



نانو درونپوشانی کورکومین در مزدوج ایزوله پروتئین ماش - مالتودکستروزین و تعیین ویژگی های فیزیکوشیمیایی و رهائشی آن

سمیه عزیزنیا^a، غلامرضا عسکری^{a*}، زهرا امام جمعه^a، مریم سلامی^a

^a: به ترتیب دانشجو، دانشیار، استاد و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	<p>در این پژوهش با بهره‌گیری از واکنش میلارد، یک سیستم تحویل برگرفته از منابع گیاهی (ایزوله پروتئین ماش و مالتودکستروزین) برای ریزپوشانی و رهائش کنترل شده کورکومین طراحی و ساخته شد. واکنش میلارد به دو روش استفاده از امواج فراصوت (۱۵۰ وات، ۸۰ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه) و روش مرطوب (۸۰ درجه سلسیوس، ۶۰ دقیقه) برای سه نسبت مختلف ایزوله پروتئین ماش به مالتودکستروزین انجام شد. درصد مزدوج سازی به روش OPA و تخمین محصولات نهایی میلارد توسط اسپکتروفوتومتر انجام شد و تیمار بهینه برای بارگذاری کورکومین انتخاب گردید. غلظت‌های مختلف کورکومین ($0, 0/2, 0/4, 0/6 \text{ mg mL}^{-1}$) به دو روش متداول (انحلال در اتانول) و روش تغییر pH (روشی بدون نیاز به حلال‌های آلی) بارگذاری شدند. پس از تعیین کارایی درونپوشانی و میزان بارگذاری کورکومین، تیمار مزدوج ایزوله پروتئین ماش - مالتودکستروزین تهیه شده به روش تغییر pH و غلظت $0/4$ میلی گرم بر میلی لیتر کورکومین به عنوان تیمار بهینه انتخاب و برای مقایسه بهتر نتایج و بررسی تاثیر مزدوج سازی، از تیمار ایزوله پروتئین ماش حامل کورکومین نیز به عنوان کنترل استفاده شد. نتایج تعیین اندازه ذرات (DLS) نشان داد که ذرات در ابعاد نانو بوده و نتایج FTIR نشان داد که کورکومین توانسته از طریق برهمکنش‌های آبریز، جاذبه الکترواستاتیکی و پیوندهای هیدروژنی در ساختار نانو ذرات کپسوله شود. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH مربوط به ترکیب مزدوج - کورکومین تهیه شده به روش تغییر پی اچ بوده است. این امر می‌تواند به دلیل بالاتر بودن کارایی درونپوشانی باشد. رفتار رهائش کورکومین در شرایط هضم متوالی شبیه سازی شده گوارشی (معده و روده) نشان داد که درونپوشانی کورکومین با روش انجام گرفته در این پژوهش باعث رهائش آهسته کورکومین شده و در تیمار تهیه شده با مزدوج ایزوله پروتئین ماش - مالتودکستروزین رهائش کورکومین آهسته‌تر از تیمار ایزوله پروتئین ماش بود.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۱۱	
کلمات کلیدی:	
مزدوج سازی، میلارد، کورکومین، پروتئین ماش	
DOI:10.22034/FSCT.21.153.157.	
* مسئول مکاتبات: iraskari@ut.ac.ir	

۱-مقدمه

ماش با نام علمی (*Vigna radiata (L.)*) لگومی با قدمت بیش از ۲۰۰۰ سال است. قابلیت سم زدایی بدن، کاهش کلسترول خون، خواص ضد توموری و ضد التهابی از جمله عملکردهای بیولوژیکی این دانه می‌باشد [۶]. دارای ۲۵-۲۸ درصد پروتئین بوده و بجز متیونین، سیستین و تریپتوفان، همه اسید آمینه‌های ضروری و از جمله لیزین را در مقادیری نزدیک به اسید آمینه‌های تخم مرغ دارد [۷]. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و خواص عملکردی پروتئین ماش نشان داده که این پروتئین دارای پتانسیل بالایی برای بکارگیری در سیستم‌های تحویل ترکیبات غذایی و دارویی است [۶ و ۸]. از طرفی ماش محصولی کم نهاده، مقاوم به خشکی با چرخه رشد کوتاه بوده و می‌توان آن را در خاک‌های لومی تا شنی و در مناطقی با بارندگی‌های نامنظم نیز کشت کرد [۷ و ۹]. سطح زیر کشت ماش در دنیا حدود ۶ میلیون هکتار و تولید آن ۴ میلیون تن با متوسط عملکرد جهانی ۶۶۷ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. سطح زیر کشت ماش در ایران ۱۶۱۶۷ هکتار با میزان تولید ۱۱۶۶۱ تن می‌باشد [۱۰]. لذا با توجه به ارزش بیولوژیکی و غذایی و وفور این محصول در ایران و اطمینان از بازار تامین، جهت درونپوشانی کورکومین پروتئین ماش در نظر گرفته شده است.

پژوهش‌ها در سال‌های اخیر نشان داده پایداری پروتئین‌ها و کلونیدهای پوشیده شده با پروتئین‌ها با مزدوج سازی بهبود قابل ملاحظه‌ای یافته و همین امر ساکاریدها را برای بکارگیری در سیستم‌های تحویل ترکیبات زیست فعال کاربردی ساخته است. در واقع فند دار کردن^۶ پروتئین راه حل مناسبی برای بهبود خواص عملکردی پروتئین‌های غذایی بوده و از طرق مختلف چون اختلاط فیزیکی^۹، ایجاد

کورکومین^۱ (دی فرولویلمتان)^۲ ترکیبی فنولی و چربی دوست با وزن مولکولی پایین است که در زردچوبه^۳، (ریزوم خشک شده گیاه کورکوما لانگا^۴) وجود دارد [۱ و ۲]. از زردچوبه بطور معمول به عنوان ادویه و رنگ خوراکی استفاده می‌شود، اما این گیاه در سالهای اخیر در صنعت دارو و غذا بسیار مورد توجه قرار گرفته و جایگاه خوبی به دست آورده است. فعالیت‌های بیولوژیکی گسترده‌ای چون خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد توموری، ضد آلرژی، ضد میکروبی، ضد دیابتی و ... برای کورکومین گزارش شده است [۱ و ۳]. کورکومین تقریباً در آب نامحلول است، به شرایط قلیایی حساس بوده و در مقابل نور تجزیه می‌گردد. همچنین در مقابل گرما و اکسیداسیون مقاومت کمی دارد. به دلیل متابولیسم سریع و جذب روده‌ای پایین، زیست دسترسی پایینی داشته و سریع تجزیه شده و دفع می‌گردد. بنابراین با اینکه کورکومین خواص منحصر به فرد و قابل توجه دارویی و تغذیه‌ای دارد اما متأسفانه به دلیل نیمه عمر کوتاه و خروج سریع آن، بدن قادر به استفاده از مزایای سلامت بخش این ترکیب نمی‌باشد. لذا بکارگیری و طراحی یک سیستم تحویل مناسب برای غلبه بر این محدودیت‌ها کاملاً ضروری است [۲ و ۴]. ریزپوشانی می‌تواند گزینه‌ای مناسب جهت به حداقل رساندن این محدودیت‌ها باشد. در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای در مورد تاثیر ریزپوشانی و رهایش کنترل شده بر ترکیبات مختلف غذایی و دارویی و از جمله کورکومین صورت گرفته است. از آنجایی که در فرآیند ریزپوشانی و تحویل در مواد غذایی، باید از مواد اولیه با درجه غذایی^۵ و روشهای سبز^۶ استفاده گردد، لذا استفاده از مواد زیستی^۷ برگرفته از منابع حیوانی و گیاهی مانند پروتئین‌ها، ساکاریدها و لیپیدها، به تنهایی یا به صورت ترکیب با یکدیگر، کاربرد دارد [۵].

6 -Green technique
7- Biomaterials
8- Glycosylation
9 -Physical mixing

1- Curcumin
2- Diferuloylmethane
3- Turmeric
4- Curcuma Longa
5- Food grade

ایزوله پروتئین ماش^{۱۵} (MPI) به روش استخراج قلیایی و ترسیب اسیدی بر اساس روش دیو و همکاران (۲۰۱۸) تهیه گردید [۶].

۲-۱-۲- تشکیل مزدوج ایزوله پروتئین ماش و مالتودکسترین

جهت تهیه مزدوج ایزوله پروتئین ماش و مالتو دکسترین^{۱۶} (MD)، پودر ایزوله پروتئین ماش (۱ درصد وزنی- حجمی) و پودر مالتودکسترین (۱، ۱/۵ و ۲ درصد وزنی- حجمی)، جداگانه در محلول بافر فسفات (۰/۲ مولار، pH برابر ۷/۲) حل شدند. از سدیم آزید (۰/۰۲ درصد وزنی-وزنی) برای جلوگیری از رشد میکروبی در طی نگهداری استفاده شد. محلول‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با همزن مغناطیسی مخلوط شده و جهت اطمینان از آب پوشانی پروتئین و مالتودکسترین، به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند. سپس نمونه‌های آبیگری شده به دمای محیط رسانده شده و به نسبت ۱:۱، ۱/۵:۱ و ۱:۲ از MPI: MD با یکدیگر مخلوط شده و به مدت یک ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی همزده شدند. مزدوج با استفاده از امواج فراصوت و بر اساس روش وانگ و همکاران (۲۰۱۶) همراه با کمی اصلاحات تهیه شد [۱۴]. دستگاه پروب فراصوت (Topsonics, Iran) با توان ۱۵۰ وات در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه (۵ ثانیه روشن، ۵ ثانیه استراحت) برای انجام واکنش میلارد مورد استفاده قرار گرفت. برای این نمونه‌ها کد U در نظر گرفته شد و برای نشان دادن نسبت‌های ۱:۱، ۱/۵:۱ و ۱:۲ از MPI: MD به ترتیب کدهای U11، U1 1.5 و U1 2 لحاظ شد.

نسبت‌های تهیه شده از ایزوله پروتئین ماش و مالتو دکسترین که در بالا به آنها اشاره شد در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت قرار گرفتند. پس از پایان این مدت نمونه‌ها سرد شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شدند. برای این نمونه‌ها کد W در نظر گرفته شد و برای

اتصالات عرضی به روش آنزیمی^{۱۰} یا شیمیایی^{۱۱} و واکنش میلارد^{۱۲} صورت می‌گیرد [۱۱]. واکنش میلارد با کندانس شدن گروه آمینی پروتئین با گروه کربونیل ساکارید آغاز شده و سپس باز شیف^{۱۳} و گلیکوزیل آمین تشکیل شده و تحت بازاریابی آمادوری، متابولیت‌های پایدار تولید می‌گردد. در عمل واکنش میلارد در مراحل اولیه و قبل از تشکیل پلیمرهای سنگین و متابولیت‌های ثانویه متوقف می‌شود زیرا محصولات حاصل از مراحل پایانی واکنش میلارد می‌تواند مضر باشد [۱۲]. از طرفی میکرو و نانو کپسول‌های تهیه شده با مزدوج سازی به روش میلارد جهت محافظت ترکیبات زیست فعال، پایداری بهتری در مقابل تنش‌های محیطی (همچون دمای بالا، شرایط اسیدی و تغییرات یونی) نیز توسعه یافته‌اند. در پژوهش‌های مختلف مالتودکسترین در ترکیب با صمغ‌ها، پکتین، آلژینات و پروتئین‌های سرمی برای درونپوشانی ترکیبات زیست فعال و بهبود خصوصیات امولسیفایری، کاهش نفوذپذیری اکسیژن از دیواره کپسول‌ها و کنترل پروفایل رهایش به کار گرفته شده است [۱۳]. لذا در پژوهش حاضر همراه با ایزوله پروتئینی ماش، از مالتو دکسترین برای تشکیل مزدوج و درونپوشانی کورکومین استفاده شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ماش از مزرعه‌ای در شهرستان دره شهر استان ایلام تهیه گردید. مالتو دکسترین^{۱۴} (DE برابر ۱۳ تا ۱۶) توسط شرکت اینگردیون کشور آلمان فراهم شد. کلیه ترکیبات شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده دارای درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت‌های سیگما از آمریکا، مرک از کشور آلمان و دکتر مجللی در ایران خریداری شدند.

۲-۱-۱- تهیه ایزوله پروتئین ماش

14 -Dextrose Equivalent
15-Mung bean Protein Isolate
16- Maltodextrin

10 -Enzymatic cross-linking
11 -Chemical cross- linking
12 -Maillard Reaction
13- Schiff base

(۲۰۱۷) تعیین شد [۱۷]. برای رطوبت از آون ۱۰۵ درجه سلسیوس، برای تعیین چربی از روش سوکسله و برای تعیین پروتئین از روش کلدال (N × ۶/۲۵) و برای تعیین خاکستر از کوره ۵۵۰ درجه سلسیوس استفاده شد. کربوهیدرات از تفریق مجموع میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر از ۱۰۰ محاسبه گردید. درصد بازده کل^{۲۳} و درصد بازده پروتئین^{۲۴} بر اساس معادلات زیر محاسبه گردید [۱۸]:

(۱)

$$\text{Yield} = P/S (\%)$$

(۲)

$$\text{Recovery} = P1/P2 (\%)$$

P: وزن پودر ایزوله پروتئین، S: وزن دانه کامل، P1: میزان پروتئین پودر ایزوله، P2: میزان پروتئین دانه کامل
۲-۲-۲- تعیین نسبت اسیدهای آمینه در ایزوله پروتئین ماش طی سه مرحله شامل ۱- مرحله هیدرولیز اسیدی، جهت آزادسازی اسیدهای آمینه با اسید هیدروکلریک ۶ مولار حاوی فنیل فتالین ۱/۰ درصد، به مدت حداقل ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد؛ ۲- مرحله مشتق سازی توسط فنیل ایزوتیوسیانات، خشک کردن و حل کردن مجدد نمونه در حلال مناسب بافر فسفات و استونیتریل و در نهایت ۳- جداسازی، شناسایی و اندازه گیری مشتق حاصل از مرحله آماده سازی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Elmer series 200, Perkin, USA) انجام شد.

۲-۲-۳- تعیین درصد مزدوج سازی^{۲۵} (DG)

جهت ارزیابی میزان مزدوج سازی پروتئین و مالتودکسترین، میزان گروه‌های آمینی آزاد به کمک OPA^{۲۶} بر اساس روش ژبو و همکاران (۲۰۱۳) با کمی اصلاحات تعیین گردید [۱۹].

۲-۲-۴- تخمین میزان محصولات مرحله پایانی میلارد به روش طیف سنجی

نشان دادن نسبت‌های ۱:۱، ۱:۵ و ۱:۲ از MD: MPI به ترتیب کدهای W11، W1 1.5 و W1 2 لحاظ شد.

۳-۱-۲- تشکیل ترکیب مزدوج- کورکومین از تیمار بهینه به منظور درونپوشانی کورکومین، روش تغییر pH^{۱۷} (روشی بدون نیاز به حرارت و حلال آلی) با توجه به گزارش پن و همکاران (۲۰۱۸) و روش متداول^{۱۸} (روش ساده و مرسوم با انحلال کورکومین در حلال آلی) به توجه به گزارش هی و همکاران (۲۰۲۱) مورد استفاده قرار گرفت [۱۵ و ۱۶]. ترکیبی از محلول مزدوج ایزوله پروتئین ماش- مالتودکسترین و غلظت‌های مختلف کورکومین (۰/۶، ۰/۴، ۰/۲ mg mL⁻¹) و ترکیبی از محلول ایزوله پروتئین ماش و غلظت‌های مختلف کورکومین به روش تغییر pH تشکیل گردید. هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه به پی اچ ۱۲ رسانده شده و با کورکومین به مدت ۲۰ دقیقه همزده شده و دوباره به پی اچ ۷/۲ رسانده شده و سپس به منظور خروج کورکومین بارگذاری نشده، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ × g سانتریفوژ شدند. نمونه‌های حاصل به ترتیب PCC^{۱۹} و PCM^{۲۰} نامیده شدند. ترکیبی از محلول مزدوج ایزوله پروتئین ماش- مالتودکسترین و غلظت‌های مختلف کورکومین و ترکیبی از محلول ایزوله پروتئین ماش و غلظت‌های مختلف کورکومین به روش متداول نیز تهیه شده و به ترتیب CCC^{۲۱} و CCM^{۲۲} نامگذاری شدند. به منظور خروج کورکومین بارگذاری نشده، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ × g سانتریفوژ شدند. در تمامی نمونه‌ها، مراحل در ظروف تیره رنگ انجام شد تا از تخریب کورکومین جلوگیری شود.

۲-۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تعیین ترکیب شیمیایی و میزان حصول پروتئین

ترکیبات شیمیایی (رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی) آرد و ایزوله پروتئین ماش بر اساس روش بریشتی و همکاران

22 -Conventional curcumin- Mung bean isolate

23 -Yield

24 -Percentage Protein Recovery

25 - Degree of Graft

26 -O- Phetaldialdehyde

17- pH-shift

18 -Conventional

19-pH-shifted curcumin- conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin

20- pH-shifted curcumin- Mung bean isolate

21-Conventional curcumin- conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin

توزیع اندازه ذرات نمونه‌های رقیق شده به وسیله دستگاه پراکندگی پویای نوری^{۲۹} در پی اچ ۷/۲ اندازه گیری شد. قطر میانگین ذرات، ضریب بس پراکندگی^{۳۰} و پتانسیل زتا^{۳۱} در اندازه گیری‌ها در طول موج لیزر ۶۵۹ نانومتر، زاویه پراکنش ۹۰ درجه و دمای ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از دستگاه Brookhaven Instrument crop ساخت آمریکا مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه گیری پارامترها در ۳ تکرار برای هر نمونه انجام گرفت و میانگین داده‌ها گزارش شد.

۷-۲-۲- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه^{۳۲} (FTIR) به منظور ارزیابی ساختار شیمیایی نمونه‌ها و بررسی تغییرات در گروه‌های عملکردی و تعیین نوع واکنش‌ها و پیوندهای برقرار شده، طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها به وسیله خشک کن انجمادی خشک شده، به نسبت ۱ به ۱۰ با پتاسیم برمید (KBr) ترکیب شده و سپس به صورت دیسک فشرده شدند. طیف‌ها در محدوده عدد موجی^{-۱} ۵۰۰-۴۰۰۰ cm توسط اسپکترومتر Perkin Elmer آمریکا ثبت شد [۲۲].

۸-۲-۲- ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH^{۳۳} فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH نمونه‌ها با توجه به روش ای و همکاران (۲۰۱۶)، با اصلاحات جزئی انجام گرفت [۲۳]. برای این منظور، ۲ میلی لیتر از محلول نمونه (با غلظت پروتئین^{-۱} ۵ mg mL و غلظت کورکومین^{-۱} ۰/۱۲ mg mL) به ۲ میلی لیتر محلول اتانولی DPPH ۰/۱۲ میلی مولار تازه اضافه شده و بعد از مخلوط کردن توسط ورتکس، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در مکانی تاریک نگهداری شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۵۰ × g سانتریفوژ شد. سپس جذب محلول رویی نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. از ۲ میلی لیتر محلول نمونه و ۲ میلی لیتر اتانول به عنوان شاهد و از ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۲ میلی لیتر محلول DPPH به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

به منظور تخمین پیشرفت واکنش میلارد و تولید ترکیبات ملانوییدی، جذب محلول‌های رقیق شده توسط SDS (یکدهم درصد) در طول موج ۴۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر تعیین شد. از محلول SDS به عنوان کنترل استفاده گردید [۲۰].

۵-۲-۲- تعیین کارایی درونپوشانی و میزان بارگذاری کورکومین کارایی درونپوشانی (EE^{۲۷}) و میزان بارگذاری (LA^{۲۸}) کورکومین در نمونه‌ها با توجه به روش پنگ و همکاران (۲۰۲۰)، با کمی اصلاحات ارزیابی شد [۲۱]. در ابتدا کورکومین آزاد (بارگذاری نشده) در محلول‌ها توسط سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ × g به مدت ۱۰ دقیقه حذف شد. سپس، با رقیق سازی سوپرناتانت توسط الکل و سانتریفیوژ مجدد در شرایط قبلی، کورکومین محلول استخراج شد و جذب آن در ۴۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد غلظت کورکومین در اتانول رسم شده و معادله استاندارد آن به دست آمد. برای این کار ابتدا محلول پایه کورکومین در غلظت ۱۰ قسمت در میلیون تهیه شد و سپس با رقیق سازی آن از ۱۰ تا ۱ قسمت در میلیون، محلول‌های دیگری تهیه شد. جذب هر کدام از محلول‌ها در ۴۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت منحنی استاندارد غلظت در برابر جذب رسم شده و معادله استاندارد به دست آمد. پارامترهای درونپوشانی با کمک معادله‌های زیر محاسبه شد:

(۳)

$$EE (\%) = m1 / m2 \times 100$$

(۴)

$$LC (\%) = m1 / m3$$

در این معادلات EE کارایی درونپوشانی، LC میزان بارگذاری، m1 مقدار کورکومین درونپوشانی شده، m2 مقدار کورکومین کل و m3 مقدار کل پروتئین می باشد.

۶-۲-۲- تعیین توزیع اندازه ذرات

31 -Zeta- potential
32- Fourier transform infrared spectroscopy
33- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

27 -Encapsulation efficiency
28- Loading amount
29- DLS
30- Polydispersity

(۵)

$$\text{Radical scavenging (\%)} = \frac{Ac - (As - Ab)}{Ac} \times 100$$

در این معادله A_s : جذب نمونه‌ها، A_b : جذب شاهد و A_c : جذب کنترل می‌باشد.

۲-۲-۹ بررسی رفتار رهائش کورکومین در شرایط شبیه سازی شده گوارشی

رفتار رهائش کورکومین در محیط شبیه‌سازی شده^{۳۴} دستگاه گوارش بر اساس روش مالتایز و همکاران (۲۰۰۹) با کمی اصلاحات مورد بررسی قرار گرفت [۲۴]. بطور خلاصه، ۳ میلی لیتر از هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه در داخل کیسه دیالیز (۱۲ کیلوالتون) ریخته شدند و با ۳ میلی لیتر مایع شبیه سازی شده معده (SGF^{35}) حاوی HCl ، $NaCl$ و آنزیم پیپسین (با غلظت $3/2 \text{ mg mL}^{-1}$) دارای $pH = 1/2$ مخلوط شد. سپس هر کیسه دیالیز در ۱۵۰ میلی لیتر محیط رهائش حاوی SGF و اتانول (بدون آنزیم) غوطه ور شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس همزنی شد. سپس، محتوای هر کیسه با ۶ میلی لیتر محیط شبیه سازی شده روده (SIF^{36}) شامل هیدروکسید سدیم، مونوبازیک پتاسیم فسفات و آنزیم پانکراتین (با غلظت 10 mg mL^{-1}) در $pH = 7/5$ مخلوط شد. هر کیسه دیالیز در داخل ۱۵۰ میلی لیتر محیط رهائش تازه حاوی SIF و اتانول (بدون آنزیم) غوطه ور شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴ ساعت همزنی شد. برای تعیین میزان رهائش، هر یک ساعت مقداری از محیط رهائشی که کیسه در آن غوطه‌ور بود برداشته شده و پس از تعیین جذب آن در ۴۲۰ نانومتر، به محیط رهائش برگردانده شد تا از تغییر حجم محیط رهائش جلوگیری شود. در نهایت برای محاسبه غلظت کورکومین رهائش یافته از نمودار استاندارد کورکومین استفاده شد.

۱۰-۲-۲ تجزیه و تحلیل داده ها

تحلیل و ارزیابی داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. برای تعیین معنی داری اختلاف موجود بین میانگین ها (سه تکرار)، از آنالیز یک

طرف واریانس (One-way ANOVA) به روش دانکن استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۱-۳ ترکیب شیمیایی و میزان بازده استخراج پروتئین ترکیب شیمیایی یک ماده غذایی، نقش مهمی در برآورد کیفیت تغذیه‌ای و موارد مصرف آن ماده در صنعت غذا دارد [۱۷]. ترکیب شیمیایی آرد و ایزوله پروتئین ماش در جدول ۱ آمده است. میزان رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و کربویدرات در آرد ماش به ترتیب ۸/۹۶٪، ۲۰/۰۷٪، ۱/۰۲٪، ۳۹/۳۹٪ و ۶۶/۵۶٪ و در ایزوله پروتئین ماش به ترتیب ۸۱/۱۳٪، ۱۹/۰۱٪، ۴/۰۲٪ و ۸/۸۵٪ به دست آمد. میزان چربی پایین تر در ایزوله به دلیل چربی گیری آرد قبل از فرایند استخراج پروتئین بوده است. اختلاف در میزان رطوبت می‌تواند ناشی از پروسه تولید ایزوله یا تفاوت در رطوبت نسبی محیط باشد. لی و همکاران (۲۰۱۰)، ۶۰ رقم ماش را مورد بررسی قرار داده و برای آرد آنها رطوبت ۸/۴۵-، ۷/۴۹-، پروتئین ۲۸/۵۰-۲۴/۲۶٪، چربی ۱/۸۶-۰/۵۷٪، خاکستر ۴/۲۴-۳/۶۴٪ و کربویدرات ۵۸/۶۹-۵۴/۲۵٪ را گزارش کردند. همچنین برای ایزوله پروتئین به دست آمده از رقم‌های مختلف، رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر را به ترتیب در دامنه‌های ۲۸/۹-۸/۲۰٪، ۷۳/۸۵-۶۹/۲۳٪، ۶۴/۰-۰/۳۶٪، ۳/۰۴-۲/۱۹٪ گزارش کردند. این پژوهشگران میزان بالای خاکستر ماش در مقایسه با بسیاری از حبوبات را به وجود املاح بالا در این دانه نسبت دادند. میزان بالاتر خاکستر در ایزوله نسبت به آرد ممکن است به دلیل تشکیل نمک به واسطه افزودن اسید و قلیا در حین فرایند تهیه ایزوله باشد [۲۵]. درصد بازده کل و درصد بازده پروتئین به ترتیب ۱۸٪ و ۷۲/۷۶٪ به دست آمد. بازده استحصال پروتئین به روش استخراج قلیایی- ترسیب ایزوالکتریکی و استخراج با نمک به ترتیب ۶۶/۵٪ و ۴۰/۹٪ توسط راهما و همکاران (۲۰۰۰) و برای این دو روش و ترکیب آنها با یکدیگر ۳۰/۴٪ تا ۶۷/۵٪ توسط ویترسول و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شده است [۲۶ و ۲۷].

Table 1. Proximate composition of mung bean flour and mung bean isolate

	Mung bean flour	Mung bean protein isolate
Moisture (%)	8.96±0.11	5.81±0.64
Protein (%)	20.07±1.29	81.13±1.17
Fat (%)	1.02±0.35	0.19±0.34
Ash (%)	3.39±0.56	4.02±0.52
Carbohydrate (%)	66.56±2.34	8.85±1.52

Each value in the table represents the mean± SD of triplicate determinations.

نتایج گزارش این محققین نشان داد که بالاترین درصد اسید آمینه‌های ماش گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید بوده که در راستای نتایج پژوهش ما می‌باشد. این دو اسید آمینه به اسید آمینه‌های شبه مونو سدیم گلوتامات معروف بوده که به هنگام تهیه غذا باعث ایجاد بوی لذت بخش و اشتها آور می‌شوند [۳۰].

۳-۳- تاثیر نسبت ایزوله پروتئین ماش- مالتو دکسترین (MPI-MD) بر روی درجه جایگزینی (DG)

درجه جایگزینی (گلیکوزیلاسیون) معیاری برای تخمین توسعه واکنش میلارد بوده و با توجه به تغییرات گروه‌های آمینی آزاد پروتئین، سنجیده می‌شود [۱۹]. درجه گلیکوزیلاسیون تیمارهای مختلف، در جدول ۳ نشان داده شده است. مزدوج‌ها DG بالاتری را نسبت به ایزوله پروتئین ماش نشان دادند. مقدار جزئی DG در ایزوله پروتئین ماش احتمالاً به دلیل وجود باقی مانده‌های کربوهیدراتی به هنگام تهیه ایزوله بوده است. با افزایش نسبت مالتو دکسترین، میزان DG افزایش یافت و بیانگر این مطلب بود که با افزایش نسبت کربوهیدرات، گروه‌های کربونیل احیا کننده بیشتری برای برهم کنش با آمین‌های پروتئین ماش فراهم شده و به دنبال آن، کاهش گروه‌های آمین آزاد و افزایش DG رخ داده است [۳۱]. گزو و همکاران (۲۰۱۳) مزدوج ایزوله پروتئین سویا با مالتو دکسترین و صمغ آکاسیا را به طور جداگانه تهیه کرده و پس از تعیین درجه جایگزینی هر کدام از مزدوج‌ها نشان دادند که سرعت واکنش پروتئین- مالتو دکسترین به طور قابل توجهی بالاتر از پروتئین- صمغ آکاسیا بود. این

۲-۳- تعیین ترکیب اسیدهای آمینه در ایزوله پروتئین ماش از آنجایی که رفتار پروتئین‌ها به میزان زیادی به ترکیب آمینو اسیدهای آن‌ها بستگی دارد، لذا در این پژوهش پروفایل آمینو اسیدهای ایزوله پروتئین ماش تعیین شد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، محتوای اسید آمینه آزاد کل ۶۲۵/۷۷ میلی گرم در گرم به دست آمد که ۳۱۲/۳۸ میلی گرم بر گرم آن آمینو اسیدهای آبدوست بوده و ۳۱۳/۳۹ میلی گرم بر گرم آمینو اسیدهای آبگریز بودند.

کودره و همکاران (۲۰۱۳) ترکیبات ایزوله پروتئین ماش را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش میزان پروتئین کل ۸۷/۸٪، میزان آمینو اسید کل ۸۰۰/۲ میلی گرم در گرم، آمینو اسیدهای ضروری ۴۳/۵٪ و محتوای آمینو اسیدهای گوگرد دار حدود ۱/۶٪ از کل آمینو اسیدها گزارش شده است [۲۸]. بریشتی و همکاران (۲۰۱۷) پروفایل آمینو اسیدهای ایزوله پروتئین ماش را با ایزوله پروتئین سویا مقایسه کردند. میزان آمینو اسیدهای آبدوست (۶۵۳/۶۸ میلی گرم بر گرم) و آبگریز (۴۹۳/۴ میلی گرم بر گرم) پروتئین ماش به طور معنی داری بیشتر از آمینو اسیدهای آبدوست (۵۶۸/۱۶ میلی گرم بر گرم) و آبگریز (۴۲۹/۴۷ میلی گرم بر گرم) پروتئین سویا گزارش شد. با این حال نسبت آمینو اسیدهای آبدوست به آبگریز در هر دو ایزوله تقریباً مشابه بود [۱۷]. داهیا و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی به مرور پتانسیل‌های تغذیه‌ای و تکنولوژیکی ماش پرداخته و اشاره کردند که در منابع مختلف، به دلیل تفاوت در رقم مورد آزمایش و روش‌های تعیین اسیدهای آمینه، مقادیر متفاوتی برای آمینو اسیدهای ماش گزارش شده است [۲۹]. از طرفی

پژوهشگران انعطاف پذیری^{۳۷} و حلالیت بالاتر مالتودکسترین در مقایسه با صمغ آکاسیا را در این تفاوت دخیل دانستند [۳۲].

فراصوت در مقایسه با تیمارهای تهیه شده به روش مرطوب، نشان دهنده تاثیر مثبت این امواج در بهبود واکنش میلارد بود [۱۴]. احتمالاً این امواج با ایجاد انرژی بالاتر در فراهم کردن آمین‌های آزاد بیشتر برای شرکت در واکنش میلارد، در این افزایش نقش داشته‌اند.

Table 2. Amino acid profile of mung bean flour and mung bean isolate

Amino acids		mg/g of protein
Hydrophilic	Aspartic acid	68.57±1.23
	Glutamic acid	126.34±0.36
	Histidine	21.1±3.01
	Arginine	37.83±1.67
	Threonine	29.2±2.03
	Tyrosine	29.34±3.12
Total		312.38
Hydrophobic	Glycine	25.32±1.63
	Alanine	28.31±0.12
	Proline	36.84±1.04
	Valine	25.16±2.11
	Methionine	10.27±2.26
	Cysteine	4.14±1.19
	Isoleucine	19.13±3.42
	Leucine	31.84±1.32
	Phenylalanine	33.68±1.89
Total		313.39

Data are expressed as the mean of tow replicate± SD

عنوان مهمترین عامل در توسعه میلارد در نظر گرفته شده است. کاویتاسیون با بازتر کردن ساختمان در هم تنیده پروتئین، باعث در معرض قرار گرفتن گروههای درونی مدفون شده در داخل ساختار زنجیره پروتئین شده و به این ترتیب در فراهم کردن گروههای آمینی بیشتر و بهبود واکنش میلارد ایفای نقش می‌کند.

ایزوله پروتئین نخود- گلوکومانان [۳۳]، ایزوله پروتئین ماش- گلوکز [۱۴]، بتا- کانگلیسنین^{۳۸}- مالتودکسترین [۳۴]، ایزوله پروتئین لوبیای سیاه- گلوکز [۳۵] و کیتوسان- فروکتوز [۳۶] مثال‌هایی از جفت واکنشگرها در واکنش میلارد هستند که به تاثیر بالاتر امواج فراصوت در مقایسه با روش مرطوب جهت بهبود درصد گلیکوزیلاسیون اشاره داشته‌اند. در تمامی این پژوهش‌ها، پدیده کاویتاسیون^{۳۹} به

Table 3. Influence of different glycation methods (U and W) on the degree of graft (DG) in controls (U-MPI and W-MPI) and various of MP: MD ratios.

Treatments	U-MPI	U11	U1 1.5	U12	W-MPI	W11	W1 1.5	W12
39- cavitation								
					37 -Flexibility			
					38 -β- conglycinic			

DG values	2.24±0.03 ^e	33.02±1.58 ^c	35.61±0.71 ^b	38.73±1.57 ^a	2.20±0.02 ^e	29.06±0.02 ^d	29.75±0.36 ^d	33.64±0.77 ^c
-----------	------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------	------------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------------

Results having different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Each value in the table represents the mean± SD of triplicate determinations

روش مرطوب بود. این نتایج در راستای نتایج چن و همکاران (۲۰۱۹) و ژانگ و همکاران (۲۰۱۴) بوده و احتمالاً به دلیل کاهش واکنش‌های جانبی در مسیر واکنش میلارد با امواج فراصوت می‌باشد. در واقع این امواج با کاهش پلیمریزاسیون محصولات میانی و دخالت در تشکیل محصولات نهایی میلارد سرعت و میزان قهوه‌ای شدن را تحت تاثیر قرار داده اند [۳۱ و ۳۴]. بر خلاف این نتایج، وانگ و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند شدت قهوه‌ای شدن تیمارهای تهیه شده با امواج فراصوت بیشتر از تیمارهای تهیه شده به روش مرطوب بوده و این نتیجه را به افزایش مقطعی دمای محلول‌ها و افزایش میزان ملانوئیدین پس از استفاده از امواج فراصوت نسبت دادند [۱۴].

۴-۳- تخمین میزان محصولات پایانی میلارد به روش طیفسنجی واکنش میلارد مجموعه‌ای از واکنش‌های پیچیده است که به واسطه پیوندهای کووالانسی بین گروه‌های آمین و کربونیل رخ می‌دهد. مرحله نهایی واکنش به تشکیل پلیمرها و کوبلیمرهای نیتروژنی قهوه‌ای رنگ منجر شده که ملانوئیدین نامیده می‌شوند [۱۲]. میزان پیشرفت محصولات پایانی واکنش میلارد با اندازه گیری جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر (A420) پایش شد [۳۷، ۳۸ و ۳۹]. در هردو گروه، جذب محلول‌های مزدوج در مقایسه با نمونه کنترل افزایش یافت (جدول ۴). در نسبت یکسان پروتئین به مالتودکسترین، شدت قهوه‌ای شدن در تیمارهای تهیه شده با امواج فراصوت کمتر از تیمارهای تهیه شده به

Table 4. Influence of different glycation methods (U and W) on the absorbance at 420 nm as indicator of advanced stage of maillard reaction in controls (U-MPI and W-MPI) and various of MP: MD ratios.

Treatments	U-MPI	U11	U1 1.5	U12	W-MPI	W11	W1 1.5	W12
A 420	0.02±0.001 ^e	0.20±0.003 ^d	0.23±0.002 ^c	0.23±0.005 ^c	0.02±0.001 ^e	0.23±0.003 ^c	0.26±0.002 ^b	0.28±0.002 ^a

Results having different letters are significantly different ($p < 0.05$)

Each value in the table represents the mean± SD of triplicate determinations

مقایسه با روش متداول، به طور معنی داری باعث افزایش کارایی و ظرفیت بارگذاری درونپوشانی شد. پنگ و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تاثیر روش تغییر پی اچ برای تولید نانو ذرات با چهار بیوپلیمر کازئینات، پروتئین‌های سرمی شیر، پروتئین سویا و صمغ عربی بارگذاری شده با کورکومین پرداخته و به نقش این روش در ایجاد کارایی درونپوشانی و میزان بارگذاری بالا اشاره کردند [۲۱]. جیانگ و همکاران (۲۰۱۷) افزایش قدرت یونی محیط در پی‌اچ‌های به شدت قلیایی یا اسیدی را در افزایش حلالیت، کاهش برخی از برهم‌کنش‌های زنجیره‌های جانبی^۴ و افزایش انعطاف پذیری مولکول پروتئین موثر دانسته و برای چنین پروتئینی اصطلاح گلوبول مذاب^۱ (MG) را بکار برده‌اند

۵-۳- نتایج کارایی درونپوشانی (EE) و میزان بارگذاری (LC) با توجه به نتایج به دست آمده از درصد مزدوج سازی و تخمین محصولات نهایی میلارد توسط اسپکتروفوتومتر، تیمار ایزوله پروتئین ماش- مالتودکسترین به نسبت ۱ به ۲ (U12) ، به عنوان تیمار بهینه انتخاب شده و جهت بارگذاری کورکومین مورد استفاده قرار گرفت. به منظور ارزیابی پروتئین ماش و مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین برای بارگذاری کورکومین به عنوان یک ترکیب فعال بیولوژیکی، کارایی درونپوشانی و میزان بارگذاری نمونه‌ها تعیین شد. همانطور که در جدول ۵ آمده است، روش تغییر پی اچ در

کارایی درونپوشانی و میزان بارگذاری بالاتری نسبت به تیمار دیگر نشان داد. هی و همکاران (۲۰۲۱) برای مزدوج ایزوله پروتئین سویا- دکستران، EE و LC بالاتری را نسبت به ایزوله پروتئین سویا در بارگذاری کورکومین گزارش کردند [۱۵]. نقش امواج فراصوت بر روی تغییر در ساختار اولیه پروتئین و احتمالاً تاثیر بر روی میزان کورکومین محصور شده را نیز نباید از نظر دور داشت.

در پژوهش حاضر، سه غلظت مختلف از کورکومین در نظر گرفته شد و برای هر کدام از تیمارها، درصد EE و LC به طور جداگانه محاسبه گردید. بالاترین درصد کارایی مربوط به غلظت ۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر کورکومین بود. لذا برای انجام سایر آزمونها، تیمار PCC (نانو ذرات مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین تهیه شده به روش تغییر پی اچ) و غلظت ۰/۴ میلی گرم بر میلی لیتر کورکومین در نظر گرفته شد. به منظور مقایسه بهتر، تیمار PCM (نانو ذرات پروتئین ماش تهیه شده با روش تغییر پی اچ) هم مورد بررسی قرار گرفت.

[۴۰]. در pH های قلیایی ($pH < 8$) با دپروتونه شدن گروه-های هیدروکسیل کورکومین و افزایش چگالی بار منفی در محیط، حلالیت کورکومین به طور قابل توجهی افزایش می-یابد. چنانچه در این شرایط پروتئین های ساختار گسیخته نیز در محیط وجود داشته باشند، سامانه ای از پروتئین ها و کورکومین های محلول^{۲۲} در مجاورت یکدیگر قرار می گیرند. مولکول کورکومین در چنین سامانه ای برای به حداقل رساندن ارتباط خود با مولکول های آب، به سمت قسمت های مرکزی تر پروتئین (که آبگریزتر هستند) متمایل می شود. با کاهش pH و سوق دادن آن به سمت خنثی، مولکول های پروتئین تمایل به بازگشت به حالت تا خورده اولیه را داشته و تحت یک فرآیند خودتجمعی^{۲۳} دچار تغییرات جدیدی در ساختار می شوند. به این ترتیب حین این تغییرات، مولکول های کورکومین در درون ساختار پروتئین ها به دام افتاده و محصور می شوند [۱۵ و ۲۱]. بر اساس نتایج جدول ۵، علاوه بر روش بارگذاری، مزدوج سازی نیز تاثیر معنی داری بر روی پارامترهای درونپوشانی داشته و تیمار تهیه شده از مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین به روش تغییر پی اچ،

Table 5. Effect of curcumin concentration and loading method on the encapsulation efficiency (EE) and loading capacity (LC)

Curcumin concentration (mg mL ⁻¹)	EE (%)				LC (%)			
	PCC	PCM	CCC	CCM	PCC	PCM	CCC	CCM
0.2	57.46 ± 0.23 ^a	52.51 ± 1.07 ^a	17.25 ± 0.39 ^a	8.32 ± 0.13 ^b	1.15 ± 0.03 ^a	1.05 ± 0.02 ^a	0.34 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a
0.4	66.18 ± 1.15 ^c	63.03 ± 1.12 ^c	20.27 ± 0.12 ^c	11.78 ± 0.06 ^c	2.64 ± 0.12 ^b	2.52 ± 0.11 ^b	0.81 ± 0.07 ^b	0.47 ± 0.02 ^c
0.6	59.23 ± 2.46 ^b	59.18 ± 0.98 ^b	19.25 ± 0.84 ^b	7.07 ± 0.21 ^a	3.55 ± 0.31 ^c	3.55 ± 0.07 ^c	1.15 ± 0.30 ^c	0.42 ± 0.02 ^b

Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p < 0.05$).

درونپوشانی و میزان بارگذاری بالاتر کورکومین در نمونه PCC باشد. فن و همکاران (۲۰۱۸) افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی مزدوج سرم آلبومین گاوی- دکستران را پس از بارگذاری با کورکومین گزارش کردند. این پژوهشگران افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی را به وجود کورکومین به عنوان مهار کننده رادیکال های آزاد، کاهنده یون های فلزی، و ممانعت کننده از پراکسیداسیون لیپیدها نسبت دادند [۴۱].

۶-۳- نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی
به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها، آزمون مهارکنندگی رادیکال DPPH مورد استفاده قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده، بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال ها مربوط به ترکیب کورکومین- مزدوج بوده که با روش تغییر pH آماده سازی شده بود (PCC). فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر PCC در مقایسه با PCM (کورکومین- ایزوله پروتئین ماش)، می تواند به دلیل کارایی

افزایش شدت جذب در ناحیه وسیع $3670-3300\text{ cm}^{-1}$ و تغییر در شدت پیک های ناحیه $2947-2889\text{ cm}^{-1}$ را نشان داده و به نقش پیوندهای هیدروژنی در ترکیب مزدوج MD-MPI اشاره دارد. همچنین جابجایی پیکهای آمید I و II به ترتیب از 1649 cm^{-1} و 1643 cm^{-1} به 1546 cm^{-1} و 1544 cm^{-1} به نقش برهمکنش های آبریز و جاذبه الکترواستاتیکی در شکل گیری ترکیب مزدوج اشاره دارد.

در شکل ۲ گروه های عملکردی مختلف کورکومین آزاد، پیک های خاص متنوعی را نمایش می دهند که پس از اتصال به پروتئین ماش و ترکیب مزدوج MD-MPI ناپدید شدند. زمانی که کورکومین در داخل ساختار پروتئین ماش پوشانده شد، یک دگرگونی (تغییر) در پیکها از 1649 cm^{-1} ، 1546 cm^{-1} ، 1404 cm^{-1} و 3464 cm^{-1} در MPI به ترتیب به 1635 cm^{-1} ، 1531 cm^{-1} ، 1417 cm^{-1} و 3460 cm^{-1} در PCM مشاهده شد. مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین با نسبت ۲ به ۱ (U12) پس از بارگذاری با کورکومین به روش تغییر pH، (PCC)، دچار تغییرات اندکی شد. پیکها از 1643 cm^{-1} ، 1544 cm^{-1} ، 1384 cm^{-1} و 3435 cm^{-1} در U12 به ترتیب در نواحی حدود 1639 cm^{-1} ، 1541 cm^{-1} ، 1381 cm^{-1} و 3439 cm^{-1} در PCC مشاهده شدند. تغییرات فوق نشان داد که کورکومین توانسته از طریق برهمکنش های ساختار نانو ذرات انکپسوله شود. همچنین نتایج نشان داد که در PCM، نقش برهمکنش های آبریز و جاذبه الکترواستاتیکی نسبت به پیوندهای هیدروژنی غالب تر بوده است، اما در PCC تقریباً تمام نیروهای فوق به نسبت یکسان در شکل گیری نانو ذرات بارگذاری شده با کورکومین نقش داشته اند. در راستای نتایج بدست آمده، لیو و همکاران (۲۰۱۷) برای ترکیب کورکومین - اووآلبومین گزارش کردند که برهمکنش های آبریز و پیوندهای هیدروژنی، بیشترین برهمکنش های ممکن در فرآیند اتصال کورکومین به پروتئینها بودند [۴۵]. جیو و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که در درونپوشانی کورکومین با مزدوج پروتئین نخود- پکتین، پیوندهای هیدروژنی، برهمکنش های آبریز و جاذبه

ایزوله پروتئین ماش (MPI) خصوصیات آنتی اکسیدانی کمی را از خود نشان داد. پروتئینها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند که میزان آن با منبع پروتئین، میزان و ترکیب اسیدهای آمینه در ارتباط است [۲۳]. به خاصیت آنتی اکسیدانی اسید آمینه های آبریز موجود در پروتئینها نیز در برخی منابع اشاره شده است [۴۲]. مزدوج ایزوله پروتئین ماش- مالتودکسترین (U12)، فعالیت مهارکنندگی رادیکال بالاتری را در مقایسه با ایزوله پروتئین ماش نشان داد. در تطابق با نتایج این پژوهش، گو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که مزدوج کازئین- گلوکز خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به کازئین داشته است [۴۳]. فعالیت مهارکنندگی بالاتر مزدوج نسبت به پروتئین را می توان به تشکیل برخی از محصولات آنتی اکسیدان در واکنش میلارد نسبت داد [۴۴].

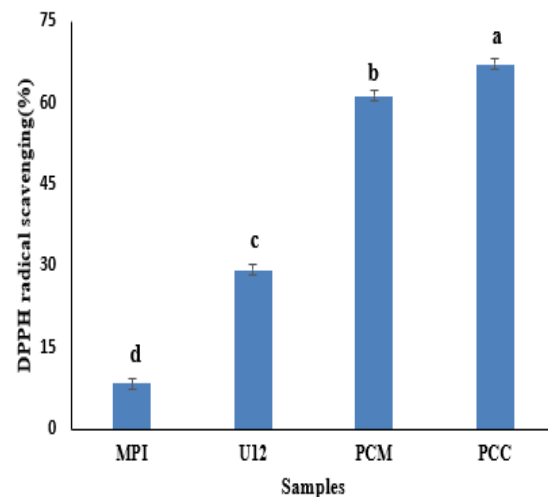


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of different samples including mung bean protein isolate (MPI), ultrasound- assisted maillard reaction with the ratio 1 to 2 of MPI to MD (U12), pH-shifted curcumin- Mung bean isolate (PCM) and pH-shifted curcumin-conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin (PCC)

۷-۳- نتایج طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) جهت مطالعه برهمکنش ها میان کورکومین و ایزوله پروتئین ماش (PCM) و کورکومین و مزدوج پروتئین ماش - مالتودکسترین (PCC) تهیه شده به روش تغییر پی اچ، آنالیز طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه مورد استفاده قرار گرفت. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، مقایسه بین پیک های اصلی در MPI و U12 جابجایی پیک 3464 cm^{-1} و

دادند که پیوندهای هیدروژنی، برهمکنش‌های آبگریز و جاذبه الکترواستاتیکی در تشکیل ترکیب نهایی موثر بوده اند[۴۷].

الکترواستاتیکی نقش داشته و نقش دو نیروی اول غالب تر بوده است[۴۶]. جیو و همکاران (۲۰۲۱) ترکیب پروتئین نخود- پکتین با درجه متوکسیله بالا- رامنولپید را برای ریزپوشانی کورکومین و رزوراترول تهیه کرده و گزارش

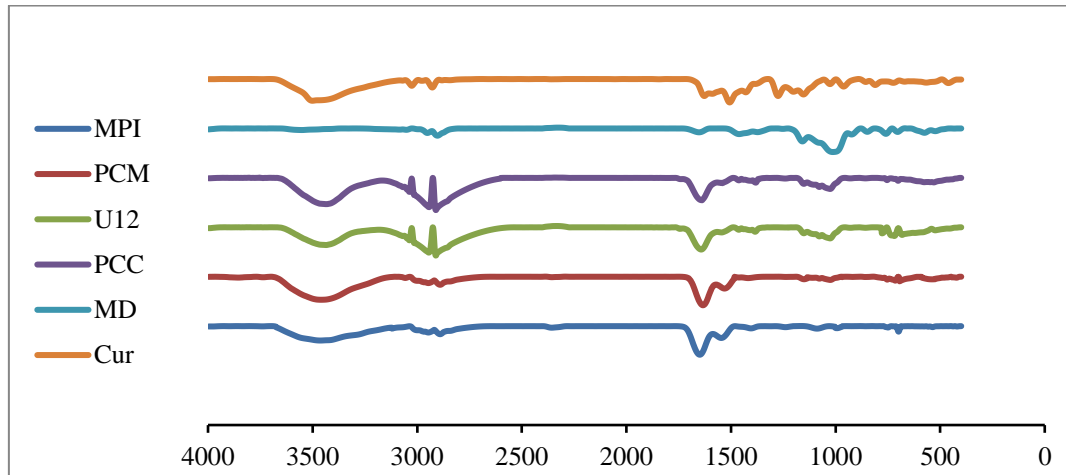


Fig. 2. FT-IR spectra of different samples including mung bean protein isolate (MPI), ultrasound- assisted maillard reaction with the ratio 1 to 2 of MPI to MD (U12), pH-shifted curcumin- Mung bean isolate (PCM) and pH-shifted curcumin- conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin (PCC), free curcumin (Cur) and maltodextrin (MD)

باشد[۴۸]. احتمالاً این امر در شاخص بس پراکندگی بالاتر این تیمار در مقایسه با PCM نیز نقش داشته است. فن و همکاران (۲۰۱۸) برای بارگذاری کورکومین از مزدوج سرم آلبومین گاوی- دکستران تهیه شده به روش میلارد خشک استفاده کردند. این محققین نشان دادند که اندازه ذرات پس از بارگذاری با کورکومین افزایش یافت[۴۱]. ها و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند اندازه نانو ذرات تهیه شده از پلیمرهای طبیعی برای بارگذاری کورکومین، از اندازه کورکومین کوچکتر بوده و این امر را به نقش پلیمرهای آبدوست در جلوگیری از تجمع^{۴۵} کورکومین آبگریز نسبت دادند[۴۹]. در پژوهش انجام شده توسط جیو و همکاران (۲۰۲۰) اندازه نانو ذرات ایزوله پروتئین نخود- دکستران حامل کورکومین، ۵۵۹/۲۰ نانومتر و پتانسیل زتا ۱۴/۸۰- تعیین شد[۴۶].

۳-۸ - اندازه و توزیع اندازه ذرات

در جدول ۶ نشان داده شده که قطر میانگین ذرات در PCC از ذرات PCM بزرگتر بوده است. این اختلاف به دلیل وجود مالتودکسترین به عنوان پوشش ثانویه بر روی ذرات پروتئینی می‌باشد. میانگین قطر ذرات در MPI و U12 به ترتیب حدود ۱۲۷/۳۳ و ۱۶۷/۰ نانومتر بوده (نتایج DLS نشان داده نشده است) و پس از بارگذاری با کورکومین نیز بالاتر بودن اندازه متوسط ذرات تشکیل شده از تیمار مزدوج دور از انتظار نبود. ژانگ و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که ذرات بتا کان گلیسنین سویا- دکستران دارای اندازه بزرگتری نسبت به ذرات بتا کانگلیسنین بودند[۳۴]. پتانسیل زتا در PCC نسبت به PCM کمتر بوده که این تفاوت می‌تواند به دلیل وجود مالتودکسترین در اطراف پروتئین‌ها و ایفای نقش آن به عنوان حائل استری^{۴۴} در کاهش اثر بار سطحی با فاز پیوسته اطراف

Table 6. Z-average, polydispersity index and ζ - potential of pH-shifted curcumin- Mung bean isolate (PCM) and pH-shifted curcumin- conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin (PCC)

Particles	Z-average(nm)	PDI	ζ - potential
PCC	195.7±1.64	0.31±0.01	-12.8±0.8
PCM	165.2±2.11	0.29 ±0.01	-13.8 ± 0.2

مالتودکسترین باعث شده، کورکومین در PCC رفتار رهایش کنترل شده تری را در طی هضم گوارشی در مقایسه با PCM نشان دهد. نتایج این آزمون نشان داد که درونپوشانی کورکومین در ترکیب مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین با روش تغییر pH، یک روش مناسب برای کنترل رهایش چنین ترکیبات چربی دوستی می‌باشد. نتایج حاصل در راستای نتایج پاسکالو و همکاران (۲۰۱۶) می‌باشند که از میکروکپسول‌های چندلایه سرم آلبومین گاوی/پلی‌ساکاریدها به عنوان سیستم حمل کورکومین استفاده کردند و به تاثیر درون پوشانی کورکومین با استفاده از غشاهای چند لایه در رهایش کنترل شده اشاره کردند [۵۰]. جیو و همکاران (۲۰۲۰) به رهایش کنترل شده کورکومین در مزدوج ایزوله پروتئین نخود- پکتین طی آزمون هضم تقلیدی اشاره کردند و نشان دادند در طول ۱۸۰ دقیقه حضور ترکیب در شرایط هضم، رهایش کورکومین به آهستگی و کنترل شده رخ داد [۴۶]. مینا و همکاران (۲۰۲۱) کورکومین را در مزدوج کنسانتره پروتئین های سرمی- مالتودکسترین بارگذاری کرده و نشان دادند که پس از دو ساعت هضم در شرایط شبیه سازی شده معده، مقدار کمی از کورکومین (۱۲٪/۰۱) رهایش یافت. این پژوهشگران وجود لایه ضخیمی از مالتودکسترین در اطراف ذرات حامل را عامل مقاومت آنها در برابر متلاشی شدن در شرایط اسیدی معده عنوان کردند [۵۱].

۳-۹- نتایج آزمون رهایش برون تنی رفتار رهایش در شرایط برون تنی نمونه‌های حاوی کورکومین (PCM و PCC) تحت شرایط هضم متوالی شبیه سازی شده گوارشی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به شکل ۳، پس از ۲ ساعت هضم در شرایط معده و با حضور پپسین، درصد رهایش تجمعی کورکومین در نمونه PCC و PCM به ترتیب ۳۰٪/۲۴ و ۵۱٪/۳۴ بود. پس از ۶ ساعت هضم (۲ ساعت در SGF و ۴ ساعت در SIF)، میزان کورکومین رهایش یافته برای PCC و PCM به ترتیب ۹۳٪/۷۹ و ۳۱٪/۹۳ گزارش شد. نتایج نشان دادند که کورکومین انکپسوله شده در PCC رهایش آهسته تری نسبت به نمونه PCM در هر دو محیط SGF و SIF در طی آزمون رهایش داشت. در واقع، درونپوشانی کورکومین در مزدوج پروتئین ماش- مالتودکسترین با روش تغییر pH، به دلیل ممانعت فضایی ایجاد شده توسط مولکول‌های مالتودکسترین باعث کاهش دسترسی آنزیم‌ها به جایگاه واکنش پذیر شده و از این طریق منجر به تفاوت در هضم پذیری شده و ترکیب را در برابر آنزیم‌های گوارشی مانند پپسین و پانکراتین و همچنین شرایط سخت هضم مقاومتر کرده است. این موضوع به این دلیل است که پروتئین‌هایی که در سیکل تغییر پی اچ، مجدداً تا خورده‌اند و کورکومین را احاطه کرده اند ساختار فشرده‌ای داشته که قادرند کورکومین را به مدت طولانی در داخل ساختارشان نگه دارند و وجود پوشش دومی از جنس

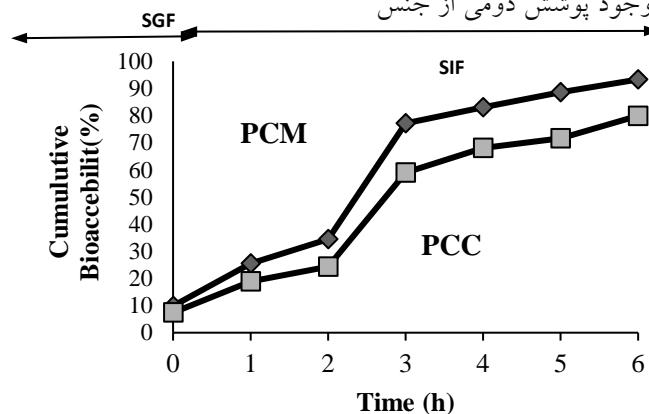


Fig. 3. Profiles of curcumin *in vitro* release from, pH-shifted curcumin- Mung bean isolate (PCM) and pH-shifted curcumin- conjugated Mung bean isolate- Maltodextrin (PCC) under simulated gastrointestinal condition

۴- نتیجه گیری

بارگذاری کورکومین در مزدوج ایزوله پروتئین ماش- مالتودکسترین نسبت به ایزوله پروتئین ماش بیشتر بود. درونپوشانی کورکومین در ترکیب مزدوج نسبت به ایزوله پروتئین به تنهایی، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر و رهایش آهسته تر در محیط شبیه سازی شده گوارشی نشان داد.

۵- منابع

- [1] Labban, L. (2014). Medicinal and pharmacological properties of Turmeric (*Curcuma longa*): A review. *Int J Pharm Biomed Sci*, 5(1), 17-23.
- [2] Serri, C., Argirò, M., Piras, L., Mita, D. G., Saija, A., Mita, L., Forte, M., Giarra, S., Biondi, M., Crispi, S., & Mayol, L. (2017). Nano-precipitated curcumin loaded particles: effect of carrier size and drug complexation with (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin on their biological performances. *International Journal of Pharmaceutics*, 520(1-2), 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.049>.
- [3] Chen, F. P., Li, B. S., & Tang, C. H. (2015). Nanocomplexation between Curcumin and Soy Protein Isolate: Influence on Curcumin Stability/Bioaccessibility and in Vitro Protein Digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(13), 3559-3569. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00448>.
- [4] Yu, H., & Huang, Q. (2010). Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch. *Food Chemistry*, 119(2), 669-674. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.018>.
- [5] Ghayour, N., Hosseini, S. M. H., Eskandari, M. H., Esteghlal, S., Nekoei, A. R., Hashemi Gahrue, H., Tatar, M., & Naghibalhossaini, F. (2019). Nanoencapsulation of quercetin and curcumin in casein-based delivery systems. *Food Hydrocolloids*, 87, 394-403. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.031>.
- [6] Du, M., Xie, J., Gong, B., Xu, X., Tang, W., Li, X., Li, C., & Xie, M. (2018). Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein. *Food Hydrocolloids*, 76, 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.003>.
- [7] Hou, D., Yousaf, L., Xue, Y., Hu, J., Wu, J., Hu, X., Feng, N., & Shen, Q. (2019). Mung bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive polyphenols, polysaccharides, peptides, and health benefits. *Nutrients*, 11(6), 1238. <https://doi.org/10.3390/nu11061238>.
- [8] Palomino, E. (1994). "Carbohydrate handles" as natural resources in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 13(3), 311-323. [https://doi.org/10.1016/0169-409X\(94\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0169-409X(94)90017-5).
- [9] Kumar, S., & Yadav, S. S. (2018). Effect of Phosphorus Fertilization and Bio-organics on Growth,

نسبت پروتئین به مالتودکسترین و روش انجام واکنش میلارد، درصد مزدوج سازی و میزان محصولات نهایی میلارد را تحت تاثیر قرار داده و در اینجا بیشترین درصد مزدوج سازی و کمترین میزان ملانوئیدین در تیمار تهیه شده با امواج فراصوت و در نسبت ۱ به ۲ از ایزوله پروتئین به مالتودکسترین حاصل شد. بازده ریزپوشانی و میزان Yield and Nutrient Content of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)]. *Res J Agric Sci*, 9(6), 1252-1257.

- [10] Sekhavat, R., Ghanbari, D & Mirzashahi, K. (2018). Instructions for planting, keeping and harvesting mung bean in Khuzestan. Publication of the Agricultural Research, Education and Promotion Organization. Page 23.
- [11] Wei, Z., & Huang, Q. (2019). Assembly of Protein-Polysaccharide Complexes for Delivery of Bioactive Ingredients: A Perspective Paper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(5), 1344-1352. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06063>.
- [12] de Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. dos 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. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755669>.
- [13] Shishir, M. R. I., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 34-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018>.
- [14] Wang, Z., Han, F., Sui, X., Qi, B., Yang, Y., Zhang, H., Wang, R., Li, Y., & Jiang, L. (2016). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiata* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico-chemical properties of conjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5), 1532-1540. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7255>.
- [15] Pan, K., Chen, H., Baek, S. J., & Zhong, Q. (2018). Self-assembled curcumin-soluble soybean polysaccharide nanoparticles: Physicochemical properties and in vitro anti-proliferation activity against cancer cells. *Food Chemistry*, 246(October 2017), 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.002>.
- [16] He, W., Tian, L., Zhang, S., & Pan, S. (2021). A novel method to prepare protein-polysaccharide conjugates with high grafting and low browning: Application in encapsulating curcumin. *Lwt*, 145(December 2020), 111349. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111349>.

- [17] Brishti, F. H., Zarei, M., Muhammad, S. K. S., Ismail-Fitry, M. R., Shukri, R., & Saari, N. (2017). Evaluation of the functional properties of mung bean protein isolate for development of textured vegetable protein. *International Food Research Journal*, 24(4), 1595–1605.
- [18] Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Wang, B., & Adhikari, B. (2016). Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. *Food Chemistry*, 197, 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.106>.
- [19] Zhuo, X. Y., Qi, J. R., Yin, S. W., Yang, X. Q., Zhu, J. H., & Huang, L. X. (2013). Formation of soy protein isolate-dextran conjugates by moderate Maillard reaction in macromolecular crowding conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 316–323. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5760>.
- [20] Dong, S., Panya, A., Zeng, M., Chen, B., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2012). Characteristics and antioxidant activity of hydrolyzed β -lactoglobulin-glucose Maillard reaction products. *Food Research International*, 46(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.022>.
- [21] Peng, S., Zhou, L., Cai, Q., Zou, L., Liu, C., Liu, W., & McClements, D. J. (2020). Utilization of biopolymers to stabilize curcumin nanoparticles prepared by the pH-shift method: Caseinate, whey protein, soy protein and gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 107(April), 105963. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105963>.
- [22] Karbasi, M., Askari, G., & Madadlou, A. (2021). Effects of acetyl grafting on the structural and functional properties of whey protein microgels. *Food Hydrocolloids*, 112(October 2020), 106443. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106443>.
- [23] Yi, J., Fan, Y., Zhang, Y., Wen, Z., Zhao, L., & Lu, Y. (2016). Glycosylated α -lactalbumin-based nanocomplex for curcumin: Physicochemical stability and DPPH-scavenging activity. *Food Hydrocolloids*, 61, 369–377. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.036>
- [24] Maltais, A., Remondetto, G. E., & Subirade, M. (2009). Soy protein cold-set hydrogels as controlled delivery devices for nutraceutical compounds. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1647–1653. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.12.006>.
- [25] Li, W., Shu, C., Yan, S., & Shen, Q. (2010). Characteristics of sixteen mung bean cultivars and their protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(6), 1205–1211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02259.x>.
- [26] Rahma, E. H., Dudek, S., Mothes, R., Görnitz, E., & Schwenke, K. D. (2000). Physicochemical characterization of mung bean (*Phaseolus aureus*) protein isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(4), 477–483. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(200003\)80:4<477:AID-JSFA553>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(200003)80:4<477:AID-JSFA553>3.0.CO;2-0)
- [27] Wintersohle, C., Kracke, I., Ignatzy, L. M., Etbach, L., & Schweiggert-Weisz, U. (2023). Physicochemical and chemical properties of mung bean protein isolate affected by the isolation procedure. *Current Research in Food Science*, 100582.
- [28] Kudre, T. G., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2013). Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean, black bean and bambara groundnut. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2429–2436. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6052>.
- [29] Dahiya, P. K., Linnemann, A. R., Van Boekel, M. A. J. S., Khetarpaul, N., Grewal, R. B., & Nout, M. J. R. (2015). Mung Bean: Technological and Nutritional Potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 670–688. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.671202>.
- [30] Zhang, Y., Venkatasamy, C., Pan, Z., & Wang, W. (2013). Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 33(2), 78–92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.002>.
- [31] Chen, W., Ma, X., Wang, W., Lv, R., Guo, M., Ding, T., Ye, X., Miao, S., & Liu, D. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 95, 298–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.030>.
- [32] Xue, F., Li, C., Zhu, X., Wang, L., & Pan, S. (2013). Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction. *Food research international*, 51(2), 490-495.
- [33] Li, C., Huang, X., Peng, Q., Shan, Y., & Xue, F. (2014). Physicochemical properties of peanut protein isolate-glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(5), 1722–1727. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.018>.
- [34] Zhang, B., Chi, Y. J., & Li, B. (2014). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between β -conglycinin and maltodextrin and on the emulsifying properties of conjugates. *European Food Research and Technology*, 238(1), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2082-y>.
- [35] Jin, H., Zhao, Q., Feng, H., Wang, Y., Wang, J., Liu, Y., Han, D., & Xu, J. (2019). Changes on the structural and physicochemical properties of conjugates prepared by the Maillard reaction of black bean protein isolates and glucose with ultrasound pretreatment. *Polymers*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/polym11050848>.
- [36] Zhang, H., Yang, J., & Zhao, Y. (2015). High intensity ultrasound assisted heating to improve solubility, antioxidant and antibacterial properties of chitosan-fructose Maillard reaction products. *LWT -*

- Food Science and Technology*, 60(1), 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.050>.
- [37] Abdelhedi, O., Mora, L., Jemil, I., Jridi, M., Toldrá, F., Nasri, M., & Nasri, R. (2017). Effect of ultrasound pretreatment and Maillard reaction on structure and antioxidant properties of ultrafiltrated smooth-hound viscera proteins-sucrose conjugates. *Food Chemistry*, 230, 507–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.05>
- [38] Li, H., Tang, X. Y., Wu, C. J., & Yu, S. J. (2019). Formation of 2,3-dihydro-3,5-Dihydroxy-6-Methyl-4(H)-Pyran-4-One (DDMP) in glucose-amino acids Maillard reaction by dry-heating in comparison to wet-heating. *Lwt*, 105(February), 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.015>.
- [39] Zhou, L., Wu, F., Zhang, X., & Wang, Z. (2017). Structural and functional properties of Maillard reaction products of protein isolate (mung bean, *Vigna radiate* (L.)) with dextran. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1246–1258. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1338727>.
- [40] Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T. M., Almajwal, A., Abulmeaty, M. M., & Feng, H. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38(January), 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.046>
- [41] Fan, Y., Yi, J., Zhang, Y., & Yokoyama, W. (2018). Fabrication of curcumin-loaded bovine serum albumin (BSA)-dextran nanoparticles and the cellular antioxidant activity. *Food Chemistry*, 239, 1210–1218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.075>.
- [42] Sonklin, C., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., & Ratanakhanokchai, K. (2018). Volatile flavour compounds, sensory characteristics and antioxidant activities of mungbean meal protein hydrolysed by bromelain. *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 265–277. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2935-7>.
- [43] Gu, F. L., Kim, J. M., Abbas, S., Zhang, X. M., Xia, S. Q., & Chen, Z. X. (2010). Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein-glucose. *Food Chemistry*, 120(2), 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.044>.
- [44] Zhang, X., Li, X., Liu, L., Wang, L., Massounga Bora, A. F., & Du, L. (2020). Covalent conjugation of whey protein isolate hydrolysates and galactose through Maillard reaction to improve the functional properties and antioxidant activity. *International Dairy Journal*, 102, 104584. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104584>.
- [45] Liu, Y., Ying, D., Cai, Y., & Le, X. (2017). Improved antioxidant activity and physicochemical properties of curcumin by adding ovalbumin and its structural characterization. *Food Hydrocolloids*, 72, 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.007>
- [46] Guo, Q., Su, J., Shu, X., Yuan, F., Mao, L., Liu, J., & Gao, Y. (2020). Production and characterization of pea protein isolate-pectin complexes for delivery of curcumin: Effect of esterified degree of pectin. *Food Hydrocolloids*, 105(17), 105777. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105777>
- [47] Guo, Q., Shu, X., Hu, Y., Su, J., Chen, S., Decker, E. A., & Gao, Y. (2021). Formulated protein-polysaccharide-surfactant ternary complexes for co-encapsulation of curcumin and resveratrol: Characterization, stability and in vitro digestibility. *Food Hydrocolloids*, 111(17), 106265. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106265>.
- [48] Yi, J., Lam, T. I., Yokoyama, W., Cheng, L. W., & Zhong, F. (2014). Controlled release of β -carotene in β -lactoglobulin-dextran-conjugated nanoparticles" in vitro digestion and transport with caco-2 monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(35), 8900–8907. <https://doi.org/10.1021/jf502639k>.
- [49] Ha, P. T., Le, M. H., Hoang, T. M. N., Le, T. T. H., Duong, T. Q., Tran, T. H. H., Tran, D. L., & Nguyen, X. P. (2012). Preparation and anti-cancer activity of polymer-encapsulated curcumin nanoparticles. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3(3). <https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/3/035002>
- [50] Paşcalău, V., Soritau, O., Popa, F., Pavel, C., Coman, V., Perhaita, I., Borodi, G., Dirzu, N., Tabaran, F., & Popa, C. (2016). Curcumin delivered through bovine serum albumin/polysaccharides multilayered microcapsules. *Journal of Biomaterials Applications*, 30(6), 857–872. <https://doi.org/10.1177/0885328215603797>.
- [51] Meena, S., Prasad, W., Khamrui, K., Mandal, S., & Bhat, S. (2021). Preparation of spray-dried curcumin microcapsules using a blend of whey protein with maltodextrin and gum arabica and its in-vitro digestibility evaluation. *Food Bioscience*, 41, 100990. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100990>.



Scientific Research

nano encapsulation of curcumin in mung protein -maltodextrin conjugate, estimation of physicochemical and release properties

Somayeh Aziznia^a, Gholamreza Askari^{*a}, Zahra EmamDjomeh^a, Maryam salami^a

a: Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History: Received: 2024/2/5 Accepted: 2024/4/30</p> <hr/> <p>Keywords: maillard; conjugation; mung bean protein; maltodextrin.</p> <hr/> <p>DOI: 10.22034/FSCT.21.153.157. *Corresponding Author E- iraskari@ut.ac.ir</p>	<p>A delivery system was developed according to maillard reaction using mung bean protein and maltodextrin for encapsulation and sustain release of curcumin. The ultrasound assisted (150 W, 80 °C, 10 min) and classic wet heating (80 °C, 60 min), were used to prepare conjugates at three different ratios of Mung bean protein isolate to maltodextrin. Degree of conjugation was measured using OPA method Uv-visible spectroscopy was used to estimate the final products of maillard reaction. Different amounts of curcumin (0, 0.2, 0.4 and 0.6 mg. mL⁻¹ was loaded using ethanol and change in pH. Primary analysis showed that the optimized samples were obtained when 0.4 mg. mL⁻¹ of curcumin was encapsulated using pH change method. FTIR spectra confirmed the conjugation of the MPI and MD and showed the electrostatic and hydrophobic interactions as well as hydrogen bonding are the main reasons of conjugates stability and curcumin encapsulation. The prepared curcumin containing conjugates under optimized method showed the higher DPPH radical scavenging activity. Our results showed that the release rate of encapsulated curcumin under simulated condition of gastrointestinal tract (GIT) was controlled and lower than that which encapsulated in mung bean protein.</p>