

Investigating barley protein as an agent of emulsion forming and stability

Hanieh Alikhani Faradonbeh¹, Nafiseh Zamindar^{2*}

¹ Master Student, Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture, Water, Food and Nutraceuticals, Isf. C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

² Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture, Water, Food and Nutraceuticals, Isf. C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran, (*Corresponding Author's Email: n.zamindar@iau.ac.ir)

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2025-03-20
Revised: 2025-07-13
Accepted: 2025-08-06

Keywords:
Optimization
Barley Protein
Emulsifying Capacity
Emulsion Stability

ABSTRACT

Background and Objective: Plant-based proteins are considered a suitable alternative to animal proteins due to their efficient use of natural resources, reduced greenhouse gas emissions, and absence of cholesterol. These sources not only minimize environmental impact but also offer nutritional benefits such as improved digestive health, reduced risk of cardiovascular diseases, and the provision of essential amino acids. Among cereals, barley (*Hordeum vulgare* L.) is recognized as a valuable protein source due to its rich protein composition, resilience to adverse environmental conditions, and the presence of bioactive compounds such as beta-glucans. Barley protein contains a well-balanced composition of essential amino acids, particularly lysine, and exhibits excellent emulsifying capacity and stability properties, making it suitable for industrial applications. In this study, an alkaline extraction followed by isoelectric precipitation was employed to evaluate and optimize the emulsifying capacity and emulsion stability of barley protein.

Materials and Methods: Barley flour was obtained from barley grains and defatted using n-hexane. A suspension of flour and distilled water with the ratio of 1:6 (v/w) was prepared, and its pH was adjusted using sodium hydroxide based on values recommended by response surface methodology (RSM). Following initial centrifugation at 5428 rpm for 15 min, the supernatant was separated, and its pH was adjusted to the isoelectric point using hydrochloric acid. A second centrifugation was performed to precipitate the protein. The resulting precipitate was washed, neutralized, and freeze-dried at -38°C. The emulsifying capacity and emulsion stability of the extracted protein were measured to assess its functional properties. Optimization was conducted using response surface methodology (RSM) with a central composite design (CCD) in Design-Expert software. The effects of independent variables, including alkaline pH (9.5–11.5), isoelectric pH (4.5–5.5), and centrifugation temperature (4–24°C), on response variables were evaluated in 20 experimental runs with six replications at the central point. Statistical analysis was performed using the t-Student test ($p < 0.05$).

Results: Analysis of variance (ANOVA) demonstrated that the

quadratic model was statistically significant for predicting the emulsifying capacity of barley protein. The interactive effects of alkaline pH $\times$ isoelectric pH, centrifugation temperature $\times$ alkaline pH, and centrifugation temperature $\times$ isoelectric pH significantly influenced emulsifying capacity ($p < 0.05$). Similarly, the model was significant for predicting emulsion stability. The interactions of centrifugation temperature $\times$ alkaline pH and centrifugation temperature $\times$ isoelectric pH had a significant impact on this response variable ($p < 0.05$). These findings indicate that the quadratic model effectively predicts the emulsifying properties and stability of barley protein emulsions. During numerical optimization, the independent variables were adjusted within the specified range, and the dependent variables were assumed to achieve maximum efficiency.

Conclusion: The optimal conditions for achieving the highest emulsifying capacity (25.91%) and emulsion stability (24.39%) were identified at a centrifugation temperature of 23.91°C, an alkaline pH of 11.5, and an isoelectric pH of 4.5. Protein extraction was performed under these optimized conditions, and its functional properties were assessed in three independent replicates. The t-Student test indicated no significant difference between the observed and predicted values ($t_{\text{Stat}} < t_{\text{Critical}}$). These results highlight that precise control of processing conditions enhances the emulsifying capacity and stability of extracted barley protein. Given the global challenges in protein supply and the advantages of plant-based proteins over animal sources, optimizing barley protein extraction presents a sustainable and efficient approach for the food industries. The findings of this study highlights the way for the effective utilization of plant proteins in the development of innovative food products.

Cite this article: Alikhani Faradonbeh, H., Zamindar, N. 2025. Investigating barley protein as an agent of emulsion forming and stability. *Food Processing and Preservation Journal*, 17(2), 47-64.



© The Author(s).

DOI: [10.22069/fppj.2025.23384.1867](https://doi.org/10.22069/fppj.2025.23384.1867)

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی پروتئین جو به عنوان عامل تشکیل و پایداری امولسیون

هانیه علیخانی فرادنبه^۱، نفیسه زمین دار^{۲*}

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمدها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان؛ ایران

^۲ دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمدها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

*) رایانامه نویسنده مسئول: n.zamindar@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: پروتئین های گیاهی به دلیل مصرف بهینه منابع طبیعی، کاهش انتشار گازهای گلخانه ای و عدم وجود کلسترول، جایگزین مناسبی برای پروتئین های حیوانی محسوب می شوند. این منابع علاوه بر کاهش اثرات مخرب زیست محیطی، از مزایای تغذیه ای همچون بهبود سلامت گوارشی، کاهش خطر بیماری های قلبی-عروقی و تأمین اسیدهای آمینه ضروری برخوردارند. در میان غلات، جو (<i>Hordeum vulgare</i>) به دلیل ترکیب غنی از پروتئین، قابلیت تحمل در شرایط محیطی نامساعد و وجود ترکیبات زیست فعال مانند بتاگلوکان ها، به عنوان منبعی ارزشمند برای استخراج و استفاده در صنایع غذایی شناخته می شود. پروتئین جو دارای ترکیب متعادلی از اسیدهای آمینه ضروری، به ویژه لیزین، بوده و از قابلیت امولسیفایری و پایداری بالایی برخوردار است که آن را برای کاربردهای صنعتی مناسب می سازد. هدف از این پژوهش، توسعه و بهینه سازی روش استخراج پروتئین جو، با در نظر گرفتن خواص عملکردی آن از جمله ظرفیت امولسیون و پایداری امولسیون حاصل بود.
واژه های کلیدی: بهینه سازی پروتئین جو ظرفیت امولسیون کنندگی پایداری امولسیون	مواد و روش ها: آرد جو پس از تهیه از دانه های جو، تحت فرآیند چربی زدایی با n-هگزان قرار گرفت. سپس سوسپانسیونی از آرد و آب مقطر تهیه شد و pH آن با محلول هیدروکسید سدیم، بر اساس مقادیر تعیین شده توسط نرم افزار طراحی آزمایش، روش سطح پاسخ (RSM)، تنظیم گردید. پس از سانتریفوژ اولیه، فاز رویی جداسازی و با محلول اسیدکلریدریک، pH آن به نقطه ایزوالکتریک رسانده شد. سانتریفوژ ثانویه برای جداسازی رسوب پروتئینی انجام گرفت. رسوبات حاصل پس از شست و شو و خنثی سازی، توسط خشک کن انجمادی خشک شدند. برای ارزیابی خواص عملکردی پروتئین استخراج شده، ظرفیت امولسیون و پایداری امولسیون اندازه گیری گردید. فرآیند بهینه سازی با روش سطح پاسخ (RSM) و طرح مرکب مرکزی (CCD) در نرم افزار Design-Expert طراحی شد. تأثیر متغیرهای مستقل pH قلیایی (۹/۵-۱۱/۵)، pH ایزوالکتریک (۴/۵-۵/۵) و دما (۴-۲۴ درجه سانتی گراد) بر متغیرهای پاسخ در ۲۰ اجرا با ۶ تکرار در نقطه مرکزی ارزیابی گردید. تحلیل آماری با استفاده از آزمون t-student در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تحلیل واریانس نشان داد که مدل درجه دوم برای پیش‌بینی ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو از نظر آماری معنی‌دار است. اثر متقابل $\text{pH} \times \text{pH}$ ایزوالکتریک، دمای سانتریفوژ $\text{pH} \times \text{pH}$ قلیایی و دمای سانتریفوژ $\text{pH} \times \text{pH}$ ایزوالکتریک بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو بوده‌اند ($p < 0.05$). همچنین تحلیل داده‌ها نشان داد که این مدل برای پیش‌بینی پایداری امولسیون نیز معنادار است. اثر متقابل دمای سانتریفوژ $\text{pH} \times \text{pH}$ قلیایی و دمای سانتریفوژ $\text{pH} \times \text{pH}$ ایزوالکتریک بر این متغیر وابسته تأثیر معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). این نتایج نشان می‌دهند که مدل درجه دوم به‌طور مؤثری رفتار امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین جو را پیش‌بینی می‌کند. در فرآیند بهینه‌سازی عددی، متغیرهای مستقل در بازه مشخص تنظیم و متغیرهای وابسته برای دستیابی به حداکثر کارایی ارزیابی شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که شرایط بهینه برای دستیابی به بیشترین ظرفیت امولسیون (۲۵/۹۱۰ درصد) و پایداری امولسیون (۲۴/۳۹۰ درصد)، دمای سانتریفوژ ۲۳/۹۰۷ درجه سانتی‌گراد و pH قلیایی معادل ۱۱/۵ و pH ایزوالکتریک ۴/۵ بود. استخراج پروتئین تحت شرایط بهینه انجام شد و خواص عملکردی آن در سه تکرار مستقل با داده‌های پیش‌بینی‌شده ارزیابی گردید. آزمون T-student در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین داده‌های مشاهده‌شده و پیش‌بینی‌شده وجود ندارد ($t \text{ Stat} < t \text{ Critical}$). نتایج نشان داد که تنظیم دقیق شرایط فرآیندی منجر به بهبود ظرفیت امولسیون و پایداری امولسیون پروتئین استخراج‌شده می‌شود. با توجه به چالش‌های تأمین پروتئین در سطح جهانی و مزایای پروتئین‌های گیاهی نسبت به منابع حیوانی، استخراج و بهینه‌سازی پروتئین جو می‌تواند راهکاری پایدار و کارآمد در صنایع غذایی و تغذیه‌ای مطرح باشد. یافته‌های این پژوهش می‌تواند مسیر جدیدی را برای بهره‌برداری بهینه از پروتئین‌های گیاهی در توسعه محصولات غذایی نوین هموار سازد.

استناد: علیخانی فرادنبه، هانیه؛ زمین‌دار، نفیسه. (۱۴۰۴). بررسی پروتئین جو به عنوان عامل تشکیل و پایداری امولسیون. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۷(۲)، ۲۳-۴۶.

DOI: [10.22069/fppj.2025.23384.1867](https://doi.org/10.22069/fppj.2025.23384.1867)



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

صنعت غذای مدرن با تقاضای فزاینده‌ای برای گزینه‌های غذایی سالم‌تر و پایدارتر مواجه است. با افزایش جمعیت انسان، تولید غذاهای فرآوری شده از منابع حیوانی در حال افزایش است. متأسفانه، این نوع رژیم غذایی اغلب حاوی چربی‌های اشباع شده است که می‌توانند منجر به بیماری‌هایی مانند چاقی و دیابت، شیوع بیماری‌های عفونی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی شوند. علاوه بر این، افزایش تقاضا برای محصولات حیوانی مانند شیر، تخم‌مرغ و گوشت، تأثیر زیادی بر محیط‌زیست دارد و مسائل اخلاقی زیادی را در مورد رفاه حیوانات مطرح می‌کند. طبق پیشنهادها کمیسیون EAT-Lancet، باید تا سال ۲۰۳۰ کاهش قابل توجهی در مصرف محصولات مشتق شده از حیوانات وجود داشته باشد. در پاسخ به این چالش‌ها توجه به منابع پروتئینی گیاهی افزایش یافته است. بیشتر پروتئین‌های گیاهی مورد استفاده در صنایع غذایی از گندم یا سویا مشتق شده‌اند. با این وجود، به دلیل حساسیت‌زایی این مواد و نیاز به گزینه‌های جایگزین، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از سایر گیاهان وجود دارد (۱). اخیراً استفاده از پروتئین‌های غلات افزایش یافته و یکی از غلاتی که هنوز به‌طور کامل از نظر ویژگی‌ها و عملکرد پروتئینی آن بررسی نشده است، جو است (۲).

جو (*Hordeum vulgare* L.) به‌طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود و در میان غلات از نظر تولید، رتبه چهارم را داراست. جو علاوه بر استفاده در صنایع تغذیه‌ای و مالت‌سازی از ارزش غذایی بالا و خواص سلامت بخش قابل توجهی برخوردار است (۳). دانه جو حاوی ۱۰-۲۰ درصد پروتئین است که عمده‌تاً شامل پرولامین هورده‌ین (۵۲٪ از کل پروتئین) می‌شود. این پروتئین ذخیره‌ای به‌عنوان ترکیب غالب در لایه آندوسپرم عمل می‌کند (۴).

پروتئین موجود در جو از ۲۸ درصد لوسین، والین، ترئونین، فنیل آلانین، ایزولوسین، لیزین، هیستیدین و متیونین و ۷۲ درصد اسید گلوتامیک، اسید آسپارتیک، پرولین، تیروزین، گلیسین و سیتوزین تشکیل شده است که نشان‌دهنده ارزش تغذیه‌ای بالای آن است. یکی از اسیدهای آمینه ضروری اولیه که تقریباً در هیچ غذایی وجود ندارد، لیزین است، یک اسید آمینه شاخه‌دار که در مکمل‌های عضله‌سازی استفاده می‌شود (۵). میزان و ترکیب پروتئین‌های جو تحت تأثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی قرار می‌گیرد که این موضوع بر ویژگی‌های عملکردی آن تأثیرگذار است (۶).

پروتئین به‌عنوان جز اساسی رژیم غذایی انسان، نقش حیاتی در رشد، ترمیم و حفظ سلامت بدن دارد (۷). افزون بر نقش تغذیه‌ای، پروتئین‌ها ویژگی‌های عملکردی مهمی (۸) مانند توانایی ژل شدن، کف‌کنندگی، جذب آب و روغن و امولسیون سازی دارند که آن‌ها را به ترکیبات ضروری در فرمولاسیون غذا تبدیل کرده است (۹). یکی از عوامل کلیدی در تولید پروتئین‌های گیاهی باکیفیت، انتخاب فرآیند استخراج مناسب است که بتواند پروتئین‌ها را با خلوص و عملکرد بالا جدا کرده و ویژگی‌های عملکردی آن‌ها را حفظ کند. این فرآیند نیازمند کنترل دقیق شرایطی مانند دما، فشار، pH، قدرت یونی و نوع حلال است زیرا این عوامل مستقیماً بر کیفیت پروتئین اثر می‌گذارند. در حال حاضر، رایج‌ترین روش استخراج به دلیل سرعت، سادگی و اقتصادی بودن، روش قلیایی-رسوب ایزوالکتریک است (۱۰). با وجود اینکه روش‌های ایزوالکتریک و آنزیمی در استخراج پروتئین‌های گیاهی رایج‌اند، هریک با محدودیت‌هایی همراه هستند. روش ایزوالکتریک با وجود سهولت اجرا، ممکن است منجر به رسوب ناقص پروتئین و همچنین دناتوراسیون ناشی از تنظیم

این تحقیق باهدف بررسی ویژگی‌های ظرفیت و پایداری امولسیون کنسانتره پروتئین جو بدون چربی طراحی شده است. در این راستا، پارامترهایی نظیر pH قلیایی، دمای سانتیفریوژ و pH ترسیب به‌منظور بهینه‌سازی ویژگی‌های امولسیونی مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی می‌تواند درک بهتری از عملکرد پروتئین جو فراهم کند و زمینه را برای استفاده صنعتی از آن فراهم سازد.

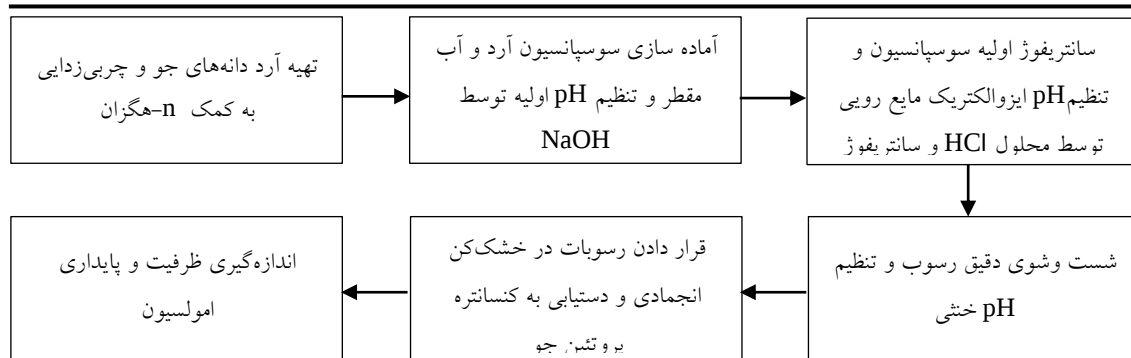
مواد و روش‌ها

مواد مصرفی: جو رقم مهتاب پاییزه شش ردیفه با پوست از جهاد کشاورزی شهرستان بروجن تهیه شد. تمام مواد مورد استفاده در آزمون دارای درجه آزمایشگاهی بودند و از شرکت‌های مرک، مجللی و قطران شیمی تهیه شدند. دانه‌های جو از هرگونه مواد زائد جداسازی شدند و دانه‌های سالم و عاری از ناخالصی توسط آسیاب برقی مدل (MJ-176NR)، ناسیونال، ژاپن) خرد شدند. و سپس آرد خروجی به‌دست‌آمده از الک با مش ۴۰ در انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

روش‌ها: در این پژوهش، پروتئین‌های جو تحت شرایط قلیایی و بر اساس روش ارائه شده در شکل ۱ و با در نظر گرفتن طرح آزمایشی استخراج شدند. در این راستا حدود متغیرها مطابق جدول ۱ و مقدار دقیق آن‌ها برای اجراهای مختلف بر اساس پیشنهاد نرم‌افزار (جدول ۲) در نظر گرفته شد. نسبت جامد به آب ۱ به ۶ وزنی - حجمی بود. تنظیم pH با محلول سود ۰/۰۶ مولار و اسید هیدروکلریک ۰/۵ مولار انجام شد و زمان و دور سانتیفریوژ به ترتیب ۱۵ دقیقه و ۵۴۲۸ دور بر دقیقه ثابت در نظر گرفته شد (۱۹ و ۱۸).

شدید pH گردد که عملکرد نهایی پروتئین را کاهش می‌دهد (۱۱). از سوی دیگر اگرچه استخراج آنزیمی با استفاده از آنزیم‌هایی نظیر پروتئازها و کربوهیدرازها توانایی حفظ ساختار طبیعی پروتئین و بهبود ویژگی‌های عملکردی مانند حلالیت و امولسیون‌سازی را دارد، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این روش علاوه بر هزینه بالای آنزیم‌ها، نیازمند کنترل دقیق شرایط عملیاتی است و مقیاس‌پذیری صنعتی آن با محدودیت‌هایی مواجه است که مانع از کاربرد گسترده صنعتی آن شده است (۱۱ و ۱۲).

ویژگی امولسیون‌کنندگی، به توانایی پروتئین در پوشاندن سطح مشترک روغن-آب مربوط می‌شود، درحالی‌که شاخص پایداری امولسیون‌کنندگی به توانایی یک پروتئین در تثبیت امولسیون‌های روغن-آب اشاره دارد که این ویژگی‌ها به ترکیب اسیدآمینه و ساختار فضایی پروتئین بستگی دارند (۱۳). مطالعات نشان داده‌اند که هوردئین، با ساختار آب‌دوست-آب‌گریز ویژه، می‌تواند با تشکیل نانوذرات کمپلکس با پروتئین وی در سطح بین‌فاز، رقمی تا ۷۰٪ از حجم روغن را در سیستم‌های Pickering امولسیون تثبیت کند (۱۴). طبق مطالعات جدید، اصلاح ساختاری ملایم مانند تغییر pH و تیمارهای حرارتی می‌تواند خواص سطحی پروتئین جو را بهبود داده و قابلیت آن را برای کاربرد در امولسیون‌های پایدار افزایش دهد (۱۵). در صنعت غذا امولسیون‌ها در تولید محصولات مختلف از جمله سس‌ها، نوشیدنی‌ها و چاشنی‌ها به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۶ و ۱۷). در این زمینه جو به دلیل ساختار ویژه پرولامین‌ها و عملکرد بالای امولسیون‌کنندگی به‌عنوان گزینه‌ای مناسب در توسعه مواد غذایی نوآورانه و سالم معرفی شده است (۱۳). با توجه به پتانسیل بالای جو به‌عنوان منبع پروتئینی عملکردی،



شکل ۱- مراحل استخراج پروتئین جو

Figure 1 - Barley protein extraction steps

۵ دقیقه انجام گرفت. در نهایت ارتفاع لایه امولسیون شده ثبت گردید (H_2).

$$\text{Emulsion Stability (\%)} = (H_2 / H_0) \times 100 \quad \text{رابطه ۲}$$

تجزیه آماری طرح

در این پژوهش، از روش سطح پاسخ با طراحی مرکب مرکزی (CCD) برای بررسی اثر متغیرهای مستقل شامل pH استخراج (۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵)، pH ترسیب (۴/۵، ۵ و ۵/۵) و دمای سانتریفوژ (۴، ۱۴ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد) در تعیین شرایط بهینه استفاده شد. داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با نرم‌افزار-Design Expert مدل‌سازی و منحنی‌های سطح پاسخ برای ارزیابی روابط میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل ترسیم شدند. مدل چندجمله‌ای درجه دوم برای برازش داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. شاخص‌های آماری نظیر ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین تعدیل‌شده ($\text{Adjusted } R^2$) و ضریب پیش‌بینی ($\text{Predicted } R^2$) جهت ارزیابی کفایت و دقت مدل محاسبه و تحلیل شدند. این روش تحلیل، امکان درک بهتر تأثیر متقابل متغیرها و پیش‌بینی شرایط بهینه برای دستیابی به نتایج مطلوب را فراهم می‌کند.

اندازه‌گیری ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری

امولسیون: به‌منظور اندازه‌گیری ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو، ۹ میلی‌لیتر از محلول پروتئینی با غلظت ۱ درصد وزنی-حجمی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد با ۱ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان (مخصوص پخت‌وپز و سالاد، برند لادن، ساخت ایران) مخلوط شد و سپس این مخلوط توسط هموژنایزر با سرعت ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت یک دقیقه همگن‌سازی گردید. پس از فرآیند همگن‌سازی، ارتفاع اولیه امولسیون (H_0) ثبت شد. به دنبال آن، امولسیون بلافاصله تحت سانتریفوژ در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳۱۳۴ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و بلافاصله پس از سانتریفوژ ارتفاع لایه امولسیون‌شده (H_1) مجدداً اندازه‌گیری و ثبت گردید. ظرفیت امولسیون‌کنندگی با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (۲۰).

$$\text{Emulsifying Capacity (\%)} = (H_1 / H_0) \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

به‌منظور ارزیابی پایداری امولسیون، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خارج سازی نمونه‌ها و رسیدن به دمای محیط، فرایند سانتریفوژ در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳۱۳۴ دور بر دقیقه به مدت

جدول ۱- مقادیر واقعی و کدگذاری متغیرهای مستقل برای طراحی تجربی

Table 1- Actual values and coding of independent variables for experimental design

فاکتور	نام	واحد	پایین ترین مقدار	بالا ترین مقدار	کد پایین	کد بالا	میانگین
Factor	Name	Units	Minimum	Maximum	Coded Low	Coded High	Mean
A	pH قلیایی Alkaline pH	-	9.50	11.50	-1 ↔ 9.50	+1 ↔ 11.50	10.50
B	pH ایزوالکتریک Isoelectric pH	-	4.50	5.50	-1 ↔ 4.50	+1 ↔ 5.50	5.00
C	دما Temperature	°C	4.00	24.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 24.00	14.00

نتایج و بحث

انتخاب مدل مطلوب و ارزیابی مدل برازش یافته:

برای تحلیل روند تغییرات و ارزیابی اثر متغیرهای مستقل، ابتدا لازم است مناسب ترین مدل برای برازش داده های آزمایش انتخاب شود. به طور معمول، جهت بررسی صحت و کفایت مدل از شاخص هایی نظیر ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین تعدیل شده ($Adjusted R^2$) و آزمون عدم برازش (Lack of Fit Test) استفاده می شود. عدم معناداری آزمون عدم برازش نشان دهنده توانایی مدل در برازش دقیق داده های تجربی است. بر اساس نتایج تحلیل واریانس، جدول تجزیه واریانس نشان داد که آزمون عدم برازش برای تمامی صفات اندازه گیری شده، در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنادار نبود که بیانگر کفایت مدل انتخابی است. با توجه به این نتایج، مدل سطح پاسخ چند جمله ای درجه دوم به عنوان مدل مناسب انتخاب شد و داده های پاسخ با این مدل برازش یافتند. مقادیر مربوط به ظرفیت و پایداری امولسیون به دست آمده از این مدل حاکی از دقت و انطباق مناسب آن با داده ها بود. علاوه بر این، استفاده از ضریب تعیین تعدیل شده ($Adjusted R^2$) نشان داد که هیچ متغیر غیر معناداری به مدل افزوده نشده است. بالا بودن این شاخص ها، اعتبار و توانایی مدل در پیش بینی دقیق اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ ها را تأیید می کند. این نتایج تأکید می کند که مدل انتخابی قادر

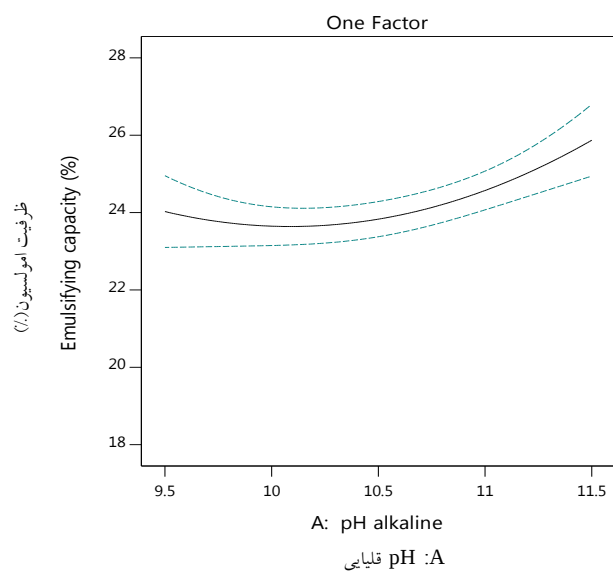
است به طور مؤثری روابط بین متغیرهای مستقل و پاسخ ها را توصیف کرده و روند تغییرات را با دقت بالایی پیش بینی کند.

بررسی اثر متغیرهای مستقل بر ظرفیت امولسیون کنندگی: بر اساس نتایج تحلیل واریانس، مدل پیشنهادی مناسب یک مدل درجه دوم برای ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین جو با مقدار F -Value برابر ۱۷/۹۰ و p -value $< ۰/۰۰۰۱$ است که حاکی از بسیار معنادار بودن مدل می باشد. ضرایب رگرسیون و رگرسیون اصلاح شده نیز به ترتیب ۰/۸۹۶۸ و ۰/۸۴۹۱ به دست آمده اند که نشان دهنده توصیف مناسب پراکندگی داده ها هستند. یکی از شروط اعتبار مدل پیشنهادی، عدم معنی داری آزمون برازش مدل است که در این تحقیق با مقدار $(p > ۰/۰۵)$ تأیید شده است. ضریب تغییرات محاسبه شده ۲/۹۴، کیفیت مناسب انجام آزمایش ها را نشان می دهد. همچنین مقدار سیگنال کافی برابر ۱۷/۷۰۹۴ است که به عملکرد قابل قبول مدل اشاره دارد. بر اساس آنالیز واریانس، تأثیر متغیر pH_a بر ظرفیت امولسیون کنندگی معنی دار شده است ($p < ۰/۰۵$). همان طور که در نمودار شکل (۱) مشاهده می شود، افزایش pH_a موجب افزایش ظرفیت امولسیون کنندگی گردیده است.

جدول ۲- طراحی RSM براساس متغیرهای مستقل و وابسته

Table 2. RSM design based on independent and dependent variables

پایداری امولسیون (درصد) Emulsion Stability (%)	ظرفیت امولسیون (درصد) Emulsion Capacity (%)	C: دما (درجه سانتی‌گراد) Temperature (°C):C	pH:B ایزوالکتریک Isoelectric pH:B	pH:A قلیایی Alkaline pH:A	تیمار Run
18.19	24.31	14	5	10.5	1
18.53	25.04	14	5.5	10.5	2
22.41	22.52	24	4.5	9.5	3
16.95	23.12	14	5	10.5	4
18.16	23.92	14	5	9.5	5
18.54	24.78	14	5	10.5	6
20.9	25.01	4	5.5	11.5	7
20.31	21.41	24	5	10.5	8
24.39	26.06	24	4.5	11.5	9
18.9	20.37	4	4.5	11.5	10
22.15	25.38	24	5.5	11.5	11
16.78	22.88	14	5	10.5	12
19.73	25.98	14	5	11.5	13
18.8	19.65	24	5.5	9.5	14
18.37	24.54	14	5	10.5	15
22.18	24.41	4	5.5	9.5	16
19.38	21.48	4	5	10.5	17
21.85	23.08	4	4.5	9.5	18
17.13	23.35	14	5	10.5	19
19.08	24.12	14	4.5	10.5	20



شکل ۲- نمودار اثر تک عاملی pH قلیایی بر ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین جو

Figure 2. Diagram of the single-factor effect of alkaline pH on the emulsifying capacity of barley protein

جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس تأثیر متغیرهای مستقل بر ظرفیت و پایداری امولسیون

Table 3. Analysis of variance of the effect of independent variables on emulsion capacity and stability

پایداری امولسیون Emulsion Stability		ظرفیت امولسیون Emulsion Capacity		درجه آزادی df	منبع Source
ضرایب معادله واقعی Actual Equation coefficients	مجموع مربعات Sum of Squares	ضرایب معادله واقعی Actual Equation coefficients	مجموع مربعات Sum of Squares		
+259.55015***	78.05	+280.57374***	56.79	9	مدل Model
-26.10580 ^{ns}	0.5108	-31.42632 ^{ns}	8.50	1	pH: A قلیایی
-39.79993***	1.34	-40.36477***	1.12	1	Alkaline pH:A
-0.704540***	2.77	+0.371384***	0.0449	1	pH :B ایزوالکتریک
+0.862500**	1.49	+1.37500***	3.78	1	Isoelectric pH:B
+0.124625***	12.43	+0.142250***	16.19	1	-C دما
-0.214750 ^{ns}	9.22	-0.238000**	11.33	1	Temperature:C
+0.965455 ^{ns}	2.56	+1.11818*	3.44	1	AB
+3.30182***	1.87	+2.99273***	1.54	1	AC
+0.018655***	9.57	-0.023868*	15.67	1	BC
	4.33		3.53	10	A ²
					B ²
					C ²
					باقیمانده Residual
ns	1.21	ns	0.2517	5	عدم برازش Lack of Fit
	3.12		3.27	5	خطای خالص Pure Error
	82.38		60.31	19	Cor Total
0.8852		0.8968			R ²
0.8428		0.8491			R ² Adjusted
0.7629		0.7789			R ² Predicted
4.21		2.94			% C.V.
13.9236		17.7094			Adeq Precision

(p < ۰/۰۰۱:***), (p < ۰/۰۱:**), (p < ۰/۰۵:*), (ns: عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد)

امولسیون‌کنندگی به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو تابع تغییرات pH بوده که این وابستگی به دلیل اثر pH بر تعادل هیدروفوب-هیدروفیل پروتئین می‌باشد. در pH های قلیایی، هیدروفیلی سطحی و حلالیت به میزان زیادی افزایش می‌یابد و باعث افزایش ظرفیت

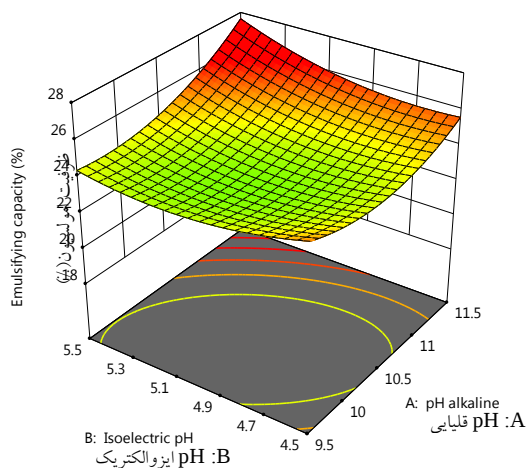
نتایج تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که اثر خطی pH قلیایی استخراج و اثر درجه دوم pH قلیایی استخراج و دمای سانتریفوژ بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین تأثیر معنی‌داری دارند (p < ۰/۰۵). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که با افزایش pH قلیایی استخراج تا ۱۱/۵ ظرفیت

امولسیون‌کنندگی شده است (۲۱ و ۲۲). در شرایط pH بالا، افزایش بارهای الکتریکی روی سطح پروتئین‌ها موجب دافعه بین مولکولی شده و ساختار سوم و چهارم پروتئین‌ها باز می‌شود که این امر باعث افزایش سطح در دسترس هیدروفوبیک و در نتیجه تقویت ویژگی امولسیون‌کنندگی می‌شود (۲۳). همچنین لی و همکاران (۲۰۱۶) نیز در بررسی خواص عملکردی ایزوله پروتئین سویا دریافتند که تمامی ویژگی‌های عملکردی از جمله امولسیون‌کنندگی و سطح هیروفوب آن، به شدت تحت تأثیر pH محیط استخراج قرار دارند (۲۴). از سوی دیگر، همان‌طور که محمدزاده و قدس‌ولی (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند، در پروتئین کلزا تشکیل کمپلکس‌های نامحلول با اسید فیتیک در شرایط اسیدی می‌تواند موجب کاهش مولکول‌های فعال سطحی شود (۲۵). بنابراین استخراج در محیط قلیایی با $pH > 11$ ، طبق نتایج ژو و دیوسدی (۲۰۱۴)، موجب حذف مؤثر فیتات‌ها و افزایش خلوص و عملکرد امولسیون‌کنندگی ایزوله‌های پروتئینی می‌گردد (۲۶). مطالعه‌ی شن و همکاران (۲۰۲۵) در مورد استخراج اثر pH استخراج بر پایداری امولسیون و ساختار پروتئین سطحی اجسام روغنی سویا نشان داد که در pH قلیایی به‌ویژه ($pH=11$) تعادل ساختار α -helix و β -sheet به‌طور چشمگیری تغییر می‌کند؛ به‌طوری‌که افزایش یون‌های سولفیدریل آزاد و حلالیت ایجاد می‌گردد و در نتیجه پایداری امولسیون نیز به‌طور معنی‌داری بهبود می‌یابد (۲۷)، این یافته‌ها کاملاً هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر هستند. در همین راستا، مطالعه‌ای توسط متیو و

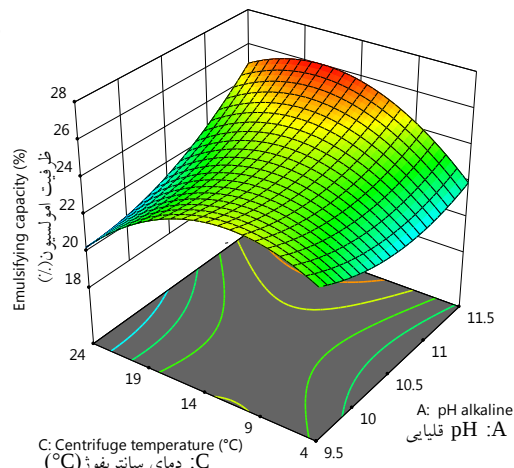
همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که فرآیند pH-shifting در شرایط قلیایی ($pH \approx 12$) منجر به باز شدن ساختار فضایی پروتئین نخود فرنگی، افزایش هیدروفوبی سطحی و بهبود انحلال‌پذیری آن گردید. این تغییرات ساختاری، به‌طور مستقیم با افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین مرتبط بود (۲۸). این نتایج، یافته‌های تحقیق حاضر را که به اثر مثبت pH قلیایی بر خواص عملکردی پروتئین اشاره دارد، تأیید می‌کند. لذا می‌توان با کنترل pH استخراج پروتئینی با قابلیت امولسیون‌کنندگی بالا به‌منظور کاربرد در فرآورده‌های گوشتی، انواع نان، کیک‌ها و سوپ‌ها تهیه نمود. افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی در pH های بالا ممکن است به دو دلیل رخ دهد: اولاً پروتئین به‌سرعت در سطح مشترک روغن و آب حل می‌شود و با افزایش pH، حل‌پذیری بیشتر شده و ظرفیت امولسیون‌کنندگی افزایش می‌یابد. ثانیاً پروتئین‌ها در pH بالا بارهای بیشتری دارند که این موجب دفع بین مولکول‌ها و باز شدن پروتئین‌ها می‌شود. این عوامل باعث تقویت امولسیون و افزایش پایداری آن می‌شوند (۲۹).

تأثیر متقابل متغیرهای $pH_i \times pH_a$ ، $pH_i \times$ دمای سانتیفریوژ، $pH_i \times$ دمای سانتیفریوژ بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین نیز معنی‌دار می‌باشد (۰/۰۵ $p <$). نمودارهای سه‌بعدی مربوط به اثرات متقابل متغیرهای pH_i ، pH_a و دمای سانتیفریوژ بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو در شکل ۳ نشان داده شده‌اند.

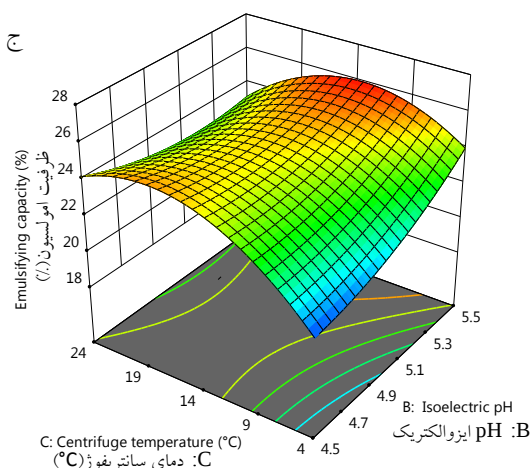
الف



ب



ج



شکل ۳- نمودارهای سه بعدی اثر متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو

Figure 3. Three-dimensional diagrams of the interaction effect of independent variables on the emulsifying capacity of barley protein

برابر ۱۱/۵ مشاهده شد. با توجه به شکل (۳-ب) مشاهده می‌گردد که در این نمودار اثر متقابل متغیرهای $pH_a \times$ دمای سانتریفوژ بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی بررسی شده است. در pH_i ثابت ۵، در دمای سانتریفوژ ۴ تا ۱۴ درجه سانتی‌گراد، افزایش pH_a ابتدا باعث کاهش و سپس افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی گردید. با افزایش دمای سانتریفوژ از ۱۴ به ۲۴ درجه سانتی‌گراد، افزایش pH_a باعث افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی شده است. بیشترین

شکل (۳-الف) تأثیر $pH_i \times pH_a$ را بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو نشان می‌دهد. در این نمودار در دمای سانتریفوژ ثابت ۱۴ درجه سانتی‌گراد، با افزایش pH_a ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو ابتدا اندکی کاهش یافت و مجدد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همچنین افزایش pH_i در pH_a های پایین باعث کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی شده است ولی افزایش pH_i در pH_a های بالا منجر به افزایش ظرفیت امولسیون شده است. به‌طوری‌که بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در pH_a

پروتئین جو را دارد و تأثیرات مهم و معنی‌دار متغیرهای مستقل و اثرات متقابل بین آن‌ها بر روی پاسخ نهایی را ارائه داده است.

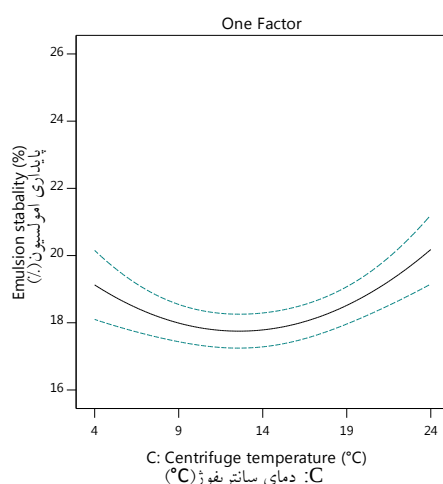
بررسی اثر متغیرهای مستقل بر پایداری امولسیون:
براساس نتایج تحلیل واریانس، مدل پیشنهادی مناسب یک مدل درجه دوم برای پایداری امولسیون پروتئین جو با مقدار F-Value برابر ۲۰/۰۳ و $p < ۰/۰۰۰۱$ value است که حاکی از بسیار معنادار بودن مدل می‌باشد. ضرایب رگرسیون و رگرسیون اصلاح شده نیز به ترتیب ۰/۸۸۴۲ و ۰/۸۴۲۸ به دست آمده‌اند که نشان‌دهنده توصیف مناسب پراکندگی داده‌ها هستند. یکی از شروط اعتبار مدل پیشنهادی، عدم معنی‌داری آزمون برازش مدل است که در این تحقیق با مقدار $p > ۰/۰۵$ تأیید شده است. ضریب تغییرات محاسبه شده ۴/۲۱، کیفیت مناسب انجام آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. همچنین مقدار سیگنال کافی برابر ۱۳/۹۲۳۶ است که به عملکرد قابل قبول مدل اشاره دارد. براساس آنالیز واریانس مدل درجه دوم، تأثیر متغیر دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون معنی‌دار شد ($p < ۰/۰۵$).

ظرفیت امولسیون در دمای میانه سانتریفوژ با افزایش pH_a به دست می‌آید.

نتایج مربوط به اثرپذیری متقابل متغیرهای $pH_i \times$ دمای سانتریفوژ بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو در شکل (۳-ج) نشان داده شده است. با توجه به نمودار مشاهده می‌شود که در pH_a ثابت ۱۱ با افزایش pH_i ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو افزایش یافت، درحالی‌که با افزایش دما سانتریفوژ ظرفیت امولسیون‌کنندگی ابتدا کمی افزایش و سپس کاهش یافت. مدل رگرسیونی درجه دوم برای پیش‌بینی ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو بر اساس مقادیر واقعی به صورت رابطه زیر بیان می‌شود:

$$Y = 280.57374 - 31.42632A + 1.37500AB + 0.142250AC - 0.238000BC + 1.11818A^2 - 0.023868C^2$$

در این رابطه Y نمایانگر ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین جو (درصد)، A نماد pH قلیایی (pH_a)، B نماد pH ایزوالکتریکی (pH_i) و C دمای سانتریفوژ (درجه سانتی‌گراد) است. مدل درجه دوم به خوبی توانایی پیش‌گویی ظرفیت امولسیون‌کنندگی

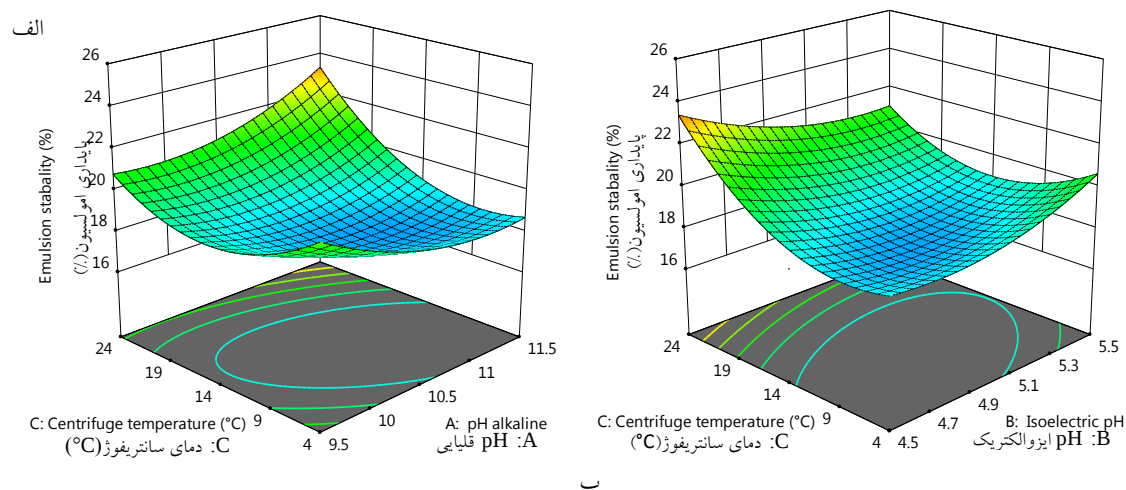


شکل ۴- نمودار اثر تک عاملی دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون پروتئین جو

Figure 4. Diagram of the single-factor effect of centrifugation temperature on the stability of barley protein emulsion

براساس جدول آنالیز واریانس و ارزیابی تأثیر سه متغیر مستقل (دمای سانتریفوژ، pH قلیایی و pH ایزوالکتریک) بر پایداری امولسیون پروتئین جو، تنها دمای سانتریفوژ تأثیر معناداری داشت ($p < 0.05$). درحالی که اثر pH قلیایی و pH ایزوالکتریک معنی دار نبود ($p > 0.05$). مدل رگرسیونی مناسب جهت پیشگویی پایداری امولسیون پروتئین جو یک مدل درجه دوم با ضریب تبیین ۰/۹۵ به دست آمد و گویای آنست که ۹۵ درصد تغییرات پایداری امولسیون پروتئین جو توسط دمای سانتریفوژ قابل توضیح است. ارزیابی تأثیر دما بر پایداری امولسیون پروتئین جو در این تحقیق نشان داد که با افزایش دمای سانتریفوژ، پایداری امولسیون ابتدا کاهش یافت و سپس با افزایش دما مجدداً اندکی افزایش یافته است. نتایج به دست آمده با یافته‌های رحمتی و همکاران (۲۰۱۷) همسو است، آن‌ها گزارش کردند که اعمال حرارت به‌ویژه در محدوده بالا منجر به کاهش پایداری امولسیون می‌شود (۳۰). همچنین دپری و ساواج (۲۰۰۱)، پدیده فلوک شدن ذرات روغن در اثر دمای بالا را گزارش کرده و بیان کردند که افزایش دما موجب افزایش حرکات براونی ذرات روغن و کاهش ویسکوزیته امولسیون شده که این عوامل در

مجموع باعث کاهش پایداری امولسیون می‌گردند (۳۱). در پژوهشی دیگر، شن و همکاران (۲۰۲۱) با مقایسه پروتئین کینوا خشک شده با روش‌های مختلف نشان دادند که پروتئین استخراج شده با خشک کن انجمادی (که مشابه روش استفاده شده در این تحقیق است)، پایداری امولسیون بسیار بالاتری نسبت به روش‌های خشک کردن با اسپری و خلأ دارد. این یافته‌ها نقش نوع فرایند و دمای عملیات را در کیفیت نهایی امولسیون‌ها تأیید می‌کنند (۳۲). مطالعات جدید نیز در راستای تأیید این نتایج هستند. همچنین آلینوی و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که دما تأثیر دوگانه‌ای بر ساختار ذرات امولسیون دارد؛ به‌طوری که در دماهای متوسط، کاهش اندازه ذرات و بهبود پایداری مشاهده می‌شود اما در دماهای بالا، ساختار ذرات تخریب شده و منجر به فاز جدایی می‌شود که با افت پایداری همراه است (۳۳). تأثیر متقابل متغیرهای $pH_a \times$ دمای سانتریفوژ، $pH_i \times$ دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون پروتئین نیز معنی دار می‌باشد ($p < 0.05$). نمودارهای سه بعدی مربوط به اثرات متقابل متغیرهای pH_a ، pH_i و دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون پروتئین جو در شکل ۵ نشان داده شده‌اند.



شکل ۵- نمودار سه بعدی اثر متقابل متغیرهای مستقل بر پایداری امولسیون پروتئین جو

Figure 5. Three-dimensional diagram of the interaction effect of independent variables on the stability of barley protein emulsion

کاهش پایداری امولسیون شده است، به جز در دماهای پایین که ابتدا باعث کاهش و سپس افزایش پایداری امولسیون شده است. بیشترین میزان پایداری در کمترین pH_i و بیشترین دمای سانتریفوژ به دست آمده است. مدل رگرسیونی درجه دوم برای پیش بینی پایداری امولسیون پروتئین جو بر اساس مقادیر واقعی به صورت معادله زیر بیان می شود:

$$Y = 259.55015 - 0.704540C + 0.124625AC - 0.274150BC + 0.965455A^2 + 0.018655C^2$$

رابطه ۴

در این معادله Y نمایانگر پایداری امولسیون پروتئین جو (درصد)، A نماد pH قلیایی (pH_a)، B نماد pH ایزوالکتریک (pH_i) و C دمای سانتریفوژ (درجه سانتی گراد) است. مدل درجه دوم به خوبی توانایی پیش گویی پایداری امولسیون پروتئین جو را دارد و تأثیرات مهم و معنی دار متغیرهای مستقل و اثرات متقابل بین آنها بر روی پاسخ نهایی را ارائه داده است.

بهینه سازی و ارزیابی صحت مدل

جدول ۴- شرایط پیشنهادی نرم افزار جهت بهینه سازی فرایند

Table 4. Software recommended conditions for process optimization

با توجه به شکل (۵-الف) مشاهده می گردد که در این نمودار اثر متقابل متغیرهای $pH_a \times$ دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون بررسی شده است. افزایش هم زمان pH_a و دمای سانتریفوژ باعث کاهش و سپس افزایش معنی دار پایداری امولسیون شد. در هر مقدار pH_a ، افزایش دما ابتدا باعث کاهش و سپس افزایش پایداری امولسیون شده است. در دماهای بالای سانتریفوژ هم افزایش pH_a باعث افزایش پایداری شده است ولی در دماهای پایین افزایش pH_a باعث کاهش پایداری امولسیون شده است. بیشترین میزان پایداری در بالاترین دما و pH_a به دست آمد. در بازه دمای ۴ تا ۱۹ و pH_a برابر ۱۰ تا ۱۱/۵ پایداری امولسیون به طور قابل توجهی (معنی داری) در کمترین مقدار است.

نتایج مربوط به اثرپذیری متقابل متغیرهای $pH_i \times$ دمای سانتریفوژ بر پایداری امولسیون پروتئین جو در شکل (۵-ب) نشان داده شده است. افزایش دما در هر مقدار pH_i ، ابتدا باعث کاهش و سپس افزایش پایداری امولسیون شده است. افزایش pH_i باعث

شماره	pH قلیایی	pH ایزوالکتریک	دمای سانتریفیوژ (°C)	ظرفیت امولسیون کنندگی (%)	پایداری امولسیون (%)	مطلوبیت
۱	۱۱/۵	۴/۵	۲۳/۹۰۷	۲۵/۹۱۰	۲۴/۳۹۰	۰/۹۸۸

جدول ۵- مقایسه داده‌های تجربی و داده‌های پیش‌بینی شده

Table 5. Comparison of experimental and predicted data

پارامتر مورد بررسی	پیش‌بینی شده	آزمایشگاهی Mean $\pm$ SD
ظرفیت امولسیون‌کنندگی	۲۵/۹۱۰	۲۵/۵۶ $\pm$ ۰/۶۸ ^a
پایداری امولسیون	۲۴/۳۹۰	۲۴/۳۴ $\pm$ ۰/۷۱ ^b

اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار ($t_{Stat} < t_{Critical}$) نمی‌باشند، نتایج آزمایشگاهی میانگین سه تکرار هستند.

کاهش اندازه ذرات، بازآرایی ساختار سوم پروتئین و در نتیجه بهبود چشمگیر ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون شد (۳۴). این یافته‌ها به‌خوبی با شرایط بهینه به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر هم‌راستا بوده و نقش مؤثر pH قلیایی را در بهبود خواص عملکردی امولسیون‌های پروتئینی تأیید می‌کند. به‌منظور تحلیل تطبیقی عملکرد ترکیب بهینه‌شده، نتایج این پژوهش با داده‌های حاصل از عملکرد برخی امولسیفایرهای رایج در صنعت نظیر ایزوله پروتئین وی (WPI)، لسیتین سویا و سورفکتانت‌های غیریونی مانند Tween 20 مورد مقایسه قرار گرفت. بر اساس گزارش فوئتنس و همکاران (۲۰۲۱)، WPI توانایی تشکیل امولسیون‌هایی با قطر قطرات زیر ۱ میکرون، خواص رئولوژیکی مطلوب و پایداری بالا در برابر تنش‌های فیزیکی را دارا است (۳۵). مطالعه اوستبرینگ

به‌منظور بهینه‌سازی ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین جو، آنالیز واریانس (ANOVA) و مدل‌سازی رگرسیونی چندجمله‌ای مرتبه دوم انجام شد. در فرآیند بهینه‌سازی عددی، سه متغیر مستقل شامل pH ایزوالکتریک (۴/۵)، دمای سانتریفیوژ (۲۳/۹۰۷) درجه سانتی‌گراد و pH قلیایی (۱۱/۵) به‌گونه‌ای انتخاب شدند که متغیرهای پاسخ (ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون) در مقادیر بیشینه قرار گیرند. بر اساس تحلیل سطح پاسخ، میزان مطلوبیت (Desirability) ۰/۹۸۸ به دست آمد. در این شرایط بهینه، مقادیر ۲۵/۹۱۰٪ و ۲۴/۳۹۰٪ به‌ترتیب برای ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون حاصل شد. برای اعتبارسنجی مدل، آزمون‌های تجربی در سه تکرار مستقل انجام شد و میانگین مقادیر حاصل با مقادیر پیش‌بینی‌شده مقایسه گردید. نتایج آزمون $t_{student}$ نشان داد که اختلاف معناداری بین داده‌های تجربی و پیش‌بینی‌شده وجود ندارد ($t_{Stat} < t_{Critical}$)، که نشان‌دهنده برازش مناسب مدل و اعتبار نتایج بهینه‌سازی است. در راستای پشتیبانی از شرایط بهینه استخراج‌شده، مطالعه‌ای توسط دای و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که تیمار ایزوله پروتئین برنج در pH قلیایی بالا (در محدوده ۱۰ تا ۱۱) موجب افزایش انحلال‌پذیری،

و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که عملکرد امولسیفایری لسیتین سویا و پروتئین کلزا به شدت به pH امولسیون وابسته است. درحالی که لسیتین در شرایط اسیدی عملکرد مطلوب تری داشت، پروتئین کلزا در pH نزدیک به خنثی امولسیون‌هایی با پایداری بالا تولید کرد. همچنین در دمای نگهداری ۳۰ درجه سانتی‌گراد، لسیتین سویا پایداری کم تری نشان داد. این نتایج حاکی از آن است که برخی پروتئین‌های گیاهی در شرایط خاص، پتانسیل عملکردی قابل مقایسه یا حتی برتری نسبت به لسیتین دارند (۳۶).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد روش سطح پاسخ می‌تواند به‌طور موفقیت آمیزی در بهینه‌سازی عامل‌های تأثیرگذار استخراج و ترسیب و دمای سانتریفوژ بر ظرفیت و pH پروتئین جو به کار رود. مدل حاصل بیانگر پایداری تناسب و ضریب اطمینان بالای مدل در پیش بینی

پاسخ‌ها در شرایط مختلف بود. بر این اساس شرایط ترسیب برابر pH ۴/۵ استخراج برابر pH ۱۱/۵۰، بهینه و دمای سانتریفوژ ۲۳/۹۰۷ درجه سانتیگراد به دست آمد. همچنین ظرفیت امولسیون حساسیت بیشتری ترسیب و pH قلیایی استخراج داشت و pH نسبت به دمای سانتریفوژ اثر معنی‌داری بر آن نداشت و پایداری امولسیون حساسیت بیشتری نسبت به دمای قلیایی اثر pH ترسیب و pH سانتریفوژ داشت و معنی‌داری بر آن نداشت. اطلاع از این ویژگی‌ها جهت توسعه و کاربرد هرچه بیشتر پروتئین جو در فراورده‌های غذایی بسیار مهم است. نتایج این تحقیق نشان داد که کنسانتره پروتئین جو می‌تواند ترکیب مناسبی برای مصرف انسان باشد و همچنین پتانسیل خوبی برای استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی جدید دارد.

References

- Galani, E., Ly, I., Laurichesse, E., Schmitt, V., Xenakis, A., & Chatzidaki, M. D. (2023). Pea and soy protein stabilized emulsions: formulation, structure, and stability studies. *Colloids and Interfaces*, 7(2), 30.
- Houde, M., Khodaei, N., Benkerroum, N., & Karboune, S. (2018). Barley protein concentrates: Extraction, structural and functional properties. *Food chemistry*, 254, 367-376.
- Li, L. Y., Wang, Y. X., Zhang, T., Zhang, J. F., Pan, M., Huang, X. J., ... & Nie, S. P. (2020). Structural characteristics and rheological properties of alkali-extracted arabinoxylan from dehulled barley kernel. *Carbohydrate polymers*, 249, 116813.
- Sullivan, P., Arendt, E., & Gallagher, E. (2013). The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods. *Trends in Food Science and Technology*, 29(2), 124-134.
- Raj, R., Shams, R., Pandey, V. K., Dash, K. K., Singh, P., & Bashir, O. (2023). Barley phytochemicals and health promoting benefits: A comprehensive review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100677.
- Geng, L., Li, M., Zhang, G., & Ye, L. (2022). Barley: a potential cereal for producing healthy and functional foods. *Food Quality and Safety*, 6, fyac012.
- Parodi, A., Leip, A., De Boer, I., Slegers, P., Ziegler, F., Temme, E. H., Herrero, M., Tuomisto, H., Valin, H., & Van Middelaaar, C. (2018). The potential of future foods for sustainable and healthy diets. *Nature Sustainability*, 1(12), 782-789.
- Wu, J. & Muir, A. D. 2008. Comparative structural, emulsifying, and biological properties of 2 major canola proteins, cruciferin and napin. *Journal of Food Science*, 73: 210-16.
- Nasrabadi, M. N., Eskin, M. N., Thiyam-Hollander, U., & Ghosh, S. (2025). On the stability of acid-soluble pea protein-stabilized beverage emulsions against salt addition and heat treatment. *RSC advances*, 15(23), 18430-18443.
- Hadidi, M., Aghababaei, F., & McClements, D. J. (2023). Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*, 109132.
- Chandran, A. S., Kashyap, P., & Thakur, M. (2024). Effect of extraction methods on functional properties of plant proteins: A review. *EFood*, 5(3), e151.
- Chandran, A. S., Suri, S., & Choudhary, P. (2023). Sustainable plant protein: an up-to-date overview of sources, extraction techniques and utilization. *Sustainable Food Technology*, 1(4), 466-483.
- Xing, J., Li, Z., Zhang, W., & Wang, P. (2023). The composition, structure, and functionalities of prolamins from highland barley. *Molecules*, 28(14), 5334.
- Yang, S., Jin, Y., Li, F., Shi, J., Liang, J., & Mei, X. (2024). Pickering Emulsion Stabilized by Hordein-Whey Protein Isolate Complex: Delivery System of Quercetin. *Foods*, 13(5), 665.
- Long, R., Huang, Y., Dabbour, M., Mintah, B. K., Pan, J., Wu, M., ... & Ma, H. (2025). Physical Processing-Assisted pH Shifting for Food Protein Modification: A Comprehensive Review. *Foods*, 14(13), 2360.
- Patel, A. S., Lakshmibalasubramaniam, S., Nayak, B., & Camire, M. E. (2022). Lauric acid adsorbed cellulose nanocrystals retained the physical stability of oil-in-water Pickering emulsion during different dilutions, pH, and storage periods. *Food Hydrocolloids*, 124, 107139.
- Keshani, M., Zamindar, N., & Hajian, R. (2020). Effect of Immersion Ohmic Heating on Thawing Rate and Properties of Frozen Tuna Fish. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(5), 621-628.
- Wang, C., Tian, Z., Chen, L., Temelli, F., Liu, H., & Wang, Y. (2010). Functionality of barley proteins extracted and fractionated by alkaline and alcohol methods. *Cereal chemistry*, 87(6), 597-606.
- Wu, Y.V., Sexson, K.R. and Sanderson, J.E., 1979. Barley protein concentrate from high-protein, high-lysine varieties. *Journal of Food Science* 44: 1580-1583.

20. Papalamprou, E. M., Doxastakis, G. I., & Kiosseoglou, V. (2010). Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), 304-313.
21. Siong, H., Rodney, J. & Christopher, L. 2014. Emulsifying properties of protein extracted from Australian canola meal. *LWT- Food science and Technology*, 57:376-382.
22. Fidantsi, A. & Doxastakis, G. 2001. Emulsifying and foaming properties of Amaranth seed protein isolate. *Journal of Colloids and Surfaces*, 21: 119-124.
23. 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.
24. Lee, H., Yildiz, G., Santos, L.C., Andrade, J.E. & Feng, H. 2016. Soy protein with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication. *Food Hydrocolloids*, 55: 200-209
25. Mohammadzadeh J, Ghodsvai A. (2017). Investigation of the effect of extraction and precipitation conditions on the efficiency and functional properties of rapeseed protein isolate. *Food Science and Technology*, 64: 289-300.
26. XU, L. & Diosady, L. L. 2002. Removal of phenolic compound in the production of high quality canola protein isolates. *Food Research International*, 35: 23-30.
27. Chen, N., Wang, Z., Zhu, J., Ning, Y., Jiang, L., Yan, S., & Qi, B. (2025). Effect of extraction pH on the emulsion stability and surface protein structure of soybean oil body. *Food Chemistry*, 143029.
28. Mathew, H. C., Kim, W., Wang, Y., Clayton, C., & Selomulya, C. (2024). On treatment options to improve the functionality of pea protein. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 101(10), 927-948.
29. Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X., & Li, S. (2019). Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. *Food Chemistry*, 283, 539-548.
30. Rahmati N, Kouchaki A, Veridi M, Kadkhodaei R. (2017). Evaluation of structural and functional properties of protein of three different genotypes of bean (*Phaseolus vulgaris*). *Iranian Food Science and Technology Research*, 13: 79-91.
31. Depree, J. A., & Savage, G. P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 157-163.
32. Shen, Y., Tang, X., & Li, Y. (2021). Drying methods affect physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Food Chemistry*, 339, 127823.
33. Alinovi, M., Rinaldi, M., Paciulli, M., Bot, F., Barbanti, D., & Chiavaro, E. (2023). Impact of combined thermal pressure treatments on physical properties and stability of whey protein gel emulsions. *Foods*, 12(13), 2447.
34. Dai, H., Zhan, F., Chen, Y., Shen, Q., Geng, F., Zhang, Z., & Li, B. (2023). Improvement of the solubility and emulsification of rice protein isolate by the pH shift treatment. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 355-366.
35. Fuentes, K., Matamala, C., Martínez, N., Zúñiga, R. N., & Troncoso, E. (2021). Comparative study of physicochemical properties of nanoemulsions fabricated with natural and synthetic surfactants. *Processes*, 9(11), 2002.
36. Östbring, K., Matos, M., Marefati, A., Ahlström, C., & Gutiérrez, G. (2021). The effect of pH and storage temperature on the stability of emulsions stabilized by rapeseed proteins. *Foods*, 10(7), 1657.