

## 호화 옥테닐 호박산 전분의 유화 특성

김산성\* · 김선형 · 이의석 · 이기택 · 홍순택†

충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과  
(2019년 2월 18일 접수: 2019년 3월 28일 수정: 2019년 3월 29일 채택)

### Emulsifying Properties of Gelatinized Octenyl Succinic Anhydride Modified starch from Barley

San-Seong Kim\* · Sun-Hyung Kim · Eui-Seok Lee · Ki-Teak Lee · Soon-Taek Hong†

*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences,  
Chungnam National University*

*(Received February 18, 2019; Revised March 28, 2019; Accepted March 29, 2019)*

**요약** : 본 연구는 OSA 전분을 열처리 한 후, 이를 이용하여 제조한 OSA 전분 에멀션의 이화학적 특성 및 계면 흡착 구조 등을 조사하였다. 에멀션 중 지방구의 크기는 OSA 전분 농도의 증가와 더불어 지속적으로 감소하여 0.2 wt% 농도에서 최소값( $0.31 \pm 0.01 \mu\text{m}$ )을 나타내었고, 그 이상의 농도에서는 변화가 없었다. 에멀션의 크리밍 안정도는 OSA 전분 농도가 높을수록 증가하였으며, 0.75 wt% 이상의 첨가 농도에서 크리밍 발생에 대하여 매우 안정하였다. 에멀션 중 OSA 전분의 계면 흡착량은 0.2 wt% 첨가 농도 이상에서 농도의 증가와 더불어 증가하였으며( $0.2 \text{ wt\%} : 1.03 \text{ mg/m}^2 \rightarrow 1.25 \text{ wt\%} : 5.08 \text{ mg/m}^2$ ), 이는 계면에서 OSA 전분이 다층 구조를 이루는 것에 기인된 것으로 추정하였다. OSA 전분 에멀션의 pH를 조절하였을 때 산성 지역에서 지방구의 응집에 의해 크기가 증가하였으며, 이는 상대적으로 낮은 제타 전위에 기인된 것으로 사료되었다. 터비스칸에 의한 분산 안정도 또한 pH에 영향을 받아 산성 지역에서 낮았으며, pH 7 이상에서는 높은 분산 안정도 특성을 보였다. 공초점현미경을 이용하여 열처리된 OSA 전분이 흡착된 지방구 표면을 관찰한 결과, OSA 전분은 입자 형태가 아닌 두꺼운 계면막을 형성하는 것으로 나타났다. 따라서 에멀션 형성 전에 OSA 전분을 열처리할 경우, 전분의 호화과정에서 용출된 아밀로오스와 아밀로펙틴이 지방구 표면에 막의 형태로 흡착되므로, OSA 전분 에멀션에 있어서 중요한 유화 안정화 기작은 ‘입체장애 안정화(steric stabilization)’인 것으로 사료되었다.

**주제어** : 옥테닐 호박산 전분, 유화특성, 분산안정성, CLSM, 입체장애 안정화

**Abstract** : The present study was carried out to investigate the emulsifying properties of heat-treated octenyl succinic anhydride(OSA) starch and the interfacial structure at oil droplet surface in emulsions stabilized by heat-treated OSA starch. First, the aqueous suspensions of OSA starch were

---

†Corresponding author  
(E-mail: hongst@cnu.ac.kr)

heated at 80°C for 30 min. Oil-in-water emulsions were then prepared with the heat-treated OSA starch suspension as sole emulsifier and their physicochemical properties such as fat globule size, surface load, zeta-potential, dispersion stability, confocal laser scanning microscopic image (CLSM) were determined. It was found that fat globule size decreased as the concentration of OSA starch in emulsions increased, showing a lower limit value ( $d_{32}$ : 0.31  $\mu\text{m}$ ) at  $\geq 0.2$  wt%. Surface load increased steadily with increasing OSA starch concentration in emulsions, possibly forming multiple layers. In addition, fat globule sizes were also influenced by pH: they were increased in acidic conditions and these results were interpreted in view of the change in zeta potentials. The dispersion stability by Turbiscan showed that it was more unstable in emulsions at acidic condition. Heat-treated OSA starch found to adsorb at the oil droplet surface as some forms of membrane (not starch granules), which might be indicative of stabilizing mechanism of OSA starch emulsions to be steric forces.

*Keywords* : octenyl succinic anhydride starch, emulsifying properties, dispersion stability, CLSM

## 1. 서론

전분은 식품을 구성하는 주요 요소로서 여러 종류의 식품에 가공 원료로 이용되고 있다. 특히, 전분을 물리·화학적으로 변성시킨 변성전분은 전분에 새로운 기능(예 : 용해성, 조직감 개선, 유효기능 등)을 부가시킬 수 있어 그 활용도가 매우 높다[1]. 그 중 옥테닐 호박산 전분(이하 OSA 전분)은 알칼리조건에서 전분과 옥테닐 호박산(octenyl succinic anhydride, OSA)을 화학적으로 에스테르화 결합시킨 화합물로서 캡슐화 및 필름 소재, 코팅제, 젤화제 등으로 사용하고 있다[2-5]. 또한, OSA 전분은 한 분자 내에 친수성(전분)과 친유성(OSA)기를 동시에 가지고 있어 에멀션을 안정화 시키는데 사용되어 그 용도가 매우 다양하다[6-12].

에멀션(emulsion)은 서로 섞이지 않는 두 개 이상의 액체(예, 물과 기름)로 이루어진 시스템으로, 유화제 및 안정제 등의 도움을 받아 한 액체가 작은 지방구의 형태로 연속상을 이루는 다른 액체에 균일하게 분산되어 존재한다. 이 때 사용된 유화제는 물/기름 사이의 계면장력을 낮추어 유화 안정성을 부여시키며, 안정제는 주로 연속상의 점도를 증가시켜 에멀션의 크리밍 안정도(creaming stability) 및 조직감(texture) 등을 개선시킨다. 에멀션 형성에 사용되는 유화제로는 레시틴 등의 저분자량 유화제 및 단백질 및 복합다당류 등이 있으며, 이 중 생중합체인 단백질과

복합다당류(예: 메틸셀룰로오스, 아라비아 검 등)는 물/기름 계면에 흡착하여 계면장력을 낮출 뿐 아니라 연속상의 점도를 증가시켜 유화제 및 안정제로서의 기능을 동시에 수행 할 수 있다.

전술한 바와 같이 OSA 전분은 유화제 및 안정제로서 식품 에멀션 제조에 사용이 가능하다. Mao 등[13]은 OSA 전분 첨가에 의해 유청단백질 에멀션의 안정도가 증진되었으며, 이는 OSA 전분 첨가에 의한 에멀션의 점도 상승에 기인된 것으로 보고하였다. 일반적으로 유청단백질 에멀션의 안정도(지방구 크기)는 외부 환경(pH, 염농도, 온도 등)에 의해서 민감하게 변화하는데, Tesch 등[14] 및 Charoen 등[15]에 의하면 OSA 전분 에멀션의 경우 계면에 흡착된 OSA 전분에 의해 발생하는 입체장애 힘(steric force)이 유화 지방구 간에 작용하여 외부 환경을 변화하였을 때에도 지방구 크기가 크게 변화하지 않았음을 보고하였다. 유화 안정 기작 중 하나인 입체장애 힘은 지방구가 서로 근접하게 될 때 계면에 흡착된 유화제의 물리화학적 특성(예: 계면막의 두께, 유연성질, 분자간의 친화성 등)에 의해 발생하게 되며, 일반적으로 계면막이 두꺼울수록 효과적으로 작용하는 것으로 알려져 있다[13]. 실제로 에멀션 중 지방구 계면에 흡착된 OSA 전분의 양(이하 계면 흡착량)을 조사한 Nilsson & Bergenstahl[16] 연구에 의하면, 낮은 첨가 농도( $\leq 1.68$  mg/mL)에서도 OSA 전분의 계면 흡착량은 높게 나타났으며, Varona 등[17]은 OSA 전분 농도의 증가와 더불어 계면 흡착량은 증가하

여 두꺼운 계면막을 형성한다고 보고하였다.

한편, OSA 전분 입자에 의하여 형성 및 안정화되는 피커링 에멀션(pickering emulsion)의 특성은 Yusoff & Murray[18]에 의해 처음으로 제시되었다. 이 에멀션은 지방구 크기가 비교적 커서(1-20  $\mu\text{m}$ ) 크리밍(creaming)이 빨리 일어나는 단점을 가지고 있지만, 지방구의 합일(coalescence)에 대하여는 매우 안정하여 시간의 경과에 따른 지방구 크기의 변화는 거의 없었다고 보고하였다. 또한, Timgren 등[19]의 보고에 따르면 입자 형태로 흡착된 OSA 전분 에멀션을 가열하였을 경우 *in vitro*에서 지방 소화가 지연되는 것으로 나타났는데, 이는 계면에 흡착된 OSA 전분이 열처리에 의해 호화되어 계면막의 밀도가 증가함에 따라 지방 분해 효소인 리파아제가 지방구 안쪽으로 잘 침투하지 못해 발생한 것으로 추정하였다. 실제로 Sjöö 등[20]의 연구를 통하여 OSA 전분 에멀션을 열처리하였을 때 처리 온도 증가와 더불어 지방구 계면막의 두께가 증가하였다는 것이 현미경 관찰을 통해 확인되었다.

OSA 전분을 이용하여 수행된 지금까지의 연구는 대부분 상온에서 제조한 에멀션을 대상으로 유화 안정도 및 에멀션 레올로지 특성 변화를 중심으로 진행되었다. 한편, 전분은 충분한 물과 함께 일정 온도 이상으로 가열하면 입자가 팽윤(swelling) 되고 전분 입자의 붕괴가 발생된다. 즉, 전분은 호화 되어 교질용액 상태로 존재하게 된다. 본 연구진의 문헌 조사 결과, OSA 전분을 먼저 호화시키고, 이 호화된 OSA 전분 용액을 이용한 에멀션 제조 및 이의 특성 연구는 거의 수행 되지 않았다. 실제 식품 산업체에서 에멀션의 제조는 비교적 고온(예, 70°C)에서 수행하므로 이러한 처리 과정은 실제 산업체에서 OSA 전분을 유화제로 사용할 때의 공정과 매우 유사하다. 따라서 본 연구는 열처리 시킨 OSA 전분 용액을 이용한 에멀션 제조 및 이의 특성 변화(지방구 크기, 계면 흡착량, pH의 영향, 분산 안정도, 현미경 관찰)를 조사하고자 수행하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험재료

본 실험에 사용된 전분은 국립식량과학원(농촌진흥청 벼맥류과)에서 얻은 흰찰 쌀보리(2012년)

로부터 추출하여 사용하였다[21]. 옥테닐호박산과 Bis-tris, Nile red, Concanavalin A conjugated with fluorescein isothiocyanate(Con A-FITC)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Sodium azide는 Junsei 제품(Tokyo, Japan)을 사용하였다. 에멀션의 유상인 카놀라유는 (주)오뚜기(Pyeongtaek, Korea) 제품을 사용하였다. 증류수는 초순수 장치(MILLI-Q, MILLI-PORE, USA)에서 얻은 3차 증류수를 사용하였으며, 그 밖에 실험에 사용한 모든 시약은 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 2.2. 실험방법

#### 2.2.1. OSA 전분 제조

OSA 전분 제조는 Zhang 등[22]의 방법을 사용하였다. 먼저, 전분과 반응시킬 OSA 시약은 전분 무게 대비 3 wt%를 정량하여 무수에탄올 5배에 용해시켜 제조하였다. 보리로부터 추출한 전분은 건량 기준 30 wt%(w/w)가 되도록 증류수에 분산시킨 후 준비된 OSA 시약을 2시간 동안 적하하면서 첨가하였다. 이 때, 반응온도는 35°C, pH는 8.0으로 고정하였다. 반응시간이 완료된 후, pH를 6.5로 조정하여 반응을 종결시켰다. 반응이 끝난 혼합액은 증류수 및 무수에탄올을 사용하여 수세 및 원심분리 하여 침전물을 회수하였다. 회수된 침전물은 동결 건조기(Hypercool, Gvrozen Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 건조 시켰으며 최종적으로 본 실험의 시료로 사용하였다.

#### 2.2.2. 치환도 측정

OSA 전분의 치환도(degree of substitution, DS)는 Kweon 등[23]의 방법을 변형하여 사용하였다. 먼저 OSA로 치환된 전분 2 g을 정량한 후, 2.5 M HCl-isopropyl alcohol 15 mL을 첨가하여 30분간 교반하였다. 이 현탁액에 90% (v/v) isopropyl alcohol 100 mL을 첨가하여 10분간 추가로 교반하였다. 교반을 완료시킨 현탁액은 종이필터(Diameter : 90 mm)를 사용하여 전분을 회수하였으며 동시에 전분에 잔류하는 염소이온을 제거시키기 위해 90%(v/v) isopropyl alcohol을 흘려보냈다. 잔류하는 염소이온의 존재 유무는 AgNO<sub>3</sub> 지시약을 넣어 확인하였다. 회수한 전분은 비커에 옮겨 300 mL 증류수를 가하여 90°C 항온수조에서 20분 동안 호화 시킨 후, 이

를 페놀프탈레인 지시약을 이용하여 0.1 N NaOH로 적정하였다. Blank(OSA 치환 시키지 않은 전분) 시험을 동시에 진행하였으며, 최종적으로 OSA 전분의 치환도는 아래의 식 (1)에 의해 산출하였다.

$$DS = \frac{0.162 \times (V_{sample} - V_{blank}) \times M / W}{1 - 0.21 \times (V_{sample} - V_{blank}) \times M / W} \dots\dots\dots (1)$$

$V_{sample}$ : OSA 전분 시료에 대한 NaOH의 부피 (mL)  
 $V_{blank}$ : 전분 시료에 대한 NaOH의 부피(mL)  
 $M$ : NaOH의 몰농도  
 $W$ : 전분의 건량 무게(g)

**2.2.3. OSA 전분 에멀션 제조**

최종 에멀션의 무게 대비 0.5-1.25 wt% OSA 전분을 200 ppm의 sodium azide를 함유하는 20 mM bis-tris buffer (pH 7.0) 용액에 분산시켜 80°C 항온수조에서 30분 동안 호화시켰다. 항온수조의 온도는 본 실험에 사용된 전분의 이화학적 특성을 연구한 Jeong 등[24]의 연구를 참조하여 선정하였다. 각 농도별로 호화시킨 OSA 전분 현탁액은 상온에서 방냉 시킨 후 카놀라유를 혼합하였으며, 카놀라유는 전체 에멀션 무게 대비 10 wt%가 되도록 첨가하였다. 이 혼합액은 Silverson mixer(L4RT, Silverson Machine Chesham, UK)를 통해 8,000 rpm에서 15분 동안 예비유화 시킨 후, 고압균질기(M-110Y, Microfluidics, MA, USA)를 이용하여 3,000 psi에서 2 번, 500 psi에서 1 번 통과시켜 OSA 전분 에멀션을 제조를 완성하였다.

에멀션의 지방구 크기 및 전분 입자 크기는 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instruments, Worcestershire, UK)를 통해 측정하였으며, 결과는 사우터 평균 입자 직경(Sauter mean diameter,  $d_{32}$ )으로 표시하였다[25].

$$d_{32} = \frac{\sum d_i^3 n_i}{\sum d_i^2 n_i} \dots\dots (2)$$

( $n_i$ : numbers of particle on size  $d_i$ )

**2.2.4. 계면 흡착량(surface load)**

OSA 전분 에멀션의 계면 흡착량 측정은

Nilsson & Bergenståhl[26]의 방법을 이용하였다. 먼저, 제조된 에멀션을 13,000 × g에서 1시간 동안 원심분리 하여 수상층(serum layer)과 크림층(cream layer)을 분리하였다. 분리시킨 수상층의 일정량을 취한 후, total starch assay kit(K-TSTA, Megaenzyme International Ltd., Bray, Ireland)을 이용하여 수상층에 존재하는 OSA 전분(계면에 비흡착된 OSA 전분)의 양을 측정하였다. 최종적으로 아래 식(3)에 의하여 지방구 계면의 단위 면적당 흡착된 OSA 전분의 양( $\Gamma$ , mg/m<sup>2</sup>)을 계산하였다.

$$\Gamma = \frac{(C_i - C_{con})d_{32}}{6\phi} \dots\dots\dots (3)$$

$C_i$ : 에멀션 제조시 첨가한 OSA 전분의 양(mg)  
 $C_{con}$ : 수상층에 존재하는 OSA 전분의 양(mg)  
 $d_{32}$ : 지방구의 직경  
 $\phi$ : 에멀션 중 기름의 부피비율(0.1)

**2.2.5. 크림링 안정도**

OSA 전분 농도에 따른 에멀션의 크림링 안정도 측정은 크림링 관(Diameter: 8 mm, Length: 250 mm)을 이용하여 조사하였다. 각 농도별로 제조된 에멀션을 크림링 관에 20 mL씩 취하여 넣고 상온에 저장하면서 저장일로부터 6, 10, 15일이 지난후 에멀션의 유장(serum)층의 높이를 각각 측정하였다. 크림링 안정도는 다음 식(4)에 의해 산출된 값으로 표현하였다.

$$\text{Creaming index(wt\%)} = \frac{H_S}{H_E} \times 100 \dots\dots (4)$$

$H_S$ : 유장층 높이  
 $H_E$ : 에멀션의 전체 높이

**2.2.6. pH에 따른 에멀션 특성 변화**

에멀션 중 OSA 전분 농도가 0.5 wt%인 에멀션(pH 7.0)을 대상으로 0.1 N HCl 혹은 0.1 N NaOH를 이용하여 pH를 3, 4.5, 6, 9로 조정하였다. 이 후, 각 에멀션의 지방구 크기 측정, Turbiscan(Turbiscan LAB, Formulation, Toulouse, France)에 의한 분산 안정도 평가를 수행하였고, 각 pH별로 제타전위(zeta-potential)를 측정하여 에멀션의 전기적 특성 변화를 조사하였다.

pH 변화에 따른 에멀션의 지방구 크기는 pH

변화가 완료된 시점으로부터 상온에서 1시간 방치 후, 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instruments, Worcestershire, UK)를 이용하여 측정하였다.

Turbiscan에 의한 분산 안정도의 측정은 Turbiscan 내부에 장착된 레이저 빔(파장 : 880 nm)이 에멀션에 조사될 때 지방구와 충돌하는 과정에 되돌아오는 빛의 강도(후방산란 강도, backscattering intensity)를 시간에 따라 측정함으로써 에멀션의 분산상태 변화를 분석하는 다중산란(multiple light scattering)에 근거하여 측정한다[27]. 실제 측정은 에멀션 50 mL를 시료병에 취하여 측정기기에 넣고 상온에서 48시간 동안 진행하였으며, 결과는 측정기기의 소프트웨어(Turbisoft, Fomulation)를 통하여 얻은  $\Delta$ back scattering intensity( $\Delta$ BS) 그래프 및 지방구의 평균이동 속도로 표현하였다[27-28].

지방구 표면전하 정도를 표현하는 제타전위는 Zetasizer Nano ZS(Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK)를 이용하여 측정하였다. 각 시료를 동일한 pH의 bis-tris buffer용액에 1000배 희석 시킨 후 측정 용기(folded capillary cell, Malvern Instruments, Malvern, UK)에 충전 하여 측정하였다[29].

### 2.2.7. 광학 현미경 관찰

가열 및 고압처리에 따른 전분 입자 형태의 변화를 조사하기 위하여 광학 현미경(CX21, Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하였다. OSA 전분 현탁액(1 wt%, 20 mM bis-tris buffer, pH 7.0)은 80°C로 유지된 항온수조에서 30분 동안 열처리하였으며, 이후 여기에 요오드 시약을 첨가하고 고압균질기를 이용하여 고압 처리(3,000 psi)한 후 입자 형태를 관찰하였다.

### 2.2.8. 공초점 현미경(confocal laser scanning microscopy, CLSM)

OSA 전분 에멀션 중에 있는 지방구의 계면 흡착 구조는 Fowler & Greenspan [30]과 Chen 등[31]의 방법에 따른 공초점 현미경(LSM5 Live, Carl Zeiss, Jena, Germany)을 이용하여 관찰하였다. 관찰용 에멀션 시료는 OSA 전분 현탁액(0.3 wt%)을 항온수조에서 열처리(80°C, 30분)한 후 여기에 카놀라유를 첨가(전체 에멀션 무게 대비 10 wt%)하고, 이 혼합물을 Silverson mixer로

유화(5000 rpm, 5분)시켜 제조하였다. 형광염료로는 지방구 염색을 위한 Nile red와 전분 염색을 위한 Con A-FITC를 사용하였다[32]. Nile red 염색 시약은 1,2-propanediol에 용해(0.001 wt%)한 후 암소에 보관하면서 사용하였으며, Con A-FITC 염색 시약은 phosphate buffered saline(PBS) 용액에 Con A-FITC를 용해(0.1 wt%)시켜 냉동 보관하면서 사용하였다. 본 실험에 사용된 공초점 현미경의 광원으로 488 nm와 532 nm의 다이오드 레이저(diode laser)를 사용하였으며, 관찰하고자 하는 에멀션 시료는 20 mM bis-tris buffer(pH 7.0)용액에 10배 희석 시킨 후 1 mL 취하여 염색시약(nile red: 4  $\mu$ L, Con A-FITC: 200  $\mu$ L)과 반응시켰다. 현미경을 통해 얻은 이미지는 Zeiss LSM Image Browser 소프트웨어를 사용하여 얻었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 전분 치환도

본 실험에서 제조한 OSA 전분 치환도는 0.0157로 분석되었다. 이는 Nilsson & Bergenståhl[8]의 연구에서 제시한 여러 종류의 OSA 전분의 치환도 범위(0.0076~0.0224)에서 중간 정도의 값을 지닌 것으로 사료되며, 따라서 본 실험에서 OSA 전분의 제조는 양호하게 진행된 것으로 판단하였다.

### 3.2. 지방구 크기

OSA 전분 농도(0.1-1.25 wt%) 변화에 따른 에멀션의 지방구 크기는 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에 의하면 에멀션 중 지방구 크기는 OSA 전분의 첨가 농도의 증가(0.1→0.2 wt%)와 더불어 감소(1.58→0.31  $\mu$ m)하였으며, 0.2 wt% 이상의 첨가 농도에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이는 OSA 전분으로 안정화된 피커링 에멀션의 지방구 크기(1-20  $\mu$ m, Yusoff & Murray[18]; 10-100  $\mu$ m, Timgren 등[33]; 50-270  $\mu$ m, Stolt 등[34]보다 상당히 작은 값으로, 본 실험에서 에멀션 제조 전에 진행한 OSA 전분 현탁액에 대한 열처리 등과 관련이 있는 것으로 추정하였다. Fig. 2는 1 wt% OSA 전분 현탁액(20 mM bis-tris buffer, pH 7.0)에 대해 열처리 및 고압 처리(80°C 30 min, 3,000 psi)에 따른 입자 형태의 변화를 광학 현미경을 이용하여 얻은 결과를 보여주고 있다. 또한, Table 1은

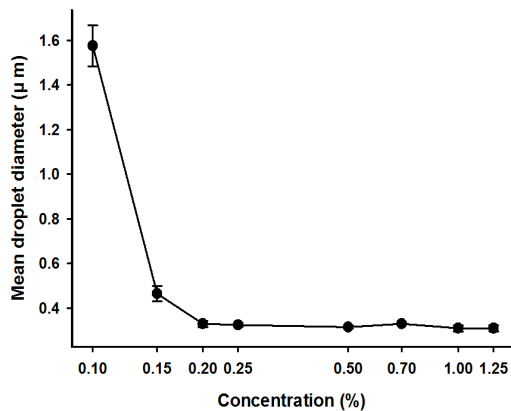


Fig. 1. Fat globule sizes ( $d_{32}$ ) in OSA-starch emulsions (10 wt% oil, pH 7) versus concentrations (0.1–1.25 wt% OSA-starch).

전술한 처리에 따른 전분 입자 크기 변화를 나타내고 있다. Table 1에 따르면 80°C로 열처리 한 후 고압균질기를 통과한 OSA 전분의 입자 크기가 크게 감소(고압균질 전:  $62.41 \pm 0.01 \mu\text{m}$ , 후:  $0.071 \pm 0.008 \mu\text{m}$ )한 것으로 나타났다. 입자 크기의 변화는 Fig. 2의 광학현미경을 통해 관찰한 결과와 일치하였으나 형태에는 차이가 있었다. 열처리 전의 OSA 전분(Fig. 2a)은 전형적인 전분 입자의 형태를 이루고 있었으며, 반면에 열처리 한 OSA 전분(Fig. 2b)은 호화되어 요오드에 의해 갈색으로 착색된 무정형의 입자로 관찰되었다. Fig. 2b의 결과는 보리전분의 호화특성을 연구한 Stolt 등[34]이 관찰한 형태와 유사하게 나타났으나, 전분 입자 내에 청색을 띄고 있는 부분은 관찰할 수 없었다. 이는 전분의 아밀로오스 함량 차이에 기인한 것으로 사료되며, 본 실험에서 사용한 찰보리 전분 중 아밀로오스 함량은 2.43%[24]로 Stolt 등[34]이 사용한 보리 전분의

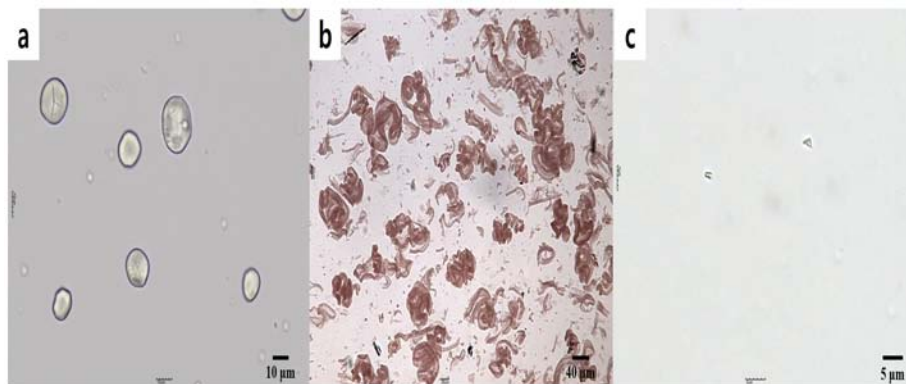


Fig. 2. Optical microscopic images of OSA-starch granules (a: raw OSA starch; b: Heat-treated at 80°C for 30 min, before homogenization; c: Heat-treated at 80°C for 30 min, after homogenization).

Table 1. The particle size of 1% OSA-starch suspensions as affected by heat and high pressure treatments

Heat-treatment	Homogenization	Size( $d_{32}$ ), $\mu\text{m}$
Before	–	$25.56 \pm 0.01^b$
After	Before	$62.41 \pm 0.01^a$
	After	$0.071 \pm 0.08^c$

<sup>a</sup>Values (mean  $\pm$  SD;  $n=3$ ) with different superscripts in each column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

아밀로오스 함량 28.6%보다 훨씬 적은 양을 함유하고 있어 염색 색깔에 차이가 나타난 것으로 사료되었다. 반면, 열처리 후 고압을 처리한 전분 현탁액(Fig. 2c)은 처리 전의 현탁액과는 다르게 염색된 부분을 발견 할 수 없었는데, 이는 고압 처리에 의해 OSA 전분이 미세하게 분쇄되어 광학현미경으로는 관찰이 거의 불가능하여 초래된 결과로 사료되었다. 이러한 결과는 고압 처리에 따른 OSA 전분 입자의 크기 변화를 연구한 Nilsson & Bergenståhl[26]의 연구 결과와 유사한 것으로 Nilsson & Bergenståhl[26]은 고압 처리로 인해 OSA 전분 입자의 크기가 현저하게 감소하였음을 보고하여 본 실험의 결과를 뒷받침하고 있다.

**3.3. 계면 흡착량**

Fig. 3는 OSA 전분 농도에 따른 에멀션의 계면 흡착량의 변화를 나타낸 결과이다. OSA 전분 농도가 낮을 경우, 즉 0.1과 0.15 wt%에서는 흡착량이 각각 2.28, 1.03 mg/m<sup>2</sup>로 나타나 농도의 증가와 더불어 계면 흡착량은 다소 감소했다. 반면, OSA 전분 농도가 0.2 wt% 이상인 구간에서는 농도가 증가할수록 계면 흡착량은 증가하는 것으로 나타났(0.2 wt%: 1.03 mg/m<sup>2</sup>→1.25 wt%: 5.08 mg/m<sup>2</sup>). OSA 전분 농도가 낮은 구간(0.1과 0.15 wt%)에서 나타난 계면 흡착량의 감소는 Nilsson & Bergenståhl[26]의 연구와 유사한 경향으로,  $(\frac{6}{d_{32}})$ 으로 표현되는[35] 비표면적과 관련이 있는 것으로 지방구 크기가 클수록 비표면적은 감소하게 되며, 이로 인해 계면을 둘러싸기 위해 필요한 OSA 전분의 양은 지방구 크기가 증가할수록 작게 요구된다. 반면, 에멀션 중 OSA 전분 농도가 0.2 wt% 이상인 구간에서는 Varona 등[17]의 연구 결과와 정성적으로 유사한데, 이는 농도가 증가해도 지방구 크기가 일정하면 지방구 계면을 둘러싸기 위해 필요한 OSA 전분의 양은 농도와 무관해지며, 이에 따라 지방구 크기가 일정한 OSA 전분 농도(0.2 wt%)로부터 OSA 전분의 양을 증가 시킬수록 잉여의 OSA 전분의 양은 증가하게 된다. 이로 인해 잉여의 OSA 전분은 계면에 흡착된 OSA 전분과 소수성 결합을 하여 계면 흡착량을 증가 시키는 요인으로 작용하게 된다.

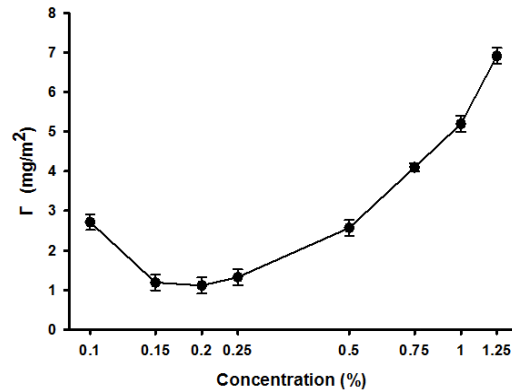


Fig. 3. Changes in surface load ( $\Gamma$ ) of OSA-starch emulsions versus concentrations (0.1–1.25 wt% OSA-starch).

**3.4. 크리밍 안정도**

OSA 전분 농도(0.1–1.25 wt%)에 따른 에멀션의 크리밍 안정성(creaming stability)의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 각 에멀션을 15일 동안 상온 저장하면서 크리밍에 대한 안정성을 관찰한 결과, 0.1, 0.15 wt% 첨가 농도의 경우 크리밍 지표가 저장 10일차에 각각 66.1%, 64.4%로 나타나 크리밍이 급격하게 발생하였음을 알 수 있었다. 반면, 농도 0.2–0.5 wt% 구간에서는 크리밍 발생에 대하여 매우 안정하여 유장(serum) 분리 현상이 상대적으로 느리게 나타났다. 저장 15일 후에 0.2, 0.25, 0.5 wt% OSA 전분 첨가 농도에서 크리밍 지표는 각각 10.1%, 10.0%, 1.7%로 나타났으며, 첨가 농도 0.75 wt% 이상 구간에서는 크리밍이 발생하지 않았다(data not shown). 이러한 결과는 일반적으로 에멀션의 크리밍 속도를 추정하는 다음의 Stoke 법칙에 의하여 해석 해 볼 수 있다.

$$V = \frac{2a^2(\rho_0 - \rho)g}{9\eta} \dots\dots\dots (5)$$

- V: 크리밍 속도
- a: 지방구 반지름
- $\rho_0$ : 분산질 밀도
- $\rho$ : 분산매 밀도
- $\eta$ : 분산매 점도

식(5)에 의해서 크리밍 속도는 지방구 반지름의 제곱에 비례하므로 OSA 전분 0.1, 0.15 wt%

를 함유하는 에멀션에서 크리밍이 상대적으로 빠르게 관찰된 것은 에멀션 중 지방구 크기가 커서 초래된 것으로 보인다. 반면, OSA 전분 농도가 0.2–0.5 wt%인 구간에서는 지방구 크기는 일정하지만, 첨가한 OSA 전분에 의해 발현된 에멀션의 점도에 차이가 있어 크리밍 안정도가 다르게 나타난 것으로 사료된다. OSA 전분 농도에 따른 유화안정도 및 유변학적 변화를 추적한 Dokić 등[36]의 연구에 의하면 OSA 전분 농도의 증가와 더불어 벌크상에서 OSA 전분 분자간의 상호결합(inter-molecular bonding)이 증가하여 연속상의 겔보기 점도가 증가하였다[36]. 이러한 연속상의 점도는 식 (5)에 나타난 바와 같이 Stoke 법칙에 잘 반영되어 있으며, 따라서 지방구 크기가 일정한 0.2 wt% 이상의 OSA 전분 농도 구간에서는 연속상의 겔보기 점도가 지방구 입자의 크리밍을 억제하여 유장 분리 현상을 지연시킨 것으로 보인다.

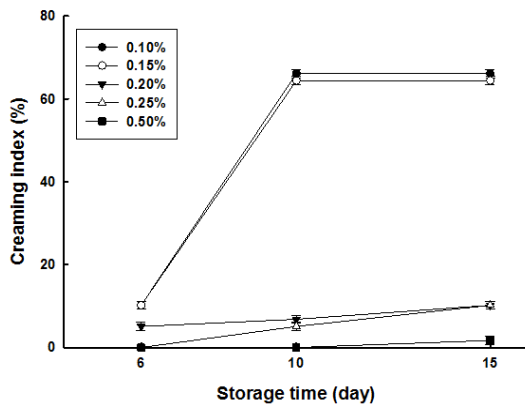


Fig. 4. Changes in creaming index of emulsions stabilized with various concentration of OSA-starch (0.1–0.5 wt%) versus storage time.

한편, Dokić 등[36]의 연구에 따르면 에멀션 중 OSA 전분 농도(8–16 wt%)의 증가와 더불어 크리밍 안정도가 증가(90→48%)하여 본 실험의 결과와 정성적으로 일치하였으나, 본 실험조건에서 제조한 OSA 전분 에멀션의 크리밍 안정도가 더 우수한 것으로 나타났다. 이는 실험조건에 의한 차이로 인한 것으로 보이며, 특히 OSA 전분의 열처리 조건에 있어서 Dokić 등[36]은 50°C인 반면에, 본 실험은 80°C에서 진행하여 열처리 과

정 중 생성되는 교질상태의 전분입자(호화 전분)로 인해 크리밍 안정도에 차이를 나타낸 것으로 사료되었다.

### 3.5. pH에 따른 OSA 전분의 유화특성 변화

#### 3.5.1. 지방구 크기 및 제타 전위

Fig. 5a는 0.5 wt% OSA 전분 에멀션의 pH를 3, 4.5, 6, 9로 각각 조절한 후, 24시간 동안 상온에서 방치하고 측정된 지방구 크기를 나타낸 결과이다. 지방구 크기는 pH 3에서 가장 큰  $1.57 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 로 측정되었으며 pH 6 이상에서는  $0.31 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 로 큰 변화가 없었다. Fig. 5b는 pH 변화에 따른 OSA 전분 에멀션 중 지방구의 제타 전위를 측정된 결과이다. 제타전위는 모든 pH 구간에서 음(-)으로 나타났으며, pH의 증가와 더불어 제타전위의 절대값은 증가하여 pH 7에서는 약 -12.5 mV 정도로 나타났다. 이러한 변화 경향은 카제인 나트륨 에멀션의 경우와 크게 다른 것으로 특히, 중성(pH 7)에서 카제인 나트륨 에멀션의 제타 전위는 -42 mV로 분석되어 본 OSA 전분 에멀션과는 큰 차이를 보였다[37]. Miao 등[29]의 연구에 따르면 OSA 전분(치환도 : 0.0192)을 물( $\approx$ pH 7)에 분산시켜 측정된 제타 전위는  $-14.3 \pm 0.3 \text{ mV}$ 로, 본 실험의 OSA 전분 에멀션(치환도 : 0.0157, pH 7)의 제타전위 값과 정성적으로 유사하며, 따라서 본 실험에서 관찰된 지방구의 제타전위는 계면에 흡착된 OSA 전분으로부터 유도 되었다는 것을 시사하고 있다. 또한, Fig. 5b에 따르면 제타 전위는 OSA 전분의 산해리상수( $\text{pK}_a=4.8$ , Magnusson & Nilsson[38]) 부근에서 급격하게 변하는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 OSA 전분 에멀션은 pH가 낮을 경우 상대적으로 지방구 간의 정전기적 반발력(electrical repulsive force)이 감소되어 Fig. 5a에 나타난 바와 같이 지방구의 응집(flocculation)에 의해 지방구 크기가 증가하며, 이러한 응집은 광학현미경을 통해 잘 확인할 수 있었다(Fig. 6).

한편, Tesch et al. (2002)의 연구에 따르면 OSA 전분 에멀션 중 지방구 크기는 pH 및 염농도에 관계없이 거의 변화가 없었음을 보고하였으며, 그는 이러한 결과를 첨가한 OSA 전분에 의해 계면에서 나타나는 입체장애 힘에 기인한 것으로 해석하였다. 그러나 Tesch 등[14]의 경우 에멀션 중 OSA 전분 함량은 5 wt%로 본 연구(0.5 wt% OSA 전분)에 비해 상당히 많은 양 사



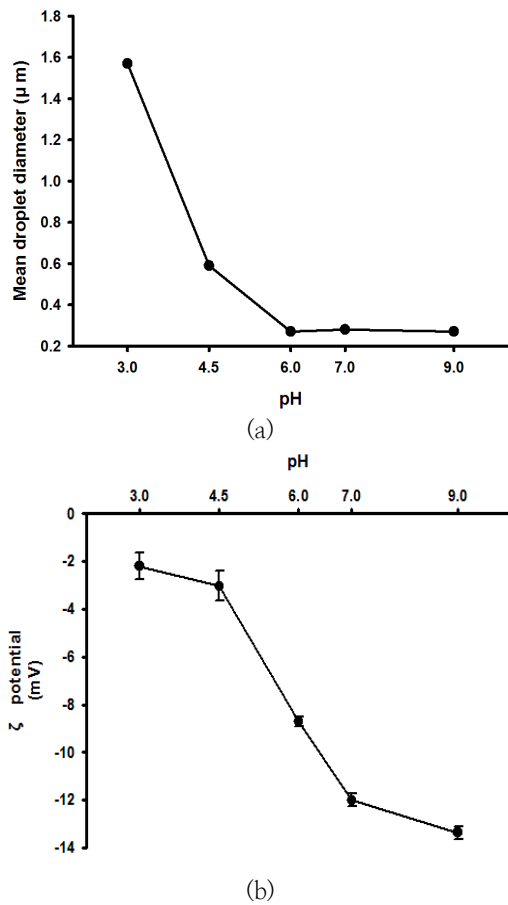


Fig. 5. Changes in fat globule sizes ( $d_{32}$ ) (a) and zeta-potential values (b) in 0.5% OSA-starch emulsions versus pH.

용하였으며, 따라서 본 연구에서는 상대적으로 지방구 간에 입체장애 힘이 적게 작용하여 pH에 따른 지방구 크기의 변화를 초래한 것으로 사료되었다.

### 3.5.2. 터비스캔에 의한 분산 안정도

터비스캔은 시간 경과에 따른 분산매(지방구)의 농도 차이를 민감하게 측정할 수 있는 분산 안정도 측정 기기로, 에멀션 시료에 레이저 빔을 조사하여 시료의 높이에 따른 빛의 투과 강도와 후방산란 강도를 측정하여 저장에 따른 분산매의 농도 변화를 짧은 시간 내에 평가 할 수 있다 [27].

Fig. 7은 0.5 wt% OSA 전분 에멀션의 분산 안정도 특성을 48시간 동안 측정하여 얻은 결과로, X축은 시료 용기의 높이(0-45 mm), Y축은 후방산란 강도(-80~+25%)를 나타내고 있다. 또한 그래프의 각 선(색깔)은 에멀션 저장 초기의 후방산란 강도를 0%로 설정하고, 시간이 경과함에 따라 변하는 후방산란 강도( $I$  backscattering intensity)를 표현하고 있다. Fig. 7에 나타낸 바와 같이 pH 3 및 6(Fig. 7a, b) 에멀션 시료는 시간의 경과와 더불어 초기 후방산란 강도와 차이가 발생하여 그래프가 아래쪽으로 형성되고 있음이 관찰되었다. 이는 분산 안정도 조사 기간 중 크리밍이 발생되어 시료 용기의 낮은 부분(~25 mm)에서 에멀션 중 지방구 농도가 감소하여 있음을 나타내고 있다. 반면에 pH 7 및 9(Fig. 7c, d) 에멀션 시료는 시간의 경과와 더불어 시료 용기의 바닥 부분(~2 mm)에서만 초기 후방산란 강도와 차이가 다소 나타날 뿐 전반적으로 에멀션은 안정하였음을 보여주고 있다.

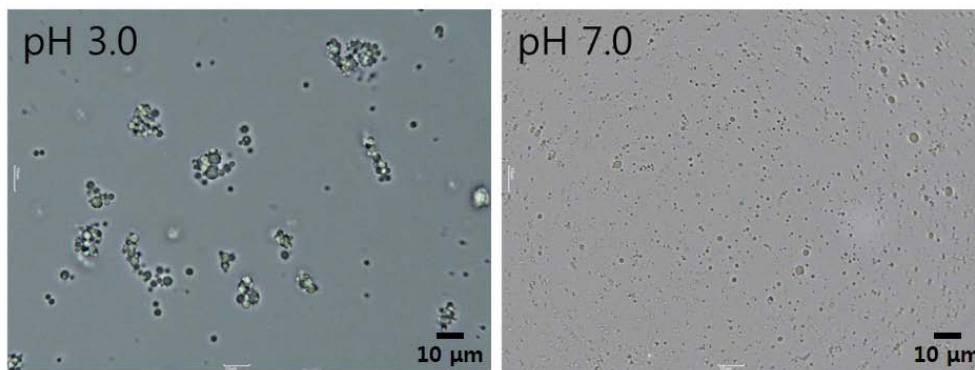


Fig. 6. Optical microscopic images of 0.5 wt% OSA-starch emulsions at pH 3 and 7.

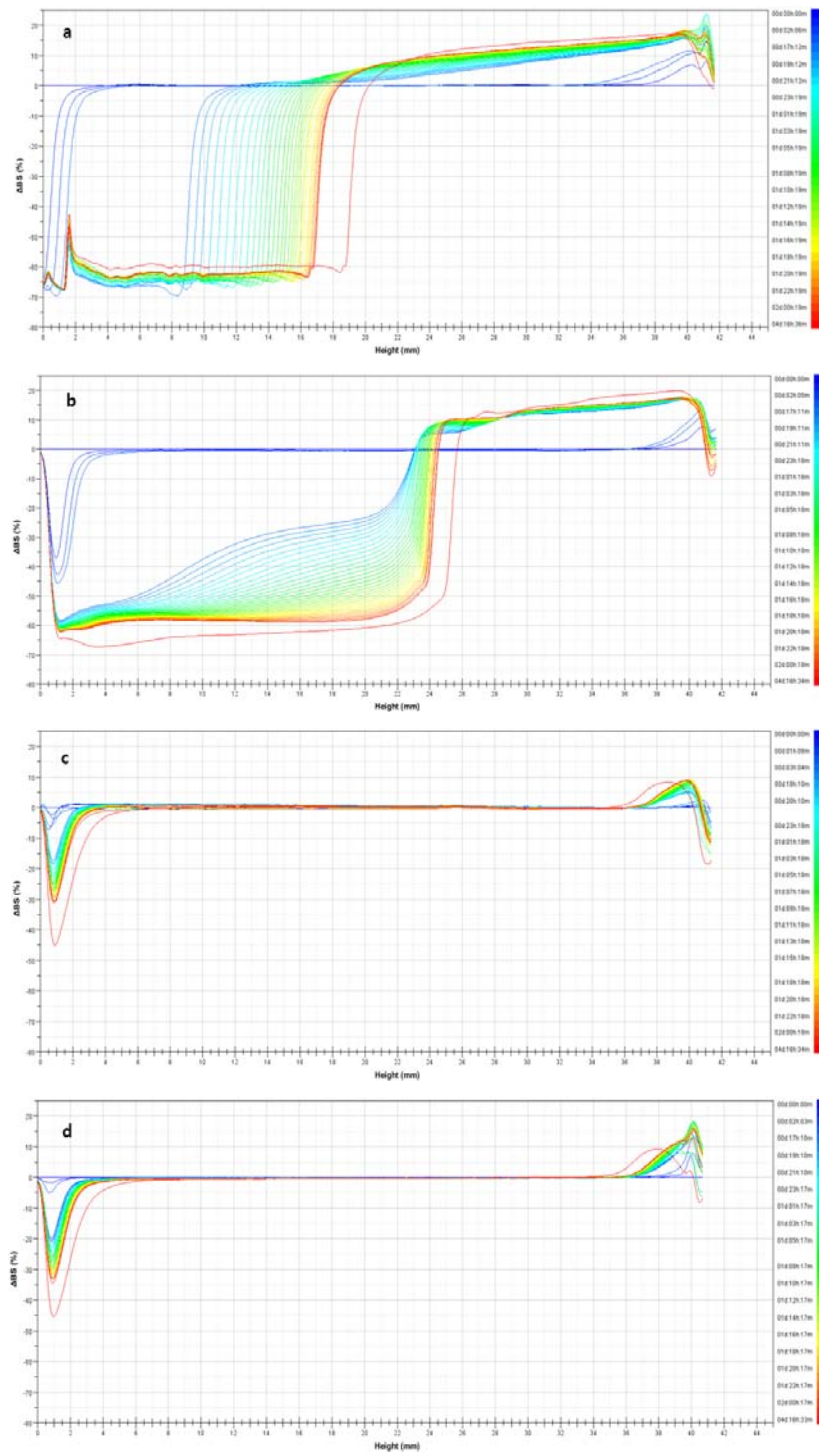


Fig. 7. Changes in dispersion stability of OSA-starch emulsions (0.5 % OSA-starch, 10% oil) with pH (a: pH 3.0, b: pH 6.0, c: pH 7.0, d: pH 9.0).

이러한 결과는 터비스캔 프로그램(Turbisoft)을 통해 얻은 에멀션 중 지방구의 평균이동속도 (Mean migration velocity) 변화와 일치하였으며 (Fig. 8), pH가 높을수록 평균 이동 속도는 감소하는 것으로 나타났다(pH 3 :  $5.01 \mu\text{m}/\text{min}$  → pH 9 :  $0.19 \mu\text{m}/\text{min}$ ). 이러한 결과는 전술한 Stoke 법칙에 의해 해석 해 볼 수 있으며, 높은 pH에서 에멀션 중 지방구 크기가 감소하여(pH 3:  $1.57 \mu\text{m}$  → pH 9:  $0.31 \mu\text{m}$ )하여 지방구의 평균이동속도가 감소하는 것으로 사료되었다.

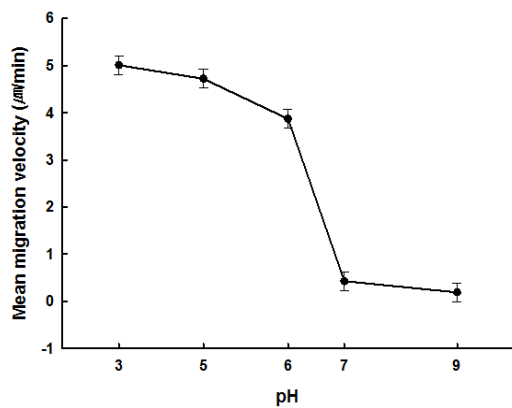


Fig. 8. Mean migration velocity of fat globules in emulsions (0.5 wt% OSA-starch, 10 wt% oil) with pH.

### 3.5. OSA 전분의 계면 흡착 구조

열처리한 OSA 전분을 이용하여 제조한 에멀션 중의 지방구 표면을 공초점 현미경으로 관찰하였으며, 계면막의 형태를 확인하기 위하여 유화 공정을 다소 변형 하여 지방구의 크기를 크게 조정하였다. Fig. 9a에 나타난 바와 같이 지방구는 Nile red에 의해 염색되어 붉은색으로 나타났으며, OSA 전분은 Con A-FITC를 사용하여 녹색으로 염색되었고(Fig. 9b), 이 2개의 이미지를 겹친 결과는 Fig. 9c에 나타내었다. Fig. 9d는 겹친 이미지를 확대하여 얻은 결과이다. Fig. 9d에 의하면 지방구의 크기는  $30.19 \mu\text{m}$ , 녹색의 계면막의 두께는  $0.89 \mu\text{m}$  정도 인 것으로 관찰되었다.

이는 Yusoff & Murray[18]가 관찰한 OSA 전분 에멀션의 계면 흡착 구조와는 다소 다른 것으로, 이들은 OSA 전분을 상온에서 물에 현탁시킨 후 기름을 넣어 에멀션을 형성하였으며, 따라서 OSA 전분은 입자 형태로 지방구 계면에 흡착

되었음을 보고하였다. 본 실험에서 OSA 전분은 Yusoff & Murray[18]의 경우와는 다르게 에멀션 형성 전에 먼저 열처리를 하였으며, 열처리 중에 OSA 전분으로부터 용출된 거대분자(아밀로오스, 아밀로펙틴)들이 호화된 상태로 지방구 표면에 일종의 막의 형태로 흡착하는 것으로 판단되었다. 이로 인하여 OSA 전분 에멀션은 계면에 흡착된 OSA 전분에 의하여 발현되는 입체장애 안정화(steric stabilization) 기작에 의해 안정화되는 것으로 사료되었다.

## 4. 결론

본 연구는 OSA 전분을 열처리 한 후, 이를 이용하여 제조한 OSA 전분 에멀션의 이화학적 특성 및 계면 흡착 구조 등을 조사하였다. 에멀션 중 지방구의 크기는 OSA 전분 농도의 증가와 더불어 지속적으로 감소하여 0.2 wt% 농도에서 최소값 ( $0.31 \pm 0.01 \mu\text{m}$ )을 나타내었고, 그 이상의 농도에서는 변화가 없었다. 에멀션의 크리밍 안정도는 OSA 전분 농도가 높을수록 증가하였으며, 0.75 wt% 이상의 첨가 농도에서 크리밍 발생에 대하여 매우 안정하였다. 에멀션 중 OSA 전분의 계면 흡착량은 0.2 wt% 첨가 농도 이상에서 농도의 증가와 더불어 증가하였으며, 이는 계면에서 OSA 전분이 다층 구조를 이루는 것에 기인된 것으로 추정하였다. OSA 전분 에멀션의 pH를 조절하였을 때 산성 지역에서 지방구의 응집에 의해 크기가 증가하였으며, 이는 상대적으로 낮은 제타 전위에 기인된 것으로 사료되었다. 터비스캔에 의한 분산 안정도 또한 pH에 영향을 받아 산성 지역에서 낮았으며, pH 7 이상에서는 높은 분산 안정도 특성을 보였다. 공초점현미경을 이용하여 열처리된 OSA 전분이 흡착된 지방구 표면을 관찰한 결과, OSA 전분은 입자 형태가 아닌 두꺼운 계면막을 형성하는 것으로 나타났다. 따라서 OSA 전분 에멀션에 있어서 중요한 유화 안정화 기작은 ‘입체장애 안정화(steric stabilization)’인 것으로 사료되었다. 결론적으로, OSA 전분은 생중합체 유래 물질로서 열처리한 OSA 전분을 유화제로 사용할 경우, 에멀션 형성 및 안정화 목적으로 산업체에서 충분히 사용될 수 있을 것으로 사료되었다.

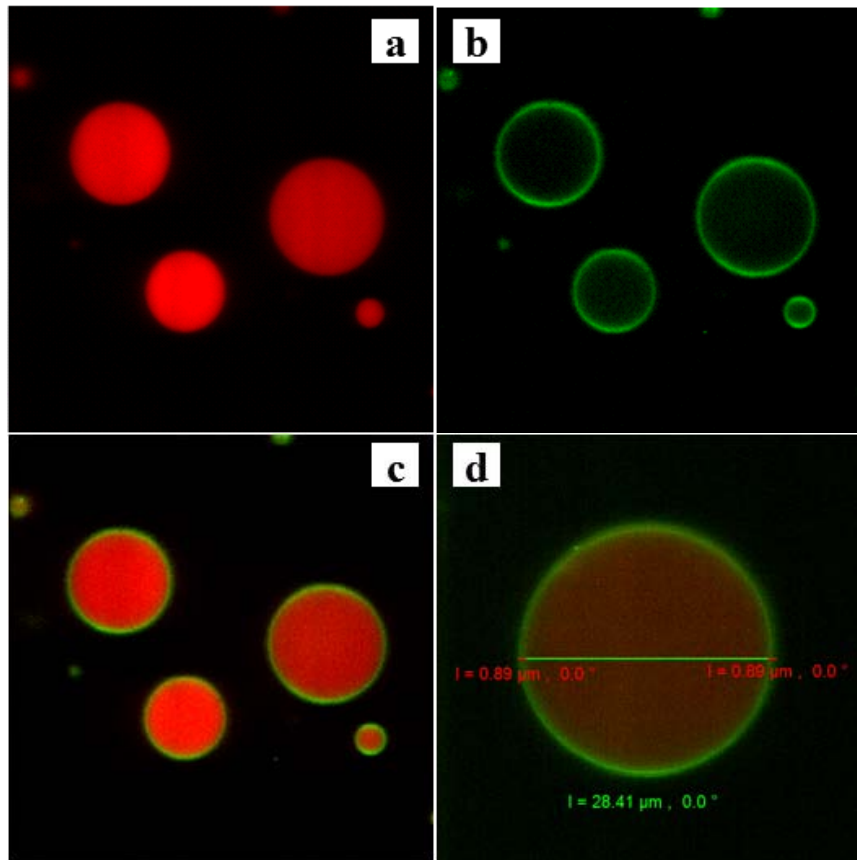


Fig. 9. CLSM images of fat globules in emulsions (0.3 wt% OSA-starch, 10 wt% oil, pH 7) stabilized by heat-treated OSA-starch (a: Nile red, b: Con A-FITC, c: a and b were superimposed, d: magnified image).

### 감사의 글

본 논문은 충남대학교 자체연구(CNU 학술연구)의 지원을 받아 연구되었음 (과제번호 2017-1692).

### References

1. Y. J. Jeon, T. Vasanthan, F. Temelli, B. K. Song, "The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavor encapsulation", *Food Res. Int.*, Vol.36, No.4 pp. 349-355, (2003).
2. F. E. Ortega-Ojeda, H. Larsson, A. C. Eliasson, "Gel formation in mixtures of hydrophobically modified potato and high amylopectin potato starch", *Carbohydr Polym.*, Vol.59, No.3, pp. 313-327, (2005).
3. L. Ren, M. Jiang, J. Tong, X. Bai, "Influence of surface esterification with alkenyl succinic anhydrides on mechanical properties of corn starch films", *Carbohydr Polym.*, Vol.82, No.3 pp. 1010-1013, (2010).
4. S. Sarka, R. S. Singhal, "Esterification of guar gum hydrolysate and gum Arabic with n-octenyl succinic anhydride and

- oleic acid and its evaluation as wall material in microencapsulation”, *Carbohydr Polym.*, Vol.86, No.4 pp. 1723–1731, (2011).
5. C. Li, X. Fu, F. Luo, Q. Huang, “Effects of maltose on stability and rheological properties of orange oil-in-water emulsion formed by OSA modified starch”, *Food Hydrocolloid.*, Vol.32, No.1 pp. 79–86, (2013).
  6. J. D. Ntawukulilyayo, S. C. De Smedt, J. Demeester, J. P. Remon, “Stabilisation of suspensions using sucrose esters and low substituted *n*-octenylsuccinate starch-xanthan gum associations”, *Int. J. Pharm.*, Vol.128, No.1–2 pp. 73–79, (1996).
  7. L. Baydoun, P. Furrer, R. Gurny, C. C. Müller-Goymann, “New surface-active polymers for ophthalmic formulations: evaluation of ocular tolerance”, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Vol.58, No.1 pp. 169–175, (2004).
  8. L. Nilsson, B. Bergenståhl, “Adsorption of hydrophobically modified anionic starch at oppositely charged oil/water interfaces”, *J. Colloid Interf. Sci.*, Vol.308, No.2 pp. 508–513, (2007).
  9. F. Mattea, Á. Marín, Á. Matías-Gago, M. J. Cocero, “Supercritical antisolvent precipitation from an emulsion:  $\beta$ -Carotene nanoparticle formation”, *J. Supercrit. Fluids.*, Vol.51, No.2 pp. 238–247, (2009).
  10. S. J. Reiner, G. A. Reineccius, T. L. Peppard, “A comparison of the stability of beverage cloud emulsions formulated with different gum acacia- and starch-based emulsifiers”, *J. Food Sci.*, Vol.75, No.5 pp. E236–E246, (2010).
  11. S. Rodríguez-Rojo, S. Varona, M. Núñez, M. J. Cocero, “Characterization of rosemary essential oil for biodegradable emulsions”, *Ind. Crops Prod.*, Vol.37, No.1 pp. 137–140, (2012).
  12. S. Abbas, M. Bashari, W. Akhtar, W. W. Li, X. Zhang, “Process optimization of ultrasound-assisted curcumin nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch”, *Ultrason Sonochem.*, Vol.21, No.4 pp. 1265–1274, (2014).
  13. L. Mao, D. Xu, J. Yang, F. Yuan, Y. Gao, J. Zhao, “Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization” *Food Technol. Biotechnol.*, Vol.47, No.3 pp. 336–342. (2009).
  14. S. Tesch, C. Gerhards, H. Schubert, “Stabilization of emulsions by OSA starches”, *J. Food Eng.*, Vol.54, No.2 pp. 167–174, (2002).
  15. R. Charoen, A. Jangchud, K. Jangchud, T. Harnsilawat, O. Naivikul, D. J. McClements, “Influence of biopolymer emulsifier type on formation and stability of rice bran oil-in-water emulsions: whey protein, gum arabic, and modified starch”, *J. Food Sci.*, Vol.76, No.1 pp. E165–E172, (2011).
  16. L. Nilsson, B. Bergenståhl, “Emulsification and adsorption properties of hydrophobically modified potato and barley starch”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.55, No.4 pp. 1469–1474, (2007b).
  17. S. Varona, A. Martín, M. J. Cocero, “Formulation of a natural biocide based on lavandin essential oil by emulsification using modified starches”, *Chem. Eng. Process.*, Vol.48, No.6 pp. 1121–1128, (2009).
  18. A. Yusoff, B. S. Murray, “Modified starch granules as particle-stabilizers of oil-in-water emulsions”, *Food Hydrocolloid.*, Vol.25, No.1 pp. 42–55, (2011).
  19. A. Timgren, M. Rayner, M. Sjö, P. Dejmek, “Starch particles for food based pickering emulsions”, *Proc. Food Sci.*, Vol.1, pp. 95–103, (2011).
  20. M. Sjö, S. C. Emek, T. Hall, M. Rayner, M. Wahlgren. “Barrier properties of heat treated starch pickering emulsions”, *J Colloid Interface Sci.*, Vol.450, No.15 pp.

- 182-188. (2015).
21. Y. S. Jeong, J. W. Kim, E. S. Lee, Y. Y. Han, N. Y. Gil, M. J. Lee, G. H. Lee, S. T. Hong, "Studies on physico-chemical characterization of starch extracted from domestic barley cultivars", *Food Eng. Prog.*, Vol.17, No.3 pp. 203-211, (2013).
  22. B. Zhang, Q. Huang, F. X. Luo, X. Fu, H. Jiang, J. L. Jane, "Effects of octenyl succinylation on the structure and properties of high-amylose maize starch", *Carbohydr Polym.*, Vol.84, No.4 pp. 1276-1281, (2011).
  23. D. K. Kweon, J. K. Choi, E. K. Kim, "Adsorption of divalent metal ions by succinylated and oxidized corn starches", *Carbohydr. Polym.*, Vol.46, No.2 pp. 171-177, (2001).
  24. Y. S. Jeong, J. S. Bae, J. W. Kim, E. S. Lee, K. T. Lee, M. J. Lee, S. T. Hong, "Optimization of  $\beta$ -Glucanase-assisted extraction of starch from domestic waxy barley and its physicochemical properties", *J. East Asian Diet. Life.*, Vol.23, No.6 pp. 789-798, (2013).
  25. Z. Luo, B. S. Murray, A. L. Ross, M. J. W. Povey, M. R. A. Morgan, A. Day, "Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers", *Colloid. Surfaces B.*, Vol.92, No.1 pp. 84-90, (2011).
  26. L. Nilsson, B. Bergenståhl, "Adsorption of hydrophobically modified starch at oil/water interfaces during emulsification", *Langmuir.*, Vol.22, No.21 pp. 8770-8776, (2006).
  27. D. Yang, X. Y. Wang, L. J. Gan, H. Zhang, J. A. Shin, K. T. Lee, S. T. Hong, "Effects of flavonoid glycosides obtained from a Ginkgo biloba extract fraction on the physical and oxidative stabilities of oil-in-water emulsions prepared from a stripped structured lipid with a low omega-6 to omega-3 ratio", *Food Chemistry*, Vol.174, No.1 pp. 124-131, (2015).
  28. J. Liu, X. Huang, L. Lu, M. Li, J. Xu, H. Deng, "Turbiscan Lab® Expert analysis of the biological demulsification of a water-in-oil emulsion by two biodemulsifiers", *J. Hazard. Mater.*, Vol.190, No.1-3 pp. 214-221, (2011).
  29. M. Miao, R. Li, B. Jiang, S. W. Cui, T. Zhang, Z. Jin, "Structure and physicochemical properties of octenyl succinic esters of sugary maize soluble starch and waxy maize starch", *Food Chemistry*, Vol.151, No.15 pp. 154-160, (2104).
  30. S. D. Fowler, P. Greenspan, "Application of Nile red, a fluorescent hydrophobic probe, for the detection of neutral lipid deposits in tissue sections: comparison with oil red O", *J. Histochem. Cytochem.*, Vol.33, NO.8 pp. 833-836, (1985).
  31. M. Y. Chen, D. J. Lee, J. H. Tay, K. Y. Show, "Staining of extracellular polymeric substances and cells in bioaggregates", *Appl. Microbiol. Biot.*, Vol.75, No.2 pp. 467-474, (2007).
  32. W. Klaypradit, Chitosan-based encapsulation for tuna-oil. ph. D. thesis. University of Georgia, Athens, USA, (2006).
  33. A. Timgren, M. Rayner, P. Dejmek, D. Marku, M. Sjöö, "Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride", *Food science & nutrition*, Vol.1, No.2 pp. 157-171, (2013).
  34. M. Stolt, S. Oinonen, K. Autio, "Effect of high pressure on the physical properties of barley starch", *Innovative Food Sci. Emerg.*, Vol.1, No.3 pp. 167-175, (2000).
  35. D. J. McClements. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques*. p.15, CRC Press, (2015).
  36. L. Dokić, V. Krstonošić, I. Nikolić, 2012. "Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch", *Food Hydrocolloid.*, Vol.29, No.1 pp. 185-192, (2012).

37. L. Liu, Q. Zhao, T. Liu, J. Kong, Z. Long, M. Zhao, "Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil-water interface: Relationship to emulsion stability", *Food Chemistry*, Vol.132, No.4 pp. 1822-1829, (2012).
38. E. Magnusson, L. Nilsson, "Interactions between hydrophobically modified starch and egg yolk proteins in solution and emulsions", *Food Hydrocolloid.*, Vol.25, No.4 pp. 764-772, (2011).