



## تأثیر شدت قهوه‌ای شدن بر ویژگی‌های بین‌سطحی کانژوگه صمغ ژلان - پروتئین سویا حاصل از

### واکنش مایلارد

یاسمن لوائی<sup>۱</sup>، مهدی وریدی<sup>۲\*</sup>، مجید نوش‌کام<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳- پژوهشگر پسادکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

#### اطلاعات مقاله

#### چکیده

##### تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۳

##### کلمات کلیدی:

فعالیت بین‌سطحی،

پروتئین سویا،

صمغ ژلان،

کانژوگه مایلارد،

شدت قهوه‌ای شدن.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.1

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.6.3

\* مسئول مکاتبات:

m.varidi@um.ac.ir

هدف از این پژوهش بررسی تأثیر شدت قهوه‌ای شدن واکنش مایلارد بر ویژگی‌های بین‌سطحی سامانه‌های امولسیون‌ی تثبیت شده با ایزوله پروتئین سویا بود. برقراری اتصال کووالانسی بین ایزوله پروتئین سویا و صمغ ژلان از طریق شدت قهوه‌ای شدن تأیید و سپس کانژوگه‌های پروتئین-پلی‌ساکارید حاصل با استفاده از روش خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی تجمیعی وارد به سه خوشه با شدت قهوه‌ای شدن بالا، متوسط و پایین طبقه‌بندی شدند. در ادامه، ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (ظرفیت امولسیفایری، پایداری امولسیون و درصد پروتئین جذب شده)، پایداری حرارتی و رفتار رئولوژیکی سامانه‌های امولسیون‌ی تثبیت شده با خوشه‌های فوق‌مورد ارزیابی قرار گرفت. ظرفیت امولسیفایری و پایداری امولسیون‌های روغن در آب، به طور مؤثرتری توسط کانژوگه ایزوله پروتئین سویا-صمغ ژلان با شدت قهوه‌ای شدن بالا افزایش یافت که بیانگر نرخ مهاجرت و جذب سریع‌تر و متعاقباً درصد پروتئین جذب شده بالاتر این کانژوگه به فصل مشترک و همچنین تشکیل لایه ضخیم، پیوسته و ویسکوالاستیک همراه با ممانعت فضایی بالاتر در فضای بین‌سطحی آن بود. علاوه بر آن ویسکوزیته ظاهری امولسیون‌ها در حضور کانژوگه با شدت قهوه‌ای شدن بالاتر، به طور معنی‌داری بیشتر از سامانه‌های پایدار شده با سایر کانژوگه‌ها بود. اگر چه؛ پایداری حرارتی امولسیون حاوی کانژوگه با شدت قهوه‌ای شدن بالا در مقایسه با همتایان دیگر کمتر بود. بنابراین واکنش مایلارد در شرایط ملایم و کنترل شده با حداقل تشکیل ترکیبات نهایی می‌تواند منجر به بهبود ویژگی‌های بین‌سطحی پروتئین سویا به منظور بهبود کاربرد آن در صنعت مواد غذایی گردد.

## ۱- مقدمه

واکنش مایلارد<sup>۱</sup> (که همچنین کانزوگاسیون مایلارد<sup>۲</sup> یا گلاپیکه شدن<sup>۳</sup> نیز نامیده می‌شود)، واکنشی تراکمی<sup>۴</sup> بین کربن الکتروفیل گروه کربونیل قند احیا کننده و گروه اسیلن آمینو لیزین، و یا به میزان کمتر، گروه آلفا آمینو بخش N-ترمینال زنجیره پپتیدی و یا گروه‌های ایمیدازول، ایندول و گوانیدین اسیدهای آمینه هیستیدین، تریپتوفان و آرژنین می‌باشد [۱]. در سال‌های اخیر واکنش مایلارد توجه زیادی را به عنوان یک روش ساده، طبیعی و غیر سمی برای تبدیل پروتئین‌ها به اشکال پایدارتر و به نوبه خود، برای بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی آن‌ها، مانند فعالیت امولسیون کنندگی [۲]، پایداری امولسیون [۳]، پایداری حرارتی [۴] و حلالیت [۵] دریافت کرده است. نکته قابل توجه در این روش این امر می‌باشد که محصولات واکنش مایلارد<sup>۵</sup> بر اساس مرحله واکنشی که در آن شکل می‌گیرند، می‌توانند برای ویژگی‌های مختلف غذایی سودمند و یا مضر باشند [۶]. بهبود خواص تکنولوژیکی-عملکردی پروتئین‌ها طی مرحله اولیه واکنش مایلارد و تحت شرایط ملایم و کنترل شده انجام می‌گردد [۶-۷]. تنظیم و برقراری این شرایط پژوهشگران را با چالش‌های جدی رو به رو کرده است. پیشرفت گسترده واکنش مایلارد علاوه بر پلیمریزاسیون پروتئین‌ها و متعاقباً اثرات سوء بر ویژگی‌های عملکردی منجر به تغییرات رنگ بیش از حد و همچنین تشکیل ترکیبات نهایی نامشخص و مضر نیز می‌گردد که می‌تواند بیماری‌هایی نظیر نارسایی مزمن کلیه، دیابت و آلزایمر را در پی داشته باشد [۸، ۱۰-۱۱]. بنابراین کنترل واکنش مایلارد در مراحل ابتدایی واکنش به منظور جلوگیری از پیامدهای نامطلوب آن ضروری به نظر می‌رسد [۱، ۱۱].

در سال‌های اخیر با افزایش تمایل مصرف‌کنندگان به سمت مواد غذایی طبیعی‌تر، امولسیون‌های روغن در آب پایدار شده با بیوپلیمرهایی نظیر پروتئین‌ها به طور گسترده‌تری در صنعت غذا به کار گرفته شده‌اند [۱۲]. فعالیت امولسیفایری پروتئین‌ها به دلیل ارزش غذایی بالاتر، سمیت کمتر، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، عملکرد تکنولوژیکی و ویژگی‌های

بیولوژیکی متنوع نسبت به سورفاکتانت‌ها و پلیمرهای مصنوعی دارای برتری می‌باشد [۱۳-۱۴]. از طرفی افزایش فزاینده جمعیت همراه با رشد اندک منابع حیوانی که نتیجه‌ی مستقیم آن برهم خوردن توازن نظام عرضه و تقاضا می‌باشد مشکلات جدی نظیر کمبود پروتئین‌های حیوانی و به تبع آن افزایش قیمت را در پی داشته است [۱۵-۱۶]. بهترین راهکار جهت جبران این کمبود استفاده از گیاهان به عنوان منبع تأمین پروتئین می‌باشد که منجر به کاهش چالش‌هایی نظیر مشکلات زیست محیطی (تولید کمتر گازهای گلخانه‌ای)، مصرف انرژی و آب نیز در عصر حاضر می‌گردد [۱۷].

از مهم‌ترین منابع گیاهی این جایگزینی می‌توان به گلیسین ماکس<sup>۶</sup> - گیاه سویا- اشاره کرد که گیاهی روغنی از خانواده لگومینوزه<sup>۷</sup> می‌باشد [۱۸]. مهم‌ترین پروتئین تجاری، پروتئین دانه سویا می‌باشد [۱]. این پروتئین با قوی‌ترین ویژگی امولسیون کنندگی نسبت به سایر پروتئین‌های گیاهی [۱۹] به علت ارزش تغذیه‌ای بالا، در دسترس بودن، قیمت پایین، خواص عملکردی مطلوب، و همچنین اثرات سلامتی بخش مانند جلوگیری از سرطان و افزایش فشار خون همواره مورد توجه صنعت گران غذا بوده است [۱۸]. بتا-کانگلاسینین (βS) و گلیسینین (βS) دو جزء اصلی تشکیل دهنده پروتئین سویا هستند که بیش از ۷۰ درصد محتوای کل پروتئینی دانه سویا را شامل می‌شوند [۲۰]. حلالیت ضعیف به ویژه در pH=4-6 [۲۱] و ساختار کروی و فشرده پروتئین‌های سویا به دلیل پایداری کنفورماسیونی ناشی از پیوندهای دی‌سولفیدی و هیدروژنی همراه با انعطاف‌پذیری مولکولی پایین، ویژگی‌های بین‌سطحی و امولسیون‌کنندگی آن‌ها را تحت تأثیر قرار داده است که منجر به بروز خواص عملکردی ضعیف آن در مقایسه با پروتئین‌های نسبتاً انعطاف‌پذیر مانند کازئین می‌شود [۲۲]. به طور کلی پروتئین‌ها از طریق اثر هیدروفوبی به فضای بین‌سطحی مهاجرت کرده و با کاهش کشش سطحی بین ذرات آب و روغن و متعاقباً تشکیل لایه سطحی ویسکوز و پیوسته سبب تشکیل امولسیون می‌گردند، اما چون عامل پایداری سیستم عمدتاً دافعه الکترواستاتیکی می‌باشد که حساس به فاکتورهای محیطی (مانند pH، قدرت یونی و حرارت) است، بنابراین وابستگی به شرایط محیطی به عنوان عامل محدودکننده به

1. Maillard reaction
2. Maillard conjugation
3. Glycation
4. Condensation reaction
5. Maillard reaction products (MRPs)

6. Glycine max  
7. Leguminosae

تشکیل و پایداری سامانه‌های امولسیون روغن در آب پایدار شده با پروتئین‌ها به کار رود.

این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های امولسیون کنندگی، پایداری حرارتی و رفتار رئولوژیکی سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانژوگه‌های پروتئین سویا-صمغ ژلان در مقایسه با آنهایی که با پروتئین طبیعی تثبیت شده بودند، انجام شد. بدین منظور پس از تأیید واکنش مایلارد، ابتدا کانژوگه‌ها از نقطه نظر شدت قهوه‌ای شدن با یکدیگر مقایسه و سپس به سه خوشه با شدت قهوه‌ای شدن بالا، متوسط و پایین طبقه‌بندی و نهایتاً ویژگی‌های مذکور سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با سه خوشه فوق با یکدیگر مقایسه گردید. در این پژوهش به منظور کاهش مدت زمان گرمایش و حذف مرحله لیوفیلیزاسیون، بدون نیاز به کنترل رطوبت، واکنش مایلارد تحت شرایط مرطوب صورت پذیرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

ایزوله پروتئین سویا<sup>۳</sup> (SPI) با محتوای پروتئین ۹۰ درصد (بر پایه وزن خشک) از برند یوانگ<sup>۴</sup> چین، LAGG حاوی حداقل ۸۵ درصد ژلان از شرکت آمستل<sup>۵</sup> هلند و روغن آفتابگردان از برند اوایلا و از فروشگاه‌های محلی خریداری گردید. سولفات مس ۵ آبه، پتاسیم سدیم تارتارات، سدیم هیدروکسید، دی سدیم هیدروژن فسفات ۷ آبه، سدیم دی هیدروژن فسفات تک آبه، سدیم دودسیل سولفات و سدیم آزید از شرکت مرک آلمان<sup>۶</sup> و یا سیگما آمریکا<sup>۷</sup> تهیه شدند.

### ۲-۲- تهیه کانژوگه پروتئین سویا-صمغ ژلان

برای این منظور، SPI (۰/۱ درصد وزنی/حجمی) و LAGG (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد وزنی/حجمی) در محلول بافر فسفات سدیم (۱۰ میلی‌مولار، pH برابر ۷) پراکنده و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق توسط همزن مغناطیسی (۱۰۰۰ دور در دقیقه) همزده شدند. به منظور جلوگیری از رشد میکروبی سدیم آزید (۵۰ پی پی ام) به محلول اضافه گردید. محلول بیوپلیمری پس از آبیوشانی کامل (۱۲ ساعت، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)،

خصوص در ایفای نقش امولسیفایری پروتئین‌ها عمل می‌کند [۲۳-۲۴]. این محدودیت‌ها مانع عملکرد تکنولوژیکی و کاربردهای صنعتی ایده‌آل پروتئین سویا می‌گردند و اهمیت اصلاح آن را تأیید می‌کنند. همانطور که پیش‌تر ذکر شد یکی از روش‌های غلبه بر این محدودیت‌ها اصلاح غیر آنزیمی پروتئین‌ها از طریق کانژوگاسیون مایلارد تحت شرایط کنترل شده می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد پایداری فیزیکی و شیمیایی امولسیون‌های روغن در آب با استفاده از گلایکاسیون پروتئین‌ها با کربوهیدرات‌ها در غالب موارد با موفقیت بهبود پیدا کرده است [۱۲]. نیمه پروتئینی کانژوگه جذب سریع خود را به سطح قطرات روغن فراهم می‌کند و جزء پلی‌ساکاریدی از درهم آمیختگی و بهم پیوستگی ذرات روغن از طریق دافعه استریکی و گاهی دافعه الکترواستاتیکی جلوگیری می‌کند [۲۵]. در این پژوهش از صمغ ژلان کم آسیل<sup>۱</sup> (LAGG) به منظور گلایکاسیون پروتئین سویا استفاده شده است.

صمغ ژلان از تخمیر هوازی باکتری *اسفینگوموناس الودا*<sup>۲</sup> به دست می‌آید [۲۶]. مونوساکاریدهای  $\beta$  - D - گلوکز،  $\beta$  - D - گلوکورونیک اسید و  $\alpha$  - L - رامنوز با نسبت مولکولی ۱:۱:۲ توالی تکرار شونده ساختار خطی این صمغ آنیونی می‌باشند [۲۷]. قدرت احیاکنندگی ضعیف‌تر و ممانعت فضایی قوی‌تر این آگروپلی‌ساکارید میکروبی در مقایسه با مونو و دی ساکاریدها می‌تواند منجر به کنترل بهتر توسعه واکنش مایلارد گردد که در راستای اهداف ذکر شده در بالا می‌باشد [۸-۹]. علاوه بر آن ژلان یک پلی‌ساکارید غیر سمی، زیست تخریب پذیر و زیست سازگار با رفتار شبه پلاستیک است و بنابراین می‌تواند به عنوان یک ماده تشکیل دهنده فیلم، چسبنده، تغلیظ کننده و پایدار کننده در طیف گسترده‌ای از محصولات غذایی استفاده گردد [۱۲]. این صمغ به علت توانایی تشکیل ژل‌های قالبی در غلظت‌های بسیار پایین به طور گسترده در فرمولاسیون مواد غذایی و دارویی به کار گرفته شده است [۲۸]. همچنین قابل توجه است که ژلان می‌تواند تشکیل شبکه خودآرا در ناحیه بین‌سطحی بدهد و متعاقباً سامانه‌های کف یا امولسیون محور را از طریق دافعه الکترو- استریکی بین قطرات پایدار کند [۲۹]. بنابراین ژلان می‌تواند به عنوان یک ترکیب ایده‌آل برای کمک به بهبود

3. Soy protein isolate

4. Yuwang

5. Amstel Products BV Co.

6. Merck Co. (Darmstadt, Germany)

7. Sigma-Aldrich Co. (St Louis, MO, USA)

1. Low acyl gellan gum

2. Sphingomonas elodea

خوشه‌بندی سلسله مراتبی به روش تجمعی بدین صورت می‌باشد که در وهله‌ی اول هر یک از داده‌ها در گروه‌هایی مجزا قرار می‌گیرند (به تعداد داده‌ها خوشه وجود دارد). رویکرد این روش از پایین به بالا می‌باشد. با شروع از پایین، در هر مرحله دو خوشه نزدیک به هم (بر اساس متریک فاصله) با یکدیگر جمع شده و یک خوشه جدید تشکیل می‌دهند. خوشه‌های جدید در سطح‌های بالاتر قرار گرفته و پس از محاسبه مجدد فاصله بین آنها این روند تکرار می‌شود. در مطالعه حاضر این فرآیند تا زمانی تکرار شد که تنها ۳ خوشه باقی ماند. لازم به ذکر است که با ارزیابی نمودار فاصله تجمعی و به کمک نرم‌افزار، مقدار منطقی برای تعداد خوشه‌ها به دست می‌آید. همچنین برای این که مشخص گردد کدام خوشه‌ها باید با یکدیگر جمع شوند نیاز است معیاری از تفاوت بین خوشه‌ها تعریف گردد. در این مطالعه متریک فاصله، مربع فاصله اقلیدسی در نظر گرفته شد [۳۲].

## ۲-۵- تهیه امولسیون روغن در آب پایدار شده

### با کانزوگه‌های پروتئین سویا-صمغ ژلان

امولسیون‌های پایدار شده با کانزوگه‌های منتخب پروتئین-پلی‌ساکارید بر اساس روش Nasrollahzadeh و همکاران [۳۳] با اندکی تغییر تهیه شدند. بدین منظور ۲۵ میلی‌لیتر فاز آبی (نمونه‌های منتخب مرحله خوشه‌بندی، ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر غلظت پروتئین) با ۸/۳ میلی‌لیتر فاز روغنی به کمک دستگاه اولتراتوراکس (Ultra-Turrax T25, IKA-Labortechnik, Staufen, Germany) به مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای محیط هوموژن شدند. قابل توجه است که امولسیون پایدار شده با SPI طبیعی به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد.

## ۲-۶- رفتار رئولوژیکی

ویژگی‌های رئولوژیکی سامانه‌های امولسیون تثبیت شده با کانزوگه‌های مایلارد و محلول SPI (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محتوای پروتئین) توسط ویسکومتر بروکفیلد (LVDV III-ULTRA, Brookfield, Middleboro, MA, USA) و در دمای محیط تعیین گردید. اندازه‌گیری‌ها با اسپیندل‌های LV1 و LV2 و در محدوده نرخ برشی ۰-۱۰۰ بر ثانیه انجام شد. معادله قانون توان بهترین مدل جهت برازش داده‌های تنش

مجدداً تا رسیدن به دمای اتاق همزده شد و سپس در صورت نیاز مقدار pH به کمک HCl و یا NaOH، ۰/۱ نرمال بر روی ۷ تنظیم گردید. در ادامه لوله‌های آزمایش حاوی ۲۵ میلی‌لیتر مخلوط فیزیکی پروتئین-صمغ ژلان در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه به کمک بن ماری تحت حرارت دهی مرطوب قرار گرفتند. به منظور توقف واکنش، نمونه‌ها به سرعت تا رسیدن به دمای محیط در حمام آب - یخ سرد شدند. در نهایت، کانزوگه‌های آماده شده (SPI-LAGG) قبل از استفاده به عنوان امولسیفایر کارآمد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که دیسپرسیون SPI طبیعی به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

## ۲-۳- پیشرفت قهوه‌ای شدن

ارزیابی میزان جذب در ناحیه مرئی ( $A_{420nm}$ ) به منظور تأیید واکنش مایلارد و همچنین بررسی میزان پیشرفت واکنش به سمت تشکیل محصولات نهایی واکنش (ملانوئیدین) توسط اسپکتروفوتومتر فرابنفش/مرئی (Biochrom WPA Lightwave UV/VIS, S2000, Cambridge, UK) مطابق با روش Guan و همکاران [۳۰] با اندکی تغییر اندازه‌گیری گردید. لازم به ذکر است که جفت‌های متناظر گلایکه نشده کانزوگه‌ها به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شدند [۳۱]. در صورت نیاز، نمونه‌ها با بافر فسفات سدیم (۷ pH، ۱۰ میلی‌مولار) رقیق شدند.

## ۲-۴- خوشه‌بندی کانزوگه‌های ایزوله پروتئین

### سویا-صمغ ژلان بر اساس شدت قهوه‌ای شدن

پس از ارزیابی میزان پیشرفت واکنش به سمت تولید ترکیبات نهایی، به منظور مطالعه حداکثر تفاوت تیمارها در پارامترهای مورد بررسی، طبقه‌بندی کانزوگه‌ها بر اساس شدت قهوه‌ای شدن<sup>۱</sup> (BI) با استفاده از روش خوشه‌بندی سلسله مراتبی<sup>۲</sup> (HAC) با روش تجمعی وارد<sup>۳</sup> و به کمک نرم‌افزار استات گرافیکس<sup>۴</sup> (نسخه ۱۸) صورت پذیرفت. در این روش ۳ خوشه از ۹ مشاهده (تیمار) موجود در مرحله قبل، با سطوح قهوه‌ای شدن بالا، متوسط و پایین ایجاد شد. خوشه‌ها گروه‌هایی از مشاهدات با ویژگی‌های مشابه هستند. اساس

1. Browning Index  
2. Hierarchical Agglomerative Clustering  
3. Ward  
4. Statgraphics Centurion v18

محلول حاصل به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و سپس درصد جذب پروتئین بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

=بخش پروتئین جذب شده %

۱۰۰ × جذب نمونه امولسیون - جذب محلول اولیه پروتئین

جذب محلول اولیه پروتئین

## ۲-۹- ارزیابی پایداری حرارتی امولسیون

پایداری حرارتی امولسیون‌های تثبیت شده با کانزوگه‌های مایلارد و SPI حرارت داده نشده مطابق با روش Nooshkam و Varidi [۱۲] همراه با اصلاحات جزئی انجام شد. بدین منظور نمونه‌های امولسیونی در حمام آب در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، مطابق با بخش ۲-۷ پایداری حرارتی سامانه‌های امولسیونی به صورت میزان جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردید.

## ۲-۱۰- آنالیز آماری

نتایج آزمون شدت قهوه‌ای شدن به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو فاکتور نسبت ژلان به پروتئین (در ۳ سطح) و زمان حرارت دهی (در ۳ سطح) و با حداقل دو تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در ادامه پس از خوشه‌بندی تیمارها، نتایج به صورت طرح کاملاً تصادفی و با یک فاکتور شدت قهوه‌ای شدن (۳ سطح؛ بالا، متوسط و پایین) با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۶) آنالیز شد. لازم به ذکر است که مقایسه میانگین تیمارها در صورت معنی‌داری با استفاده از آزمون توکی<sup>۲</sup> در سطح ۵ درصد انجام شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- پیشرفت قهوه‌ای شدن

ارزیابی تشکیل ترکیبات نیتروژن‌دار قهوه‌ای رنگ ساده‌ترین نتیجه قابل اندازه‌گیری واکنش مایلارد می‌باشد که به عنوان یک شاخص بصری از مرحله پیشرفته واکنش مایلارد در نظر گرفته می‌شود و اغلب به منظور سنجش میزان گسترش واکنش مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۸]. تغییرات در BI کانزوگه‌های SPI-

برشی و نرخ برشی با استفاده از نرم‌افزار اسلاید رایت پلاس<sup>۱</sup> (نسخه ۷/۰۱) بود.

$$\tau = K\gamma^n$$

در این معادله،  $\tau$ ،  $K$ ،  $\gamma$  و  $n$  به ترتیب نشان‌دهنده تنش برشی (Pa)، ضریب قوام ( $\text{Pa s}^n$ )، نرخ برشی ( $\text{s}^{-1}$ ) و شاخص رفتار جریان (بدون بعد) می‌باشند. علاوه بر این ویسکوزیته ظاهری تمام سامانه‌ها در نرخ‌های برشی ۴۰، ۵۰ و ۶۰ بر ثانیه اندازه‌گیری و مقایسه گردید.

## ۲-۷- فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون

خواص امولسیون‌کنندگی نمونه‌ها بر اساس روش Pearce و Kinsella [۳۴] با برخی اصلاحات اندازه‌گیری شد. بر این اساس ۱۰۰ میکرولیتر از بخش انتهایی لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌های امولسیونی در زمان‌های صفر و ۳۰ دقیقه برداشت شد و بلافاصله با ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم دودسیل سولفات ۰/۱ درصد وزنی/ حجمی رقیق گردید. فعالیت امولسیفایری و پایداری سامانه‌های امولسیونی از طریق اندازه‌گیری مقادیر جذب محلول‌ها به ترتیب در زمان‌های صفر و ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۰۰ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر (UV-2601, Rayleigh, China) انجام شد.

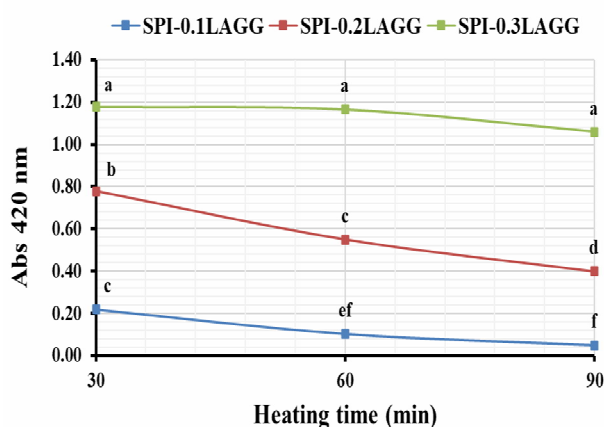
## ۲-۸- اندازه‌گیری درصد پروتئین جذب شده

### در فضای بین سطحی

غلظت پروتئین بین‌سطحی به منظور ارزیابی پایداری امولسیون‌های روغن در آب به کار می‌رود و به میزان پروتئین جذب شده در واحد سطح فصل مشترک (میلی‌گرم در متر مربع)، زمانی که این سطح با پروتئین اشباع می‌گردد، اشاره می‌کند [۳۵]. درصد پروتئین جذب شده با توجه به روش ارائه شده توسط Zhou و همکاران [۳۶] و Setiowati و همکاران [۳۷] با تغییرات جزئی انجام شد. بدین منظور، امولسیون‌ها (۳۳/۳ میلی‌لیتر) در ۷۱۰۰ برابر شتاب گرانشی به مدت ۴۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا فاز روغنی (خامه‌ای) از فاز آبی به طور کامل تفکیک گردد. لایه خامه‌ای دور ریخته شد در حالیکه فازهای سرم و رسوب کرده (در صورت وجود) برای تعیین مقدار پروتئین از طریق روش بیورت با یکدیگر مخلوط شدند. در ادامه ۱ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۴ میلی‌لیتر معرف بیورت ترکیب و پس از ۲۰ دقیقه ماندن در دمای محیط، جذب

تجزیه رنگدانه‌های قهوه‌ای در طول دوره‌های حرارت‌دهی نیز می‌تواند توضیح دیگری برای این رویداد باشد [۲۹]. این در حالی است که *Yáñez* و همکاران [۴۳] اظهار داشتند با افزایش زمان حرارت‌دهی هیچگونه تغییری در جذب ۴۲۰ نانومتر پروتئین‌های شیر طی گلیکوزیلاسیون مشاهده نشده است. اگرچه *Guan* و همکاران [۴۴] عدد جذب بالاتری را در طول موج ۴۲۰ نانومتر با افزایش زمان حرارت‌دهی گزارش کردند. از سوی دیگر، با افزایش سطح ژلان در یک نسبت ثابت از پروتئین، جذب ۴۲۰ نانومتر سیستم به صورت معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ )؛ به طوریکه بیشترین و کمترین میزان جذب ناحیه مرئی به ترتیب در نسبت‌های ۱:۳ و ۱:۱ از سامانه‌های حاوی کانزوگه‌های *SPI:LAGG* حاصل گردید. باید در نظر داشت که احتمال تحرک مولکولی و برهمکنش بین پروتئین و پلی‌ساکارید و در نتیجه تشکیل گلیکوکانزوگه‌هایی با درجه گلیکاسیون بالاتر در سامانه‌های با محتوی ژلان ۰/۱ درصد نسبت به سامانه‌های محتوی ۰/۲ و ۰/۳ درصد ژلان به علت ویسکوزیته کمتر، بیشتر می‌باشد [۴۵]. از طرفی واکنش‌پذیری ترکیبات با وزن مولکولی بالاتر همراه با دافعه استریکی قوی‌تر، کمتر از همتایان با وزن مولکولی پایین‌تر می‌باشد [۸، ۹، ۴۶]. بنابراین به نظر می‌رسد سامانه‌های با محتوی ژلان ۰/۱ درصد احتمالاً به علت تشکیل گلیکوکانزوگه‌هایی با وزن مولکولی بالاتر در مرحله اولیه واکنش، با سرعت کمتری در واکنش‌های تبدیل محصولات آمادوری یا هینز به ترکیبات نهایی نسبت به سایر همتایان خود شرکت کردند و در نتیجه منجر به بروز کمترین میزان جذب سامانه مذکور شدند. لازم به ذکر است که حتی با وجود پروتئین در مخلوط اولیه نیز باید در نظر داشت که بخشی از قهوه‌ای شدن مشاهده شده در نمونه‌ها می‌تواند ناشی از واکنش جانبی کاراملیزاسیون باشد که ممکن است همزمان با واکنش مایلارد رخ دهد [۴۴]. مطالعات نشان داده است بیش‌تر واکنش‌هایی که در قندهای خالص در دماهای بسیار بالا رخ می‌دهند، می‌توانند زمانیکه با اسیدهای آمینه واکنش نشان دهند، در دماهای بسیار پایین‌تر نیز رخ دهند [۳۹]. بنابراین مجموعه واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (واکنش مایلارد و کاراملیزاسیون) می‌تواند منجر به افزایش جذب در ناحیه مرئی و توسعه رنگ قهوه‌ای شود [۴۴، ۴۷].

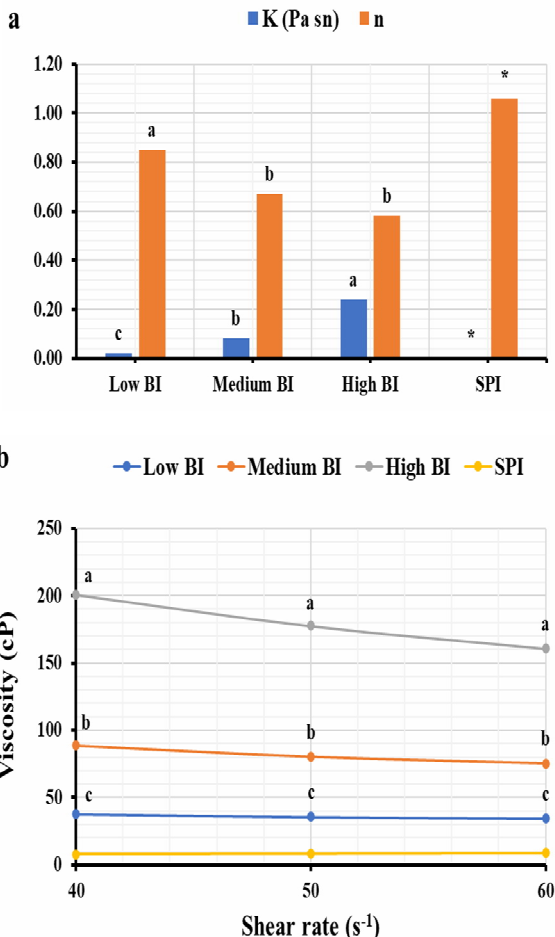
*LAGG* به عنوان تابعی از زمان حرارت‌دهی و نسبت ژلان به پروتئین سویا در شکل ۱ نشان داده شده است. تغییرات میزان جذب در ناحیه مرئی (۴۲۰ نانومتر)، سنتز محصولات نهایی در طی پیشرفت واکنش را نشان می‌دهد. هر دو اثر اصلی سطح ژلان و مدت زمان حرارت‌دهی بر جذب ۴۲۰ نانومتر معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). توسعه رنگ قهوه‌ای با افزایش زمان حرارت‌دهی کاهش و با افزایش غلظت ژلان افزایش یافت. بر این اساس بیش‌ترین میزان جذب محصولات نهایی در سامانه *SPI-LAGG; 1:3-30min* و کمترین میزان جذب در سامانه *SPI-LAGG; 1:1-30min* بود. جذب ۴۲۰ نانومتر بالاتر کانزوگه‌های *SPI-LAGG* در زمان‌های ابتدایی واکنش (۳۰ دقیقه اول) به احتمال زیاد به دلیل سرعت واکنش بیشتر ناشی از حضور مقادیر بالاتر واکنش‌گرها در زمان‌های نخستین بود که منجر به تشکیل بیشتر محصولات اولیه و حد واسط به عنوان پیش‌ساز ترکیبات نهایی گشت [۳۹-۴۰].



**Fig 1** Browning intensity (BI) of *SPI-LAGG* conjugates during heating time.

علاوه بر آن باید در نظر داشت که کاهش pH طی واکنش کانزوگاسیون نیز می‌تواند منجر به محدودیت پیشرفت واکنش در طول زمان گردد. گزارش شده است که کاهش pH در طول واکنش مایلارد عموماً به دلیل تشکیل مواد اسیدی مانند فرمیک اسید و استیک اسید در مرحله میانی و مصرف گروه‌های آمینو در مراحل اولیه گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی است [۴۱]. در شرایط اسیدی به علت پروتونه شدن گروه‌های آمینو (افزایش  $-NH_3^+$ )، واکنش پیوندی بین پروتئین و قند کاهش یافته و در نتیجه منجر به کاهش تشکیل محصولات اولیه و متعاقباً تبدیل آنها به محصولات نهایی می‌گردد [۴۲]. علاوه بر آن

دمای محیط نشان دادند که نمودار ویسکوزیته-سرعت برشی به خوبی گویای ویژگی وابسته به برش بودن سیالات فوق می-باشد. اساساً کانژوگاسیون مایلارد منجر به تغییر رفتار نیوتنی امولسیون تثبیت شده با محلول SPI ( $n \sim 1$ ) به حالت غیر نیوتنی ( $n < 1$ ) شد و  $\eta_{50}$  (ویسکوزیته ادراکی مایعات) نیز تا حدود ۲۱ برابر (سامانه امولسیونی حاوی کانژوگه BI بالا) نسبت به نمونه کنترل افزایش پیدا کرد. در توافق با نتایج ما، Nooshkm و Varidi [۱۲] و Wen و همکاران [۴۸] نیز افزایش ویسکوزیته پس از کانژوگاسیون مایلارد را به ترتیب در سامانه‌های امولسیونی حاوی کانژوگه‌های ایزوله پروتئین آب‌پنیر-صمغ ژلان و ایزوله پروتئین سویا-لنتینان<sup>۱</sup> گزارش کردند. این در حالی است که کاهش ویسکوزیته پس از کانژوگاسیون مایلارد نیز در برخی مطالعات گزارش شده است [۴۹].

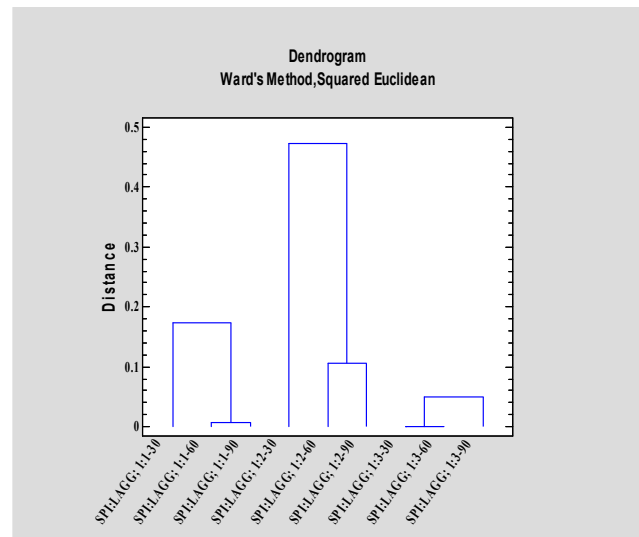


**Fig 3** Flow behavior indices (a) and apparent viscosity (b) of emulsions stabilized by SPI and SPI-LAGG conjugates (\* this treatment was not included in statistical analysis).

1. lentinan

### ۲-۳- خوشه‌بندی گلیکوکانژوگه‌های ایزوله پروتئین سویا-صمغ ژلان کم آسپیل بر پایه شدت قهوه‌ای شدن

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، هر خوشه شامل ۳ مشاهده (۳۳/۳۳ درصد داده‌ها) بود. بر این اساس به ترتیب تیمارهای SPI: LAGG; 1:1-30,60,90min در خوشه شماره ۱، SPI: LAGG; 1:2-30,60,90min در خوشه شماره ۲ و SPI: LAGG; 1:3-30,60,90min در خوشه شماره ۳ قرار گرفتند. مطابق پیشنهاد ارائه شده توسط نرم‌افزار، تیمار منتخب از خوشه شماره ۱، سامانه SPI:LAGG; 1:1-30min و سامانه‌های SPI:LAGG; 1:2-30min از خوشه شماره ۲ و SPI:LAGG; 1:3-30min از خوشه شماره ۳ برگزیده شدند.

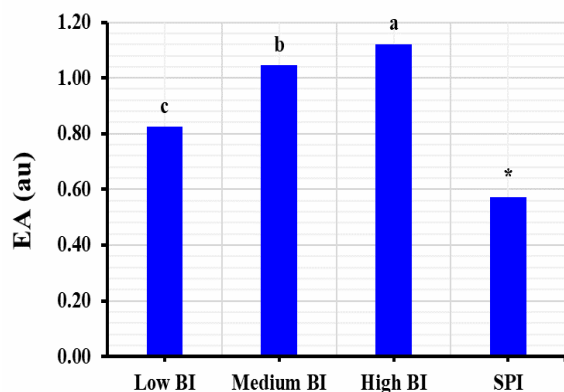


**Fig 2** Dendrogram of clustering results, based on Ward's method.

### ۳-۳- رئولوژی امولسیون

ضریب قوام ( $k$ )، شاخص رفتار جریان ( $n$ ) و ویسکوزیته ظاهری ( $\eta_a$ ) (در تنش‌های برشی منتخب ۴۰، ۵۰ و ۶۰ بر ثانیه) سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانژوگه‌های منتخب SPI-LAGG و محلول SPI (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محتوای پروتئین، pH=7) در شکل ۳ نشان داده شده است.

به طور کلی همه امولسیون‌های پایدار شده با کانژوگه‌های SPI-LAGG رفتار رقیق شونده با برش را به عنوان سیال غیر نیوتنی با شاخص رفتار جریان  $n < 1$  ( $n = 0/58 - 0/85$ ) در تمامی سرعت‌های برشی اندازه‌گیری شده ( $100 - 0$  s<sup>-1</sup>) در



**Fig 4** Emulsifying activity (EA) of SPI and SPI-LAGG conjugates with different BI (\* this treatment was not included in statistical analysis).

در شکل ۴، کانزوگاسیون مایلارد منجر به افزایش چشمگیر ظرفیت امولسیون‌کنندگی SPI تا حدود ۱/۹۶ برابر (سامانه امولسیونی پایدار شده با کانزوگه BI بالا) شد که با یافته‌های مطالعات قبلی مطابقت داشت [۵۷-۵۵]. به طور کلی اتصال کووالانسی پروتئین‌ها به کربوهیدرات‌ها طی فرآیند حرارتی با بهبود حلالیت [۵۸]، اصلاح آگریزی سطحی و متعاقباً تنظیم تعادل آبدوستی-آگریزی پروتئین [۳۱]، ظرفیت تشکیل امولسیون را بهبود می‌بخشد. در این زمینه Nooshkam و Varidi [۲۹] اظهار داشتند که افزایش آگریزی سطحی پس از کانزوگاسیون مایلارد می‌تواند منجر به افزایش تمایل به برهمکنش‌های آگریز بین قطرات روغن و پروتئین‌های بین‌سطحی گردد، که اتصال مولکول‌های پروتئین به سطح قطرات روغن را تسهیل کرده و کشش بین‌سطحی را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. در واقع تغییرات کنفورماسیونی در ساختار پروتئین گلاایکه شده (یعنی باز شدن تاخوردگی پروتئین و متعاقباً بیشتر در معرض قرار گرفتن گروه‌های آبدوست و آگریز) ساختارهای انعطاف‌پذیرتر [۶] با فرآیندهای مهاجرت، جذب و بازآرایی سریع‌تر به سطح مشترک آب/روغن را در مقایسه با پروتئین گلاایکه نشده فراهم می‌کنند [۵۹-۶۰].

آنالیز آماری نتایج نشان داد تفاوت قابل‌توجهی در فعالیت امولسیفایری کانزوگه‌های با شدت قهوه‌ای شدن پایین، متوسط و بالا وجود داشت. بر این اساس بیشترین و کمترین میزان فعالیت امولسیفایری به ترتیب در سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانزوگه‌های SPI:LAGG; 1:3-30min (BI بالا) و SPI:LAGG; 1:1-30min (BI پایین) مشاهده شد. اگر چه گزارش شده است که پیشرفت گسترده واکنش مایلارد به

تحلیل آماری نتایج نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری در مقادیر  $K$ ،  $\eta_a$  و  $n$  کانزوگه‌های با شدت قهوه‌ای شدن پایین، متوسط و بالا وجود داشت ( $p < 0.05$ ). با افزایش شدت قهوه‌ای شدن مقادیر  $K$  و  $\eta_a$  افزایش و  $n$  کاهش یافت. بر این اساس سامانه امولسیونی SPI:LAGG; 1:3-30min (بالا) کمترین میزان  $n$  (۰/۵۸) و بیشترین میزان  $K$  (۰/۲۴) پاسکال بر ثانیه) و سامانه امولسیونی SPI:LAGG; 1:1-30min (BI پایین) بیشترین میزان  $n$  (۰/۸۵) و کمترین میزان  $K$  (۰/۰۲) را داشت. در این رابطه Nooshkam و Madadlou [۳۱] گزارش کردند که پیشرفت واکنش مایلارد همراه با تشکیل ترکیبات با وزن مولکولی بالا مقاوم در برابر جریان، منجر به افزایش ویسکوزیته می‌گردد. علاوه بر این باید در نظر داشت که حضور میزان بالاتری از جزء پلی‌ساکاریدی در سامانه امولسیونی SPI:LAGG; 1:3-30min (BI بالا) از طریق اثر ازدحام مولکولی، پروتئین را مجبور به اتخاذ یک ساختار فشرده و پایدارتر نسبت به سایر همتایان خود می‌کند [۵۰]. بنابراین انتظار می‌رود ویسکوزیته ظاهری بالاتری را تحت اعمال نیروی برشی نسبت به سایر سامانه‌ها از خود بروز دهد [۵۱]. همچنین اثر غلیظ‌کنندگی صمغ ژلان [۵۲] نیز نباید غافل بود که می‌تواند در افزایش ویسکوزیته سامانه‌های امولسیونی با محتوای صمغ بالاتر تأثیرگذار باشد.

### ۳-۴ - فعالیت امولسیون‌کنندگی و پایداری

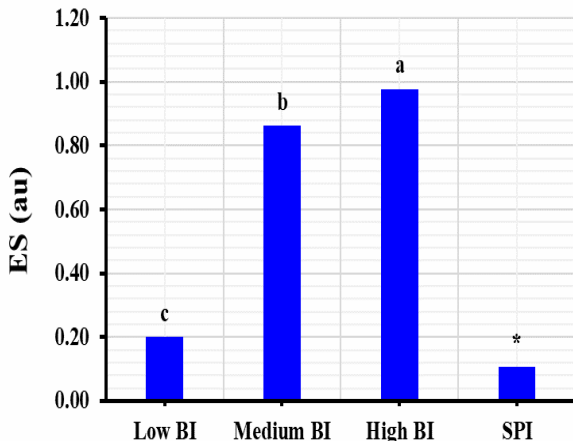
#### امولسیون

گلایکاسیون پروتئین با پلی‌ساکارید به عنوان یک روش امیدوارکننده و سریع برای بهبود ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی بسیاری از پروتئین‌ها نشان داده شده است [۲۵]. فعالیت امولسیفایری<sup>۱</sup> (EA) کانزوگه‌های مایلارد و محلول SPI حرارت داده نشده در شکل ۴ نمایش داده شده است. همانطور که انتظار می‌رفت امولسیون تهیه شده با SPI (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محتوای پروتئینی، pH=7)، فعالیت امولسیفایری ضعیفی را از خود بروز داد. این امر را می‌توان به حلالیت ضعیف و ساختار فشرده و کروی SPI به دلیل پایداری کنفورماسیونی ناشی از پیوندهای دی‌سولفیدی و هیدروژنی همراه با انعطاف‌پذیری مولکولی پایین نسبت داد که بر ویژگی‌های بین‌سطحی آن تأثیر گذاشته است [۲۲، ۵۳، ۵۴].

1. Emulsifying activity



نسبت به سایر سامانه‌ها شد. همچنین باید در نظر داشت که ماهیت ساختاری صمغ ژلان نیز در بروز ظرفیت امولسیون-کنندگی قوی‌تر سامانه‌های با محتوای ژلان بیشتر تأثیرگذار است. در حقیقت حضور بخش‌های جزئی پروتئینی [۶۶] و ماهیت هیدروفوب گروه‌های آسپیل [۶۷] در ساختار صمغ ژلان منجر به استفاده از این صمغ به عنوان امولسیفایر در سامانه‌های غذایی متنوع امولسیونی گشته است [۶۸].



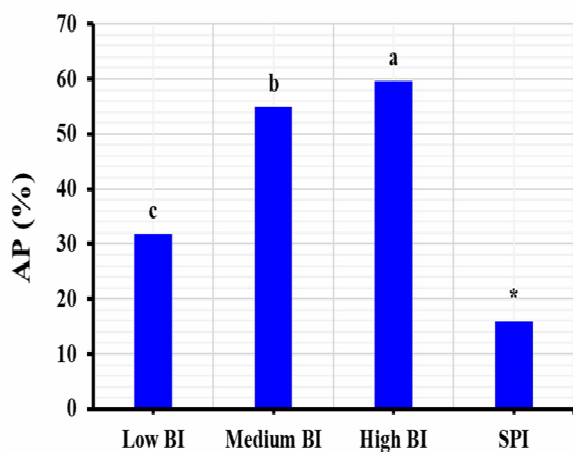
**Fig 5** Emulsion stability (ES) of emulsions coated with SPI and SPI-LAGG conjugates with different BI (\* this treatment was not included in statistical analysis).

روند مشابهی در خصوص شاخص پایداری امولسیون<sup>۱</sup> (ES) سامانه‌ها مشاهده شد (شکل ۵). پایداری سامانه امولسیونی تثبیت شده با SPI حرارت ندیده به طرز چشمگیری پس از فرآیند کانژوگاسیون افزایش یافت. پایداری محیطی سامانه امولسیونی حاوی کانژوگه BI بالا (-1:3 SPI:LAGG) بهتر از سامانه‌های دیگر بود؛ به طوری که عدد جذب بسیار بالاتری (تا حدود ۹ برابر) را در مقایسه با نمونه کنترل پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط از خود نشان داد. این امر اساساً به توانایی بالای کانژوگه‌ها در تشکیل لایه ضخیم، پیوسته و ویسکوالاستیک در سطح مشترک روغن/آب نسبت داده می‌شود [۱]؛ به نحویکه بخش پروتئینی بر روی سطوح هیدروفوب لنگر می‌اندازد و بخش پلی‌ساکاریدی از طریق تشکیل شبکه خود آرا در فضای بین‌سطحی [۶۹] و ساز و کار الکترو-استریکی (ممانعت فضایی قوی ناشی از اندازه بزرگ و آبدوستی مولکول پلی‌ساکارید) [۶-۱۰] از تجمع قطرات روغن جلوگیری می‌کند. با توجه به نتایج حاصل از

سمت تولید ترکیبات نهایی می‌تواند بر خواص عملکردی پروتئین‌ها تأثیر منفی گذارد [۶۱]، اما به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر بیشینه میزان تشکیل این ترکیبات به حدی نبوده است که منجر به اثرات سوء در ویژگی‌های سامانه‌های امولسیونی گردد. در واقع همانطور که پیش‌تر ذکر شد، واکنش مایلارد تحت شرایط ملایم و کنترل شده می‌تواند منجر به بهبود خواص تکنولوژیکی-عملکردی پروتئین‌ها گردد. بدین منظور تنظیم شرایط واکنش در این مطالعه (اعم از pH، زمان، دما، نسبت غلظت پروتئین به پلی‌ساکارید) به گونه‌ای انتخاب شده است که سعی بر تشکیل گلیکوکانژوگه‌هایی با ویژگی‌های بهبود یافته همراه با حداقل تشکیل ترکیبات با ویژگی‌های نامطلوب و همچنین کنترل واکنش مایلارد و توقف آن در مراحل اولیه باشد. آزمایش‌های مقدماتی نشان داد که غلظت‌های بالاتر ژلان (بیش از ۰/۳ درصد وزنی-حجمی) منجر به تشکیل محلول‌های بسیار ویسکوز با ساختارهای ژل مانند و زمان حرارت دهی طولانی مدت (بیش از ۹۰ دقیقه) در ۹۰ درجه سانتی‌گراد منجر به تشکیل محلول‌های کانژوگه با رنگ قهوه‌ای شدید می‌شود (داده‌ها نشان داده نشده است) که نامطلوب بود. همچنین استفاده از پلی‌ساکاریدهای مانند ژلان در مقایسه با مونو و دی‌ساکاریدها به علت قدرت احیاکنندگی کمتر و ممانعت فضایی قوی‌تر منجر به محدودیت بیش‌تر در توسعه واکنش مایلارد، تغییرات رنگ بیش از حد و پلیمریزاسیون پروتئین‌ها می‌گردد [۱۰]. علاوه بر آن باید در نظر داشت که عوامل متعددی بر ویژگی امولسیفایری پروتئین‌ها تأثیرگذار هستند.

اولین قدم برای بروز ویژگی امولسیون‌کنندگی مطلوب، حلالیت کانژوگه در فاز پیوسته امولسیون است [۶۲]. در حقیقت حلالیت پروتئین یک پیش شرط مهم برای تشکیل فیلم است زیرا برای مهاجرت سریع و جذب بر روی فصل مشترک آب/روغن حیاتی می‌باشد [۶۳]. به نظر می‌رسد افزایش احتمال اتصال کووالانسی صمغ ژلان با وزن مولکولی بالا به پروتئین در سامانه SPI:LAGG; 1:1-30min (BI پایین) منجر به تشکیل گلیکوکانژوگه‌هایی سنگین‌تر با حلالیت کمتر نسبت به سایر جفت‌ها شده است [۶۴] که احتمالاً سرعت حرکت به فصل مشترک را در مقایسه با سایر کانژوگه‌ها بیشتر تحت تأثیر قرار داده است [۶۳-۶۵] و متعاقباً منجر به درصد پروتئین جذب شده کمتری به فضای بین‌سطحی سامانه مذکور

SPI:LAGG; (BI بالا)، SPI:LAGG; 1:3-30min و SPI:LAGG; 1:1-30min (BI متوسط) و SPI:LAGG; 1:1-30min (BI پایین) به طور میانگین به ترتیب ۵۹/۶۳ درصد، ۵۴/۸۱ درصد و ۳۱/۸۵ درصد جذب پروتئین به فصل مشترک روغن/آب داشتند که تأیید کننده مشاهدات حاصل از آزمون فعالیت امولسیون کننده‌گی و پایداری سامانه‌ها بود. باید در نظر داشت که ویسکوزیته بالاتر در سامانه‌های امولسیونی با شدت قهوه‌ای شدن بیشتر (شکل ۳) زمان لازم برای جذب پروتئین را فراهم می‌کند [۷۲]. علاوه بر آن افزایش بار منفی سامانه‌های امولسیونی محتوی صمغ ژلان بالاتر، با افزایش دافعه الکترواستاتیک بین بیوپلیمرها منجر به رانده شدن قوی‌تر پروتئین‌ها به فضای بین‌سطحی می‌گردد. همچنین لازم به ذکر است که میزان پروتئین جذب شده به فضای بین‌سطحی به سطح ویژه ذرات روغن نیز بستگی دارد [۷۳]. پایین‌تر بودن فعالیت بین‌سطحی، ویسکوزیته و همچنین ممانعت الکترواستریکی سامانه‌های امولسیونی حاوی کانزوگه با شدت قهوه‌ای شدن کمتر، احتمالاً با بهم پیوستن ذرات منجر به تشکیل قطراتی با اندازه بزرگ‌تر و متعاقباً سطح کمتر نسبت به سایر سامانه‌ها شده است و در نتیجه منجر به قرارگیری مقدار پروتئین کمتری بر سطح ذرات سامانه‌های مذکور شد [۷۳].



**Fig 6** Adsorbed protein content (AP%) in emulsions stabilized by SPI and SPI-LAGG conjugates with different BI (\* this treatment was not included in statistical analysis).

### ۳-۶- پایداری حرارتی امولسیون

سامانه‌های امولسیونی بر پایه پروتئین ممکن است تحت تأثیر انواع مختلفی از فرآیندهای حرارتی از تولید تا مصرف قرار گیرند. از طرفی دماهای بالا ممکن است به پروتئین‌ها آسیب

این پژوهش، پایداری سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانزوگه‌های با شدت قهوه‌ای شدن قوی‌تر، بالاتر بود؛ بطوریکه بیشترین و کمترین میزان پایداری به ترتیب در سامانه‌های امولسیونی SPI:LAGG; 1:3-30min (BI بالا) و SPI:LAGG; 1:1-30min (BI پایین) مشاهده شد. این امر اساساً به ویسکوزیته بالاتر سامانه‌های با شدت قهوه‌ای شدن بیشتر نسبت داده می‌شود (شکل ۳). افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته امولسیون منجر به تأخیر در حرکت براونی قطرات و در نتیجه کاهش فرکانس برخورد قطره - قطره و متعاقباً بهبود پایداری امولسیون می‌گردد [۳].

### ۳-۵- پروتئین جذب شده

درصد پروتئین جذب شده (AP%) به فصل مشترک سامانه‌های امولسیونی پایدار شده با گلیکوکانزوگه‌های مایلارد و محلول SPI حرارت داده نشده در شکل ۶ گزارش داده شده است. قابل توجه است که روند مشابهی در نتایج حاصل از آزمون‌های ویژگی امولسیفایری و درصد پروتئین جذب شده نمونه‌ها مشاهده شد. کمترین درصد جذب پروتئین مربوط به سامانه امولسیونی تثبیت شده با SPI طبیعی بود (۱۵/۹۳ درصد). کانزوگاسیون مایلارد منجر به افزایش قابل توجه درصد جذب پروتئین از ۱۵/۹۳ درصد (نمونه کنترل) به حدود ۶۰ درصد در سامانه امولسیونی SPI:LAGG; 1:3-30min (BI بالا) شد که با نتایج حاصل از پژوهش Ullah و همکاران [۷۰] مطابقت داشت. همانطور که پیش‌تر ذکر شد، پروتئین‌ها به واسطه گلاپکاسیون با پلی‌ساکاریدها معمولاً کارایی امولسیفایری خود را از طریق افزایش حلالیت، غلظت مؤثره و تحرک قابل توجه در فاز آبی همراه با الفای تغییرات کنفورماسیونی بهبود می‌بخشند. این شرایط می‌تواند ساختارهای انعطاف‌پذیرتر با نرخ مهاجرت و جذب سریع‌تر به سطح مشترک روغن/آب را در مقایسه با پروتئین‌های طبیعی فراهم کند [۱۲]. در توافق با نتایج ما، Ping-Ping و همکاران [۷۱] نیز مقدار پروتئین جذب شده بالاتری را در فصل مشترک سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانزوگه‌های مایلارد ایزوله پروتئین آب‌پنیر- پلی‌ساکارید میوه شاه‌توت در مقایسه با آنهایی که با پروتئین پایدار شده بودند، گزارش کردند. با افزایش شدت قهوه‌ای شدن، درصد جذب پروتئین افزایش یافت. بر این اساس سامانه‌های امولسیونی

1. Adsorbed protein (%)

متصل شده به پروتئین (دافعه هیدراسیونی) و همچنین ممانعت فضایی قوی ناشی از جزء پلی ساکاریدی (بخصوص پلی ساکاریدهای با وزن مولکولی بالا) و به دنبال آن با کاهش برهمکنش های هیدروفوب- هیدروفوب، احتمال آگلومریزاسیون کاهش می یابد که منجر به افزایش پایداری حرارتی خواهد شد [۷۶-۷۷]. لازم به ذکر است که پلی ساکاریدهای آنیونی می توانند پایداری حرارتی پروتئین های کانژوگه شده را از طریق هر دو ممانعت فضایی و الکترواستاتیک افزایش دهند و در نتیجه از تجمع مولکول های پروتئین باز شده در طول واکنش مایلارد جلوگیری کنند [۲۵]. مطابق با نتایج جدول آنالیز واریانس اختلاف آماری معنی داری بین پایداری حرارتی سامانه های امولسیون با شدت قهوه ای شدن متفاوت وجود داشت ( $p < 0.05$ ). با افزایش شدت قهوه ای شدن پایداری حرارتی امولسیون ها کاهش یافت؛ بر این اساس بیشترین و کمترین میزان پایداری حرارتی به ترتیب در سامانه های امولسیون  $SPI:LAGG; 1:1-30min$  (پایین) و  $SPI:LAGG; 1:3-30$  (بالا) مشاهده شد. همانطور که پیش تر ذکر شد، مولکول های پروتئینی در سامانه  $SPI:LAGG; 1:3-30min$  احتمالاً از کمترین میزان اتصال با مولکول های صمغ ژلان در مقایسه با سایر سامانه ها برخوردار بودند (به بخش ۳-۱ مراجعه شود). بنابراین نقاط بدون پوشش بیشتری در طول زنجیره های پروتئینی سامانه مذکور وجود داشت. افزایش برهمکنش های هیدروفوبیک بین نواحی بدون پوشش هیدروفوب منجر به پایداری حرارتی کمتر سامانه امولسیون فوق نسبت به سایر سامانه ها در طول تیمار حرارت دهی شد [۲۵]. این درحالی است که افزایش جزء کربوهیدراتی متصل به پروتئین در سامانه  $SPI:LAGG; 1:1-30min$  ثبات هیدروپاتیک و استریکی بهتری ایجاد کرد و در نتیجه مانع از نزدیک شدن ذرات روغن به یکدیگر شد [۳].

#### ۴- نتیجه گیری

این مطالعه با هدف بررسی اثر شدت قهوه ای شدن بر خواص بین سطحی، پایداری حرارتی و رفتار رئولوژیکی سامانه های امولسیونی تثبیت شده با کانژوگه های ایزوله پروتئین سویا - صمغ ژلان کم آسیل و مقایسه آنها با سامانه هایی که با پروتئین طبیعی پایدار شده بودند، انجام شد. کانژوگاسیون مایلارد تأثیر

برساند و منجر به رسوب و از دست دادن ساختار همراه با کاهش ارزش غذایی شود [۱۰]. پایداری حرارتی سامانه های امولسیونی تثبیت شده با کانژوگه های مایلارد و  $SPI$  طبیعی در شکل ۷ به تصویر کشیده شده است.

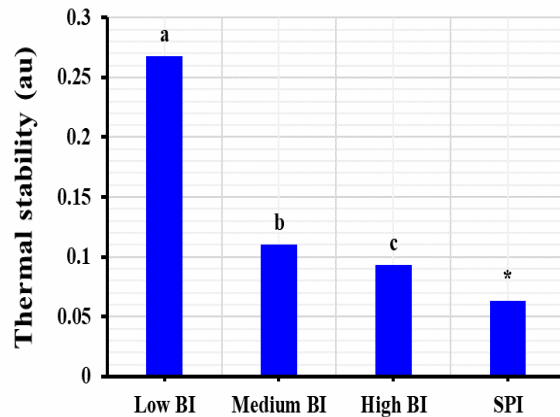


Fig 7 Thermal stability of emulsions stabilized by SPI and SPI-LAGG conjugates with different BI (\* this treatment was not included in statistical analysis).

سامانه امولسیونی پایدار شده با  $SPI$  طبیعی عدد جذب پایینی را به خود اختصاص داد که گواه بر پایداری حرارتی ضعیف سامانه مذکور بود. کانژوگاسیون مایلارد منجر به بهبود قابل توجه پایداری حرارتی امولسیون ها شد؛ در این میان سامانه امولسیونی  $SPI:LAGG; 1:1-30min$  (پایین) بهتر از سایر همتایان خود بود به طوریکه میزان جذب تا حدود ۴ برابر نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت. در توافق با نتایج ما، Setiowati و همکاران [۷۴] نیز افزایش پایداری حرارتی سامانه امولسیونی پایدار شده با کانژوگه های مایلارد ایزوله پروتئین آب پنیر-پکتین را در مقایسه با سامانه تثبیت شده با پروتئین گزارش کردند. داناتوراسیون مولکول های کروی پروتئین طی تیمار حرارتی منجر به در معرض قرار گرفتن گروه های سولفیدریل آزاد و آب گریز می گردد که می تواند تجمع قطرات را از طریق پیوندهای آب گریز و دی سولفیدی بین پروتئین های واقع در سطح دو قطره مجاور تسهیل کنند [۷۵]. این درحالی است که کانژوگاسیون زنجیره های گلیکان به پروتئین ها می تواند خواص تجمع حرارتی آن ها را به خوبی تحت تأثیر قرار دهد. واکنش مایلارد اغلب با بهبود پایداری حرارتی پروتئین ها همراه است. افزایش دمای داناتوراسیون کانژوگه های پروتئینی و دافعه فضایی افزایش یافته بین قطرات روغن به دلیل ظرفیت بالای هیدراته شدن کربوهیدرات های

- Agricultural and Food Chemistry*, 60(38), 9754-9762.
- [5] Wen, C., Zhang, J., Qin, W., Gu, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. 2020. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 331, 127374.
- [6] Naik, R. R., Wang, Y., & Selomulya, C. 2021. Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-26. doi:10.1080/10408398.2021.1910139
- [7] Boostani, S., Aminlari, M., Moosavinab, M., Niakosari, M., & Mesbahi, G. 2017. Fabrication and characterisation of soy protein isolate-grafted dextran biopolymer: A novel ingredient in spray-dried soy beverage formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 297-307.
- [8] Ma, X., Chen, W., Yan, T., Wang, D., Hou, F., Miao, S., & Liu, D. 2020. Comparison of citrus pectin and apple pectin in conjugation with soy protein isolate (SPI) under controlled dry-heating conditions. *Food Chemistry*, 309, 125501.
- [9] Ma, X., Hou, F., Zhao, H., Wang, D., Chen, W., Miao, S., & Liu, D. 2020. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin by ultrasound treatment. *Food Hydrocolloids*, 108, 106056.
- [10] de Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. d. R., de Oliveira, E. B., Zuñiga, A. D. G., & Rojas, E. E. G. 2016. Food Protein-polysaccharide Conjugates Obtained via the Maillard Reaction: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1108-1125. doi:10.1080/10408398.2012.755669
- [11] Davidov-Pardo, G., Pérez-Ciordia, S., Marín-Arroyo, M. R., & McClements, D. J. 2015. Improving resveratrol bioaccessibility using biopolymer nanoparticles and complexes: impact of protein-carbohydrate Maillard conjugation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(15), 3915-3923.
- [12] Nooshkam, M., & Varidi, M. 2021. Physicochemical stability and gastrointestinal fate of  $\beta$ -carotene-loaded oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate-low acyl gellan gum conjugates. *Food Chemistry*, 347, 129079.

چشمگیری بر خواص بین‌سطحی سامانه‌های امولسیون داشت. بهبود ویژگی‌های امولسیون کنندگی، درصد پروتئین جذب شده به فضای بین‌سطحی، پایداری حرارتی و ویسکوزیته ظاهری در همه سامانه‌های امولسیونی تثبیت شده با کانژوگه-های پروتئین-ژلان در مقایسه با نمونه کنترل مشاهده شد. در مطالعه حاضر بیشینه میزان تشکیل ترکیبات نهایی به حدی نبوده است که منجر به اثرات سوء در ویژگی‌های عملکردی سامانه‌های امولسیونی گردد. کانژوگه‌های موجود در سامانه با شدت قهوه شدن بیشتر منجر به تشکیل و تثبیت امولسیون‌هایی با کارایی بالاتر (به استثناء پایداری حرارتی) در مقایسه با سایر همتایان خود شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت با هدایت واکنش مایلارد به سمت شرایط ملایم و کنترل شده (اعم از pH، دما، زمان، نسبت و نوع پروتئین و پلی‌ساکارید انتخابی) می‌توان با به حداقل رساندن تشکیل ترکیبات نهایی منجر به بهبود ویژگی‌های تکنو-عملکردی پروتئین‌ها شد و از آنها به عنوان افزودنی‌هایی بر پایه غذا در صنعت مواد غذایی استفاده کرد.

## ۵- تقدیر و تشکر

نگارندگان این پژوهش از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل حمایت مالی در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌کنند (کد طرح ۳/۵۲۹۷۱).

## ۶- منابع

- [1] Kutzli, I., Weiss, J., & Gibis, M. 2021. Glycation of Plant Proteins Via Maillard Reaction: Reaction Chemistry, Technofunctional Properties, and Potential Food Application. *Foods*, 10(2). doi:10.3390/foods10020376.
- [2] Mu, L., ZHao, H., ZHao, M., Cui, C., & Liu, L. 2011. Physicochemical properties of soy protein isolates-acacia gum conjugates. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 129-136.
- [3] O'Regan, J., & Mulvihill, D. M. 2010. Heat stability and freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilised by sodium caseinate-maltodextrin conjugates. *Food Chemistry*, 119(1), 182-190.
- [4] Liu, G., & Zhong, Q. 2012. Glycation of whey protein to provide steric hindrance against thermal aggregation. *Journal of*

- [23] Wang, Y., Zhang, A., Wang, X., Xu, N., & Jiang, L. 2020. The radiation assisted-Maillard reaction comprehensively improves the freeze-thaw stability of soy protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 103, 105684
- [24] Niu, F., Zhou, J., Niu, D., Wang, C., Liu, Y., Su, Y., & Yang, Y. 2015. Synergistic effects of ovalbumin/gum arabic complexes on the stability of emulsions exposed to environmental stress. *Food Hydrocolloids*, 47, 14-20.
- [25] Nooshkam, M., Varidi, M., & Verma, D. K. 2020. Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131, 109003.
- [26] Bradbeer, J. F., Hancocks, R., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. 2014. Self-structuring foods based on acid-sensitive low and high acyl mixed gellan systems to impact on satiety. *Food Hydrocolloids*, 35, 522-530.
- [27] Vilela, J. A. P., & da Cunha, R. L. 2016. High acyl gellan as an emulsion stabilizer. *Carbohydrate polymers*, 139, 115-124.
- [28] Morris, E. R., Nishinari, K., & Rinaudo, M. 2012. Gelation of gellan—a review. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 373-411.
- [29] Nooshkam, M., & Varidi, M. 2020. Whey protein isolate-low acyl gellan gum Maillard-based conjugates with tailored technological functionality and antioxidant activity. *International Dairy Journal*, 109, 104783.
- [30] Guan, J. J., Zhang, T. B., Hui, M., Yin, H. C., Qiu, A. Y., & Liu, X. Y. 2011. Mechanism of microwave-accelerated soy protein isolate-saccharide graft reactions. *Food Research International*, 44(9), 2647-2654.
- [31] Nooshkam, M., & Madadlou, A. 2016. Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides. *Food Chemistry*, 192, 831-836.
- [32] Alfred, R., Fun, T. S., Tahir, A., On, C. K., & Anthony, P. 2014. Concepts labeling of document clusters using a hierarchical agglomerative clustering (hac) technique. In *The 8th International Conference on Knowledge Management in Organizations* (pp. 263-272). Springer, Dordrecht.
- [13] Zhang, Z., Chen, W., Zhou, X., Deng, Q., Dong, X., Yang, C., & Huang, F. 2021. Astaxanthin-loaded emulsion gels stabilized by Maillard reaction products of whey protein and flaxseed gum: Physicochemical characterization and in vitro digestibility. *Food Research International*, 144, 110321.
- [14] Su, J., Guo, Q., Chen, Y., Dong, W., Mao, L., Gao, Y., & Yuan, F. 2020. Characterization and formation mechanism of lutein pickering emulsion gels stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin-gum arabic composite colloidal nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 98, 105276.
- [15] Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food research international*, 43(2), 414-431.
- [16] Kaur, M., & Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 102(1), 366-374.
- [17] González, A. D., Frostell, B., & Carlsson-Kanyama, A. 2011. Protein efficiency per unit energy and per unit greenhouse gas emissions: potential contribution of diet choices to climate change mitigation. *Food policy*, 36(5), 562-570.
- [18] Modgil, R., Tanwar, B., Goyal, A., & Kumar, V. 2021. Soybean (*Glycine max*). In *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications* (pp. 1-46). Springer, Singapore.
- [19] Molina, E., Papadopoulou, A., & Ledward, D. A. 2001. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins. *Food Hydrocolloids*, 15(3), 263-269.
- [20] Tang, C. H. 2019. Nanostructured soy proteins: Fabrication and applications as delivery systems for bioactives (a review). *Food Hydrocolloids*, 91, 92-116.
- [21] Tian, S., Chen, J. I. E., & Small, D. M. 2011. Enhancement OF Solubility And Emulsifying Properties Of Soy PROTEIN ISOLATES BY GLUCOSE Conjugation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(1), 80-95.
- [22] Mozafarpour, R., Koocheki, A., Milani, E., & Varidi, M. 2019. Extruded soy protein as a novel emulsifier: Structure, interfacial activity and emulsifying property. *Food Hydrocolloids*, 93, 361-373.

- model system. *Food Chemistry*, 133(3), 960-968.
- [42] O'Brien, J., Morrissey, P. A., & Ames, J. M. 1989. Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28(3), 211-248.
- [43] Yáñez, D. A. C., Gagnetten, M., Leiva, G. E., & Malec, L. S. 2018. Antioxidant activity developed at the different stages of Maillard reaction with milk proteins. *LWT*, 89, 344-349.
- [44] Guan, J. J., Qiu, A. Y., Liu, X. Y., Hua, Y. F., & Ma, Y. H. 2006. Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions. *Food chemistry*, 97(4), 577-585.
- [45] Nooshkam, M., Falah, F., Zareie, Z., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mortazavi, S. A. 2019. Antioxidant potential and antimicrobial activity of chitosan-inulin conjugates obtained through the Maillard reaction. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1861-1869.
- [46] Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. 2019. The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food chemistry*, 275, 644-660.
- [47] Consoli, L., Dias, R. A. O., Rabelo, R. S., Furtado, G. F., Sussulini, A., Cunha, R. L., & Hubinger, M. D. 2018. Sodium caseinate-corn starch hydrolysates conjugates obtained through the Maillard reaction as stabilizing agents in resveratrol-loaded emulsions. *Food Hydrocolloids*, 84, 458-472.
- [48] Wen, C., Zhang, J., Qin, W., Gu, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. 2020. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 331, 127374.
- [49] Sun, T., Xu, H., Zhang, H., Ding, H., Cui, S., Xie, J., . . . Hua, X. 2018. Maillard reaction of oat  $\beta$ -glucan and the rheological property of its amino acid/peptide conjugates. *Food Hydrocolloids*, 76, 30-34.
- [50] Álvarez, C., García, V., Rendueles, M., & Díaz, M. 2012. Functional properties of isolated porcine blood proteins modified by Maillard's reaction. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 267-274.
- [33] Nasrollahzadeh, F., Varidi, M., Koocheki, A., & Hadizadeh, F. 2017. Effect of microwave and conventional heating on structural, functional and antioxidant properties of bovine serum albumin-maltodextrin conjugates through Maillard reaction. *Food Research International*, 100, 289-297.
- [34] Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723. doi:10.1021/jf60217a041
- [35] Chen, W., Liang, G., Li, X., He, Z., Zeng, M., Gao, D., ... & Chen, J. 2019. Impact of soy proteins, hydrolysates and monoglycerides at the oil/water interface in emulsions on interfacial properties and emulsion stability. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 177, 550-558.
- [36] Zhou, Y., Teng, F., Tian, T., Sami, R., Wu, C., Zhu, Y., ... & Li, Y. 2020. The impact of soy protein isolate-dextran conjugation on capsicum oleoresin (*Capsicum annuum* L.) nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 108, 105818.
- [37] Setiowati, A. D., Saedi, S., Wijaya, W., & Van der Meeren, P. 2017. Improved heat stability of whey protein isolate stabilized emulsions via dry heat treatment of WPI and low methoxyl pectin: Effect of pectin concentration, pH, and ionic strength. *Food Hydrocolloids*, 63, 716-726.
- [38] Kim, J. S. 2013. Antioxidant activity of Maillard reaction products derived from aqueous and ethanolic glucose-glycine and its oligomer solutions. *Food Science and Biotechnology*, 22(1), 39-46.
- [39] Ajandouz, E. H., Tchiakpe, L. S., Ore, F. D., Benajiba, A., & Puigserver, A. 2001. Effects of pH on Caramelization and Maillard Reaction Kinetics in Fructose-Lysine Model Systems. *Journal of Food Science*, 66(7), 926-931.
- [40] 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 Chemistry*, 100(2), 669-677.
- [41] Jiang, Z., & Brodkorb, A. 2012. Structure and antioxidant activity of Maillard reaction products from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin with ribose in an aqueous

- Controlled glycation of milk proteins and peptides: Functional properties. *International Dairy Journal*, 67, 16-34.
- [61] Le, T. T., Holland, J. W., Bhandari, B., Alewood, P. F., & Deeth, H. C. 2013. Direct evidence for the role of Maillard reaction products in protein cross-linking in milk powder during storage. *International Dairy Journal*, 31(2), 83-91.
- [62] Caballero, S., & Davidov-Pardo, G. 2021. Comparison of legume and dairy proteins for the impact of Maillard conjugation on nanoemulsion formation, stability, and lutein color retention. *Food Chemistry*, 338, 128083.
- [63] Mu, L., Zhao, H., Zhao, M., Cui, C., & Liu, L. 2011. Physicochemical properties of soy protein isolates-acacia gum conjugates. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 129-136.
- [64] Syll, O., Khalloufi, S., Méjean, S., & Schuck, P. 2016. The effects of total protein/total solid ratio and pH on the spray drying process and rehydration properties of soy powder. *Powder Technology*, 289, 60-64.
- [65] Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. 2016. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. *Food Chemistry*, 194, 1056-1063.
- [66] Ishii, T., Matsumiya, K., Aoshima, M., & Matsumura, Y. 2018. Microgelation imparts emulsifying ability to surface-inactive polysaccharides—bottom-up vs top-down approaches. *npj Science of Food*, 2(1), 15.
- [67] Fasolin, L. H., Picone, C. S. F., Santana, R. C., & Cunha, R. L. 2013. Production of hybrid gels from polysorbate and gellan gum. *Food Research International*, 54(1), 501-507.
- [68] Jiang, Y., Zhang, C., Yuan, J., Wu, Y., Li, F., I. N. Waterhouse, G., . . . Huang, Q. 2021. Exploiting the robust network structure of zein/low-acyl gellan gum nanocomplexes to create Pickering emulsion gels with favorable properties. *Food Chemistry*, 349, 129112.
- [69] Cai, B., & Ikeda, S. 2016. Effects of the conjugation of whey proteins with gellan polysaccharides on surfactant-induced competitive displacement from the air-water interface. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6026-6035.
- [51] Xi, C., Kang, N., Zhao, C., Liu, Y., Sun, Z., & Zhang, T. 2020. Effects of pH and different sugars on the structures and emulsification properties of whey protein isolate-sugar conjugates. *Food Bioscience*, 33, 100507.
- [52] Zhu, Q., Gao, J., Han, L., Han, K., Wei, W., Wu, T., . . . Zhang, M. 2021. Development and characterization of novel bigels based on monoglyceride-beeswax oleogel and high acyl gellan gum hydrogel for lycopene delivery. *Food Chemistry*, 365, 130419.
- [53] Li, R., Cui, Q., Wang, G., Liu, J., Chen, S., Wang, X., . . . Jiang, L. 2019. Relationship between surface functional properties and flexibility of soy protein isolate-glucose conjugates. *Food Hydrocolloids*, 95, 349-357.
- [54] Li, R., Wang, X., Liu, J., Cui, Q., Wang, X., Chen, S., & Jiang, L. 2019. Relationship between Molecular Flexibility and Emulsifying Properties of Soy Protein Isolate-Glucose Conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(14), 4089-4097.
- [55] Ai, M., Xiao, N., & Jiang, A. 2021. Molecular structural modification of duck egg white protein conjugates with monosaccharides for improving emulsifying capacity. *Food Hydrocolloids*, 111, 106271.
- [56] Wang, C., Li, J., Li, X., Chang, C., Zhang, M., Gu, L., . . . Yang, Y. 2019. Emulsifying properties of glycation or glycation-heat modified egg white protein. *Food Research International*, 119, 227-235.
- [57] Wang, Y., Gan, J., Li, Y., Nirasawa, S., & Cheng, Y. 2019. Conformation and emulsifying properties of deamidated wheat gluten-maltodextrin/citrus pectin conjugates and their abilities to stabilize  $\beta$ -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids*, 87, 129-141.
- [58] Mu, L., Zhao, H., Zhao, M., Cui, C., & Liu, L. 2011. Physicochemical properties of soy protein isolates-acacia gum conjugates. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 129-136.
- [59] Diftis, N., & Kiosseoglou, V. 2003. Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose. *Food Chemistry*, 81(1), 1-6.
- [60] O'Mahony, J. A., Drapala, K. P., Mulcahy, E. M., & Mulvihill, D. M. 2017.

- adsorption and functions in oil-in-water emulsion. *Food Hydrocolloids*, 43, 137-145.
- [74] Diah Setiowati, A., Rwigamba, A., & Van der Meeren, P. 2019. The influence of degree of methoxylation on the emulsifying and heat stabilizing activity of whey protein-pectin conjugates. *Food Hydrocolloids*, 96, 54-64.
- [75] McClements, D. J. 2015. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.
- [76] Zha, F., Dong, S., Rao, J., & Chen, B. 2019. Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285, 130-138.
- [77] Xu, C.-h., Yang, X.-q., Yu, S.-j., Qi, J.-r., Guo, R., Sun, W.-W., . . . Zhao, M.-M. 2010. The effect of glycosylation with dextran chains of differing lengths on the thermal aggregation of  $\beta$ -conglycinin and glycinin. *Food Research International*, 43(9), 2270-2276.
- [70] Ullah, S. F., Khan, N. M., Ali, F., Ahmad, S., Khan, Z. U., Rehman, N., ... & Muhammad, N. 2019. Effects of Maillard reaction on physicochemical and functional properties of walnut protein isolate. *Food science and biotechnology*, 28(5), 1391-1399.
- [71] Ping-Ping, W., Wen-Duo, W., Chun, C., Xiong, F., & Rui-Hai, L. 2020. Effect of Fructus Mori. bioactive polysaccharide conjugation on improving functional and antioxidant activity of whey protein. *International journal of biological macromolecules*, 148, 761-767.
- [72] Makri, E. A., & Doxastakis, G. I. 2006. Study of emulsions and foams stabilized with Phaseolus vulgaris or Phaseolus coccineus with the addition of xanthan gum or NaCl. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1863-1870.
- [73] Zhao, Q., Long, Z., Kong, J., Liu, T., Sun-Waterhouse, D., & Zhao, M. 2015. Sodium caseinate/flaxseed gum interactions at oil-water interface: Effect on protein





## The impact of browning intensity on interfacial properties of gellan gum-soy protein conjugate obtained through the Maillard reaction

Lavaei, Y.<sup>1</sup>, Varidi, M.<sup>2\*</sup>, Nooshkam, M.<sup>3</sup>

1. Master Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Postdoctoral researcher, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2021/ 12/ 26

Accepted 2022/ 02/ 22

#### Keywords:

Interfacial activity,  
Soy protein,  
Gellan gum,  
Maillard conjugate,  
Browning intensity.

**DOI:** 10.52547/fsct.19.124.1

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.124.6.3

\*Corresponding Author E-Mail:  
m.varidi@um.ac.ir

This study was aimed to investigate the effect of Maillard reaction browning intensity (BI) on the interfacial properties of emulsion systems stabilized by soy protein isolate. The covalent bonding between soy protein isolate and gellan gum was confirmed by the BI and then the resulting protein-polysaccharide conjugates were classified into three low, medium, and high BI clusters using Hierarchical Agglomerative Clustering (HAC) method. Next, the emulsification properties (emulsifying capacity, emulsion stability, and the percentage of adsorbed protein), thermal stability, and rheological behavior of emulsion systems stabilized by the above clusters were evaluated. The emulsifying capacity and emulsion stability were increased more efficiently by the high BI soy protein isolate-gellan conjugate, showing its faster migration and absorption rate, and consequently higher percentage of absorbed protein to the interface, and also form a thicker, cohesive, and viscoelastic interfacial layer along with more steric repulsion at its oil/water interface. In addition, the apparent viscosity of emulsions in the presence of high BI conjugate was significantly higher than the systems stabilized by other conjugates ( $p < 0.05$ ). However, due to the more unmasked hydrophobic patches of the high BI conjugated protein, the thermal stability of its emulsion was lower compared to other counterparts. Therefore, the Maillard reaction under mild and controlled conditions along with minimal final compounds formation can improve the interfacial properties of soy protein to improve its application in the food industry.