

## Fabrication of stable Pickering emulsion using hybrid particles comprised of biopolymers

Sedighe Tavasoli<sup>1</sup>, Yahya Maghsoudlou<sup>1\*</sup>, Seid Mahdi Jafari<sup>1</sup>,  
Hoda Shahiri Tabarestani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran  
Email: Y.maghsoudlou@gau.ac.ir

### Article Info

**Article type:**  
Research Full Paper

**Article history:**  
Received: 2022-07-08  
Revised: 2022-08-31  
Accepted: 2022-09-12

**Keywords:**  
Pickering emulsion  
Conjugate  
Ultrasonic  
Caseinate

### ABSTRACT

**Background and objectives:** Today, Pickering emulsions, as the most stable type of emulsion, have been widely accepted for use in various food, pharmaceutical, and cosmetic products. The common use of biopolymers such as proteins and polysaccharides as stabilizing or thickening agents in the formulation of these emulsion systems, due to their inherent functional characteristics, easy preparation, nutritional value, biodegradability, and biocompatibility, encourages researchers to design new hybrid Pickering stabilizers with enhanced functional properties. Therefore, in the present study, the fabrication of sodium caseinate / soy soluble polysaccharides conjugate nanoparticles and the potential of these novel emulsifiers to stabilize the Pickering emulsion was investigated.

**Materials and methods:** First, sodium caseinate / soy soluble polysaccharides conjugates (NaCS / SSPS) with a protein/polysaccharide ratio of 9 to 1 were produced through the Maillard reaction using the dry heating method under optimal conditions (temperature of 60°C and 75% relative humidity), and after confirming the formation of covalent binding between NaCS and SSPS via attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy, the conjugate capability to create a stable emulsion was studied, and compared to native biopolymers. Then, to produce NaCS / SSPS conjugate nanoparticles (Pickering stabilizer), ultrasonic pulse treatment was applied (400 W-28 minute) and two important features of particle size and their wettability were measured. In the following, the potential of Pickering emulsion formation using NaCS / SSPS conjugate nanoparticles was characterized and the stability of obtained emulsions was compared to that of untreated NaCS / SSPS conjugates.

**Results:** The formation of covalent binding between NaCS and SSPS and structural changes of NaCS during conjugation reaction were detected through attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. Increased physical stability against creaming was observed for emulsions stabilized by conjugates when

---

---

compared with those produced by the native biopolymers. In addition, differential scanning calorimetry results showed that the thermal stability of NaCS was significantly increased by glycosylation reaction. Based on the dynamic light scattering and contact angle measurements, the ultrasonic treatment led to a significantly decreased particle size and an increase in their wettability, which allowed the creation of a high stable Pickering emulsion. The enhanced wettability of the NaCS/SSPS nanoparticles was achieved by exposing the hydrophobic sections hidden within the conjugate structure.

**Conclusion:** Owing to the successful fabrication of high stable Pickering emulsion using the hybrid nanoparticles produced by combining two techniques of conjugation and ultrasonic, it can be suggested to employ NaCS/SSPS conjugate nanoparticles for the manufacture of Pickering emulsion delivery systems for bioactive compounds.

---

---

**Cite this article:** Tavasoli, S., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., Shahiri Tabarestani, H. 2023. Fabrication of stable Pickering emulsion using hybrid particles comprised of biopolymers. *Food Processing and Preservation Journal*, 15 (1), 109-124.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20407.1708

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

### تولید پیکرینگ امولسیون پایدار با استفاده از ذرات هیبریدی متشکل از پلیمرهای زیستی

صدیقه توسلی<sup>۱</sup>، یحیی مقصدلو<sup>\*</sup>، سید مهدی جعفری<sup>۱</sup>، هدی شهری طبرستانی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، رایانامه: [y.mahsoudlou@gu.ac.ir](mailto:y.mahsoudlou@gu.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>نوع مقاله:</b> مقاله کامل علمی-پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> امروزه از پیکرینگ امولسیون‌ها، به عنوان پایدارترین شکل امولسیون، به طور گسترده در محصولات مختلف غذایی، دارویی و بهداشتی استفاده می‌شود. به کارگیری پلیمرهای زیستی نظیر پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها به عنوان عوامل پایدارکننده و یا تغلیظ کننده در فرمولاسیون این نوع امولسیون‌ها، به دلیل ویژگی‌های عملکردی مناسب، آماده‌سازی آسان، ارزش تغذیه‌ای، زیست تخریب‌پذیری و زیست سازگاری، موجب افزایش گرایش محققین به طراحی انواع هیبریدی پیکرینگ پایدارکننده‌ها با خصوصیات عملکردی بهبود یافته گردید. از این رو در پژوهش حاضر نانوذرات کنژوگه کازئینات سدیم - پلی‌ساکاریدهای محلول سویا تولید و قابلیت پایدارکنندگی آن مورد بررسی قرار گرفت.
<b>واژه‌های کلیدی:</b> پیکرینگ امولسیون کنژوگه فراصوت کازئینات	<b>مواد و روش‌ها:</b> ابتدا کنژوگه کازئینات سدیم - پلی‌ساکارید سویا (NaCS/SSPS) با نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید ۹ به ۱ از طریق واکنش میلارد و به روش خشک در شرایط بهینه (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد) تولید و پس از تایید تشکیل پیوندهای کووالانسی با اسپکتروسکوپی مادون‌قرمز تبدیل فوری، قابلیت آن در ایجاد امولسیون روغن در آب پایدار بررسی و با بیوپلیمرهای سازنده آن مقایسه شد. سپس به منظور تولید نانوذرات کنژوگه (پیکرینگ پایدارکننده) از روش فراصوت (توان ۴۰۰ وات - مدت زمان ۲۸ دقیقه) استفاده و دو فاکتور مهم اندازه نانوذرات و قابلیت مرطوب شونده‌گی آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان، قابلیت تولید پیکرینگ امولسیون با استفاده از نانوذرات کنژوگه بررسی و پایداری امولسیون حاصل با امولسیون پایدار شده توسط کنژوگه مقایسه شد.
	<b>یافته‌ها:</b> تشکیل پیوند کووالانسی بین کازئینات و پلی‌ساکاریدهای محلول سویا و تغییرات ساختاری طی فرایند کنژوگه شدن با نتایج اسپکتروسکوپی مادون‌قرمز تبدیل فوری تأیید شد. پایداری امولسیون‌ها با استفاده از ترکیبات کنژوگه در مقایسه با هر یک از بیوپلیمرهای تشکیل دهنده، با کاهش ناپایداری فیزیکی خامه‌ای شدن افزایش یافت. ضمن اینکه، نتایج بدست آمده از گرماسنج روبشی افتراقی نشان داد که فرایند کنژوگه شدن موجب افزایش پایداری حرارتی

---

پروتئین نیز شده است. نتایج پراکنش نور پویا (DLS) نشان‌دهنده کاهش اندازه ذرات کنژوگه با اعمال تیمار فراصوت بوده که این کاهش اندازه برای تولید پیکرینگ امولسیون پایدار مطلوب می‌باشد. بعلاوه، اعمال تیمار فراصوت با آشکار کردن گروه‌های آبگریز پنهان در بخش‌های داخلی کنژوگه، موجب بهبود قابلیت مرطوب شونده آن گردید. بهبود این دو فاکتور اندازه گیری شده، موجب افزایش ویژگی‌های عملکردی نانوذرات کنژوگه در تولید پیکرینگ امولسیون پایدار در مقایسه با ترکیبات کنژوگه شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به تولید پیکرینگ امولسیون پایدار با استفاده از نانوذرات هیبریدی سنتز شده توسط ترکیب دو روش گلیکوزیلاسیون و فراصوت، استفاده از این نانوذرات به‌منظور تولید پیکرینگ امولسیون‌های عملگرا جهت انتقال ترکیبات زیست فعال پیشنهاد می‌شود.

---

**استناد:** توسلی، ص.، مقصودلو، ی.، جعفری، س.م.، شهیری طبرستانی، ه. (۱۴۰۲). تولید پیکرینگ امولسیون پایدار با استفاده از ذرات هیبریدی متشکل از پلیمرهای زیستی. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۵ (۱)، ۱۲۴-۱۰۹.

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20407.1708

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



© نویسندگان.

## مقدمه

امروزه تولید و پایدارسازی امولسیون‌های ساختاریافته به عنوان ابزاری جهت ریزپوشانی، انتقال و رهایش کنترل شده ترکیبات زیست‌فعال توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. اگرچه این سیستم‌های کلوئیدی برای ارائه بیشترین پایداری و افزایش زیست‌دسترسی پذیری ترکیبات فعال نیاز به طراحی درست دارند. استفاده از امولسیفایرهای مناسب نقش مهمی در تعیین پایداری سطح مشترک بین فازهای تشکیل‌دهنده امولسیون و در نتیجه کیفیت امولسیون نهایی دارد (۱). در بین امولسیون‌های مطرح، پیکرینگ امولسیون‌ها مقاومت بالاتری را در برابر ناپایداری‌های فیزیکی و شیمیایی نشان داده، در نتیجه به‌طور گسترده در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی استفاده می‌شوند (۲). برخلاف امولسیون‌های معمول، پیکرینگ امولسیون‌ها با استفاده از ذرات کلوئیدی جامد پایدار شده و این ذرات بواسطه جذب نسبتاً برگشت‌ناپذیر می‌توانند سطح مشترکی با پایداری بسیار بالاتر ایجاد کنند (۳). فاکتورهای مختلفی بر پایداری این نوع امولسیون‌ها اثر می‌گذارند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به اندازه ذرات و قابلیت مرطوب شونده‌گی آن‌ها اشاره نمود که بر ویژگی‌های عملکردی و کارایی سطح مشترک موثر می‌باشند (۴). ذرات کلوئیدی مورد استفاده در تولید و پایدارسازی پیکرینگ امولسیون‌ها از منابع مختلف غیرآلی و آلی بدست می‌آیند. در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به استفاده از پلیمرهای زیستی به‌منظور جایگزینی انواع پایدارکننده‌های غیرآلی و سنتزی در فرمولاسیون محصولات مختلف به‌ویژه محصولات غذایی شده است. داشتن ماهیت طبیعی، روش‌های استخراج و تولید آسان تحت شرایط ملایم، ارزش تغذیه‌ای، زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری، از جمله مزیت‌های پلیمرهای زیستی می‌باشند که آن‌ها را به

عنوان جایگزین‌هایی با ویژگی‌های عملکردی بهتر برای تولید و پایدارسازی امولسیون‌ها معرفی می‌کند (۵). اغلب پروتئین‌ها به دلیل داشتن هر دو بخش آب‌گریز و آب‌دوست و عملکرد مناسب در سطح مشترک فازهای تشکیل‌دهنده امولسیون و در نتیجه کاهش کشش سطحی آن و همچنین پلی‌ساکاریدها به دلیل قابلیت ویسکوزکنندگی در افزایش پایداری امولسیون‌ها نقش دارند. اگر چه این توانایی بسته به ماهیت پایدارکننده زیستی، تحت تأثیر شرایط محیطی مانند pH، قدرت یونی و دما تغییر کرده و همین تأثیر کاربرد صنعتی پلیمرهای زیستی را محدود می‌سازد. به عنوان مثال، ویژگی‌های امولسیفایری پروتئین‌ها به میزان قابل توجهی در نقطه ایزوالکتریک آن‌ها کاهش می‌یابد. اصلاح شیمیایی - ساختاری بیوپلیمرهای زیستی می‌تواند موجب بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها گشته و امکان استفاده از آن‌ها در طیف وسیع محصولات غذایی را فراهم سازد (۶). از جمله روش‌های اصلاح شیمیایی در این راستا می‌توان به تشکیل پیوند کووالانسی و گلیکوزیله نمودن پروتئین‌ها توسط واکنش میلارد اشاره نمود که مطالعات صورت گرفته در این رابطه نشان‌دهنده افزایش مقاومت حرارتی، حلالیت و در نتیجه بهبود ویژگی‌های عملکردی پروتئین و هم‌چنین پلی‌ساکارید به‌صورت ترکیبات کنژوگه بوده است. این واکنش به هیچ ماده شیمیایی نیاز نداشته و تحت شرایط کنترل شده (رطوبت، دما، pH و زمان) و به دو روش خشک و مرطوب انجام می‌شود (۷-۹). در مطالعه حاضر از دو بیوپلیمر کازئینات سدیم (NaCS) و پلی‌ساکارید محلول سویا (SSPS) به‌منظور تولید ترکیبات کنژوگه با ویژگی‌های پایدارکنندگی بهبود یافته و از روش فراصوت به‌منظور تولید نانوذرات کنژوگه با خصوصیات فیزیکی مناسب جهت تولید پیکرینگ

شدند. طیف‌های اسپکتروسکوپی، از مواد اولیه خالص و ترکیبات کنژوگه حاصل از ترکیب آن‌ها، با استفاده از اسپکتروفتومتر (Bruker) Equinox 55-LSI 01 (آلمان) در فاصله  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  با قدرت تفکیک  $4\text{ cm}^{-1}$  و  $32$  اسکن تهیه و با استفاده از نرم‌افزار OMNIC 9.2.86 مورد بررسی قرار گرفتند.

**گرماسنجی روبشی افتراقی<sup>۳</sup> (DSC):** ویژگی‌های حرارتی نمونه‌ها با استفاده از گرماسنج روبشی افتراقی در محدوده دمایی  $300-20$  درجه سانتی‌گراد با سرعت حرارت‌دهی  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  با استفاده از کالریمتر (S.DS.T، ایران) بررسی شد. برای این منظور،  $18$  میلی‌گرم از هر نمونه در سل آلومینیمی قرار داده و به صورت حرارتی بسته شد. از یک سل خالی نیز به عنوان رفرنس استفاده شد.

**تولید نانوذرات کنژوگه NaCS/SSPS:** ابتدا محلول کنژوگه با غلظت  $2\%$  درصود وزنی/وزنی با افزودن مقدار مشخصی از پودر آن در بافر فسفات با  $\text{pH } 7$  و همزدن با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت  $2$  ساعت در دمای اتاق آماده و پس از تنظیم مجدد  $\text{pH}$  به منظور هیدراسیون کامل ترکیبات کنژوگه به مدت  $12$  ساعت در دمای  $4$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس دیسپرسیون نانوذرات کنژوگه با اعمال تیمار فراصوت (شرکت توسعه فناوری مافوق صوت، ایران)، با توان  $400$  وات طی مدت‌زمان  $28$  دقیقه تولید و سپس سانتریفیوژ ( $4000\text{ g} - 10$  دقیقه) شد. دما طی فرایند با استفاده از حمام یخ پایین نگه داشته شد. سوپرناتانت حاصل قبل از استفاده برای تولید پیکرینگ امولسیون و یا انجام آزمون‌های بعدی در دمای  $4$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

**بررسی خصوصیات فیزیکی نانوذرات کنژوگه:** به منظور بررسی مناسب بودن نانوذرات کنژوگه برای

امولسیون پایدار استفاده شد. تیمار فراصوت یکی از روش‌های متداول تولید نانوذرات با ظرفیت بالا می‌باشد که طی آن اندازه ذرات با وقوع پدیده کاویتاسیون کاهش می‌یابد. توان و مدت‌زمان اعمال تیمار فراصوت مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر تبدیل انرژی به کاویتاسیون می‌باشد ( $10$ )؛ بنابراین ابتدا قابلیت پایدارکنندگی ترکیبات کنژوگه بررسی و با هر یک از بیوپلیمرهای تشکیل‌دهنده مقایسه و سپس قابلیت نانوذرات کنژوگه در ایجاد پیکرینگ امولسیون پایدار مطالعه شد.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش از کازئینات سدیم (تایتان بیوتک هند)، پلی‌ساکارید محلول سویا (با وزن مولکولی  $\text{kDa } 1600$ ، کمپانی روغن Fuji، ژاپن)، روغن آفتابگردان تصفیه شده (کمپانی مارگارین، ایران) استفاده شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده مانند سدیم هیدروکسید و هیدروکلریک اسید از کمپانی مرک (آلمان) خریداری شد.

**آماده‌سازی ترکیبات کنژوگه NaCS/SSPS:** ترکیبات کنژوگه NaCS/SSPS با نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید  $9$  به  $1$  طبق روش ستیواتی<sup>۱</sup> و همکاران ( $2017$ )، در رطوبت نسبی  $75\%$  درصود و دمای  $60$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $24$  ساعت تولید شد ( $11$ ). در پایان زمان واکنش، ترکیبات بدست آمده جهت آنالیزها و استفاده بعدی، در دمای  $20-$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

**اسپکتروسکوپی مادون قرمز تبدیل فوریه - بازتابی کلی تضعیف شده<sup>۲</sup> (ARI):** گروه‌های عاملی مواد اولیه و ترکیبات کنژوگه حاصل با استفاده از ARI جهت بررسی میزان واکنش‌ها بین مواد اولیه بررسی

1. Setiowati
2. Attenuated total reflectance-fourier transform infrared spectroscopy (AIR)

3. Differential scanning calorimetry

$$\text{درصد} \left( \frac{\text{ارتفاع لایه خامه}}{\text{ارتفاع کل امولسیون}} \right)$$

### تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط آنوا یک طرفه<sup>۲</sup> با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ورژن ۲۵) انجام شد. داده‌ها در سه تکرار و مقایسه میانگین آن‌ها با تست LSD ( $\alpha = 0.05$ ) صورت گرفته و نمودارها با نرم‌افزار Origin (۲۰۱۶) رسم شد.

### نتایج و بحث

اسپکتروسکوپی مادون قرمز تبدیل فوریه - بازتابی کلی تضعیف شده (ARI): نتایج مربوط به طیف‌سنجی NaCS و SSPS هر یک به‌تنهایی و ترکیبات کنژوگه حاصل از آن‌ها در شکل ۱ قابل مشاهده است. پیک‌های شناسایی شده در طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز NaCS شامل آمید I در محدوده عدد موجی  $1684 \text{ cm}^{-1}$  (۱۷۰۰-۱۶۰۰)، آمید II در محدوده عدد موجی  $1517 \text{ cm}^{-1}$  (۱۵۰۰-۱۵۵۰)، آمید III در محدوده عدد موجی  $1239 \text{ cm}^{-1}$  (۱۳۰۰-۱۲۰۰)، ارتعاشات C-H در محدوده عدد موجی  $2920-2960 \text{ cm}^{-1}$ ، ارتعاشات کششی O-H یا N-H در محدوده عدد موجی  $3500-3000 \text{ cm}^{-1}$  می‌باشند. در طیف SSPS نیز پیک‌های شاخص مشاهده شده در محدوده  $3500-3100 \text{ cm}^{-1}$ ،  $1610-1580$  و  $1420-1400$  به ترتیب به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل و ارتعاشات یون کربوکسیلات (ارتعاشات کششی C=O) و پیک شاخص در محدوده عدد موجی  $1180-953 \text{ cm}^{-1}$  به پیوندهای گلیکوزیدی در ساختار پلی‌ساکارید نسبت داده

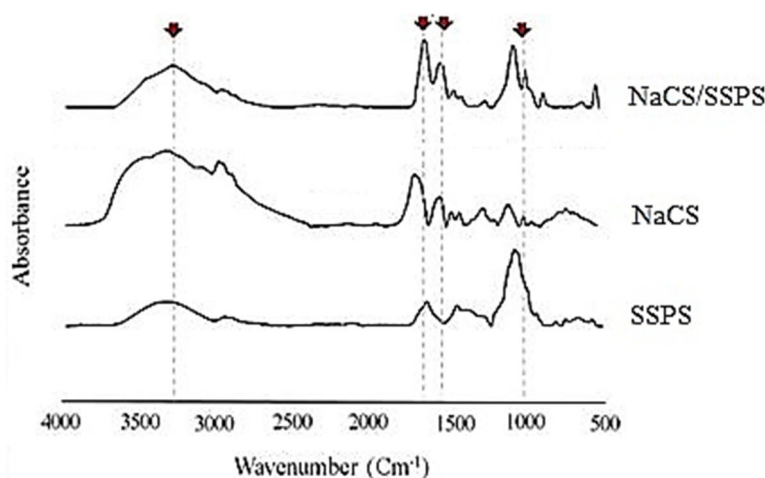
تولید پیکرینگ امولسیون پایدار، دو ویژگی مهم اندازه ذرات و قابلیت مرطوب شوندگی آن‌ها اندازه‌گیری شد. میانگین اندازه ذرات با استفاده از مسترسایزر ۲۰۰۰ (Malvern Instruments, UK)، بدون رقت‌سازی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. غلظت نانوذرات کنژوگه ۲ درصد بود. قابلیت مرطوب شوندگی نیز با اندازه‌گیری زاویه تماس قطره آب با سطح نازکی از پودر نمونه‌ها (NaCS)، ترکیبات کنژوگه و نانوذرات کنژوگه) به روش قطره معلق توسط دستگاه اندازه‌گیری زاویه تماس تعیین شد. تصاویر قطره با یک دوربین با سرعت بالا ثبت و زاویه تماس با استفاده از نرم‌افزار OCA 20 محاسبه شد (۱۲).

ارزیابی پایداری پیکرینگ امولسیون‌های پایدار شده با نانوذرات کنژوگه: به‌منظور مقایسه توانایی نانوذرات کنژوگه در تولید پیکرینگ امولسیون پایدار با قابلیت امولسیون‌کنندگی کنژوگه NaCS/SSPS، امولسیون‌های روغن در آب (۵۰/۵۰) از مخلوط کردن دیسپرسیون ۲ درصد بیوپلیمرها با روغن آفتابگردان طی دو مرحله هموزن کردن با هموزنایزر با دور rpm ۱۳۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه و اعمال تیمار فراصوت با توان ۴۰۰ وات به مدت ۵ دقیقه تهیه شدند. میانگین اندازه ذرات گویچه‌های فاز پراکنده نمونه‌های امولسیون رقیق شده توسط DLS<sup>۱</sup> اندازه‌گیری شد. ضریب شکست آب ۱/۴۷ و روغن آفتابگردان ۱/۳۳ قرار داده شد. هم‌چنین، شاخص خامه‌ای شدن نمونه‌های امولسیون طی دوره نگهداری در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد به‌منظور بررسی پایداری آن‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

نتایج مربوط به طیف‌سنجی NaCS و SSPS هر یک به‌تنهایی و ترکیبات کنژوگه حاصل از آن‌ها در شکل ۱ قابل مشاهده است. پیک‌های شناسایی شده در طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز NaCS شامل آمید I در محدوده عدد موجی  $1684\text{ cm}^{-1}$  ( $1700-1600$ )، آمید II در محدوده عدد موجی  $1517\text{ cm}^{-1}$  ( $1550-1500$ )، آمید III در محدوده عدد موجی  $1239\text{ cm}^{-1}$  ( $1300-1200$ )، ارتعاشات C-H در محدوده عدد موجی  $2960-2920\text{ cm}^{-1}$ ، ارتعاشات کششی O-H یا N-H در محدوده عدد موجی  $3000-3500\text{ cm}^{-1}$  می‌باشند. در طیف SSPS نیز پیک‌های شاخص مشاهده شده در محدوده عدد موجی  $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ ،  $1610-1580$  و  $1420-1400$  به ترتیب به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل و ارتعاشات یون کربوکسیلات (ارتعاشات کششی C=O) و پیک شاخص در محدوده عدد موجی  $1180-953\text{ cm}^{-1}$  به پیوندهای گلیکوزیدی در ساختار پلی ساکارید نسبت داده می‌شوند. نتایج بدست آمده مشابه با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققان در موارد مشابه می‌باشد (۵؛ ۱۳-۱۵).

می‌شوند. نتایج بدست آمده مشابه با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققان در موارد مشابه می‌باشد (۵؛ ۱۳-۱۵).

نتایج مربوط به طیف‌سنجی NaCS و SSPS هر یک به‌تنهایی و ترکیبات کنژوگه حاصل از آن‌ها در شکل ۱ قابل مشاهده است. پیک‌های شناسایی شده در طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز NaCS شامل آمید I در محدوده عدد موجی  $1684\text{ cm}^{-1}$  ( $1700-1600$ )، آمید II در محدوده عدد موجی  $1517\text{ cm}^{-1}$  ( $1550-1500$ )، آمید III در محدوده عدد موجی  $1239\text{ cm}^{-1}$  ( $1300-1200$ )، ارتعاشات C-H در محدوده عدد موجی  $2960-2920\text{ cm}^{-1}$ ، ارتعاشات کششی O-H یا N-H در محدوده عدد موجی  $3000-3500\text{ cm}^{-1}$  می‌باشند. در طیف SSPS نیز پیک‌های شاخص مشاهده شده در محدوده  $3500-3100\text{ cm}^{-1}$ ،  $1610-1580$  و  $1420-1400$  به ترتیب به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل و ارتعاشات یون کربوکسیلات (ارتعاشات کششی C=O) و پیک شاخص در محدوده عدد موجی  $1180-953\text{ cm}^{-1}$  به پیوندهای گلیکوزیدی در ساختار پلی ساکارید نسبت داده می‌شوند. نتایج بدست آمده مشابه با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققان در موارد مشابه می‌باشد (۵؛ ۱۳-۱۵).



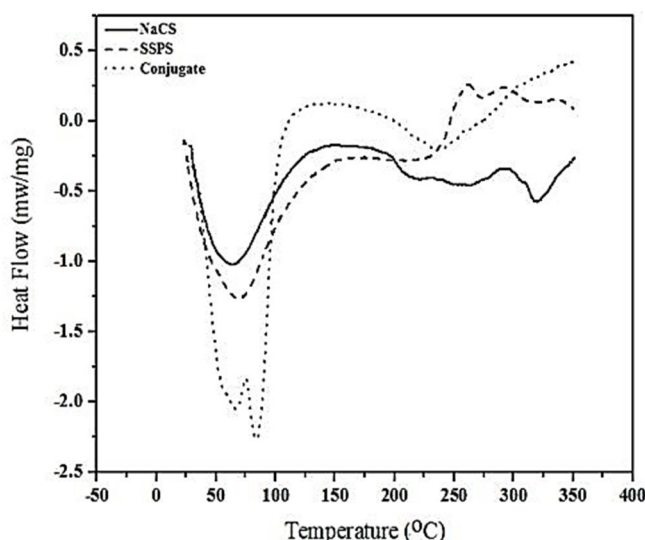
شکل ۱- طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه NaCS، SSPS، NaCS/SSPS کنژوگه

Figure 1- FTIR spectra of NaCS, SSPS, NaCS/SSPS conjugate



آنتالپی مربوطه نیز از  $353/655 \text{ J/g}$  به  $194/051 \text{ J/g}$  کاهش یافت که نشان‌دهنده افزایش پایداری حرارتی NaCS می‌باشد. این تاثیر مثبت بر پایداری حرارتی به دلیل محدود شدن دامنه حرکتی پروتئین پس از اتصال پلی‌ساکارید و افزایش پایداری ساختاری آن می‌باشد (۱۴). بعلاوه تغییر قابل توجه آنتالپی نیز تاییدکننده تخریب برهمکنش‌های بین مولکولی NaCS طی فرایند کنژوگه شدن با SSPS می‌باشد. افزایش پایداری حرارتی جزء پروتئینی طی فرایند کنژوگه شدن با پلی‌ساکاریدها توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۱۷ و ۱۸).

تعیین ویژگی‌های حرارتی با استفاده از گرماسنج روبشی افتراقی: دمای دناتوراسیون به‌منظور ارزیابی پایداری حرارتی جزء پروتئینی و مقدار آنتالپی برای اندازه‌گیری انرژی مورد نیاز جهت غلبه بر برهمکنش‌های بین مولکولی طی فرایند دناتوراسیون تعیین می‌شود (۱۷). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، منحنی DSC ترکیبات کنژوگه در مقایسه با پروتئین خالص دو پیک گرم‌گیر را نشان می‌دهد که می‌تواند به جزءهای پروتئینی پایدار شده و پایدار نشده نسبت داده شود. پس از فرایند اصلاح گلیکوزیلاسیون، دمای دناتوراسیون NaCS از  $63/3$  درجه سانتی‌گراد به  $82/9$  درجه سانتی‌گراد افزایش و



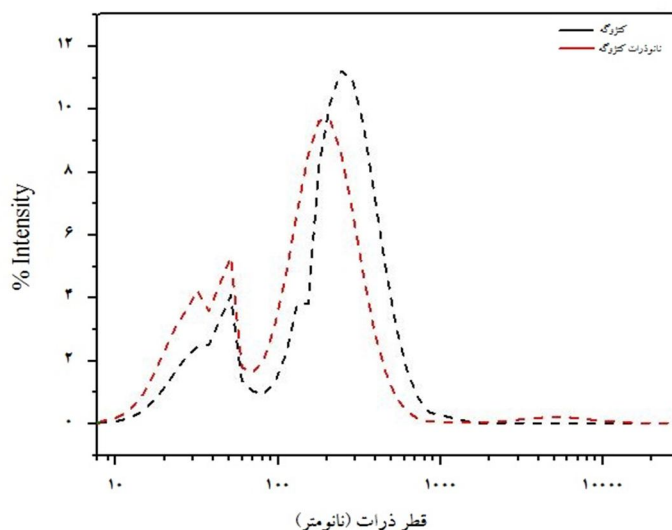
شکل ۲- منحنی‌های DSC نمونه‌های NaCS، SSPS، و کنژوگه NaCS/SSPS  
Figure 2- DSC curves of NaCS, SSPS, and NaCS/SSPS conjugate.

فراصوت به‌طور معنی‌داری تغییر کرده است. میانگین قطر هیدرودینامیک ذرات کنژوگه بدون اعمال تیمار فراصوت، در  $\text{pH } 7$  و دمای محیط،  $109/2 \pm 2/26$  نانومتر تعیین شد که پس از اعمال تیمار فراصوت به مدت ۲۸ دقیقه به  $75/10 \pm 2/40$  نانومتر کاهش یافت. طی اعمال تیمار فراصوت، تشکیل میکروجریان‌های شدید و نیروهای توربولنت ناشی از پدیده کاویتاسیون

تولید نانوذرات کنژوگه و تعیین خصوصیات فیزیکی آن: یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده مناسب بودن ذرات جهت پایدارسازی پیکرینگ امولسیون، اندازه آن‌ها می‌باشد. شکل ۳، توزیع اندازه ذرات کنژوگه را قبل و بعد از اعمال تیمار فراصوت نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، قطر متوسط (dz) دیسپرسیون کنژوگه NaCS/SSPS با اعمال تیمار

براساس مطالعات سایر محققین، ذرات کنژوگه با اندازه متوسط ۷۵ نانومتر جهت پایدارسازی پیکرینگ امولسیون مناسب می‌باشند (۲۶-۲۲).

موجب کاهش اندازه کوپلیمرهای NaCS/SSPS می‌شود. نتایج مشابهی در رابطه با تاثیر تیمار فراصوت بر ذرات پروتئینی گزارش شده است (۱۹-۲۱).

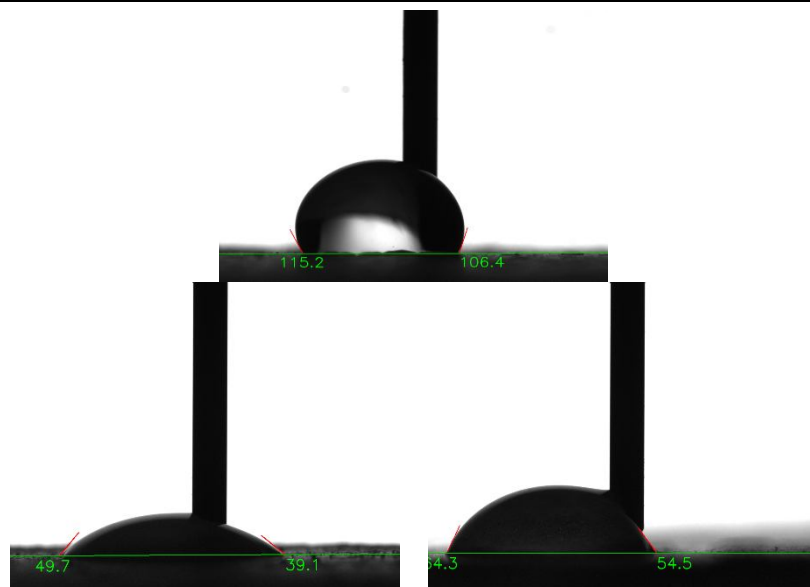


شکل ۳- توزیع اندازه ذرات قبل و بعد از اعمال تیمار فراصوت

Figure 3- Particle size distribution before and after ultrasonic treatment.

تماس کنژوگه پس از اعمال تیمار فراصوت ( $63/70^\circ$ ) مشاهده شد. این نتیجه به اثر کاویتاسیون نسبت داده می‌شود که موجب باز شدن بخش پروتئینی و قرار گرفتن گروه‌های آب‌گریز داخلی در سطح ذرات می‌گردد (۱۹). در پژوهش‌های مشابه، زاویه تماس  $53/8^\circ$  درجه کمپلکس کربوکسی متیل سلولز/ کیتوزان (۲۹) و  $53^\circ$  درجه کنژوگه ایزوله پروتئینی آب‌پنیر/ اپی گالوکاتچین گالات (۳۰)، برای تولید پیکرینگ امولسیون پایدار مناسب گزارش شد. در مطالعه حاضر نیز، زاویه تماس  $63-67^\circ$  درجه نشان می‌دهد که سطح نانوذرات حاصل نه چندان آب‌گریز و نه چندان آب‌دوست بوده که این ویژگی برای پایدارسازی پیکرینگ امولسیون مطلوب است (۲۸). با توجه به اندازه نانوذرات و قابلیت مرطوب‌شوندگی آن‌ها، می‌توان پیش‌بینی کرد نانوذرات حاصل قادر به ایجاد پیکرینگ امولسیون روغن در آب پایدار می‌باشند.

قابلیت مرطوب‌شوندگی نانوذرات توسط هر دو فاز تشکیل‌دهنده امولسیون نیز ویژگی کلیدی پایدارکننده‌های پیکرینگ بوده که بر قابلیت جذب آن‌ها در سطح مشترک روغن/آب و پایداری آن تاثیر می‌گذارد (۲۷). این ویژگی با اندازه‌گیری زاویه تماس ( $\theta_{ow}$ ) تعیین می‌شود. به لحاظ تئوری، جذب ذرات در سطح مشترک برگشت‌ناپذیر خواهد بود، اگر زاویه تماس مناسب (نزدیک به  $90^\circ$  درجه) باشد (۱۹). اگر چه در عمل، تمایل بیشتر نانوذرات به فاز پیوسته موجب بهبود ممانعت فضایی و پایدارسازی حاصل از آن می‌گردد (۲۸). با توجه به شکل ۴، زاویه تماس کازئینات سدیم  $114/30^\circ$  تعیین شد که پس از کنژوگه شدن با پلی‌ساکارید سویا و پوشاننده شده کامل سطح ذرات پروتئینی با آن، زاویه تماس به میزان قابل توجهی کاهش ( $44/90^\circ$ ) یافته و از حالت نسبتاً آب‌گریز به آب‌دوست تبدیل شد. در حالی که، افزایش قابل توجهی در زاویه



شکل ۴- اندازه‌گیری زاویه تماس NaCS (بالا)، کنژوگه NaCS/SSPS (چپ) و نانوذرات کنژوگه (راست)  
 Figure 4- Contact angle measurements of NaCS (up), NaCS/SSPS conjugate (left), and conjugate nanoparticles (right).

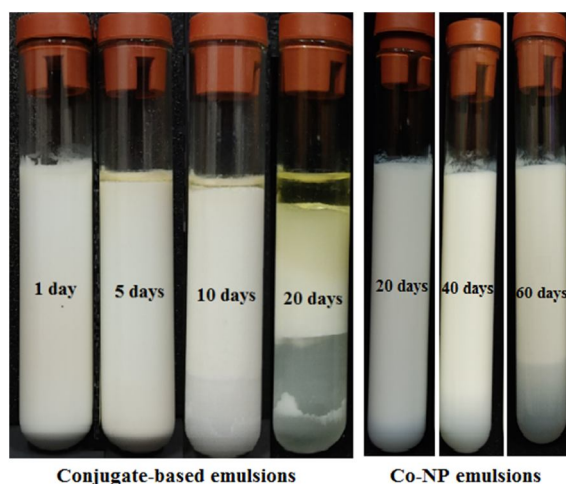
بررسی ویژگی‌های پیکرینگ امولسیون: قبل از ارزیابی قابلیت پایدارکنندگی نانوذرات کنژوگه، توانایی کنژوگه NaCS/SSPS در غلظت ۲ درصد با بیوپلیمرهای NaCS و SSPS در پایدارسازی امولسیون‌های روغن در آب (۲۰/۸۰) مقایسه شد. امولسیون‌های پایدار شده با SSPS به‌تنهایی، حداقل پایداری امولسیون را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان داده و اندکی بعد از تولید امولسیون به‌طور کامل دو فاز شدند. این درحالی است که امولسیون‌های پایدار شده توسط NaCS پایداری مناسبی را در برابر خامه‌ای شدن طی دوره نگهداری ۱۵ روز در دمای محیط ( $0.3 \pm 0.2$  درصد) و هم‌چنین ۶۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ( $>1$  درصد) نشان دادند. قابل ذکر است که با کنژوگه شدن NaCS با SSPS توانایی ایجاد امولسیون پایدار افزایش یافته و هیچگونه ناپایداری فیزیکی خامه‌ای شدن در امولسیون‌های پایدار شده با کنژوگه NaCS/SSPS، طی دوره نگهداری در هر دو دما مشاهده نشد. دلیل پایداری بالاتر امولسیون‌های حاوی کنژوگه

NaCS/SSPS در مقایسه با NaCS غیرکنژوگه را می‌توان به حلالیت بالاتر و در نتیجه امکان دسترسی بالاتر آن به سطوح مشترک آب و روغن، افزایش ضخامت آن (به دلیل حضور پلی‌ساکارید) و افزایش جزئی ویسکوزیته فاز پیوسته نسبت داد (۱، ۱۴ و ۳۱). هم‌چنین نتایج مشابهی در این رابطه برای کنژوگه سایر پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها گزارش شده است (۷-۹، ۱۴ و ۱۷). هم‌چنین، قطر متوسط (Z-average) ذرات فاز غیر پیوسته در امولسیون پایدار شده با NaCS و SSPS، در روز اول پس از تولید، به ترتیب حدود  $280/30$  و  $459/715$  نانومتر تعیین شد. این ویژگی برای امولسیون‌های پایدار شده با کنژوگه NaCS/SSPS،  $360/713$  نانومتر اندازه‌گیری شد. تشکیل قطرات بزرگ‌تر در امولسیون‌های پایدار شده توسط ترکیبات کنژوگه را می‌توان به تغییر ساختار مولکولی پروتئین‌ها در نتیجه وقوع واکنش میلارد نسبت داد. در امولسیون‌های پایدار شده با ترکیبات کنژوگه، مولکول‌های SSPS با قرار گرفتن در

در حالی که استفاده از نانوذرات کنژوگه به عنوان پایدارکننده موجب کاهش قابل توجه خامه‌ای شدن و مانع جدا شدن فاز روغنی حتی پس از ۲۰ روز نگهداری و در نتیجه افزایش قابل توجه پایداری پیکرینگ امولسیون‌های تغلیظ شده، گردید. درصد خامه‌ای شدن در این امولسیون‌ها در روز چهارم نگهداری در دمای محیط ۲۱ درصد و در روز ششم ۲۵ درصد ثبت شد. همچنین، قابل ذکر است که رهاپس روغن در هیچ یک از نمونه‌های پیکرینگ امولسیون پایدار شده با نانوذرات کنژوگه پس از ۶۰ روز نگهداری در دمای محیط مشاهده نشد. اندازه قطرات فاز پراکنده در روز اول آماده‌سازی،  $4/49 \text{ nm}$  برای امولسیون‌های پایدار شده با ترکیبات کنژوگه و  $32/45 \text{ nm} \pm 1355/23$  برای امولسیون‌های پایدار شده با نانوذرات کنژوگه ثبت شد. تفاوت قابلیت پایدارسازی کنژوگه و نانوذرات کنژوگه NaCS/SSPS (در غلظت مشابه) نشان‌دهنده تاثیر قابل توجه کاهش اندازه ذرات کنژوگه و بهبود قابلیت مرطوب‌شوندگی آن‌ها، ناشی از اعمال تیمار فراصوت، بوده که موجب بهبود عملکرد پایدارکنندگی کنژوگه NaCS/SSPS گردیده است.

قسمت خارجی سطح ذره موجب افزایش قطر هیدرودینامیک ذرات می‌گردند (۳۲).

در ادامه، توانایی کنژوگه NaCS/SSPS و نانوذرات حاصل از آن در تولید پیکرینگ امولسیون روغن در آب با حجم بالای فاز درونی (۵۰ درصد) ارزیابی شد. امولسیون‌ها در ابتدا دارای ظاهری هموژن بوده؛ اما به تدریج خامه‌ای شدن در نمونه‌های امولسیون مشاهده شد. بیشترین سرعت ناپایداری خامه‌ای شدن و حتی جدا شدن فاز روغن مربوط به امولسیون‌های پایدار شده با کنژوگه NaCS/SSPS پس از حدود ۷ روز نگهداری در دمای محیط بود. با توجه به نتایج بررسی اولیه ذکر شده در ابتدای این بخش، افزایش جزء حجمی فاز روغنی از ۲۰ به ۵۰ درصد موجب افزایش قابل توجه شاخص خامه‌ای شدن امولسیون‌های پایدار شده با کنژوگه (از ۰ به ۳۳ درصد پس از ۱۰ روز نگهداری در دمای محیط) و کاهش پایداری آن‌ها گردید. همچنین با افزایش مدت‌زمان نگهداری، درصد خامه‌ای شدن به ۴۶ درصد در روز بیستم افزایش یافت و پس از آن نیز سه فاز کاملاً جدا از هم (فاز روغن، فاز خامه‌ای و فاز سرمی) مشاهده شد.



شکل ۵- تصاویر ماکروسکوپی امولسیون‌های پایدار شده با کنژوگه NaCS/SSPS و نانوذرات کنژوگه

Figure 5- Macroscopic images of emulsions stabilized by NaCS/SSPS conjugate and conjugate nanoparticles (Co-NP).

### نتیجه گیری کلی

در این مطالعه، کنژوگه NaCS/SSPS از طریق واکنش میلارد و به روش خشک تولید شد. پایداری حرارتی NaCS و فعالیت امولسیون کنندگی بیوپلیمرها پس از فرایند کنژوگه شدن به طور قابل توجهی بهبود یافت. هم چنین اعمال تیمار فراصوت و تشکیل نانوذرات کنژوگه با کاهش اندازه ذرات و بهبود قابلیت مرطوب شونده آن‌ها، موجب افزایش مقاومت در برابر ناپایداری فیزیکی خامه‌ای شدن و در نتیجه افزایش قابل توجه ویژگی‌های پایدارکنندگی

ترکیبات کنژوگه در امولسیون‌های با درصدهای بالاتر فاز روغن گردید. بهبود ویژگی‌های عملکردی بدست آمده در این مطالعه موجب توسعه کاربرد بیوپلیمرهای NaCS و SSPS به عنوان پایدارکننده‌های طبیعی در محصولات غذایی و موارد مشابه می‌گردد.

### سپاسگزاری

مطالعه حاضر با شماره ۹۷۰۲۵۹۱۶ از سوی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور مورد حمایت قرار گرفته است.

### References

1. Tavasoli, S., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., and Tabarestani, H.S. 2022. Improving the emulsifying properties of sodium caseinate through conjugation with soybean soluble polysaccharides. *Food Chemistry*. 377: 131987.
2. Zhu, X., Chen, Y., Hu, Y., Han, Y., Xu, J., Zhao, Y., Chen, X., and Li, B. 2021. Tuning the molecular interactions between gliadin and tannic acid to prepare Pickering stabilizers with improved emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*. 111: 106179.
3. Shao, P., Zhang, H., Niu, B., and Jin, W. 2018. Physical stabilities of taro starch nanoparticles stabilized Pickering emulsions and the potential application of encapsulated tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*. 118: 2032-2039.
4. Dickinson, E. 2017. Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*. 68: 219-231.
5. Chang, C., Wang, T., Hu, Q., and Luo, Y. 2017. Caseinate-zein-polysaccharide complex nanoparticles as potential oral delivery vehicles for curcumin: Effect of polysaccharide type and chemical cross-linking. *Food Hydrocolloids*. 72: 254-262.
6. De Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. D. R., de Oliveira, E. B., Zuñiga, A. D. G., and 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.
7. Aminlari, M., Ramezani, R., and Jadidi, F. 2005. Effect of Maillard-based conjugation with dextran on the functional properties of lysozyme and casein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85(15): 2617-2624.
8. Dunlap, C. A., and Côté, G. L. 2005.  $\beta$ -Lactoglobulin-dextran conjugates: effect of polysaccharide size on emulsion stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(2): 419-423.
9. Lee, Y. Y., Tang, T. K., Phuah, E. T., Alitheen, N. B. M., Tan, C. P., and Lai, O. M. 2017. New functionalities of Maillard reaction products as emulsifiers and encapsulating agents, and the processing parameters: a brief review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(5): 1379-1385.
10. Zhang, Y., Zhou, F., Zhao, M., Lin, L., Ning, Z., and Sun, B. 2018. Soy peptide nanoparticles by ultrasound-induced self-assembly of large peptide aggregates and their role on emulsion stability. *Food Hydrocolloids*. 74: 62-71.
11. Setiowati, A.D., Saeedi, S., Wijaya, W., and Van der Meeren, P. 2017. Improved heat stability of whey protein isolate stabilized emulsions via dry heat treatment of WPI and low methoxyl pectin: Effect of pectin concentration, pH, and ionic strength. *Food Hydrocolloids*. 63: 716-726.

12. Liu, Z., Lin, D., Shen, R., and Yang, X. 2021. Bacterial cellulose nanofibers improved the emulsifying capacity of soy protein isolate as a stabilizer for Pickering high internal-phase emulsions. *Food Hydrocolloids*. 112: 106279.
13. Cardoso, J.C., Albuquerque Jr, R.L.C., Padilha, F.F., Bittencourt, F.O., de Freitas, O., Nunes, P.S., Pereira, N.L., Fonseca, M.J.V., and Araújo, A.A.S. 2011. Effect of the Maillard reaction on properties of casein and casein films. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 104(1): 249-254.
14. Hamdani, A.M., Wani, I.A., Bhat, N.A., and Siddiqi, R.A. 2018. Effect of guar gum conjugation on functional, antioxidant and antimicrobial activity of egg white lysozyme. *Food Chemistry*. 240: 1201-1209.
15. Wang, W.Q., Bao, Y.H., and Chen, Y. 2013. Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. *Food Chemistry*. 139(1-4): 355-361.
16. Hernández-García, S., Salazar-Montoya, J.A., and Totosaus, A. 2016. Emulsifying properties of food proteins conjugated with glucose or lactose by two methods (spray-drying or freeze-drying). *International Journal of Food Properties*. 19(3): 526-536.
17. Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., and Desobry, S. 2017. Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions. *Carbohydrate Polymers*. 155: 201-207.
18. Bi, B., Yang, H., Fang, Y., Nishinari, K., and Phillips, G. O. 2017. Characterization and emulsifying properties of  $\beta$ -lactoglobulin-gum Acacia Seyal conjugates prepared via the Maillard reaction. *Food Chemistry*. 214: 614-621.
19. Qin, X.S., Luo, Z.G., and Peng, X.C. 2018. Fabrication and characterization of quinoa protein nanoparticle-stabilized food-grade Pickering emulsions with ultrasound treatment: interfacial adsorption/arrangement properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66(17): 4449-4457.
20. Gao, Z. M., Yang, X.Q., Wu, N.N., Wang, L.J., Wang, J. M., Guo, J., and Yin, S.W. 2014. Protein-based Pickering emulsion and oil gel prepared by complexes of zein colloidal particles and stearate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(12): 2672-2678.
21. Gülseren, İ., Güzey, D., Bruce, B. D., and Weiss, J. 2007. Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*. 14(2): 173-183.
22. Han, Y.K. 2018. Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by lysozyme/xanthan gum complex particles. (Doctoral dissertation)
23. Li, Z., Zheng, S., Zhao, C., Liu, M., Zhang, Z., Xu, W., Denglin, L., and Shah, B. R. 2020. Stability, microstructural and rheological properties of Pickering emulsion stabilized by xanthan gum/lysozyme nanoparticles coupled with xanthan gum. *International Journal of Biological Macromolecules*. 165: 2387-2394.
24. Xu, W., Jin, W., Huang, K., Huang, L. U., Lou, Y., Li, J., Xinfang, L., and Li, B. 2018. Interfacial and emulsion stabilized behavior of lysozyme/xanthan gum nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 117: 280-286.
25. Huang, X. N., Zhou, F. Z., Yang, T., Yin, S. W., Tang, C. H., and Yang, X. Q. 2019. Fabrication and characterization of Pickering High Internal Phase Emulsions (HIPes) stabilized by chitosan-caseinophosphopeptides nanocomplexes as oral delivery vehicles. *Food Hydrocolloids*. 93: 34-45.
26. Zou, Y., Yang, X., and Scholten, E. 2019. Tuning particle properties to control rheological behavior of high internal phase emulsion gels stabilized by zein/tannic acid complex particles. *Food Hydrocolloids*. 89: 163-170.
27. Zhou, Y., Sun, S., Bei, W., Zahi, M. R., Yuan, Q., and Liang, H. 2018. Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*. 112: 7-13.

28. Chen, X., McClements, D. J., Wang, J., Zou, L., Deng, S., Liu, W., Chi, Y., Yuqing, Z., Ce, Ch., and Liu, C. 2018. Coencapsulation of (-)-Epigallocatechin-3-gallate and quercetin in particle-stabilized W/O/W emulsion gels: Controlled release and bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66(14): 3691-3699.
29. Zhu, X., Chen, J., Hu, Y., Zhang, N., Fu, Y., and Chen, X. 2021. Tuning complexation of carboxymethyl cellulose/cationic chitosan to stabilize Pickering emulsion for curcumin encapsulation. *Food Hydrocolloids*. 110: 106135.
30. Qin, X. S., Gao, Q. Y., and Luo, Z. G. 2021. Enhancing the storage and gastrointestinal passage viability of probiotic powder (*Lactobacillus Plantarum*) through encapsulation with Pickering high internal phase emulsions stabilized with WPI-EGCG covalent conjugate nanoparticles. *Food Hydrocolloids*. 116: 106658.
31. An, Y., Cui, B., Wang, Y., Jin, W., Geng, X., Yan, X., and Li, B. 2014. Functional properties of ovalbumin glycosylated with carboxymethyl cellulose of different substitution degree. *Food Hydrocolloids*. 40: 1-8.
32. Consoli, L., Dias, R.A., Rabelo, R.S., Furtado, G.F., Sussulini, A., Cunha, R.L., and Hubinger, M.D. 2018. Sodium caseinate-corn starch hydrolysates conjugates obtained through the Maillard reaction as stabilizing agents in resveratrol-loaded emulsions. *Food Hydrocolloids*. 84: 458-472.

