DOI: http://dx.doi.org/10.22104/IFT.2022.5587.2098

Innovative Food Technologies, 9(4), 345-364, Summer 2022

Research Article

Evaluation of Physicochemical and Organoleptic Properties of Dried Apple Slices with Whey Protein Isolate-Inulin Conjugates and Apple pulp Extract

Mohammad Ghorbani[1*], Adeleh Mohammadi[2], Mona Ranjbar[3]

1. Associate Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Phd Student of food chemistry, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. M.Sc. Student of food chemistry, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

(Received 10 April 2022, Received in revised form 26 May 2022, Accepted 15 June 2022)

Abstract

In this study, the effect of whey protein isolate-inulin conjugates (1: 1 and 1: 2) and apple pulp extract (200 and 300 ppm) as alternatives to sodium metabisulfite was used for drying of apple. Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Fourier transform infrared (FTIR) were performed to perform the Millard reaction. Also the content of total phenol, total flavonoids, antioxidant activity by DPPH and total antioxidant methods, water activity, amount of soluble solids, color index, activity of peroxidase enzyme (POD) and polyphenol enzyme Oxidase (PPO), structure analysis as well as sensory evaluation of the dried apple samples coated with whey protein isolate-inulin conjugates and apple pulp extract were investigated. The results of this study showed that the samples coated in 1% of whey protein isolate - inulin (1: 2) containing 300 ppm of apple extract had higher phenolic and flavonoid compounds than the other samples. Also, the concentration of 1% whey protein isolate - inulin (1: 2) containing 300 ppm of apple pulp extract had higher score of aroma, taste, color, texture and acceptability attributes. The results showed that of whey protein isolate-inulin conjugates and apple pulp extract showed strong inhibition against the browning of the dried apple. Therefore, it can be used as a preservative to prevent browning in apple slices as a substitute for sodium metabisulfite.

Keywords: Whey Protein Isolate-Inulin Conjugates, Apple, Sodium metabisulfite, Browning

How to cite this article:

Ghorbani M., Mohammadi A., Ranjbar M. (2022). Evaluation of Physicochemical and Organoleptic Properties of Dried Apple Slices with Whey Protein Isolate-Inulin Conjugates and Apple pulp Extract. *Innov. Food Technol., 9(4)*, 345-364.

* Corresponding Author: moghorbani@yahoo.com

DOI: http://dx.doi.org/10.22104/IFT.2022.5587.2098

فصلنامه فناوری‌های جدید در صنعت غذا، دوره ۹، شماره ۴، صفحه ۳۶۴-۳۴۵، تابستان ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی سیب خشک پوشش داده‌شده با کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین و عصاره تفاله سیب

محمد قربانی[1*]، عادله محمدی [2]، منا رنجبر[3]

۱. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. دانشجوی دکتری شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱، تاریخ آخرین بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۰۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵)

چکیده

در این پژوهش تأثیر پوشش کونژوگه‌های میلارد ایزوله پروتئین آب پنیر-اینولین (۱:۱ و ۱:۲ وزنی: وزنی) و عصاره تفاله سیب (۲۰۰ppm و ۳۰۰) به‌عنوان جایگزین متابی سولفیت‌سدیم، بر کیفیت سیب خشک‌شده، مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) و طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) جهت تائید انجام‌شدن واکنش میلارد انجام شد. همچنین محتوی فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش‌های DPPH و آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت آبی، مقدار مواد جامد محلول، شاخص‌های رنگی، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO)، شاخص‌های بافت و همچنین ارزیابی حسی نمونه‌های سیب خشک‌شده پوشش داده‌شده با کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین و عصاره تفاله سیب انجام شد. نتایج این پژوهش مشخص ساخت که نمونه‌های پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها بودند به‌طوری‌که این امر باعث فعالیت بیشتر آنتی‌اکسیدانی این نمونه‌ها گردید، همچنین سبب افزایش شاخص L^* و کاهش شاخص قهوه‌ای شدن (BI) نمونه‌های سیب شد. غلظت ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب، امتیازات بالایی از نظر عطر، طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی در ارزیابی حسی کسب نمود. نتایج نشان داد کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین و عصاره تفاله سیب اثر مهارکنندگی خوبی بر قهوه‌ای‌شدن بافت سیب خشک دارد. بنابراین می‌توان به‌عنوان ماده نگهدارنده جایگزین متابی‌سولفیت‌سدیم جهت ممانعت از قهوه‌ای‌شدن سیب طی فرایند خشک شدن مورد مصرف قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: کونژوگه میلارد ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین، سیب، ترکیبات فنلی، متابی سولفیت سدیم، قهوه‌ای شدن

* نویسنده مسئول: moghorbani@yahoo.com

۱. مقدمه

انبارداری میوه‌هایی همچون سیب از نظر محتوی رطوبت بالا، خطر تجزیه توسط میکروارگانیسم‌ها، واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی با محدودیت روبه‌رو است. بنابراین، میوه‌ها برای دستیابی به محصولاتی با ماندگاری بالا مکرراً به خشکبار فرآوری می‌شوند. تقاضا مصرف میوه خشک به دلیل طولانی شدن مدت ماندگاری و طعم مطلوب افزایش پیدا کرده است [۱]. سیب در سراسر جهان به علت ارزش تغذیه‌ای بالا و طعم مطبوع، به‌طور گسترده کشت و مصرف می‌شود. ورقه‌های سیب خشک می‌تواند به‌عنوان میان وعده و همچنین مکمل رژیم غذایی خاص مورد استفاده قرار گیرد. خشک کردن اغلب منجر به قهوه‌ای شدن رنگ محصول می‌شود و بر خصوصیات حسی، کیفیت و ارزش تغذیه‌ای محصول تأثیر می‌گذارد. بنابراین، کنترل کیفیت رنگ به یکی از موضوعات اصلی در تولید مواد غذایی تبدیل می‌شود [۲]. واکنش‌های قهوه‌ای‌شدن در میوه‌ها زمانی آشکار می‌شود که مواد غذایی در معرض فرآوری یا آسیب مکانیکی قرار می‌گیرند. قهوه‌ای‌شدن عامل مهمی برای کاهش کیفیت و ارزش میوه‌ها است. افت کیفیت برش‌های سیب توسط قهوه-ای‌شدن در مراحل برش، خشک کردن و ذخیره‌سازی اتفاق می‌افتد. واکنش میلارد، اکسیداسیون و پلیمریزاسیون پلی فنل‌ها و اکسیداسیون اسید اسکوربیک مهم‌ترین واکنش‌های شیمیایی هستند که مسئول تغییرات رنگ در طی فرآیندهای گرمایشی و ذخیره‌سازی هستند [۱].

استفاده از مشتقات سولفیت یکی از مؤثرترین و قدیمی‌ترین افزودنی در تولید خشکبار است. سولفیت‌ها ترکیبات چند عملکردی هستند که از قهوه‌ای‌شدن آنزیمی و غیرآنزیمی ممانعت نموده، رشد میکروارگانیسم‌ها را کنترل می‌نمایند و همچنین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، احیاکنندگی و سایر فعالیت‌های تکنیکی متنوع می‌باشند [۳]. چنانچه سولفیت در اندازه مناسب مصرف نشود اثرات منفی بر روی غذا و مصرف کننده دارد، می‌توانند باعث واکنش‌های آلرژیک، سردرد میگرنی، آسیب ریه و اختلالات کروموزومی در مصرف کنندگان شوند. بنابراین، صنایع غذایی باید مقدار سولفیت ایمن و کنترل‌شده را در محصولات غذایی فراهم کند تا از سلامت و ایمنی مصرف کنندگان اطمینان حاصل شود. همچنین مقدار سولفیت نباید از حد مجاز تعیین‌شده در استاندارد مربوط به هر کشور تجاوز کند. بنابراین تعیین میزان سولفیت در صنایع مختلف حائز اهمیت می‌باشد [۴].

اخیراً پوشش‌های خوراکی به‌عنوان یکی از فناوری‌های بالقوه برای بهبود ایمنی مواد غذایی، افزایش ماندگاری مواد غذایی و محافظت در برابر اثرات عوامل محیطی مورد توجه قرار گرفته است. از پوشش‌های خوراکی برای افزایش ماندگاری و کیفیت میوه‌ها و سبزی ها استفاده می‌شود. ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) یکی از محصولات جانبی صنایع لبنی به ویژه صنعت پنیر است. با توجه به محتوی پروتئینی بالا این ترکیب به‌عنوان یک افزودنی غذایی کاربردهای فراوانی دارد [۵]. اینولین یک پلی‌ساکارید محلول در آب است و به‌طور گسترده در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود[۶]. واکنش میلارد بین گروه‌های آمینوی آزاد پروتئین و گروه‌های کربونیل پلی‌ساکاریدها به وقوع می‌پیوندد [۷]. طی این فرایند باندهای کووالانسی بین پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در شرایط کنترل شده از لحاظ زمان، حرارت و رطوبت نسبی ایجاد می‌گردد. کونژوگه‌های تولیدشده در واکنش میلارد تلفیقی از خواص عملکردی پروتئین و کربوهیدرات‌ها را دارند و نسبت به شرایط محیطی حساسیت کمتری نشان می‌دهند [۸]. مولی و سینگال (۲۰۲۰) از کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر- کیتوزان جهت تولید فیلم خوراکی برای پوشش دهی توت فرنگی استفاده کردند. این محققین گزارش دادند که این پوشش سبب افزایش ماندگاری توت‌فرنگی شده است [۹].

محصولات جانبی به‌دست‌آمده از برخی کارخانه‌های فرآوری صنایع غذایی حاوی سطوح قابل توجهی از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی هستند که پس از استخراج و فرآوری می‌تواند به‌عنوان مکمل غذایی و یا در تولید فیتوکمیکال استفاده شود. استفاده از ضایعات در غذا از جنبه‌های اقتصادی، زیست‌محیطی و عملکردی مهم است، می‌توان با استفاده سودمند از پسماندهای کارخانه‌های مواد غذایی از هدر رفتن آن جلوگیری نمود [۱۰]. عصاره‌های گیاهی و طبیعی و همچنین محصولات جانبی صنعت غذا و کشاورزی حاوی چندین ترکیب زیست فعال هستند که با مهار قابل توجه فعالیت PPO و کاهش تغییر رنگ به‌عنوان ماده ضد قهوه‌ای

برای میوه‌ها و سبزی‌ها عمل می‌کنند. پلی‌فنول‌ها با داشتن فواید سلامتی بخش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی به‌طور گسترده شناخته شده‌اند، در تحقیقی اثر ۶۰ عصاره گیاهی را بر قهوه‌ایی‌شدن رنگ سیب‌زمینی و قارچ بررسی کردند. نتایج نشان‌دهنده‌ی آثار مثبت عصاره‌های گیاهی بر رنگ محصول بود. مهار قهوه‌ای‌شدن آنزیمی می‌تواند به فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی مرتبط باشد [۱۱]. پریز-گاگو و همکاران (۲۰۰۶)، استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر، موم زنبور عسل و اسیداسکوربیک را مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد استفاده از پوشش خوراکی باعث کاهش میزان قهوه‌ای‌شدن قطعات سیب در مقایسه با نمونه شاهد شده است [۱۲]. سوخونتارا و همکاران (۲۰۱۶)، به بررسی اثر مهاری عصاره سبوس برنج حاوی ترکیبات فنلی بر فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز و قهوه‌ای‌شدن پوره سیب‌زمینی و سیب پرداختند. عصاره فنلی ضمن افزایش ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی محصول باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز به‌دلیل حضور اسیدپروتوکاتوئیک، اسیدوانیلیک، اسیدفرولیک و اسیدسیناپیک شد [۱۳]. همچنین آلوز و همکاران (۲۰۱۸)، در تحقیقی اثر پوشش خوراکی را بر افزایش عمر ماندگاری سیب بررسی کردند. نتایج نشان داد شاخص L^* ورقه‌های سیب افزایش پیدا کرده است [۱۴]. با توجه به اهمیت رژیم غذایی سالم و ایمن و موارد واکنش شدید به سولفیت‌ها، استفاده از پوشش‌های خوراکی برای ممانعت از قهوه‌ای‌شدن محصولاتی مانند سیب روش مناسبی محسوب می‌گردد. از آنجا که اثر کونژوگه میلارد (ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین) در پیشگیری از قهوه‌ای‌شدن آنزیمی سیب‌های برش داده‌شده تاکنون بررسی نشده است، لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر کونژوگه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین همراه با عصاره پوست سیب در به تعویق انداختن قهوه‌ای شدن آنزیمی سیب خشک بود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. آماده‌سازی کونژوگه پروتئین- پلی ساکارید در شرایط میلارد

ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین (نسبت‌های ۱:۲ و ۱:۱ وزنی/وزنی) در محلول بافر فسفات (pH= ۷) حل و با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای اتاق به مدت ۲ h مخلوط شد. سپس به مدت ۲۴ h در دمای ۴ ℃ نگهداری گردید تا جذب آب به‌طور کامل انجام شود. نمونه‌ها توسط خشک‌کن انجمادی به پودر تبدیل گردید. پودرهای حاصل از روش فوق به مدت ۲۴ h در دمای ۶۰ ℃ و رطوبت نسبی ۷۹ ٪ در آون نگهداری شدند تا واکنش میلارد بین پروتئین- پلی ساکارید انجام شود. برای تأمین رطوبت نسبی مورد نظر از محلول اشباع کربنات‌پتاسیم استفاده شد پودرهای کونژوگه تا زمان مصرف در ظروف کاملاً دربسته در دمای ۱۸- ℃ نگهداری شدند [۱۵].

۲.۲. تولید عصاره از تفاله سیب

برای تهیه عصاره، پس از خردکردن و همگن‌کردن نمونه در هاون چینی آزمایشگاهی، از حلال متانول ۸۰ ٪ (حجمی: حجمی) استفاده شد. نمونه را به حلال با نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی: حجمی) افزوده و مخلوط حاصله به‌مدت ۲ h با سرعت ۲۰۰ rpm قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ min سانتریفیوژ شدند (۱۲۰۰۰ rpm) و پس از این مرحله عصاره با استفاده از کاغذ صافی از بخش جامد جدا و در تبخیرکننده چرخان در دمای ۴۰ ℃ تغلیظ گردید. درنهایت عصاره‌ها توسط خشک‌کن انجمادی به پودر تبدیل شد و تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا در فریزر ۱۸ ℃ – قرار گرفت [۱۶].

۳.۲. تهیه سیب خشک‌شده

سیب سالم و بی‌عیب انتخاب و پس از شستشو و جداکردن هسته به شکل یکنواخت با ضخامت ۴ mm بریده شد. ورقه‌های سیب در محلول‌های حاوی کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین (نسبت‌های ۱:۲ و ۱:۱وزنی/وزنی) و عصاره سیب به مدت ۳ min غوطه‌ور شد، همچنین نمونه شاهد و نمونه‌ی آغشته به سولفیت ۵۰۰ ppm تهیه گردید (جهت مقایسه با کنترل‌های مثبت و منفی). سپس ورقه‌های سیب

به‌صورت یک لایه روی سینی در آون در دمای ۵۰ ℃ قرار گرفت. بعد از رسیدن به رطوبت حدود ۱۰ ٪، نمونه‌ها جمع‌آوری و تا زمان آزمایش، در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شدند.

۴.۲. آزمون‌های کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین

۱.۴.۲. الکتروفورز SDS-PAGE

به‌منظور سنجش میزان اتصالات کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین از الکتروفورز SDS-PAGE استفاده می‌گردد [۱۷].

۲.۴.۲. طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR)

تعیین پیشرفت کونژوگه شدن و بررسی ساختارها با کمک روش FTIR انجام می‌شود [۱۸].

۵.۲.آزمون‌های ورقه‌های سیب

۱.۵.۲. اندازه‌گیری فنول کل

برای تهیه عصاره از ورقه سیب خشک، پس از آسیاب کردن، نمونه‌ها را به حلال متانول ۸۰ ٪ (حجمی : حجمی) با نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی: حجمی) افزوده و به مدت ۲ h به‌وسیله هات پلیت در۲۰۰ rpm مخلوط شد. در ادامه نمونه-ها با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۳۰min سانتریفوژ شدند و سپس با استفاده از کاغذ صافی از بخش جامد جدا شدند [۱۳]. ۲۰ µl از عصاره تهیه‌شده با ۱/۱۶ ml آب مقطر و ۱۰۰ µl فولین-سیوکالتو به مدت ۵ min همزده شد و ۳۰۰µl محلول کربنات‌سدیم ۲۰ ٪ به این مخلوط اضافه شد و همزده شد و ۳۰ min در بن ماری ۴۰ °C قرار داده شد سپس جذب محلول در ۷۶۰nm خوانده شد سپس میزان محتوای ترکیبات فنولی براساس معادل اسید گالیک و برحسب گرم بر ۱۰۰g ماده خشک بیان شد [۱۹].

۲.۵.۲. اندازه‌گیری فلاونوئید کل

میزان ترکیبات فلاونوئیدی توسط روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید توسط اسپکتروفتومتر صورت گرفت. از ترکیب کوئرستین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. سپس میزان فلاوونوئید برحسب میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰g ماده خشک محاسبه شد. به ۱ ml عصاره ۰/۵ ml نیتریت‌سدیم ۵٪ اضافه شد بعد از ۶ min، ۰/۵ ml کلرید آلومینیوم ۱۰٪ به آن اضافه شد بعد از ۶ min با فزودن ۲ ml سدیم هیدروکسید ۱ M میزان جذب محلول در طول موج ۵۱۰ nm قرائت شد [۲۰].

۳.۵.۲. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH

به ۱ ml محلول عصاره ۱ ml از محلول متانولی ۰/۱ mM DPPH اضافه شد. مخلوط حاصله ۲۰ s همزده شد و پس از ۳۰ min در تاریکی ۱۵ min با دور ۵۵۰۰ rpm سانتریفوژ شد و درنهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ nm قرائت شد. A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند [۲۱].

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH} = [(A_c - A_s)/A_s] \times 100 \quad (۱)$$

۴.۵.۲. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش آنتی‌اکسیدانی کل

این روش براساس احیای مولیبدنومV به مولیبدنوم VI توسط نمونه و تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفات مولیبدنوم در محیط اسیدی است. عصاره ۱۰ برابر رقیق شد و ۲۰µl از آن با ۱ ml معرف مولیبدات (مخلوطی از اسید سولفوریک ۰/۶ M، فسفات‌سدیم ۲۸ mM و آمونیوم مولیبدات ۲mM) مخلوط و به مدت ۹۰ min در آون با دمای ۹۵ ° C قرار گرفت بعد از سرد شدن و رسیدن به دمای محیط جذب آن در طول موج ۶۹۵ nm قرائت شد [۲۲].

۵.۵.۲. اندازه‌گیری فعالیت آبی

این آزمون توسط دستگاه سنجش فعالیت آبی انجام می‌شود. نمونه‌ها در محفظه قرار می‌گیرند و بعد از رسیدن به عدد ثابت aw قرائت می‌شود [۲۸].

۶.۵.۲. اندازه‌گیری مواد جامد محلول

میزان مواد جامد محلول توسط دستگاه رفرکتومتر دیجیتال اندازه‌گیری خواهد شد [۲۹].

۷.۵.۲. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) انجام خواهد شد. پیش ماده این آنزیم گایاکول و پراکسیداز هیدروژن است. تغییرات در اکسیداسیون گایاکول در حضور آب اکسیژنه در طول موج ۴۷۰nm ثبت می‌شود [۲۵].

۸.۵.۲. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO)

مخلوط واکنش حاوی ۱ ml عصاره آنزیمی و ۱ ml پیروکاتکول ۰/۰۵ M و ۱ ml بافر سدیم‌فسفات (۰/۱ M، ۷ = pH) بود. سپس، درصد مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز محاسبه شد [۲۶].

۹.۵.۲. رنگ نمونه

رنگ نمونه‌ها بعد فرآیند خشک‌کردن جهت بررسی با استفاده از اسکنر عکس‌برداری شد و عکس‌ها با فرمت JPEG ذخیره شد. سپس تصاویر گرفته‌شده با نرم‌افزار Image J و توسط Color –Space –Converter و استفاده از فضای رنگیRGB شاخص L* ، a* و b* به دست آمد. مدل رنگی Lab متشکل از جز، روشنایی (جزء L*) و دو جزء رنگی (جزء a* وb*) می‌باشد [۲۳]. روشنایی (L)، شاخص قرمزی (a) و شاخص زردی (b) می‌باشد.

تفاوت کلی رنگ:

$$\Delta E = ((L^1-L^0)^2 + (a^1 - a^0)^2 + (b^1 - b^0)^2)^{1/2} \quad (۲)$$

شاخص قهوه‌ای شدن:

$$BI = 100/0.17(0.31[(a_{3.012}+5.645L)/(a+1.75] \quad (۳)$$

۱۰.۵.۲. ارزیابی بافت

تجزیه‌وتحلیل بافت سیب‌های خشک‌شده توسط دستگاه ارزیابی بافت (بروکفیلد CT3 Texture Analyser) انجام شد. ماشه روی ۱۰ g تنظیم شد. برش‌های سیب خشک‌شده با کره‌ای به قطر ۱۲/۷ mm به عمق ۰/۱ mm فشرده شدند. سرعت پروب نفوذ ۰/۱ mm/s بود. میزان سختی به‌عنوان پارامتر کیفیت ثبت شد [۲۷].

۱۱.۵.۲. ارزیابی حسی

۹ داور نمونه‌ها را از لحاظ فاکتورهای کیفی مثل رنگ، طعم و مزه و بافت ارزیابی کردند. فرم که دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای است به داوران داده شد تا آن را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت خوب و امتیاز ۱ برای کیفیت نامناسب تخصیص یافت. فرم‌های تکمیل‌شده شامل ارزیابی کلی مصرف‌کنندگان کمی‌سازی شد [۲۴].

۱۲.۵.۲. تجزیه‌وتحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌های به‌دست‌آمده با از روش ANOVA یک طرفه و با از نرم‌افزار SPSS انجام شد. برای بررسی اختلاف میان تیمارهای مختلف نیز از آزمون دانکن و وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها بهره گرفته شد.

۳. نتایج و بحث

اجزاء تشکیل‌دهنده فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی در جدول (۱) آورده شده است.

جدول (۱) فرمولاسیون پوشش خوراکی سیب خشک بر پایه کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین همراه با عصاره تفاله سیب

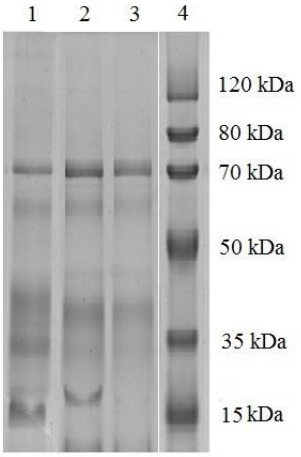
Table 1. The coating formulation of dried apple pieces based on whey protein isolate-inulin conjugates and apple pulp extract

S	1٪wpi-in(1:2) 300 ppm Ex	3%wpi-in(1:2)200 ppm Ex	1%wpi-in(1:2)300 ppm Ex	1%wpi-in(1:2)200 ppm Ex	3%wpi-in(1:1)300 ppm Ex	3%wpi-in(1:1)200 ppm Ex	1%wpi-in(1:1)300 ppm Ex	1%wpi-in(1:1)200 ppm Ex	C	sample
	1:2	1:2	1:2	1:2	1:1	1:1	1:1	1:1	0	WPI:INULIN

WPI:INULIN	0	1	1	3	3	1	1	3	3	
apple extract (ppm)	0	200	300	200	300	200	300	200	300	
Sulfite (ppm)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	500

۱.۳. الکتروفورز SDS-PAGE

به منظور تائید و بررسی شکل‌گیری ترکیبات با وزن مولکولی بالا که نشانه‌ی کونژوگه شدن ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) و اینولین در حین فرایند میلارد می‌باشد، الکتروفورز SDS-PAGE انجام شده است (شکل ۱). درواقع با این روش پیوندهای کووالانسی شکل‌گرفته بین ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین شناسایی می‌شوند. همان‌طور که در شکل (۱) مشخص است خط ۱ نشان دهنده‌ی ایزوله پروتئین آب پنیر، خطوط ۲ و ۳ نمایانگرکونژوگه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین با نسبت وزنی ۱:۱ و ۱:۲ و خط ۴ نیز مارکر را مشخص می‌نماید. باندهای قابل مشاهده در محدوده‌ی kDa ۱۴/۴، ۱۸ و ۷۰ به‌ترتیب نشان دهنده‌ی پروتئین‌های آلفا لاکتاالبومین، بتا لاکتوگلوبولین و سرم آلبومین در نمونه‌ی ایزوله پروتئین آب پنیر می‌باشد [۱۵]. با انجام واکنش کونژوگه شدن باندهای پروتئین ایزوله پروتئین آب پنیر تمایل به از بین رفتن دارند و اتصالات جدیدی تشکیل‌شده است. تشکیل کونژوگه‌ها منجر به کاهش شدت باندها نسبت به پروتئین خالص می‌گردد و بجای آن نواری ظاهر می‌گردد که نشان‌دهنده ترکیبات با جرم مولکولی بالاتر است که نشان‌دهنده‌ی اتصال کووالانسی بین پروتئین و کربوهیدرات است [۸].



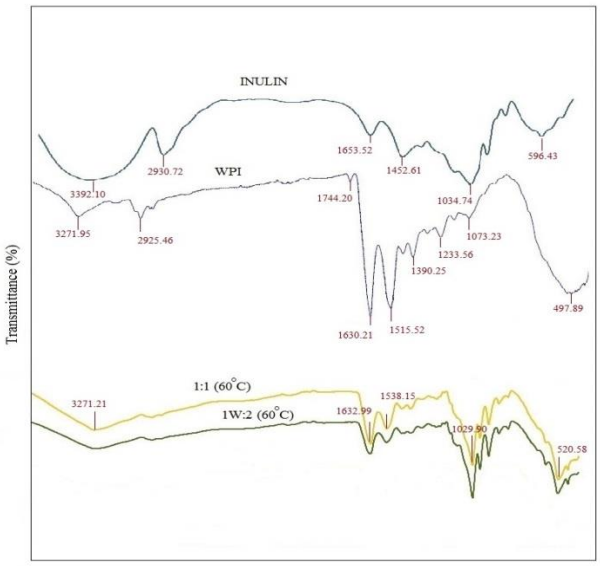
شکل (۱) پروفایل الکتروفورز SDS-PAGE کونژوگه های ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین (خط ۱: ایزوله پروتئین آب پنیر، خط ۲: کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین (۱:۱)، خط ۳: کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین (۱:۲) و خط:۴ مارکر)

Fig 1. SDS-PAGE profile of Whey Protein Isolate – Inulin Conjugates (Line 1: WPI, Line 2:WPI- Inulin (1:1), Line 3:WPI- Inulin (1:2) and Line 4:Marker)

۲.۳. طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR)

طیف‌سنجی FT-IR یک تکنیک سریع و کاربردی مفید برای مطالعه ساختار و برهمکنش‌های سیستم‌های پروتئین–پلی‌ساکاریدی است (شکل۲). زمانی که گروه‌های عاملی در سطح مولکولی واکنش می‌دهند تغییرات طیف FT-IR مانند ظهور باندهای جدید و تغییرات در شدت و مکان باندهای جذب قابل مشاهده است. پیک موجود در طول موج cm^{-1} ۱۰۳۴ اینولین را می‌توان به ارتعاشات کششی حلقه‌ی تتراهیدروفوران فروکتوز C-O و ارتعاشات کششی C-C حلقه‌ی پیرانوز نسبت داد [۳۰]. بعد از کونژوگه‌شدن ایزوله پروتئین آب پنیر-اینولین شدت و فرکانس این پیک تغییر یافته است به‌طوری که در دمای انکوباسیون، پیک به عدد

موجی پایین‌تر (cm^{-1} ۱۰۲۹) منتقل‌شده و شدت آن نیز افزایش یافته است. پیک در طول موج $۱۶۳۰cm^{-1}$ ایزوله پروتئین آب پنیر نشانگر ناحیه آمید نوع اول است که عمدتاً ناشی از ارتعاشات کششی پیوند C=O و به‌طور جزئی ارتعاشات کششی C–N و خمشی N–H می‌گردد. این باند ماهیت پیوندهای هیدروژنی درگیر با گروه‌های C=O و N–H پیوندهای پپتیدی را مشخص می‌نماید [۳۱]. نتایج نشان می‌دهد که با کونژوگه‌شدن ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین فرکانس این پیک تغییر یافته است و به عدد موجی بالاتر ($۱۶۳۲cm^{-1}$) منتقل شده است. پیک cm^{-1} ۱۵۱۵ ایزوله پروتئین آب پنیر عمدتاً مرتبط با ارتعاشات خمشی N–H و به‌طور جزئی‌تر مرتبط با ارتعاشات کششی C–N باندهای پپتیدی است و به ناحیه آمید نوع دوم معروف است. پیک مرتبط با آمید نوع دوم بعد از کونژوگه شدن ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین به سمت عدد موجی بالاتر شیفت می‌دهد [۳۲]. همچنین پیک موجود در عدد موجی cm^{-1} ۲۹۲۵ مربوط به کشش نامتقارن متیلن CH_2 ایزوله پروتئین آب پنیر است. اینولین نیز در عدد موجی $۲۹۳۰cm^{-1}$ پیکی را نشان داد که معرف پیوند کششی C-H در ساختار اینولین است. بعد از کونژوگه شدن ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین موقعیت و شدت این دو باند بسیار کاهش یافت که این امر ممکن است به‌دلیل تعاملات بین مولکولی باشد که سبب می‌گردد ارتعاشات متیلن کاهش یابد. این نتایج با یافته‌های دونگ و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت که گزارش دادند بعد از کونژوگه شدن صمغ بذرکتان و ایزوله پروتئین آب پنیر، شدت این پیک کاهش یافته است [۳۳]. پیک موجود در عدد موجی cm^{-1} ۳۲۷۱ معرف ارتعاشات گروه هیدروکسیل آزاد و باندشده با گروه N–H و O–H ایزوله پروتئین آب پنیر است. این پیک بعد از کونژوگه‌شدن نمونه-ها در محدوده‌ی cm^{-1} ۳۲۷۲-۳۲۷۰ قرار گرفت. تشکیل پیوند هیدروژنی بین‌مولکولی با گروه کربونیل باندهای پپتیدی در افزایش این پیک مؤثر است. پیک‌های موجود در عدد موجی cm^{-1} ۱۶۵۳ و ۳۳۹۲ به‌ترتیب نشان دهنده‌ی اسیدکربوکسیلیک نامتقارن و گروه‌های هیدروکسیل (-OH) اینولین است [۳۴]. این پیک‌ها بعد از کونژوگه شدن قابل شناسایی نیستند. این امر نشان‌دهنده تعاملات بین پروتئین و پلی‌ساکارید است و ظرفیت کمتر مولکول‌های کربوهیدرات برای ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین‌مولکولی درون کربوهیدراتی در حضور پروتئین را مشخص می‌نماید. پیک موجود در عدد موجی cm^{-1} ۱۳۹۰ مرتبط با آنیون کششی متقارن COO^- یا CH_3 در ساختار ایزوله پروتئین آب پنیر است. بعد از کونژوگه‌شدن ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین پیک جابجا شده و شدت آن نیز کاهش یافته است [۳۵].

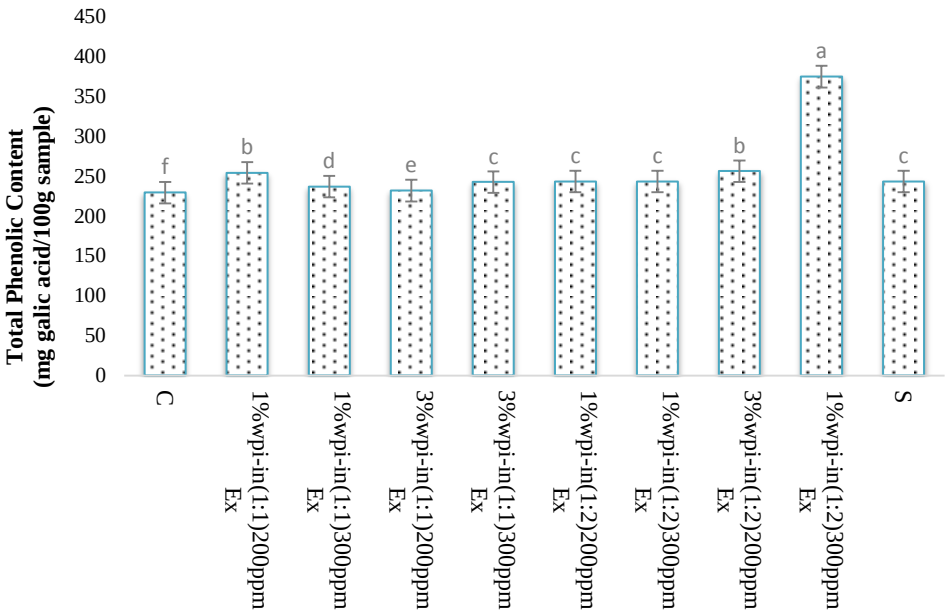


شکل (۲) طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) اینولین، ایزوله پروتئین آب پنیر و کونژوگه های ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین

Fig 2. FT-IR of Inulin, WPI and WPI – Inulin Conjugates

۳.۳. اندازه‌گیری فنول کل

انواع گونه‌های سیب دارای مورفولوژی، بافت، طعم، رنگ و محتوی فنولی متفاوت هستند. ترکیبات فنولی عمده در سیب شامل اسید نئوکلروژنیک، کاتچین، اسید کلروژنیک، کافئیک‌اسید، اپی‌کاتچین، کلریدزین، کوئرستین، کوئرسیترین می‌باشند. تغییرات ترکیبات فنولی در فرایند خشک‌کردن با هوای گرم تا حد زیادی به پارامترهایی ازجمله دما و سرعت هوا بستگی دارد [۳۶]. میزان ترکیبات فنولی تیمارهای مختلف با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک و براساس معادله $y = 0.0006x + 0.1073$ ، $R^2= 0.9823$ محاسبه گردید (شکل ۳). میزان ترکیبات فنولی در تمام تیمارها نسبت به نمونه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p <۰/۰۵$). بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنولی به ترتیب مربوط به نمونه پوشش داده شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر– اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ppm عصاره تفاله سیب و نمونه شاهد می‌باشد. با افزایش غلظت عصاره (۳۰۰ ppm) میزان ترکیبات فنولی نمونه‌ها افزایش یافت. امروزه عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند تا به‌دلیل محتوی بالای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تغییرات نامطلوب در میوه‌ها و سبزی‌ها را به تأخیر بیاندازند. پژوهش شارما و همکاران (۲۰۱۴) نیز مشخص ساخت که پوشش خوراکی می‌تواند عمدتاً در افزایش محتوی فنولی تکه‌های سیب نقش داشته باشد [۳۷]. تانتراطیان و همکاران (۲۰۱۹)، اثر عصاره فنولی *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* را بر کنترل ایمنی برش‌های تازه طالبی بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره باعث افزایش ترکیبات فنولی برش‌های طالبی شده است [۳۸].

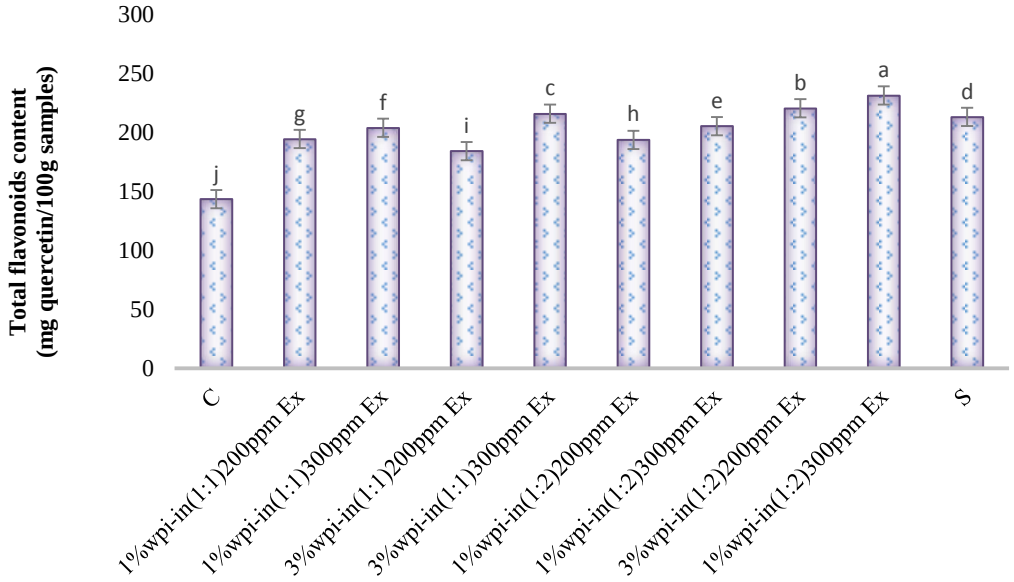


شکل (۳) محتوی فنل کل تیمارهای مختلف سیب خشک
Fig 3. Total phenolic contents of different samples

۴.۳. اندازه‌گیری فلاونوئید

فلاوونوئید کل در نمونه‌ها به روش رنگ سنجی آلومینیوم-کلرید اندازه‌گیری شد. با قرار دادن میزان جذب عصاره در معادله خط منحنی کوئرستین استاندارد $y= 0.0013x + 0.2105$ ، $R^2= 0.9864$ میزان ترکیبات فلاوونوئیدی به دست آمد (شکل ۴). نتایج مشخص ساخت بالاترین مقدار ترکیبات

فلاونوئیدی (۳/۶ ± ۲۳۱/۲۳ برحسب کوئرستین در g ۱۰۰ نمونه) مربوط به نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر– اینولین (۱:۲) حاوی ppm ۳۰۰ عصاره تفاله سیب می‌باشد که ازلحاظ آماری اختلاف معنی-داری با سایر نمونه‌ها دارد ($p < ۰/۰۵$). با افزایش غلظت عصاره میزان فلاونوئید ورقه‌های سیب خشک افزایش یافت که با پژوهش کوآ و همکاران (۲۰۱۷) و تائو و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت [۴۰،۳۹]. نتایج تحقیقات موون و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که میزان فلاونوئید سیب‌زمینی تحت اثر عصاره *Swertiajaponin* نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است [۴۱].

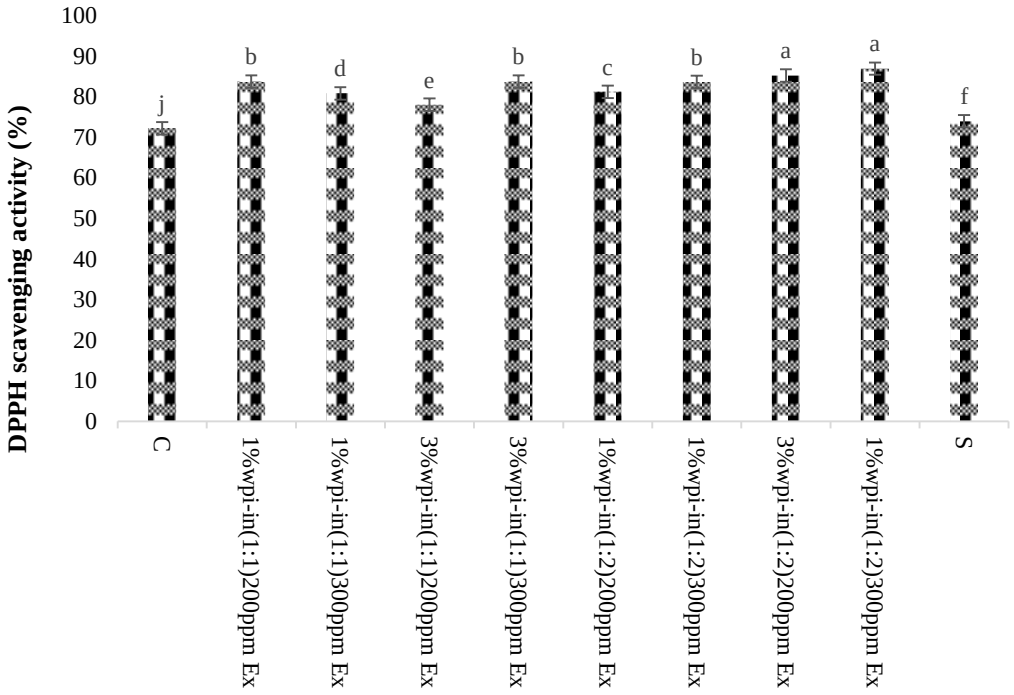


شکل (۴) اثر شرایط مختلف (تیمارها و درجه حرارت‌ها) بر میزان فلاونوئید کل سیب خشک

Fig 4. Effect of different pretreatment conditions and varying temperature on total flavonoids of samples

۵.۳. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH

شکل (۵) درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره تفاله سیب و کونژوگه پروتئین آب پنیر-اینولین میزان مهار رادیکال آزاد افزایش یافته است. نمونه‌های پوشش داده‌شده با غلظت ۱ و ۳ ٪ ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۲) حاوی ppm ۳۰۰ و ۲۰۰ عصاره تفاله سیب بیشترین و نمونه شاهد کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$). میزان مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. همچنین کونژوگه‌های میلارد می‌توانند با اهدای الکترون به رادیکال‌های DPPH به تشکیل مولکول پایدار کمک نمایند [۴۲]. به‌طورکلی یک همبستگی مثبت بین درجه گلیکاسیون و مهار رادیکال آزاد DPPH وجود دارد [۴۳]. این نتایج با پژوهش وانگ و همکاران (۲۰۱۵) و مصطفی و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت [۴۵،۴۴].

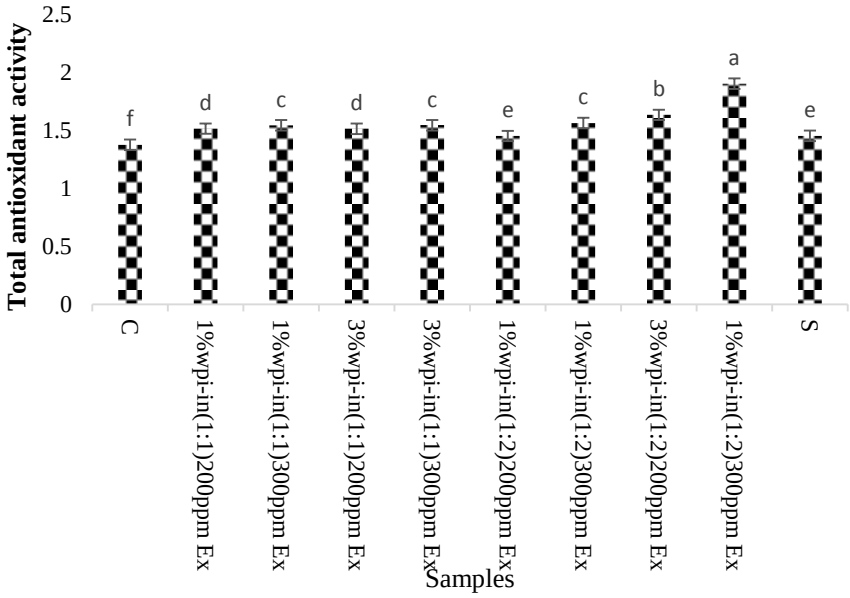


شکل (۵) میزان مهار رادیکال DPPH تیمارهای مختلف سیب خشک

Fig 5. DPPH radical scavenging activities of different treatments of samples

۶.۳. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش آنتی‌اکسیدانی کل

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در شکل (۶) نشان داده شده است. بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به نمونه‌های پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۲) حاوی ppm ۳۰۰ عصاره تفاله سیب می‌باشد ($p < ۰/۰۵$). در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برای نمونه کنترل ۰/۱۲ ± ۱/۳۷۴ و برای غلظت ۱٪ از کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر-اینولین (۲: ۱) - حاوی ppm ۳۰۰ عصاره سیب برابر با ۰/۰۸ ± ۱/۹۰۱ بود. با افزایش غلظت عصاره سیب قدرت احیاکنندگی مولیبدیوم بالاتر می‌رود که به‌علت حضور ترکیبات احیاکنندگی بیشتر می‌باشد. نتایج مشخص ساخت که افزودن عصاره سیب به‌وضوح بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوشش خوراکی تأثیرگذار است. افزودن عصاره به‌طور قابل توجهی محتوی فنول و فلاونوئیدهای کل نمونه‌ها را افزایش می‌دهد که باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه می‌شود. همچنین این عصاره می‌تواند در محافظت از ترکیبات فنولی نمونه در برابر اکسیداسیون و تقویت پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کمک نماید [۴۶]. محصولات واکنش میلارد نیز توانایی بسیار خوبی در چلات کنندگی فلزات، قدرت احیاکنندگی و مهار رادیکال آزاد دارند [۴۷]؛ اما افزایش غلظت کونژوگه‌ها تأثیر چشم‌گیری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌ها نشان ندارد و غلظت ۱٪ کونژوگه‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به غلظت ۳٪ نشان داد؛ بنابراین می‌توان از تیمار ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر - اینولین (۱:۲) حاوی ppm ۳۰۰ عصاره سیب برای ممانعت از اکسیداسیون سیب استفاده نمود.

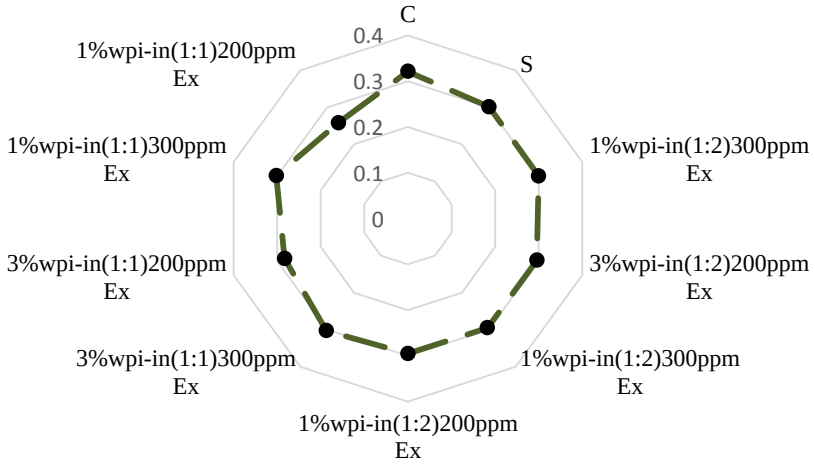


شکل (۶) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل تیمارهای مختلف سیب خشک

Fig 6. Total antioxidant capacity of different treatments of samples

۷.۳. فعالیت آبی

آب عامل اصلی کنترل رشد میکروبی، فساد آنزیمی و واکنش‌های شیمیایی است. میزان فعالیت آبی نمونه‌ها در محدوده ۰/۲۵۸ و ۰/۳۰۳ قرار داشت (شکل ۷). نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آبی نمونه‌های سیب خشک پوشش داده‌شده تحت اثر تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). در این محدوده فعالیت آنزیمی و رشد میکروارگانیسم‌ها حداقل است. محتوی آب مهم‌ترین عامل در کنترل فعالیت میکروارگانیسم‌ها، واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی می‌باشد. حداکثر قهوه‌ای‌شدن در فعالیت آبی بین ۰/۶ تا ۰/۷ صورت می‌گیرد، علت این پدیده تحرک کم سوبسترا و عدم توانایی آن در نفوذ به نقطه فعال آنزیم می‌باشد. کاهش سطح فعالیت آبی در نمونه‌ها برای تضمین پایداری و افزایش ماندگاری آنها مطلوب است.

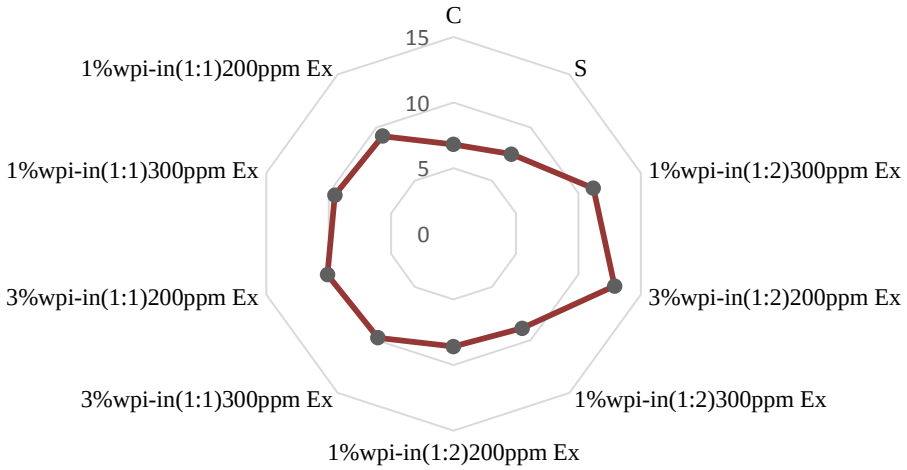


شکل (۷) فعالیت آبی نمونه‌های سیب خشک

Fig 7. Water activity of samples

۸.۳. مواد جامد محلول

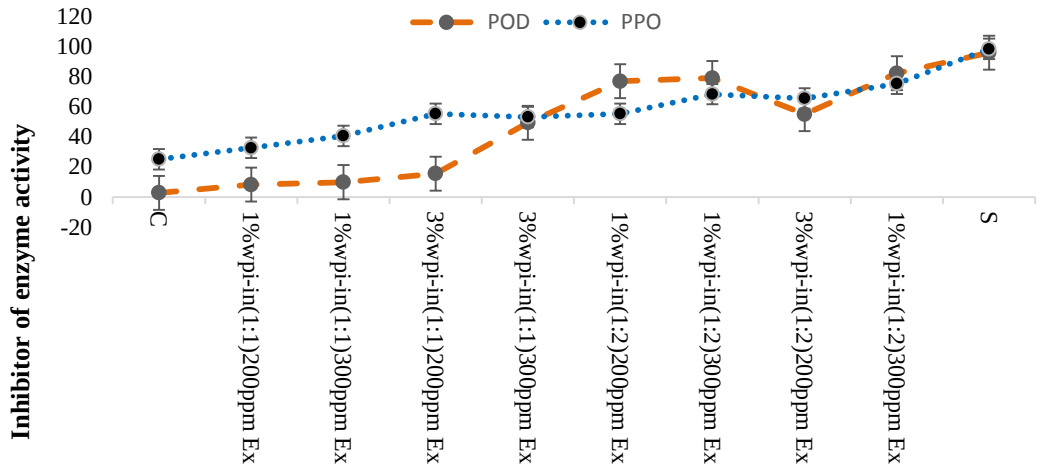
کاربرد پوشش حاوی عصاره تفاله سیب و کونژوگه پروتئین آب پنیر- اینولین در سیب خشک باعث افزایش میزان مواد جامد محلول این نمونه نسبت به نمونه شاهد گردید (شکل ۸). میزان مواد جامد نمونه‌های سیب در تیمارهای مختلف در محدوده بین ۶/۸ و ۱۲/۹ قرار گرفت. بابنات و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند، اضافه کردن ۲٪ عصاره‌ی پوست تمشک به پوره‌ی زردآلو، سیب و گلابی باعث افزایش میزان مواد جامد محلول از ۲۰/۵ به ۲۲ درجه بریکس در نمونه شاهد شد [۴۸]. بیشترین و کمترین میزان مواد جامد محلول به ترتیب مربوط به نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۳٪ ایزوله پروتئین آب پنیر– اینولین (۱:۲) حاوی ۲۰۰ ppm عصاره سیب و نمونه شاهد می‌باشد.



شکل (۸) تاثیر پوشش خوراکی بر میزان مواد جامد محلول سیب خشک
Fig 8. Effects of edible coatings on Total Soluble Solids of samples

۹.۳. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

پلی‌فنل‌اکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که منجر به قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود. قهوه‌ای شدن آنزیمی یک واکنش پیچیده‌ای است که به عواملی چون میزان پلی‌فنول‌ها، توزیع و فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و غلظت اکسیژن وابسته است. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در نمونه‌های سیب خشک پوشش داده‌شده مورد بررسی قرار گرفت، تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده شد ($P<0/05$) به‌طوری‌که درصد مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمارهای مختلف در محدوده بین ۲۵/۱۲ و ۹۸/۲۵ متفاوت بود. همان‌طورکه در شکل (۹) مشخص است، نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی سولفیت به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین درصد مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بودند. بعد از نمونه حاوی سولفیت، نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۳٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره تفاله سیب، دارای توانایی مناسبی جهت مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بود. ویلدان و همکاران (۲۰۲۰) مطالعه‌ای با هدف کاهش قهوه‌ای‌شدن میوه برش خورده با پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم، کربوکسی‌متیل سلولز و پروتئین آب پنیر در طی زمان ماندگاری انجام دادند. نتایج نشان داد این پوشش خوراکی می‌تواند به‌عنوان جایگزین سولفیت برای کاهش قهوه‌ای‌شدن برخی از محصولات استفاده شوند [۴۹].



شکل (۹) تاثیر پوشش خوراکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز

Fig 9. Effects of edible coatings on PPO and POD activity of samples

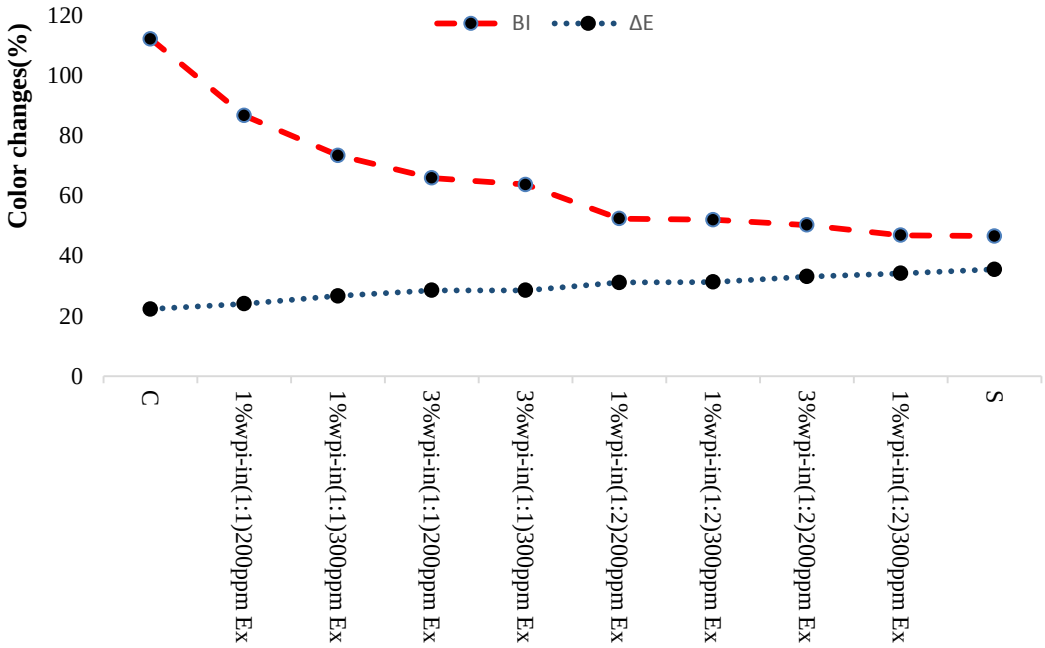
۱۰.۳. فعالیت آنزیم پراکسیداز

کنترل فعالیت آنزیم پراکسیداز در فرآوری و تبدیل موادغذایی مهم است، آنزیم پراکسیداز به همراه آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز در قهوه‌ای‌شدن بافت میوه دخالت دارند [۴۹]. ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در نمونه‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل۹). درصد مهار آنزیم پراکسیداز در تیمارهای مختلف در محدوده بین ۲/۸۱ و ۹۵/۷۷ متفاوت بود. نتایج مشخص ساخت که نمونه شاهد دارای کمترین و نمونه‌های حاوی سولفیت دارای بیشترین میزان مهار فعالیت آنزیم پرکسیداز می‌باشند. نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب، به‌طور قابل توجهی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تأثیرگذار بود. به‌طورکلی پوشش خوراکی حاصل از کونژوگه-های ایزوله پروتئین آب پنیر- اینولین باعث کاهش قهوه‌ای شدن نمونه‌ها در مقایسه با شاهد گردید که احتمالاً به‌دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از نفوذ اکسیژن به بافت سیب می‌باشد [۴۹]؛ بنابراین در نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر – اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب، فعالیت پایین آنزیم پراکسیداز می‌تواند بیان‌کننده‌ی تأثیر این تیمار در به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش تنش اکسیداتیو باشد.

۱۱.۳. رنگ

انتخاب شرایط مناسب فرآوری برای دستیابی به کیفیت و حفظ رنگ مطلوب محصول بسیار مهم است. با افزودن پوشش خوراکی در تمام تیمارها میزان روشنایی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و سبب کاهش قهوه‌ای‌شدن محصول گردید. درواقع کاهش قهوه‌ای‌شدن نمونه‌های سیب طی فرآیند، با افزایش مقادیر ΔE و کاهش مقادیر BI همراه بود (شکل ۱۰). پریز-گاگو و همکاران (۲۰۰۶)، تأثیر پروتئین آب پنیر و موم زنبورعسل را بر رنگ ورقه‌های سیب خشک بررسی کردند. نتایج نشان داد پوشش خوراکی باعث کاهش قهوه‌ای شدن تکه‌های سیب در مقایسه با شاهد گردید که احتمالاً به‌دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی پوشش خوراکی می‌باشد [۱۲]. زمان، دما و روش خشک‌کردن نقش مهمی در رنگ نمونه دارد. با افزایش غلظت کونژوگه پروتئین آب پنیر-اینولین و عصاره سیب میزان روشنایی افزایش یافت. همچنین در کونژوگه پروتئین-اینولین با افزایش میزان اینولین قهوه‌ای‌شدن بافت سیب خشک کاهش پیدا کرد، به-طوری که نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر– اینولین (۱:۲) محتوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب، نسبت به نمونه حاوی سولفیت از نظر شاخص روشنایی و قهوه‌ای‌شدن بافت تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p < ۰/۰۵$).

آلوز و همکاران (۲۰۱۷)، اثر مثبت اسید فرولیک را بر عملکرد پوشش‌های خوراکی پروتئین سویا در به تأخیر انداختن قهوه‌ای شدن آنزیمی سیب بریده گزارش کرده‌اند [۱۴]. شارما و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دادند که پوشش خوراکی باعث کاهش قابل توجهی در شاخص قهوه‌ای‌شدن (BI) و افزایش مقدار روشنایی (L^*) گلابی تازه بریده‌شده گردید [۳۷].

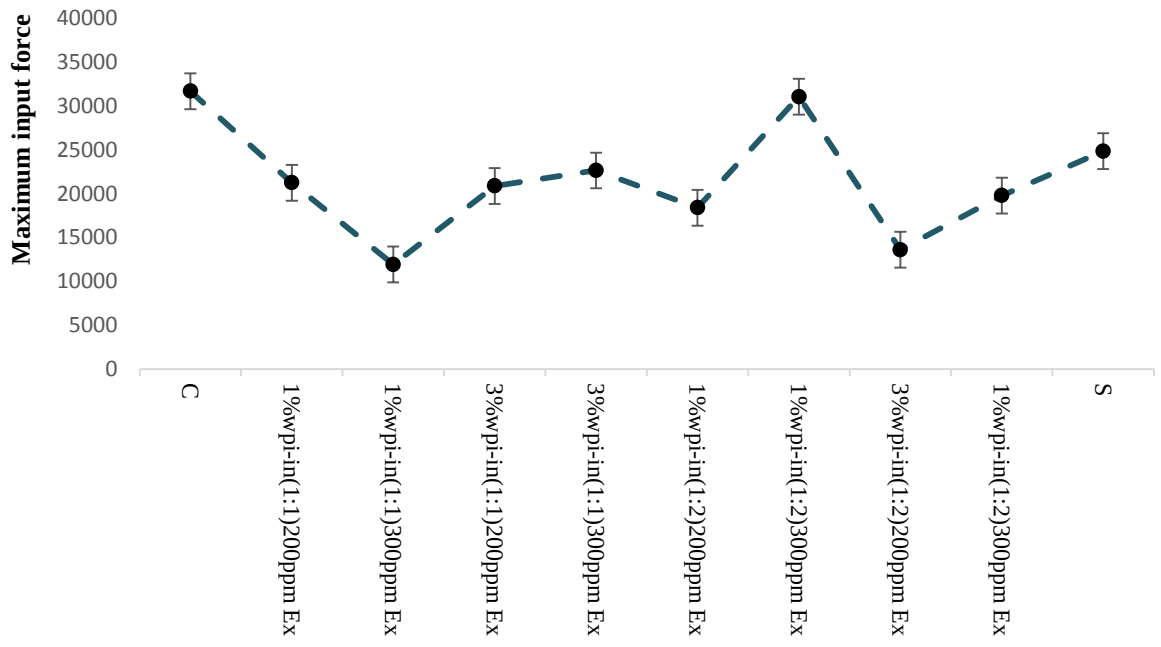


شکل (۱۰) شاخص‌های رنگی سیب در طی خشک شدن

Fig 10. Color indexes of apple during drying

۱۲.۳. ارزیابی بافت

بافت میوه به‌طور زیادی تحت تأثیر آناتومی فیزیکی آن به‌ویژه اندازه و شکل سلول، ترکیب دیواره سلولی، قدرت و ضخامت دیواره‌ی سلولی و نیز وضعیت اتصال سلول به سلول مجاور همراه با وضعیت اتساع غشای پروتوپلاسم گیاهی قرار دارد [۵۰]. نتایج مشخص ساخت که بافت سیب خشک به میزان قابل توجهی تحت تأثیر رطوبت نمونه قرار دارد (شکل ۱۱). بیشترین و کمترین بیشینه نیروی وارده بر محصول به ترتیب مربوط به نمونه شاهد (۳۱۷۰۰/۷۱ N) و نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۱) حاوی ۳۰۰ppm عصاره تفاله سیب (۱۱۹۳۴/۴۶ N) بود. به‌نظر می‌رسد برهمکنش ترکیبات غذا به‌ویژه پروتئین-پروتئین، پروتئین-پلی ساکارید، پروتئین-فنول و پروتئین-آب ممکن است در حفظ ویژگی‌های بافتی نمونه‌ها نقش داشته باشد [۵۰]. علت سفت‌ترشدن بافت نمونه شاهد می‌تواند به‌دلیل از دست دادن آب بافت سیب باشد که منجر به پدیده سفت‌شدن می‌گردد. همچنین در نمونه بدون پوشش به‌دلیل چروکیدگی بیشتر و دانسیته بالاتر، سفتی بافت افزایش می‌یابد. دجکیک و همکاران (۲۰۱۸) تائید کردند که کاهش محتوی رطوبت طی خشک‌شدن بر خواص مکانیکی سیب خشک تأثیر می‌گذارد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد [۲۷].

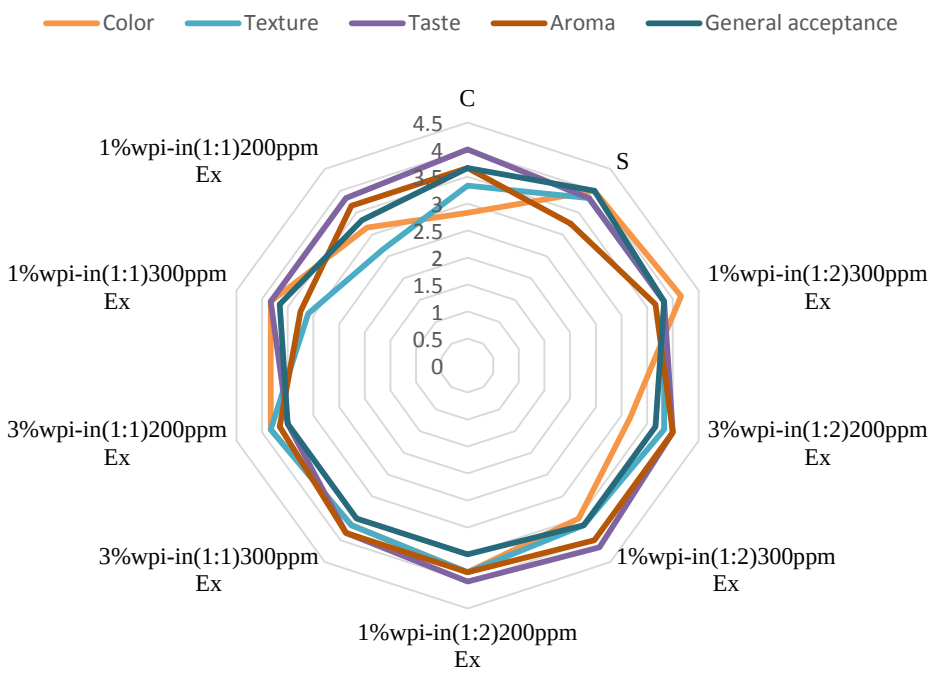


شکل (۱۱) سنجش بافت نمونه‌ها

Fig 11. Texture analysis of samples

۱۳.۳. ارزیابی حسی

در شکل (۱۲) نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های سیب خشک پوشش داده‌شده، مشخص است. برای تعیین بهترین تیمار از نظر مصرف‌کنندگان ضروری است تا ارزیابی حسی انجام شود تا بتوان میزان مناسبی از پوشش خوراکی را به‌منظور جایگزینی با سولفیت ارائه داد. در ارزیابی حسی پارامترهای رنگ، بافت، طعم، بو و پذیرش کلی قطعات سیب ارزیابی شدند. غلظت عصاره سیب و غلظت کونژوگه پروتئین آب پنیر- اینولین تأثیر معنی‌داری در میزان شاخص‌های حسی تیمارهای مورد بررسی و نمونه شاهد داشت ($P<0/05$). نتایج ارزیابی‌ها نشان داد که بالاترین امتیاز از لحاظ رنگ، عطر و طعم به نمونه پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ ایزوله پروتئین آب پنیر– اینولین (۱:۲) حاوی ۳۰۰ ppm عصاره سیب تعلق گرفت. این غلظت تأثیر منفی بر ویژگی‌های حسی از جمله طعم و مزه نمونه‌های سیب خشک نداشت. درنهایت از لحاظ پذیرش کلی نیز این نمونه به همراه نمونه حاوی سولفیت به‌عنوان بهترین تیمارها انتخاب شدند. بنابراین می‌توان از این تیمار به‌عنوان پوششی مناسب و جایگزین سولفیت برای سیب استفاده کرد بدون اینکه تأثیر منفی بر کیفیت حسی محصول داشته باشد.



شکل (۱۲) تاثیر پوشش‌های خوراکی بر پارامترهای حسی ورقه‌های‌های سیب

Fig 12. Effects of edible coatings on Sensory Evaluation of samples

۴. نتیجه‌گیری

امروزه بررسی جنبه‌های تکنولوژیکی و تغذیه‌ای موادغذایی توجه اکثر محققان حوزه صنایع غذایی را به خود جلب کرده است، بنابراین انتظار می‌رود محصولات تولیدی علاوه‌بر داشتن شاخص‌های بالای فناوری، دارای ارزش غذایی بالایی نیز باشند. در مجموع با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که امکان افزایش ترکیبات سلامتی‌بخش تغذیه‌ای، کاهش افزودنی‌های مضر و غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی با پسماند کارخانه‌های فراوری موادغذایی امکان‌پذیر می‌باشد. سیب خشک جز تنقلات محبوب کودکان و بزرگسالان محسوب می‌گردد و افزایش سطح ایمنی غذایی در آن بسیار اهمیت دارد. نتایج این پژوهش مشخص ساخت که نمونه‌های پوشش داده‌شده با غلظت ۱٪ کونژوگه ایزوله پروتئین آب پنیر–اینولین (۱:۲) حاوی ppm ۳۰۰ عصاره تفاله سیب، حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها بود، به‌طوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد، همچنین در مهار اکسیداسیون و کاهش کیفیت سیب خشک‌شده عملکرد بهتری نشان داد و در ارزیابی حسی نیز این نمونه امتیازات بیشتری کسب نمود. لذا استفاده از آن جهت جایگزینی با ترکیبات سولفیتی مورد مصرف جهت خشک نمودن محصولاتی مانند سیب توصیه می‌گردد.

منابع

[1] Gao, K., Zhou, L., Bi, J., Yi, J., Wu, X., & Xiao, M. (2017). Research on the nonenzymatic browning reactions in model systems based on apple slices dried by instant controlled pressure drop drying. *Dry. Technol.*, *35*, 1302-1311.

[2] Tepe, T. K., & Tepe, B. (2020). The comparison of drying and rehydration characteristics of

intermittent-microwave and hot-air dried-apple slices. *Heat Mass Transfer., 56*, 3047-3057.

[3] Deng, L. Z., Mujumdar, A. S., Zhang, Q., Yang, X. H., Wang, J., Zheng, Z. A., & Xiao, H. W. (2019). Chemical and physical pretreatments of fruits and vegetables: Effects on drying characteristics and quality attributes–a comprehensive review. *Crit Rev Food Sci., 59*, 1408-1432.

[4] Bai, X., Xiao, Q., Zhou, L., Tang, Y., & He, Y. (2020). Detection of sulfite dioxide residue on the surface of fresh cut potato slices using near-infrared hyperspectral imaging system and portable near-infrared spectrometer. *Molecules., 25*, 1651.

[5] Basiri, S. (2014).The effect of pomegranate peel extract on inhibition of polyphenol oxidase and quality of pacific white shrimp (*litopeneous vannamei*) during refrigerated storage. PhD thesis. *Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources*. [In Persian].

[6] Moon, K. M., Lee, B., Cho, W. K., Lee, B. S., Kim, C. Y., & Ma, J. Y. (2018). Swertiajaponin as an anti-browning and antioxidant flavonoid. *Food chem., 252*, 207-214.

[7] Mulcahy, E.M., Fargier-Lagrange, M., Mulvihill, D.M., & O'Mahony, J.A. (2017). Characterisation of heat-induced protein aggregation in whey protein isolate and the influence of aggregation on the availability of amino groups as measured by the ortho-phthaldialdehyde (OPA) and trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) methods. *Food Chem.*, 229, 66-74.

[8] De Oliveira, F.C., Coimbra, J.S.D., De Oliveira, E.B., Zuniga, A.D.G., & Rojas, E.E.G. (2016). Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the maillard reaction: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 56, 1108-1125.

[9] Muley, A. B., & Singhal, R. S. (2020). Extension of postharvest shelf life of strawberries (Fragaria ananassa) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chem., 329*, 127213.

[10] Brito Nogueira, T. B., Silva, T. P., Araújo Luiz, D., Andrade. C. J., Andrade, L. M. Ferreira, M. S., & Cavalcante Fai, A. E. (2020). Fruits and vegetable-processing waste. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27, 18530–18540.

[11] Kuijpers, T. F., van Herk, T., Vincken, J. P., Janssen, R. H., Narh, D. L., van Berkel, W. J., & Gruppen, H. (2014). Potato and mushroom polyphenol oxidase activities are differently modulated by natural plant extracts. *J. Agric. Food Chem., 62*, 214-221.

[12] Perez-Gago, M. B., Serra, M., & Del Rio, M. A. (2006). Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biol. Technol.*, 39, 84-92.

[13] Sukhonthara, S., Kaewka, K., & Theerakulkait, C. (2016). Inhibitory effect of rice bran extracts and its phenolic compounds on polyphenol oxidase activity and browning in potato and apple puree. *Food chem., 190*, 922-927.

[14] Alves, M. M., Gonçalves, M. P., & Rocha, C. M. (2017). Effect of ferulic acid on the performance of soy protein isolate-based edible coatings applied to fresh-cut apples. *LWT.*, 80, 409-415.

[15] Schmidt, U. S., Pietsch, V. L., Rentschler, C., Kurz, T., Endreß, H. U., & Schuchmann, H. P. (2016). Influence of the degree of esterification on the emulsifying performance of conjugates formed between whey protein isolate and citrus pectin. *Food Hydrocoll.*, 56, 1-8.

[16] Akbari, E., Gholami, M., & Ghobadi, S. (2019). Effect of Pomegranate, Grape and Kiwifruit Juice and Extract on Postharvest Quality of Intact Pear Fruits. *JCPP.*, 9, 139-153.

[17] Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, 227, 680.

[18] Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., & Jasniewski, J. (2018). Structural properties of canola protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system. *Food Hydrocoll.*, 79, 228-234.

[19] Mohammadi, A., & Arabshahi, S. (2016). Evaluation of active components and antioxidant activity of essential oil of Boswellia serrata. *Food Sci. Technol.*, 14, 107-117.

[20] Šamec, D., Piljac-Žegarac, J., Bogović, M., Habjanič, K., & Grúz, J. (2011). Antioxidant potency of white (Brassica oleracea L. var. capitata) and Chinese (Brassica rapa L. var. pekinensis (Lour.)) cabbage: The influence of development stage, cultivar choice and seed selection. *Sci. Hortic., 128*, 78-83.

[21] Wu, H-C., Chen, H-M., & Shiau, C-Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomber austriasicus). *Int. Food Res. J.*, 36, 949-57.

[22] Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem .*, 269, 337-41.

[23] Sariciban, C., & Yilmaz, T.M. (2010). Modelling the effect of procesing factors on the changes on Cokorparameters of cooked meatballs using response surface methodogy. *World Appl. Sci. J.*, 9, 14-22.

[24] Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elias, L. G. (1989). *Basic sensory methods for food evaluation*. IDRC, Ottawa, ON, CA.

[25] Chance, B., & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol.*, 2,764-775.

[26] Yingsanga, P., Srilaong, V., Kanlayanarat, S., Noichinda, S., & McGlasson, W. B. (2008). Relationship between browning and related enzymes (PAL, PPO and POD) in rambutan fruit (Nephelium lappaceum Linn.) cvs. Rongrien and See-Chompoo. *Postharvest Biol. Technol.*, 50, 164-168.

[27] Djekic, I., Tomic, N., Bourdoux, S., Spilimbergo, S., Smigic, N., Udovicki, B., Hofland, G., Devlieghere, F., & Rajkovic, A. (2018). Comparison of three types of drying (supercritical CO2, air and freeze) on the quality of dried apple–Quality index approach. *LWT.*, 94, 64-72.

[28] ISTISAN (1996). Metodi di analisi utilizzati per il controllo chimico degli alimenti, 265. ISTISAN 96/34.

[29] Velickova, E., Winkelhausen., E., Kuzmanova, S., Alves, V.D., & Moldao-Martins, M. (2013). Impact of chitosan-bees wax edible coatings on the quality of fresh strawberries (Fragaria ananassa cv. Camarosa) under commercial storage conditions. *Food Sci. Technol.*, 52, 80- 92.

[30] Sadeghi, S., Madadlou, A., & Yarmand, M. (2014). Microemulsification–cold gelation of whey proteins for nanoencapsulation of date palm pit extract. *Food Hydrocoll.*, 35, 590-596.

[31] Zhu, X., Jia, C., Meng, X., Xing, M., Yi, Y., & Gao, X. (2018). Synthesis, characterization of inulin propionate ester, and evaluation of its in vitro effect on SCFA production. *Starch-Stärke.*, 70, 1800037.

[32] Dong, X., Du, S., Deng, Q., Tang, H., Yang, C., Wei, F., Chen, H., Quek, S. Y., Zhou, A., & Liu, L. (2020). Study on the antioxidant activity and emulsifying properties of flaxseed gum-whey protein isolate conjugates prepared by Maillard reaction. *Int. J. Biol. Macromol.*, 153, 1157-1164.

[33] Martins, J. T., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Souza, B. W., & Vicente, A. A. (2012). Synergistic effects between κ-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. *Food Hydrocoll.*, 29, 280-289.

[34] Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., Shakeel, A., Ansari, A., & Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydr. Polym.*, 147, 444-454.

[35] Bryant, C. M., & McClements, D. J. (2000). Influence of sucrose on NaCl-induced gelation of heat denatured whey protein solutions. *Int. Food Res. J.*, 33, 649-653.

[36] Li, X., Wu, X., Bi, J., Liu, X., Li, X., & Guo, C. (2019). Polyphenols accumulation effects on surface color variation in apple slices hot air drying process. *LWT.*, 108, 421-428.

[37] Sharma, S., & Rao, T. R. (2015). Xanthan gum based edible coating enriched with cinnamic acid prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut pears. *LWT.*, 62, 791-800.

[38] Tantratian, S., Balmuang, N., & Krusong, W. (2019). Phenolic enrichment of Ma-Kieng seed extract using absorbent and this enriched extract application for safety control of fresh-cut cantaloupe. *LWT.*, *106*, 105-112.

[39] Kou, X., Li, Y., Wu, J., Chen, Q., & Xue, Z. (2017). Effects of edible coatings on quality and antioxidant activity of Zizyphus Jujuba Miller cv. Dongzao during storage. Transactions of Tianjin University, *23*, 51-61.

[40] Tao, Y., Zhang, J., Jiang, S., Xu, Y., Show, P.L., Han, Y., Ye, X. & Ye, M. (2018). Contacting ultrasound enhanced hot-air convective drying of garlic slices: Mass transfer modeling and quality evaluation. *J. Food Eng.*, 235, 79-88.

[41] Moon, K. M., Lee, B., Cho, W. K., Lee, B. S., Kim, C. Y., & Ma, J. Y. (2018). Swertiajaponin as an anti-browning and antioxidant flavonoid. *Food chem.*, *252*, 207-214.

[42] Kim, J. S., & Lee, Y. S. (2009). Study of Maillard reaction products derived from aqueous model systems with different peptide chain lengths. *Food Chem.*,116,846–853.

[43] Lertittikul, W., Benjakul, S., & Tanaka, M. (2007). Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein–glucose model system as influenced by pH. *Food Chem*., 100: 669-677.

[44] Wang, D., Dai, J., Ju, H., Xie, L., Xiao, H., Liu, Y., & Gao, Z. (2015). Drying kinetics of American ginseng slices in thin-layer air impingement dryer. *Int. J. Food Eng.*, 11, 701–771.

[45] Mustapha, A. T., Zhou, C., Sun, Y., Wahia, H., Sarpong, F., Owusu- Ansah, P., & Ma, H. (2019). Simultaneous multifrequency: A possible alternative to improve the efficacy of ultrasound treatment on cherry tomato during storage. *J. Food Process. Preserv.*, 43, 1–16.

[46] Tinello, F., Mihaylova, D., & Lante, A. (2018). Effect of dipping pre-treatment with unripe grape juice on dried “Golden Delicious” apple slices. *Food Bioproc Tech.*, 11, 2275-2285.

[47] Jiang, Z., & Brodkorb, A. (2012). Structure and antioxidant activity of Maillard reaction products

from α-lactalbumin and β-lactoglobulin with ribose in an aqueous model system. *Food Chem.*,133,960-968.

[48] Bobinaitė, R., Viskelis, P., Bobinas, Č., Mieželienė, A., Alenčikienė, G., & Venskutonis, P. R. (2016). Raspberry marc extracts increase antioxidative potential, ellagic acid, ellagitannin and anthocyanin concentrations in fruit purees. *LWT.,* 66, 460-467.

[49] Vildan, E., İsmail, T., & Selman, T. (2020). The effect of edible coatings on physical and chemical characteristics of fruit bars. *J. Food Meas. Charact.,* 14, 1775-1783.

[50] Chaijan, S., Panpipat, W., Panya, A., Cheong, L. Z., & Chaijan, M. (2020). Preservation of chilled Asian sea bass (Lates calcarifer) steak by whey protein isolate coating containing polyphenol extract from ginger, lemongrass, or green tea. *Food Control.,* 118, 107400.