



## Classification of Final Maillard Reaction Products in Protein-Polysaccharide Conjugates Using Hyperspectral Imaging and Machine Learning Models

Mohammad Hossein Nargesi<sup>1</sup> | Somayeh Aziznia<sup>2</sup> | Kamran Khairali pour<sup>3</sup> |  
Mohammad Kurd<sup>4</sup> | Zahra Kavyani<sup>5</sup>

1. Biosystems Mechanical Engineering Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail:

[mohamadhossein.73@gmail.com](mailto:mohamadhossein.73@gmail.com)

2. Department of Food Science and Hygiene, Faculty of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail:

[s.aziznia@ilam.ac.ir](mailto:s.aziznia@ilam.ac.ir)

3. Biosystems Mechanical Engineering Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail:

[k.kheiralipour@ilam.ac.ir](mailto:k.kheiralipour@ilam.ac.ir)

4. Department of Food Science and Hygiene, Faculty of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail:

[muhammad.kurd.off@gmail.com](mailto:muhammad.kurd.off@gmail.com)

5. Department of Food Science and Hygiene, Faculty of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran. E-mail:

[zahrakavyani20@gmail.com](mailto:zahrakavyani20@gmail.com)

### Article Info

**Article type:** Research Article

#### Article history:

**Received:** Oct. 4, 2025

**Revised:** Nov. 26, 2025

**Accepted:** Nov. 29, 2025

**Published online:** Winter 2026

#### Keywords:

*Hyperspectral imaging,  
Machine learning,  
Maillard reaction,  
Melanoidins.*

### ABSTRACT

The Maillard reaction is a chemical reaction between free amino groups in proteins and carbonyl groups of reducing sugars. The formation of a covalent bond between protein and carbohydrate, known as a protein-saccharide conjugate or conjugate compounds, improves the functional properties of proteins and is effective in developing and enhancing the flavor and color of foods. However, without precise control, there are concerns about the formation of compounds harmful to human health. Therefore, optimizing the reaction conditions to leverage its benefits and minimize harmful compounds is essential. In this research, whey protein concentrate and beta-glucan were conjugated at different temperatures, and the final Maillard reaction products were assessed using UV-visible spectrophotometry. The data were processed using Principal Component Analysis and machine learning algorithms, including Random Forest (RF), K-Nearest Neighbors (KNN), and Support Vector Machine (SVM). The KNN algorithm demonstrated superior performance, achieving a classification accuracy of 91.04%. The SVM model, employing "one-vs-one" and "one-vs-rest" strategies, attained accuracies of 87.88% and 84.85%, respectively, while the RF model yielded the lowest accuracy (77.20%). Spectral analysis confirmed that increased temperature led to a significant formation of final Maillard products. The machine learning models based on spectral data successfully enabled the precise discrimination of samples based on process temperature. In summary, this study demonstrated that the proposed approach of integrating UV-visible spectroscopy with machine learning possesses significant potential as a fast, non-destructive, and efficient method for monitoring the Maillard reaction and optimizing thermal processes in the food industry.

Cite this article: Nargesi, M. H., Aziznia, S., Khairali pour, K., Kurd, M., Kavyani, Z., (2026) Classification of Final Maillard Reaction Products in Protein-Polysaccharide Conjugates Using Hyperspectral Imaging and Machine Learning Models, *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 56 (4), 107-123. <https://doi.org/10.22059/ijbse.2025.403611.665622>

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2025.403611.665622>



## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

The Maillard reaction represents a fundamental chemical process in food science, involving complex interactions between amino groups in proteins and carbonyl groups in reducing sugars. This reaction plays a dual role in food processing: it generates desirable sensory attributes including characteristic flavors, appealing colors, and improved functional properties, while potentially producing harmful compounds such as advanced glycation end-products when uncontrolled. Although conventional spectroscopic methods such as fluorescence and Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy are used for monitoring melanoidins, and more advanced techniques like chromatography and mass spectrometry are available for mechanistic studies, these methods are often costly, time-consuming, or require complex sample preparation. Among existing techniques, UV-Vis spectroscopy is recognized as one of the primaries and most widely used methods for tracking the formation of Maillard reaction products due to its simplicity, speed, and non-destructive nature. However, interpreting data from this technique is often challenging due to overlapping absorption bands and the non-linear nature of the reaction. To address this limitation, this study introduces an innovative approach based on integrating UV-Vis spectroscopy with machine learning algorithms. The key advantage of this approach lies in leveraging the inherent speed and simplicity of UV-Vis spectroscopy while enhancing it with the predictive power of machine learning models, enabling accurate and quantitative assessment of final Maillard reaction products (melanoidins).

### Methods

The experimental design involved preparing whey protein concentrate and beta-glucan conjugates (2% w/v in phosphate buffer, pH 7.0) subjected to ultrasonic-assisted Maillard reaction at precisely controlled temperatures of 60, 70, and 80°C for 12 minutes. A benchtop hyperspectral imaging system (Specam, Parto Sanat Co., Iran) operating in the 450-900 nm spectral range with 666 channels was employed for image acquisition. The system captured 162 hyperspectral images from three treatment groups with three replicates each. Conventional spectrophotometric measurements at 420 nm provided reference data for final Maillard reaction products (melanoidins). Following image preprocessing and spectral feature extraction, three machine learning algorithms—K-Nearest Neighbors (KNN), Support Vector Machine (SVM) with "one-vs-one" and "one-vs-rest" strategies, and Random Forest (RF)—were implemented for temperature-based classification of Maillard reaction progression.

### Results

Spectrophotometric analysis validated the temperature-dependent progression of the Maillard reaction, showing statistically significant increases ( $p < 0.05$ ) in absorbance at 420 nm with elevated processing temperatures. Feature selection from hyperspectral data identified seven characteristic wavelengths (400.40, 401.23, 407.84, 408.67, 455.80, 573.21, and 882.45 nm) as most discriminative for classifying Maillard reaction stages. Evaluation of machine learning models revealed that the KNN algorithm achieved superior performance with 91.04% classification accuracy, effectively distinguishing samples based on their thermal processing history. The SVM classifier demonstrated robust performance with accuracies of 87.88% and 84.85% using different multiclass strategies, while the RF algorithm registered 77.20% accuracy. The high classification accuracy establishes a direct correlation between hyperspectral features and chemical changes associated with Maillard reaction progression.

### Conclusion

This research successfully demonstrates that integration of UV-Vis spectroscopy with machine learning algorithms provides an effective, non-destructive methodology for monitoring and classifying Maillard reaction products. The identification of key spectral wavelengths associated with reaction progression offers new insights into the spectral signatures of Maillard chemistry. The outstanding performance of the KNN algorithm (91.04% accuracy) highlights the potential of this integrated approach for real-time quality control in food processing operations. This technology enables precise monitoring of thermal processing effects on Maillard reaction development, facilitating optimized process conditions that maximize desirable sensory attributes while minimizing formation of potentially harmful compounds. The method presents significant advantages over conventional analytical techniques, including non-destructive operation, rapid analysis capability, and suitability for industrial implementation, establishing a foundation for advanced process analytical technology in food manufacturing.

### Author Contributions

M.H.N; Software, Validation, Methodology, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing–

review & editing

S.A; Conceptualization, Formal analysis, Writing-Original Draft, Data curation, Writing-review & editing

K. KH; Project administration, software, supervision, Data curation, Validation, review & editing

M.K; Investigation, Methodology, Data curation

Z. K; Investigation, Methodology, Data curation

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

#### **Data Availability Statement**

Data available on request from the authors.

#### **Acknowledgements**

This research was carried out in Ilam University, Ilam-IRAN. Therefore, the authors are thankful to Ilam University for their supporting.

#### **Ethical considerations**

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

#### **Conflict of interest**

The author declares no conflict of interest.

## طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد در مزدوج‌های پروتئین-پلی ساکارید با تصویربرداری فراطیفی و مدل‌های یادگیری ماشین

محمدحسین نرگسی<sup>۱</sup> | سمیه عزیزنیا<sup>۲</sup> | کامران خیرعلی‌پور<sup>۳</sup> | محمد کرد<sup>۴</sup> | زهرا کاویانی<sup>۵</sup>

۱. گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: [mohamadhossein.73@gmail.com](mailto:mohamadhossein.73@gmail.com)

۲. گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرا دامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: [s.aziznia@ilam.ac.ir](mailto:s.aziznia@ilam.ac.ir)

۳. گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: [k.kheiralipour@ilam.ac.ir](mailto:k.kheiralipour@ilam.ac.ir)

۴. گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرا دامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: [muhammad.kurd.off@gmail.com](mailto:muhammad.kurd.off@gmail.com)

۵. گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرا دامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: [zahrakavyani20@gmail.com](mailto:zahrakavyani20@gmail.com)

| اطلاعات مقاله                                                                         | چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| نوع مقاله: مقاله پژوهشی                                                               | میلارد واکنش شیمیایی است که بین گروه‌های آمین آزاد پروتئین‌ها و گروه‌های کربونیل قندهای احیا کننده انجام می‌شود. تشکیل پیوند کووالانسی بین پروتئین و کربوهیدرات، با عنوان مزدوج پروتئین-ساکارید یا ترکیبات کوئژوگه شناخته شده که علاوه بر بهبود ویژگی‌های کاربردی، در بهبود طعم و رنگ مواد غذایی نیز مؤثر است. با این حال، در صورت عدم کنترل دقیق، نگرانی‌هایی در مورد تشکیل ترکیبات مضر برای سلامت انسان وجود دارد. بنابراین، بهینه‌سازی شرایط واکنش برای بهره‌گیری از مزایای آن و به حداقل رساندن ترکیبات مضر، امری ضروری است. در این پژوهش، کنسانتره پروتئین آب پنیر و بتاگلوکان تحت دماهای مختلف مزدوج شده و محصولات نهایی میلارد با اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی سنجش شد. داده‌ها با روش تحلیل مؤلفه‌های اصلی و الگوریتم‌های یادگیری ماشینی شامل جنگل تصادفی، نزدیک‌ترین همسایگان و ماشین بردار پشتیبان پردازش شدند. نتایج نشان داد که الگوریتم نزدیک‌ترین همسایگان با دقت ۹۱/۰۴ درصد بهترین عملکرد را در طبقه‌بندی نمونه‌ها داشت. ماشین بردار پشتیبان با دقت‌های ۸۷/۸۸ و ۸۴/۸۵ درصد با دو راهبرد «یکی در برابر یکی» و «یکی در برابر همه»، و جنگل تصادفی با دقت ۷۷/۲۰ درصد در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. بررسی‌های طیفی تأیید کرد که افزایش دما موجب افزایش محصولات نهایی میلارد شده و مدل‌های یادگیری ماشین بر پایه داده‌های طیفی، امکان تفکیک دقیق نمونه‌ها بر اساس دمای فرآیند را فراهم نمودند. این پژوهش نشان داد که رویکرد پیشنهادی ادغام اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی با یادگیری ماشین، به‌عنوان یک روش سریع، غیرمخرب و کارآمد، پتانسیل قابل توجهی برای پایش واکنش میلارد و بهینه‌سازی فرآیندهای حرارتی در صنایع غذایی دارا می‌باشد. |
| تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۱۲                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۹/۵                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۸                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| تاریخ انتشار: زمستان ۱۴۰۴                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| واژه‌های کلیدی:<br>تصویربرداری فراطیفی،<br>ملائیوئیدین،<br>میلارد،<br>یادگیری ماشینی. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

استناد: نرگسی؛ محمدحسین، عزیزنیا؛ سمیه، خیرعلی‌پور؛ کامران، کرد؛ محمد، کاویانی؛ زهرا، (۱۴۰۴) طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد در مزدوج‌های پروتئین-پلی ساکارید با تصویربرداری فراطیفی و مدل‌های یادگیری ماشین، *مجله مهندسی بیوسیستم ایران/ایران*، ۵۶ (۴)، ۱۰۷-۱۲۳.



<https://doi.org/10.22059/ijbse.2025.403611.665622>

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2025.403611.665622>

## مقدمه

واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی میلارد<sup>۱</sup> برای نخستین بار در سال ۱۹۱۲ توسط شیمی دان فرانسوی به نام لوئیس کامیل میلارد شناخته و معرفی شد و به همین دلیل به نام این دانشمند نامگذاری شد. این واکنش یک فرآیند شیمیایی بین قندهای احیاکننده و گروه‌های آمینی پروتئین‌ها بوده (Nooshkam, Varidi, and Verma, 2020) و تشکیل این پیوند یا مزدوج سازی باعث برقراری اتصالات بسیار قوی، غیرالکترواستاتیک و دائمی بین پروتئین و ساکارید می‌شود (Schmitt et al., 1998). واکنش میلارد که به‌عنوان یک مسیر شیمیایی پیچیده شناخته می‌شود، با تشکیل اولیه باز شیف<sup>۲</sup> در چارچوب واکنش سانگر بین گروه‌های آمین و کربونیل آغاز می‌گردد. باز شیف ناپایدار بوده و طی بازآرایی به محصولات میانی پایدارتر تبدیل شده و در نهایت از طریق پلیمریزاسیون، به ترکیبات رنگین با جرم مولکولی بالا معروف به ملانوئیدین‌ها<sup>۳</sup> منجر می‌شود (de Oliveira et al., 2016; Hellwig & Henle, 2014). این واکنش از دو جنبه دارای اهمیت است: از یک سو با بهبود ویژگی‌های فناوریانه پروتئین‌ها (مانند حلالیت و پایداری) و ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، کیفیت محصولات غذایی را افزایش می‌دهد (Oliver et al., 2006) و از سوی دیگر در ایجاد عطر، طعم و رنگ مطلوب در بسیاری از مواد غذایی ایفای نقش می‌کند. (de Oliveira et al., 2016) با وجود این مزایا، در صورت عدم کنترل دقیق واکنش، امکان تشکیل ترکیبات مضرى مانند آکريل‌آمید، فوران‌ها و آمین‌های هتروسیکلیک وجود داشته که اثرات منفی بر سلامت انسان دارند (Ajandouz et al., 2001; El Hosry et al., 2025; Liu et al., 2022; yang et al., 2023) و به حداقل رساندن ترکیبات مضر، امری ضروری است (Wei et al., 2018).

از آن جا که محصولات واکنش میلارد<sup>۴</sup> (MRPs) معمولاً در محلول‌های آبی قابل حل هستند و محدوده جذب گسترده‌ای در طیف مرئی-فرابنفش دارند (Wang et al., 2023)، معمولاً از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش برای تعیین آنها استفاده می‌شود. مطالعات اخیر از رویکردهای تحلیلی متنوعی برای شناسایی و پایش ملانوئیدین‌ها استفاده کرده‌اند. روش‌هایی شامل طیف‌سنجی جرمی<sup>۵</sup>، طیف‌سنجی رزونانس مغناطیس هسته‌ای (NMR)، طیف‌سنجی رزونانس پارامغناطیس الکترون<sup>۶</sup> (EPR)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۷</sup> (HPLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارساز آرایه دیود (HPLC-DAD)، کروماتوگرافی اندازه‌تردی<sup>۸</sup> (SEC-HPLC)، طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و ارزیابی جذب ایمنی با واسطه واکنش آنزیمی<sup>۹</sup> (ELISA) به تنهایی یا در ترکیب با سایر روش‌ها برای ارائه اطلاعات دقیق‌تر درباره میزان، ساختار و ویژگی‌های ملانوئیدین‌ها به کار گرفته شده‌اند. با این حال، این روش‌ها پرهزینه، مخرب و زمان‌بر بوده و نیاز به توسعه روش‌های ارزان قیمت، سریع، دقیق و مبتنی بر یادگیری ماشینی برای پایش این واکنش در صنعت احساس می‌شود. یکی از رویکردهای نوین مورد توجه در صنایع غذایی، استفاده از فناوری تصویربرداری فراطیفی<sup>۱۰</sup> (HSI) به‌عنوان روشی نوین و قدرتمند برای ارزیابی و پایش مواد خوراکی و غیر خوراکی به کار گرفته شده است (Kheiralipour et al., 2014; Mancini et al., 2020; Nargesi et al., 2025b). هرچند طیف‌سنجی نزدیک به مادون قرمز (NIR) نیز به‌عنوان رویکردی غیرمخرب در ارزیابی ویژگی‌های کیفی محصولات غذایی استفاده می‌شود (Mireei et al., 2010; Ghanei Ghooshkhaneh et al., 2022)، اما ماهیت نقطه‌ای این روش محدودیتی اساسی در مقایسه با تصویربرداری فراطیفی ایجاد می‌کند. HSI به‌عنوان یک روش نوین و غیرتخریبی

1. Louiss Camille Maillard

2. Conjugation

3. Schiff base

4. Melanoidins

5. Maillard Reaction Products

6. Mass spectrometry

7. Nuclear magnetic resonance spectroscopy

8. Electron paramagnetic resonance

9. High performance liquid chromatography

10. Size exclusion chromatography

11. Enzyme-linked immunosorbent assay

12. Hyperspectral imaging

در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Nargesi et al., 2025). برخلاف دوربین‌های معمولی (RGB) که تنها سه گستره رنگی را ثبت می‌کنند، این روش با ثبت هزاران باند طیفی پیوسته، امکان تشخیص دقیق کوچک‌ترین تغییرات در خواص مواد را فراهم می‌کند (Kheiralipour et al., 2018). ادغام این فناوری با الگوریتم‌های یادگیری ماشینی، دقت و سرعت تحلیل داده‌ها را به طور چشمگیری افزایش داده است (Paoletti et al., 2019; Kheiralipour et al., 2023). در برخی از پژوهش‌ها جهت ارزیابی کیفیت مغزها (Kheiralipour et al., 2025)، دانه‌های کاکائو و قهوه (Nogales-Bueno et al., 2020; Caporaso et al., 2018)، تشخیص تقلب در مواد غذایی (Nargesi et al., 2025b)، و تمایز انواع مواد از همدیگر (Nargesi et al., 2024) از این روش استفاده شده است. با وجود قابلیت‌های بالای فناوری تصویربرداری فرا طیفی، تاکنون از روش HSI برای پایش غیرمخرب محصولات واکنش میلارد در محلول‌های مزدوج<sup>۲</sup> پروتئین-کربوهیدرات (کونژوگه) استفاده نشده است. هدف این مطالعه، توسعه یک روش غیرمخرب، سریع و مقرون به صرفه برای طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد در کونژوگه‌های کنسانتره پروتئین‌های سرمی شیر و بتا-گلوکان در سه سطح دمایی ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس با استفاده از فناوری تصویربرداری فراطیفی با استفاده از HSI است. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، این تحقیق به بررسی امکان‌سنجی استفاده از HSI در محدوده طیفی ۴۰۰ تا ۹۵۰ نانومتر به عنوان یک جایگزین جدید پرداخته است. تا آنجایی که بررسی‌های ما نشان داده، تاکنون هیچ گزارشی در مورد طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد (ملانوئیدین‌ها) در مزدوج‌های پروتئین-کربوهیدرات گزارش نشده است. توجه به اینکه محصولات نهایی میلارد عامل اصلی بروز ویژگی‌های حسی و عملکردی این واکنش (از جمله رنگ، عطر و طعم مطلوب و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی) هستند، همچنین با در نظر گرفتن نقش احتمالی برخی از این ترکیبات در ایجاد اثرات نامطلوب سلامتی، پایش و کنترل مرحله پایانی واکنش از اهمیت عملی و صنعتی بیشتری نسبت به مراحل اولیه (تشکیل محصولات اولیه و حواسط) برخوردار است. بر این اساس، در مطالعه حاضر، مدل‌های یادگیری ماشین برای پیش‌بینی شاخص جذب در ۴۲۰ نانومتر، که به عنوان شاخص کلیدی برای غلظت محصولات نهایی میلارد شناخته می‌شود، بکارگیری شدند. در واقع این مطالعه به دنبال نشان دادن پتانسیل تصویربرداری فراطیفی همراه با الگوریتم‌های یادگیری ماشین به عنوان ابزاری قابل اعتماد برای صنایع غذایی جهت طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد در کونژوگه‌های کنسانتره پروتئین‌های سرمی شیر و بتا-گلوکان با روشی سریع، ساده و غیرتهاجمی است.

## مواد و روش‌ها

**مواد** پودر کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر (۷۰ درصد) از شرکت فرآورده‌های لبنی کاله (ایران) و پودر بتا-گلوکان (۸۰ درصد  $\geq$  خلوص) از شرکت Xi'an Ebos Biotech Co. Ltd. (چین) تهیه گردید. کلیه ترکیبات شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده دارای درجه آزمایشگاهی و با خلوص بالا بوده و از شرکت‌های Sigma-Aldrich کشور آمریکا، Merck کشور آلمان و دکتر مجللی (ایران) خریداری شدند.

**تهیه نمونه‌ها** کنسانتره پروتئین آب پنیر (۲ درصد وزنی-حجمی) و بتا-گلوکان (۲ درصد وزنی-حجمی) به صورت جداگانه در محلول بافر فسفات (۰/۲ مولار، pH برابر ۷) حل شدند. سدیم آزید (۰/۰۲ درصد وزنی-وزنی) به عنوان عامل ضد میکروب اضافه گردید. هر محلول به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق ( $25 \pm 1$  درجه سلسیوس) هم زده شد و به منظور اطمینان از هیدراته شدن کامل، به مدت یک شب در یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگهداری شد. محلول‌های هیدراته، فیلتر شده و محلول‌های  $\beta$ G:WPC (با نسبت ۱:۱) با همزدن به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق تهیه گردید. کونژوگاسیون و واکنش میلارد با استفاده از حمام اولتراسونیک (۴۰ کیلوهرتز) در دماهای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ دقیقه انجام شد. بلافاصله پس از سونیکاسیون، نمونه‌ها در حمام آب یخ قرار گرفتند تا از ادامه واکنش‌ها جلوگیری به عمل آید.

## الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید-سدیم دو دسیل سولفات (SDS-PAGE)

الکتروفورز پروتئین‌ها در ژل پلی آکریل آمید (PAGE) با غلظت ۱۲ درصد و در دستگاه عمودی، مطابق با پروتکل استاندارد (Laemmli et al., 1970) انجام شد. برای این منظور، ۴۰ میکروگرم از هر نمونه (حاوی ۲ میلی گرم بر میلی لیتر پروتئین) با حجم برابری از بافر (تریس-هیدروکلرید ۰/۱۲۵ مولار، سدیم دودسیل سولفات (SDS) ۴ درصد، گلیسرول ۲۰ درصد و بروموفنل بلو ۰/۰۲ درصد) مخلوط گردید.

1. Red, Green, Blue

2. Conjugate

3. Sodium Dodecyl Sulfate - PolyAcrylamide Gel Electrophoresis

سپس مخلوط‌ها به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش (دمای ۹۵ درجه سلسیوس) قرار داده شده و دنا توره شدند. فرآیند الکتروفورز با ولتاژ جریان ۱۲۰ ولت در بافر تریس - گالیسین - سدیم دودسیل سولفات در  $\text{pH}=8/3$  انجام شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل‌ها به منظور آشکارسازی نوارهای پروتئینی، به مدت ۲۴ ساعت در محلول کوماسی بریلیانت بلو R-250 رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، مرحله رنگ‌زدایی با استفاده از محلول متانول ۴۰ درصد و اسید استیک ۷ درصد به مدت ۴۸ ساعت انجام پذیرفت.

#### برآورد میزان محصولات نهایی میلارد با اسپکتروفتومتر

به منظور بررسی و برآورد پیشرفت تولید ترکیبات ملانوئیدی به عنوان محصولات نهایی در طی واکنش میلارد، 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 (Dong et al., 2012).

#### تصویربرداری فراطیفی

از سامانه HSI رو میزی (مدل Specam، ساخت شرکت پرتو صنعت، زنجان، ایران) برای اکتساب فرامکب نمونه‌ها استفاده است. حسگر HSI از حالت آشکارسازی بازتابی استفاده می‌کند و بازه ۴۵۰ تا ۹۰۰ نانومتر (۶۶۶ کانال) را پوشش می‌دهد و منبع نوری در داخل آن تعبیه شده است. امواج بازتابی HSI می‌تواند از سطح ماده بازتاب کرده و توسط حسگر دریافت شود. در این مطالعه، سه تیمار برای تشخیص محصولات میلارد تهیه و کدگذاری شد. از هر تیمار، سه تکرار تهیه شد. نمونه تا انجام تصویربرداری در ظروف درب‌دار و دمای یخچال نگهداری شدند. اسکن طیفی با استفاده از سامانه HSI انجام شد. ابتدا میزان ۵۰ میلی لیتر از هر نمونه برداشته و داخل محفظه ریخته شد (هر بار این میزان به عنوان یک نمونه مستقل تعریف شد). سپس ظرف نمونه روی سکوی متحرک سامانه قرار داده شده و HSI سیگنال‌های مختلفی را از بازتاب نمونه‌ها دریافت و در رایانه ذخیره نمود. در مجموع، برای هر سه تیمار، تعداد ۱۶۲ تصویر فراطیفی جمع‌آوری گردید.



شکل ۱. سامانه تصویربرداری فراطیفی

#### انتخاب کانال و طول موج‌های اطلاع‌رسان

داده‌های طیفی همبستگی بالایی دارند و شامل اطلاعات زائد زیادی هستند. برای حل مشکل هم‌خطی و بهبود کارایی مدل، انتخاب محدوده‌های بهینه ضروری است. پس از انتخاب محدوده‌های مهم، می‌توان مدلی دقیق‌تر و سریع‌تر ایجاد کرد. روش‌های مختلفی برای انتخاب طول موج‌های مهم وجود دارد، از جمله: ضرایب همبستگی، رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLSR) تحلیل تفاوت طیفی، مشتقات طیفی، تحلیل تشخیصی، تحلیل مؤلفه‌های مستقل، الگوریتم فراقنی متوالی و شبکه‌های عصبی مصنوعی (Pu et al., 2015). تحلیل مؤلفه‌های اصلی<sup>۲</sup> (PCA) یک روش چندمتغیره کیفی بدون نظارت و پرکاربرد است. PCA ابعاد یک مجموعه داده پیچیده را کاهش داده، مهم‌ترین اطلاعات طیفی نمونه‌ها را استخراج کرده و نقاط پرت داده را شناسایی می‌کند. به بیان ساده، PCA داده‌های طیفی اولیه را به یک زیرفضای واریانس تبدیل می‌کند که ساختار کلی داده‌های اصلی را حفظ کرده و همه طیف‌ها را به صورت خطی در بردارهای ویژه متعامد ترکیب می‌کند (Vermeulen et al., 2021).

با ترسیم نمرات PCA، نمونه‌هایی با نمودارهای طیفی مشابه معمولاً نزدیک به هم قرار می‌گیرند. در این مطالعه، PCA بر روی ماتریس داده‌ها به منظور شناسایی محصولات واکنش میلارد از طریق بررسی خوشه‌بندی سه تیمار بر اساس تغییرات طیفی آن‌ها انجام



شد. داده‌های طیفی خام برای PCA استفاده شدند. درصد تجمعی واریانس توضیح داده شده برای انتخاب تعداد بهینه مؤلفه‌های اصلی استفاده شد (Hashim et al., 2021; Kuligowski et al., 2012).

در این مطالعه، در نرم افزار R نسخه ۴٫۵٫۱ الگوریتمی برای پردازش و تجزیه و تحلیل تصاویر فراطیفی طراحی شد. داده‌ها شامل داده‌های فراطیفی جمع‌آوری شده از سه نمونه کونژوگه پروتئین‌های سرمی شیر و بتا-گلوکان مختلف تحت سطوح دمایی مختلف بودند. برای هر نمونه، تصاویر فراطیفی در طول موج‌های مختلف گرفته شدند تا ویژگی‌های بازتاب آن‌ها تحت شرایط دمایی مختلف ثبت شود. با توجه به تعداد زیاد متغیرهای ورودی (۶۶۶ کانال طیفی)، از تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای کاهش ابعاد داده‌ها و شناسایی مرتبط‌ترین ویژگی‌های طیفی برای تمایز دما استفاده شد.

### طبقه‌بندی

داده‌های طیفی با نرم‌افزار متلب (شرکت MathWorks، ناتیگ، ایالات متحده آمریکا) وارد و تحلیل شدند. مجموعه داده با روش‌های جنگل تصادفی (RF)، نزدیک‌ترین همسایگان (KNN)، و ماشین بردار پشتیبان<sup>۳</sup> (SVM) به داده‌های آموزش (۸۰ درصد) و داده‌های آزمون (۲۰ درصد) تقسیم شدند. سه دسته‌بندی مختلف، شامل RF، KNN، و SVM برای طبقه‌بندی ویژگی‌های استخراج شده از تصاویر فراطیفی تیمارها استفاده شدند تا MRPs بر اساس دمای واکنش (۶۰، ۷۰، و ۸۰ درجه سلسیوس) طبقه‌بندی شوند. هر سه مدل را می‌توان بر اساس قابلیت تفسیر به دو گروه تقسیم کرد: ساده و پیچیده.

مدل‌های ساده، مانند KNN پارامترهای کمی دارند و قابل تفسیر هستند؛ اما از سوی دیگر، مدل‌های SVM و RF پیچیده، دشوار برای تفسیر، و دارای تعداد زیادی پارامتر هستند.

### جنگل تصادفی

طبقه‌بندی جنگل تصادفی با استفاده از تابع TreeBagger در MATLAB پیاده‌سازی شد. پارامترهای مدل شامل ۱۰۰ درخت، حداقل ۱ نمونه در برگ، و انتخاب  $\sqrt{M}$  ویژگی در هر تقسیم بود. مقداردهی تصادفی ثابت ((rng(42,'twister')) برای بازتولید نتایج اعمال شد. ارزیابی مدل با سه روش انجام شد: خطای خارج از نمونه درختان (OOB)، اعتبارسنجی متقابل یک‌به‌یک (LOOCV)، تقسیم متوازن مجموعه آموزش (۸۰ درصد) و آزمون (۲۰ درصد). شاخص‌های عملکرد شامل دقت و حساسیت برای هر دو روش LOOCV و مجموعه آزمون گزارش شد.

### کی-نزدیک‌ترین همسایه

در این مطالعه، الگوریتم KNN برای طبقه‌بندی نمونه‌ها به سه کلاس مختلف استفاده شد. پیش از آموزش مدل، داده‌ها با استفاده از استانداردسازی Z-score نرمال‌سازی گردید تا مقیاس ویژگی‌ها یکنواخت شده و از تأثیر نامتناسب یک ویژگی بر عملکرد مدل جلوگیری شود. مجموعه داده شامل ۱۶۲ نمونه بود که به طور مساوی در سه کلاس تقسیم شدند (هر کلاس ۵۴ نمونه). برای آموزش مدل، به هر کلاس برچسب عددی اختصاص داده شد. برای ارزیابی عملکرد مدل، داده‌ها به صورت تقسیم‌بندی stratified با نسبت ۸۰ درصد به ۲۰ درصد به مجموعه آموزش و آزمون تقسیم شدند تا توزیع کلاس‌ها در هر مجموعه حفظ شود. همچنین برای تکرارپذیری نتایج از تعیین دانه تصادفی ((rng(0)) استفاده شد. مدل KNN با  $k = 3$  همسایه و تابع fitknn در نرم‌افزار MATLAB آموزش داده شد. پیش‌بینی‌ها روی کل مجموعه داده و همچنین مجموعه آزمون مستقل انجام شد تا دقت کلی و عملکرد مدل روی داده‌های دیده نشده ارزیابی شود. برای ارزیابی عملکرد مدل، ماتریس درهم‌ریختگی<sup>۴</sup> ساخته شد. سپس شاخص‌های مثبت درست<sup>۵</sup> (TP)، مثبت کاذب<sup>۶</sup> (FP) و منفی کاذب<sup>۷</sup> (FN) برای هر کلاس محاسبه شده و از آن‌ها شاخص‌های حساسیت<sup>۸</sup> و دقت به ازای هر کلاس<sup>۹</sup> استخراج شد. علاوه بر آن، دقت کلی مدل روی کل داده‌ها و مجموعه آزمون نیز محاسبه شد. تصویرسازی‌ها شامل نمودارهای میله‌ای برای دقت کلی، حساسیت و دقت

1. Random Forest  
2. K-Nearest Neighbors  
3. Support Vector Machine  
4. Confusion Matrix  
5. True Positive  
6. False Positive  
7. False Negative  
8. Sensitivity/Recall  
9. Accuracy per class



هر کلاس و همچنین ماتریس‌های درهم‌ریختگی افزوده (نمایش تعداد نمونه‌ها به همراه درصد حساسیت و دقت) بودند. در نهایت، اختلاف بین دقت مجموعه آموزش و آزمون بررسی شد تا احتمال Overfitting ارزیابی شود.

### ماشین بردار پشتیبان

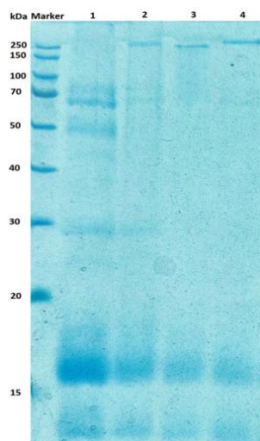
ماشین بردار پشتیبان روشی نظارت‌شده، غیرپارامتریک و مبتنی بر هسته در حوزه یادگیری آماری است. در این روش، یادگیری مبتنی بر هسته با استفاده از یک نگاشت ضمنی، داده‌های ورودی را به فضایی با ابعاد بالاتر منتقل می‌کند که توسط یک تابع هسته توصیف می‌شود. به بیان دیگر، در مسائل غیرخطی، یک ابرصفحه خطی در فضای ویژگی به عنوان تابع تصمیم در نظر گرفته شده و سپس نگاشت معکوس آن در فضای ورودی اعمال می‌شود. داده‌های مورد استفاده شامل  $X$  نمونه با  $Y$  ویژگی بودند که در  $Z$  کلاس دسته‌بندی شدند؛ به طوری که هر کلاس شامل  $n$  نمونه بود. تمامی ویژگی‌ها با استفاده از استانداردسازی  $Z$ -score نرمال‌سازی شدند تا دارای میانگین صفر و انحراف معیار یک باشند. پیش از آموزش مدل، داده‌ها به صورت تصادفی shuffle شدند تا ترتیب نمونه‌ها تأثیری بر فرایند یادگیری نداشته باشد. سپس داده‌ها به نسبت ۸۰ درصد برای آموزش و ۲۰ درصد برای آزمون تقسیم شدند.

برای طبقه‌بندی چندکلاسه، از ماشین بردار پشتیبان با دو رویکرد یکی در برابر یکی و یکی در برابر همه استفاده شد. هسته انتخابی، تابع پایه شعاعی (RBF) بود و مقیاس هسته به صورت خودکار تعیین گردید. علاوه بر این، داده‌ها در مدل SVM مجدداً استانداردسازی شدند. برای ارزیابی عملکرد مدل، از معیارهای مختلفی شامل دقت آموزش، اعتبارسنجی متقابل، ماتریس درهم‌ریختگی برای داده‌های آزمون و کل داده‌ها، همچنین Precision و Recall برای هر کلاس و در نهایت دقت کلی (Overall Accuracy) استفاده شد.

## نتایج

### نتایج الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید- سدیم دو دسیل سولفات

الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرمی شیر تیمار نشده و نمونه‌های کونژوگه در شکل ۲ آورده شده است. باندهای متمایزی مربوط به پروتئین‌های اصلی سرم شیر شامل آلفا لاکتالبومین (حدود ۱۱ کیلو دالتون)، بتا لاکتوگلوبولین (حدود ۱۸ کیلو دالتون) و سرم آلبومین (حدود ۶۶ کیلو دالتون) در نمونه کنترل مشاهده شد و همخوانی خوبی با پژوهش‌های مشابه نشان داد (Jiang et al, 2023; Liang et al, 2025). در نمونه‌های کونژوگه شده، تغییرات قابل توجهی در الگوی باندینگ نمونه‌ها مشاهده گردید. کاهش چشمگیر در شدت باندهای پروتئینی به ویژه در نواحی وزن‌های مولکولی نسبت داده شده به  $\beta$ -لاکتوگلوبولین و  $\alpha$ -لاکتالبومین، نشان‌دهنده مشارکت این پروتئین‌ها در واکنش میلارد و تشکیل کمپلکس‌های کووالانسی با  $\beta$ G بوده است. شدت این کاهش‌ها با افزایش دما، محسوس‌تر بود. تجمع در نقطه شروع ژل و همچنین ظهور باندهای کشیده شده در ناحیه با وزن مولکولی بالا، به وضوح تشکیل کوپلیمرها و پلیمرهای بزرگ پروتئین-پلی‌ساکارید (ملانوئیدین‌ها) را تأیید می‌کند. این پدیده به دلیل اتصال کووالانسی زنجیره‌های  $\beta$ G (به عنوان یک پلی‌ساکارید با وزن مولکولی بالا) به گروه‌های آمینی پروتئین‌ها رخ داده و به این ترتیب از مهاجرت این کمپلکس‌های حجیم به درون ماتریکس ژل جلوگیری کرده است. شدت باندهای جدید با وزن مولکولی بالاتر در مزدوج‌های تشکیل شده با دمای بالاتر، بیشتر بوده و بنابراین، این مشاهدات و مقایسه آن‌ها با نمونه کنترل، تاییدی بر مزدوج‌سازی و در راستای نتایج بخش قبل بوده است.



شکل ۲. الگوی ژل الکتروفورز

تیمارهای ۱ تا ۴ به ترتیب نشان دهنده پروتئین‌های سرمی شیر (کنترل) و مزدوج‌های تهیه شده در ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس می‌باشد.

### نتایج میزان محصولات میانی و نهایی میلارد

واکنش میلارد یک فرآیند شیمیایی پیچیده است که در نتیجه تشکیل پیوندهای کووالانسی بین گروه‌های عاملی آمین و کربونیل صورت می‌پذیرد. این واکنش به سه مرحله آغازین، میانی و نهایی تقسیم شده که تقریباً به طور همزمان رخ می‌دهند. فاز پایانی واکنش پلیمرها و کوپلیمرهای نیتروژن دار قهوه‌ای رنگ موسوم به ملانوئیدین تشکیل می‌شود (de Oliveira et al., 2016). از آنجا که ملانوئیدین‌ها به عنوان محصولات نهایی، مسئول اصلی ویژگی‌های مطلوب و نامطلوب واکنش از قبیل رنگ، طعم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند، پایش و کنترل تشکیل آن‌ها از اهمیت صنعتی و کاربردی بالاتری برخوردار است. بر این اساس، در این پژوهش، تمرکز مدل‌های یادگیری ماشین بر پیش‌بینی شاخص جذب در ۴۲۰ نانومتر ( $A_{420}$ ) (Abdelhedi et al., 2017; Aziznia et al, 2024)، به عنوان نماینده‌ای کلیدی برای غلظت این محصولات نهایی، معطوف گردید.

در شکل ۳ تصویر تیمارها و در جدول ۱ میزان جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر که بیانگر MRPs هستند، آورده شده است. در هر سه تیمار، میزان جذب محلول‌های کونژوگه در مقایسه با کنترل افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). افزایش درجه حرارت منجر به پیشرفت واکنش شده و شدت جذب در شاخص محصولات نهایی افزایش نشان داد. این افزایش بیانگر این است که با افزایش دمای واکنش، برخی ترکیبات میانی می‌توانند پلیمریزه شوند و در تشکیل محصولات نهایی میلارد شرکت کنند (Guan et al. 2010).



شکل ۳. تصویر تیمارها به ترتیب از چپ به راست: نمونه کنترل، تیمارهای مزدوج در دمای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس

همان‌طور که داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد، در تمامی تیمارهای کونژوگه، مقدار جذب در ۴۲۰ نانومتر ( $A_{420}$ ) که نشان‌دهنده تشکیل ترکیبات پایانی واکنش میلارد است، در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) داشت. این افزایش به‌ویژه در نمونه تیمار شده در ۸۰ درجه سلسیوس ( $WPC-\beta 80$ ) به حداکثر مقدار خود رسید. نتایج حاکی از آن است که دماهای بالاتر اولتراسوند، کارایی آغاز واکنش گلیکوزیلاسیون بین پروتئین و کربوهیدرات را به طور قابل توجهی افزایش داده است. همچنین این افزایش، نشان‌دهنده پیشرفت واکنش به سمت تشکیل ملانوئیدین‌ها، یعنی پلیمرهای قهوه‌ای رنگ نهایی است.

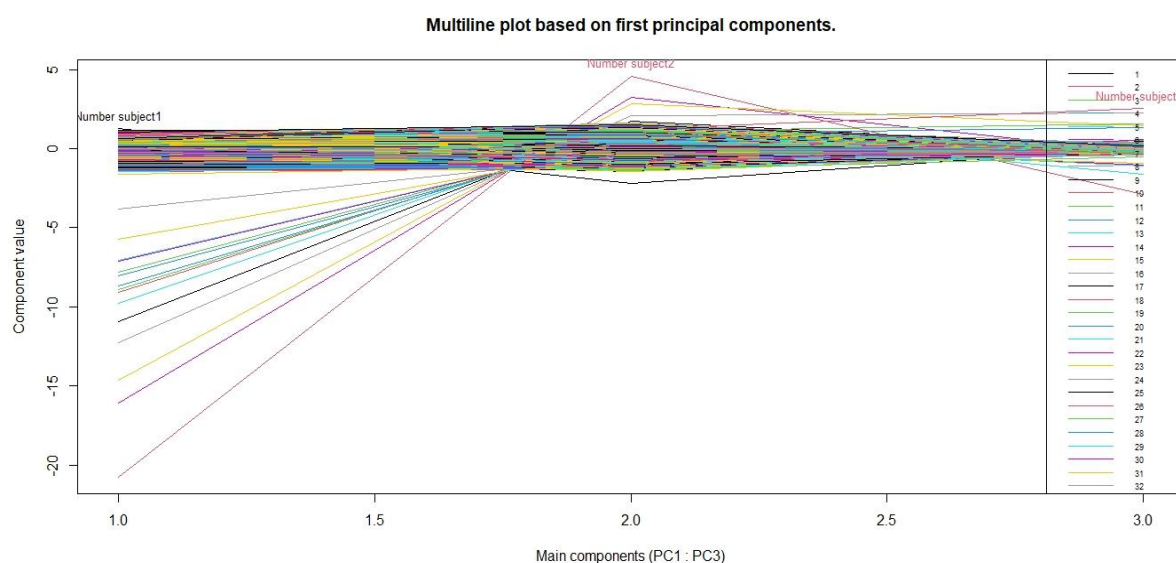
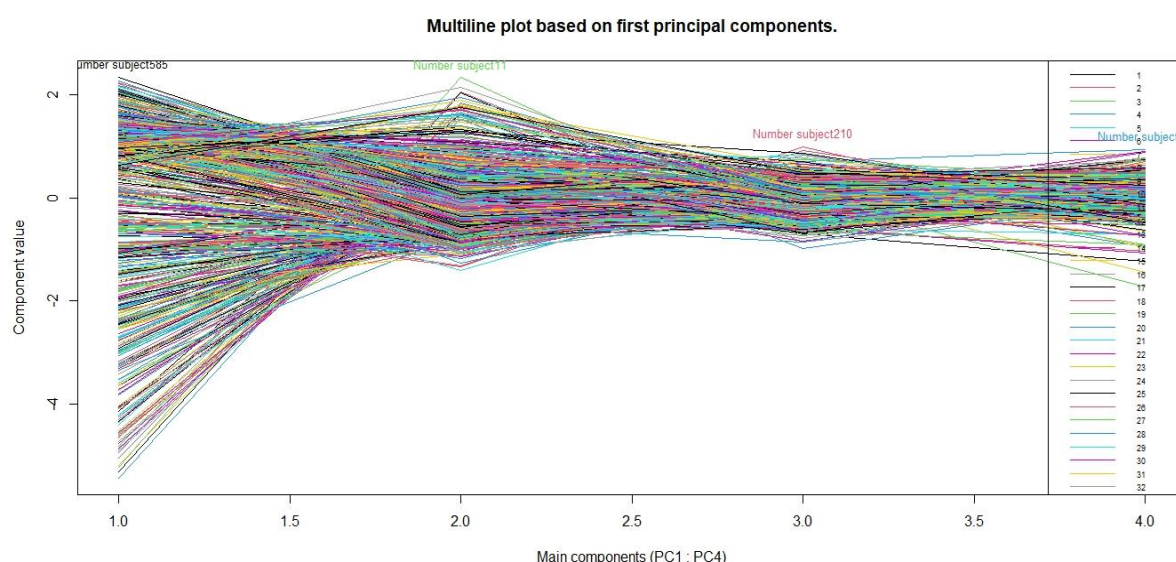
جدول ۱. میزان محصولات نهایی (جذب ۴۲۰ نانومتر،  $A_{420}$ ) میلارد برای کنسانتره پروتئین‌های سرمی شیر (Control) و مزدوج‌های تشکیل شده

| با بتا-گلوکان ( $WPC-\beta$ ) در دمای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس |                    |
|---------------------------------------------------------------|--------------------|
| نمونه                                                         | $A_{420}$          |
| Control                                                       | $0.01 \pm 0.003^a$ |
| WPC- $\beta 60$                                               | $0.22 \pm 0.011^b$ |
| WPC- $\beta 70$                                               | $0.26 \pm 0.007^c$ |
| WPC- $\beta 80$                                               | $0.31 \pm 0.032^d$ |

به نظر می‌رسد مکانیسم اصلی این است که دمای بالاتر، باعث بازشدن ساختار پروتئین‌ها می‌شود. این بازشدن، گروه‌های عاملی آمین که قبلاً در داخل ساختار پروتئین مدفون شده بودند را در دسترس قرار می‌دهد. در نتیجه، هم اثرگذاری امواج اولتراسوند افزایش یافته و هم گروه‌های آمینی بیشتری برای واکنش با گروه‌های کربونیلی قندها (واکنش میلارد) در دسترس قرار گرفته است (Zhang, et al, 2015). این فرآیند در نهایت منجر به افزایش درجه گلیکوزیلاسیون و پیشرفت واکنش به سمت تشکیل محصولات نهایی شده، که به خوبی توسط افزایش  $A_{420}$  طی افزایش دما، در نتایج این بخش تأیید شد.

## کانال‌های مؤثر تصاویر فراطیفی

نمودارهای مولفه‌های اصلی اول و دوم تصاویر فراطیفی نمونه‌ها در سه سطح دمایی مختلف (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس) در شکل ۴ نمایش داده شده‌اند.



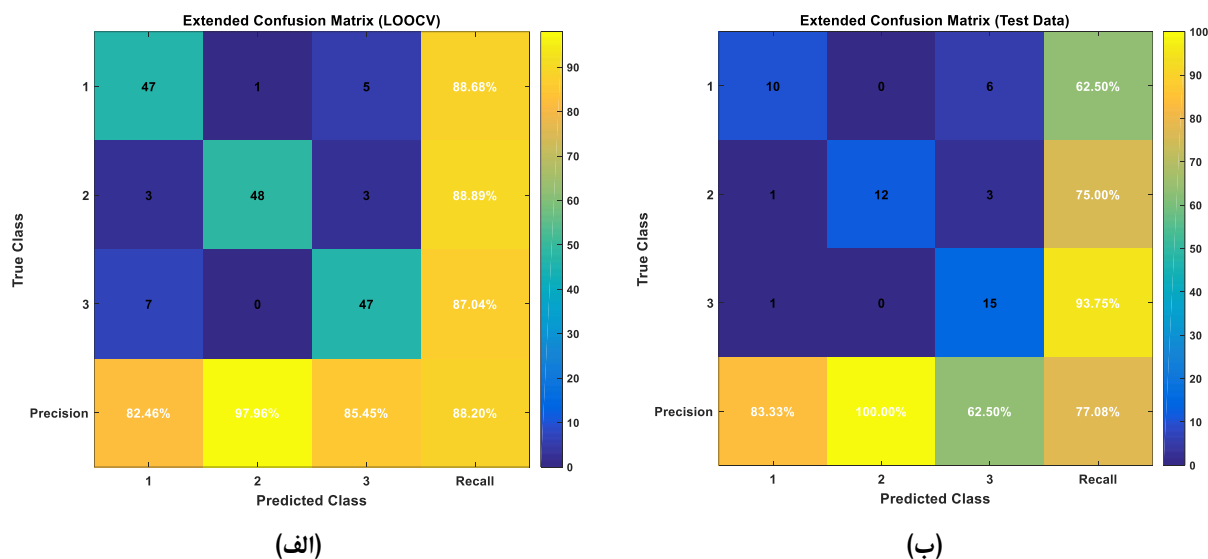
شکل ۴. نمودار مولفه‌های اصلی اولی (بالا) و دوم (پایین)

کانال‌های مؤثر برای این سه سطح دما شامل ۱، ۲، ۱۰، ۱۱، ۶۸، ۲۱۰ و ۵۸۵ هستند که طول موج‌های متناظر آن‌ها به ترتیب ۴۰۰/۴۰، ۴۰۱/۲۳، ۴۰۷/۸۴، ۴۰۸/۶۷، ۴۵۵/۸۰، ۵۷۳/۲۱ و ۸۸۲/۴۵ نانومتر می‌باشند (شکل ۴). این طول موج‌های مؤثر توانایی تمایز بین سطوح مختلف محصولات واکنش میلارد در هر سه دما را دارند و بنابراین برای انتخاب ویژگی مورد استفاده قرار گرفتند. از بین ۶۶۶ کانال طیفی مورد تجزیه و تحلیل، ۱۰ کانال به عنوان کانال‌های مؤثر شناسایی شدند. طول موج‌های مربوطه استخراج شدند و ویژگی‌های اطلاعاتی مختلفی از تصاویر فراطیفی در آن طول موج‌ها استخراج شد. این ویژگی‌ها شامل میانگین، میانه، حداقل، حداکثر، واریانس و انحراف معیار بودند (Nargesi et al., 2025; Nargesi & Kheiralipour, 2025).

## طبقه‌بندی جنگل تصادفی

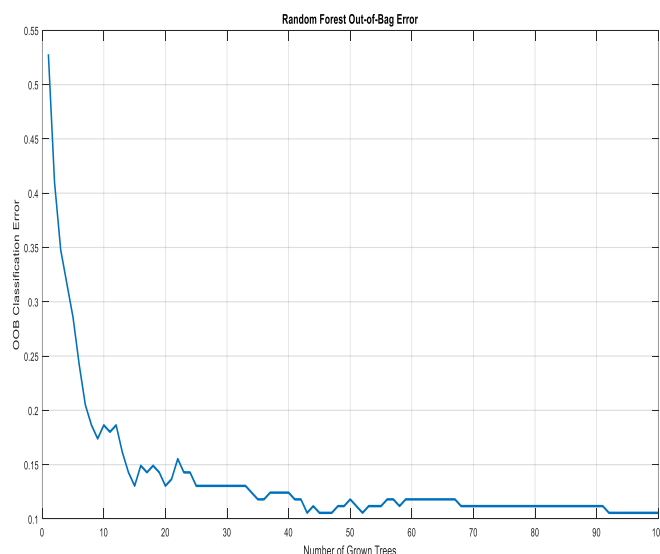
نمونه‌های تهیه شده در دماهای مختلف، با استفاده از الگوریتم جنگل تصادفی طبقه‌بندی شدند. ویژگی‌های استخراج شده از تصاویر فراطیفی در محدوده طیفی ۴۰۰-۹۵۰ نانومتر (حالت بازتاب) به عنوان ورودی به طبقه‌بندی استفاده شدند. نتایج طبقه‌بندی برای تمامی

نمونه‌ها، شامل مجموعه‌های آموزشی و آزمون، به صورت ماتریس درهم‌ریختگی در شکل ۵ آورده شده است.



شکل ۵. ماتریس درهم‌ریختگی مدل جنگل تصادفی. الف) ماتریس درهم‌ریختگی برای کل داده‌های تیمارهای کونژوگه. ب) ماتریس درهم‌ریختگی برای داده‌های تست تیمارهای کونژوگه.

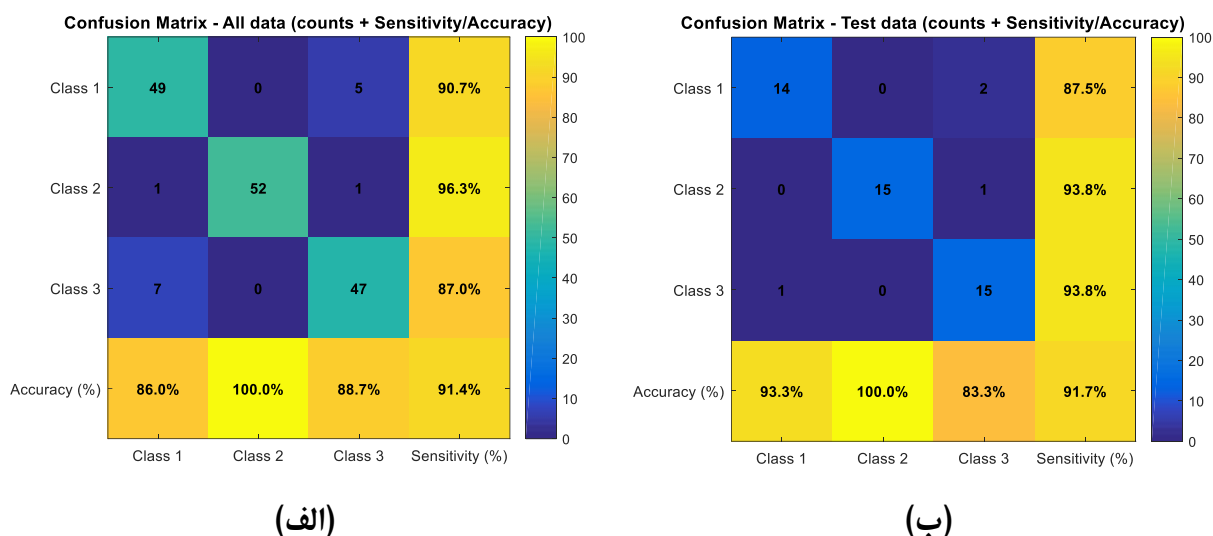
در این مطالعه، سه کلاس از MRPs برای سطوح دمایی ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس ارائه شده است. نتایج نشان داد که مدل جنگل تصادفی توانسته دقت طبقه‌بندی جنگل تصادفی برای محصولات واکنش میلارد مربوط به داده‌های کل و آزمون را به ترتیب ۸۸/۲۰ و ۷۷/۰۸ درصد گزارش کند. این نتایج بیانگر عملکرد میانه الگوریتم جنگل تصادفی در تشخیص و تمایز MRPs هستند. نمودار خطای (OOB) برای مدل جنگل تصادفی، مربوط به MRPs در شکل ۶ نشان داده شده است. در ابتدا، با تعداد کمی از درخت‌ها، خطای پیش‌بینی تقریباً ۰/۱۵ درصد بود. با افزایش تعداد درخت‌ها، خطای OOB به تدریج کاهش یافت و پس از حدود ۱۰ درخت، خطای پیش‌بینی کاهش یافت. این کاهش تدریجی و تثبیت خطا نشان می‌دهد که مدل به طور مؤثر از داده‌ها یاد گرفته است بدون آنکه دچار بیش‌برازش شود. بنابراین، استفاده از ۱۰ تا ۱۰۰ درخت برای مدل نهایی مناسب و کافی در نظر گرفته می‌شود.



شکل ۶. نمودار خطای مدل جنگل تصادفی برای تیمارهای کونژوگه در سه سطح دمایی

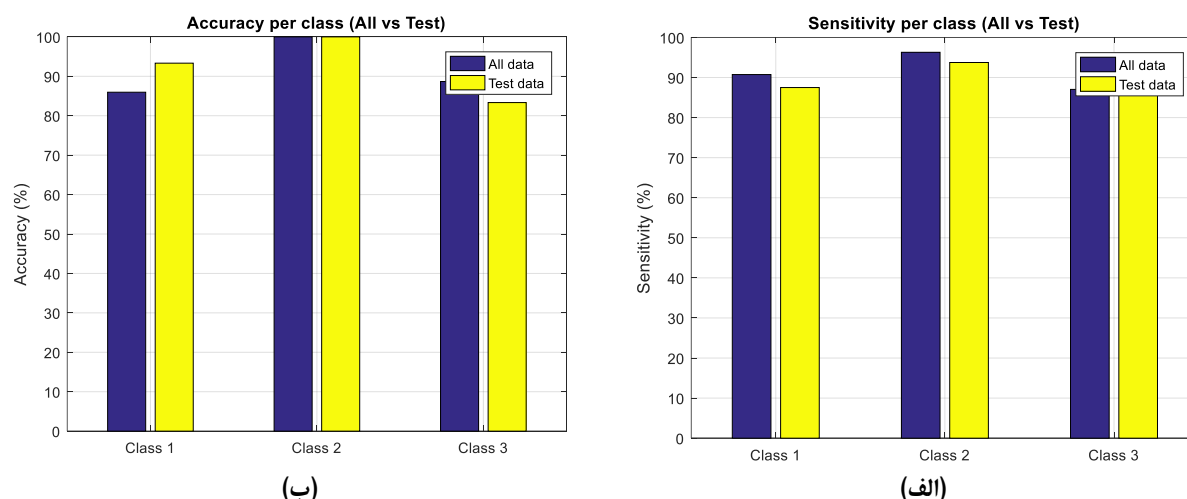
## طبقه‌بندی مدل KNN

مدل KNN به دقت کلی ۹۱/۷ درصد روی کل داده‌ها و ۹۱/۴ درصد روی مجموعه آزمون دست یافت. شکل ۷ حساسیت و دقت هر کلاس را نمایش می‌دهد.



شکل ۷. حساسیت و دقت به ازای هر کلاس برای ماتریس درهم‌ریختگی مدل KNN. الف) ماتریس درهم‌ریختگی برای کل داده‌ها (ب) ماتریس درهم‌ریختگی برای داده‌های تست

نمودارهای میله‌ای در شکل ۸ دقت کلی، حساسیت به ازای هر کلاس، و دقت به ازای هر کلاس را نشان می‌دهند و عملکرد یکنواخت مدل در تمام کلاس‌ها را برجسته می‌کنند. مقایسه دقت آموزش و آزمون نشان داد که بیش برآزش قابل توجهی وجود ندارد و مدل توانست به خوبی روی داده‌های دیده نشده نیز عملکرد مناسبی داشته باشد.

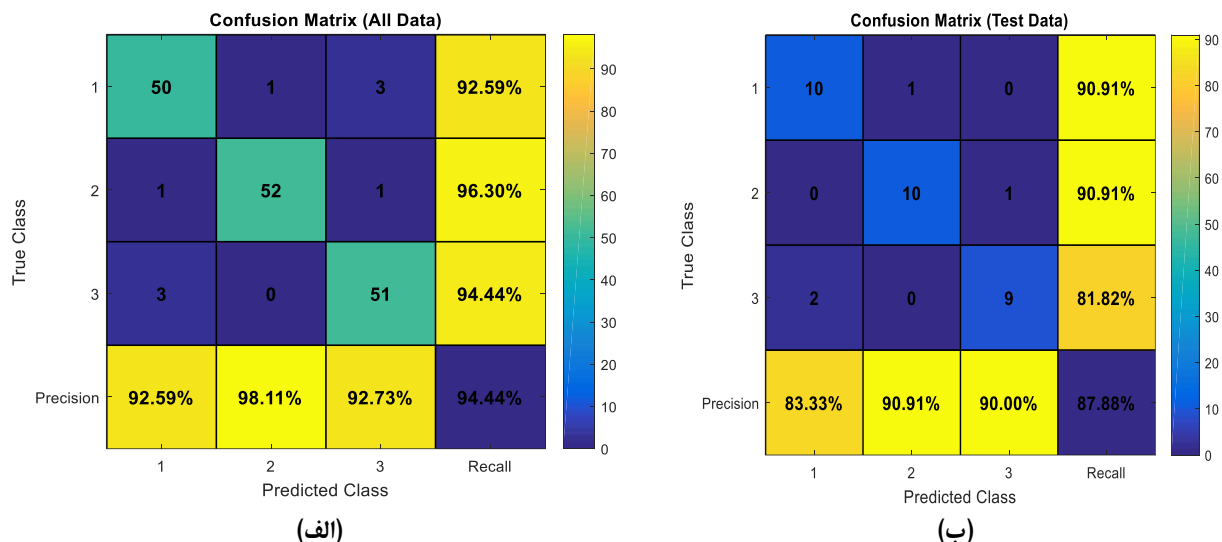


شکل ۸. نمودارهای میله‌ای دقت کلی و حساسیت. الف) نمودار میله‌ای دقت و حساسیت برای کل داده‌ها. (ب) نمودار میله‌ای دقت و حساسیت برای داده‌های تست.

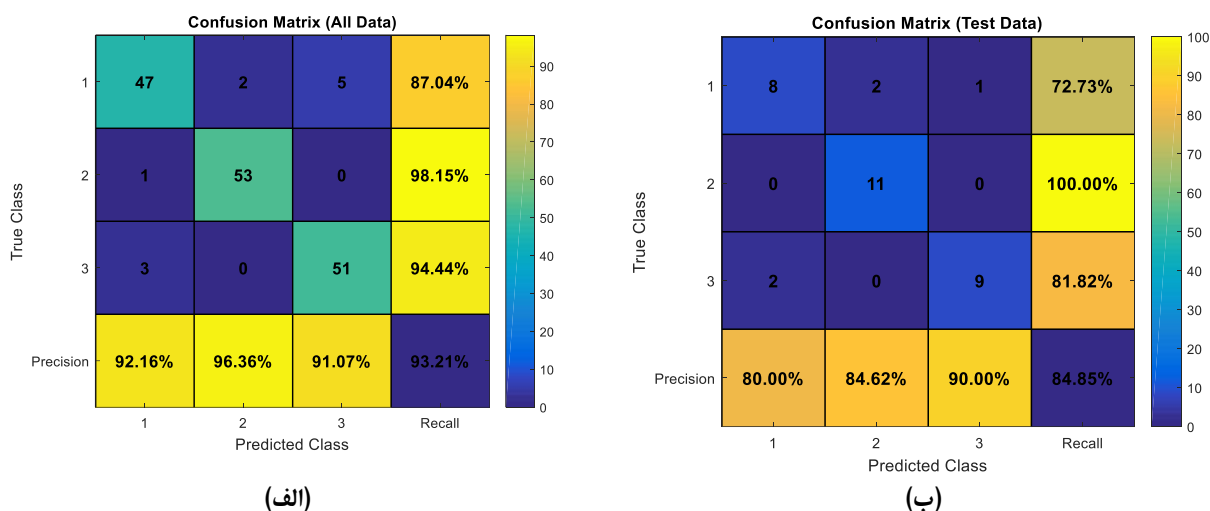
## ماشین بردار پشتیبان

میانگین دقت آموزش مدل ماشین بردار پشتیبان با راهبرد یکی در برابر یکی برابر با ۹۴/۴۴ درصد بود (شکل ۹- الف). ماتریس به اشتباه نشان داد که بیشترین خطا مربوط به کلاس سوم بود. دقت کلی مدل روی داده‌های آزمون برابر با ۸۷/۸۸ به دست آمد (شکل ۹- ب).

ب). همچنین در مدل ماشین بردار برای راهبرد یکی در برابر همه، میانگین دقت آموزش مدل برابر با ۹۳/۲۱ درصد بود (شکل ۱۰-الف). ماتریس اشتباه نشان داد که بیشترین خطا مربوط به کلاس اول بوده است. دقت کلی مدل روی داده‌های آزمون برابر با ۸۴/۸۵ درصد به دست آمد (شکل ۱۰-ب).



شکل ۹. ماشین بردار پشتیبان با راهبرد یکی در برابر یکی. الف) ماتریس درهم‌ریختگی برای کل داده ها و ب) ماتریس درهم‌ریختگی برای داده‌های تست



شکل ۱۰. ماشین بردار پشتیبان با راهبرد یکی در برابر همه. الف) ماتریس درهم‌ریختگی برای کل داده ها و ب) ماتریس درهم‌ریختگی برای داده‌های تست

نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد. به عنوان نمونه، Saberioon et al., (2018) به تحلیل مقایسه‌ای عملکرد چهار روش طبقه‌بندی شامل SVM، RF، LR، و KNN در طبقه‌بندی قزل‌آلای رنگین‌کمانی با استفاده از ویژگی‌های مبتنی بر تصویر پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که مدل SVM با هسته شعاعی، بهترین عملکرد را داشت به‌طوری که نرخ طبقه‌بندی صحیح برابر با ۸۲ درصد و ضریب کاپا ۰/۶۵ به دست آمد. هرچند روش‌های LR و RF نسبت به SVM دقت کمتری نشان دادند؛ اما همچنان طبقه‌بندی قابل قبولی با نرخ طبقه‌بندی صحیح به ترتیب ۷۵ درصد و ۷۰ درصد ارائه کردند. در مقابل، مدل KNN کم‌دقت‌ترین روش طبقه‌بندی بود و نرخ طبقه‌بندی صحیح آن تنها ۴۰ درصد گزارش شد. Nogales-Bueno و همکاران (۲۰۲۰) در یک مطالعه تجربی، پتانسیل تصویربرداری فراطیفی نزدیک به مادون قرمز را در کنترل محتوای ترکیبات زیست‌فعال قابل استخراج در دانه‌های قهوه مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از رگرسیون حداقل مربعات جزئی اصلاح شده (MPLS) منجر به ایجاد مدل‌های



پیش‌بینی دقیق با مقادیر خطای استاندارد پیش‌بینی در اعتبارسنجی خارجی به ترتیب ۱۲/۰۱ درصد برای کافئین، ۱۵/۶۱ درصد برای اسید کلروژنیک و ۱۷/۶۱ درصد برای مجموع ترکیبات فنولیک گردید. این یافته‌ها نشان‌دهنده قابلیت بالای طیف‌سنجی NIR در پایش و کنترل محتوای ترکیبات زیست‌فعال در دانه‌های قهوه بوده و امکان بهره‌گیری از آن را در فرآیندهای کیفی و استانداردسازی محصولات قهوه فراهم می‌کنند. Awadhi & Deshmukh در پژوهشی در سال ۲۰۲۱ به بررسی طبقه‌بندی عسل با استفاده از تصویربرداری فراطیفی (HSI) و یادگیری ماشین پرداختند. در مرحله طبقه‌بندی، از الگوریتم‌های SVM و KNN برای تمایز بین منشأ گیاهی عسل استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که ادغام فناوری HSI با یادگیری ماشین، امکان طبقه‌بندی سریع، خودکار و غیرمخرب عسل را فراهم می‌کند و سیستم پیشنهادی عملکرد پیشرفته‌ای روی این مجموعه داده‌ها ارائه داد. بیشترین دقت طبقه‌بندی مربوط به الگوریتم KNN بود که به ۹۵ درصد رسید، در حالی که مدل SVM دقتی برابر با ۹۴ درصد ارائه کرد. این نتایج پتانسیل بالای HSI در کاربردهای کنترل کیفیت و استانداردسازی عسل را تأیید کرد.

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش، طبقه‌بندی محصولات نهایی واکنش میلارد در مزدوج‌های کنسانتره پروتئین‌های سرمی شیر و بتا-گلوکان در سه سطح دمایی ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس با استفاده از فناوری تصویربرداری فراطیفی در محدوده طیفی مرئی و فروسرخ نزدیک (۴۰۰-۹۵۰ نانومتر) مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور طبقه‌بندی ویژگی‌های استخراج شده از تصاویر فراطیفی، از الگوریتم‌های SVM، KNN و RF بهره گرفته شد. نتایج انتخاب ویژگی نشان داد که طول موج‌های مؤثر در تفکیک سطوح مختلف محصولات واکنش میلارد شامل ۴۰۰/۴۰، ۴۰۱/۲۳، ۴۰۷/۸۴، ۴۰۸/۶۷، ۴۵۵/۸۰، ۵۷۳/۲۱ و ۸۸۲/۴۵ نانومتر هستند. این محدوده‌های طیفی به‌عنوان شاخص‌های کلیدی در ارزیابی تغییرات محصولات واکنش میلارد در شرایط حرارتی متفاوت شناسایی شدند. ارزیابی عملکرد مدل‌ها نشان داد که روش کی-نزدیکترین همسایه‌ها دارای بالاترین دقت (۹۱/۰۴ درصد) بود. الگوریتم ماشین بردار پشتیبان با دو راهبرد «یکی در برابر یکی» و «یکی در برابر همه» دارای دقتی به‌ترتیب برابر با ۸۷/۸۸ و ۸۴/۸۵ درصد بود. همچنین، الگوریتم جنگل تصادفی دقت ۷۷/۲۰ درصد را ثبت کرد. یافته‌های این تحقیق بیانگر کارایی بالای تصویربرداری فراطیفی به همراه الگوریتم‌های یادگیری ماشین در تشخیص و طبقه‌بندی سطوح مختلف محصولات واکنش میلارد است. روش ارائه‌شده علاوه بر دقت بالا، از مزایای قابل توجهی همچون غیرمخرب بودن، سرعت پردازش بالا و هزینه پایین نسبت به روش‌های آزمایشگاهی برخوردار است. بر این اساس، به‌کارگیری سایر رویکردهای پیشرفته یادگیری ماشین و الگوریتم‌های طبقه‌بندی می‌تواند در آینده به بهبود دقت و کارایی سامانه‌های مبتنی بر تصویربرداری فراطیفی برای شناسایی ملانوئیدین در محصولات غذایی منجر شود.

هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

## REFERENCES

- 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.2017.03.053>
- Ajandouz, E. H., Tchiakpe, L. S., Dalle Ore, F., Benajiba, A., & Puigserver, A. (2001). Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems. *Journal of Food Science*, 66 (7), 926–931. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb08213.x>
- Alawadhi, M., & Deshmukh, R. (2021). Fast and Efficient Prediction of Honey Adulteration using Hyperspectral Imaging and Machine Learning Models. *journal of advanced applied scientific research-issn(o): 2454-3225*.
- Aziznia, S., Askari, G., Emamdjomeh, Z., & Salami, M. (2024). Effect of ultrasonic assisted grafting on the structural and functional properties of mung bean protein isolate conjugated with maltodextrin through maillard reaction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127616.
- Caporaso, N., Whitworth, M., & Fisk, I. (2018). Protein content prediction in single wheat kernels using hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, 240, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.048>
- 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>
- Dong, S., Panya, A., Zeng, M., Chen, B., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2012). Characteristics and





- antioxidant activity of hydrolyzed  $\beta$ -lactoglobulin-glucose Maillard reaction products. *Food Research International*, 46 (1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.022>
- El Hosry, L., Elias, V., Chamoun, V., Halawi, M., Cayot, P., Nehme, A., & Bou-Maroun, E. (2025). Maillard Reaction: Mechanism, Influencing Parameters, Advantages, Disadvantages, and Food Industrial Applications: A Review. *Foods*, 14 (11), 1881.
- Ghanei Ghooshkhaneh, N., Golzarian, M. R., & Mamarabadi, M. (2022). Withdrawn: Spectral Pattern Study of Citrus Black Rot Caused by *Alternaria Alternata* and Selecting Optimal Wavelengths for Decay Detection. *Food Science & Nutrition*, 10, 1694–1706.
- Guan, Y. G., Wang, J., Yu, S. J., Xu, X. B., & Zhu, S. M. (2010). Effects of ultrasound intensities on a glycine-maltose model system - a means of promoting Maillard reaction. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(4), 758–764. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02194.x>
- Hashim, N., Rafii, M. Y., Oladosu, Y., Ismail, M. R., Ramli, A., Arolu, F., & Chukwu, S. (2021). Integrating Multivariate and Univariate Statistical Models to Investigate Genotype–Environment Interaction of Advanced Fragrant Rice Genotypes under Rainfed Condition. *Sustainability*, 13(8), 4555. <https://doi.org/10.3390/su13084555>
- Hellwig, M., & Henle, T. (2014). Baking, Ageing, Diabetes: A Short History of the Maillard Reaction. *Angewandte Chemie - International Edition*, 53(39), 10316–10329. <https://doi.org/10.1002/anie.201308808>
- Jiang, Z., Huangfu, Y., Jiang, L., Wang, T., Bao, Y., & Ma, W. (2023). Structure and functional properties of whey protein conjugated with carboxymethyl cellulose through maillard reaction. *LWT*, 174, 114406.
- Kheiralipour, K. (2022). *Sustainable Production: Definitions, Aspects, and Elements* (1st ed.). Nova Science Publishers.
- Kheiralipour, K., Ahmadi, H., Rajabipour, A., Rafiee, S., Javan-Nikkhah, M., & Jayas, D. S. (2014). *Detection of healthy and fungal-infected pistachios based on hyperspectral image processing*. 8th Iranian National Congress of Agricultural Machinery Engineering (Biosystems) and Mechanization.
- Kheiralipour, K., Rajabipour, A. H., & Rafiee, S. (2018). *Thermal Imaging, Principles, Methods and Applications: Thermal Imaging, Principles, Methods and Applications*.
- Kheiralipour, K., Singh, C. B., & Jayas, D. S. (2023). Applications of Visible, Thermal, and Hyperspectral Imaging Techniques in the Assessment of Fruits and Vegetables. In D. S. Jayas (Ed.), *Image Processing: Advances in Applications and Research*. Nova Science Publishers.
- Kheiralipour, K., Sajadipour, F., Nargesi, M.H. 2025. Applications of spectral imaging in Biosystems engineering in Iran, A review. *Recent Progress in Science*. Vol. 2 No. 1. <https://doi.org/10.70462/rps.2025.2.007>.
- Kuligowski, J., Quintás, G., Herwig, C., & Lendl, B. (2012). A rapid method for the differentiation of yeast cells grown under carbon and nitrogen-limited conditions by means of partial least squares discriminant analysis employing infrared micro-spectroscopic data of entire yeast cells. *Talanta*, 99, 566–573. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.06.036>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (5259), 680–685.
- Liang, Z., Yang, M., Wang, Y., Zheng, J., Tian, S., Zhou, Y., ... & Wang, Z. (2025). Physicochemical and functional properties of whey protein-Yeast beta-glucan conjugates formed by glycosylation. *LWT*, 224, 117842.
- Liu, S., Ma, G., Zhang, T., Wang, L., Pei, H., Li, X., & Gao, L. (2022). Insights into flavor and key influencing factors of Maillard reaction products: A recent update. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1–18.
- Mancini, M., Mazzoni, L., Gagliardi, F., Balducci, F., Duca, D., Toscano, G., Mezzetti, B., & Capocasa, F. (2020). Application of the Non-Destructive NIR Technique for the Evaluation of Strawberry Fruits Quality Parameters. *Foods*, 9, 441.
- Mireei, S. A., Mohtasebi, S. S., Massudi, R., Rafiee, S., Arabanian, A. S., & Berardinelli, A. (2010). Non-destructive measurement of moisture and soluble solids content of Mazafati date fruit by NIR spectroscopy. *Australian Journal of Crop Science*, 4, 175–179.
- Mohsin, G. F., Schmitt, F. J., Kanzler, C., Epping, J. D., Flemig, S., & Hornemann, A. (2018). Structural characterization of melanoidin formed from d-glucose and l-alanine at different temperatures applying FTIR, NMR, EPR, and MALDI-ToF-MS. *Food Chemistry*, 245, 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.115>
- Nargesi, M. H., & Kheiralipour, K. (2025). Non-destructive prediction of sucrose, proline, ash, and fructose/glucose ratio in date syrup using hyperspectral imaging and machine learning. *LWT - Food*

- Science and Technology*, 229, 118153. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.118153>
- Nargesi, M. H., Parian, J. A., & Kheiralipour, K. (2025b). Detection of wheat, chickpea, and sea foam in black pepper using hyperspectral imaging technique. *Applied Food Research*, 5(1), 101031.. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101031>
- Nargesi, M. M., Amiri Parian, J., Kheiralipour, K., & Bagherpour, H. (2024). Detection of Adulteration in cinnamon powder using hyperspectral imaging. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 55(1), 19-32.
- Nogales-Bueno, J., Baca-Bocanegra, B., Romero-Molina, L., Martínez-Lopez, A., Elisa Rato, A., Jose Heredia, F., Hernandez, J.M., Escudero-Gilete, M.L., & Gonzalez-Miret, M.L. (2020). Control of the extractable content of bioactive compounds in coffee beans by near infrared hyperspectral imaging. *LWT - Food Science and Technology*, 134, 110201.
- Nooshkam, M., Varidi, M., & Verma, D. K. (2020). Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131, 109003. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003>
- Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. (2006). Creating proteins with novel functionality via the maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4), 337–350. <https://doi.org/10.1080/10408690590957250>
- Paoletti, M.E., Haut, J.M., Plaza, J., Plaza, A. (2019). Deep learning classifiers for hyperspectral imaging: A review. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. Volume 158, Pages 279-317. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2019.09.006>.
- Pu, Y., Feng, Y., & Sun, D. (2015). Recent Progress of Hyperspectral Imaging on Quality and Safety Inspection of Fruits and Vegetables: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (2), 176–188. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12123>
- Saberioon, M. M., Císař, P., Labbé, L., Souček, P., Pelissier, P., & Kerneis, Th. (2018). Comparative Performance Analysis of Support Vector Machine, Random Forest, Logistic Regression and k-Nearest Neighbours in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Classification Using Image-Based Features. *Sensors*, 18 (4), 1027. <https://doi.org/10.3390/s18041027>
- Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S., & Hardy, J. (1998). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Structure and Technofunctional Properties of Protein- Polysaccharide Complexes: A Review Structure and Technofunctional Properties of Protein-Polysaccharide Complexes: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38 (8), 689–753.
- Vermeulen, M., Smith, K., Eremin, K., Rayner, G., & Walton, M. (2021). Application of Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) in spectral imaging of artworks. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 252, 119547. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119547>
- Wang, B., Zhong, Y., Wang, D., Meng, F., Li, Y., & Deng, Y. (2023). Formation, evolution, and antioxidant activity of melanoidins in black garlic under different storage conditions. *Foods*, 12 (20), 3727.
- Wei, Q., Liu, T., & Sun, D. W. (2018). Advanced glycation end-products (AGEs) in foods and their detecting techniques and methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 32–45. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.020>
- Yang, M., Ding, L., Wang, P., Wu, Y., Areeprasert, C., Wang, M., ... & Yu, G. (2023). Formation of melanoidins and development of characterization techniques during thermal pretreatment of organic solid waste: A critical review. *Fuel*, 334, 126790.
- 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>.