

SOYA PROTEİNİ İZOLATI-FRUKTOZ GLİKASYON KONJUGATLARININ YAPISI VE BAZI TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ULTRASON İŞLEMİNİN ETKİSİ

Mustafa Onur Yüzer*

Bayburt Üniversitesi, Aydıntepe Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bayburt, Türkiye

Geliş/Received: 10.07.2023; Kabul /Accepted: 04.12.2023; Online baskı /Published online: 06.12.2023

Yüzer, M.O. (2023). Soya proteini izolatu-fruktoz glikasyon konjugatlarının yapısı ve bazı teknofonksiyonel özellikleri üzerine ultrason işleminin etkisi. GIDA (2023) 48 (6) 1351-1365 doi: 10.15237/ gida.GD23079

Yüzer, M.O. (2023). Effect of ultrasound process on the structure and some techno functional properties of soy protein isolate-fructose glycation conjugates. GIDA (2023) 48 (6) 1351-1365 doi: 10.15237/ gida.GD23079

ÖZ

Bu çalışmada, konjugatlar ultrasonik işlemden (130 W, 20 kHz) 5 ve 15 dakika sonra soya protein izolatu (SPI) ve fruktoz (F) sulu dispersiyonlarının ısıtılıp glikasyon reaksiyonu (95 °C, 30 dakika) gerçekleştirilmesiyle hazırlanmıştır. Ultrasonik ön işlemin, elde edilen SPI-F konjugatlarının yapı ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Serbest amino grupları, aşılama derecesi ve FT-IR analizleri SPI-F konjugatlarının oluşumunu doğrulamıştır. Ultrasonik işlem glikasyon reaksiyonunu teşvik etmiştir. Konjugatların yapısal ve fizikokimyasal özelliklerindeki değişiklikler SPI'nin su tutma ve yağ tutma özelliklerinin düşmesine neden olsa da emülsifikasyon özelliklerini geliştirmiştir. Bu nedenle, emülsifikasyon özelliklerini kontrol etmek için soya proteini glikasyon konjugatlarının yapısını değiştirmek için optimum bir ultrasonik ön işlem kullanılabilir. Bu bulguların, gıda emülsiyonu ve diğer sistemlerde glikasyonla modifiye edilmiş protein-sakarit ikili sistemlerinin uygulanması için yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Soya protein izolatu, fruktoz, glikasyon, ultrason

EFFECT OF ULTRASOUND PROCESS ON THE STRUCTURE AND SOME TECHNO FUNCTIONAL PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE-FRUCTOSE GLYCATION CONJUGATES

ABSTRACT

In this study, conjugates were prepared by heating aqueous dispersions of soy protein isolate (SPI) and fructose (F) for 5 and 15 min after ultrasonic treatment (130 W, 20 kHz) and by carrying out a glycation (95 °C, 30 min). Structural and functional properties of the resulting SPI-F conjugates were investigated to determine effect of the ultrasonic pretreatment. The formation of SPI-F conjugates was confirmed by free amino groups, degree of grafting and FT-IR analyses. The glycation reaction was enhanced by ultrasound. Although changes in the structural and physicochemical properties of the conjugates impaired the water- and oil-holding properties of SPI, its emulsifying properties were improved. Therefore, the structure of soy protein glycation conjugates can be modified to control their emulsification properties by using an optimal ultrasonic pretreatment. It can be said that these results are useful for application of glycation-modified protein-saccharide binary systems in food emulsions and other systems.

Keywords: Soy protein isolate, fructose, glycation, ultrasound

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: mustafaonuryuzer@gmail.com

☎: (+90) 458 311 4426-3021

Mustafa Onur Yüzer; ORCID no: 0000-0002-8192-2298

GİRİŞ

Bitkisel proteine yönelik pazar eğilimi, son yıllarda önemli bir artış göstermiştir. Bu eğilimin, diğer faydalı sağlık iddiaları ve tüketicilerin diyet yaşam tarzlarındaki değişikliklerin yanı sıra, hayvansal proteinlere kıyasla bitkisel protein üretimiyle ilişkili güçlü sürdürülebilirlik faktörleri ve daha az çevresel etki nedeniyle önümüzdeki yıllarda da devam etmesi beklenmektedir. Pazar talebini karşılamak için, yerini alabilecekleri geleneksel hayvansal protein bileşenlerine kıyasla rakip veya gelişmiş kalite ve işlevselliğe sahip bitki bazlı protein bileşenlerine ihtiyaç bulunmaktadır (Akharume vd., 2021). Soya proteini gibi protein kaynağı olarak vegan ürünü kullanma eğilimi, sağlıklı diyet tercihleri ve gıda hassasiyetleri nedeniyle artmaktadır. Soya fasulyesi, ekonomik değeri yüksek olan çok yönlü bir baklagildir. 2000 yılı aşkın bir süredir özellikle Asyalılar tarafından tüketilen bu protein kaynağı, günümüzde Batılılar arasında da popüler hale gelmektedir (Djuardi vd., 2020). Soya proteini gıda endüstrisinde önemli potansiyel uygulamalarla iyi çözünürlük, emülsifikasyon ve antioksidan özelliklere sahiptir. Soya proteini izolatu (SPI), et ürünleri, içecekler, bebek formülleri ve gıda takviyeleri gibi çeşitli gıda ürünlerinde bileşen olarak kullanılmaktadır (Singh vd., 2008). Fakat soya proteininin yüzey aktivitesi ve emülsifiye edici özellikleri, moleküler yapısı nedeniyle hala sınırlı kabul edilmektedir. Soya proteininin modifikasyonu, daha iyi arzu edilen yapı, gelişmiş fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikler elde etmeye yöneliktir (Djuardi vd., 2020). Bu problemlerin üstesinden gelmek ve SPI'yi verimli bir şekilde kullanmak için proteinler üzerinde bazı modifikasyonlar gereklidir.

Bitkisel proteinlerin besin çekiciliği önemli olsa da gıda ürünlerine görünüm, tat, renk, koku, doku ve hatta yapı kazandırmak için gıda formülasyonunda içerik olarak kullanımlarını kolaylaştıran fonksiyonellikleri de aynı derecede önemlidir (Akharume vd., 2021). Çözünürlük, şişme, jelleşme kapasitesi ve emülsifiye etme yeteneği gibi gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi, gıda bilimi ve gıda endüstrisindeki en büyük endişelerden biridir. Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için hidroliz, asetilasyon, asitleştirme,

esterleştirme ve enzimatik çapraz bağlama gibi fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler dahil olmak üzere çeşitli yöntemler vardır. Ancak kimyasal yöntemlerin çoğu toksik bileşenler içerdiğinden tercih edilmemektedir. Bu nedenle Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olarak da bilinen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonu, herhangi bir kimyasal katalizör kullanmadan proteinlerin indirgeyici şekerlerle konjugasyonu ile protein modifikasyonu açısından son 15 yılda popülerlik kazanmaktadır (Namlı vd., 2021).

Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olan glikasyon, proteinlerin özelliklerini değiştirmek için kullanılabilir. Glikasyon, proteinlerin serbest amino grupları ve indirgen şekerler arasında meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının ilk adımıdır. Glikasyon sadece proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda nihai ürünün görünümünü ve tadını da etkilediğinden gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Taş vd., 2021). Bu reaksiyon, gıda proteinleri için diğer kimyasal modifikasyon türlerinden daha üstündür ve gıda endüstrisinde protein modifikasyonu için umut verici bir uygulama teşkil etmektedir (Liu vd., 2012). Diğer kimyasal modifikasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında, glikasyon ılımlı koşullar altında gerçekleşir ve herhangi bir yabancı kimyasal gerektirmez. Bazı çalışmalarda, gıda proteinlerinin glikasyonla farklı indirgeyici şekerler tarafından modifiye edilmesinden sonra çözünürlük, emülsifikasyon ve antioksidan aktivitenin arttığı gösterilmiştir (Liu vd., 2012; Taş vd., 2021).

Glikasyonun, gıda protein çözünürlüğünü önemli ölçüde artırdığı (Shepherd vd., 2000), ısı stabilitesini (Sato vd., 2005) ve emülsifiye edici özellikleri geliştirdiği (Diftis and Kiosseoglou, 2004), köpürme özelliklerini iyileştirdiği (Achouri vd., 2005), antioksidan aktiviteyi artırdığı (Lertittikul vd., 2007), antimikrobiyal veya bakterisidal aktiviteyi artırdığı (Song vd., 2002) ve dokusal özellikleri iyileştirdiği (Gerrard vd., 2003) ifade edilmektedir. Taş vd. (2021) SPI'nin D-Allulose ile glikolize edilmesi durumunda, çözünürlük, antioksidan ve emülsifikasyon aktiviteleri gibi fizikokimyasal özelliklerin fruktoz

ile glikasyona kıyasla iyileşeceğini bildirmişlerdir. He vd. (2021) SPI'yi kapsamlı bir şekilde modifiye etmek, protein modifikasyonlarının mekanizmasını analiz etmek ve modifikasyonların protein yapısı ve fonksiyonel özellikler (çözünürlük, emülsifikasyon özellikleri, köpük) üzerindeki etkisini araştırmak için dekstran ıslak glikasyon ve süksinik anhidrit asilasyonu kombinasyonunu kullanmışlardır. İki işleminde SPI'nin yapısını ve fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir. Ertuğrul vd. (2021) bezelye proteininin mikrodalga glikasyon yoluyla modifiye edilmesi durumunda, çözünürlük ve hidrasyon davranışı gibi fonksiyonel özelliklerin su banyosu glikasyonuna kıyasla daha fazla artacağını bildirmişlerdir.

Bitkisel proteinler arasında da soya proteini en çok kullanılan ve biyolojik değeri yüksek olan proteinlerdir. Ultrason işlemi ise basit, kirletici ve termal olmayan bir işlem olarak gıda işleme proseslerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, ultrasonla ön işlemden geçirilen karışımların, glikasyon sonucunda yapısını ve fonksiyonel özelliklerini daha da geliştirmesi ve endüstriyel üretimlerini kolaylaştırması beklenebilir (Tian vd., 2023). Ayrıca, ultrason destekli glikasyon reaksiyonunun verimliliğini artırabildiği kısmen gösterilmiştir (Chen vd., 2019; Zhao vd., 2016). Bu çalışmada soya proteini konjugasyonunda fruktoz kullanılacaktır ve glikasyonun soya protein izolatları üzerine etkisi belirlenecektir. Bununla birlikte çalışmanın amacı glikasyon öncesi SPI-Fruktoz karışımlarına ultrason ön işlem uygulamasının konjugasyon oluşumuna ve ürünlerin yapısal ve fizikokimyasal (çözünürlük, su ve yağ tutma kapasiteleri ve emülsifikasyon) özellikleri üzerindeki etkisini incelemektir. Böylelikle soya proteini izolatlarının tekno-fonksiyonel özelliklerinin değiştirilmesi beklenmektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan soya proteini (%90) izolatu (SPI) (Vegrano, İstanbul) doğrudan satın alınmıştır. Glikasyon işleminde kullanılacak şekerin (fruktoz) yüksek saflıkta olmasına dikkat

edilmiştir ve diğer kimyasalların analitik saflıkta olması ile Sigma Aldrich'den temin edilmiştir.

Ultrasonik ön işleme SPI-Fruktoz konjugatlarının glikasyon işlemiyle hazırlanması

Glikasyon işlemi için Zhao vd. (2021) ve Zhang vd. (2015) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun için öncelikle kuru bazda SPI ve şeker (fruktoz) 1:1 oranında (ön denemelerle belirlenmiştir) karıştırılmıştır. Bu karışımlar 0.1 M potasyum fosfat tamponu (pH 7) içinde toplam çözelti konsantrasyonu %10 (w/v) olacak şekilde dispersiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra SPI:Şeker dispersiyonları oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmış ve tam çözünme ve hidrasyonu sağlamak için gece boyunca 4 °C'de saklanmıştır. Çözeltiler 210 mL kapaklı kavanozlara gruplandırılarak aktarılmıştır. Bu karışımın bir kısmı ile soya protein izolatu ısıtma ve soğutma adımları atlanıp geri kalan işlemler aynen yapılarak doğrudan dondurulup liyofilize edilmiştir. Kalan örnekler ultrasonla işlenmiştir. Dispersiyonların ultrasonik işlemi, titanyum prob uçlu bir ultrasonikatör (CPX130PB, Cole-Parmer Instruments, Illinois, ABD) kullanılarak bir buz banyosunda gerçekleştirilmiştir. Dispersiyon (50 mL), 130 W (20 kHz) güç çıkışında 10 s açık kalma süresi ve 5 s kapalı kalma süresiyle 5 ve 15 dak için ultrason ile işlenmiştir. Nihai dispersiyonlar glikasyon reaksiyonu için su banyosunda 95 °C'de ve 30 dak süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasından hemen sonra sıcaklığı düşürmek ve reaksiyonu durdurmak için kavanozlar bir buz banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Ardından önce -20 °C'de dondurulmuştur ve daha sonra liyofilize edilmiştir. Son olarak, liyofilizasyondan sonra örnekler öğütülmüş toz haline getirilmiş ve diğer analizlerde kullanılmaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Araştırmada elde edilen örnekler için kodlamalar Çizelge 1'de verilmiştir. Kontrol olarak fruktozsuz SPI örneği (N-SPI) kullanılmıştır.

Serbest amino grupları (FAG) ve aşılama derecesi (DG) SPI ve fruktoz arasındaki glikasyon reaksiyonu etkinliğini belirlemek amacıyla glikasyon derecesi (graft/aşılama derecesi) ve serbest amino gruplarının içeriği belirlenmiştir. Bunun için Zhao

vd. (2021) ve Zhao vd. (2023) tarafından bildirilen OPA (o-phthaldialdehyde) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. OPA (80 mg), 2 mL %95 etanol içinde çözündürülmüştür. Elde edilen solüsyona 50 mL 0.01 M sodyum tetraborat tampon solüsyonu (pH 9.7), 5 mL %20 (w/v) sodyum dodesil sülfat ve 200 µL β-merkaptöetanol eklenmiştir. OPA reaktifi, karışık çözeltinin distile su ile 100 mL'ye seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bu reaktif günlük hazırlanmıştır ve reaksiyonun etkinliğini korumak için 2 saat içinde kullanılmıştır. 200 µL numune dispersiyonuna (2 mg/mL) 4 mL OPA reaktifi eklenmiş, solüsyon alt üst edilerek kısaca karıştırılmış ve 25 °C'de 5 dakika boyunca ile inkübe edilmiştir.

Numunelerin serbest amino gruplarının ölçülmesi, bir ultraviyole görünür (UV-Vis) spektrofotometre kullanılarak 340 nm'de absorbansları belirlenerek gerçekleştirilmiştir. N-SPI numunesi %100 FAG göstererek referans olarak kullanılmıştır. Kör, 4 mL OPA reaktifi içinde 200 µL damıtılmış sudur. Numunelerin aşılama dereceleri (DG) ve serbest amino grupları (FAG) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$DG (\%) = (A_r - A_s) / A_r \times 100 \quad (1)$$

$$FAG (\%) = A_s / A_r \times 100 \quad (2)$$

Burada A_r , referans numunenin (N-SPI) absorbansını ve A_s , numunenin absorbansını ifade etmektedir.

Çizelge 1. Örneklere ait kodlamalar

Table 1. Codings of the samples

ÖRNEK	Örnek kodu	Ultrason ön işlemi	Isıl işlem	Fruktoz
Herhangi bir işlem görmemiş SPI	N-SPI	—	—	—
Isıl işlem görmüş SPI	H-SPI	—	+	—
İşlem görmemiş SPI+şeker	G-SPI	—	—	+
Glike edilmiş SPI+şeker	GH-SPI	—	+	+
Ultrason görmüş glike edilmiş SPI+şeker	GH-SPI-U5	5 dak	+	+
	GH-SPI-U15	10 dak	+	+

* SPI; soya proteini izolatu

Fonksiyonel özelliklerin belirlenmesi

Çözünürlük

Konjugatların yüzde çözünürlükleri pH 3 ile 11 aralığında belirlenmiştir. 5 mg/mL konsantrasyonda protein izolatu distile su içinde hazırlanmıştır. 1 N HCl veya 1 N NaOH kullanılarak dispersiyonların pH'ları ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 1 s manyetik karıştırıcıyla karıştırılmış, daha sonra 3000 g'de 30 dak santrifüj edilmiştir (Ghribi vd., 2015). Santrifüjün ardından üstte kalan fazda Bradford (1976) metodu kullanılarak protein analizi gerçekleştirilmiştir. Bunun için üstte kalan fazdan 0.1 mL alınarak üzerine 3 mL Bradford reaktifi katılmıştır ve 5 dak bekletildikten sonra karışımın absorbansı 595 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur. Protein miktarının hesaplanmasında sığır serum albümini standart eğrisinden yararlanılmıştır. Çözünürlük aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$\text{Çözünürlük} (\%) = \frac{\text{Süpernatantın protein içeriği}}{\text{Örneğin toplam protein içeriği}} \times 100 \quad (3)$$

Su ve yağ tutma kapasitesi

Su (STK) ve yağ tutma kapasitelerini (YTK) tespit etmek için, 2 mL'lik bir santrifüj tüpüne yaklaşık 50 mg protein izolatu tartılmış, üzerine 1.5 mL ticari mısırozü yağı veya damıtılmış su ilave edilerek disperse edilmiş ve ortam sıcaklığında 20 s vorteksle karıştırılmıştır. Vortekslenildikten sonra tüplerin kapakları kapatılmış ve tüpler 30 dak süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 14.000 g'de 20 dak santrifüj edilmiş ve süpernatant dikkatli bir şekilde 45° açıyla boşaltılarak tortuyu içeren santrifüj tüpü tartılmıştır. Tutulan yağ veya su içeriği, tortuyu içeren tüplerin tartılmasıyla belirlenmiştir. STK ve YTK, sırasıyla g protein izolatu başına emilen g su veya yağ olarak ifade edilmiştir. STK ve YTK, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{STK veya YTK} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \quad (4)$$

Burada, M_0 numunenin ağırlığını, M_1 kuru numuneyi içeren santrifüj tüpünün ağırlığını ve M_2 su veya yağın uzaklaştırılmasından sonra santrifüj tüpünün ağırlığını ifade etmektedir (Aydemir ve Yemenicioğlu, 2013; Gundogan ve Can Karaca, 2020).

Emülsiyon özellikleri

Konjugatların emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) Pearce ve Kinsella (1978) tarafından geliştirilen metoda göre tespit edilmiştir. Bu amaçla %1'lik protein izolatu dispersiyonu saf su ile hazırlanmış ve daha sonra bu karışımın üzerine 10 mL mısırozü yağ eklenmiştir. 1 N HCl veya 1 N NaOH ile karışımın pH'sı 7'ye ayarlanarak homojenizatör (Ultra-Turrax T25 dijital, IKA, Almanya) ile 20000 rpm'de 1 dak homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan hemen sonra oluşan emülsiyonun alt kısmından (sıvı fazdan) 50 µL emülsiyon örneği alınarak üzerine 5 mL %0.1'lik (w/v) sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi eklenerek seyreltilmiştir ve bu karışımın 500 nm'de absorbansı ölçülerek aşağıda verilen denklem ile emülsiyon aktivitesi hesaplanmıştır:

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{c \times \phi \times 10000} \quad (5)$$

Burada, A_0 0. dak'daki absorbansı, c protein dispersiyonunun konsantrasyonu (0.01 g/mL), N seyreltme faktörünü (100) ve ϕ yağın hacimsel fraksiyonunu (10/40=0.25) ifade etmektedir.

Oluşan emülsiyonu 10 dakika beklettikten sonra sıvı fazdan (alt kısmından) alınan 50 µL örneğin 5 mL %0.1'lik (w/v) SDS ile seyreltilip absorbansının (500 nm) okunmasıyla ESI değerleri aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır:

$$ESI (dak) = \frac{A_0 \times t}{A_0 - A_{10}} \quad (6)$$

Burada, t emülsiyonun bekleme süresini (10 dak) ve A_{10} homojenizasyon işleminden 10 dak sonraki absorbansı ifade etmektedir.

Karakterizasyon

SEM

Konjugatların yüzey morfolojisi, bir taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile 5 kV'luk voltaj

ivmesinde görüntülenmiştir. Örneklerin elektriksel iletkenliğini arttırarak daha net görüntüler elde edebilmek için örneklerin yüzeyi, görüntümeden önce kaplama işlemi 10 nm kalınlığında altın-paladyum alaşımı ile yapılmıştır.

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Numunelerin fonksiyonel gruplarını belirlemek ve elde edilen konjugatların bileşenleri arasındaki etkileşimlerini araştırmak için FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır. Soya proteini izolatlarının ikincil yapısı, 400 cm^{-1} ile 4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında Platinum ATR donanımlı bir FTIR spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

İstatistik analiz

Elde edilen deney sonuçları SPSS Statistics 26.0 (IBM, New York, USA) programı vasıtasıyla varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan ortalama değerler arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi (Post-hoc analizi) kullanılmıştır. Elde edilen istatistik analiz sonuçları $P \leq 0.05$ önem düzeyine göre değerlendirilmiştir.

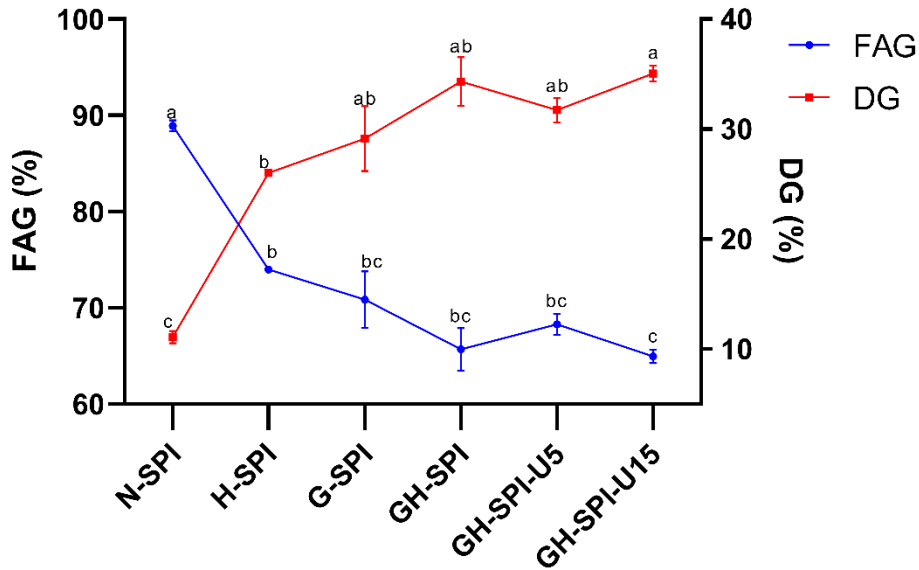
SONUÇ VE TARTIŞMA

Glikasyon reaksiyonu derecesi

Şekil 1'de örneklerin FAG içerikleri ve DG değerleri gösterilmiştir. Isıl işlemin soya proteininin FAG ve DG değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ultrasonikasyon işleminin ise sadece 15 dakikalık işlemin FAG ve DG değerleri üzerine istatistiksel olarak etki ($P < 0.05$) ettiği görülmektedir. İşlem görmemiş protein izolatu (N-SPI) örneğine göre ısıl işlem, glikasyon ve ultrasonikasyon işlemleri ile FAG içeriklerinde düşüş gözlenmektedir. DG değerlerinde ise beklendiği gibi ısıl işlem, glikasyon ve ultrasonikasyon işlemleri ile artış görülmektedir. Serbest amino grupları, karbonil-amino reaksiyonuna katılmıştır, böylece önceki çalışmalarda olduğu gibi, DG arttıkça serbest amino gruplarının miktarı azalmıştır (Zhuo vd., 2013; Wang vd., 2016). Şekil incelendiğinde ultrason ön işleminin SPI'nın fruktoz ile glikasyonunu hızlandırdığı söylenebilir. Ultrason uygulamasının neden olduğu kaviteasyonun,

proteinin yüzeyindeki reaktif amino gruplarını açığa çıkararak SPI'nin açılmasını teşvik ettiği düşünülmektedir. Bu durumun, proteinin ε-amino grupları ile polisakarit karbonil gruplarının indirgeyici uçları arasındaki çarpışma etkileşimini güçlendirerek glikasyon reaksiyonunun hızlanmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Zhao vd., 2016; Zhao vd., 2021). Ayrıca ultrason uygulama süresi arttıkça glikasyon işleminin daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Benzer sonuçlar ultrasonik işleme hazırlanan fıstık proteini izolatu-glukomannan konjugatları (Li vd., 2014) için ve ultrasonik ön işlem ile soya proteini izolatu-

maltodekstrin glikasyon konjugatları (Zhao vd., 2021) için görülmektedir. Chen vd. (2019) peyniraltı suyu protein izolatu ile akasya zamkını ultrason ve klasik ısıtma ile glikolize etmişlerdir. Ultrason işleminin glikasyon reaksiyonunu hızlandırabileceğini, ultrason ile hazırlanan konjugatların daha düşük esmerleşme yoğunluğuna sahip olduğunu ve ultrason ile hazırlanan konjugatların çözünürlüğü, ısı stabilitesi ve emülsifiye edici özellikleri iyileştirildiğini bildirmişlerdir.



Şekil 1. Örneklerin serbest amino grupları (FAG) ve aşılama derecesi (DG)

*Örneklere ait kodlamalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Figure 1. Free amino groups (FAG) and grafting grade (DG) of the samples

*Coding of the samples is given in Table 1

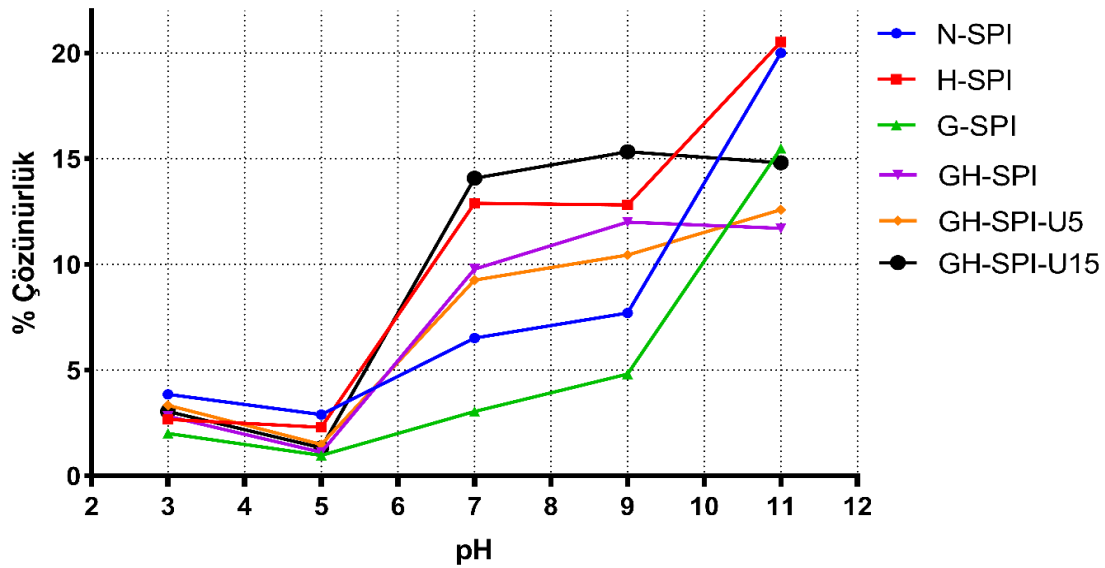
Fonksiyonel özellikler

Bir proteinin çözünürlüğü yalnızca birincil bir işlevsel özellik olarak görülmez, aynı zamanda diğer işlevsel özellikler için de genellikle bir ön koşuldur (Wang vd., 2016). Şekil 2'de SPI ve SPI konjugatlarının çözünürlüğü, pH'ın (3-11 arasında) bir fonksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Çözünürlük değerlerinde çift yönlü varyans analizi gerçekleştirilmiş olup buna göre örnekler ve pH değerleri arasındaki interaksiyon istatistiksel açıdan önemli ($P < 0.05$)

bulunmuştur. Örneklerin hepsi, nötr ve alkali çözültide yüksek, asidik çözültide düşük çözünürlük göstermiş ve pH 5'te (izoelektrik noktasına yakın) en düşük çözünürlüğü göstermişlerdir. Ultrasonik işlem ve glikasyonla elde edilen GH-SPI, GH-SPI-U5 ve GH-SPI-U15 konjugatlarının çözünürlüğü, pH 11 dışında tüm pH aralığında doğal SPI'den daha yüksek belirlenmiştir. Glikasyondan sonra SPI'lerin protein çözünürlüğünün iyileştirilmesi, bir hidrofilik sakaritin hidrofobik bir proteinin

yüzeyine bağlanmasından kaynaklanıyor olabileceği, sakaritin -OH grubunun hidrojen bağlama kapasitesi yüzey hidrofobikliğini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Wang vd., 2016). Çalışmamızdaki çözünürlük profilleri, literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Gu vd., 2009; Wang vd., 2016). Isıl işlem görmüş protein izolatu örneği H-SPI çözünürlüğü diğer örnekler göre yüksek çıkmıştır. Bunun nedeninin ısıl işlem etkisiyle protein yapısının denatüre olup açılmasının olduğu düşünülmektedir. G-SPI örneği ise

çözünürlük profili en düşük olan örnektir. Ultrasonikasyon işlemiyle küçük protein parçaları oluşturulur ve protein ile su arasındaki etkileşim artırılarak proteinin çözünmesi sağlanır. Ultrason işlemi etkisi ile meydana gelen ve çözeltideki kabarcıkların boyutunu etkileyen kaviteasyon verimi ultrason frekansından büyük ölçüde etkilenmektedir. Sonuç olarak su molekülleri proteinlere daha kolayca bağlanabilir ve bu durumda da örneklerin çözünürlükleri artmaktadır (Liv vd., 2020; Singh vd., 2023).



Şekil 2. Örneklerin pH 3-11 aralığındaki çözünürlük profilleri
Figure 2. Solubility profiles of the samples in the range of pH 3-11

Soya proteini izolatu su tutma kapasitesi (STK) ısıl işlemle artarken, şeker ilavesi, ultrasonikasyon ve glikasyonla azalmıştır (Çizelge 2). Aynı durum örneklerin yağ tutma kapasitesi (YTK) için de geçerlidir. Ultrasonikasyon ve glikasyon reaksiyonunun soya proteininin STK ve YTK değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu, polisakaritler ile kovalent aşılamanın proteinlerin jelleşme özelliklerini bozduğunu göstermektedir. Bu duruma birçok faktör katkıda bulunmuştur. SPI'nin fruktoz ile konjugasyonu, doğal protein yapısını yok ederek ağ yapısından sorumlu disülfid bağlarının oluşumunu engellemiş olabilir (Sun vd.,

2011; Zhao vd., 2021). Ayrıca Zhao vd. (2021) glikasyon işleminin, ısıl işlem sırasında SPI'nin H_0 'ını azalttığı, agregalar arasındaki hidrofobik etkileşimleri azaltarak ve gevşek bir ağ yapısı oluşturarak, jel mukavemetinde azalmaya ve jellerde su kaybına yol açtığını belirtmişlerdir. Isıtıldığında artan STK ve YTK, artan yüzey hidrofobikliğı ve artan SH grupları arasında pozitif bir korelasyon gösterdiği tahmin edilmektedir, bu da Gu vd. (2009) bulgularını doğrulamaktadır. Isıl işlem görmüş küresel proteinlerin artan STK'sını, agregatların ayrışmasına ve proteinin kısmi denatürasyonuna bağlamışlardır. Şekerlerin mevcudiyetinde azalan

STK ve YTK (Çizelge 2), azalmış dağılıbilirlik, hidrofobiklik ve serbest SH grupları ile pozitif korelasyon gösterdiği, değişen protein-protein ve protein-su etkileşimleri nedeniyle şekerler tarafından proteinlerin açılmasının inhibisyonunu gösterir (Gu vd., 2009). Literatürde başka protein

izolatlarının şeker ilavesiyle fonksiyonel özelliklerinde her zaman istenildiği gibi artışlara sebep olmadığı da rastlanılan bir durumdur (Gu vd., 2009; Álvarez vd., 2012; Wang vd., 2018; Zha vd., 2019; Gao vd., 2023).

Çizelge 2. Örneklerin fonksiyonel özelliklerine ait sonuçlar

Table 2. Results of the functional properties of the samples

	STK (g/g)	YTK (g/g)	EAI (m ² /g)	ESI (dak)
N-SPI	3.54±0.12 ^a	4.55±0.09 ^b	4.97±0.22	22.77±3.30 ^b
H-SPI	3.79±0.16 ^a	5.96±0.41 ^a	5.78±1.21	33.88±0.11 ^a
G-SPI	2.52±0.33 ^b	2.88±0.11 ^d	5.26±0.11	18.31±0.25 ^b
GH-SPI	1.97±0.57 ^b	3.34±0.08 ^{cd}	5.00±0.62	19.93±2.58 ^b
GH-SPI-U5	1.73±0.30 ^b	3.40±0.16 ^{cd}	5.43±0.17	35.51±0.00 ^a
GH-SPI-U15	1.78±0.05 ^b	3.77±0.43 ^c	5.44±0.45	22.55±4.58 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. ^{a-d} Farklı üst simge karakterler, bir sütun içinde P<0.05 düzeyinde önemli farklılıkları göstermektedir.

Values are expressed as mean ± standard deviation. ^{a-d} Different superscript characters within a column indicate significant differences at P<0.05 level.

Çizelge 2'de örneklerin EAI ve ESI değerleri verilmiştir. Ultrasonikasyon ve glikasyon reaksiyonunun soya proteininin emülsifikasyon özelliklerinden EAI üzerine istatistiksel olarak önemsiz (P>0.05) etkisi tespit edilirken ESI değerleri üzerine önemli (P<0.05) etkisinin olduğu belirlenmiştir. Sade protein izolatının ısı işlem görmesiyle bu değerler artış göstermiştir. Aynı şekilde ultrasonikasyon ve glikasyon işlemleri kontrol örneğine göre EAI ve ESI değerlerini artırmıştır. Feng vd. (2023) bu durumu proteinin yağ damlacıklarının yüzeyine adsorpsiyonu fiziksel bir adsorpsiyon işlemi olduğunu ve protein yapısındaki ve yüzey hidrofobikliğindeki değişiklikler o/w arayüzüne adsorpsiyon yeteneğini etkileyebileceği şeklinde açıklamışlardır. Zhang vd. (2022) SPI'yi galaktozla glike ettikleri çalışmada glikasyon ile SPI konjugatlarının EAI ve ESI değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Maillard reaksiyonunda yer alan galaktozun konsantrasyonunun artmasıyla bu değerlerin daha da arttığı ve bunun nedeni olarak galaktozun reaksiyon sırasında SPI'ye bağlanması, hidrofilik grupların ortaya çıkması ve çözünürlüğün artması olabileceğini belirtmişlerdir. Ma vd. (2022) yaptıkları çalışmada konjugatların, orijinal SPI ve karışımlardan önemli ölçüde daha yüksek EAI ve ESI sergilediğini

tespit etmişlerdir. Bir protein-polisakarit konjugatı bir su-yağ sistemine eklendiğinde, proteinin su-yağ arayüzünde emilerek viskoelastik bir filmin oluşmasına izin verdiği, polisakaridin ise emülsifiye damlacıklar için kalınlaşması yoluyla sterik stabilizasyon sağlamasına bağlanmışlardır. Böylece, konjuge numuneler için geliştirilmiş EAI ve ESI, bu sinerjistik davranışa bağlanmıştır. Ding vd. (2023) glikasyonla protein izolatlarının EAI ve ESI değerlerinin artmasını reaksiyon nedeniyle şeker zincirlerine erişimin, protein moleküllerinin moleküler ağırlığı ve sterik engeli arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca glikosile edilmiş proteinler, glikosile edilmemiş proteinlere göre daha fazla hidrofilik gruba sahiptir ve bu da sterik engelleme etkisini artırır. Protein moleküllerindeki hidrofobik kalıntılar, yağ damlacıklarının yüzeyine yapışabilirken, şeker molekülleri yağ damlacıklarının yanındaki su moleküllerini çekebilir. Bu nedenle glikasyon, proteinin yağ-su arayüzünü stabilize etme ve yağ damlası toplanma eğilimini azaltma yeteneğine yardımcı olur. Böylelikle polisakarit EAI ve ESI değerlerinde artışa sebep olmuş olabilir (Ding vd., 2023). Mevcut çalışmada ise reaksiyonda şeker olarak bir monosakaritin kullanılmış olması bahsedilen bu etkiyi tam olarak göstermediğinden EAI ve ESI değerlerinde artışa neden olurken STK ve YTK

için azalma göstermiş olabileceği söylenebilir. Spesifik olarak, fruktozun düşük moleküler ağırlığı, sterik stabilizasyon sürecini sürdürülemez hale getirerek, daha küçük su ve yağ tutma endekslerine yol açmış olabilir (Han vd., 2022). Wang vd. (2018) soya fasulyesi protein izolatının ıslak ısıtmalı Maillard reaksiyonu yoluyla ksiloz/fruktoz ile konjugasyonunda iki monosakkarit ile konjugasyon, çözünürlüğü önemli ölçüde arttırmış, ancak SPI'nin emülsifiye edici aktivitesini azaltmıştır.

FTIR spektroskopisi

Glikasyon sırasında örneklerin kimyasal yapılarında bir etkileşimin veya değişimin olup olmadığını tespit etmek ve proteinlerin ikincil yapısı hakkında bilgiler edinmek amacıyla FTIR analizleri yapılmıştır. Örneklerin FTIR spektrumları Şekil 3'de verilmiştir. Bu spektrumlar kullanılarak fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir. Muhtemelen sonikasyon ön işlemi, protein yüzeyinde açığa çıkabilecek amino gruplarının fraksiyonunu artıran ve karbonhidratlarla aşılama reaksiyonlarına katılabilen küresel protein yapısının kısmi olarak açılmasını teşvik etmektedir (Iscimen vd., 2023). SPI'nin FT-IR spektrumu, amid I titreşimine ve N-H bükülmesine karşılık gelen 1600–1700 (1629) cm^{-1} 'deki bantları göstererek protein spektrumunun tipik özelliklerini göstermiştir. Ayrıca, 1450–1550 (1513) cm^{-1} 'deki bantların, protein yapısının amid II gruplarına ait olduğu bilinmektedir (Boostani vd., 2017). Benzer şekilde Su vd. (2010) tarafından rapor edilen çalışmada, 1200-1450 cm^{-1} 'deki soğurma bandı, amid III grubunun soya proteinlerinin C-N gerilmesi ve N-H bükülme titreşimlerinin örnekleri olduğunu ortaya koymaktadır. Glike edilmiş konjuge numunelerde 510, 513, 777, 817, 865, 975 ve 1050 cm^{-1} 'deki (şekerler için belirtilen bölgeler) absorbansın SPI'ye kıyasla önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Dolayısıyla bu durum, proteinlerin polisakkaritlerle kovalent bağlanmasını açıklamaktadır (Guan vd., 2006). Sonikasyona tabi tutulan konjugatlar, muhtemelen kaviteasyonun bazı hidrojen bağlarını bozduğu için (Iscimen vd., 2023) kontrole kıyasla 1629 cm^{-1} civarında daha belirgin piklere sahiptir. SPI ile karşılaştırıldığında, konjugatların 3200-3600 cm^{-1} 'inde daha geniş

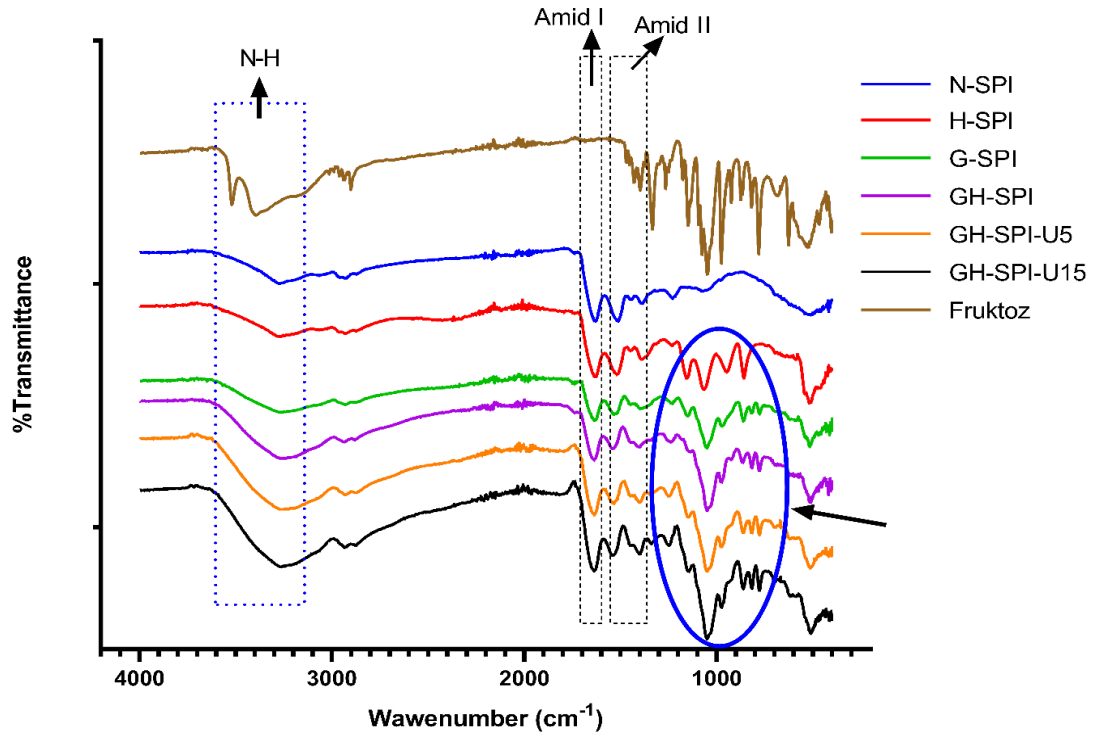
esneme titreşimi, SPI'ye bağlı fruktoz üzerindeki hidroksil grupları ile ilişkilidir (Li vd., 2019; Zhang vd., 2022). Aynı zamanda bu bant aralığına bakıldığında ultrasonikasyon uygulanan örnekler daha geniş yayılım gösteren pikler vermiştir. 3200-3600 cm^{-1} 'inde NH gerilmesiyle ilişkili geniş tepeler glikasyon ve ultrason işlemlerinin protein yapısını yeniden düzenlemelerinin ve konformasyonel değişikliklerin ikili etkilerinin olduğunu göstermektedir. Isıl işlem görmüş SPI numunesinde ise SPI numunesine göre 900-1200 cm^{-1} aralığında pikler görülmektedir. Bu piklerin protein moleküllerinin denatürasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca ultrasonikasyon işleminin süresi uzadıkça 1100 cm^{-1} civarındaki pikin daha belirginleştiği görülmektedir. Yan vd. (2023) soya protein izolatı-epigallokateşin galat konjugatlarını hazırlamak için ultrason destekli geleneksel kovalent bağlanma yöntemlerini kullandıkları çalışmalarında mevcut çalışmayla uyumlu olan FTIR spektrumları elde etmişlerdir.

SEM analizi

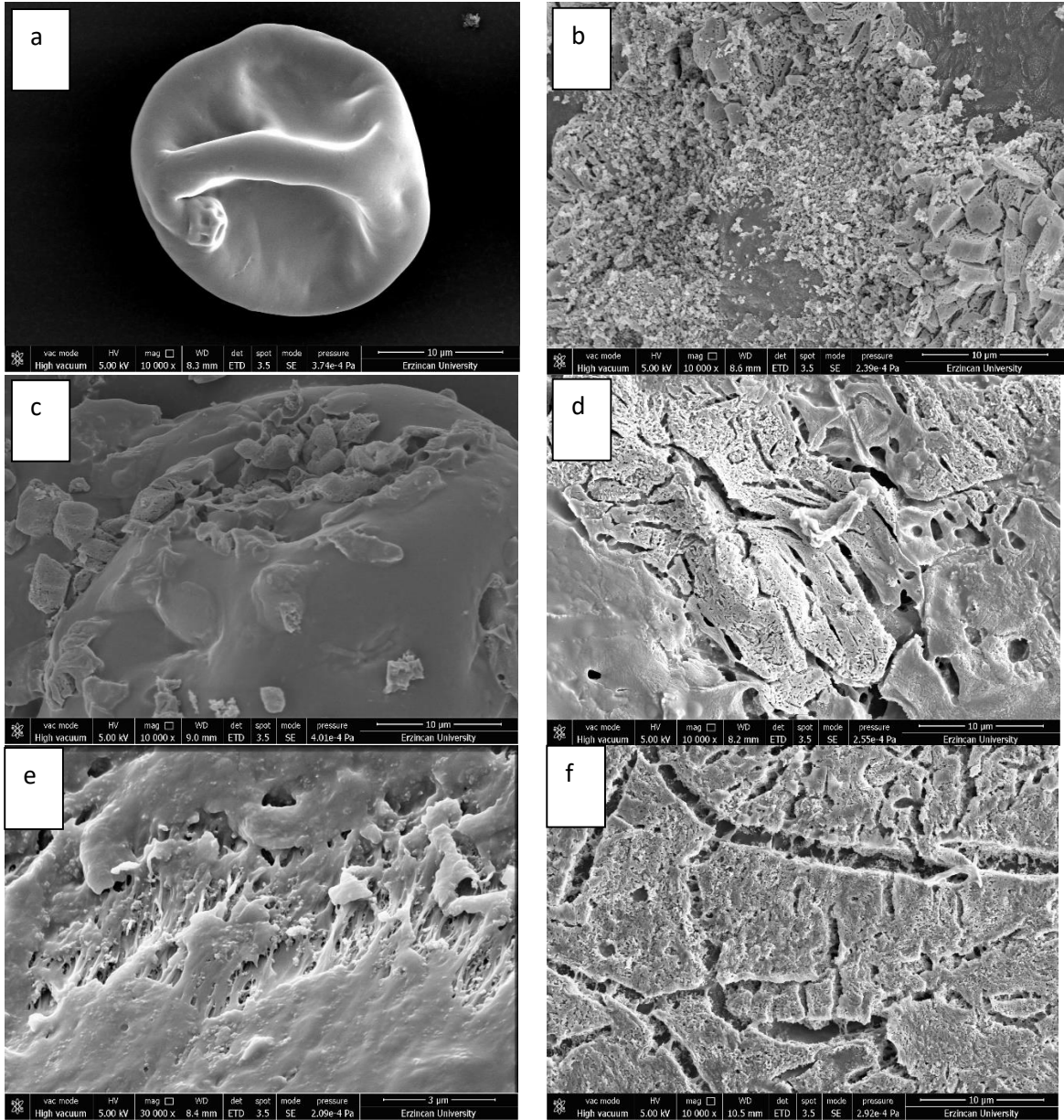
Glikasyona tabi tutulmuş ve kontrol örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 4'de verilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) prosedürü, gıda proteinlerinin morfolojisinin değerlendirilebileceği doğru moleküler gözlemlere izin veren yeni bir yöntemdir. Bunun gibi mikroskopik yöntemler umut verici bir yaklaşım olabilir, çünkü proteinlerin yapısı, morfolojisi ve işlevi arasında var olan ilişkiler doğası gereği dinamiktir ve ayrıca, mikro yapı değerlendirmesinin, Maillard modifikasyonu yoluyla doğal olarak değişikliklere uğrayabilen protein fonksiyonlarına yönelik araştırmalar için potansiyeller sağlayabileceği düşünülmektedir (Boostani vd., 2017). Soya proteini globulinlerinin pürüzsüz bir yüzeye sahip küresel bir şekle sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.a). Bu görüntü Shekarforoush vd. (2016) ve Boostani vd. (2017) tarafından yapılan önceki gözlemlere benzerdir. Soya proteinlerinin şeker moleküllerine sıkı bir şekilde bağlandığını ve bunun da birikmiş ve homojenleşmemiş bir yapının inşasıyla sonuçlandığını gösterir (Şekil 4.d, e ve f). Mevcut çalışmada elde edilen SEM mikrografı, FT-IR spektrumlarında gösterildiği gibi, SPI ve şeker

arasındaki ilişkilerin varlığını da gösterebilir. SPI-Fruktoz karışımları için SEM mikrografları, tanımlanabilir bir bağ göstermezler (Şekil 4.c). Buna karşılık, ultrasonikasyonun ve konjugasyonun bir sonucu olarak partikül yapısında ve şeklinde bazı değişiklikler meydana gelmiştir. Özellikle sonikasyon süresi uzadıkça pürüzlülük fazlaşmaktadır. Görüntüler, küresel SPI ve şeker bileşenleri için, belki de SPI ve şeker arasında kovalent bağlantıların oluşumunu gösteren çok kompakt bir rasgele mikro yapı göstermektedir. Tian vd. (2023) oligomerik bir protein olan fikosiyani (PC) değiştirmek için ultrason ön işlemiyle kombine glikasyonu kullanılmış ve PC'nin pürüzsüz bir yüzeye sahip düzenli küresel bir yapıya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ultrason uygulanmış PC'nin yüzey yapısı, ultrason işleminin dağıtıcı etkisinden dolayı

hacimde büyük bir değişiklik olmayan gözenekli bir bal peteği yapısı gösterirken glike PC'nin yapısı, pürüzlü bir yüzeye ve önemli ölçüde genişlemiş bir hacme sahip düzensiz bir agrega olarak görülmüştür. Bu sonuçlar, mevcut çalışmadaki sonuçlarla da uyumlu olacak şekilde modifikasyonun PC'nin gelişmiş yapısını etkilemesi nedeniyle PC'nin başlangıçtaki düzgün yapısının modifikasyondan sonra kaybolduğunu ve pürüzlü hale geldiğini göstermiştir. Iscimen vd. (2023) ultrasonikasyon uygulanarak üretilen konjuge bakla protein izolatlarında toz özelliklerinin sonikasyonla değiştirildiğini göstermişlerdir. Özellikle, düşük sonikasyon seviyeleri kullanıldığında numunelerin daha pürüzsüz yüzeylere sahip olduğu, ancak daha yüksek seviyeler kullanıldığında daha parçalı olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 3. Örneklerin FT-IR spektrumları
Figure 3. FT-IR spectra of the samples



Şekil 4. SEM görüntüleri; (a) N-SPI, (b) H-SPI, (c) G-SPI, (d) GH-SPI, (e) GH-SPI-U5 ve (f) GH-SPI-U15

Figure 4. SEM images; (a) N-SPI, (b) H-SPI, (c) G-SPI, (d) GH-SPI, (e) GH-SPI-U5 and (f) GH-SPI-U15

SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmada soya protein izolatı fruktoz şekeri ile glikasyona uğratılmıştır. Aynı zamanda glikasyondan önce ultrasonikasyon işleminin etkisi araştırılmıştır. SPI-F konjugatlarının bazı fonksiyonel özellikleri ve karakterizasyonu incelenmiştir. Ultrasonik ön işlem, DG'yi arttırmıştır ve SPI-F konjugatlarının

FAG değerlerini azaltmıştır, bu da konjugatların düzenli ikincil yapıya ve daha az kompakt üçüncül konformasyona neden olabilir. Glikasyon reaksiyonu, SPI jellerin ağını zayıflatmış, böylece STK ve YTK değerleri düşmüştür. Uygun bir ultrasonik ön işlemin, SPI-Fruktoz konjugatlarının glikasyon reaksiyonu kapsamını ve yapısını değiştirebileceği söylenebilir. Ayrıca

ultrasonikasyon ve glikasyon işlemleri EAİ ve ESI değerlerini geliştirmiştir. Bu bulguların, gıda emülsiyonu ve diğer sistemlerde glikasyonla modifiye edilmiş protein-sakarit ikili sistemlerinin uygulanması için yararlı olması beklenmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Achouri, A., Boye, J. I., Yaylayan, V. A., Yeboah, F. K. (2005). Functional properties of glycosylated soy 11s glycinin. *Journal of Food Science*, 70(4), C269-C274. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07172.x
- Akharume, F. U., Aluko, R. E., Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224. doi:https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688
- 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.
- Aydemir, L. Y., Yemenicioğlu, A. (2013). Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 686-694. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.023
- Boostani, S., Aminlari, M., Moosavi-nasab, 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.019
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254. doi:https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Chen, W., Ma, X., Wang, W., Lv, R., Guo, M., Ding, T., Liu, D. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 95, 298-307. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.030
- Diftis, N., Kiosseoglou, V. (2004). Competitive adsorption between a dry-heated soy protein-dextran mixture and surface-active materials in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 639-646. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.11.007
- Ding, Z., Jiang, F., Liu, K., Gong, F., Liu, Y., Zheng, Z., Xu, Y. J. (2023). Structural and functional characteristics of hemp protein isolate-pullulan polysaccharide glycosylation conjugate in an aqueous model system. *Foods*, 12(7), 1416. https://doi.org/10.3390/foods12071416
- Djuardi, A. U. P., Yuliana, N. D., Ogawa, M., Akazawa, T., Suhartono, M. T. (2020). Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3591-3600. doi:10.1007/s13197-020-04391-9
- Ertugrul, U., Namli, S., Tas, O., Kocadagli, T., Gokmen, V., Sumnu, S. G., Oztop, M. H. (2021). Pea protein properties are altered following glycation by microwave heating. *LWT*, 150, 111939. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111939
- Feng, S., Zhang, S., Jiang, M., Liu, F., Chen, K., Zhang, Y. (2023). Effects of glycation methods on the interfacial behavior and emulsifying performance of soy protein isolate-gum arabic conjugates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123554. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123554
- Gao, K., Chang, L., Xu, Y., Rao, J., Chen, B. (2023). Water-soluble fraction of pea protein isolate is critical for the functionality of protein-glucose conjugates obtained via wet-heating Maillard reaction. *Food Research International*, 113503. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113503

- Gerrard, J. A., Brown, P. K., Fayle, S. E. (2003). Maillard crosslinking of food proteins III: the effects of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehyde upon bread and croissants. *Food Chemistry*, 80(1), 45-50. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00233-9
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.021
- Gu, X., Campbell, L. J., Euston, S. R. (2009). Influence of sugars on the characteristics of glucono- δ -lactone-induced soy protein isolate gels. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 314-326. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.01.005
- 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.035
- Gundogan, R., Can Karaca, A. (2020). Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. *LWT*, 130, 109609. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109609
- He, M., Li, L., Wu, C., Zheng, L., Jiang, L., Huang, Y., Li, Y. (2021). Effects of glycation and acylation on the structural characteristics and physicochemical properties of soy protein isolate. *Journal of Food Science*, 86(5), 1737-1750. doi:https://doi.org/10.1111/1750-3841.15688
- Iscimen, E.M., Dursun Capar, T., McClements, D.J., Yalcin, H., Hayta, M. (2023). Ultrasound-assisted preparation of faba bean protein isolate-*Vitis vinifera* L. polyphenol extract conjugates: Structural and functional characterization. *Food Bioscience*, 55, 103041. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103041
- 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.085
- 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.018
- 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.030
- Li, Y., Cheng, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Mintah, B.K., Dabbour, M., Jiang, H., He, R., Ma, H. (2020). Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: Ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105240. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105240
- Liu, J., Ru, Q., Ding, Y. (2012). Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure, a review. *Food Research International*, 49(1), 170-183. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.034
- Ma, X., Chi, C., Pu, Y., Miao, S., Liu, D. (2022). Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin: effects of structural modification of the grafting polysaccharide. *Food Chemistry*, 387, 132876. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132876
- Namli, S., Sumnu, S. G., Oztop, M. H. (2021). Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose. *Food Bioscience*, 40, 100897. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100897
- 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

- Sato, R., Sawabe, T., Saeki, H. (2005). Characterization of fish myofibrillar protein by conjugation with alginate oligosaccharide prepared using genetic recombinant alginate lyase. *Journal of Food Science*, 70(1), C58-C62. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09021.x>
- Shekarforoush, E., Mirhosseini, H., Sarker, M. Z. I., Kostadinović, S., Ghazali, H. M., Muhamad, K., Samaram, S. (2016). Soy protein–gum karaya conjugate: emulsifying activity and rheological behavior in aqueous system and oil in water emulsion. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(1), 1-10. doi:10.1007/s11746-015-2751-z
- Shepherd, R., Robertson, A., Ofman, D. (2000). Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein–maltodextrins. *Food Hydrocolloids*, 14(4), 281-286. doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00067-3)
- Singh, A., Sit, N. (2023). Dual modification of manila tamarind protein isolate by ultrasonication and autoclaving and their characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 16, 2947–2960. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03100-6>
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N., Bawa, A. S. (2008). Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7(1), 14-28. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00025.x>
- Song, Y., Babiker, E. E., Usui, M., Saito, A., Kato, A. (2002). Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan–lysozyme conjugates. *Food Research International*, 35(5), 459-466. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00144-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00144-2)
- Su, J.-F., Huang, Z., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y., Li, M. (2010). Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.035>
- Sun, W.-W., Yu, S.-J., Yang, X.-Q., Wang, J.-M., Zhang, J.-B., Zhang, Y., Zheng, E.-L. (2011). Study on the rheological properties of heat-induced whey protein isolate–dextran conjugate gel. *Food Research International*, 44(10), 3259-3263. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.019>
- Tas, O., Ertugrul, U., Oztop, M. H., Mazi, B. G. (2021). Glycation of soy protein isolate with two ketoses: d-Allulose and fructose. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 5461-5470. doi:<https://doi.org/10.1111/ijfs.15218>
- Tian, H., Zhang, Z., Ning, F., Li, W., Sun, X., Yang, X., Luo, L. (2023). Effect of ultrasound pretreatment complex glycation on the structure and functional activity of phycocyanin modified by mannose. *LWT*, 188, 115390. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115390>
- Wang, Z., Han, F., Sui, X., Qi, B., Yang, Y., Zhang, H., Jiang, L. (2016). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (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. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.7255>
- Wang, Z., Zhang, C., Zhang, T., Ju, X., He, R. (2018). Effects of acylation and glycation treatments on physicochemical and gelation properties of rapeseed protein isolate. *RSC Advances*, 8(70), 40395-40406. <https://doi.org/10.1039/C8RA07912A>
- Yan, S., Wang, Q., Yu, J., Li, Y., Qi, B. (2023). Ultrasound-assisted preparation of protein–polyphenol conjugates and their structural and functional characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 100, 106645. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106645>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.151>
- Zhang, B., Guo, X., Zhu, K., Peng, W., Zhou, H. (2015). Improvement of emulsifying properties of oat protein isolate–dextran conjugates by glycation. *Carbohydrate Polymers*, 127, 168-175.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.072>

Zhang, Q., Long, X., Xie, J., Xue, B., Li, X., Gan, J., Sun, T. (2022). Effect of d-galactose on physicochemical and functional properties of soy protein isolate during Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 133, 107914. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107914>

Zhao, C.-B., Zhou, L.-Y., Liu, J.-Y., Zhang, Y., Chen, Y., Wu, F. (2016). Effect of ultrasonic pretreatment on physicochemical characteristics and rheological properties of soy protein/sugar Maillard reaction products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2342-2351. doi:10.1007/s13197-016-2206-z

Zhao, C., Chu, Z., Mao, Y., Xu, Y., Fei, P., Zhang, H., Liu, J. (2023). Structural characteristics and acid-induced emulsion gel properties of heated soy protein isolate–soy oligosaccharide glycation

conjugates. *Food Hydrocolloids*, 137, 108408. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108408>

Zhao, C., Yin, H., Yan, J., Niu, X., Qi, B., Liu, J. (2021). Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 112, 106278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106278>

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. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.5760>