

Catatan Penelitian

Studi Kerusakan Protein dalam Emulsi Ganda Air-dalam-Minyak-dalam-Air Natrium Klorida Menggunakan Instrumen FTIR

Study of Protein Denaturation in Double Emulsion Water-in-Oil-Water Sodium Chloride Using FTIR Instruments

Yoyok Budi Pramono^{1*}, Irene Raras Nawangsasi¹, Antonius Hintono¹, Vita Paramita²

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

²Program Studi Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis (yok_b_p@yahoo.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 24 Januari 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 27 Februari 2018. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.jatp.ift.or.id. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2018

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kerusakan protein dalam emulsi ganda W/O/W pada suhu penyimpanan (4, 25, 40°C) dan kadar NaCl yang berbeda (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1%) setelah 3 minggu penyimpanan dan dianalisis menggunakan instrumen FTIR. Protein lazim digunakan sebagai penstabil dan emulsifier alami dalam emulsi pangan, namun memiliki kelemahan dalam stabilitas terhadap suhu tinggi dan nilai pH rendah mendekati titik isolelektriknya. Penelitian ini menggunakan 2 jenis protein yaitu gelatin untuk fase air internal (W_1) dan isolat protein kedelai (IPK) untuk fase air eksternal (W_2). Emulsi ganda dibuat melalui tahap emulsifikasi ganda yaitu emulsifikasi primer untuk mendapatkan emulsi W/O dan emulsifikasi sekunder untuk mendapatkan emulsi ganda W/O/W. Analisis FTIR menunjukkan bahwa bahan baku yaitu gelatin dan isolat protein yang digunakan dalam pembuatan emulsi masih dalam kondisi baik. Interpretasi spektra protein yang digunakan dalam emulsi menunjukkan adanya penambahan dan hilangnya gugus Amida utama yang terkandung dalam gelatin dan isolat protein kedelai, yaitu Amida I, II, IV, V dan VI. Kesimpulannya, proses pemanasan emulsi pada suhu 4, 25, dan 40°C dan penyimpanan emulsi selama 3 minggu menyebabkan kerusakan struktur protein pada gelatin dan isolat protein kedelai yang tercermin melalui spektra protein melalui FTIR.

Kata kunci: emulsi ganda, gelatin, isolat protein kedelai, FTIR

Abstract

This experiment aims to observe protein deterioration in food double emulsion W/O/W in various NaCl concentrations i.e. 0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1% and storage temperatures, i.e. 4, 25, 40°C after 3 weeks storage by FTIR analysis. Protein is commonly used in food emulsion as stabilizer and natural emulsifier. However, protein has bad performance in high temperature and low pH value near to its isoelectric point. This experiment used 2 types of protein: gelatin as a protein that was added in internal water phase (W_1) and soy protein isolate as a protein that was added in external water phase (W_2). Double emulsions were produced by 2 phase emulsification, which were primary emulsification (to generate primary W/O emulsion) and secondary emulsification (to produce double emulsion W/O/W). FTIR analysis showed that gelatin and soy protein isolate as main ingredients for W/O/W double emulsion were in a good condition. Protein spectra interpretation showed that emersion and loss of main Amide group of gelatin and soy protein isolate in double emulsion, which were Amide I, II, IV, V and VI. It was concluded that heating and storing process caused protein structure damage to gelatin and soy protein isolate that was able to be visualized by FTIR analysis.

Keywords: double emulsion, gelatin, soy protein isolate, FTIR

Pendahuluan

Emulsi ganda merupakan sistem kompleks emulsi dalam emulsi. Terdapat 2 tipe emulsi ganda yaitu O/W/O (*oil-in-water-in-oil*) dan W/O/W (*water-in-oil-in-water*). O/W/O atau minyak-dalam-air-dalam-minyak merupakan tipikal emulsi dimana air terdispersi dalam minyak lalu minyak tersebut didispersikan kembali dalam air, sedangkan W/O/W merupakan kebalikan dari emulsi O/W/O. Emulsi ganda W/O/W lebih lazim digunakan dibandingkan dengan emulsi ganda O/W/O karena sifat kelarutannya (Yan *et al.*, 2013). Emulsi tersebut telah dikembangkan dalam berbagai industri seperti farmasi, kosmetik dan pangan. Kelebihan emulsi ganda dibandingkan emulsi sederhana adalah kemampuan fase internal untuk membawa senyawa aktif bersifat hidrofilik. Pemerangkapan komponen aktif dalam fase

internal dengan dilapisi oleh fase minyak dan air eksternal memperlambat laju pelepasan dan kerusakan komponen aktif hingga jangka waktu tertentu (Sapei *et al.*, 2012). Struktur dan performa emulsi ganda W/O/W dapat digunakan sebagai salah satu metode alternatif untuk mengenkapsulasi NaCl dan menurunkan kadar garam pada produk pangan.

Protein merupakan penstabil dan emulsifier pangan alami dalam emulsi ganda. Kerusakan protein menyebabkan penurunan kemampuan emulsifikasi protein dalam sistem emulsi. Penurunan kemampuan emulsifikasi protein menyebabkan struktur emulsi ganda lebih cepat mengalami kerusakan selama masa penyimpanan. Kerusakan struktur berpengaruh sangat signifikan terhadap percepatan laju pelepasan garam dari fase internal menuju fase eksternal. Selain itu,

kerusakan protein juga menimbulkan penurunan kualitas organoleptis emulsi ganda seperti perubahan warna emulsi diiringi timbulnya bau tidak sedap. *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR) merupakan salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk mendeteksi kerusakan protein dalam emulsi berdasarkan perubahan gugus fungsi (Sapei, et al., 2012). Berdasarkan Kong dan Yu (2007), FTIR juga dapat untuk menganalisa struktur sekunder dari polipeptida dan protein sehingga sangat memungkinkan untuk mendetekti kerusakan protein pada emulsi ganda berdasarkan keberadaan gugus amida.

FTIR dilakukan untuk menganalisis gugus fungsi dan dibagi-bagi menurut kepentingan penggunaannya. Rodriguez-Saona dan Allendorf (2011) menyatakan bahwa spektrum elektromagnetik infrared memiliki panjang $14.000\text{-}50\text{ cm}^{-1}$, yang kemudian dikelompokkan menjadi 3 yaitu infrared dekat ($14.000\text{-}4.000\text{ cm}^{-1}$), infrared menengah ($4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) dan infrared jauh ($400\text{-}50\text{ cm}^{-1}$). Guna melakukan uji gugus fungsi protein, maka pengujian perlu dilakukan menggunakan spektrum elektromagnetik infrared menengah (mid IR) karena pada rentang $1.200\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ banyak mengandung gugus dari kelompok protein.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kerusakan protein yang muncul selama proses pemanasan dan penyimpanan dalam pembentukan emulsi water/oil/water (W/O/W). Manfaatnya dapat memberikan informasi tentang kerusakan yang muncul selama proses pemanasan dan penyimpanan.

Materi dan Metode

Materi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquademin, gelatin, NaCl, minyak kedelai, Span 80, Tween 80, isolat protein kedelai, gum arabik dan KBr yang digunakan untuk analisa FTIR. Peralatan yang digunakan adalah homogenizer Yellow Line DI 25 (IKA, Jerman), magnetic stirrer C-MAG HS 7 (IKA, Jerman), magnetic stirrer (Thermoscientific, USA), magnetic stirrer HP-3000 (Lab companion, USA), timbangan digital SB24001 (Mettler Toledo, USA), timbangan analitik ABJ-NM/ABS-N (Kern, Jerman), refrigerator (Bosch, Jerman), oven XMT-152A (Autcomp, China), FTIR Prestige-21 (Shimadzu, Jepang), botol plastik, gelas ukur, gelas beker, pengaduk, stopwatch, pipet tetes dan spatula. Parameter yang diamati adalah

puncak (peak) yang muncul setelah proses injeksi ke alat.

Pembuatan Emulsi Ganda W/O/W

Penelitian berlangsung selama 1 bulan selama periode Maret – April 2017. Tahapan penelitian ini adalah pembuatan emulsi ganda W/O/W, masa penyimpanan dan analisa FTIR. Emulsi ganda dibuat melalui 2 tahapan yaitu mengemulsikan fase air internal (40% (b/b)) ke dalam fase minyak (60%), dilanjutkan dengan mengemulsikan kembali W/O ke dalam fase air eksternal (W_2). Komposisi emulsi ganda W/O/W dapat dilihat pada Tabel 1. Fase air internal diperoleh dengan menghidrasi sodium klorida (NaCl) dalam aquademin selama 30 menit, lalu gelatin ditambahkan dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 25 menit pada suhu 65°C . Kadar NaCl yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 6 level yaitu 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1%. Fase minyak diperoleh dengan menambahkan emulsifier lipofilik ke dalam minyak kedelai lalu diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 25 menit pada suhu 65°C . Fase air internal diemulsikan ke dalam fase minyak dan diperoleh W/O. W/O diemulsikan kembali ke dalam fase air eksternal hingga terbentuk W/O/W. Emulsi ganda disimpan pada 3 suhu penyimpanan berbeda yaitu suhu rendah (4°C), suhu ruang (25°C) dan suhu tinggi (40°C) selama 3 minggu.

Pengujian dengan FTIR

Analisis dengan menggunakan FTIR dilakukan terhadap isolat protein kedelai (IPK), gelatin dan emulsi ganda W/O/W seluruh sampel NaCl (0-1%) pada setiap suhu penyimpanan. Isolat protein kedelai dan gelatin murni digunakan sebagai standar untuk melihat adanya perubahan gugus fungsi pada emulsi ganda, analisis FTIR dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang menengah (Mid-IR) yaitu $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. Preparasi sampel dilakukan sesuai Franca dan Oliveira (2011) dengan modifikasi, yaitu sampel sebanyak 1-3 mg disiapkan dan dicampurkan dengan 350 mg KBr. Sampel tersebut dicetak pada wadah yang digunakan dalam pengujian.

Hasil dan Pembahasan

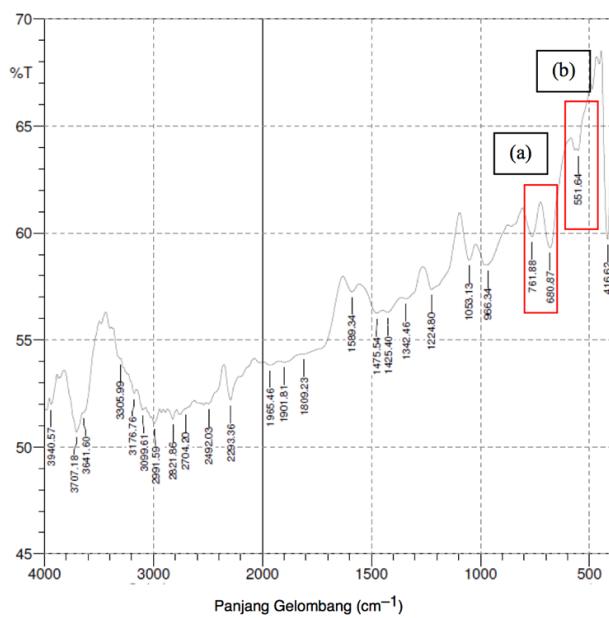
Hasil interpretasi spektrum gelatin keterangan (a) pada Figur 1 menunjukkan bahwa pada rentang panjang gelombang $625\text{-}767\text{ cm}^{-1}$ merupakan Amida IV. Berdasarkan Tarantilis et al. (2012) terdapat 2 puncak

Tabel 1. Komposisi Penyusun Emulsi Ganda W/O/W

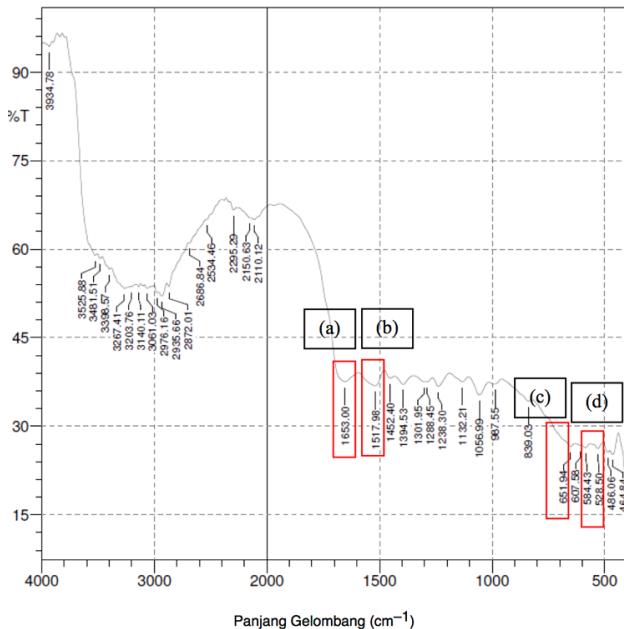
Fase	Bahan	Perlakuan					
		T0	T1	T2	T3	T4	T5
W ₁	Aquademin	6,00	5,80	5,60	5,40	5,20	5,00
	Gelatin	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	NaCl	0,00	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
O	Minyak kedelai	11,80	11,80	11,80	11,80	11,80	11,80
	Span 80	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
W ₂	Aquademin	71,20	71,20	71,20	71,20	71,20	71,20
	Tween 80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	Gum Arabik	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	Isolat protein kedelai	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00

Keterangan:

Kadar NaCl (b/b); T0= 0%; T1= 0,2%; T2= 0,4%; T3= 0,6%; T4=0,8% dan T5=1%



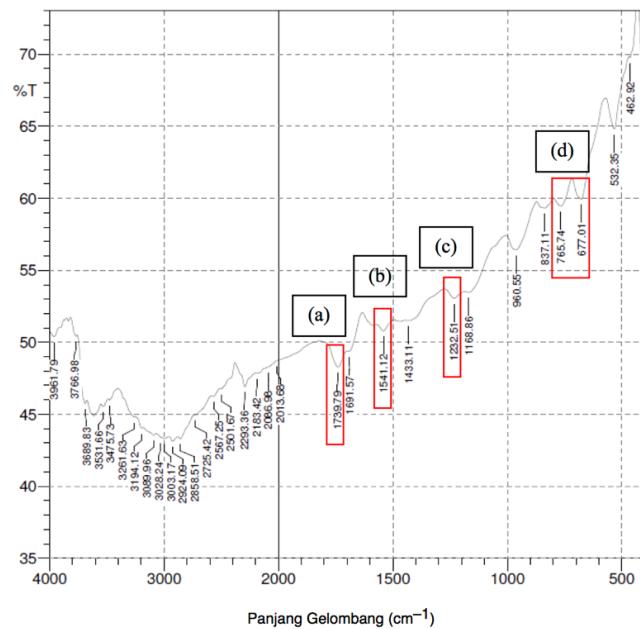
Figur 1. Spektrum FTIR Gelatin



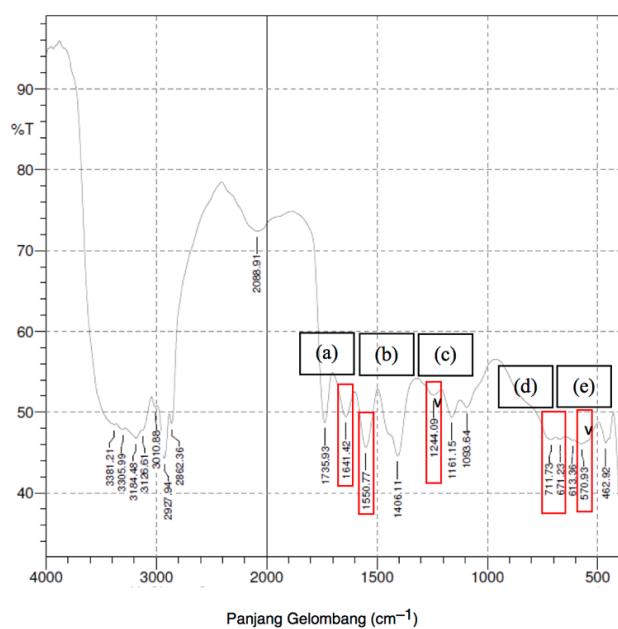
Figur 2. Spektrum FTIR Isolat Protein Kedelai

utama pada panjang gelombang 761,88 cm⁻¹ dan 680,87 cm⁻¹ yaitu gugus O-C-N. Kedua puncak tersebut juga dalam rentang panjang gelombang 640-800 cm⁻¹ (Amida V) yang menunjukkan keberadaan gugus C=O. Keterangan (a) yaitu pada panjang gelombang 551,64 cm⁻¹ masuk dalam golongan Amida VI dengan rentang panjang gelombang 537-606 cm⁻¹ yang menunjukkan keberadaan gugus N-H. Spektrum gelatin yang ditunjukkan oleh Figur 1. tidak menunjukkan adanya kelompok Amida I dan Amida III yang berperan dalam menggambarkan struktur sekunder protein.

Interpretasi spektrum IPK murni (Figur 2) menunjukkan kelompok grup amida yang lebih luas dibandingkan gelatin, yaitu Amida I, Amida II, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Sjahfirdi *et al.* (2012) menyatakan bahwa kelompok Amida I memiliki rentang panjang gelombang 1600-1690 cm⁻¹ dan menunjukkan



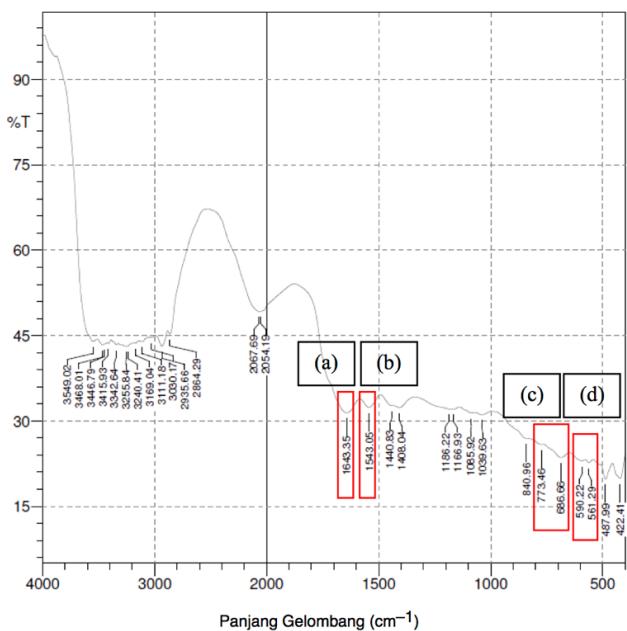
Figur 3. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 0% Suhu 4°C



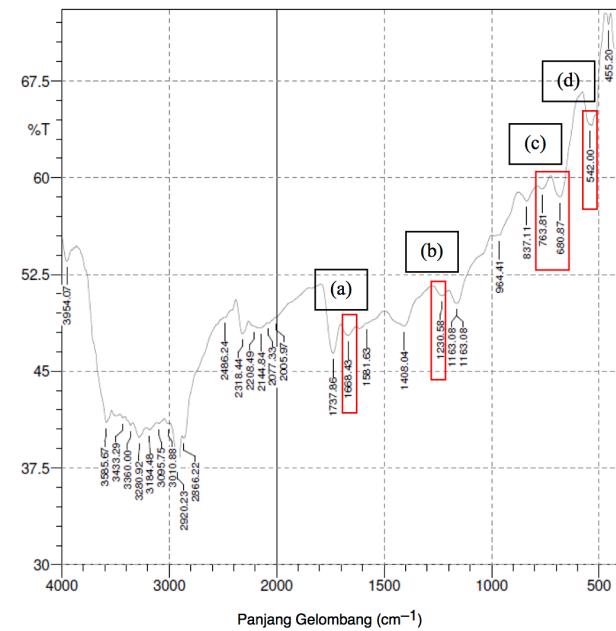
Figur 4. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 0% Suhu 25°C

keberadaan gugus C=O sedangkan kelompok Amida II memiliki rentang panjang gelombang 1480-1575 cm⁻¹ dan menunjukkan keberadaan gugus C-N dan N-H. Keterangan (a) merupakan kelompok gugus Amida I yang ditunjukkan dengan panjang gelombang 1653,00 cm⁻¹, (b) merupakan kelompok gugus Amida II dan ditunjukkan oleh panjang gelombang 1517,98 cm⁻¹, (c) merupakan kelompok gugus Amida IV dan Amida V yang ditunjukkan oleh panjang gelombang 651,94 cm⁻¹ dan (d) merupakan kelompok gugus Amida V dan ditunjukkan oleh panjang gelombang 584,43 cm⁻¹ dan 528,50 cm⁻¹.

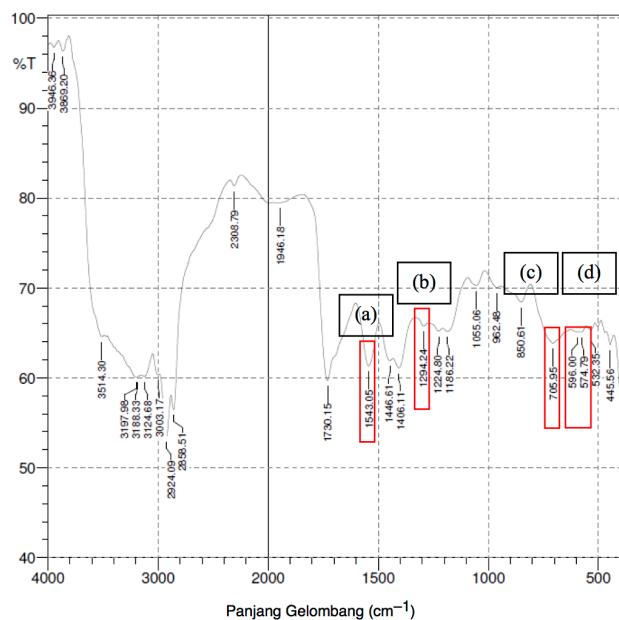
Kerusakan protein dapat pula dilihat dari struktur sekundernya. Carbonaro and Nucara (2010) menyatakan bahwa struktur sekunder protein dapat ditemukan pada kelompok Amida I dengan rentang panjang gelombang 1600-1690 cm⁻¹. Struktur sekunder protein berdasarkan pendapat Zayas (2001) terdiri dari



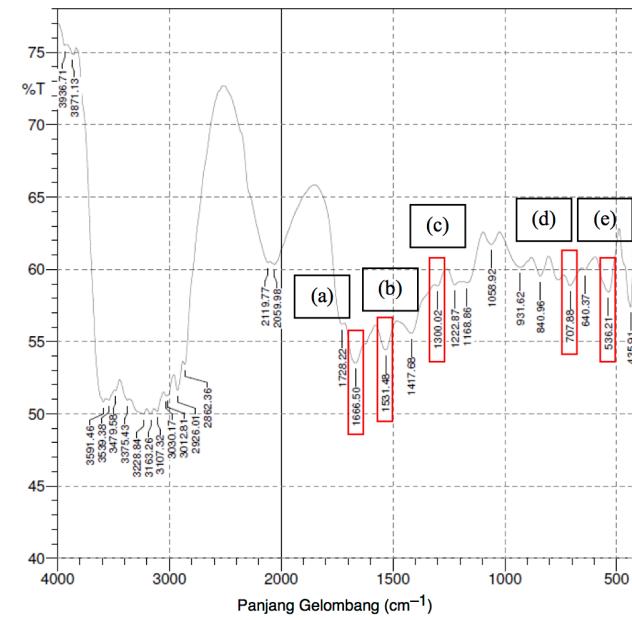
Figur 5. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 0,6 % Suhu 40°C



Figur 7. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 1% Suhu 4°C



Figur 6. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 0% Suhu 40°C



Figur 8. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 1% Suhu 25°C

alfa-heliks (α -helix) dan beta-sheet (β -sheets). Keberadaan alfa-heliks dapat diidentifikasi pada panjang gelombang $1648\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ sedangkan keberadaan beta-sheet dapat diidentifikasi pada panjang gelombang $1,612\text{-}1,641\text{ cm}^{-1}$ / $1,626\text{-}1,640\text{ cm}^{-1}$ / $1,670\text{-}1,694\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan literatur tersebut, diketahui bahwa isolat protein kedelai yang digunakan masih dalam keadaan baik karena belum mengalami perubahan struktur sekunder. Alfa-heliks ditunjukkan pada panjang gelombang $1653,00\text{ cm}^{-1}$.

Interpretasi spektrum emulsi ganda NaCl 0% dengan suhu penyimpanan suhu rendah (Figur 3) menunjukkan bahwa kelompok Amida I, Amida II, Amida III, Amida IV dan Amida V ditemukan pada emulsi pada

perlakuan tersebut. Keterangan (a) pada panjang gelombang $1739,79\text{ cm}^{-1}$ merupakan kelompok Amida I, keterangan (b) pada panjang gelombang $1541,12\text{ cm}^{-1}$ merupakan kelompok Amida II, keterangan (c) pada panjang gelombang $1232,51\text{ cm}^{-1}$ merupakan kelompok Amida III dan keterangan (d) pada panjang gelombang $765,74\text{ cm}^{-1}$ dan $677,01\text{ cm}^{-1}$ merupakan kelompok Amida IV dan Amida V. Kelompok Amida I, II, IV dan V yang muncul berasal dari IPK yang ditambahkan pada fase air eksternal dan gelatin yang ditambahkan pada fase air internal. Terdapat 1 kelompok Amida lain yang muncul yaitu Amida III sedangkan kelompok Amida VI tidak muncul. Sjahfirdi *et al.* (2012) menyatakan bahwa kelompok Amida III dapat merepresentasikan gugus C-

N dan N-H. Munculnya kelompok Amida baru dan hilangnya kelompok Amida lain dapat terjadi akibat adanya perubahan struktur pada tahapan pembuatan emulsi ganda.

Interpretasi spektrum emulsi ganda NaCl 0% penyimpanan suhu ruang (Figur 4) menunjukkan adanya beberapa kelompok Amida yang muncul yaitu Amida I, Amida II, Amida III, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Keterangan (a) merujuk pada kelompok Amida I dengan panjang gelombang $1641,42\text{ cm}^{-1}$, (b) merujuk pada kelompok Amida II dengan panjang gelombang $1550,77\text{ cm}^{-1}$, (c) merujuk pada kelompok Amida III dengan panjang gelombang $1244,09\text{ cm}^{-1}$, (d) merujuk pada kelompok Amida IV dan V dengan panjang gelombang $711,73\text{ cm}^{-1}$ dan $671,23\text{ cm}^{-1}$ serta (e) merujuk pada kelompok Amida VI dengan panjang gelombang $570,93\text{ cm}^{-1}$. Kelompok Amida III kembali muncul pada pembacaan spektrum emulsi ganda NaCl 0% penyimpanan suhu ruang. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perubahan struktur protein selama proses pembuatan dan penyimpanan emulsi yang menimbulkan kemunculan gugus C-N dan N-H.

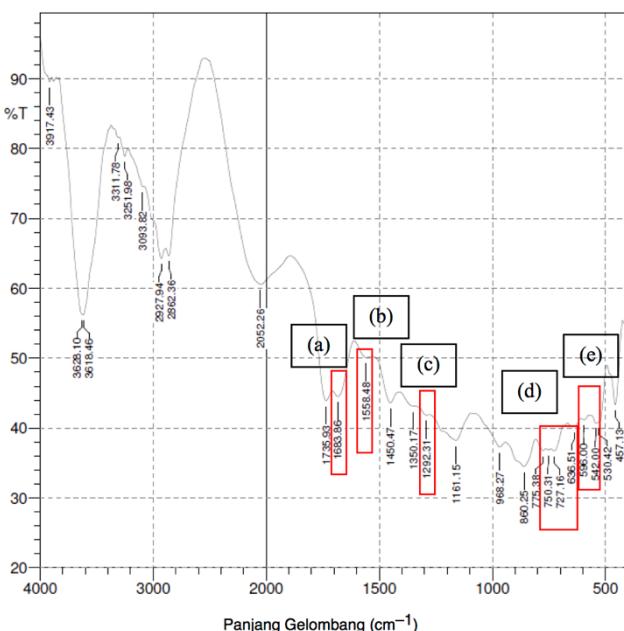
Interpretasi spektrum emulsi ganda NaCl 0,6% penyimpanan suhu tinggi (Figur 5) menunjukkan adanya 5 kelompok Amida, yaitu Amida I pada panjang gelombang $1643,35\text{ cm}^{-1}$ (a), Amida II pada panjang gelombang $1543,05\text{ cm}^{-1}$ (b), Amida IV dan Amida V pada panjang gelombang $773,46\text{ cm}^{-1}$ dan $686,66\text{ cm}^{-1}$ (c) dan Amida VI pada panjang gelombang $590,22\text{ cm}^{-1}$ dan $561,29\text{ cm}^{-1}$ (d). Berdasarkan kelompok-kelompok Amida yang ditunjukkan dari hasil pembacaan emulsi ganda NaCl 0,6% penyimpanan suhu tinggi, dapat disimpulkan bahwa tidak ada penambahan maupun pengurangan kelompok Amida setelah proses pembuatan dan penyimpanan emulsi. Hal ini menunjukkan bahwa kedua protein yang digunakan dalam pembuatan emulsi ganda tidak mengalami denaturasi yang menyebabkan perubahan struktur setelah 3 minggu penyimpanan.

Spektrum emulsi ganda NaCl 0% (Figur 6) yang disimpan pada suhu tinggi menunjukkan adanya beberapa kelompok Amida, yaitu Amida II, Amida III, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Kelompok Amida II ditemukan pada panjang gelombang $1543,05\text{ cm}^{-1}$ (a), Amida III pada panjang gelombang $1294,24\text{ cm}^{-1}$ (b), Amida IV dan Amida V pada panjang gelombang $705,95\text{ cm}^{-1}$ (c) dan Amida VI pada panjang gelombang $596,00\text{ cm}^{-1}$ dan $574,79\text{ cm}^{-1}$ (d). Interpretasi spektrum tersebut menunjukkan bahwa adanya kelompok amida yang hilang yaitu Amida I dan munculnya kelompok Amida baru yaitu Amida III.

Spektrum emulsi ganda NaCl 1% penyimpanan suhu rendah (Figur 7) menunjukkan keberadaan beberapa kelompok Amida, yaitu Amida I, Amida III, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Kelompok Amida I (a) ditemukan pada panjang gelombang $1668,43\text{ cm}^{-1}$, kelompok Amida III (b) ditemukan pada panjang gelombang $1230,58\text{ cm}^{-1}$, kelompok Amida IV dan V (c) ditemukan pada panjang gelombang $763,81\text{ cm}^{-1}$ dan $680,87\text{ cm}^{-1}$ sedangkan kelompok Amida VI (d) ditemukan pada panjang gelombang $542,00\text{ cm}^{-1}$.

Interpretasi spektrum emulsi ganda dengan acuan pada spektrum gelatin dan isolat protein kedelai menunjukkan bahwa kelompok Amida II hilang dan kelompok Amida III muncul setelah proses emulsifikasi dan penyimpanan selama 3 minggu.

Spektrum emulsi ganda NaCl 1% yang disimpan pada suhu ruang (Figur 8) selama 3 minggu menunjukkan beberapa kelompok amida, yaitu Amida I, Amida II, Amida III, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Kelompok Amida I (a) ditunjukkan pada panjang gelombang $1666,50\text{ cm}^{-1}$, Amida II (b) pada panjang gelombang $1531,48\text{ cm}^{-1}$, Amida III (c) pada panjang gelombang $1300,02\text{ cm}^{-1}$, Amida IV dan Amida V (d) pada panjang gelombang $707,88\text{ cm}^{-1}$ dan $640,37\text{ cm}^{-1}$, Amida VI (e) dapat ditemukan pada panjang gelombang paling kecil yaitu $536,2\text{ cm}^{-1}$. Interpretasi spektrum emulsi ganda dengan acuan spektrum gelatin dan isolat protein kedelai menunjukkan bahwa kelompok Amida III muncul dan tidak ada kelompok Amida lain yang hilang.



Figur 9. Spektrum FTIR Emulsi Ganda NaCl 1% Suhu 40°C

Spektrum emulsi ganda NaCl 1% yang disimpan pada suhu ruang (Figur 9) selama 3 minggu menunjukkan bahwa terdapat 6 kelompok Amida, yaitu Amida I, Amida II, Amida III, Amida IV, Amida V dan Amida VI. Kelompok Amida I (a) dapat ditemukan pada panjang gelombang $1683,86\text{ cm}^{-1}$, Kelompok Amida II (b) dapat ditemukan pada panjang gelombang $1558,48\text{ cm}^{-1}$, Kelompok Amida III (c) dapat ditemukan pada panjang gelombang $1292,31\text{ cm}^{-1}$, kelompok Amida IV (d) dapat ditemukan pada panjang gelombang $750,31\text{ cm}^{-1}$, $727,16\text{ cm}^{-1}$ dan $636,51\text{ cm}^{-1}$ serta kelompok Amida VI dapat ditemukan pada panjang gelombang $596,00\text{ cm}^{-1}$ dan $542,00\text{ cm}^{-1}$. Interpretasi spektrum emulsi ganda dengan acuan spektrum gelatin dan isolat protein kedelai menunjukkan tidak ada kelompok Amida yang hilang setelah proses emulsifikasi dan penyimpanan. Namun, muncul kelompok Amida baru yaitu Amida III.

Kesimpulan

Gelatin dan isolat protein kedelai yang digunakan dalam emulsi ganda mengalami kerusakan setelah proses pemanasan dan penyimpanan selama 3 minggu pada penyimpanan suhu 4, 25, dan 40°C dapat digambarkan dengan baik struktur gugus Amida dengan menggunakan FTIR. Penambahan dan hilangnya gugus Amida pada berbagai jenis perlakuan yang telah dilakukan dapat ditunjukkan dengan jelas melalui analisis dengan menggunakan FTIR.

Daftar Pustaka

- Carbonaro, M., Nucara, A. 2010. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region. *Amino Acids* 38(3) : 679–690. DOI: 10.1007/s00726-009-0274-3.
- Franca, A.S., Oliveira, L.S. 2011. Potential uses of fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in food processing and engineering, *Food Engineering*.
- Kong, J., Yu, S. 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 39(8) : 549–559. DOI: 10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x.
- Rodriguez-Saona, L.E., Allendorf, M.E. 2011. Use of FTIR for rapid authentication and detection of adulteration of food. *Annual Review of Food Science and Technology* 2(1) : 467–483. DOI:10.1146/annurev-food-022510-133750.
- Sapei, L., Naqvi, M.A., Rousseau, D. 2012. Stability and release properties of double emulsions for food applications. *Food Hydrocolloids* 27(2) : 316–323. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.10.008.
- Sjahfirdi, L., Nasikin, M., Mayangsari. 2012. Protein identification using fourier transform infrared. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences* 10(3): 418–421. DOI:10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x
- Tarantilis, P.A., Pappas, S.C., Allisandrakis, E., Harizanis, C.P., Pollicu, G.M. 2012. Monitoring of royal jelly protein degradation during storage using Fourier-Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. *Journal of Agricultural Research* 51(2):185–192. DOI: 10.3896/IBRA.1.51.2.07.
- Yan, J., Bauer, W.C., Fischlechner, M., Hollfelder, F., Kaminski, C.F., Huck, W.T.S. 2013. Monodisperse water-in-oil-in-water (W/O/W) Double emulsion droplets as uniform compartments for high-throughput analysis via flow cytometry. *Micromachines* 4(4):402–413. DOI:10.3390/mi4040402.
- Zayas, J. 2001. Functionality of proteins in food. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-59116-7