לקבלת ציפויים דו-שכבתיות (להתגבר על בעיות אדהזיה ולשפר פעילות).

ג. פיתוח שיטה יעילה להפקת כיטוזן מפסולת פטרייתית - מקור זול וכשר של כיטוזן.

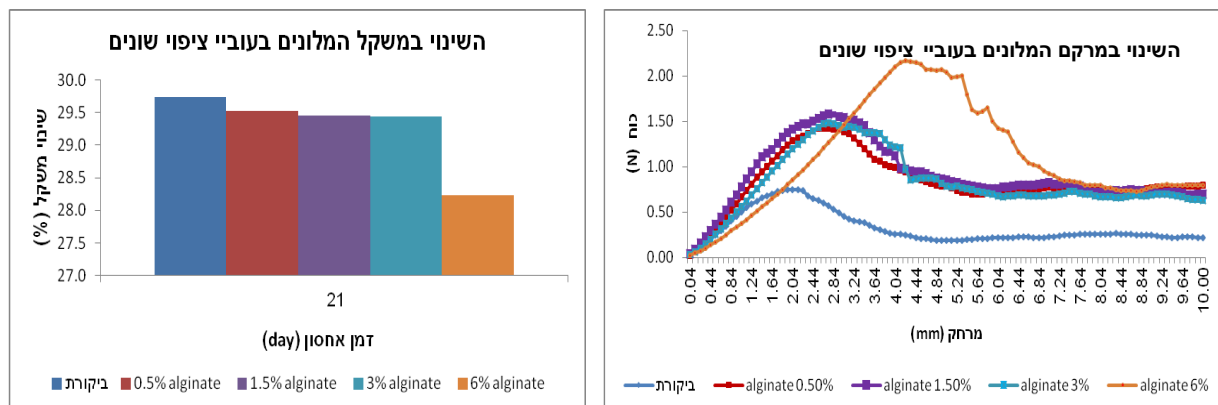
## 2. אבחון השפעתם של ציפויים חדשים על פלפל ומלון - שני גידולים חשובים מאוד בארץ הסובלים במיוחד מחוסר יכולת אחסון ממושך.

א. אבחון של פעילות אנטימיקרוביאלית של ציפויים אכילים in vivo בתוצרת חקלאית.  
ב. קביעת השפעת פורמולציות הציפוי השונות על שמירת איכות והערך הסנסורי של הגידולים (פלפל ומלון) באחסנה ממושכת.

### פירוט עקרי הניסויים ותוצאות המחקר

#### עובי אופטימאלי של הציפוי<sup>6</sup>

ריכוזים שונים של תמיסות אלגינאט (0.5%, 1.5%, 3%, 6%) הוכנו ויושמו על מלון חתוך. קיבלנו ציפויים בעלי עובי שונה ובדקנו את ההשפעה שלהם על פרמטרי איכות של המלון המצופה. מלונים המצופים בתמיסות ציפוי שונות וקבוצת ביקורת נבדקו במהלך 3 שבועות של אחסון ב  $7^{\circ}\text{C}$ . הפרמטרים שנבדקו כוללים איבוד משקל ומרקם,  $\text{CO}_2/\text{O}_2$ , ייצור נדיפים וצטאלדהיד ואיכות כללית של הפרי. ניתן לראות כי ככל שעובי הציפוי גדל ישנה ירידה בהפחתת המשקל של הפרי. הירידה הפחותה ביותר היא בעובי של 6% והירידה הגדולה ביותר היא בדוגמת הביקורת. קיים שינוי ניכר במרקם בין מלונים מצופים לבין קבוצת הביקורת. הפירות הלא מצופים מראים על ירידה במרקם המוצק, לעומת פירות מצופים שמרקמם נשמר טוב יותר (איור 1).

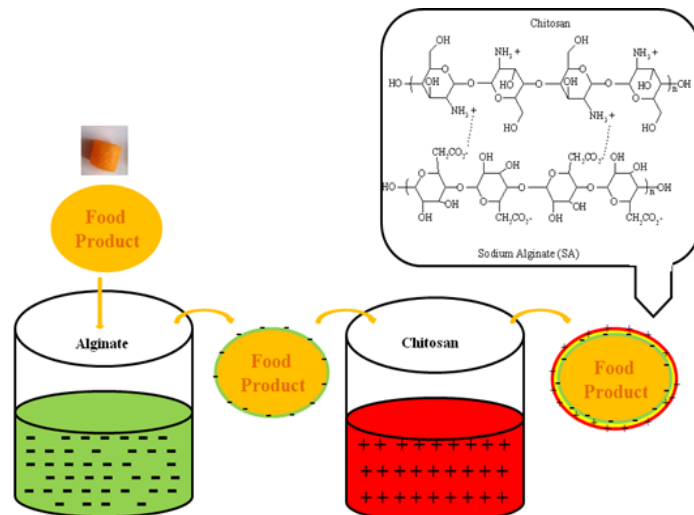


איור 1. השפעה של עובי הציפוי על משקל ומרקם של מלון חתוך.

מבדיקות מרקם ואיבודי משקל ניתן לומר כי ציפויים בעוביים גדולים יותר מגנים טוב יותר. אולם, בהסתכלות על ייצור פחמן ואתנול בציפויים של 6% אלגינאט ישנה הצטברות מוגברת (שהיא כבר לא רצויה) של אתנול. בנוסף לכך יש לציין במהלך האחסון ובסיומו נצפו חיידקים על גבי המלונים, ורובם הופיעו דווקא בעוביים הגדולים (3% ו- 6%) ופחות בעוביים הקטנים (0.5% ו- 1.5%). ייתכן וזה נגרם מכך שאלגינאט בריכוזים גבוהים משמש כמצע טוב לגידול מיקרואורגניזמים. מסיבות אלו, הוחלט להמשיך בניסויים הבאים עם ציפוי של 1.5% אלגינאט שהוא מאפשר הגנה מספקת ביחס לביקורת ועם זאת אינו פוגע באיכות הפרי.

## ציפויים פעילים בשיטת Layer by Layer. שיפור איכות והארכת חיי מדף של מלון חתוך.<sup>7</sup>

לאלגינאט יש אדהיזה טובה. הוא יוצר ציפוי אחיד המאפשר הגנה של הפרי מפני נזקי הסביבה. מצד שני אלגינאט אינו מספק הגנה מפני נזקים מיקרוביאליים כגון חיידקים, פטריות ושמרים. כיטוזן הוא פולימר שיש לו פעילות אנטימיקרוביאלית טבעית אבל יכולת אדהיזה פחות טובה. פיתחנו ציפויים דו-שכבתיים. אלגינאט, רב-סוכר בעל תכונות אדהיזה מצוינות ומחזק מרקם, נבחר כשכבה הפנימית וכיטוזן, רב-סוכר בעל פעילות אנטימיקרוביאלית טבעית, נבחר כחומר הציפוי החיצוני. החומרים בעלי מטען מנוגד לכן יש ביניהם כוחות אלקטרוסטטיים שמבטיחים יציבות הציפוי (איור 2).



איור 2. ציפויים דו-שכבתיים של אלגינאט וכיטוזן.

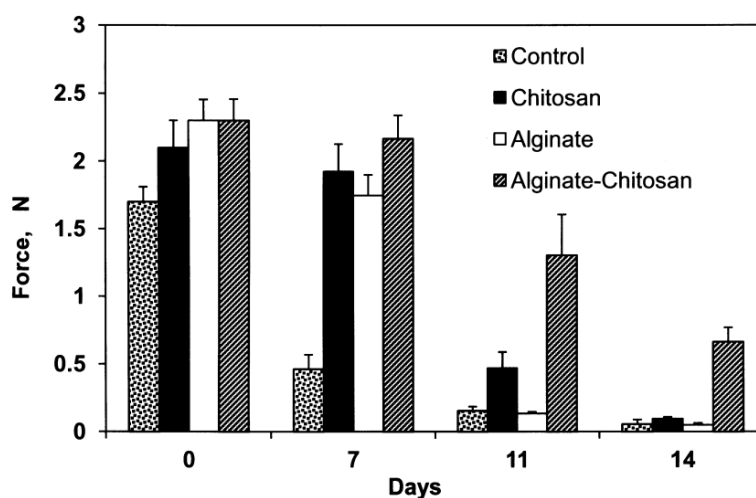
נבדקו 4 קבוצות של מלון חתוך (צילינדרים 4 cm אורך ו 1.7 cm קוטר): א) מלון ללא ציפוי, ב) מלון מצופה עם כיטוזן (1.5% ג) מלון מצופה עם אלגינאט (1.5% ד) מלון מצופה עם שכבה ראשונה אלגינאט 1.5%, שכבה שניה כיטוזן 1.5%. הפירות אוחסנו ב  $6^{\circ}\text{C}$  בקופסאות פלסטיק במשך 15 יום. בזמנים שונים של האחסון נבדקו הרכב מיקרוביאלי, מרקם, איבוד משקל, ייצור אתנול ואצטאלדהיד, הרכב  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  וריכוז הסוכר.

הרכב מיקרוביאלי - הזריעה של דוגמאות מיצוי המלון לספירות הרכב מיקרוביאלי בוצעה ע"ג שני מצעי מזון PDA+A ו PCA. PDA+A - (Potato Dextrose Agar) מדיום לבדיקת שמרים ופטריות. למצע זה הוספו את האנטיביוטיקה כלורמפניקול בריכוז של 250 mg/mL על מנת לעכב גידול של חיידקים. PCA - (Plate Count Agar) מצע כללי עשיר המתאים לרוב החיידקים. כל העבודה בוצעה באווירה סטרילית במנדף ביולוגי. ספירת הרכב מיקרוביאלי כללי וספירת פטריות ושמרים הווארכו ב- 0, 5, 7 ו-11 ימים של אחסון. ניתן לראות כי לכיטוזן יש השפעה אנטימיקרוביאלית מובהקת (טבלה 1). בכל הטיפולים שמכילים כיטוזן ניתן לצפות בעיכוב משמעותי בהתפתחות של מיקרואורגניזמים.

**טבלה 1.** התפתחות כללית של מיקרואורגניזמים והתפתחות של פטריות ושמרים באחסון ב  $6^{\circ}\text{C}$ . טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק. התוצאות הן ערכים ממוצעים של 6 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

|                 |                |               |                |               |
|-----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| Total counts    |                |               |                |               |
| log(CFU/g)/days | 0              | 5             | 7              | 11            |
| Non-coated      | 3.29 ± 0.13 a  | 6.20 ± 0.28 a | 8.34 ± 0.04 a  | 9.68 ± 0.06 a |
| Chitosan        | 2.56 ± 0.37 b  | 3.35 ± 0.39 c | 5.64 ± 0.32 c  | 7.41 ± 0.11 c |
| Alginate        | 2.64 ± 0.24 b  | 6.57 ± 0.08 a | 8.21 ± 0.23 a  | 9.53 ± 0.06 a |
| Al-Ch LbL       | 2.87 ± 0.28 ab | 4.32 ± 0.19 b | 6.87 ± 0.26 b  | 8.49 ± 0.09 b |
| Fungi yeast     |                |               |                |               |
| log(CFU/g)/days | 0              | 5             | 7              | 11            |
| Non-coated      | 2.18 ± 0.17 a  | 3.98 ± 0.22 a | 4.13 ± 0.35 a  | 6.11 ± 0.08 a |
| Chitosan        | 1.18 ± 0.0 c   | 1.18 ± 0.0 c  | 2.17 ± 1.01 b  | 3.39 ± 0.64 c |
| Alginate        | 1.74 ± 0.23 b  | 2.50 ± 0.89 b | 3.64 ± 0.04 ab | 5.88 ± 0.06 a |
| Al-Ch LbL       | 1.79 ± 0.29 ab | 1.98 ± 0.44 b | 3.88 ± 0.61 a  | 4.46 ± 0.05 b |

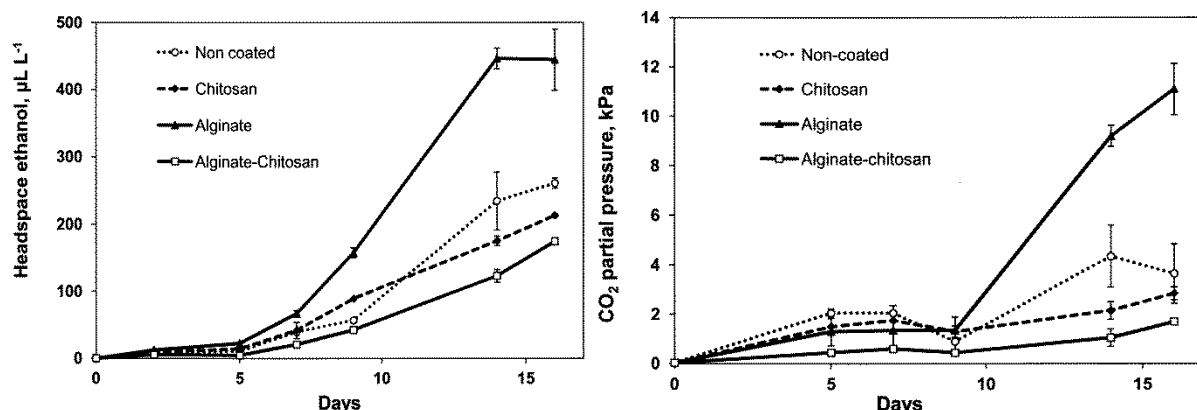
**מרקם** - אנליזת מרקם של הפרי בוצעה במכשיר Texture analyzer. באופן כללי ניתן לראות מגמת ירידה בחוזק הפרי עם הזמן וזאת עקב התקלקלות פיזיולוגית ומיקרוביאלית. שילוב של אלגינאט המכיל ותכונות אנטימיקרוביאליות של כיטוזן נותנים תוצאות טובות ביותר (איור 3).



**איור 3.** הציפוי על מרקם של על מלון חתוך

**בדיקת נדיפים** - בדיקת נדיפים בוצעה ע"י לקיחת דגימות מחלל הראש של קופסאות אחסון ובדיקתם בכרומטוגרפיה גזית. החלפת גזים הוא מדד חשוב שמעיד על כך שציפוי אינו גורם ליצירת תנאים אנארוביים. בבדיקת פחמן דו-חמצני ניתן לראות שרוב הציפויים מלבד אלגינאט אינם מזיקים להחלפה תקינה של הגזים. מעניין הוא שלאחר הוספת שכבה של כיטוזן מעל אלגינאט הפרי חוזר להחלפת גזים תקינה (איור 4). נוכחות אתנול הינה אינדיקציה לפרמנטציה וטעמי לווי. ניתן לראות כי בכל קבוצות המלונים חלה עליה בייצור האתנול עם הזמן. יחד עם זאת ניתן לראות כי בקבוצות הביקורת ייצור האתנול הינו מוגבר לעומת המלונים המצופים, והייצור המוגבר ביותר הינו בקבוצת

המלונים המצופים באלגינאט. גם כאן ניתן לראות שהוספת שכבת כיטוזן מעל אלגינאט בציפוי Layer by Layer מקטינה הצטברות של אתנול (איור 4).



איור 4. השפעת הציפוי על החלפת גזים וייצור אתנול.

### ציפויים פעילים בשיטת Blending. שיפור איכות והארכת חיי מדף של פרי פלפל<sup>8</sup>

המטרה הראשונית הייתה בחירת הציפוי המתאים ביותר לפירות הפלפל. ציפוי כיטוזן נבחר כציפוי בסיס בגלל תכונותיו האנטימיקרוביאליות שלו. כמרכיב עזר בציפוי שולבו פולימרים הבאים: אלגינאט, Carboxymethylcellulose או ג'לטין. הפירות צופו בתמיסות הציפוי השונות, ואוחסנו בקירור כמקובל היום בשוק, 14 יום ב-7°C ו-5 ימים נוספים ב-20°C. בתום תקופת האחסון, נבחנו מדדי איכות. פירות שצופו בציפויים משולבים שהכילו ג'לטין הביאו לידי התוצאות הטובות ביותר בפרמטרים של מראה כללי, מוצקות ואיבודי המשקל. מסקנות ראשוניות אלה הביאו לידי החלטה לבחון את הציפויים על בסיס ג'לטין וכיטוזן בפרקי אחסון שונים.

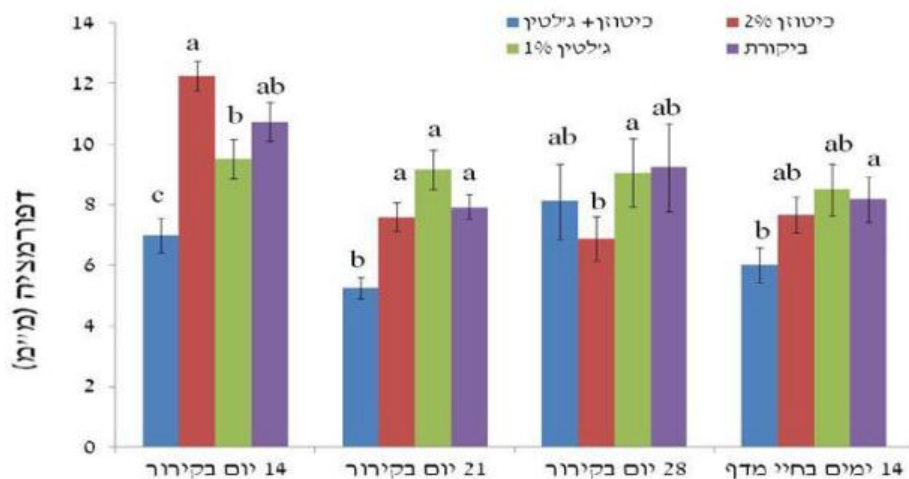
בניסוי ראשון, על מנת לבחון כי ציפוי זה אינו פוגע במדדי האיכות של הפרי, אוחסנו פירות הפלפל למשך 14 יום ב-7°C ו-5 ימים נוספים בחיי מדף (20°C). לאחר מכן, ערכנו שני ניסויים שמטרתם הייתה להאריך את משך האחסון בקירור של פלפל מ-14 ל-21 ואף ל-28 יום ו-5 ימים ב-20°C. בניסוי אחרון, נבדקה השפעה של הציפויים על אחסון ממושך בחיי מדף (20°C) במשך 14 ימים. איבודי משקל - לאחר אחסון של 14 יום בקירור, לא נמצאו הבדלים מובהקים בין הפירות המצופים לביקורת (טבלה 2). לאחר שבוע נוסף בקירור, איבודי המשקל הנמוכים ביותר נמדדו בפירות שצופו בציפוי משולב, עם כ-5.9% של איבודי משקל, ביחס למשקל ההתחלתי, לעומת 7.3% בביקורת. איבודי המשקל הגבוהים ביותר נמדדו בפירות שצופו בג'לטין בלבד. פירות אלה איבדו 11.5% ממשקלם ההתחלתי.

**טבלה 2.** השפעת ציפויים על איבודי משקל של פירות פלפל. שיעורי איבוד משקל (%). טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק ב- $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ-60 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

| סוג הטיפול     | 14 יום ב-20 °C    | 28 יום ב-7°C ו-5 ימים ב-20 °C | 21 יום ב-7°C ו-5 ימים ב-20 °C | 14 יום ב-7°C ו-5 ימים ב-20 °C |
|----------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| כיטוזן+ ג'לטין | 8.27 $\pm$ 0.29 c | 9.92 $\pm$ 0.36 b             | 6.52 $\pm$ 0.15 b             | 4.33 $\pm$ 0.37 a             |
| כיטוזן 2%      | 8.12 $\pm$ 0.27 c | 9.5 $\pm$ 0.253 b             | 5.89 $\pm$ 0.13 c             | 4.08 $\pm$ 0.31 a             |

|               |               |               |               |           |
|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| 3.99 ± 0.14 a | 5.87 ± 0.13 c | 11.5 ± 0.39 a | 10.6 ± 0.27 a | ג'לטין 1% |
| 3.98 ± 0.13 a | 7.28 ± 0.20 a | 10.1 ± 0.21 b | 9.33 ± 0.24 b | ביקורת    |

**מוצקות** - מוצקות נמדדה במכשיר שבודק דפורמציה של הפירות. ככל שהפרי מוצק וקשיח יותר - כך הוא יימער פחות - משמע ערך נמוך יותר מעיד כאן על פרי מוצק יותר (איור 5). ציפוי ג'לטין הביא לערכים הגבוהים ביותר, ולפירות רכים ומצומקים. הפירות המוצקים ביותר היו אלה שצופו בציפוי משולב של כיטוזן וג'לטין, לאחר אחסון של 14 ו- 21 ימים בקירור, והן לאחר אחסון של 14 יום בחיי מדף. פירות שאוחסנו 28 יום בקירור, המוצקות הגבוהה ביותר נמדדה דווקא בפירות שצופו בכיטוזן בלבד, ביחס לביקורת. מרקם מהווה את אחד הפרמטרים החשובים ביותר כאשר מדובר באיכות ובצריכת פירות פלפל. הצטמקות היא לעיתים קרובות פרמטר האיכות הראשון הנבדק על ידי צרכן. מכאן החשיבות העצומה בשמירה על מוצקות פרי גבוהה בעת הארכת חיי האחסון של פרי הפלפל, הן בקירור והן בחיי המדף.



**איור 5.** מרקם של פירות פלפל לאחר תקופות אחסון שונות.

ניתן לראות שפירות בעלי ציפויים על בסיס כיטוזן נראים יותר מוצקים וטריים בעת שפירות הביקורת נראים מקומטים, רכים וישנים, כמו גם הפירות שצופו בג'לטין (איור 6).



**איור 6.** פירות פלפל לאחר אחסון של 21 יום בקירור ועוד 5 ימים נוספים בחיי מדף (מימין לשמאל כיטוזן בלבד, כיטוזן וג'לטין, ג'לטין בלבד, ביקורת).

**ריכוז הפד"ח ואתנול** בדיקת פד"ח ואתנול בוצעה ע"י לקיחת דגימות מחלל הפרי הפלפל ובדיקתם בכרומטוגרפיה גזית. בכל פרקי האחסון השונים, הפירות המצופים היו בעלי ריכוז גבוה יותר של



פד"ח לעומת פירות הביקורת הלא מצופים (טבלה 3). מצד שני אף ציפוי לא גרם לעליה של ערך הפד"ח עד למצב בעייתי (אנארובי). ריכוזי הפד"ח מעל 4% נחשבים למצב אנארובי. ציפוי של ג'לטין, השפיע בצורה המשמעותית ביותר על העלייה ריכוזי הפד"ח, בכל פרקי האחסון. ריכוזי האתנול ואצטאלדהיד היו זניחים 0-0.5 ppm בכל הטיפולים (לא מוצג).

**טבלה 3.** ריכוזי הפד"ח בפירות פלפל. טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק ב-  $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ- 20 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

| סוג הטיפול    | 14 יום ב-20°C     | 28 יום ב-20°C      | 21 יום ב-20°C      | 14 יום ב-20°C     |
|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| כיסוזן+ג'לטין | $1.25 \pm 0.04$ a | $1.25 \pm 0.09$ ab | $2.39 \pm 0.12$ a  | $2.02 \pm 0.24$ a |
| כיסוזן 2%     | $0.87 \pm 0.05$ b | $1.23 \pm 0.12$ ab | $1.75 \pm 0.14$ ab | $1.99 \pm 0.24$ a |
| ג'לטין 1%     | $1.18 \pm 0.11$ a | $1.4 \pm 0.04$ a   | $2.02 \pm 0.13$ a  | $2.02 \pm 0.15$ a |
| ביקורת        | $0.88 \pm 0.05$ b | $0.93 \pm 0.06$ b  | $1.45 \pm 0.09$ b  | $1.76 \pm 0.19$ a |

**התפתחות ריקבון** - בתום תקופת אחסון של 14 יום בקירור וחמישה ימים נוספים בחיי מדף, לא אותר ריקבון באף קבוצת טיפול (טבלה 4). בתום שבוע נוסף בקירור, וחמישה ימים בחיי מדף, אחוז הריקבון הנמוך ביותר היה בטיפול של כיסוזן, כ-8% בלבד. 25% של רקבונות נמצא בטיפול של ג'לטין ובקבוצת הביקורת. 17.7% של פירות רקובים נמצאו בפירות שצופו בתערובת של כיסוזן וג'לטין. בתום אחסון של ארבעה שבועות בקירור וחמישה ימים נוספים בחיי מדף, אחוז הריקבון הנמוך ביותר נמדד בקבוצת הטיפול של כיסוזן עם 7.4% של ריקבון, מסך כלל הפירות בקבוצה, לעומת 25% בקבוצת הביקורת. אחוז ריקבון גבוה יותר, 10.6%, נמדד בקבוצה שטופלה בציפוי המשולב של כיסוזן וג'לטין ואילו בקבוצת הג'לטין בלבד נמדד 17.3% של ריקבון. מחולל הריקבון העיקרי שזוהה נגרם על ידי פטריית הבוטריטיס.

**טבלה 4.** השפעת ציפויים על התפתחות רקבונות (%) בפירות פלפל. טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק ב-  $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ- 60 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

| סוג הטיפול    | 28 יום ב-20°C      | 21 יום ב-20°C     | 14 יום ב-20°C |
|---------------|--------------------|-------------------|---------------|
| כיסוזן+ג'לטין | $10.6 \pm 5.21$ a  | $17.7 \pm 4.27$ b | 0             |
| כיסוזן 2%     | $7.4 \pm 4.59$ a   | $8.0 \pm 3.55$ a  | 0             |
| ג'לטין 1%     | $17.3 \pm 1.98$ ab | $25.7 \pm 7.62$ c | 0             |
| ביקורת        | $25.3 \pm 7.06$ b  | $25.8 \pm 0.79$ c | 0             |

בנוסף, פירות הפלפל אולחו בצורה מלאכותית בנבגים של *B. cinerea* וצופו בתמיסות הציפוי השונות לבחינת השפעת ציפויים על בסיס כיסוזן על התקדמות קוטר הריקבון. ניתן להבחין כי 5 ו-9 ימים לאחר ההדבקה, לא נמצאו הבדלים מובהקים בקוטר הריקבון של פירות מצופים לבין פירות הביקורת. קוטר הריקבון הממוצע היה 1 ו-2 ס"מ, בהתאמה. לאחר 12 ימים, קוטר הריקבון היה נמוך יותר בפירות שצופו בציפויים על בסיס כיסוזן, תערובת של כיסוזן וג'לטין וכיסוזן בלבד (איור 7). קוטר

הריקבון היה 2.51 ו- 2.31 ס"מ בהתאמה, בהשוואה ל- 3 ס"מ שנמדדו בפירות הביקורת. בפירות שצופו בציפוי של ג'לטין בלבד קוטר הריקבון היה 2.75 ס"מ.

| קוטר הריקבון (ס"מ) |                   |                    |                 | Gelatin 1%                                                                         | control | Chitosan 2% | Chitosan + gelatin |
|--------------------|-------------------|--------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|--------------------|
| 5 ימים לאחר הדבקה  | 9 ימים לאחר הדבקה | 12 ימים לאחר הדבקה | סוג הטיפול      |  |         |             |                    |
| 0.96 ± 0.03 a      | 1.92 ± 0.14 a     | 2.51 ± 0.14 a      | כיטוזן + ג'לטין |                                                                                    |         |             |                    |
| 0.95 ± 0.06 a      | 1.89 ± 0.12 a     | 2.31 ± 0.19 a      | כיטוזן 2%       |                                                                                    |         |             |                    |
| 1.11 ± 0.07 a      | 2.03 ± 0.14 a     | 2.75 ± 0.15 ab     | ג'לטין 1%       |                                                                                    |         |             |                    |
| 1.04 ± 0.05 a      | 2.19 ± 0.11 a     | 3.08 ± 0.15 b      | ביקורת          |                                                                                    |         |             |                    |

**איור 7:** קוטר ריקבון של פירות פלפל מצופים 12 יום לאחר הדבקה ב- *B. cinerea*

מדדים ביוכימיים. רמות ה-TSS נמדדו לאחר פרקי אחסון של שבועיים, שלושה וארבעה שבועות בקירור וחמישה ימים נוספים בחיי מדף, ולאחר שבועיים בחיי מדף בלבד, ללא קירור מוקדם (טבלה 5). בתום שבועיים של אחסון בקירור, רמות ה-TSS הגבוהות ביותר נמדדו בפירות שצופו בכיטוזן 2%, עם  $6.7^\circ\text{Bx}$  לעומת  $5.5^\circ\text{Bx}$  בקבוצת הביקורת. ערכים ממוצעים של כ-  $6.4^\circ\text{Bx}$  נמדדו בקבוצות שצופו כיטוזן 2% או בג'לטין 1%. בתום תקופת אחסון של שלושה שבועות בקירור וחמישה ימים נוספים בחיי מדף, לא נמצאו הבדלים מובהקים ברמות ה-TSS בין קבוצות הטיפול השונות, והיו בערך  $7.2^\circ\text{Bx}$ . לאחר ארבעה שבועות בחיי מדף, ערכים גבוהים יותר של TSS נמדדו בפירות שצופו בג'לטין, בדומה לקבוצת הביקורת, עם כ-  $8^\circ\text{Bx}$ . לעומת זאת, ערכים מעט נמוכים יותר של כ-  $6.9^\circ\text{Bx}$  נמדדו בפירות שצופו בציפויים על בסיס כיטוזן, בהשוואה ל-  $7.5^\circ\text{Bx}$  שנמדדו בקבוצת הביקורת. לאחר אחסון של שבועיים בחיי מדף בלבד, לא נמדדו הבדלים מובהקים בין הציפויים הבודדים של כיטוזן וג'לטין וקבוצת הביקורת, שהביאו לידי ערכים של כ-  $7.2^\circ\text{Bx}$ . לעומת זאת, ציפוי משולב של כיטוזן וג'לטין הביא לעלייה קלה בערכי ה-TSS, עם ערכים של  $7.6^\circ\text{Bx}$ .

בנוסף, נמדדו ריכוזי החומצה האסקורבית, הפנולים והאנטיאוקסידנטים בפירות הפלפל (טבלה 5) בתום אחסון של 21 יום בקירור. לא נמצא הבדל מובהק ברמות החומצה האסקורבית שנמדדו בטיפולים השונים, בהשוואה לקבוצת הביקורת.

מבחינת רמות האנטיאוקסידנטים, לא נמצאו הבדלים מובהקים ברמות הגז בין הטיפולים השונים. בציפוי התערובת של כיטוזן וג'לטין נמדדו רמות נמוכות יותר, של כ-  $0.195\text{ mg}$ , לעומת כ-  $0.206\text{ mg}$  שנמדדו בקבוצת הביקורת. ריכוזים דומים לאלה שנמדדו בקבוצת הביקורת, נמצאו גם כן בפירות שצופו בכיטוזן ובג'לטין כציפוי בודד.

רמות הפוליפנולים הגבוהות ביותר, של כ-  $940\text{ }\mu\text{M}$  נמדדו עבור הטיפול של ג'לטין 1%, בדומה לאלה שנמדדו בקבוצת הכיטוזן 2%, בהשוואה לכ-  $800\text{ }\mu\text{M}$  שנמדדו בקבוצת הביקורת. בטיפול התערובת של כיטוזן וג'לטין ובציפוי של תמיסת כיטוזן לבד נמדדו רמות פוליפנולים של  $860\text{ }\mu\text{M}$  ו-  $920\text{ }\mu\text{M}$ , בהתאמה.

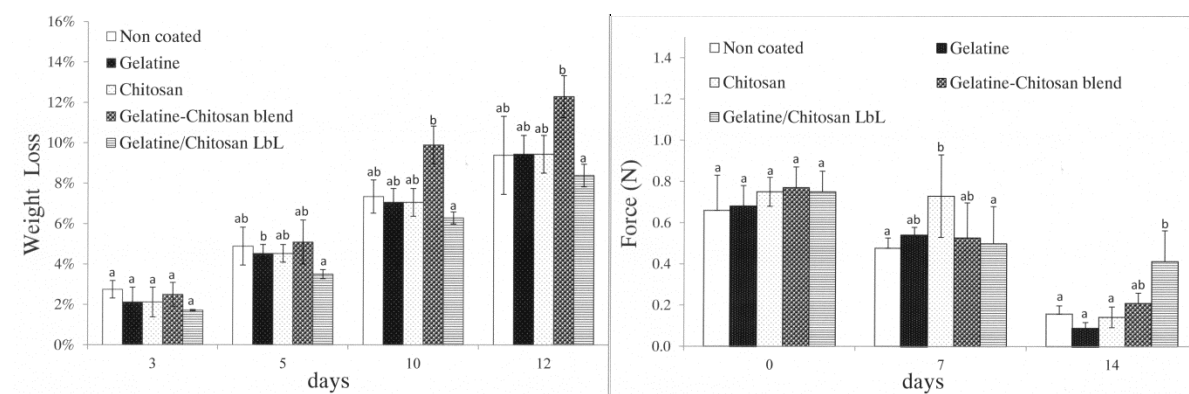
**טבלה 5.** השפעת ציפויים על בסיס כיטוזן על מדדים ביוכימיים של פירות פלפל לאחר אחסון בקירור של 14, 21 ו- 28 ימים בקירור ו- 5 ימים נוספים בחיי מדף ואחסון של 14 יום בחיי מדף, טורים המסומנים באותיות

שונות נבדלים באופן מובהק ב-  $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ- 60 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

| סוג הטיפול        | TSS ( $^{\circ}$ Bx)         |                                                              |                                                              |                                                              |                    |                                                 | סך הפנולים | אנטיאוקסידנטים<br>OD/mg |
|-------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------|------------|-------------------------|
|                   | 14 יום ב-<br>20 $^{\circ}$ C | 28 יום ב-<br>7 $^{\circ}$ C 5-<br>ימים ב-<br>20 $^{\circ}$ C | 21 יום ב-<br>7 $^{\circ}$ C 5-<br>ימים ב-<br>20 $^{\circ}$ C | 14 יום ב-<br>7 $^{\circ}$ C 5-<br>ימים ב-<br>20 $^{\circ}$ C | (mg/ 100 gr<br>FW) | Gallic Acid<br>$\mu$ M eq/100 mg<br>dry pepper) |            |                         |
| ביקורת            | 7.6 $\pm$ 0.2 a              | 7 $\pm$ 0.1 b                                                | 7.2 $\pm$ 0.3 a                                              | 5.9 $\pm$ 0.4 a                                              | 315 $\pm$ 5 a      | 861.9 $\pm$ 24.2 ab                             | 0.195 a    |                         |
| כיסוון+<br>ג'לטין | 7.2 $\pm$ 0.2 a              | 6.8 $\pm$ 0.2 b                                              | 7.4 $\pm$ 0.4 a                                              | 6.7 $\pm$ 0.2 a                                              | 240 $\pm$ 23.1 a   | 923.1 $\pm$ 14.7 ab                             | 0.202 a    |                         |
| כיסוון<br>2%      | 7.1 $\pm$ 0.3 a              | 8 $\pm$ 0.3 a                                                | 7.2 $\pm$ 0.2 a                                              | 6.1 $\pm$ 0.2 a                                              | 300 $\pm$ 11.5 a   | 939 $\pm$ 39.4 a                                | 0.201 a    |                         |
| ג'לטין<br>1%      | 7.2 $\pm$ 0.2 a              | 7.5 $\pm$ 0.1 ab                                             | 6.9 $\pm$ 0.2 a                                              | 5.5 $\pm$ 0.3 a                                              | 235 $\pm$ 43.5 a   | 803.5 $\pm$ 52.5 b                              | 0.206 a    |                         |

### השוואה בין ציפויים בשיטה Blending ו-Layer by Layer<sup>9</sup>

ציפוי משולב המבוסס על ג'לטין וכיטוזן ניתן להכין בשתי שיטות גם בשיטה של Blending וגם בשיטה של Layer by Layer. זה לא טריוויאלי, למשל לא ניתן להכין תמיסה (blending) של אלגינאט וכיטוזן ביחד בגלל תהליך ג'לציה. לכן מחברים בין שני החומרים האלו בשיטה של by Layer Layer בלבד. במקרה של ג'לטין וכיטוזן הייתה לנו אפשרות להשוות ביצועים של שתי טכניקות שונות. לכן היכנו תמיסות של ג'לטין וכיטוזן ביחד (blended) וגם שתי תמיסות נפרדות של ג'לטין וכיטוזן וציפינו פירות מלון בתמיסות האלו (מעורבת ודו-שכבתית). גם כן ביצענו ציפוי של המלון בכיטוזן וג'לטין בלבד לצורך השוואה. ניתן לראות כי ישנו הבדל בין הפירות. הפירות שצופו ב תמיסה דו-שכבתית שמרו יותר טוב על המוצקות לאורך זמן וגם איבדו פחות משקל (איור 8).



איור 8. השפעה של ציפויים על מרקם ואיבוד משקל של מלון.

לא מצאנו מגמה של הבדלים ברורים בהקשר לפעילות אנטימיקרוביאלית. כול הציפויים שהכילו מרכיב של כיטוזן עכבו התפתחות של מיקרואורגניזמים בצורה משמעותית (טבלה 6).

**טבלה 6.** השפעה של ציפויים על התפתחות כללית של מיקרואורגניזמים והתפתחות של פטריות ושמרים  $\text{Log}_{10}(\text{CFU})$  באחסון ב  $6^\circ\text{C}$ . טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק ב-  $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ- 9 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

|                                                 | 0 d.               | 5 d.              | 7 d.              | 11 d.             |
|-------------------------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Total aerobic count, PCA medium (Log CFU /g)    |                    |                   |                   |                   |
| Non coated                                      | $3.29 \pm 0.17$ a  | $6.20 \pm 0.29$ a | $8.34 \pm 0.05$ a | $9.68 \pm 0.07$ a |
| Gelatin                                         | $2.95 \pm 0.15$ ab | $5.83 \pm 0.22$ a | $8.09 \pm 0.12$ a | $8.84 \pm 0.04$ b |
| Chitosan                                        | $2.56 \pm 0.46$ bc | $3.35 \pm 0.34$ c | $5.64 \pm 0.40$ c | $7.41 \pm 0.14$ e |
| Gelatin/chitosan LbL                            | $2.09 \pm 0.38$ c  | $2.91 \pm 0.29$ c | $5.67 \pm 0.16$ c | $7.98 \pm 0.05$ c |
| Gelatin-chitosan blend                          | $2.29 \pm 0.23$ c  | $4.51 \pm 0.11$ b | $6.07 \pm 0.06$ b | $7.72 \pm 0.18$ d |
| Mold and yeast count, PDA+A medium (Log CFU /g) |                    |                   |                   |                   |
| Non coated                                      | $2.18 \pm 0.21$ a  | $3.98 \pm 0.27$ a | $4.13 \pm 0.44$ a | $6.11 \pm 0.11$ a |
| Gelatin                                         | $1.62 \pm 0.43$ b  | $2.95 \pm 0.56$ b | $3.55 \pm 0.13$ a | $5.93 \pm 0.04$ a |
| Chitosan                                        | $1.16 \pm 0.14$ b  | $1.16 \pm 0.14$ c | $2.15 \pm 1.28$ b | $3.72 \pm 0.85$ b |
| Gelatin/chitosan LbL                            | $1.16 \pm 0.14$ b  | $1.16 \pm 0.14$ c | $1.16 \pm 0.14$ b | $3.92 \pm 0.04$ b |
| Gelatin-chitosan blend                          | $1.35 \pm 0.37$ b  | $1.35 \pm 0.37$ c | $1.73 \pm 0.58$ b | $1.69 \pm 0.55$ c |

בנוסף לציפויים הכנו פילמים ובדקנו תכונות מכניות ופיזיקאליות שלהם. ניתן לראות שיריעות שהכנו בטכניקת Layer by Layer הן יותר חזקות וגמישות מיריות שהוכנו בטכניקת blending. לא מצאנו שינויים מובהקים בתכונות פיזיקאליות של יריעות המשולבים (טבלה 7).

**טבלה 7.** אחוז מים, עובי, העברת אדי מים (WVP) חוזק בחירור (PS) ואלסטיות של הפילמים על בסיס פולימרים טבעיים. טורים המסומנים באותיות שונות נבדלים באופן מובהק ב-  $P < 0.05$ . התוצאות המוצגות מהוות ערכים ממוצעים של כ- 30 חזרות  $\pm$  שגיאת תקן של הממוצע.

| Film                   | Moisture content, % | Thickness, $\mu\text{m}$ | WVP, $\text{gmm/kPa}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^2$ | PS, N/mm        | Elasticity, mm    |
|------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|-------------------|
| Gelatin                | $12.96 \pm 0.91$ b  | $20.00 \pm 2.43$ c       | $1.17 \pm 0.20$ c                                 | $541 \pm 55$ b  | $2.07 \pm 0.25$ a |
| Chitosan               | $13.09 \pm 0.77$ b  | $16.11 \pm 1.02$ d       | $0.81 \pm 0.25$ d                                 | $702 \pm 40$ a  | $4.09 \pm 0.50$ b |
| Gelatin-chitosan blend | $15.40 \pm 0.68$ a  | $31.66 \pm 1.18$ b       | $1.54 \pm 0.10$ b                                 | $344 \pm 92$ c  | $2.69 \pm 0.41$ a |
| Gelatin/chitosan LbL   | $15.33 \pm 0.74$ a  | $37.22 \pm 2.69$ a       | $1.80 \pm 0.13$ a                                 | $648 \pm 50$ ab | $3.72 \pm 0.11$ b |

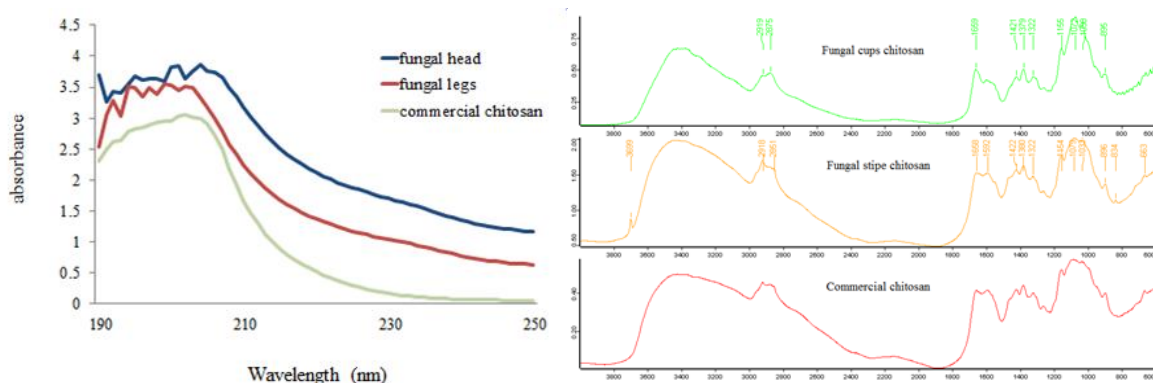
### הפקת כיטוזן מפטריות – מקור כשר, צמחוני ונמצא בשפע

לאחר אופטימיזציה וניסויים רבים הוגדר פרוטוקול לתהליך הפקה של כיטוזן מפטריות שמפיניון (איור 9). נבדקו גם רגלי פטריות. הפקת כיטוזן מרגלי פטריות המהווים פחת ויכולה להוות פתרון לתוצרי הלוואי של תעשיית פטריות. בסוף תהליך ההפקה חושבה הניצולת הסופית המתקבלת של הכיטוזן ביחס לחומר מוצא יבש. נמצא כי כמות הכיטוזן שהופקה מראשי הפטריות, 8.9% הייתה גבוהה מזו שהופקה מרגלי הפטריות, 5.8% ביחס למשקל הראשוני.



## איור 9. פרוטוקול של תהליך הפקת כיטוזן מפטריות או רגלי פטריות.

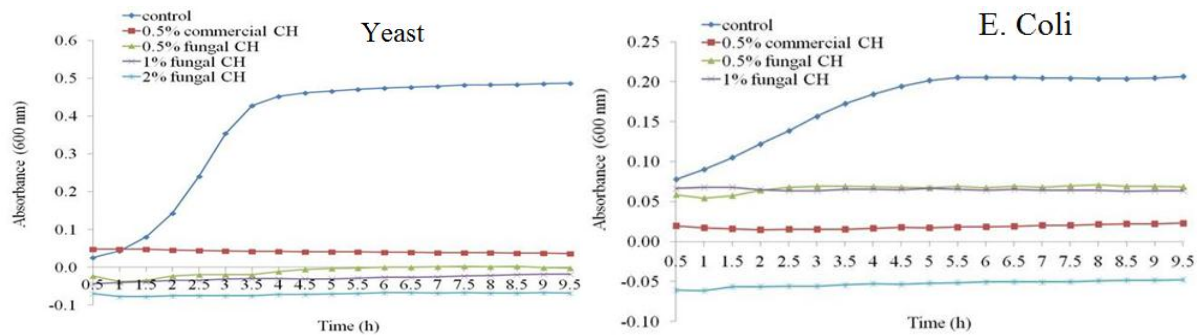
בוצעה אנליזה של כיטוזן המופק, בהשוואה לכיטוזן ממקור מסחרי. באיור 10 ניתן לראות את עקומות הבליעה בתחום UV של הכיטוזן הפונגלי, שהופק ממקור של הראשים ושל רגלי הפטריות, בהשוואה לעקומת הבליעה של כיטוזן ממקור מסחרי. עקומות הבליעה של הכיטוזן הפונגלי נראה מאוד דומה לזה של הכיטוזן המסחרי. באיור 10 ניתן גם לראות את הספקטרה FTIR של הכיטוזן הפונגלי, בהשוואה לעקומת הבליעה של כיטוזן ממקור מסחרי. פיקים אופייניים לכיטוזן נראו בטווחים של  $1563\text{ cm}^{-1}$  ו-  $1643\text{ cm}^{-1}$ , הידועים כקשרים אמידיים; בטווח של  $3400\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ , שהם קשרי O-H ו-H-N, הקשרים האמיניים והטבעת הסוכרתית פיראנוז, הנראים ב-  $1155\text{ cm}^{-1}$  וב-  $900\text{ cm}^{-1}$ .



## איור 10. ספקטרה UV ו-FTIR של כיטוזן ממקור פונגלי וממקור חי (מסחרי).

פעילות אנטימיקרוביאלית- לפלטה של 96 באריות הוכנסו תמיסות של כיטוזן בריכוזים שונים יחד עם ריכוז קבוע של המיקרואורגניזם ועם מצע גידול. בכל זמן בדיקה נעשו 3 חזרות במכשיר plate reader עבור כל טיפול. איור 11 מתאר גידול של החיידקים ושמרים בתוך מצע גידול עם ריכוזי כיטוזן

שונים. בהתייחסות לכיטוזן הפונגלי, ניתן לראות על פי האזור כי כבר בריכוז כיטוזן של 0.5% יש עיכוב מלא של אוכלוסיית החיידקים, בדומה לאפקטיביות שנמצאה ב 0.5% כיטוזן מסחרי.



**איור 11.** עיכוב גידול חיידקי *Escherichia coli* ושמרים *Saccharomyces cerevisiae* על ידי כיטוזן פונגלי ומסחרי.

## דיון

פירות וירקות טריים נוטים להתכלות פיסיולוגית ופתולוגית לאחר הקטיף, דבר המקטין את תקופת אחסוןם ושיווקם, בעיקר לשווקים רחוקים. ההתכלות הפיסיולוגית נגרמת בעיקר כתוצאה מאיבוד מים, כאשר ההתכלות הפתולוגית נגרמת מהתפתחות מחוללי מחלות במהלך תקופת האחסנה הממושכת. ניתן להקטין את גורמי המחלות על ידי שימוש בחומרי הדברה כימיים. אולם, לאור המודעות הציבורית הרבה לבריאות ולאיכות הסביבה, קיים צורך במציאת אלטרנטיבות "ידידותיות" ובריאות יותר, הן לאדם והן לסביבה.<sup>10</sup>

במחקר זה, נבחנו ההשפעות של ציפויים משולבים על מדדי איכות פיזיולוגיים, פתולוגיים וביוכימיים של פירות פלפל ומלון לאחר הקטיף ובאחסנה ממושכת. בציפוי משולב כל אחד מהפולימרים תורם לציפוי את יתרונותיו הבולטים ביותר, כיטוזן תורם ליצירת ציפוי אנטימיקרוביאלי אלגינאט וג'לטין תורמים לאדהזיה טובה וגורמים ליצירת ציפוי חזק, בלתי מתקלף שמגביר את מוצקות הפירות. שתי גישות שונות להכנת ציפוי משולב שמשו במחקר גישה Layer by Layer מכינים תמיסה נפרדת לכול פולימר ואז מוסיפים את הפולימרים שכבה אחרי שכבה על הפרי<sup>11</sup>, וגישה של blending שבה מהתחלה מכינים תמיסה מעורבת של שני הפולימרים. בדקנו מהם היתרונות של כול גישה. בנוסף, במחקר זה פותח פרוטוקול להפקה של כיטוזן ממקור צמחי, מפטריות שמפניון, ונבחנה יעילותם האנטימיקרוביאלית. הדיון והמסקנות העיקריות בעבודת מחקר זו מפורטות להלן.

### ציפויים פעילים בשיטת Layer by Layer לשיפור איכות והארכת חיי מדף של מלון חתוך.

פיתחנו שיטה המאפשרת שליטה על פרמטרים חשובים ביותר של הציפוי כגון עובי ואדהזיה. הפעלנו גישה החדשנית Layer by Layer (LbL) המאפשרת תכנון מבוקר של הציפוי. מצאנו שציפויים LbL משלבים יתרונות של כל המרכיבים שלהם ונותנים הגנה מוגברת של הפרי. גישה LbL יושמה בהצלחה בתחומים רבים אך שימושה בציפויים אכילים כמעט ולא פותח כעת.<sup>12</sup> פיתחנו ציפויים המורכבים משני חומרי ציפוי שכבה פנימית הנוגעת בפרי מבוססת על חומר בעל אדהזיה

טובה (אלגינאט), שכבה חיצונית תורמת להגנת הפרי מפני מחוללי מחלות ונזקי סביבה (כיטוזן). בעזרת ציפויים LbL הצלחנו להאריך אחסון של מלון חתוך.

### **ציפויים פעילים בשיטת Blending לשיפור איכות והארכת חיי מדף של פרי פלפל**

השפעתו המטיבה של הכיטוזן להארכת חיי מדף ולשיפור מדדי איכות כציפוי לפירות פלפל נחקרה מעט בעבר.<sup>14,13</sup> טרם נעשתה עבודה הבוחנת את השפעתם המשולבת של כיטוזן וג'לטין על מדדי האיכות של פירות פלפל ואורך חיי המדף שלהם. במחקר זה מצאנו כי ציפוי משולב של כיטוזן וג'לטין, תרם לירידה משמעותית מבחינת איבודי המשקל ומוצקות של הפרי לאורך תקופת אחסון ממושכות. לעומת זאת, שכבה בודדת של ציפוי, כיטוזן או ג'לטין, לא תרמה לעלייה במוצקות הפירות, והייתה דומה למוצקות של קבוצת הביקורת. מוצקות הינו הפרמטר החשוב ביותר בהערכת האיכות של פירות פלפל כי הוא קובע את אורך חיי המדף ואיכות הפרי לאחר הקטיפה. פירות פלפל אינם נחשבים לפירות קלימאקטרים ולמרות זאת אופי הנשימה וייצור אתילן תלוי בשלב הבשלות ובזן. פורמולציות שונות של ציפויים גורמות להגבלה בחילופי הגזים, פד"ח וחמצן, בין הפרי לסביבה החיצונית. באחסון ממושך לא נראו הבדלים מדאיגים ברמות הפד"ח בין הפירות המצופים לקבוצת הביקורת. ציפויים על בסיס כיטוזן גם לא השפיעו על פרמטרים ביוכימיים של הפרי, כגון TSS, אנטיאוקסידנטים, חומצה אסקורבית ופוליפנולים, על פי תוצאות עבודה זו. ציפוי משולב של כיטוזן וג'לטין וציפוי בודד של כיטוזן הביאו לירידה משמעותית באחוזי הקלקול לאחר שהפירות אוחסנו לפרקי זמן ממושכים. בניסוי נוסף, נבדקה ההשפעה של ציפויים על התפתחות הריקבון לאחר הדבקה מלאכותית ב- *B. cinerea*.<sup>15</sup>

### **הפקת כיטוזן מפטריות שמפיניון**

בסיום סינתזה של כיטוזן המופק מרגליי וראשי פטריות, התקבלו מסות מוצקות יבשות אבקתיות בצבע חום בהיר. לעומתן, צבע הכיטוזן המסחרי הינו לבן. יתכן כי שוני בצבע נובע מהבדל של מקור ההפקה: פטריות שמפיניון (מקור צמחי) אל מול סרטנים, לובסטרים ושרימפס (בע"ח). כמו כן, בהפקה מסחרית של כיטוזן חל שימוש בממסים חזקים, וביניהם גם סודיום היפוכלוריד, לצורכי הלבנה. בנוסף, רמת הניקיון בהפקה מעבדתית אל מול הפקה מסחרית, שבה משתמשים בטכנולוגיה, מכשור או שיטה לסינתזה יעילים יותר, היא נמוכה הרבה יותר. בהשוואה של כיטוזן מפטריות אל מול כיטוזן מסחרי ניתן לראות כי כיטוזן המופק בשתי הפרקציות זהה לכיטוזן המסחרי ושקבוצות פונקציונאליות המצויות בכיטוזן מסחרי מצויות גם בכיטוזן המופק מפטריות.

### **סיכום ומסקנות**

בעבודה זו חקרנו באופן מקיף את ההשפעה של ציפויים משולבים על בסיס כיטוזן ואלגינאט או ג'לטין על מדדי האיכות והארכת חיי אחסון וחיי מדף של פירות הפלפל ומלון. פן נוסף בעבודה זו היה הפקה ואפיון של כיטוזן ממקור פונגלי כאלטרנטיבה כשרה וצמחונית לכיטוזן מסחרי שמופק היום ממקור חי. המחקר הניב 4 פרסומים בעיתונים מדעיים בינלאומיים ו2 פרסומים בעיתונות ישראלית. ציפויים על בסיס כיטוזן הביאו לעיכוב בירידה במשקל ותרמו לשמירה על מוצקות הפירות. יתרה מכך, ציפויים אלה הורידו באופן משמעותי את הזיהום המיקרוביאלי. נראה כי לפולימר עזר בציפוי ישנה השפעה ניכרת בהגברת המוצקות ועיכוב באיבודי המשקל. הציפויים לא השפיעו על המדדים

הביוכימיים והערכים התזונתיים הטבעיים של פירות. פן נוסף בעבודה זו היה הפקת הכיטוזן ממקור פונגלי. כיטוזן מהווה חומר ציפוי מצוין שהוכיח את עצמו כיעיל במיוחד להארכת חיי של מוצרי מזון. כיום כיטוזן מסחרי מופק ממקור חי ולא כשר, קליפות סרטנים ושרימפס. פתחנו גישה להפקת כיטוזן מרגלי פטריות שמפיניון. אפיינו כיטוזן שקיבלנו ובדקנו את הפעילות האנטימיקרוביאלית שלו. מציאת מקור נוסף לכיטוזן תביא לידי ניצול יעיל של הפחת בתעשיית הפטריות ותאפשר לפתח ציפויים על בסיס כיטוזן שיתאימו גם לקהל צמחוני או שומר כשרות, שאינו יכול לצרוך כיטוזן ממקור חי של סרטנים ורכיכות אחרות.

ציפויים משולבים הינם ציפויים טבעיים, בטוחים לשימוש, ישימים, ידידותיים לסביבה ולא יקרים. אנו מצפים כי ממצאים אלה יתרמו ליישום של הציפויים המשולבים להארכת חיי האחסון של תוצרת חקלאית טרייה לאחר הקטיפה. הארכת משך האחסון של תוצרת חקלאית טרייה תביא להורדת המחירים בשווקים המקומיים, תפתח אפשרויות רחבות יותר לייצוא התוצרת ליעדים רחוקים ותתרום לכלכלת החקלאים בפרט ולמדינת ישראל בכלל.

### **תודות**

תודתנו הגדולה נתונה למדען הראשי של משרד החקלאות על תמיכה תקציבית שאפשרה ביצוע של המחקר הנוכחי. כמו כן, ברצוננו להודות לכול השותפים ולצוות של מהנדסי מחקר, טכנאים וסטודנטים שביצעו את העבודה: הדר ארנון, יאנה זייצב, שני דנינו, רועי רוטנברג, רעות כהן, גב' רינה גרניט, גב' בתיה חורב, גב' שרון אלקלעי-טוביה, מר יעקב פרצלן, וד"ר יעקב וינוקור. תודה מיוחדת לד"ר מיכאיל בוריסובר וגב' נדיה בוחנובסקי אשר עזרו במדידות FTIR ושיתפו בניסיונם העשיר.

### **רשימה מלאה של הפרסומים המדעיים**

#### **Articles**

- 1) Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y. and Rodov, V. (2014). Layer-by-Layer electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon model: anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. *Food Bioprocess Technol.* 7, 1424-1432.
- 2) Poverenov, E., Cohen, R., Yefremov, T., Vinokur, Y. and Rodov, V. (2014). Effects of polysaccharide-based edible coatings on fresh-cut melon quality. *Acta Horticulturae* 1015: pp.145.
- 3) Poverenov, E., Zaitsev, Y., Arnon, H., Granit, R., Perzelan, Y. and Fallik, E. (2014). Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 106-109.
- 4) Poverenov, E., Rutenberg, R., Danino, S., Horev, B. and Rodov, V. (2014). Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer by Layer vs. blended formulations. *Food Bioprocess Technol.* 214, 3319-3327.



5) Poverenov, E. (2014). Layer-by-Layer edible coatings to improve quality of fresh agricultural products. Israel Agriculture, 8. Invited paper. Publisher Nobel Green Ltd, Tel Aviv, Israel

6) Poverenov, E. (2014). Advanced edible coatings to improve quality and to prolong shelf life of fresh agricultural products. Volcani Voice. Invited paper. Publisher Agricultural Research Organization the Volcani Center, Israel

### **Presentations**

1) E. Poverenov, S. Danino, B. Horev, R. Granit, Y. Vinokur, V. Rodov. The International European Carbohydrate Symposium, Israel, 2013. Poster.

2) E. Poverenov, V. Rodov. Controlled & Modified Atmospheres Research Conference, Italy, 2013. Invited lecture.

3) E. Poverenov, S. Danino, B. Horev, R. Granit, Y. Vinokur, V. Rodov. The International Symposium on Delivery of Functionality in Food, Israel, 2013. Poster.

4) E. Poverenov. Edible Coatings to Improve Quality and Storability of Fruits and Vegetables. The Annual Conference of the Postharvest Storage Room Operators, Israel, 2014. Invited lecture.

5) E. Poverenov. Edible coatings to improve quality of agricultural produce. Agritech Newe Yaar, Israel, 2014. Seminar.

6) E. Poverenov. Biopolymer composites for active edible films and coatings. The inspiration from nanotechnologies. Hebrew University of Jerusalem, 2015. Seminar.

7) E. Poverenov. Active edible coatings to prolong storability of fresh agricultural produce. Agritech International Conference, Israel, 2015. Invited lecture.

8) E. Poverenov. Active edible coatings to prolong storability of food products. Food in the New Era Conference, Israel, 2015. Invited lecture.

9) E. Poverenov. Nanotechnologies in biopolymer composites to prepare active biodegradable films for food packages and coatings. Biopolymers Materials and Engineering Conference, Slovenia, 2015. Invited lecture.

### **ביבליוגרפיה**

---

<sup>1</sup> Baldwin E, Hagenmaier R & Bai J (2011) Edible coating and films to improve food quality. 2nd Edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, FL, USA.

<sup>2</sup> Valencia-Chamorro SA, Palou L, Del Rio MA & Perez-Gago M (2011) Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51, 872–900.

- 
- <sup>3</sup> Dhall R (2013) Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 435-450.
- <sup>4</sup> Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK & Dutta J (2009) Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114, 1173-1182.
- <sup>5</sup> Elsabee MZ, Abdou ES (2013) Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 33, 1819.
- <sup>6</sup> Poverenov, E., Cohen, R., Vinokur, Y. Rodov, V. (2014). Effects of polysaccharide-based edible coatings on fresh-cut melon quality. *Acta Horticulturae* 1015: pp.145
- <sup>7</sup> Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y. Rodov, V. (2014). Layer-by-Layer electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon model: anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. *Food Biopr. Techn.* 7, 1424
- <sup>8</sup> Poverenov, E., Zaitsev, Y., Arnon, H., Granit, R., Perzelan, Y. and Fallik, E. (2014). Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 106-109.
- <sup>9</sup> Poverenov, E., Rutenberg, R., Danino, S., Horev, B. and Rodov, V. (2014). Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer by Layer vs. blended formulations. *Food Bioprocess Techn.* 214, 3319-3327.
- <sup>10</sup> Campos CA, Gerschenson LN & Flores SK (2011) Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 849-875.
- <sup>11</sup> Hammond PT (2012) Building biomedical materials layer-by-layer. *Mater. Today* 196.
- <sup>12</sup> Bertrand P, Jonas A, Laschewsky A & Legras R (2000) Ultrathin polymer coatings by complexation of polyelectrolytes at interfaces: suitable materials, structure and properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 21(7), 319-348.
- <sup>13</sup> El Ghaouth, A.; Arul, J.; Ponnampalam, R.; Boulet, M. Use of chitosan coating to reduce water-loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *J. Food Proces. Preserv.*, 1991, 15, 359-368.
- <sup>14</sup> Xing, Y. G.; Li, X. H.; Xu, Q. L.; Yun, J. A.; Lu, Y. Q.; Tang, Y. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chem.*, 2011, 124, 1443-1450.
- <sup>15</sup> Fallik, E.; Grinberg, S.; Alkalai, S.; Yekutieli, O.; Wiseblum, A.; Regev, R.; Beres, H.; Bar-Lev, E. A unique rapid hot water treatment to improve storage quality of sweet pepper. *Postharvest Biol. Techn.* 1999, 15, 25-32.

## סיכום עם שאלות מנחות

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| הארכת חיי המדף של תוצרת חקלאית ומוצרי מזון תוך שימוש בציפויים אכילים ומועילים. (1) גישות חדשניות לפיתוח ציפויים אכילים בטוחים, פעילים ופשוטים ליישום (א) שליטה על עובי, אדהזיה ופעילות של הציפוי. (ב) ציפויים דו-ג) הפקת כיטוזן מפסולת תעשיית פטריות. (2) אבחון יעילות הציפויים שנפתח על פלפל ומלון - שני גידולים חשובים הסובלים במיוחד מחוסר יכולת אחסון ממושך. (א) הגנה פיזיולוגית ומיקרוביאלית. (ב) הארכת תקופת אחסון וחיי מדף. |
| <b>עיקרי התוצאות.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 1) פתחנו תחילה פורמולציות (עובי, הרכבים) וטכניקות ציפוי שאינם פוגעות במדדי האיכות של הפרי                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 2) פיתחנו פורמולציה על בסיס כיטוזן וג'לטין שאפשרה אחסנה ממושכת של פירות פלפל בקירור לתקופות של 21 ואף ימים 28. הפירות המצופים הראו עיכוב בירידה במשקל, ערכי מוצקות גבוהים יותר ואחוזי ריקבון נמוכים יותר. הציפויים לא פוגעו בפרמטרים הביוכימיים והערכים התזונתיים של הפרי.                                                                                                                                                         |
| 3) פותחו ציפויים משולבים בגישה חדשנית Layer-by-Layer ויושמו על מלון חתוך. ציפויים תרמו רבות להגנה מפני מזיקים מיקרוביאליים, שמירה על מרקם הפרי והארכת חיי מדף.                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 4) הושווהו שתי גישות Layer-by-Layer ו-Blending. השפעה של שתי הגישות על איכות פיזיולוגית ומיקרוביאלית של מלון חתוך וגם על איכות מכאנית ופיזיקאלית של הציפוי עצמו נבדקו                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 5) פותח תהליך פרוטוקול מסודר להפקתו של כיטוזן ממקור פטרייתי, מקור כשר ונמצא בשפע. נמצא כי לכיטוזן פונגלי יש פוטנציאל לשמש כחומר ציפוי אלטרנטיבי.                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח?</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| המחקר הביא לתוצאות רבות. השיטה של ציפויים אכילים הינה פשוטה, זולה, בטוחה ובעלת פוטנציאל יישומי. אנו מצפים כי הממצאים הנוכחיים יתרמו ליישום המסחרי של הציפויים האכילים לכיטוזן יש חשיבות ותרומה גדולה. בעתיד אנחנו מתכננים לפתח ציפויים אכילים שעשויים מכיטוזן המופק                                                                                                                                                                |
| <b>בעיות במהלך העבודה.</b> התגברנו על הבעיות שעלו במהלך המחקר                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: <b>פרסומים בכתב</b> - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי;                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 1) Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y., Rodov, V. (2014). Layer-by-Layer deposition of edible coating on fresh cut melon model: anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. <i>Food Bioprocess Technol.</i> 7, 1424-1432                                                                                                                                                        |
| 2) Poverenov, E., Cohen, R., Yefremov, T., Vinokur, Y. and Rodov, V. (2014). Effects of polysaccharide-based edible coatings on fresh-cut melon quality. <i>Acta Horticulturae</i> 1015: pp.145.                                                                                                                                                                                                                                   |
| 3) Poverenov, E., Zaitsev, Y., Arnon, H., Granit, R., Perzelan, Y. and Fallik, E. (2014). Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. <i>Postharvest Biol. Technol.</i> 96, 106-109.                                                                                                                                                                        |
| 4) Poverenov, E., Rutenberg, R., Danino, S., Horev, B., Rodov, V. (2014). Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer by Layer vs. blended formulations. <i>Food Bioprocess Technol.</i> 214, 3319-3327.                                                                                                                                                                   |
| 5) Poverenov, E. (2014). Layer-by-Layer edible coatings to improve quality of fresh agricultural products. Israel Agriculture, 8. Invited paper. Publisher Nobel Green Ltd, Tel Aviv, Israel                                                                                                                                                                                                                                       |
| 6) Poverenov, E. (2014). Advanced edible coatings to improve quality and to prolong shelf life of fresh agricultural products. Volcani Voice. Invited paper. Publisher ARO, Israel.                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות) ללא הגבלה</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |