



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Dovilė Jūraitė

**Biopolimerais stabilizuotos dvigubos emulsijos V/A/V, skirtos mėsos
gaminiam**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Prof. dr. Daiva Leskauskaitė

KAUNAS, 2016

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**Biopolimerais stabilizuotos dvigubos emulsijos V/A/V, skirtos mėsos
gaminiam**

Baigiamasis magistro projektas

Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

Vadovas

Prof. dr. Daiva Leskauskaitė

Recenzentas

Doc. dr. Aušra Šipailienė

Projektą atliko

Dovilė Jūraitė

KAUNAS, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos

(Fakultetas)

Dovilė Jūraitė

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„Biopolimerais stabilizuotos dvigubos emulsijos V/A/V, skirtos mėsos gaminiams“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 16 m. Gegužės 27 d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Dovilės Jūraitės**, baigiamasis projektas tema „Biopolimerais stabilizuotos dvigubos emulsijos V/A/V, skirtos mėsos gaminiams“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

ĮVADAS.....	5
1. MOKSLINĖS TECHNINĖS LITERATŪROS ANALIZĖ	10
1.1. Emulsijų klasifikacija	10
1.2. Emulsijų stabilizavimas.....	11
1.3. Emulsijų stabilizavimas biopolimerais.....	12
1.3.1. Baltymais stabilizuotos emulsijos	13
1.3.2. Polisacharidais stabilizuotos emulsijos	14
1.4. Emulsijų destabilizacijos mechanizmai.....	14
1.5. Dvigubų emulsijų gamybos būdai	16
1.6. Dvigubų emulsijų panaudojimas	18
1.7. Komponentų atpalaidavimas iš dvigubų emulsijų virškinimo metu	20
2. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	22
3. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI.....	24
3.1. Medžiagos.....	24
3.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, paruošimas.....	25
3.3. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, paruošimas.....	26
3.4. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, paruošimas.....	27
3.5. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotomis IBI, paruošimas	28
3.6. Dvigubų emulsijų tyrimams naudoti metodai	29
3.6.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, tyrimo metodai	29
3.6.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, tyrimo metodai	30
3.7. Modelinių mėsos sistemų tyrimams naudoti metodai	33
3.7.1. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, tyrimo metodai	33
3.7.2. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, tyrimo metodai	35
3.8. Statistinis duomenų apdorojimas.....	36
4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	37
4.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, fizikinės savybės	37
4.1.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBM ir KMC koncentracijomis, stabilumas.....	37

4.1.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, dalelių dydžio ir reologinių charakteristikų rezultatai.....	38
4.1.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBM ir KMC koncentracijomis, morfologinis vaizdas	42
4.2. Dvigubų emulsijų, stabilizuotų IBI ir KMC, įtaka modelinių mėsos sistemų cheminei sudėčiai ir technologiniams rodikliams.....	43
4.2.1. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, cheminė sudėtis ir pH	43
4.2.2. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, vandens ir riebalų surišimo savybės	44
4.2.3. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, spalvos charakteristikos	46
4.2.4. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, tekstūros profilio charakteristikos	47
4.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, fizikinės savybės	48
4.3.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, morfologinis vaizdas	48
4.3.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, dalelių dydžio ir jų pasiskirstymo rezultatai	49
4.3.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, įkapsuliuavimo efektyvumas.....	52
4.3.4. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, reologinės charakteristikos.....	53
4.3.5. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, virškinimo metu atpalaiduotų komponentų rezultatai	54
4.4. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, įtaka modelinių mėsos sistemų technologiniams rodikliams	56
4.4.1. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, vandens ir riebalų surišimo savybės	57
4.4.2. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, spalvos charakteristikos.....	58
4.4.3. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, tekstūros profilio charakteristikos ir įkapsuliuavimo efektyvumas	59
IŠVADOS.....	61
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	63

Jūrautė, Dovilė. Biopolimerias stabilizuotos dvigubos emulsijos V/A/V, skirtos mėsos gaminiams. *Magistro* baigiamasis projektas / vadovas Prof. dr. Daiva Leskauskaitė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslu kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: *dvigubos emulsijos, išrūgų baltymų izoliatas, karboksimetilceliuliozė, modelinės mėsos sistemos, rotoriaus-statoriaus sistema, membraninio emulsavimo sistema.*

Kaunas, 2016. 69 p.

SANTRAUKA

Darbo tikslas – naudojant biopolimerus (išrūgų baltymų izoliatą ir karboksimetilceliuliozė) pagaminti stabilias dvigubąsias emulsijas (toliau – dvigubas emulsijas) (V/A/V), vidinėje vandens fazėje įkapsuliuoti burokėlių sultis ir nustatyti šių emulsijų panaudojimo galimybes mėsos gaminiuose.

Tyrimų metu tirtos šios sistemos: 1) dvigubos emulsijos (V/A/V), stabilizuotos 0,50%, 1,00% ir 1,50% išrūgų baltymų izoliatu ir 0,25%, 0,30% ir 0,35% karboksimetilceliulioze; 2) modelinės mėsos sistemos su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis 0,50% išrūgų baltymų izoliatu ir 0,30% karboksimetilceliulioze; 3) dvigubos emulsijos (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 0,50% ir 1,00% išrūgų baltymų izoliatu; 4) modelinės mėsos sistemos su V/A/V emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotomis 0,50% išrūgų baltymų izoliatu. Paruošus bandinius buvo vertinami šie rodikliai: dvigubų emulsijų tyrimuose – gravitacinis stabilumas, dalelių dydis ir pasiskirstymas, reologinės charakteristikos, morfologinis vaizdas, įkapsuliavimo efektyvumas ir komponentų atsipalaidavimas *in vitro* virškinimo metu; modelinių mėsos sistemų tyrimuose – cheminė sudėtis, pH, terminiai nuostoliai (vandens ir riebalų surišimo pajėgumas), surištos drėgmės kiekis, spalvos charakteristikos, tekstūros savybės, įkapsuliavimo efektyvumas.

Nustatyta, kad naudojant rotoriaus-statoriaus sistemą galima pagaminti stabilias dvigubas (V/A/V) emulsijas, stabilizuotas 0,50%, 1,00% ir 1,50% išrūgų baltymų izoliatu ir 0,25%, 0,30% ir 0,35% karboksimetilceliulioze, kurių stabilumas, dalelių dydis ir jų pasiskirstymas, reologinės charakteristikos priklauso nuo naudojamo hidrofilinio emulsiklio tipo ir jo koncentracijos. Atlikus tyrimus gauta, kad dvigubos emulsijos, stabilizuotos karboksimetilceliulioze, yra stabilesnės, klampesnės, pasižymi mažesniu dalelių dyžiu ir siauresniu jų pasiskirstymu, nei dvigubos emulsijos, stabilizuotos išrūgų baltymų izoliatu.

Nustatyta, kad dvigubų (V/A/V) emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, savybės priklauso nuo emulsijų paruošimui naudojamo metodo. Emulsijos paruoštos naudojant membraninę emulsavimo sistemą pasižymi mažesniu dalelių dydžiu ir tolygesniu jų pasiskirstymu,

geresniu įkapsuliavimo efektyvumu ir didesne klampa, lyginant su emulsijomis paruoštomis naudojant tik rotoriaus-statoriaus sistemą. Tačiau nepriklausomai nuo naudojamo metodo yra svarbu optimizuoti paruošimo sąlygas (slėgį, laiką, temperatūrą, ciklų skaičių ir kt.), nes tai nulemia emulsijų stabilumą ir kitas analizuojamas savybes. Tačiau nustatyta, kad dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, *in vitro* virškinimo metu atpalaiduojamų komponentų (laisvų riebalų rūgščių) kiekis ir išsiskyrimo greitis nepriklauso nuo emulsijos paruošimo būdo, tam įtakos turi naudojamas *in vitro* virškinimo atvejis (prieš valgį ar po valgio).

Nustatyta, kad dvigubų (V/A/V) emulsijų panaudojimas modelinėse mėsos sistemose, siekiant gyvūninės kilmės riebalus pakeisti augalinės kilmės riebalais, neturi didelės įtakos pastarųjų sistemų savybėms. Naudojant tiek dvigubas emulsijas, stabilizuotas 0,50% išrūgų baltymų izoliatu ir 0,30% karboksimetilceliulioze, tiek dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, gaunami cheminės sudėties, vandens ir riebalų surišimo, tekstūros profilio rodikliai yra artimi kontroliniams modelinių mėsos sistemų bandiniams (be dvigubų (V/A/V) emulsijų). Ryškesni skirtumai nustatyti analizuojant spalvos charakteristikas, modelinės mėsos sistemos su dvigubomis emulsijomis, stabilizuotomis 0,50% išrūgų baltymų izoliatu ir 0,30% karboksimetilceliulioze, gaunamos šviesesnės, mažiau rausvos, o modelinės mėsos sistemos su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys, yra rausvesnės, o šviesumas beveik nepasikeitė, lyginant su kontroliniais modelinių mėsos sistemų bandiniais.

Juraite, Dovile. *DOUBLE W/O/W EMULSIONS STABILIZED BY BIOPOLYMERS FOR MEAT PRODUCTS: Master's thesis in Food Science and Safety / supervisor prof. Daiva Leskauskaite. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.*

Research area and field: Technological Sciences and Technology

Key words: double emulsion, whey proteins, carboxymethylcellulose, meat system, rotor-stator system, membrane emulsifying system.

Kaunas, 2016. 69 p.

SUMMARY

The aim of our study was to produce stable double (W/O/W) emulsions stabilized by biopolymers (whey proteins and carboxymethylcellulose), to encapsulate beetroot juice in the inner water phase of double emulsions, and to apply these emulsions in the meat systems.

Objectives of this study were the following: 1) double emulsions (W/O/W) stabilized by 0.50%, 1.00% and 1.50% whey protein isolate and 0.25%, 0.30% and 0.35% carboxymethylcellulose; 2) meat systems, made with W/O/W emulsions, stabilized with 0.50% whey protein isolate and 0.30% carboxymethylcellulose; 3) double W/O/W emulsions with beetroot juice in the inner water phase, stabilized by 0.50% and 1.00% whey protein isolate; 4) meat systems with W/O/W emulsions stabilized by 0.50% whey protein isolate, with beetroot juice in the inner water phase. The samples were evaluated by the following parameters: in double emulsions studies – gravitational stability, particle size and distribution, rheological characteristics, morphological image, encapsulation efficiency and the components release during *in vitro* digestion; in model meat products studies - chemical composition, pH, thermal loss (water and fat binding), the bound moisture content, color and texture characteristics, encapsulation efficiency.

It was determined, that it is possible to produce stable double W/O/W emulsions, stabilized with 0.50%, 1.00% or 1.50% whey protein isolate and 0.25%, 0.30% or 0.35% carboxymethylcellulose, using a rotor-stator system. The emulsions stability, particle size and distribution, rheological characteristics are dependent on the type and concentration of hydrophilic emulsifier. Also it was determined, that double emulsions stabilized carboxymethylcellulose are more stable and viscous, have a smaller particle size and narrower distribution, than the double emulsions stabilized by whey protein isolate.

The results of this study showed that the properties of double W/O/W emulsions with beetroot juice in the inner water phase depend on the method used for the preparation of emulsions. Emulsions prepared by a membrane emulsifying system have a smaller particle size and narrower distribution, better encapsulation efficiency and a higher viscosity, than emulsions prepared using rotor-stator system only. However, the optimization of the double emulsions preparation

conditions (pressure, time, temperature, number of cycles and so on) is necessary independently of the method used. The experiments on the *in vitro* digestion of the double W/O/W emulsions showed that the release of the beetroot juice from the inner water phase of emulsion as well as the digestion rate of fat were dependent on the preparation method of emulsion. It is important that these properties of emulsions were observed by using two *in vitro* digestion case -fasted and fed.

The chemical composition, water and fat binding, texture profile indicators of meat systems prepared with double W/O/W emulsions stabilized by 0.50% whey protein isolate or 0.30% carboxymethylcellulose, and double W/O/W emulsions, with beetroot juice in the inner water phase, were very similar to those of the control samples (without double (W/O/W) emulsions). Larger differences were observed in the colour characteristics of meat systems. Model meat systems with W/O/W emulsions stabilized by 0.50% whey protein isolate or 0.30% carboxymethylcellulose, were lighter and less pink, compared with the control meat samples. While model meat systems with W/O/W emulsions, with beetroot juice in the inner water phase, were more pink than control samples.

IVADAS

Šiuolaikinėje visuomenėje vis didesnis dėmesys yra skiriamas žmonių sveikatai, kuri neretai siejama su sveika mityba. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) teigimu besikeičiantis žmonių gyvenimo būdas ir nuolatos kintantys mitybos įpročiai yra laikomi vieni pagrindinių priežasčių vis augančių ligų skaičiui, tokių kaip nutukimas, širdies ir kraujagyslių sutrikimai, vėžys [1]. Tam, kad būtų stabdomas panašių susirgimų skaičius, maisto pramonėje yra siekiama sukurti kuo sveikesnius, maistingesnius ir natūralesnius maisto produktus, kurie pasižymėtų ne tik gera kokybe, bet ir būtų naudingi žmonių sveikatai.

Visame pasaulyje mėsa ir jos produktai yra vienas pagrindinių ir gausiai vartojamų produktų žmonių mityboje dėl savo priimtinių julinųjų bei maistinių savybių, tokių kaip aukštos kokybės baltymai, su visomis nepakeičiamomis amino rūgštimis, B grupės vitaminai, mineralai. Tačiau mėsa ir jos produktai dažnai tampa nepatrauklūs vartotojui dėl didelio sočiųjų riebalų rūgščių ir cholesterolio kiekio, kurie yra daugelio ligų atsiradimo priežastis. Vartotojai nori sveikesnių mėsos produktų, todėl maisto pramonės atstovams iškyla didžiulis iššūkis - sukurti mėsos produktus, kurie pasižymėtų vartotojui pristinomis julinėmis savybėmis ir būtų sveikesni už įprastus mėsos produktus. Tam, kad būtų įgyvendintas šis tikslas, reikia sukurti mėsos produktus, kuriuose būtų sumažintas riebalų ir cholesterolio kiekis, arba gyvūninės kilmės riebalai būtų pakeisti žmogaus organizmui naudingesniais, augalinės kilmės riebalais. Tokių naujų mėsos produktų kūrimui gali būti panaudojamos dvigubos emulsijos (toliau – dvigubos emulsijos).

Dvigubos ($V_1/A/V_2$) emulsijos yra daugiakomponentės sistemos, kur vanduo-aliejus (V_1/A) emulsija lašelių pavidalu yra pasiskirsčiusi išorinėje vandens fazėje (V_2) [2]. Šios sistemos turi didelį pritaikymo potencialą maistinėse sistemose dėl nustatytų priimtinių savybių, tokių kaip gebėjimas įkapsuliuoti ir apsaugoti biologiškai aktyvius junginius, kontroliuoti aromato ir skonio išsiskyrimą. Taip pat naudojant dvigubas emulsijas galima sukurti produktus su mažesniu riebalų ar druskos kiekiu, bei pakeisti gyvūninės kilmės riebalus augalinės kilmės riebalais [3].

Šio darbo tikslas – naudojant skirtingas išrūgų baltymų izoliato ir karboksimetilceliuliozės koncentracijas pagaminti stabilias dvigubas emulsijas ($V/A/V$), jų vidinėje vandens fazėje įkapsuliuoti burokėlių sultis ir nustatyti dvigubų emulsijų panaudojimo galimybes mėsos sistemose. Tikslu įgyvendinimui iškeliami uždaviniai:

1. Naudojant mechaninio maišymo rotoriaus-statorius sistemą pagaminti dvigubas emulsijas, su skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis išorinėje vandens fazėje (V_2), nustatyti jų fizikines savybes.
2. Įvertinti dvigubų emulsijų, su skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis išorinėje vandens fazėje, įtaką modelinių mėsos sistemų, kuriose gyvūniniai riebalai pakeisti augaliniais riebalais, cheminei sudėčiai ir technologiniams rodikliams;

3. Palyginti išrūgų baltymų izoliatu stabilizuotų dvigubų emulsijų, su ikapsuliuotomis burokėlių sultimis, fizikines savybes, jų gamybai naudojant mechaninio maišymo statoriaus-rotoriaus sistema metodą bei membraninį metodą.
4. Nustatyti IBI stabilizuotų dvigubų emulsijų gamybos sąlygų įtaką jų vidinėje vandens fazėje ikapsuliuotų burokėlių sulčių ikapsuliavimo efektyvumui, emulsijų fizikinėms savybėms ir jų pokyčiui laikymo metu;
5. Įvertinti dvigubų emulsijų, su ikapsuliuotomis burokėlių sultimis, įtaką modelinių mėsos gaminių technologiniams rodikliams;
6. Ištirti išrūgų baltymų izoliatu stabilizuotų dvigubų emulsijų, su vidinėje vandens fazėje ikapsuliuotomis burokėlių sultimis, virškinimo procesus, taikant imituojamąjį plonosios žarnos *in vitro* virškinimą.

1. MOKSLINĖS TECHNINĖS LITERATŪROS ANALIZĖ

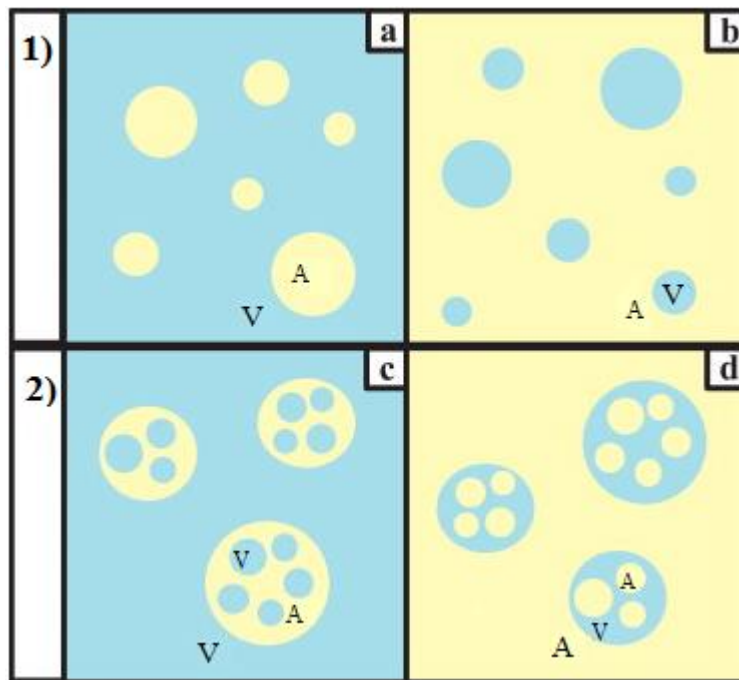
1.1. Emulsijų klasifikacija

Emulsija yra daugi fazė dispersinė sistema, sudaryta mažiausiai iš dviejų vienas kitame nesimaišančių skysčių. Dispersinė fazė lašelių pavidalu yra pasiskirsčiusi dispersinėje terpėje. Priklausomai nuo emulsavimo proceso, lašelių skersmuo gali svyruoti nuo 0,1 μm iki 0,1 mm [4].

Dvigubos emulsijos yra daugiakomponentės sistemos, kurios labai dažnai dar yra vadinamos emulsijos emulsijose [2]. Labiausiai paplitusios yra vanduo – aliejus – vanduo (V/A/V) emulsijos, bet taip pat galima susidurti ir su aliejus – vanduo – aliejus (A/V/A) dvigubosiomis emulsijomis. Šios sistemos sudarytos iš trijų fazių, atskirtų tarpfaziais, stabilizuotais hidrofilinėmis ir lipofilinėmis paviršiaus aktyviosiomis medžiagomis [5]. Vienas, dažniausiai maistinėse sistemose naudojamų lipofilinių emulsiklių (lipidų fazėje) yra poliglicerolio poliricinoleatas (toliau – PGPR). Kaip hidrofilinis emulsikilis (išorinėje vandens fazėje) gali būti naudojamas maltodekstrinas, kviečių baltymų izoliatas ir koncentratas, sojų baltymai, lieso pieno milteliai, išrūgų baltymų izoliatas, želatina, karboksimetilceliuliozė ir kt. [6].

Dvigubos emulsijos gali būti lengvai pritaikomos maisto pramonėje, nes naudojant šias sistemas, galima įkapsuliuoti ir apsaugoti jautrius bei biologiškai aktyvius junginius, kontroliuoti aromato ir skonio išsiskyrimą ar pagaminti produktus su sumažintu riebalų ar druskos kiekiu [3].

Emulsijos, atsižvelgiant į fazių kiekį sistemose, gali būti klasifikuojamos į dvi pagrindines grupes. Pirmajai grupei priskiriamos paprastos (viengubosios) emulsijos, kurios yra sudarytos iš dviejų, tarpusavyje nesimaišančių fazių. Priklausomai nuo fazių pasiskirstymo sistemoje yra išskiriami du tipai: aliejus vandenyje (A/V) emulsijos, kur aliejaus lašeliai yra pasiskirstę vandenyje, ir vanduo aliejuje (V/A), kur vandens lašeliai yra pasiskirstę aliejaus fazėje (žr. 1 pav.). Antrajai grupei priskiriamos dvigubos emulsijos, kurios sudaro sudėtingesnę sistemą. Šios emulsijos, kaip ir paprastosios, priklausomai nuo fazių pasiskirstymo, išskiriamos į du tipus: vanduo – aliejus – vanduo (V/A/V) emulsijos, kuriose vandens lašeliai yra pasiskirstę aliejaus fazėje ir ši, susidariusi emulsija yra disperguota išorinėje vandens fazėje, bei aliejus – vanduo – aliejus (A/V/A) emulsijos, kur aliejaus lašeliai pasiskirstę vandens fazėje, o ši pradinė emulsija disperguota išorinėje aliejaus fazėje (žr. 1 pav.) [7].



1 pav. Scheminis: 1) paprastųjų ir 2) dvigubųjų emulsijų vaizdas: a - vanduo/aliejuje, b – aliejus/vandenyje, c – vanduo/aliejus/vanduo, d – aliejus/vanduo/aliejus emulsijos [8].

Emulsijos pagal dalelių dydį, gali būti klasifikuojamos į tris grupes: makroemulsijos, mikroemulsijos ir nanoemulsijos. Makroemulsijos yra tokios sistemos, kuriose dalelių dydis svyruoja tarp 0,1 – 100 μm . Tokio dydžio dalelės išsklaido šviesos spindulius, todėl gauta emulsija būna baltos spalvos. Mikroemulsijų dalelių dydis svyruoja apie 200 nm. Šios emulsijos yra permatomos, mažo klampumo ir termodinamiškai stabilios [9]. Jų stabilumą lemia labai mažas dalelių paviršiaus įtempis ($10^{-1} - 10^{-2}$ mN/m) ir pakankamai mažas dalelių dydis [10]. Trečiajai grupei yra priskirtos nanoemulsijos, kuriose vidutinis dalelių diametras yra 20-200 nm. Santykinai mažas dalelių dydis ir regimojo spektro optinis bangų ilgis nulemia tai, kad nanoemulsijos yra optiškai skaidrios net esant dideliame kontrastui tarp dalelių pasiskirstymo ir lūžio rodiklio [11, 12]. Tačiau, kai dalelių dydis yra artimas 80 nm, pastebimas nežymus nanoemulsijų drumstumas [13], dalelių dydžiui esant daugiau kaip 80 nm ir vis dar nanoskalės ribose, nanoemulsijos yra baltos. Taip pat nanoemulsijos priešingai, nei mikroemulsijos, nėra termodinamiškai stabilios [8].

1.2. Emulsijų stabilizavimas

Siekiant užtikrinti dvigubų emulsijų stabilumą yra labai svarbu parinkti tinkamus emulsiklius [14]. Tokių emulsijų stabilizavimui yra naudojami du skirtingi emulsikliai – lipofilinis, kuris stabilizuoja V/A emulsiją, ir hidrofilinis, kuris stabilizuoja aliejaus lašelius V/A/V emulsijoje. Dėl skirtingų emulsiklių panaudojimo, atsiranda įvairios sąveikos tarp molekulių, kurios nulemia dvigubų emulsijų stabilumą [15]. Lipofilinis emulsiklis gali absorbuotis ne tik

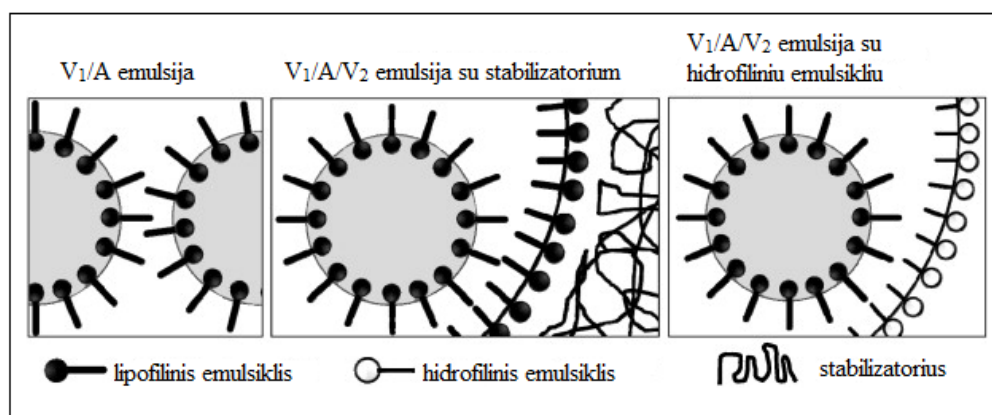
tarpfazyje tarp vidinės vandens fazės ir aliejaus, bet taip pat papildomai gali padengti tarpfazį ir tarp aliejaus lašelių ir išorinės vandens fazės. Tuomet lipofilinis emulsiklis konkuruoja su hidrofiliniu emulsikliu, esančiu išorinėje vandens fazėje ir dėl šios konkurencinės adsorbcijos vidiniai vandens ir aliejaus lašeliai gali destabilizuotis [15]. Taip pat, dėl vykstančios molekulinės sąveikos tarp dviejų skirtingų emulsiklių, gali sumažėti pačių emulsiklių gebėjimas stabilizuoti emulsijas. Atliekant įvairius tyrimus buvo nustatyta, kad hidrofiliniai emulsikliai gali pereiti į vidinius vandens fazės lašelius ir taip paveikti emulsijų stabilumą [16]. Tad yra labai svarbu parinkti tinkamus emulsiklius ir jų kiekius norint stabilizuoti emulsijas.

Emulsijų stabilizavimui naudojami emulsikliai ir stabilizatoriai gali būti klasifikuojami į keturias grupes [17]. Pirmai grupei priskiriami nepaviršinio aktyvumo jonai, kurie gali absorbuotis ant lašelių paviršiaus palengvindami emulsavimo procesą, nepastebint paviršiaus įtempio pokyčių. Tačiau esant atitinkamoms sąlygoms, kai kurie jonai gali sudaryti nedidelį elektrostatinį barjerą tarp greta esančių dispersinės fazės lašelių ir taip prisidėti prie emulsijos stabilizavimo. Antrajai grupei yra priskiriamos nepaviršinio aktyvumo koloidinės kietos dalelės (pvz. silicio), kurios absorbuojasi ant lašelių paviršiaus sudarydamos tarp jų fizinį barjerą ir taip galinčios atitolinti ar sustabdyti koalescencijos procesą. Trečiajai grupei yra priskiriamos klasikinės monomerinės paviršiaus aktyviosios medžiagos, tokios kaip natrio dodecilsulfatas, kurios sumažina paviršiaus įtempimą ir padidina emulsijų stabilumą. Ketvirtoji grupė: polimerinės paviršiaus aktyviosios medžiagos. Šios medžiagos ne tik sumažina paviršiaus įtempimą, bet ir skatina erdvinę ir elektrostatinę sąveiką, pakeičia sistemos klampą ar elastingumą, taip pagerindamos emulsijų stabilumą [8].

1.3.Emulsijų stabilizavimas biopolimerais

Biopolimerai, tokie kaip baltymai ar polisacharidai, yra puikus natūralių emulsiklių ar stabilizatorių pavyzdys. Tradiciškai jie naudojami maisto pramonėje, taip pat juos galima panaudoti stabilizuojant įvairias farmacines emulsijas [18]. Dauguma baltymų gali būti naudojami kaip emulsikliai dėl jų gebėjimo absorbuotis vandens-aliejaus tarpfazyje ir gebėjimo padidinti emulsijos stabilumą [19]. Daugelis polisacharidų elgiasi kaip emulsijų stabilizatoriai, nes formuoja išstęstinį tinklą nepertraukiamoje vandens fazėje, kuri tokiu būdu tampa labai klampi ir netgi gali suformuoti gelį [20]. Emulsiklio ir stabilizatoriaus emulsijų stabilizavimo mechanizmas pateiktas 2 paveiksle. Derinant baltymų ir polisacharidų savybes pagal atitinkamas sąlygas (koncentracija, pH, temperatūra, joninė jėga, baltymų-polisacharidų santykis) taip pat galima padidinti emulsijų stabilumą [21]. Baltymų-polisacharidų kompleksas gali susidaryti atsirandant kovalentiniais ryšiams tarp biopolimerų molekulių ar esant elektrostatinei sąveikai [22].

Nustatyta, kad emulsijų stabilizavimo ar destabilizavimo procesai naudojat biopolimerus priklauso nuo įvairių parametru, tokiu kaip polimero prigimtis ir būvis, koncentracija, pH, joninės jėgos, temperatūra ir emulsavimo procesas. Emulsijas galima paruošti naudojant rotoriaus-statoriaus sistemas, ultragarsą, aukšto slėgio sistemas, fazių inversijos būdą ar mikroporas [23].



2 pav. Scheminis emulsijų stabilizavimo vaizdas: V₁/A emulsijoje, V₁/A/V₂ emulsijoje su stabilizatoriumi, V₁/A/V₂ emulsijoje su emulsikliu [24].

1.3.1. Baltymais stabilizuotos emulsijos

Baltymai yra natūraliai gamtoje randamos iš aminorūgščių sudarytos organinės medžiagos, kurios ne tik yra reikalingos ir naudingos žmonėms, bet taip pat gali būti panaudotos emulsijoms stabilizuoti. Dauguma baltymų gali absorbuotis dispersinės fazės lašelių paviršiuje, taip sumažindami paviršiaus įtempimą ir padidindami emulsijų stabilumą [25]. Ir nors yra žinoma, kad net ir maži sintetinių paviršiaus aktyviųjų medžiagų kiekiai gali efektyviau sumažinti paviršiaus įtempimą, tačiau baltymai nulemia geresnį termodinaminį ir kinetinį emulsijų stabilumą [26]. Baltymų absorbcija fazių paviršiuje susideda iš trijų pagrindinių etapų: baltymų difuzijos nuo nepertraukiamos fazės ant tarpfazio paviršiaus, baltymų molekulių adsorbcijos ir baltymų molekulės struktūrinių pokyčių. Vykstant adsorbcijos procesui, hidrofobinė baltymų dalis yra nukreipiama į aliejaus fazę, o hidrofilinė į vandens fazę [8].

Emulsijų stabilumui užtikrinti įprastai yra naudojama 1%-3% baltymų. [26]. Baltymų efektyvumas stabilizuoti emulsijas gali būti pagerintas naudojant fizines, fermentines ar genetines baltymų modifikacijas [27]. Dažniausiai emulsijoms stabilizuoti naudojami baltymai: kazeinas, išrūgų baltymai, sojų ar žirnių baltymai bei želatina [8].

Pieno globuliniai išrūgų baltymai yra sudaryti iš α -laktoalbumino, β -laktoglobulino ir kitų smulkių baltymų (imunoglobulino, serumo albumino, proteozopeptonų) mišinio, kurie nėra tokie lankstūs kaip kazeinas. Šiandien išrūgų baltymai yra plačiai naudojami emulsijoms stabilizuoti [28]. Kaip pavyzdį galima paminėti Ye's (2010) [29] atliktus tyrimus, kurių metu buvo nustatyta,

kad yra įmanoma stabilizuoti emulsijas naudojant β -laktoglobuliną, kai pH 7. Stabilizavimo metu baltymai, turintys neigiamą krūvį, sukelia stiprų elektrostatinį pasipriešinimą tarp dispersinės fazės lašelių.

1.3.2. Polisacharidais stabilizuotos emulsijos

Polisacharidai yra žinomi dėl jų vandens surišimo ir tirštėjimo savybių, kurios pasireiškia dėl jų hidrofiliškumo ir didelės molekulinės masės. Polisacharidai yra skirstomi į dvi grupes pagal gebėjimą stabilizuoti emulsijų lašelius. Pirmajai grupei priskiriami nesiaisorbuojantys polisacharidai, kurie neturi arba turi labai mažą paviršaus aktyvumą ir emulsijų stabilumą padidina stingdami arba keisdami nepertraukiamos vandens fazės klampumą, kuri sulėtina lašelių judėjimą ir susidūrimą [30]. Antrajai grupei priskiriami polisacharidai pasižymi paviršiniu-tarpfaziniu aktyvumu. Jie pirmiausia stabilizuoja emulsiją, absorbuodamiesi aliejaus lašelių paviršiuje, taip išvengiant lašelių flokuliacijos ar koalescencijos, veikiant elektrostatinėms ir/ar erdvinėms stūmos jėgoms [31]. Emulsijoms stabilizuoti naudojami polisacharidai: ksantano guma, alginatas, karageninas, chitozanas, karboksimetilceliuliozė (KMC), hidroksipropilmetilceliuliozė (HPMC), pektinas [8].

Celiuliozė yra linijinės struktūros didelės molekulinės masės polimeras, sudarytas iš D-gliukozės likučių sujungtų $\beta(1\rightarrow4)$ gliukozidinėmis jungtimis, natūraliai randamas gamtoje, savaime atsinaujinantis ir biologiškai skaidomas. Tačiau dėl polimero grandinėje susidarančių vandenilinių ryšių tarp gliukozės molekulių, celiuliozė nesilydo ir labai sunkiai tirpsta įprastuose tirpikliuose [32]. Todėl siekiant panaudoti celiuliozę maisto pramonėje, ji dažniausiai yra paverčiama į atitinkamus celiuliozės darinius, tokius kaip karboksimetilceliuliozė. KMC yra ilgos linijinės grandinės, vandenyje tirpus polisacharidas. Išgryninta KMC yra baltos, baltai kreminės spalvos, beskoniai, bekvapiai, birūs milteliai [33]. Karboksimetilceliuliozė yra naudojama kaip stabilizatorius ar apsauginė koloidinė medžiaga popieriaus gamybos, farmacijos, kosmetikos ar maisto pramonės srityse [34].

1.4. Emulsijų destabilizacijos mechanizmai

Emulsijų paruošimo metu yra gerokai padidinamas tarpfazio plotas tarp tolydinės ir dispersinės fazių, todėl žymiai padidėja laisvoji paviršiaus energija. Tam kad sumažėtų tarpfazio paviršiaus plotas ir laisvoji energija, emulsijų fazės yra linkusios palaipsniui atsiskirti ir išsisluoksniuoti. Toks emulsijų nestabilumas pasireiškia įvairiais destabilizacijos mechanizmais: flokuliacija, koalescencija, išsisluoksniavimas, sedimentacija ir disproporcionavimas (Ostwald ripening) (žr. 3 pav.). Pagrindiniais destabilizacijos procesais yra laikoma flokuliacija ir

koalescencija [8]. Flokuliacija, sedimentacija ir išsisluoksniavimas yra grįžtami procesai, o disproporcionavimas ir koalescencija – negrįžtami lašelių padidėjimo procesai [26].

Flokuliacija

Flokuliacija - tai destabilizacijos procesas, kurio metu, veikiant traukos jėgoms, dispersinės fazės dalelės sukimba viena su kita, bet išlieka jų individualios sienelės. Šis reiškinys dažniausiai pasireiškia biopolimerais stabilizuotose emulsijose pagal išstūmimo arba jungimosi flokuliacijos mechanizmus [35]. Išstūmimo flokuliacija gali įvykti esant per didelei biopolimero koncentracijai ar sistemoje esant neabsorbuojamam biopolimerui, kai labai padidėja traukos jėgos tarp dispersinių dalelių ir, osmosinio slėgio poveikyje, biopolimero grandinės dalis yra pašalinama iš srities, kur liečiasi keli emulsijos lašeliai [36]. Tačiau šis mechanizmas nėra būdingas tik biopolimerais stabilizuotose emulsijose. Jį gali sukelti ir mažos neabsorbuojamos paviršiaus aktyviosios medžiagos bei organinės ar neorganinės nanodalelės. Kitas flokuliacijos mechanizmas gali įvykti priklausomai nuo nepertraukiamoje fazėje panaudoto biopolimero būvio ir koncentracijos. Jungiamoji flokuliacija įvyksta, kai biopolimeras absorbuojasi ant dispersinės fazės lašelių ir tuomet polimerai sąveikauja tarpusavyje ir sujungia keletą dispersinės fazės lašelių [37]. Flokuliacija gali šiek tiek atitolinti galutinius emulsijų destabilizavimo procesus. Tai pat, kartais šis procesas yra grįžtamas ir mechaniškai maišant arba purtant emulsija gali atsistatyti į pradinį būvį (susidarę agregatai suardomi).

Koalescencija

Koalescencija - tai procesas, kurio metu emulsijos dispersinės fazės rutulėliai susilieja į didesnius agregatus ir nelieka atskirų sienelių [8]. Paprastosiose A/V ar V/A emulsijose šis reiškinys yra pakankamai lengvai pastebimas ir nustatomas, kai dvigubosiose emulsijose koalescencijos mechanizmas yra sudėtingesnis. Dvigubosiose emulsijose vidinės fazės vandens lašeliai gali pereiti į išorinę vandens fazę ir taip įvykti negrįžtamas destabilizacijos procesas tiek gamybos, tiek emulsijų laikymo metu [38]. Koalescencija priklauso nuo emulsijos gamybos proceso parametrų (pvz. šlyties jėgų), nuo struktūrinių parametrų, tokių kaip dalelių dydis, ir nuo emulsijų gamybai naudojamų medžiagų (pvz. emulsiklio) [39]. A. Schuch su kolegomis (2013) [40] savo darbe nustatė, kad vidinės vandens fazės išsilaisvinimas iš V/A/V emulsijų koalescencijos proceso metu yra susijęs su aliejaus lašelių dydžiu.

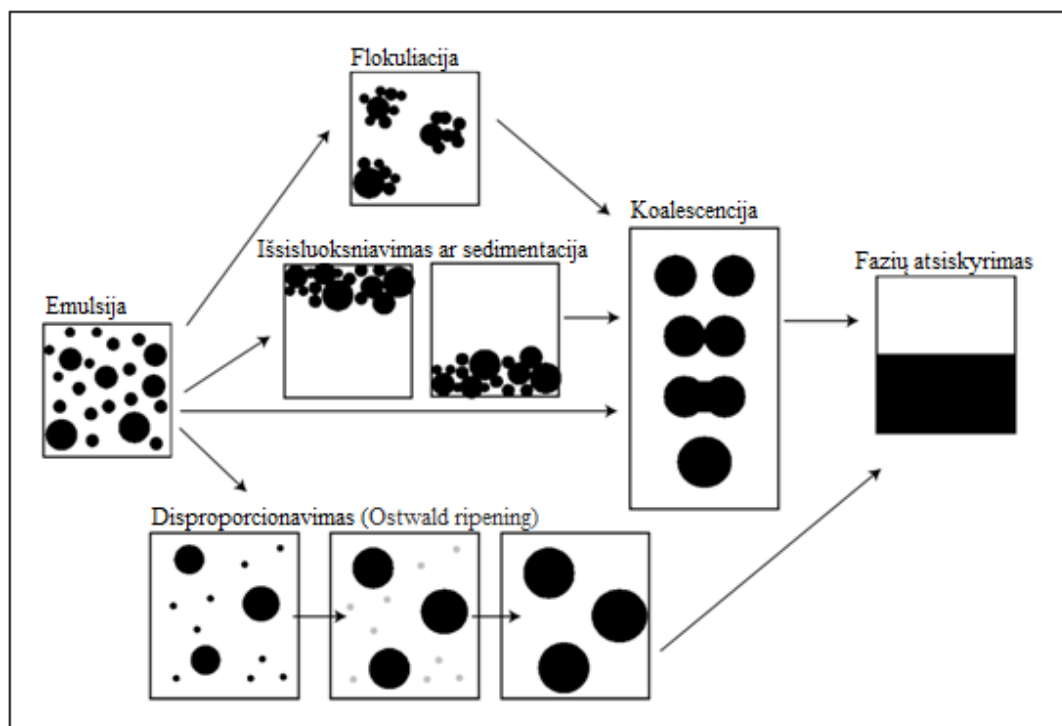
Išsisluoksniavimas ir sedimentacija

Emulsijose taip pat gali įvykti dar pora destabilizacijos procesų, tokių kaip išsisluoksniavimas arba sedimentacija – emulsijos pasidalinimas į dvi dalis (serumo ir riebalų

fazės). Išsisluoksniavimo metu aliejaus fazė pakyla į viršų, o sedimentacijos – aliejaus fazė nusileidžia į emulsijos apačią. Tai priklauso nuo emulsijų gamybai naudojamų nesimaišančių fazių santykinio tankio [8]

Disproporcionavimas (Ostwald ripening)

Disproporcionavimas yra dispersinės fazės molekulių difuzijos procesas per nepertraukiamą fazę, kai kinta dispersinės fazės lašelių dydis. Šis procesas įvyksta, nes molekulės esančios dispersinės fazės lašelių paviršiuje yra labiau nestabilios nei viduje. Todėl nestabilios paviršiaus molekulės pereina į nepertraukiamą fazę ir taip joje padidina laisvų molekulių kiekį, kurios, susidarius pertekliui, nusėda ant didesnių dalelių ir su jomis susilieja. Šio proceso metu mažos dalelės dar labiau mažėja, kol išnyksta, o didelės didėja. Vykstant disproporcionavimui emulsijos suardomos ir atsiskiria į skirtingas fazes [8].

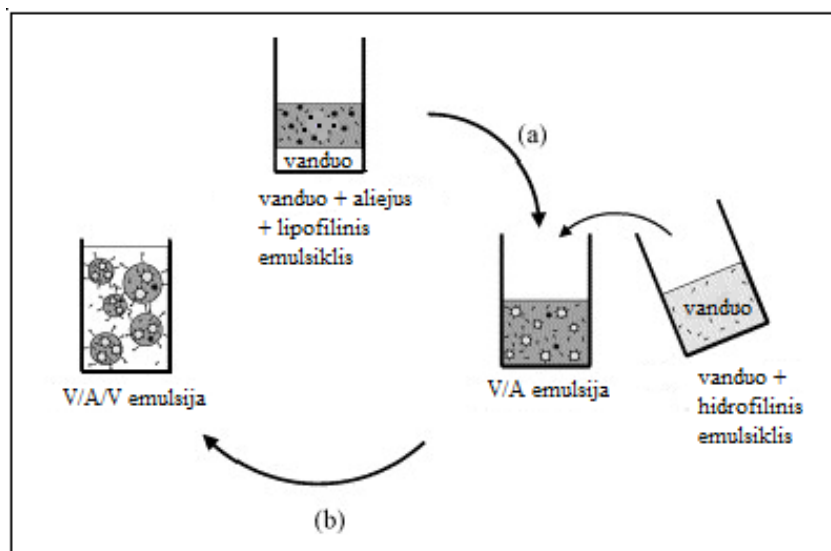


3 pav. Emulsijų destabilizavimo procesų schema [40].

1.5. Dvigubų emulsijų gamybos būdai

Dvigubų emulsijų gamyba susideda iš trijų pagrindinių etapų. Pirmajame etape yra pasirošiamos atskiros vandens (V_1 ir V_2) ir aliejaus (A) fazės, antrojo etapo metu gaunama pirminė emulsija vanduo-aliejuje (V_1/A), o paskutiniojo etapo metu paruošiama dviguba emulsija ($V_1/A/V_2$). Pagrindiniai šių emulsijų gamybos būdai: a) mechaninis sumaišymas (plakimas); b) fazių inversija; c) dviejų pakopų emulsavimas [41].

Dviejų pakopų emulsavimo metu pirminė emulsija ruošiama veikiant didelės šlyties jėgoms, siekiant gauti, kuo daugiau mažų tolygiai pasiskirsčiusių vandens lašelių aliejaus fazėje. Sekantis emulsavimo etapas atliekamas kuo švelnesnėmis sąlygomis, siekiant išvengti V_1 vandens lašelių suirimo aliejaus fazėje. Dviejų pakopų emulsavimo schema pavaizduota 4 paveiksle. Pirmo emulsavimo metu (V_1/A) vandens lašelių dydis gali būti kontroliuojamas keičiant emulsiklio tipą ir koncentraciją arba homogenizavimo sąlygas (intensyvumą, trukmę) [42].



4 pav. V/A/V emulsijos paruošimas dviejų pakopų emulsavimo būdu: a) veikiant didelės šlyties jėgoms, b) veikiant mažos šlyties jėgoms [43].

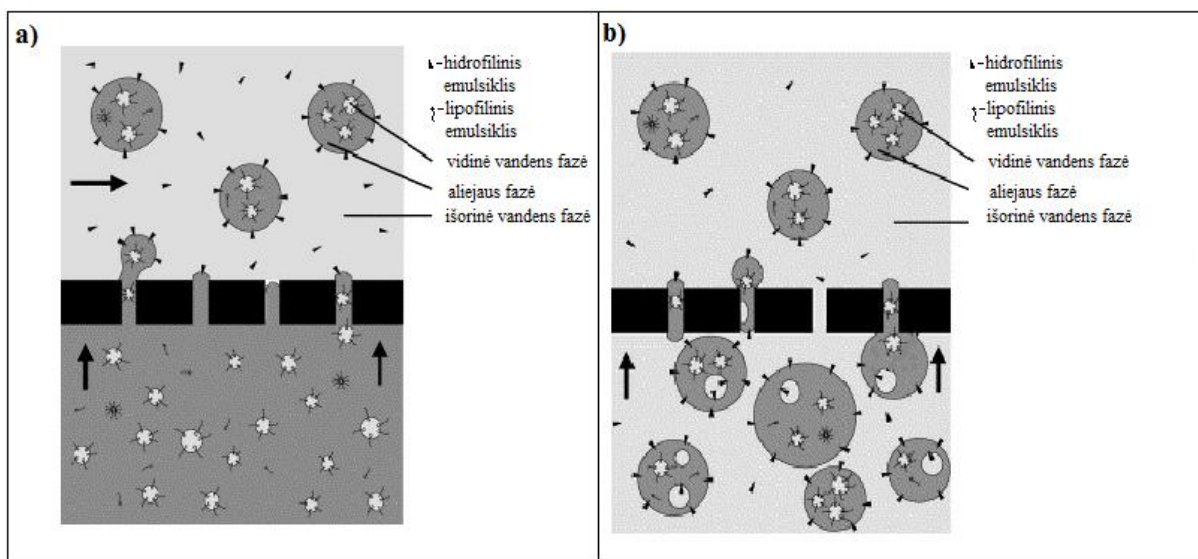
Dvigubų emulsijų gamybai dažniausiai yra naudojami mechaninio maišymo aparatai, rotoriaus-statoriaus sistemos ar aukšto slėgio homogenizatoriai [4]. Įvairūs maišytuvai yra vieni pirmųjų, kurie buvo naudojami emulsijų gamybai. Dispersinė fazė suardoma veikiant didelės šlyties jėgoms bei gaunamos didelės energijos sąnaudos. Naudojant rotoriaus-statoriaus sistemas, tokias kaip didelio greičio homogenizatoriai ar koloidiniai malūnai, didelės šlyties jėga yra sukuriama tarp rotoriaus ir statoriaus paviršių. Naudojant aukšto slėgio homogenizatorių emulsija yra praleidžiama pro siaurą antgalį ir emulsavimas įvyksta dėl susidariusios turbulencijos ir kavitacijos efekto. Tačiau naudojant šias emulsavimo sistemas labai sunku užtikrinti emulsijų stabilumą, kontroliuoti dalelių dydį ir jų pasiskirstymą [43].

Dvigubų emulsijų gamybai taip pat gali būti pritaikomos membraninio emulsavimo sistemos, kurios yra vis labiau tyrinėjamos, tobulinamos ir naudojamos emulsijų gamybai [44]. Taikant šias gamybos sistemas yra naudojamos mažos šlyties jėgos, gaunamos mažesnės energijos sąnaudos, daug lengviau kontroliuoti dalelių dydį bei dalelių pasiskirstymą, pats procesas vykdomas daug švelnesnėmis sąlygomis [43]. Membraninio emulsavimo sistemas, pagal veikimo mechanizmą, galima išskirti į dvi grupes: priešinio srauto membraninis emulsavimas ir pradinės

emulsijos membraninis emulsavimas [45]. Scheminis, V/A/V emulsijų gamybos su šiomis sistemomis, vaizdas pateiktas 5 paveiksle.

Priešinio srauto membraninio emulsavimo metu paruošta pirminė emulsija (V/A) spaudžiama per membranos poras. Membranos paviršiuje susidarę lašeliai patenka į išilgai membranos paviršiaus tekančią tolydinę vandens fazę (V_2) [46]. Per poras perėję dispersinės fazės lašeliai pasidengia tolydinėje vandens fazėje ištirpusia paviršiaus aktyviaja medžiaga ir atitrūksta nuo membranos. Susidariusių lašelių dydis priklauso nuo veikiančios jėgos. Šis emulsavimo būdas yra ypač naudingas antrojo emulsavimo etapo metu, siekiant užkirsti dvigubų emulsijų lašelių suirimą, kas galėtų nulemti emulsijos inversiją į viengubą A/V emulsiją [43].

Taikant pradinės emulsijos membraninį emulsavimą, pradinė dviguba emulsija, kurioje yra labai didelės dalelės ir netolygus jų pasiskirstymas, yra praleidžiama pro membranos poras, esant santykinai nedideliui slėgiui. Pereidami pro membranos poras emulsijos lašeliai suskaidomi į mažesnius ir gaunamas vienodesnis dalelių pasiskirstymas [47]. Taip pat taikant šį metodą gaunamos mažesnės energijos sąnaudos ir pasiekiamas didesnis gamybos efektyvumas [48].



5 pav. Scheminis dvigubos emulsijos gamybos būdas naudojant: a) priešinio srauto membraninio emulsavimo ir b) pradinės emulsijos membraninio emulsavimo metodus.

Rodyklės rodo skysčių tekėjimo kryptį [43].

1.6. Dvigubų emulsijų panaudojimas

Dvigubos emulsijos dėl savo savybių, tokių kaip gebėjimas apgaubti ir apsaugoti įvairias medžiagas ir kontroliuoti šių medžiagų išsiskyrimą iš vidinės fazės į išorinę, yra plačiai naudojamos farmacijos, kosmetikos ir kitose pramonės šakose [3]. Taip pat šios emulsijos turi didelį panaudojimo potencialą maisto pramonėje. Jos tinka mažo kaloringumo ir sumažinto riebumo produktams gaminti, maskuoti skonį, užkirsti kelią oksidacijai, pagerinti produkto

juslines savybes, kontroliuoti jautrių junginių išlaisvinimą valgant ir virškinimo metu [49]. Šiandien yra plačiai tyrinėjama ir bandoma dvigubas emulsijas pritaikyti funkcionaliojo maisto gamyboje, siekiant įkapsuliuoti ir apsaugoti jautrius, biologiškai aktyvius junginius [50].

Nepaisant didelio dvigubų emulsijų panaudojimo potencialo maisto produktų gamyboje, realus šių sistemų panaudojimas naujų produktų plėtrai yra labai mažas. Yra tik keletas pavyzdžių, kai buvo sukurti pieno produktai, kuriuose dalis pieno riebalų buvo pakeisti dviguba emulsija, siekiant pagerinti maistinę kokybę, mažinant pieno riebumą ir gerinant sočiųjų/nesočiųjų riebalų santykį [51]. Taip pat buvo pagaminti sūrio produktai, su dvigubomis emulsijomis, siekiant sumažinti riebalų kiekį bei buvo nustatytos tekstūros savybės, kurios labai panašios kaip ir įprastu būdu pagamintų sūrių [52].

Mėsos produktai yra plačiai, dažnai ir gausiai vartojami visame pasaulyje. Mėsa yra svarbus maistinių medžiagų (baltymų, mineralinių medžiagų, vitaminų) šaltinis, nustatyta, kad mitybos požiūriu mėsos baltymai yra vertingesni nei augaliniai, dėl nepakeičiamų amino rūgščių kiekio. Tačiau dauguma žmonių mano, kad mėsa ir mėsos produktai yra nesveiki vartoti. Mėsos ir mėsos produktų riebalai yra sudaryti iš didelio kiekio sočiųjų riebalų rūgščių ir cholesterolio. Sveikatos apsaugos organizacijos nuolat rekomenduoja didinti sveikų riebalų suvartojimą ir jų santykį maiste, kas skatina naujų mėsos produktų kūrimą, kuriuose siekiama gyvūninės kilmės riebalus pakeisti augalinės kilmės riebalais [53]. Tokių produktų kūrimui gali būti panaudojamos dvigubos emulsijos. Jimenez-Colmenero (2013) [6] buvo vienas pirmųjų, kuris V/A/V emulsijas, paruoštas su augaliniu aliejumi, panaudojo mėsos sistemose, siekiant pakeisti kiaulienos riebalus ir išsaugoti kontroliniam gaminiui būdingas savybes. Freire, Bou, Cofrades, Solas ir Jimenez-Colmenero (2015) tyrė „Frankfurter“ dešrelių savybes, kuriose kiaulienos riebalai taip pat buvo pakeisti dvigubomis emulsijomis, paruoštomis su augaliniu aliejumi.

Naudojant dvigubas emulsijas naujų mėsos produktų gamyboje galima sumažinti riebalų kiekį ir pakeisti sočiasiąsias riebalų rūgštis nesočiosiomis. Tačiau panaudojus šias sistemas yra gaunamas šviesesnės spalvos produktas [6], lyginant su įprastu gaminiu. Atsižvelgiant į tai, kad dvigubų emulsijų vidinėje vandens fazėje gali būti įkapsuliuoti įvairūs junginiai ir norint išspręsti su spalva kilusias problemas, gali būti pagaminamos dvigubos emulsijos, kurių vidinėje vandens fazėje yra įterptas burokėliuose esantis raudonas pigmentas.

Burokėlis yra *Beta vulgaris* rūšies šakniavaisis, kuris plačiai auginamas Amerikoje, Europoje ir Azijoje [54]. Šio augalo intensyvią raudoną spalvą nulemia jame esantis pigmentas betaninas. Jis yra naudojamas kaip natūralus maisto dažiklis maisto pramonėje, o be to pasižymi ir teigiamu poveikiu žmonių sveikatai, veikia kaip antioksidantas ir turi priešuždegiminių savybių [55]. Tačiau reikia pažymėti, kad šis pigmentas yra jautrus įvairiems aplinkos veiksniams, tokiems kaip aukšta temperatūra, šviesa, oras (deguonis), aukštas arba labai žemas pH ir didelis vandens

aktyvumas [56]. Todėl įkapsuliuavus šį pigmentą vidinėje V/A/V emulsijos vandens fazėje ne tik suteikiama emulsijai rausva spalva, bet ir apsaugomas pigmentas nuo išorinių aplinkos veiksnių ir užtikrinamas jo stabilumas.

1.7. Komponentų atpalaidavimas iš dvigubų emulsijų virškinimo metu

Maisto produktai yra struktūriškai sudėtingos kelių komponentų sistemos, turinčios skirtingas fizikochemines ir juslines savybes (išvaizdą, kvapą, skonį, tekstūrą ir stabilumą), kurios priklauso nuo pagrindinių maisto komponentų (baltymų, riebalų, angliavandenių, vandens, mineralinių medžiagų) rūšies, kiekio ir tarpusavio sąveikos [57]. Šių komponentų virškinimo procesai yra plačiai išstudijuoti tiek *in vitro*, tiek *in vivo* sistemose. Norint panaudoti dvigubas emulsijas maisto pramonėje, funkcionaliųjų maisto produktų gamyboje, taip pat labai svarbu išanalizuoti ir suprasti šių sistemų pokyčius virškinimo metu. Dvigubose emulsijose vienas pagrindinių komponentų yra lipidai. Jų virškinimas ir absorbcija virškinamajame trakte yra sudėtingas procesas, kuris apima daugelį cheminių, fizikinių ir biocheminių pokyčių [58].

Burnoje emulsija yra sumaišoma su seilėmis, kurios susideda iš 99% vandens ir 1% baltymų ir mažos molekulinės masės druskų. Čia emulsija atvėsinama arba sušildoma iki kūno temperatūros, įvyksta pH pokyčiai bei veikiant mechaninėms jėgoms pasikeičia lipidų fizinė būseną ir paviršiaus savybės. Po kelių sekundžių emulsija yra praryjama ir patenka į skrandį, kuriame dėl peristaltinio judėjimo susimaišo su labai rūgštinėmis (pH 1-3) skrandžio sultimis, kuriose yra mineralinių medžiagų, polimerų ir fermentų. Skrandyje įvyksta emulsijų struktūriniai pokyčiai, tokie kaip flokuliacija ir koalescencija bei tarpfazio sluoksnių pokyčiai. Taip pat vyksta virškinimo procesai veikiant proteolitiniams ir lipolitiniams fermentams. Iš skrandžio apvirškinta emulsija patenka į plonąją žarnyną. Plonajame žarnyne lipidai susimaišo su šarminiais žarnyno skysčiais, kuriuose yra lipazės, kolipazės, proteazės fermentų, tulžies druskų bikarbonatų ir fosfolipidų. Šioje virškinimo trakto dalyje įvyksta galutinis maistinių medžiagų virškinimo procesas iki monomerinių medžiagų ir jų pasisavinimas. Veikiant proteinazėms ir karboksipeptidazėms baltymai suskaidomi iki aminorūgščių, o veikiant lipolitiniams fermentams (lipazei, kolipazei, fosfolipazei) riebalai hidrolizuojami iki digliceridų, monogliceridų ir laisvų riebalų rūgščių (LRR) [58].

In vitro virškinimo metodai lyginant su *in vivo* virškinimo metodais yra greičiau atliekami, pigesni, reikalaujantys mažiau išteklių ir yra priimtinesni, todėl plačiai taikomi tiriant ne tik maisto produktų, jų komponentų, bet ir emulsijų pokyčius skrandyje ir plonajame žarnyne [59]. *In vitro* virškinimo metu siekiama, kuo tiksliau atkurti sąlygas būdingas *in vivo* virškinimui. Paprastai *in vitro* tyrimai susideda iš trijų etapų: virškinimo imitavimo burnoje, skrandyje ir plonojoje žarnoje. Priklausomai nuo tyrimo tikslų naudojamos visos sistemos dalys kartu arba kiekviena iš jų atskirai.

Emulsijų *in vitro* virškinimo tyrimams yra plačiai naudojamas „pH-stat“ metodas. Šis metodas yra pagrįstas susidariusių LRR matavimu, kurios atsipalaiduoja vykdant imituojamąjį lipidų virškinimą plonajame žarnyne. Bandinys dedamas į reakcijos kamerą, kurioje jau yra sudėti atitinkamų koncentracijų virškinimo komponentai, tokie kaip lipazė, tulžies druskos bei mineralinės medžiagos, ir palaikoma pastovi temperatūra (37 °C). Susidariusios LRR yra neutralizuojamos šarmo tirpalu ir fiksuojama sunaudoto šarmo kiekio priklausomybė nuo laiko. „pH-stat“ metodas yra gana paprastas ir greitai atliekamas bei leidžia kiekybiškai palyginti skirtingų lipidų rūšių pokyčius virškinimo metu, esant tokioms pat sąlygoms. Todėl gali būti taikomas tiriant įvairių fizikocheminių veiksnių įtaką lipidų virškinimui, tokių kaip lipidų sudėtis, dalelių charakteristikos (dalelių dydis, pasiskirstymas ir būklė), paviršiaus savybės [60].

2. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Mokslinėje literatūroje galime rasti duomenų apie dvigubų emulsijų stabilizavimą ir įvairius jų gamybos būdus. Neretai yra pasirenkami sintetiniai emulsikliai šioms sistemoms stabilizuoti, tačiau vis plačiau tiriami ir natūralūs emulsikliai, tokie kaip baltymai ir polisacharidai [26]. Nors galime rasti nemažai duomenų apie pastarųjų junginių įtaką stabilizavimo procesams, tačiau ši sritis vis dar reikalauja naujų tyrimų ir atradimų. Siekiama ne tik nustatyti emulsiklių veikimo mechanizmus, bet ir įvertinti tarpusavio sąveiką bei efektyvumą. Emulsijoms stabilizuoti labai svarbu parinkti tinkamas, visų gamybai naudojamų komponentų, koncentracijas, nustatyti aplinkos sąlygas (temperatūra, pH, mechaninės jėgos ir kt.) [21]. Be tinkamų komponentų parinkimo, taip pat labai svarbus yra emulsijų gamybos būdas. Vis dažniau atsisakoma emulsijų paruošimo naudojant didelės šlyties jėgas ir ieškoma naujų, švelnesnių sąlygų reikalaujančių metodų. Aukšto slėgio homogenizatoriai keičiami membraniniais prietaisais, lyginamas jų efektyvumas ir pritaikomumas emulsijų gamybai [47]. Naudojant natūralius emulsiklius galime ne tik sėkmingai stabilizuoti emulsijas, bet taip pat sukurti sistemas, kuriose visi komponentai yra maistiniai. Tai leidžia emulsijas panaudoti maisto pramonės srityje, kuriant sveikesnius maisto produktus, kuriuose yra įkapsuliuoti biologiškai aktyvūs junginiai, sumažintas riebalų kiekis ar pakeistas jų profilis, pagerintas gaminio skonis bei išvaizda [49]. Yra tik keletas ankstesnių tyrimų, kur buvo vertinamos mėsos sistemų, praturtintų dvigubomis emulsijomis, savybės [6].

Apžvelgus literatūrą ir išsiaiškinus aktualias temas išsikeltas darbo tikslas: naudojant skirtingas išrūgų baltymų izoliato ir karboksimetilceliuliozės koncentracijas pagaminti stabilias dvigubas emulsijas (V/A/V), jų vidinėje vandens fazėje įkapsuliuoti burokėlių sultis ir nustatyti dvigubų emulsijų panaudojimo galimybes mėsos sistemose. Tikslo įgyvendinimui iškeliami uždaviniai:

1. Naudojant mechaninio maišymo rotorius-statorius sistemą pagaminti dvigubas emulsijas su skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis išorinėje vandens fazėje (V_2) ir nustatyti jų fizikines savybes;
2. Įvertinti IBI ir KMC stabilizuotų dvigubų emulsijų įtaką modelinių mėsos sistemų, kuriose gyvūniniai riebalai pakeisti augaliniais riebalais, cheminei sudėčiai ir technologiniams rodikliams.
3. Palyginti IBI stabilizuotų dvigubų emulsijų fizikines savybes, jų gamybai naudojant mechaninio maišymo statoriaus-rotoriaus sistema metodą bei membraninį metodą.
4. Nustatyti IBI stabilizuotų dvigubų emulsijų gamybos sąlygų įtaką jų vidinėje vandens fazėje įkapsuliuotų burokėlių sulčių įkapsuliuavimo efektyvumui, emulsijų fizikinėms savybėms ir jų pokyčiui laikymo metu;

5. Nustatyti IBI stabilizuotų dvigubų emulsijų su vidinėje vandens fazėje įkapsuliuotomis burokėlių sultimis įtaką mėsos gaminių technologiniams rodikliams.
6. Ištirti IBI stabilizuotų dvigubų emulsijų su vidinėje vandens fazėje įkapsuliuotomis burokėlių sultimis virškinimo procesus, taikant imituojamąjį plonosios žarnos *in vitro* virškinimą.

3. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI

Tyrimai atlikti Kauno technologijos universitete (KTU), Cheminės technologijos fakultete, Maisto mokslo ir technologijos katedroje bei Wageningeno universitete, Nyderlanduose.

3.1. Medžiagos

Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų IBI ir KMC, paruošimui naudotos medžiagos: vidinės ir išorinės vandens fazių paruošimui naudotas distiliuotas vanduo; hidrofiliniai emulsikliai – išrūgų baltymų izoliatas (IBM), kuriame yra $89,7 \pm 0,3\%$ baltymų, $6,0 \pm 0,1\%$ drėgmės, $4,0 \pm 0,1\%$ pelenų, $0,2\%$ riebalų ir $0,1\%$ laktozės (Lacprodan DI-9213, Arla Foods Ingredients Group, Danija) ir karboksimetilceliuliozė (KMC) ($\geq 99,5\%$, Carl Roth GmbH + Co. KG, Frankfurtas, Vokietija); lipofilinis emulsiklis – poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR) (Danisco, Kopenhaga, Danija); naudotas rafinuotas rapsų aliejus („Golden Oil“); natrio chloridas (NaCl) ($\geq 99\%$, ReagentPlus, Sigma-Aldrich Co. LLC, Sent Luisas, JAV).

Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, paruošimui naudotos medžiagos: kiaulienos nugarinė ir kiaulienos lašiniai pirkti prekybos centre Maxima (Kaunas, Lietuva); distiliuotas vanduo; natrio chloridas (NaCl) ($\geq 99\%$, ReagentPlus, Sigma-Aldrich Co. LLC, Sent Luisas, JAV); natrio nitritas (NaNO_2) ($\geq 99\%$, ReagentPlus, Sigma-Aldrich Co. LLC, Sent Luisas, JAV).

Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, paruošimui naudotos medžiagos: vidinės ir išorinės vandens fazių paruošimui naudotas distiliuotas vanduo (MilliQ, Nyderlandai); aliejaus fazei saulėgražų aliejus pirktas vietinėje parduotuvėje (Wageningen, Nyderlandai); hidrofilinis emulsiklis – išrūgų baltymų izoliatas (IBM), kuriame yra $89,7 \pm 0,3\%$ baltymų, $6,0 \pm 0,1\%$ drėgmės, $4,0 \pm 0,1\%$ pelenų, $0,2\%$ riebalų ir $0,1\%$ laktozės (Lacprodan DI-9213, Arla Foods Ingredients Group, Danija); lipofilinis emulsiklis – poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR) (Danisco, Kopenhaga, Danija); kaip pigmento - betanino šaltinis buvo naudotos burokėlių sultys, kurių paruošimui pasirinkti burokėliai, pirkti prekybos centre Maxima (Kaunas, Lietuva).

Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotomis IBI, paruošimui naudotos medžiagos: liesa kiaulienos mėsa ir kiaulienos lašiniai pirkti vietiniame prekybos centre (Wageningen, Nyderlandai); distiliuotas vanduo; natrio chloridas (NaCl) ($\geq 99\%$, ReagentPlus, Sigma-Aldrich Co. LLC, Sent Luisas, JAV).

Burokėlių sultys

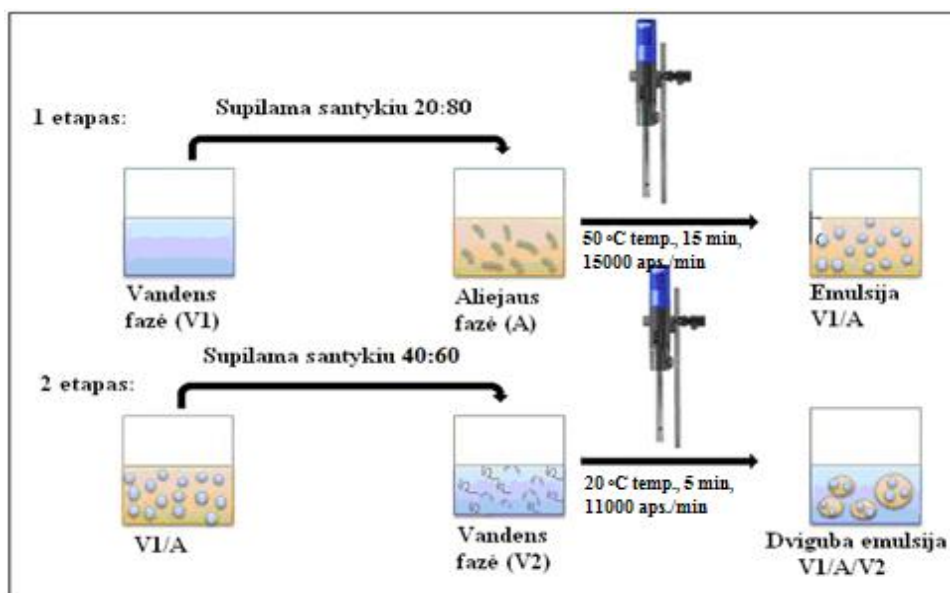
Ruošiant liofilizuotas burokėlių sultis burokėliai (pirkti prekybos centre Maxima (Kaunas, Lietuva)) nuplaunami, supjaustomi į nedidelius gabalėlius ir išspaudžiamos sultys, naudojant

lėtaeigę sulčiaspaudę Zelmer JP 1500 (Varšuva, Lenkija). Gautos sultys filtruojamos, kad būtų atskirtos likusios stambios dalelės, ir užšaldomos $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Sušaldytos sultys džiovinamos liofilizatoriuje (Sublimator 3x4x5 Zirbus technology, Bad Grund, Vokietija). Temperatūra sublimacinio džiovinimo kondensatoriuje $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Gauti liofilizuotų burokėlių sulčių milteliai surenkami į sandarų stiklinį indą ir laikomi tamsioje ir susoje vietoje.

3.2.Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, paruošimas

Dvigubų emulsijų gamyba susideda iš kelių etapų. Pradžioje pasirošiamos atskiros vandens (V_1 ir V_2) ir aliejaus (A) fazės, po to homogenizuojama pirminė emulsija vanduo – aliejuje (V_1/A) ir paskutinis etapas galutinės dvigubos emulsijos homogenizavimas ($V_1/A/V_2$). Homogenizuojama naudojant Ultra Turrax IKA T-18 Basic homogenizatorių (Štaufenas, Vokietija). $V_1/A/V_2$ emulsijų paruošimo schema pateikta 6 paveiksle.

1. V_1 fazė. Distiliuotame vandenyje ištirpinama 0,50 % druskos (NaCl) ir gaunamas 0,50 % druskos (NaCl) tirpalas (kambario temperatūroje - $\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$).
2. A fazė. 6 % lipofilinio emulsiklio PGPR tirpinama aliejuje (rafinuotame rapsų) $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 15 minučių ir atvėsinama iki kambario temperatūros ($\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$).
3. V_2 fazė. Paruošiami trijų skirtingų KMC koncentracijų (0,25%, 0,30%, 0,35%) ir trijų skirtingų IBI koncentracijų (0,50%, 1,00% ir 1,50%) tirpalai. Atitinkami KMC ir IBI kiekiai tirpinami distiliuotame vandenyje 2 valandas, naudojant magnetines maišykles, tam kad būtų vykdomas nuolatinis maišymas.
4. V_1/A emulsija. Pipete į aliejaus (A) fazę lašinama vandens (V_1) fazė (vandens ir aliejaus fazių svorių santykis 20:80) ir homogenizuojama $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 15 min. 15000 aps./min greičiu. Gauta pirminė emulsija atvėsinama iki kambario temperatūros ($\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$).
5. $V_1/A/V_2$ emulsija. V_1/A emulsija lėtai pilama į vandens V_2 fazę santykiu 40:60 (svorių santykis). Homogenizuojama 11000 aps./min greičiu 5 minutes, kambario temperatūroje ($\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$).



6 pav. V/A/V emulsijų paruošimo schema [61].

3.3. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, paruošimas

Modelinės mėsos sistemos buvo ruošiamos su skirtingu riebalų kiekiu (7% ir 11%), naudojant vienodus kiekius liesos mėsos, ir lašinius pakeičiant viena iš dvigubų emulsijų, stabilizuotų su 0,50% IBI ar 0,30% KMC, ar vandeniu. Paruošiami 6 bandiniai (žr. 1 lentelė): du kontroliniai bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su kiaulienos lašiniiais (MS-K-7, MS-K-11); du modelinių mėsos sistemų bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su V/A/V emulsija, stabilizuota su 0,5% IBI, visiškai pakeičiant kiaulienos lašinius (MS-DE/IBI-7, MS-DE/IBI-11); du modelinių mėsos sistemų bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su V/A/V emulsija, stabilizuota su 0,3% KMC, visiškai pakeičiant kiaulienos lašinius (MS-DE/KMC-7, MS-DE/KMC-11).

Modelinių mėsos sistemų paruošimas susideda iš kelių etapų. Pradžioje yra paruošiamos V/A/V emulsijos, stabilizuotos skirtingomis IBM ir KMC koncentracijomis (pagal 3.2. skyrelyje aprašytą metodiką). Kiaulienos nugarinė ir kiaulienos lašiniai sumalami elektrine mėsmale (Moulinex HV6, Prancūzija) per vidutinio skersmens sietelį į skirtingus indus. Toliau į indą, kuris patalpintas ledų konteineryje, kad mėsos sistemos temperatūra būtų palaikoma tarp 10-15 °C, atsveriamas reikalingas liesos mėsos kiekis ir 1 minutę homogenizuojamas rankiniu trintuvu (Bosch MSM66110, Štutgartas, Vokietija). Po to susdedama pusė kiekio visų naudojamų ingredientų (šaltas vanduo, NaCl, NaNO₂, atitinkama emulsija arba kiaulienos lašiniai) ir masė homogenizuojama dar 1 min. Sudedama likusi dalis ingredientų ir visa masė homogenizuojama 2 min. Paruošta mėsos sistema talpinama į plastikinius mėgintuvėlius (skersmuo 2,5 cm, tūris 50 ml) ir centrifuguojama 15 min. (2500g, Dynamica Velocity 14, Dietikon, Šveicarija), tam kad iš

sistemos būtų pašalinti oro burbuliukai ir masė būtų visiškai homogeniška. Tuomet mėgintuvėliai su mėsos sistemomis talpinami į 70°C vandens vonią ISOTEMP 205 ir kaitinami 30 min. Po terminio apdorojimo išimami iš vandens vonios atšaldomi ir laikomi 4±1 °C temperatūroje.

1 lentelė. Modelinių mėsos gaminių receptūros (g).

Bandinys	Mėsa	Lašiniai	Vanduo	DE/IBI	DE/KMC	NaCl	NaNO ₂
MS-K-7	219,5	24,5	106,0	-	-	7,0	0,042
MS-K-11	218,5	39,5	92,0	-	-	7,0	0,042
MS-DE/IBI-7	219,5	-	54,0	76,0	-	7,0	0,042
MS-DE/IBI-11	218,5	-	12,0	119,5	-	7,0	0,042
MS-DE/KMC-7	219,5	-	54,0	-	76,0	7,0	0,042
MS-DE/KMC-11	218,5	-	12,0	-	119,5	7,0	0,042

3.4.Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, paruošimas

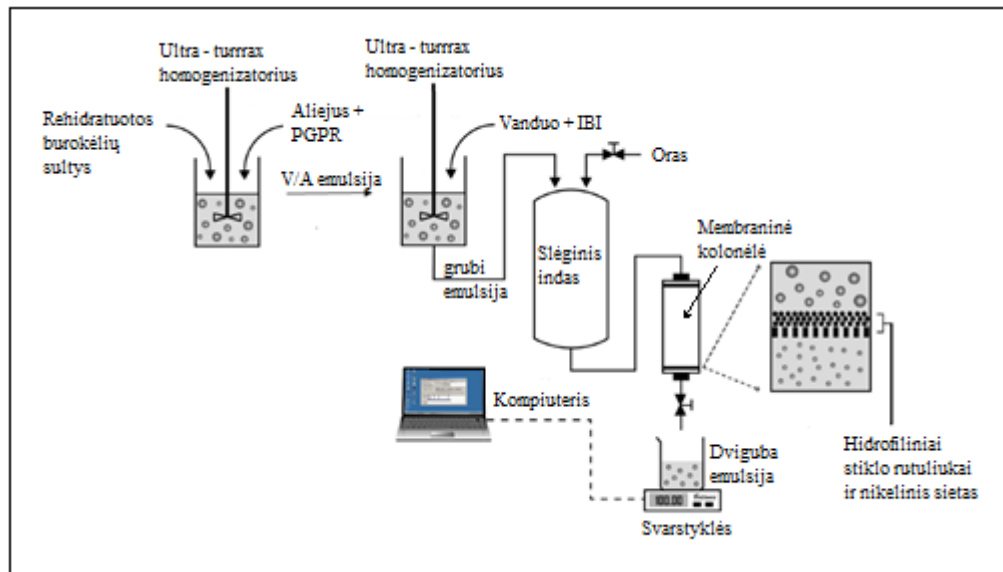
Ruošiant dvigubas emulsijas, kurių vidinėje vandens fazėje įkapsuliuojamos burokėlių sultys buvo naudojamas ne tik aukšto slėgio homogenizatorius, bet ir membraninio emulsavimo sistema, siekiant užtikrinti, kuo didesnę emulsijos stabilumą ir burokėlių sulčių įkapsuliuojimo efektyvumą.

Ruošiant šias emulsijas svarbiausia užduotis yra įkapsuliuoti burokėlių sultis vidinėje emulsijos vandens fazėje. Emulsijų gamybai buvo naudojamas rehidratuotas liofilizuotų burokėlių sulčių tirpalas.

Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruošimas susideda iš kelių etapų (žr. 7 paveikslas). Pirmiausia yra paruošiama pradinė emulsija V/A/V, pagal 3.2 skyrelyje nurodytą metodiką. Tik priešingai nei pastarajame skyrelyje, kaip vidinė vandens fazė (V₁) yra naudojamos rehidratuotos liofilizuotų burokėlių sultys. Jai paruošti, išdžiovinti burokėlių sulčių milteliai rehidratuojami santykiu 1:9 (pasiekiant natūralių sulčių koncentraciją). Kaip išorinė vandens fazė (V₂) naudojami dviejų skirtingų koncentracijų (0,50% ir 1,00%) IBI tirpalai.

Antrojo etapo metu paruošta pradinė V/A/V emulsija yra praleidžiama per membraninę sistemą. Membraninės sistemos kolonėlė yra sudaryta iš nerūdyjančio plieno cilindro (pagaminto Wageningeno universitete), kurio apačioje tarp dviejų guminių žiedų įtvirtintas nikelio sietas. Šis sietas naudojamas, kaip atrama hidrofiliniams stiklo rutuliukams (100HFL, Pneumix SMG-AF). Eksperimento metu naudojamas 2 mm stiklo rutuliukų aukštis, kurių skersmuo $d_{32} \approx 71 \mu\text{m}$. Taip pat prie kolonėlės yra prijungtas slėginis indas, sujungtas su oro tiekimo sistema. Pirmo etapo metu pagaminta grubios struktūros dviguba emulsija supilama į slėginį indą ir panaudojant 200-500 kPa

slėgį praleidžiama per kolonėlę. Homogenizuota emulsija surenkama į kolbą, kuri patalpinta ant elektroninių svarstyklių, sujungtų su kompiuteriu [62].



7. pav. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruošimo schema [62].

3.5. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotomis IBI, paruošimas

Modelinės mėsos sistemos, kaip ir 3.3 skyrelyje, buvo ruošiamos su skirtingu riebalų kiekiu (7% ir 11%) naudojant vienodus kiekius liesos mėsos ir lašinius pakeičiant viena iš dvigubų emulsijų, kurių paruošimas nurodytas 3.4 skyrelyje (pradinė emulsija ir emulsija praleista per membraninę emulsavimo sistemą). Paruošiami 6 bandiniai (žr. 2 lentelė): du kontroliniai bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su kiaulienos lašiniiais (MS-K2-7, MS-K2-11); du modelinių mėsos sistemų bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su grubia V/A/V emulsija (prieš membraninę emulsavimo sistemą), kurioje įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuota su 0,5% IBI, visiškai pakeičiant kiaulienos lašinius (MS-GDE/IBI-7, MS-GDE/IBI-11); du modelinių mėsos sistemų bandiniai su 7% ir 11% riebalų, paruošti su V/A/V emulsija (po membraninio emulsavimo), kurioje įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuota su 0,5% IBI, visiškai pakeičiant kiaulienos lašinius (MS-MDE/IBI-7, MS-MDE/IBI-11).

Šių modelinių mėsos sistemų paruošimas vyksta taip pat, kaip yra nurodyta 3.3 skyrelyje.

2 lentelė. Modelinių mėsos gaminių receptūros (g).

Bandinys	Mėsa	Lašiniai	Vanduo	GDE/IBI	MDE/IBI	NaCl
MS-K2-7	155,0	18,0	82,0	-	-	5,0
MS-K2-11	150,0	28,5	76,5	-	-	5,0
MS-GDE/IBI-7	155,0	-	40,0	60,0	-	5,0
MS-GDE/IBI-11	150,0	-	10,0	95,0	-	5,0
MS-MDE/IBI-7	155,0	-	40,0	-	60,0	5,0
MS-MDE/IBI-11	150,0	-	10,0	-	95,0	5,0

3.6. Dvigubų emulsijų tyrimams naudoti metodai

3.6.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, tyrimo metodai

Stabilumo nustatymas

Tai vizualus tyrimo metodas, kai yra stebimas dvigubos emulsijos išsisluoksniavimas (serumo išsiskyrimas). Bandiniai supilami į 30 ml sugraduotus (0,1 ml tikslumu) mėgintuvėlius ir laikomi kambario temperatūroje. Praėjus numatytam laiko intervalui įvertinamas išsiskyrusio serumo tūris, kuris išreiškiamas procentais nuo viso emulsijos tūrio. Kuo mažesnis dvigubos emulsijos išsisluoksniavimo procentas, tuo emulsija yra stabilesnė.

Dalelių dydžio pasiskirstymo ir vidutinio dalelių dydžio nustatymas

Emulsijų dalelių dydis matuojamas naudojant lazerinį difrakcijos metodą su Malvern Mastersizer 2000 prietaisu (Malvern Instruments Ltd, Vusteršyras, Didžioji Britanija). Paruoštas emulsijos bandinys yra paskleidžiamas distiliuotame vandenyje, esant atitinkamam homogenizavimo greičiui (1960 aps./min). Bandinio matavimas trunka 10 sekundžių. Šio prietaiso programinėje įrangoje yra užprogramuoti santykiniai rodikliai, kurie reikalingi apskaičiuojant dalelių dispersijos rodiklį (santykinį dalelių apimtį rodiklį).

Dalelių dydis yra išreiškiamas pagal paviršiaus plotą ($D_{3,2}$) (1) bei yra sudaromas dalelių dydžio pasiskirstymo grafikas.

$$d_{32} = \frac{6}{S_v} \left(\sum_{i=1}^{n_s} \frac{v_i}{d_i} \right)^{-1} \quad (1)$$

čia: S_v – lašelio paviršiaus plotas tūrio vienetė; v_i – lašelio tūrio dalis i -osios klasės dalyje; d_i – atitinkamos klasės vidutinis lašelių skersmuo; n_s – klasių skaičius.

Reologinių charakteristikų nustatymas

Dvigubų emulsijų reologiniai matavimai atliekami su Physica MCR 301 reometru (Anton Paar GmbH, Gracas, Austrija). Naudojamas kūgis – plokštelė darbinis kūnas (CP25-2), kurio besisukančio kūgio skersmuo yra 24,974 mm, kūgio posvyrio kampas 1,997°. Temperatūra yra

palaikoma su Viscotherm VT2 temperatūros kontrolės ir matavimo sistema. Dvigubų emulsijų bandiniai atsargiai uždedami ant matavimo sistemos tarp plokštelės ir kūgio. Matavimai atliekami 20 °C temperatūroje naudojant stacionarų histerezės testą. Matuojama klampa (η , Pa·s) ir poslinkio įtempis (τ , Pa) kintant poslinkio greičiui ($\dot{\gamma}$, 1/s) nuo 1 iki 1000 1/s, tuomet 200 s emulsijos bandinys veikiamas mechanine jėga (kūgio poslinkio greitis (100 1/s) ir vėl matuojama klampa bei poslinkio įtempis, poslinkio greičiui kintant nuo 1000 iki 1 1/s. Gaunama histerezės kilpa pagal kurią sprendžiama, kokią įtaką emulsijos klampai turi mechaninis poveikis.

Emulsijų apibūdinimui naudojamos tekėjimo kreivės – reogramos, kurios yra poslinkio įtempio priklausomybė nuo poslinkio deformacijos greičio, esant paprastam poslinkiui.

Matuojant emulsijų klampą taip pat buvo atliekama gautų duomenų analizė siekiant nustatyti, kuris matematinis modelis, *Ostwald* (2) ar *Herschel-Bulkley* (3), geriau aprašo analizuojamų emulsijų elgesį dominančioje įtempio srityje. Tekėjimo pobūdis įvertintas priklausomai nuo didžiausių R reikšmių ir mažiausių standartinių nuokrypių.

$$\tau = k * \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

čia: τ – poslinkio įtempis, [Pa]; k – klamos koeficientas, [Pa* sⁿ]; $\dot{\gamma}$ – poslinkio gradientas, [1/s]; n – tekėjimo indeksas, kuris parodo tekėjimo mato nukrypimą nuo aprašomojo Niutono dėsnio.

$$\tau = \tau_0 + k * \dot{\gamma}^n \quad (3)$$

čia: τ – poslinkio įtempis, [Pa]; τ_0 – ribinis poslinkio įtempis [Pa]; k – klamos koeficientas, [Pa* sⁿ]; $\dot{\gamma}$ – poslinkio gradientas, [1/s]; n – tekėjimo indeksas, kuris parodo tekėjimo mato nukrypimą nuo aprašomojo Niutono dėsnio.

Mikroskopinio vaizdo nustatymas

Dvigubų emulsijų morfologinė analizė atliekama naudojant optinį mikroskopą. Bandinys yra atsargiai uždedamas ant mikroskopinio stiklelio ir uždengimas dengiamuoju stikleliu. Pasirenkamas atitinkamas okuliaras su reikalingu priartinimu ir stebimas vaizdas. Tiriant dvigubas emulsijas naudotas okuliaras su 40× priartinimu, mikroskopo lęšio priartinimas 10×. Gautas mikroskopinis vaizdas fotografuojamas skaitmeniniu fotoaparatu.

3.6.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, tyrimo metodai

Dalelių dydžio nustatymas

Emulsijų dalelių dydis matuojamas naudojant lazerinį difrakcijos metodą su Malvern Mastersizer 2000 prietaisu (Malvern Instruments Ltd, Vusteršyras, Didžioji Britanija), kaip yra

nurodyta 3.6.1. skyrelyje „Dalelių dydžio pasiskirstymo ir vidutinio dalelių dydžio nustatymas“. Paruoštas emulsijos bandinys yra paskleidžiamas distiliuotame vandenyje, esant atitinkamam homogenizavimo greičiui (1410 aps./min) ir papildomai nustatomas santykinis dalelių dydžio pasiskirstymo rodiklis.

Santykinis dalelių pasiskirstymo (Span) rodiklis yra bedimensinis parametras, kuris parodo lašelių pasiskirstymo vienodumą ir yra išreikštas santykiu (4):

$$Span = (D_{V90} - D_{V10}) / D_{V50} \quad (4)$$

čia: D_{V90} , D_{V10} ir D_{V50} – yra atitinkamo tūrio 10%, 50% ir 90% lašelių skersmenys, kurie panašūs arba artimi nurodytiems.

Įkapsuliavimo efektyvumo nustatymas

Įkapsuliavimo efektyvumas buvo nustatomas pagal Kaimainen ir kiti (2015b) [63] nurodytą metodiką. Dviguba emulsija po paruošimo supilama į mėgintuvėlius ir centrifuguojama 3000 aps./min greičiu 10 minučių (Sorvall legend XFR, Thermo Scientific, Vanta, Suomija). Atsiskyrusi išorinė vandens fazė filtruojama naudojant 0,45 mm storio politetrafluoretileno (PTFE) švirkštinį filtrą. Surinkto filtrato optinis tankis matuojamas spektrofotometru DU 720 (Beckman coulter, Woerden, Nyderlandai), kai bandos ilgis 530 nm. Išsiskyrusių rehidratuotų burokėlių sulčių koncentracija apskaičiuojama naudojant kalibracinę kreivę, kuri sudaroma išmatavus atitinkamų koncentracijų optinius tankius. Kalibracinės kreivės korelecijos koeficientas 0,9601.

Reologinių charakteristikų nustatymas

Šių dvigubų emulsijų reologiniai matavimai atliekami naudojant Physica MCR 502 reometrą (Anton Paar GmbH, Štutgartas, Vokietija). Naudojamas kūgis – plokštelė darbinis kūnas (CP50-4), kurio besisukančio kūgio skersmuo yra 49,962 mm, kūgio posvyrio kampas 3,998°. 20 °C temperatūra palaikoma naudojant CF41 Cryo-Compact Circulator temperatūros kontrolės ir matavimo sistemą (Julabo GmbH, Vokietija). Dvigubų emulsijų bandiniai atsargiai uždedami ant matavimo sistemos tarp plokštelės ir kūgio ir matavimai atliekami poslinkio gradientui kintant nuo 10 iki 100 s⁻¹. Matavimų metu naudojamas apsauginis dangtis, siekiant išvengti bandinio dehidratacijos. Taip pat atlikti klampos matavimai esant pastoviam 30 s⁻¹ poslinkio gradientui.

Vandens aktyvumo nustatymas

Vandens aktyvumo matavimai atlikti naudojant vandens aktyvumo matuoklį 4 TE (Aqua Lab, Vašingtonas, JAV). Bandinys dedamas į vienkartinį indelį, kuris patalpinamas į matavimo

aparata, pastarasis uždaromas ir vykdomas matavimas. Nusistovėjus vandens garų pusiausvyrai (po ~30 min.) yra nustatomas vandens aktyvumas. Aparatas matuoja $\pm 0,003 a_w$ tikslumu.

Mikroskopinio vaizdo nustatymas

Dvigubų emulsijų morfologinė analizė atliekama naudojant poliarizuotos šviesos mikroskopą Axio Scope.A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Vokietija) su AxioCam MRc kamera (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Vokietija). Bandinys yra atsargiai uždedamas ant mikroskopinio stiklelio ir uždengimas dengiamuoju stikleliu. Emulsijos struktūra fiksuojama esant x100 priartininimui, kambario temperatūroje.

Virškinamumo tyrimas in vitro

Dvigubų emulsijų *in vitro* modelinis virškinimas, kurio metu imituojamas lipidų virškinimas plonajame žarnyne, buvo atliktas pagal McClements ir kiti (2010) [59] pateiktą standartizuotą modelį. Matavimai atliekami imituojant du atvejus: nevalgius ir valgio metu, siekiant įvertinti virškinimo eigos skirtumus ir bandinių elgseną priklausomai nuo šių dviejų sąlygų.

In vitro virškinimas atliktas palaikant 37°C temperatūrą ir pH 7 (imituojant sąlygas būdingas žmogaus organizme) dvisieniuose stikliniuose virškinimo induose, maišant 240 aps./min greičiu. Virškinimui naudojamos medžiagos, pradinių tirpalų koncentracijos, kiekiai ir siektinos galutinės koncentracijos, kurios naudojamos taikant skirtingas virškinimo sąlygas (nevalgius ir valgio metu), pateiktos 3 lentelėje. Komponentai į sistemą dedami tokia tvarka: fosfatinis buferis, druskos tirpalas, tulžies tirpalas, fermentas (Pankreatinas) ir bandinys. Fermentas į sistemą dedamas tuomet, kai pasiekama 37°C temperatūra.

3 lentelė. *In vitro* virškinimo komponentų kiekiai ir koncentracijos.

Tirpalas		Tirpalo koncentracija	Nevalgius		Valgio metu	
			Kiekis dedamas į sistemą (ml)	Galutinė koncentracija	Kiekis dedamas į sistemą (ml)	Galutinė koncentracija
Druskų tirpalas	Natrio chloridas (NaCl)	2,81 M	2,00	150,00 mM	2,00	150,00 mM
	Kalcio chloridas (CaCl ₂)	0,19 M		10,00 mM		10,00 mM
Tulžies tirpalas		37,50 mg/ml	5,00	5,00 mg/ml	20,00	20,00 mg/ml
Fermento tirpalas		7,50 mg/ml	2,00	0,40 mg/ml	12,00	2,40 mg/ml
Riebalai		30%*	1*	300,00 mg	1*	300,00 mg
Fosfatinis buferis pH 7		10 mM	27,50**	7,04 mM	2,50**	0,37 mM
		Iš viso	37,50 ml	Iš viso	37,50 ml	

* Šis dydis priklauso nuo riebalų kiekio bandinyje, ir parenkamas taip, kad į virškinimo sistemą įdėtas bendras riebalų kiekis būtų 300 mg.

** Fosfatinio buferio kiekis reikalingas pasiekti galutiniam visos virškinimo sistemos kiekiui (37,5 ml).

Charakterizuojant šį *in vitro* virškinimo procesą naudojamas „pH-stat“ metodas. Jis yra pagrįstas laisvų riebalų rūgščių (LRR) matavimu, kurių procentinis kiekis apskaičiuojamas naudojant natrio hidroksido (NaOH) kiekį, kuris buvo sunaudotas neutralizuojant virškinimo sistemą. Sunaudotas 0,1 M NaOH kiekis fiksuojamas priklausomai nuo laiko ir LRR kiekis apskaičiuojamas pagal formulę (5):

$$\% LRR = \left(\frac{V_{NaOH} \times m_{NaOH} \times M_{rieb.}}{w_{rieb.} \times 2} \right) \times 100 \quad (5)$$

čia: V_{NaOH} - NaOH kiekis (ml) sunaudotas virškinimo metu susidariusias LRR; C_{NaOH} – NaOH koncentracija (0,1 M); M_{lipid} – naudojamų riebalų (saulėgrąžų aliejaus) molekulinė (880 g/mol); w_{lipid} – pradinis riebalų (saulėgrąžų aliejaus) kiekis virškinimo sistemoje (mg).

3.7. Modelinių mėsos sistemų tyrimams naudoti metodai

3.7.1. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, tyrimo metodai

Vandens ir riebalų surišimo pajėgumo nustatymas

Modelinių mėsos sistemų vandens ir riebalų surišimo pajėgumas nustatomas pagal Jiménez-Colmenero ir kiti (1995) [64] nurodytą metodiką. Mėgintuvėliai su modelinėmis mėsos sistemomis (šių modelinių mėsos sistemų paruošimas nurodytas 3.3. skyrelyje) iš karto po kaitinimo (30 min/70°C) yra apverčiami į iš anksto pasvertas stiklinėles ir paliekami apie 1 val., tam kad būtų surinktas visas išsiskyrusių riebalų ir vandens kiekis. Vandens ir riebalų surišimo pajėgumas apskaičiuojamas kaip bendras ištekėjęs skystis (BIS) ir yra išreiškiamas procentais nuo pradinės bandinio masės. Išsiskyrusio vandens (IV) kiekis nustatomas bendrą ištekėjusį skystį kaitinant 105 °C temperatūroje iki pastovios masės (~3-4 val.). Išsiskyrusio vandens kiekis išreiškiamas procentais nuo bendros ištekėjusio skysčio masės. Išsiskyrusių riebalų (IR) kiekis apskaičiuojamas kaip skirtumas tarp BIS ir IV.

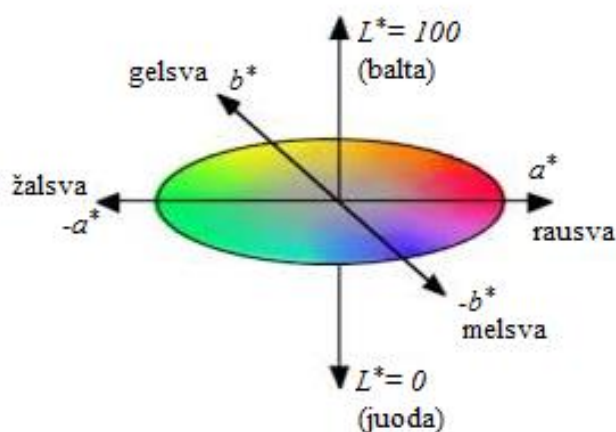
Tekstūros profilio nustatymas

Modelinių mėsos sistemų tekstūros profilio analizė (TPA) buvo atlikta naudojant tekstūros analizatorių TA-XT.plus (Texture Technologies Corp., Niujorkas, JAV). Šios sistemos analizuojamos po terminio apdoravimo ir paros laikymo 4°C temperatūroje. Paruošti bandiniai (2,5 cm skersmens ir 2,0 cm aukščio) suspaudžiami iki 40% savo pradinio aukščio, naudojant 5 kg apkrovą, kuri juda 1mm/s greičiu. Iš gautų jėgos ir laiko deformacijų kreivių nustatyti ir apskaičiuoti parametrai: kietumas (N), rišlumas (bedimensinis dydis), elastingumas (mm) ir kramtomumas (N*mm).

Spalvos ir pH nustatymas

Modelinių mėsos sistemų paviršiaus spalva ir jos intensyvumas, prieš ir po terminio apdorojimo (30 min/70°C), buvo matuojama CR-410 spalvos matavimo prietaisu (Konica Minolta, Japonija), kurio matavimai paremti CIE Lab sistema. Šioje sistemoje spalvos išsidėsčiusios trimatėje erdvėje: L^* - šviesumas, a^* - rausvumas, b^* - gelsvumas (žr. 8 pav.).

Modelinių mėsos sistemų pH, prieš ir po terminio apdorojimo, yra nustatomos pH matuokliu (WTW 3110, Vokietija).



8 pav. CIE Lab sistemos trimatis modelis.

Drėgmės kiekio nustatymas

Drėgmės kiekis modelinėse mėsos sistemose nustatomas remiantis LST ISO 1442:2000 „Mėsa ir mėsos produktai [65]. Drėgmės kiekio nustatymas“ pamatiniu metodu. Bandiniai džiovinami 105 °C temperatūroje iki pastovios masės ir drėgmės kiekis apskaičiuojamas pagal sausų medžiagų likutį.

Riebalų kiekio nustatymas

Riebalų kiekis modelinėse mėsos sistemose nustatomas remiantis LST ISO 1443:2000 „Mėsa ir mėsos produktai. Bendrojo riebalų kiekio nustatymas“ standartiniu Soksleto metodu [66]. Metodas yra pagrįstas daugkartine riebalų ekstrakcija iš išdžiovinto bandinio naudojant tirpiklį (chloroformą), tirpiklio pašalinimo ir nuriebinto bandinio išdžiovinimo iki pastovios masės. Ekstrakcija atlikta Soksleto aparate (106 S, Behr Labor – Technik, GmbH, Vokietija).

Baltymų kiekio nustatymas

Baltymų kiekis modelinėse mėsos sistemose nustatomas remiantis LST ISO 937:2000 „Mėsa ir mėsos produktai. Azoto kiekio nustatymas“ standartiniu Kjeldalio metodu [67]. Metodo

esmė yra bandinio organinių junginių mineralizavimas ir azoto kiekio nustatymas. Baltyminių medžiagų kiekis apskaičiuojamas padauginus nustatytą azoto kiekį iš perskaičiavimo koeficiento 6,25.

Mineralinių medžiagų kiekio nustatymas

Mineralinių medžiagų kiekis modelinėse mėsos sistemose nustatomas remiantis LST ISO 936:2000 „Mėsa ir mėsos produktai. Bendrojo pelenų kiekio nustatymas“ standartiniu bendrojo pelenų kiekio nustatymo metodu [68].

Surištos drėgmės kiekio nustatymas

Modelinių mėsos sistemų surištos drėgmės kiekis nustatomas presavimo būdu. Šis metodas pagrįstas skysčio, kurį silpno spaudimo metu išskiria mėsa ir sugeria filtro popierius, įvertinimu pagal drėgnos filtro dėmės plotą. Tokios dėmės plotas priklauso nuo mėsos sugebėjimo surišti ir išlaikyti vandenį. Presuotos mėsos ir išsiskyrusios drėgmės plotai išmatuojami planimetru. Drėgmės plotas apskaičiuojamas iš bendro drėgmės ploto atėmus presuotos mėsos plotą. Eksperimentu nustatyta, kad 1 cm² drėgnos dėmės atitinka 8,4 mg vandens.

Surištos drėgmės kiekis išreiškiamas procentais nuo mėsos kiekio (x_1) arba procentais nuo bendros drėgmės kiekio mėsoje (x_2):

$$x_1 = \frac{(a - 8,4b)}{m} \cdot 100 \quad (5)$$

$$x_2 = \frac{(a - 8,4b)}{a} \cdot 100 \quad (6)$$

čia: a-bendras drėgmės kiekis bandinyje, mg; b- laisvos drėgmės plotas, cm²; m-bandinio svoris, mg.

3.7.2. Modelinių mėsos sistemų su V/A/V emulsijomis, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, tyrimo metodai

Vandens ir riebalų surišimo pajėgumo nustatymas

Modelinių mėsos sistemų (paruošimas nurodytas 3.5. skyrelyje) vandens ir riebalų surišimo pajėgumas nustatomos pagal Jiménez-Colmenero et al., (1995) [64] nurodytą metodiką, kuri yra aprašyta 3.7.1 skyrelyje.

Spalvos ir pH nustatymas

Modelinių mėsos sistemų paviršiaus spalva ir jos intensyvumas, prieš ir po terminio apdorojimo (30 min/70°C), buvo matuojama ColorFlex kolorimetru (HunterLab, Vokietija), kurio

matavimai paremti CIE Lab sistema. Šioje sistemoje spalvos išsidėsčiusios trimatėje erdvėje: L^* - šviesumas, a^* - rausvumas, b^* - gelsvumas.

Modelinių mėsos sistemų pH, prieš ir po termino apdorojimo, yra nustatomos pH matuokliu (Metrohm 744).

Tekstūros profilio nustatymas

Modelinių mėsos sistemų tekstūros profilio analizė (TPA) buvo atlikta naudojant tekstūros analizatorių Instron 5564 (Godalmingas, Didžioji Britanija). Šios sistemos analizuojamos po terminio apdorojimo ir paros laikymo 4°C temperatūroje. Paruošti bandiniai (2,5 cm skersmens ir 2,0 cm aukščio) suspaudžiami iki 40% savo pradinio aukščio, naudojant 5 kg apkrovą, kuri juda 1mm/s greičiu. Iš gautų jėgos ir laiko deformacijų kreivių nustatyti ir apskaičiuoti parametrai: kietumas (N), rišlumas (bedimensinis dydis).

Įkapsuliavimo efektyvumo nustatymas

Burokėlių sulčių įkapsuliavimo koeficientas modelinėse mėsos sistemose nustatomas naudojant spektrofotometrą DU 720 (Beckman coulter, Woerden, Nyderlandai). Terminio apdorojimo metu išsiskyres skystis atskiriamas nuo mėsos sistemų ir filtruojamas naudojant hidrofiliinį 0,22 µm polietersulfono (PES) filtrą. Filtrato optinis tankis matuojamas esant 530 nm bangos ilgiui, kaip tušti banginiai naudojami kontrolinių mėsos sistemų su 7% ir 11% riebalų filtratai. Gauti duomenys lyginami su kalibracine kreive.

3.8. Statistinis duomenų apdorojimas

Kiekvienam dvigubų emulsijų ar modelinių mėsos sistemų bandiniui ruošiami trys atkartojimai ir kiekvienas analizei numatytas rodiklis matuojamas du – tris kartus. Iš gautų duomenų vedamas vidurkis ir nustatomas standartinis nuokrypis naudojant Microsoft Excel 2011 programą. Atskirai nuo priklausomų kintamųjų atlikta dispersinė analizė. Skirtumai laikomi reikšmingais, kaip $p < 0,05$. Šios vertės nustatymui buvo naudojamas „Duncan“ testas.

4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

4.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, fizikinės savybės

Tiriamąjį darbo pirmąjį etapą tikslas buvo pagaminti stabilias dvigubas emulsijas V/A/V ir išbandyti jas modelinėse mėsos sistemose, siekiant pakeisti gyvūninius riebalus dvigubose emulsijose įkapsuliuotu aliejumi bei sumažinti riebalų kiekį gaminiuose. Dvigubų emulsijų stabilizavimui buvo naudojami skirtingi biopolimerai – IBI ir KMC, kurių skirtingos koncentracijos buvo dedamos į išorinę vandens fazę (V₂). Emulsijų gamybai buvo naudojama mechaninio maišymo rotorius-statorius sistema (Ultra- Turrax), pagal 6 paveiksle pateiktą schemą. Paruošus stabilias V/A/V emulsijas buvo įvertinama skirtingų stabilizatorių (IBI ir KMC) įtaka emulsijų fizikinėms savybėms: sistemos stabilumui, vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui, reologinėms charakteristikoms, morfologiniam vaizdui.

4.1.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBM ir KMC koncentracijomis, stabilumas

Žinoma, kad dvigubų emulsijų stabilumas priklauso nuo naudojamo hidrofilinio emulsiklio (išorinėje vandens fazėje) prigimties ir nuo panaudoto emulsiklio koncentracijos [21]. Mūsų tyrimuose nustatyta, kad dvigubos emulsijos, paruoštos su karboksimetilceliulioze (KMC) yra stabilesnės nei emulsijos, stabilizuotos su išrūgų baltymų izoliatu (IBI), nes po 756 valandų išsiskyrusio serumo tūris, kuris išreikštas procentais nuo viso emulsijose tūrio, emulsijose su KMC yra mažesnis nei emulsijose su IBI (žr. 4 lentelė).

4 lentelė. Dvigubų emulsijų gravitacinio stabilumo stebėsenos rezultatai.

V/A/V bandinys		Laikas, val										
		0	21	93	128	152	261	305	493	564	732	756
Išsiskyrusio serumo tūris, %	su 0,25 % KMC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,17 ± 0,24	0,34 ± 0,47	0,67 ± 0,48	0,92 ± 0,60	1,84 ± 0,73	2,01 ± 0,86
	su 0,30 % KMC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,34 ± 0,20	0,40 ± 0,34	0,56 ± 0,51	0,63 ± 0,59
	su 0,35 % KMC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,11 ± 0,19	0,11 ± 0,19	0,22 ± 0,19	0,39 ± 0,18	0,55 ± 0,18	0,55 ± 0,18
	su 0,50 % IBI	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,54 ± 0,30	3,89 ± 0,33	10,64 ± 0,01	11,66 ± 0,04
	su 1,00 % IBI	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,34 ± 0,00	0,68 ± 0,00	1,02 ± 0,00	2,20 ± 0,24	7,45 ± 0,00	8,47 ± 0,00
	su 1,50 % IBI	0,0					2,05 ± 0,51	2,40 ± 0,52	8,73 ± 1,80	11,12 ± 1,94	16,93 ± 1,90	17,79 ± 2,15

Vertinant emulsijas su KMC matome, kad jų stabilumas priklauso nuo emulsiklio koncentracijos. Emulsijose su 0,30 % KMC serumas išsiskiria tik po 493 valandų, kai kitų dviejų emulsijų (su 0,25 % ir 0,35% KMC) išsisluoksniavimas prasideda jau po 261 valandos. Tačiau nors emulsija su 0,30 % KMC išsisluoksniuoti pradeda vėliausiai ji nėra stabiliausia. Didžiausiu stabilumu pasižymi emulsija su 0,25 % KMC, nes po 756 valandų išsiskyrusio serumo tūris, išreikštas procentais nuo viso emulsijos tūrio, yra $0,55 \pm 0,18$ %, o pirmų dviejų $2,01 \pm 0,86$ % ir $0,63 \pm 0,59$ %.

Emulsijų su IBI stabilumas taip pat priklauso nuo emulsiklio koncentracijos. Emulsijose su 1,50 % IBI išsisluoksniavimas prasideda greičiausiai (po 21 valandos), po 261 valandos išsisluoksniuoja emulsija su 1,00 % IBI ir tik po 493 valandų – emulsija su 0,50 % IBI. Tačiau iš gautų rezultatų matome, kad stabiliausia emulsija yra su 1,00% IBI, nes išsiskyrusio serumo kiekis mažiausias ($8,47 \pm 0,00$ %) lyginant su kitomis dvejomis emulsijomis (0,50 % IBI - $11,66 \pm 0,04$ %; 1,50 IBI - $17,79 \pm 2,15$ %).

A. Schuch ir kiti (2014) atliko tyrimus, kuriuose dvigubų emulsijų stabilizavimui, be kitų biopolimerų, taip pat naudojo IBI ir KMC, siekdami įvertinti šių medžiagų įtaką emulsijų stabilumui ir įkapsuliavimo efektyvumui. Nustatė, kad emulsijos stabilizuotos KMC pasižymėjo geresnėmis stabilumo ir įkapsuliavimo efektyvumo savybėmis, lyginant su IBI ir kitais tyrime naudotais emulsikliais (kiaušinio tryniu, guaro guma).

Tad atsižvelgiant į gautus emulsijų stabilumo rezultatus, galime teigti, kad norint paruošti stabilias dvigubas emulsijas labai svarbus veiksnys yra naudojamas emulsiklis bei jo koncentracija. Naudojant mechaninio maišymo rotoriaus-statorius sistemą (Ultra- Turrax) ir parinkus tinkamus komponentus bei jų kiekius galime paruošti stabilias V/A/V emulsijas.

4.1.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, dalelių dydžio ir reologinių charakteristikų rezultatai

Stabilizavus dvigubas emulsijas pasirinktais emulsikliais (IBI ir KMC) ir jų koncentracijomis bei nustačius, kad tiriamų emulsijų gravitacinis stabilumas priklauso nuo pastarųjų rodiklių, toliau buvo tiriama jų įtaka emulsijų fizikinėms savybėms. Nustatytas V/A/V emulsijų, stabilizuotų skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, dalelių dydis bei reologinės charakteristikos, kurios pateiktos 5 lentelėje.

Nustačius dvigubų emulsijų vidutinį dalelių dydį pagal paviršiaus plotą ($D [3,2]$) matome, kad dalelių dydis, kaip ir gravitacinio stabilumo nustatytuose rezultatuose, priklauso nuo panaudoto emulsiklio koncentracijos. Tiek emulsijose su KMC, tiek su IBI vidutinis dalelių dydis mažėja didinant emulsiklių koncentracijas (emulsijose su 0,25% KMC - $39,013 \pm 4,05$ μm , su 0,35 % KMC $26,067 \pm 0,04$ μm , atitinkamai ir emulsijose su IBI – su 0,50% – $32,389 \pm 1,13$, su 1,50%

- $27,649 \pm 0,55$). Tokie rezultatai parodo, kad esant didesnei emulsiklio koncentracijai, emulsijų homogenizavimo metu susidaro daugiau mažesnių riebalų lašelių, kuriuos apgaubia emulsiklis ir suformuoja tarpfazinį sluoksnį, kuris trukdo riebalų lašelių aglomeracijai.

Lyginant dvigubų emulsijų su skirtingais emulsikliais vidutinį dalelių dydį matyti, kad ryškaus skirtumo tarp dalelių dydžio nėra, tačiau negalime tiesiogiai lyginti šių rezultatų, nes panaudotos KMC koncentracijos yra ne tokios pat kaip IBI, o kur kas mažesnės, bei šie du emulsikliai yra skirtingos kilmės (IBI gyvūninės, KMC augalinės) ir pasižymi nevienodomis stabilizavimo savybėmis. Todėl tik iš matomos priklausomybės tarp emulsiklio koncentracijos ir dalelių dydžio galime daryti prielaidą, kad jeigu naudotume tokias pat KMC ir IBI koncentracijas stabilizuojant emulsijas, vidutinis dalelių dydis emulsijose su KMC būtų mažesnis, nei emulsijose su IBI.

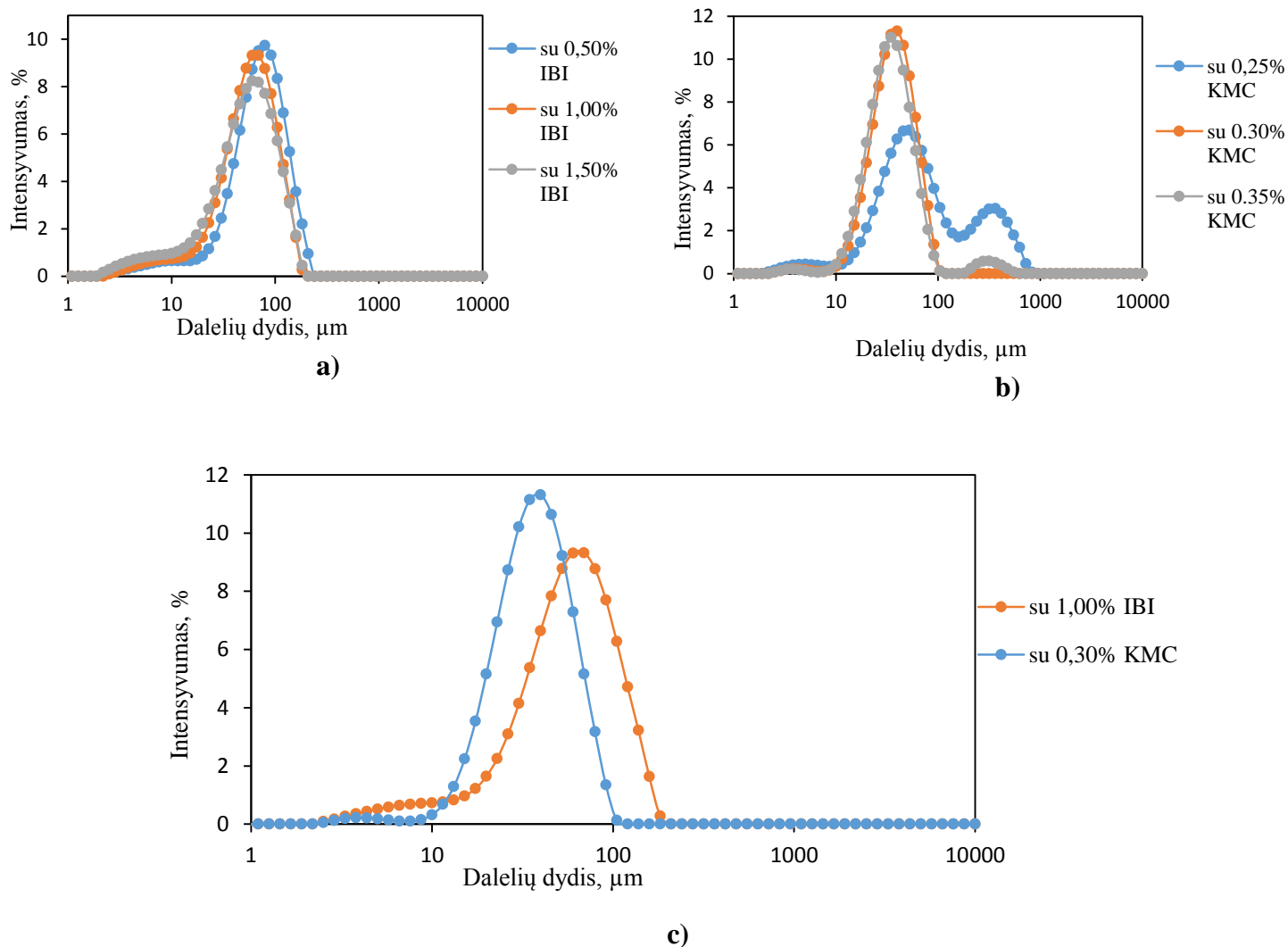
A. Benichou ir kiti (2007) [69] taip pat tyrinėjo dvigubas emulsijas, stabilizuotas IBI ir IBI-polisacharidų kompleksu. Atliktų tyrimų metu buvo nustatyta, kad emulsijų dalelių dydis priklauso nuo panaudoto emulsiklio koncentracijos, didinant IBI kiekį nuo 0,50% iki 5,00% vidutinis dalelių dydis mažėjo (0,50% IBI - $\sim 23 \mu\text{m}$, 5,00% IBI - $\sim 14 \mu\text{m}$). Tad matome, kad šio tyrimo metu gauti rezultatai, taip pat koreliuoja su mano atliktais tyrimais, nustatytas vidutinio dalelių dydžio mažėjimas, didinant, emulsijos stabilizavimui naudojamo, emulsiklio koncentraciją.

5 lentelė. Dalelių dydžio ir reologinių charakteristikų priklausomybė nuo emulsijos sudėties.

V/A/V bandinys	Vidutinis dalelių dydis (D [3,2]), μm	Reologinės charakteristikos		
		τ_0	κ	R^2
su 0,25 % KMC	$39,013 \pm 4,05$	$0,8961 \pm 0,0265$	$2,0950 \pm 0,0431$	$0,94832 \pm 0,0737$
su 0,30 % KMC	$27,998 \pm 1,34$	$0,7958 \pm 0,1065$	$2,1315 \pm 0,3165$	$0,99199 \pm 0,0025$
su 0,35 % KMC	$26,067 \pm 0,04$	$2,7003 \pm 0,1492$	$4,3805 \pm 0,4777$	$0,95881 \pm 0,0189$
su 0,50 % IBI	$32,389 \pm 1,13$	-	$0,5090 \pm 0,0873$	$0,92574 \pm 0,0406$
su 1,00 % IBI	$28,704 \pm 1,25$	-	$0,8163 \pm 0,0237$	$0,87057 \pm 0,0369$
su 1,50 % IBI	$27,649 \pm 0,55$	-	$0,3214 \pm 0,0414$	$0,93503 \pm 0,0346$

9 pav. pateiktame grafike pavaizduotas dvigubų emulsijų, paruoštų su skirtingais emulsikliais ir jų koncentracijomis, dalelių dydžio pasiskirstymas. Emulsijose stabilizuotose su IBI (žr. 9 pav. a) ir c)) matome, kad dalelių dydis pasiskirsto vienoje plačioje smailėje, kuri prasideda nuo $1,9 \mu\text{m}$ ir tęsiasi iki $182 \mu\text{m}$ dalelių dydžio. Tai rodo, kad emulsijoje yra pasiskirstęs nedidelis kiekis mažų dalelių ir visa emulsija yra heterogeninių dalelių mišinys. Emulsijose su KMC yra pastebimos 3 dalelių pasiskirstymo smailės (žr. 9 pav. b)). Pirmoji susidaro intervale $1,9-7,5 \mu\text{m}$, antroji, kuri yra pagrindinė - $8-138 \mu\text{m}$, o trečioji susidaro emulsijose, stabilizuotose su 0,25% ir 0,35% KMC, kai dalelių dydis siekia $\sim 180-800 \mu\text{m}$. Skirtingą dalelių pasiskirstymą

lema panaudotas emulsiklis. Įvairaus dalelių dydžio susidarymą emulsijose gali lemti netolygus homogenizavimo procesas, taip pat koalescencijos ir lašelių agregavimosi procesai. Esant dideliame riebalų lašelių kiekiui ir nepakankamai emulsiklio, vandens (V_2) fazėje susidaręs aliejaus-vandens tarpfazio sluoksnis gali būti labai plonas ir nepatvarus, tuomet suirus šiam sluoksniui riebalų lašeliai susilieja į didesnius lašelius [8].



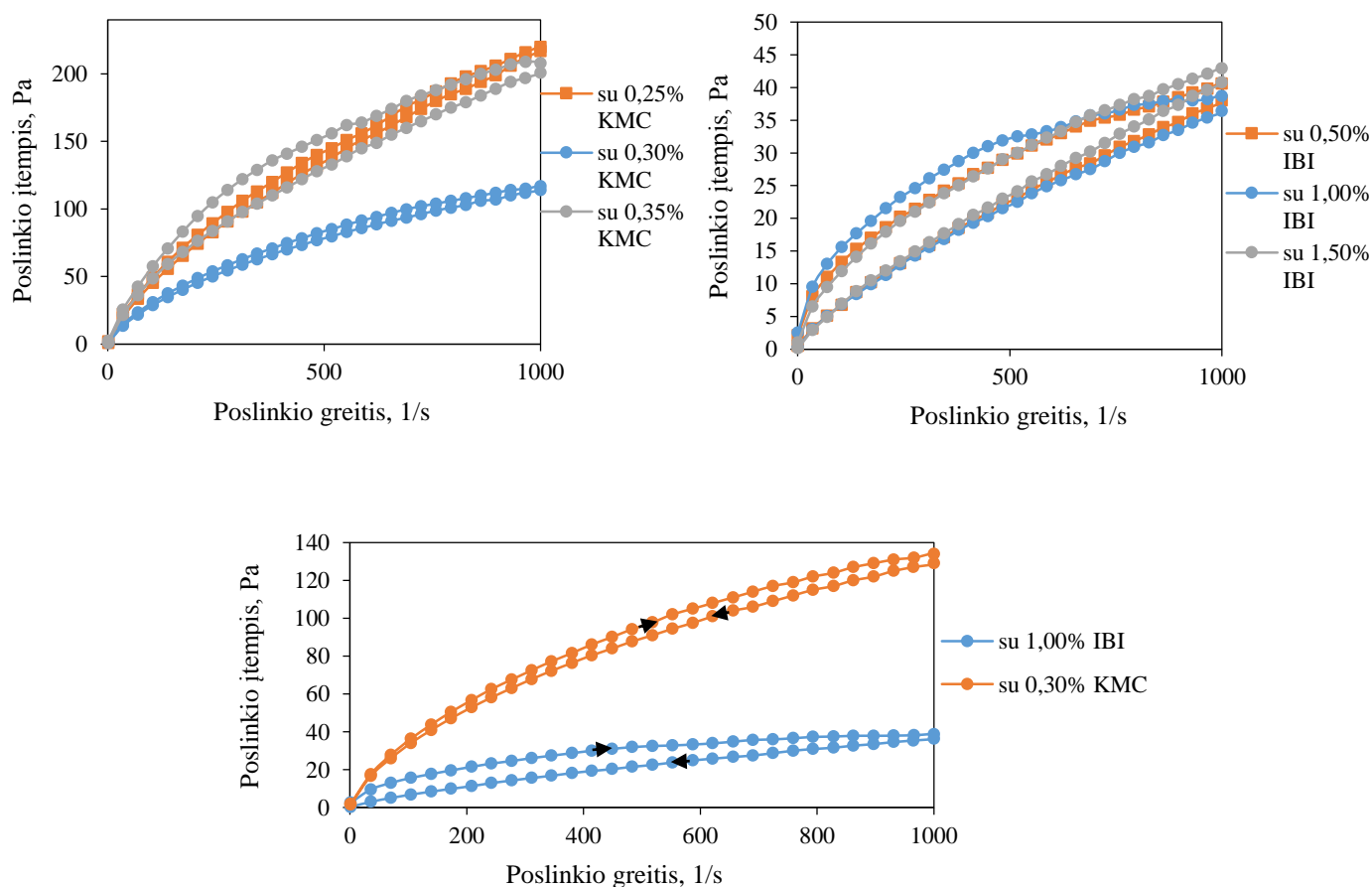
9 pav. Dvigubų emulsijų, stabilizuotų skirtingomis a) IBI, b) KMC koncentracijomis ir stabilizuotų su c) 0,3 % KMC ir 1,0 % IBI, dalelių dydžio pasiskirstymas.

Nustatyta, kad išrūgų baltymų izoliatas (IBI) pasižymi geromis emulsavimo savybėmis ir suteikia stabilumą emulsijoms homogenizavimo metu, nes greitai gali suformuoti aliejaus – vandens tarpfazį. Karboksimetilceliuliozė (KMC) labiau pasižymi kaip stabilizuojanti, o ne emulsuojanti medžiaga, ji veikia kaip stambiamolekulinis tirštiklis, kuris padidina vandens (V_2) fazės klampą ir taip pakeičia emulsijos reologines savybes [20].

5 lentelėje yra pateiktos analizuojamų emulsijų reologinės charakteristikos, apskaičiuotos pagal Ostwald arba Herschel-Bulkley matematinį modelį. Matuojant emulsijų klampą reometru buvo atliekama gautų duomenų analizė siekiant nustatyti, kuris matematinis modelis, Ostwald ar

Herschel-Bulkley, geriau aprašo analizuojamų emulsijų elgesį dominančioje įtempio srityje. Buvo nustatyta, kad emulsijoms, stabilizuotoms KMC, geriausiai tinka labiausiai paplitęs apibendrinantis modelis, aprašomas Herschel-Bulkley lygtimi. Emulsijos, stabilizuotos IBI emulsikliu, yra geriau aprašomos Ostwald lygtimi. Todėl emulsijos su IBI yra priskiriamos prie skystos konsistencijos medžiagų, jos praktiškai neturi ribinio poslinkio įtempio.

κ yra klamos koeficientas, kuris leidžia apibūdinti emulsijų klampą, kuo šis koeficientas yra didesnis, tuo emulsijos klampa taip pat yra didesnė. Todėl matome, kad emulsijos su KMC yra klampesnės nei emulsijos su IBI. Taip pat emulsijų klamos rezultatus galime sieti ir su stabilumo rezultatais. Matome, kad emulsijose stabilizuotose su KMC, klampa yra didžiausia emulsijoje su 0,35 % KMC ($\kappa = 4,3805 \pm 0,4777$), o taip pat ši emulsija pasižymėjo didžiausiu stabilumu. Tokią pat tendenciją pastebime ir emulsijose su IBI, didžiausia klampa nustatyta emulsijoje stabilizuotoje su 1,00 % IBI ($\kappa = 0,8163 \pm 0,0237$), kuri taip pat buvo ir stabiliausia. Todėl galime daryti išvadą, kad emulsijų stabilumas priklauso nuo jų klamos, kuo klampa yra didesnė, tuo gauname stabilesnes emulsijas.



10 pav. Dvigubų emulsijų, stabilizuotų skirtingomis KMC ir IBI koncentracijomis ir su 0,3 % CMC ir 1,0 % WPI tekėjimo kreivės iki ir po mechaninio suardymo.

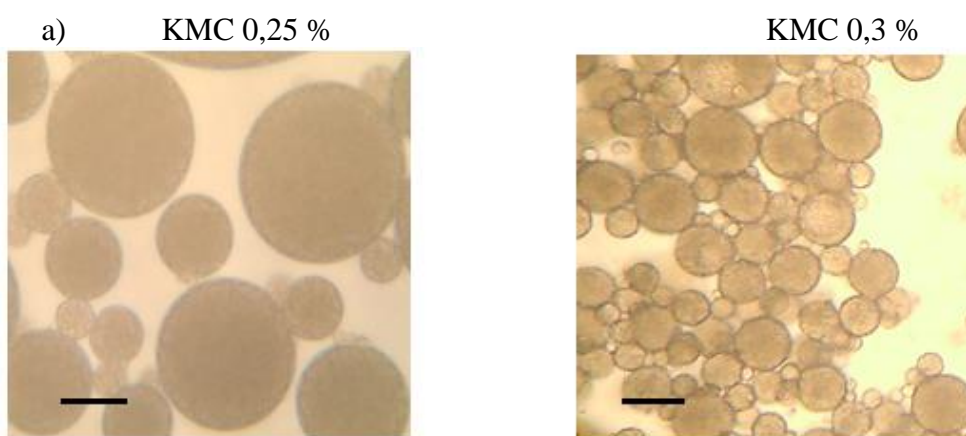
Dvigubų emulsijų tyrimo metu buvo nustatoma mechaninio poveikio įtaka jų struktūros atsistatymui. Iš gautų tekėjimo kreivių, pateiktų 10 pav., matome, kad tiek emulsijose,

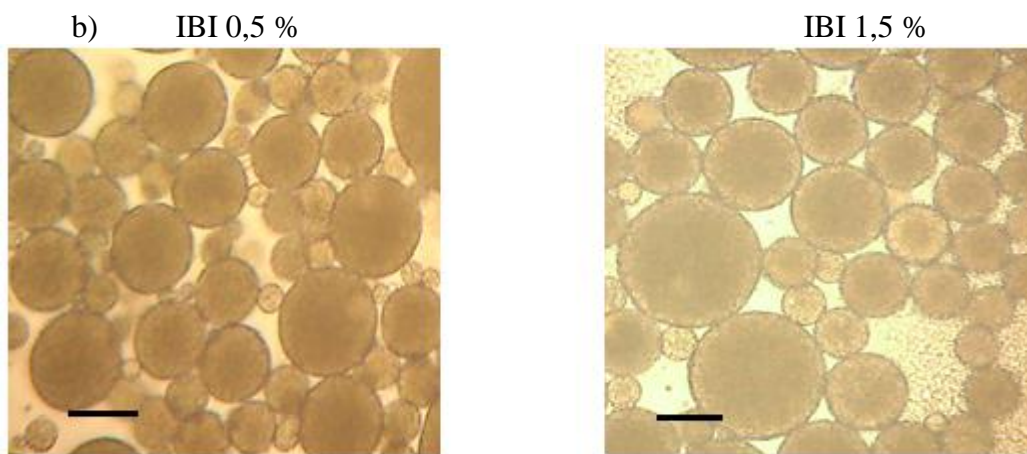
stabilizuotose KMC, tiek IBI, po mechaninio poveikio tekėjimo kreivės negrįžta į pradinę būseną, emulsijos klampa sumažėja. Taip pat iš gautų histerzės kilpų matome, kad emulsijose su KMC poslinkio įtempio sumažėjimas yra mažesnis nei emulsijose su IBI. Todėl galime padaryti išvadą, kad emulsijų stabilumui po mechaninio poveikio turi naudojamo hidrofilinio emulsiklio prigimtis. Emulsijos stabilizuotos su KMC pasižymi didesniu gravitaciniu stabilumu, didesne klampa ir mažesniu klampos sumažėjimu po mechaninio poveikio nei emulsijos stabilizuotos IBI.

4.1.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), stabilizuotų skirtingomis IBM ir KMC koncentracijomis, morfologinis vaizdas

Mikroskopinis vaizdas (žr. 11 pav.) parodo dvigubų emulsijų struktūrą, kuri santykinai susideda iš vandens (V_2) fazėje esančių didelių riebalų (aliejaus) lašelių (nevienodo dydžio) ir juose pasiskirsčiusių mažesnių vandens lašelių. Taip pat matome, kad visose emulsijose, nepriklausomai nuo naudojamo emulsiklio, riebalų lašeliai yra nevienodo dydžio, vandens (V_2) fazėje tarp didesnių riebalų lašelių yra pasiskirstę kur kas mažesni. Tokie rezultatai atsispindi ir emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymo grafikuose (žr. 9 pav.), kuriuose nustatytos plataus intervalo smailės, parodančios emulsijų polidispersiškumą.

Mikroskopinio vaizdo nuotraukose taip pat labai aiškiai yra matomas tarpfazinis sluoksnis tarp aliejaus ir vandens (V_2) fazių. Šį tarpfazinį sluoksnį suformuoja vandens (V_2) fazėje ištirpinti emulsikliai (IBI ar KMC). IBI molekulėms yra būdinga tai, kad vienas jų polių pasižymi hidrofilinėmis savybėmis, kitas – lipofilinėmis ar hidrofobinėmis savybėmis. Pastarasis emulsiklis yra apgaubęs riebalų lašelius, hidrofiliniai poliai nukreipti į vandens (V_2) fazę, o lipofiliniai – į riebalų lašelių pusę. KMC elgiasi, kaip stabilizatorius ir suformuoja iššęstinę tinklą aplink riebalų lašelius ir juos stabilizuoja.





11 pav. Dvigubų emulsijų lašelių morfologinis vaizdas, priartinimas 400×, a) emulsijų su skirtingomis KMC koncentracijomis V_2 fazėje; b) emulsijų su skirtingomis IBI koncentracijomis V_2 fazėje.

4.2. Dvigubų emulsijų, stabilizuotų IBI ir KMC, įtaka modelinių mėsos sistemų cheminei sudėčiai ir technologiniams rodikliams

Šio tiriamojo darbo etapo tikslas – stabilias V/A/V emulsijas panaudoti modelinėse mėsos sistemose, gyvūninės kilmės riebalus pakeičiant augalinės kilmės riebalais, esančiais dviguboje emulsijoje. Modelinės mėsos sistemos ruošiamos su dviem skirtingais riebalų kiekiais (7% ir 11%), kur bandiniuose, su dvigubomis emulsijomis, kiaulienos lašiniai buvo visiškai pakeisti V/A/V emulsijomis. Modelinės mėsos sistemos su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis su 0,50% IBI ir 0,30% KMC buvo paruoštos, kaip nurodyta 3.3. skyrelyje. Pastarosios dvigubos emulsijos buvo pasirinktos dėl parodytų gerų stabilumo rezultatų, nors po 756 valandų, jose išsiskyrusio serumo kiekis nebuvo pats mažiausias, tačiau šių emulsijų išsiskyrimas prasideda vėliausiai (4 lentelė). Paruošus modelines mėsos sistemas buvo ištirtos jų savybės (cheminė sudėtis, pH, spalva, tekstūra, vandens ir riebalų surišimo pajėgumas).

4.2.1. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, cheminė sudėtis ir pH

Modelinių mėsos sistemų cheminės sudėties ir pH rezultatai pateikti 6 lentelėje. Analizuojant šių sistemų drėgmės rezultatus matome akivaizdžius skirtumus tarp sistemų, su 7% riebalų kiekiu ir sistemų su 11% riebalų kiekiu. Pastarosiose drėgmės kiekis yra mažesnis (68,93 - 69,43%), nei mėsos sistemose su 7% riebalų (71,67 - 73,72%). Tokius rezultatus galime sieti su tuo, jog tam, kad būtų gautas 7% riebalų kiekis, į modelinių mėsos sistemų masę, jų paruošimo metu, buvo pilamas didesnis vandens kiekis, nei sistemose su 11% riebalų (žr. 1 lentelė), todėl šis pridėtinis vanduo, nulėmė ir didesnės drėgmės rezultatus. Tokia pati tendencija buvo nustatyta ir S. Cofrades su kolegomis (2013) [70] atliktuose tyrimuose, kur nustatyta, kad mėsos sistemose su 11% riebalų drėgmės kiekis yra mažesnis, nei 7% riebalų turinčiose mėsos sistemose. Lyginant drėgmės rezultatus sistemose su vienodu riebalų kiekiu (7% ar 11%), bet skirtingais komponentais

(lašiniai; V/A/V emulsija, stabilizuota 0,50% IBI ar V/A/V emulsija, stabilizuota 0,30% KMC) didelių skirtumų tarp bandinių nėra, tad panaudodami dvigubą emulsiją vietoje gyvūninės kilmės riebalų (lašinių), gaminyje galime išlaikyti tokį pat drėgmės kiekį.

Didžiausias baltymų kiekis yra gaunamas kontroliniuose modeliniuose mėsos gaminiuose (18,09 – 18,31%), kur buvo naudojami kiaulienos lašiniai. Sistemose, kur kiaulienos lašiniai buvo pakeisti V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis 0,50% IBI, gautas baltymų kiekis (16,95 – 17,44%), o kur naudota V/A/V emulsija, stabilizuota 0,30% KMC, baltymų kiekis dar mažesnis (15,64 – 16,83%). Matome, kad panaudojus dvigubą emulsiją mėsos sistemose sumažiname baltymų kiekį, net jei emulsijos stabilizavimui buvo naudojamas baltyminis produktas (IBI). Mineralinių medžiagų kiekis svyruoja ribose 2,07 – 2,83%.

Kontroliniuose bandiniuose (su 7% ir 11% riebalų) visą riebalų kiekį sudaro tik gyvūninės kilmės riebalai, kai tuo tarpu mėsos sistemose su dvigubomis emulsijomis, didžioji dalis riebalų yra sudaryta iš emulsijai paruoši panaudotų augalinės kilmės riebalų (aliejaus) ir tik mažos dalies gyvūninės kilmės riebalų, esančių liesoje mėsoje. Kontroliniuose bandiniuose gauti riebalų kiekiai atitinka apskaičiuotus kiekius pagal receptūras, kai bandiniuose su dvigubomis emulsijomis nustatyti nedideli nukrypimai, nuo numatytų 7 ir 11% riebalų kiekio.

pH yra svarbus rodiklis, kurio pokyčiai gali turėti įtakos gaminio galiojimo laikui, tekstūros ir juslinėms savybėms. Kadangi mėsos sistemų gamybai naudojami skirtingi komponentai (lašiniai, V/A/V, stabilizuota IBI, arba V/A/V, stabilizuota KMC), buvo nustatytos šių sistemų pH vertės. Iš gautų rezultatų matyti, kad lašinius pakeičiant dvigubomis emulsijomis, įtakos pastarajam rodikliui neturime, visuose bandiniuose pH yra apie 6.

6 lentelė. Modelinių mėsos sistemų cheminė sudėtis ir pH po terminio apdoravimo.

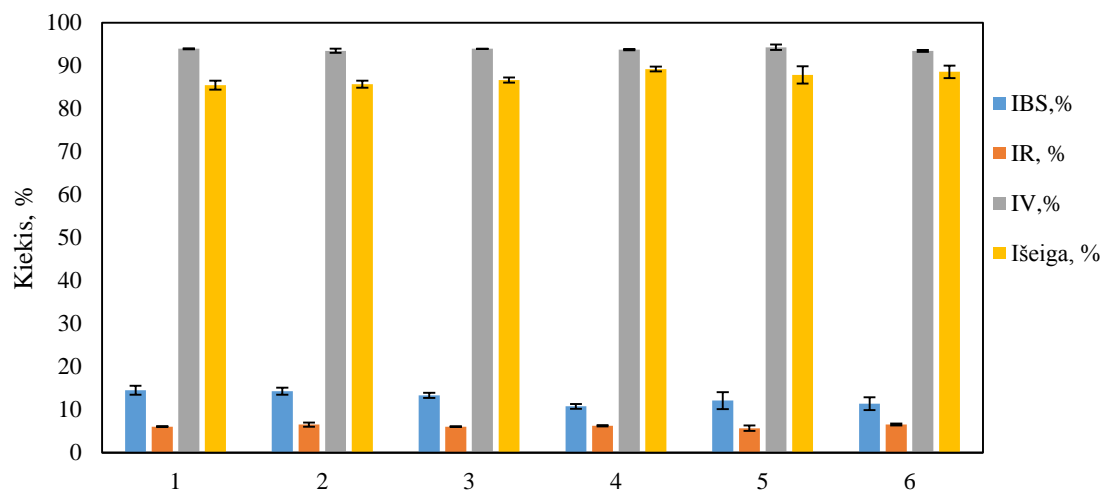
Bandinys	Drėgmė, %	Baltymai, %	Riebalai, %	Mineralinės medžiagos, %	pH po terminio apdoravimo
MS-K-7	73,72 ± 0,58	18,09 ± 0,49	6,39 ± 0,33	2,83 ± 0,06	5,925 ± 0,00
MS-K-11	69,43 ± 0,46	18,31 ± 0,37	10,56 ± 0,72	2,13 ± 0,07	5,919 ± 0,00
MS-DE/IBI-7	71,67 ± 0,12	17,44 ± 0,21	9,12 ± 0,30	2,07 ± 0,07	5,899 ± 0,01
MS-DE/IBI-11	68,96 ± 0,52	16,95 ± 0,76	12,19 ± 0,47	2,54 ± 0,09	5,945 ± 0,01
MS-DE/KMC-7	73,11 ± 0,29	16,83 ± 0,78	7,78 ± 0,07	2,37 ± 0,05	5,948 ± 0,00
MS-DE/KMC-11	68,93 ± 0,15	15,64 ± 0,17	12,79 ± 0,26	2,51 ± 0,04	5,963 ± 0,00

4.2.2. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, vandens ir riebalų surišimo savybės

Terminiškai apdorotų smulkintos mėsos gaminių gamyboje labai svarbus rodiklis yra produkto išėiga, kuri priklauso nuo po terminio apdoravimo iš gaminamo produkto išsiskyrusio skysčio kiekio. Nuo produkto išėigos priklauso gamybos organizavimas, įrangos parinkimas,

gamybos kaštai bei pelnas. Todėl ruošiant modelines mėsos sistemas buvo nustatomas vandens ir riebalų išsiskyrimas, išeiga, siekiant įvertinti, kokią įtaką šioms savybėms turi dvigubos emulsijos panaudojimas modelinėse mėsos sistemose.

Atlikus tyrimus nustatyta, kad modelinėse mėsos sistemose po terminio apdorojimo bendro ištekėjusio skysčio kiekis, kurį sudaro išsiskyres vanduo ir riebalai, svyruoja ribose nuo 10,70 iki 14,5% (žr. 12 pav.). Kontroliniuose bandiniuose, nepriklausomai nuo riebalų kiekio, kur buvo naudojami kiaulienos lašiniai, bendro ištekėjusio skysčio kiekis yra didžiausias (apie 14%), lyginant su sistemomis, kur kiaulienos lašiniai visiškai buvo pakeisti dvigubomis emulsijomis (10,77 – 13,32% sistemose, kur dviguba emulsija stabilizuota IBI ir 11,40 – 12,12% sistemose, kur dviguba emulsija stabilizuota KMC). Panaudojus dvigubas emulsijas modeliniuose mėsos gaminiuose, gauname gaminius su geresniu vandens ir riebalų sulaikymu ir didesne išeiga, lyginant su kontroliniais bandiniais. Jiménez-Colmenero 2010 metais atliko tyrimus ir taip pat nustatė, kad panaudojus vanduo/aliejuje emulsijas, pakeičiant gyvūninės kilmės riebalus mėsos sistemose, galima pagerinti mėsos sistemų vandens ir riebalų surišimo savybes. 2013 metais tai patvirtino ir S. Cofrades su kolegomis [70] naudodamas dvigubas emulsijas V/A/V, stabilizuotas išrūgų baltymų izoliatu ir natrio kazeinatu, kuris nustatė, kad modelinėse mėsos sistemose su dvigubomis emulsijomis bendras ištekėjusio skysčio kiekis yra mažesnis (didesnė išeiga), nei kontroliniuose bandiniuose, kuriuose buvo naudojami kiaulienos lašiniai.



12 pav. Modelinių mėsos sistemų vandens ir riebalų surišimo savybės : bendras ištekėjęs skystis (IBS), %; vandens kiekis bendrame ištekėjusiame skystyje (IV), %; išsiskyrusių riebalų kiekis (IR), %; išeiga, %, kur 1 – MS-K-7; 2 – MS-K-11; 3 – MS-DE/IBI-7; 4 – MS-DE/IBI-11; 5 – MS-DE/KMC-7; 6 – MS-DE/KMC-1.

Surištos drėgmės kiekis parodo mėsos ar jos produktų vandens rišlumo gebą (VRG), t.y. mėsos ar jos gaminių gebėjimą išlaikyti vandenį esant mechaniniam poveikiui (pjaunant, kaitinant, spaudžiant ir kt.). Tiriant modelines mėsos sistemas buvo nustatytas šių sistemų, prieš terminį apdorojimą, surištos drėgmės kiekis, kuris pateiktas 7 lentelėje. Iš gautų duomenų matome, kad

visuose bandiniuose, nepriklausomai nuo riebalų kiekio ar riebalų šaltinio juose, surištos drėgmės kiekis, nuo bendro drėgmės kiekio, bandinyje svyruoja apie 97%. Atsižvelgiant į šiuos rezultatus pastebime, kad dvigubas emulsijas galime panaudoti modelinėse mėsos sistemose, pakeičiant gyvūninės kilmės riebalus, ir išlaikant, tokį pat surištos drėgmės kiekį, kaip ir kontroliniuose bandiniuose.

7 lentelė. Modelinių mėsos sistemų surištos drėgmės kiekis prieš terminį apdorojimą.

Bandinys	Surištos drėgmės kiekis nuo mėsos kiekio, %	Surištos drėgmės kiekis nuo bendro drėgmės kiekio, %
MS-K-7	72,16 ± 0,54	97,87 ± 0,29
MS-K-11	67,93 ± 0,33	97,83 ± 0,34
MS-DE/IBI-7	69,79 ± 0,12	97,37 ± 0,09
MS-DE/IBI-11	67,58 ± 0,59	97,90 ± 0,17
MS-DE/KMC-7	71,55 ± 0,11	97,86 ± 0,22
MS-DE/KMC-11	66,57 ± 0,18	96,58 ± 0,31

4.2.3. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, spalvos charakteristikos

Modelinių mėsos sistemų spalvos rodikliai buvo matuojami prieš ir po terminio apdorojimo ir gauti rezultatai pateikti 8 lentelėje. Analizuojant mėsos sistemų, prieš terminį apdorojimą, spalvos rodiklius, matome, kad kontroliniuose bandiniuose, kur, kaip riebalų šaltinis buvo naudojami kiaulienos lašiniai, šviesumo vertės (L^*) yra mažesnės, o rausvumo ir gelsvumo didesnės, nei bandiniuose, kur kiaulienos lašiniai buvo pakeisti V/A/V emulsijomis. Kontroliniuose bandiniuose šviesumo vertės yra 71,52-73,17, o bandiniuose su dvigubomis emulsijomis 76,65-80,68, rausvumas atitinkamai kontroliniuose bandiniuose 6,67-7,50, kituose bandiniuose 4,24-5,45, gelsvumas – ~13,0 kontroliniuose bandiniuose ir 11,19-12,77 bandiniuose su dvigubomis emulsijomis. Tokia pati priklausomybė pastebima ir modelinėse mėsos sistemose po terminio apdorojimo. Šviesumo vertės MS-K-7/MS-K-11 – 77,38-79,88, o bandiniuose su dvigubomis emulsijomis 78,67-81,61. Rausvumas MS-K-7/MS-K-11 - ~8, kituose bandiniuose 5,89-7,02, gelsvumas – MS-K-7/MS-K-11 ~9, bandiniuose su dvigubomis emulsijomis 9,6-10,6. Taigi, pakeitę gyvūninės kilmės riebalus dviguba emulsija gauname šviesesnes, gelsvesnes ir mažiau rausvas mėsos sistemas, lyginant su kontroliniais bandiniais. Ankstesniuose tyrimuose nustatėme, kad dvigubų emulsijų panaudojimas modelinėse mėsos sistemose beveik neturi įtakos gaminių cheminiai sudėčiai, vandens ir riebalų surišimo savybėms (gauname netgi geresnius rezultatus), tačiau nulemia prastesnes spalvos charakteristikas, lyginant su kontroliniais bandiniais. Gauname šviesesnius ir mažiau rausvus gaminius, todėl norint panaudoti V/A/V emulsijas mėsos sistemose ir išlaikyti kontroliniam gaminiui būdingas savybes, turime pakeisti dvigubų emulsijų spalvą.

8 lentelė. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, spalvos charakteristikos

Bandinys	Spalva prieš terminį apdorojimą			Spalva po terminio apdorojimo		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
MS-K-7	71,52 ± 0,03	7,50 ± 0,21	13,70 ± 0,05	77,38 ± 0,19	8,39 ± 0,11	9,01 ± 0,03
MS-K-11	73,17 ± 0,35	6,67 ± 0,07	13,50 ± 0,08	79,88 ± 0,61	8,10 ± 0,19	9,53 ± 0,09
MS-DE/IBI-7	76,65 ± 0,57	5,26 ± 0,11	12,77 ± 0,07	81,07 ± 0,06	7,02 ± 0,01	9,6 ± 0,02
MS-DE/IBI-11	79,23 ± 0,10	4,24 ± 0,03	12,17 ± 0,02	81,61 ± 0,18	6,71 ± 0,03	10,2 ± 0,03
MS-DE/KMC-7	79,21 ± 0,44	5,45 ± 0,08	12,54 ± 0,08	78,67 ± 0,09	6,17 ± 0,01	10,6 ± 0,03
MS-DE/KMC-11	80,68 ± 0,10	5,14 ± 0,01	11,19 ± 0,36	80,77 ± 1,26	5,89 ± 0,06	10,6 ± 0,08

4.2.4. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, tekstūros profilio charakteristikos

Atlikus modelinių mėsos sistemų tekstūros profilio analizę buvo nustatytos šios savybės: kietumas, elastingumas, rišlumas, kramtomumas, lipnumas, klampumas bei tamprumas. Gauti rezultatai pateikti 9 lentelėje. Išanalizavus gautus rezultatus matome, kad didelių skirtumų, vertinant pastarąsias savybes, tarp kontrolinių bandinių ir bandinių, kuriuose kiaulienos lašiniai pakeisti dvigubomis emulsijomis, nematyti, nepriklausomai ir nuo riebalų kiekio (7% ar 11%) mėsos sistemose. Vertinant kietumo rezultatus, pastebima, kad modelinėse mėsos sistemose su dvigubomis emulsijomis gaunami mažesni kietumo rezultatai lyginant su kontroliniais bandiniais. Tokių rezultatų ir buvo galima tikėtis atsižvelgiant į tai, kad kontroliniuose bandiniuose buvo naudojami kiaulienos lašiniai, kurie yra kieti kambario temperatūroje, o kituose bandiniuose naudotos dvigubos emulsijos, kurios yra skystos sistemos, todėl ir suminkština modelinius mėsos gaminius. Taip pat nustatyta, kad mėsos sistemos su V/A/V emulsijomis pasižymi šiek tiek didesniu elastingumu, nei kontrolinės modelinės mėsos sistemos.

9 lentelė. Modelinių mėsos sistemų, stabilizuotų IBI ir KMC, tekstūros profilio rodikliai.

Bandinys	MS-K-7	MS-K-11	MS-DE/IBI-7	MS-DE/IBI-11	MS-DE/KMC-7	MS-DE/KMC-11
Kietumas	33,07 ± 2,83	36,55 ± 0,76	31,61 ± 3,44	32,08 ± 2,38	35,96 ± 1,85	33,43 ± 1,46
Elastingumas	0,86 ± 0,01	0,86 ± 0,02	0,89 ± 0,02	0,90 ± 0,01	0,90 ± 0,02	0,89 ± 0,01
Rišlumas	0,69 ± 0,01	0,69 ± 0,00	0,66 ± 0,01	0,68 ± 0,02	0,71 ± 0,01	0,67 ± 0,02
Kramtomumas	18,30 ± 1,24	21,58 ± 0,49	18,60 ± 2,56	19,50 ± 1,19	23,56 ± 1,78	19,97 ± 1,15
Lipnumas	13,10 ± 3,77	39,53 ± 5,53	20,12 ± 3,00	27,15 ± 8,33	33,99 ± 2,64	35,36 ± 1,62
Klampumas	22,12 ± 1,66	25,05 ± 0,39	20,99 ± 2,58	21,72 ± 1,10	27,39 ± 2,67	22,42 ± 1,51
Tamprumas	0,34 ± 0,00	0,33 ± 0,00	0,31 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,36 ± 0,00	0,33 ± 0,01

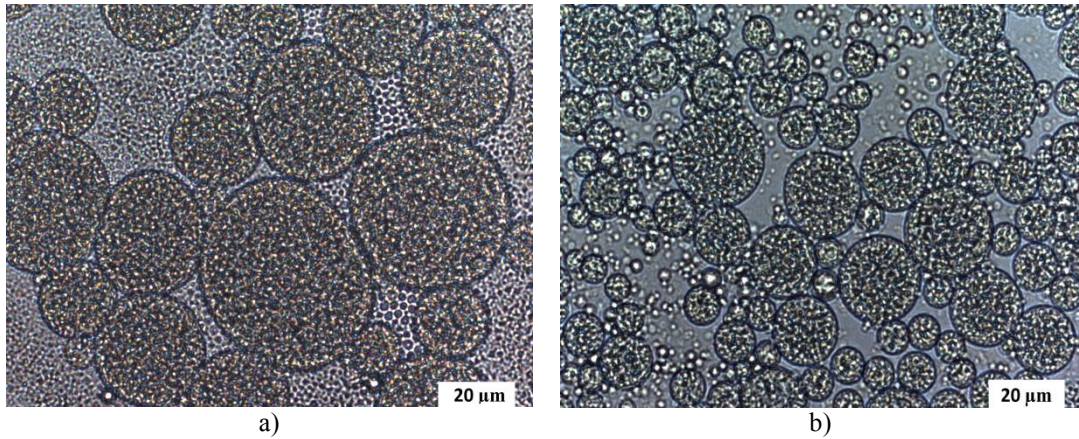
4.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, fizikinės savybės

Tiriamąjį darbo pirmąjį etapą metu nustatyta, kad naudojant rotoriaus-statoriaus sistemą galima sukurti stabilias V/A/V emulsijas, stabilizuotas IBI ar KMC, bei jas panaudoti, kaip pakaitalą gyvūninės kilmės riebalams, modeliniuose mėsos gaminiuose, išlaikant kontroliniams bandiniams, kuriuose gyvūniniai riebalai nepakeisti emulsuotu aliejumi, būdingas savybes. Išimtis buvo gaminių spalva, kuri mėsos sistemose su V/A/V buvo šviesi, be mėsos gaminiams būdingo rausvumo. Todėl antrame darbo etape buvo pasirinkta pagaminti dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, tam kad suteikti emulsijai rausvą spalvą. Įkapsuliuojant burokėlių sultis į dvigubų emulsijų vidinę vandens fazę buvo tikimasi apsaugoti burokėlių sultyse esantį pigmentą nuo išorinių aplinkos veiksnių, ypač temperatūros poveikio, kuriam šis pigmentas yra ypač jautrus. Vėliau šias emulsijas numatyta panaudoti termiškai apdorotos smulkintos mėsos gaminių gamyboje.

Dvigubos emulsijos, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis vidinėje vandens fazėje V1 ir stabilizuotos IBI išorinėje vandens fazėje V2, šiame tyrimų etape buvo gaminamos naudojant du skirtingus metodus: mechaninio maišymo statoriaus-rotoriaus sistema metodu ir membraninį metodą. Taikant membraninį dvigubų emulsijų gamybos metodą buvo siekiama gauti tolygesnį, mažesnių riebalų rutulėlių pasiskirstymą emulsijoje ir taip padidinti vidinėje vandens fazėje burokėlių sulčių įkapsuliuojimo efektyvumą. Tiriant abiem metodais pagamintas emulsijas buvo nustatytos ir palygintos emulsijų fizikinės savybės: dalelių dydis, burokėlių sulčių įkapsuliuojimo efektyvumas, reologinės charakteristikos, mikroskopinis vaizdas bei emulsijų virškinimas. Šio tyrimo rezultatai publikuoti straipsnyje: V. Eisinaitė, D. Jūraitė, D. Leskauskaitė, K. Schroën. „Preparation of stable food-grade double emulsions with a hybrid premix membrane emulsification system“. *Food Chemistry*. 2016, 206, 59–66. ISSN 1873-7072; 0308-8146. [71]

4.3.1. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, morfologinis vaizdas

Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, mikroskopinis vaizdas pateiktas 13 paveiksle. Matome, kad tiek emulsijose prieš membraninį emulsavimą, tiek po jo, yra pasiskirstę įvairaus dydžio aliejaus lašeliai, su viduje įterptomis burokėlių sultimis. Šis mikroskopinis vaizdas taip pat koreliuoja su dalelių dydžio rezultatais, kur buvo nustatyta, kad emulsijose praleistose per membraninę emulsavimo sistemą gaunamas mažesnis dalelių dydis ir atsiranda papildomos dalelių pasiskirstymo smailės su mažesnėmis ir didesnėmis dalelėmis (4.3.1. skyrelis). Taip pat šiose sistemose, kaip ir dvigubose emulsijose, stabilizuotose skirtingomis IBI ir KMC koncentracijomis, aiškiai matomas tarpfazinis sluoksnis tarp aliejaus ir vandens (V₂) fazių.



13 pav. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, a) prieš membraninį emulsavimą; b) po vieno praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą; morfologinis vaizdas.

4.3.2. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, dalelių dydžio ir jų pasiskirstymo rezultatai

Pirmiausiai, ruošiant dvigubas emulsijas su membraninio emulsavimo sistema reikėjo nustatyti geriausias emulsijų apdorojimo sąlygas. Tuo tikslu buvo taikomi skirtingi, emulsijų V/A/V praleidimo pro membraną, slėgiai (200-500 kPa) ir skirtingas praleidimų skaičius. Proceso sąlygų įtaka emulsijoms buvo vertinama matuojant dalelių dydžio pokytį. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, dalelių dydis prieš ir po vieno ciklo membraninėje emulsavimo sistemoje naudojant skirtingus slėgius pateiktas 10 lentelėje.

Iš gautų rezultatų matome, kad praleidus pradinę emulsiją, paruoštą su rotoriaus-statoriaus (Ultra-Turrax) sistema, kur dalelių dydis 31,95 µm, pro membraninio emulsavimo sistemą, gauname mažesnes daleles jau ir prie 200 kPa slėgio (24,26 µm). Taip pat nustatyta, kad didinant slėgį nuo 200 kPa iki 500 kPa dalelių dydis nežymiai mažėja. Tokią pat dalelių dydžio mažėjimo tendenciją atliktuose tyrimuose su membranine sistema nustatė ir Sahin ir kiti (2014) [62], didesnis dalelių dydžio sumažėjimas pasiekiamas prie didesnio slėgio, kuris susijęs su padidėjusiomis šlyties jėgomis. Taip pat nustatyta, kad visuose emulsijų bandiniuose, po membraninio emulsavimo esant skirtingiems slėgiams, santykinis dalelių pasiskirstymo rodiklis (Span) svyruoja tarp 2-3, kuris parodo, kad gautos emulsijos yra labiau polidispersiškos, nei emulsijos paruoštos su Ultra-Turrax aparatu.

Analizuojant dalelių dydžio rezultatus dvigubose emulsijose po vienos dienos laikymo, matome, kad dalelių dydis žymiai padidėja, lyginant su emulsijų dalelių dydžiu, pamatuotu iškart po emulsijų paruošimo. Manoma, kad tokie rezultatai yra susiję su vandens migracija iš išorinės vandens fazės (V_2) į vidinę vandens fazę (V_1), kas nulemia aliejaus lašelių padidėjimą. J. Bahtz su kolegomis (2015) taip pat nustatė, kad dalelių padidėjimas dvigubose emulsijose yra susijęs su osmosinio slėgio skirtumais vidinėje (V_1) ir išorinėje (V_2) vandens fazėse.

10 lentelė. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, dalelių dydis prieš ir po vieno ciklo membraninėje emulsavimo sistemoje naudojant skirtingus slėgius.

<i>Slėgis</i>	<i>Iškarto po membraninio emulsavimo</i>		<i>Po 1 dienos laikymo</i>	
	<i>d₃₂, μm</i>	<i>Span rodiklis</i>	<i>d₃₂, μm</i>	<i>Span rodiklis</i>
Prieš membraninį emulsavimą	31,95±0,10	1,39	39,14±0,10	1,38
200 kPa	24,26±0,35	2,49	31,63±0,27	2,39
300 kPa	23,23±0,06	2,80	28,79±0,14	2,43
400 kPa	21,39±0,08	1,98	27,04±0,37	2,67
500 kPa	21,19±0,12	2,73	29,64±0,61	2,05

Kadangi dideli dalelių dydžio skirtumai tarp emulsijų paruoštų taikant skirtingus slėgius, nebuvo nustatyti, ruošiant emulsijas tolimesniems tyrimams buvo pasirinkta keisti praleidimų skaičių pro membraninę emulsavimo sistemą esant pastoviam 300 kPa slėgiui. Buvo paruoštos emulsijos su natūraliomis ir du kartus koncentruotomis burokėlių sultimis, kaip vidinė vandens fazė ir su 0,50 % ir 1,00% IBI išorinėje vandens fazėje. Dalelių dydžio rezultatai pateikti 11 lentelėje, o dalelių pasiskirstymas 14 paveiksle.

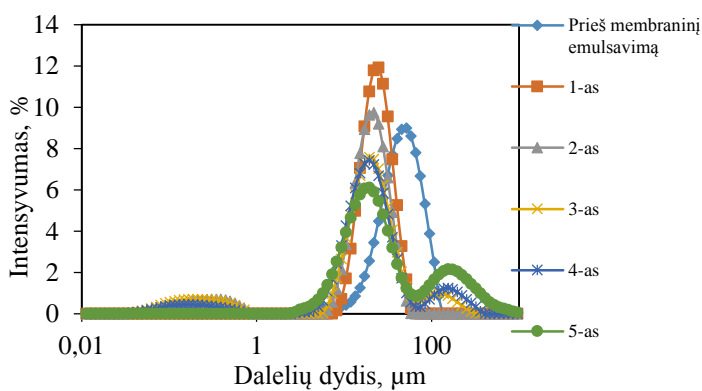
11 lentelė. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, dalelių dydis prieš ir po membraninio emulsavimo, esant 300kPa slėgiui.

Praleidimų pro membraninę emulsavimo sistemą skaičius	V/A/V bandinys					
	su natūraliomis sultimis ir 0,50% IBI		su koncentruotomis sultimis ir 0,50% IBI		su natūraliomis sultimis ir 1,00% IBI	
	<i>d₃₂, μm</i>	<i>Span rodiklis</i>	<i>d₃₂, μm</i>	<i>Span rodiklis</i>	<i>d₃₂, μm</i>	<i>Span rodiklis</i>
Prieš membraninį emulsavimą	31,95±0,10	1,39	38,61±0,03	1,11	27,17±0,05	1,41
1 - as	20,35±0,02	1,03	24,87±0,03	1,28	21,36±0,26	2,65
2 - as	14,53±0,43	1,75	21,67±0,31	4,07	10,44±0,11	2,64
3 - as	15,04±2,04	2,77	31,99±2,09	3,42	11,82±0,50	4,37
4 - as	17,04±2,01	4,37	34,28±1,17	2,64	10,61±0,50	5,19
5 - as	17,97±1,06	8,56	-	-	13,36±0,07	5,01

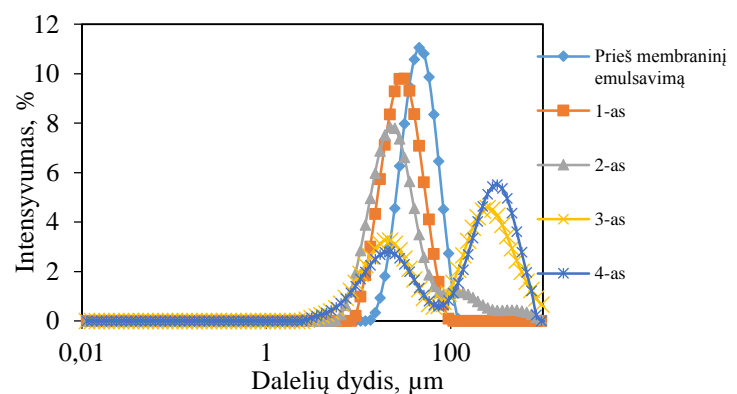
Visose dvigubose emulsijose, po membraninio emulsavimo, dalelių dydis mažesnis, lyginant su emulsijomis prieš membraninį emulsavimą. Matome, kad dviguboje emulsijoje, su įkapsuliuotomis natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 0,50% IBI, dalelių dydis prieš membraninį emulsavimą 31,95 μm, kai jau po pirmo praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą, sumažėja iki 20,35 μm, antrą kartą praleidus šią dvigubą emulsiją per membraninę sistemą dalelių dydis dar sumažėja iki 14,53 μm, tačiau trečio, ketvirto ir penkto praleidimo per

membraninę sistemą metu, dalelių dydis pradeda didėti (atitinkamai 15,04, 17,04 ir 17,97 μm). Tokia pati dalelių dydžio pokyčio tendencija nustatyta ir dviguboje emulsijoje, su įkapsuliuotomis koncentruotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotoje 0,50% IBI bei emulsijoje, su įkapsuliuotomis natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotoje 1,00% IBI. Tokiems rezultatams įtakos turi prasidėjusi vandens migracija iš išorinės vandens fazės į vidinę, ko rezultate padidėja aliejaus lašeliai.

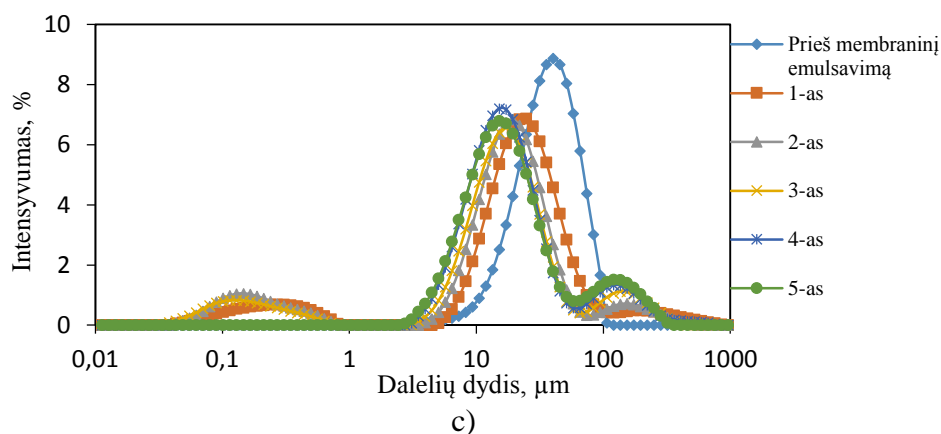
Pateiktuose dalelių dydžio pasiskirstymo grafikuose matome netolygų dalelių pasiskirstymą visose dvigubose emulsijose, kuris priklauso ir nuo praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą skaičiaus. Dviguboje emulsijoje, su įkapsuliuotomis natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 0,50% IBI, dalelės prieš membraninę emulsavimą ir po vieno praleidimo per membraninę sistemą pasiskirsto viename dideliame pike, o po sekančių emulsijos praleidimų per pastarąją sistemą, matome susidariusias nedideles dalelių pasiskirstymo smailes su $<1 \mu\text{m}$ dalelėmis ir su $\geq 100 \mu\text{m}$ dalelėmis. Dviguboje emulsijoje, su įkapsuliuotomis natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 1,00% IBI, pastebima tokia pati dalelių pasiskirstymo tendencija, taip pat susidaro dvi dalelių pasiskirstymo smailes. Dviguboje emulsijoje, su įkapsuliuotomis koncentruotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 0,50% IBI, dalelių pasiskirstymo grafike matome susidariusias dalelių pasiskirstymo smailes su $\geq 100 \mu\text{m}$ dalelėmis, po 2, 3 ir 4 praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą. Tokie rezultatai rodo, kad emulsijos po 2, 3 ir 4 praleidimo nėra pakankamai stabilios ir vandens perėjimas iš išorinės fazės į vidinę vandens fazę yra greitesnis, nei burokėlių sulčių, todėl gaunamas platus įvairaus dydžio dalelių pasiskirstymas (polidispersiška sistema).



a)



b)



14 pav. Dvigubų emulsijų su įkapsuliuotomis: a) natūraliomis sultimis ir stabilizuotų 0,50% IBI; b) koncentruotomis sultimis ir stabilizuotų 0,50% IBI; c) natūraliomis sultimis ir stabilizuotų 1,00% IBI, dalelių dydžio pasiskirstymas.

4.3.3. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, įkapsuliuavimo efektyvumas

Įkapsuliuavimo efektyvumo rezultatai dvigubose emulsijose, po kiekvieno praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą pateikti 12 lentelėje. Nustatyta, kad didžiausiu įkapsuliuavimo efektyvumu pasižymėjo visos trys V/A/V emulsijos po vieno praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą, kur įkapsuliuavimo efektyvumas siekė 100% emulsijoje su natūraliomis ir emulsijoje su koncentruotomis burokėlių sultimis, stabilizuotose 0,50% IBI, o emulsijos, su natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotos 1,00% IBI, įkapsuliuavimo efektyvumas siekė 95,53%. Po sekančių praleidimų per membraninę emulsavimo sistemą įkapsuliuavimo efektyvumas mažėjo, tačiau vis vien išliko aukštas (84,50%, 75,08%, 89,01%). 4.3.1. skyrelyje aptarėme emulsijų dalelių dydį, kur buvo nustatyta, kad po 3, 4 ir 5 praleidimo per membraninę sistemą, tirtų emulsijų dalelių dydis padidėja, bet atsižvelgiant į įkapsuliuavimo efektyvumo rezultatus matome, kad tai nesukelia pastebimo vidinės vandens fazės lašelių suirimo ir išsiliejimo. Esant kuo mažesniai dvigubų emulsijų dalelių dydžiui, gauname stabilesnes ir geresniu įkapsuliuavimo efektyvumu pasižyminčias sistemas. Taip pat aukštas įkapsuliuavimo efektyvumas gali būti siejamas su natūraliais burokėlių sultyse esančiais komponentais (pvz. pektiniais), kurie turi stabilizuojančių ar emulsuojančių savybių vidinėje vandens fazėje. Sahin ir kiti (2014) taip pat nustatė, kad dvigubose emulsijose, stabilizuotose paviršiaus aktyviosiomis medžiagomis, net ir po 5 praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą, galima pasiekti didesnę nei 98% įkapsuliuavimo efektyvumą, derinant skirtingas emulsijų paruošimo proceso sąlygas (hidrofilinių stiklo rutulėlių dydį, aukštį, slėgį).

12 lentelė. Burokėlių sulčių įkapsuliavimo efektyvumas V/A/V emulsijose prieš ir po emulsavimo membraninėje sistemoje.

Praleidimų pro membraninę emulsavimo sistemą skaičius	Įkapsuliavimo efektyvumas (%)		
	su natūraliomis sultimis ir 0,50% IBI	su koncentruotomis sultimis ir 0,50% IBI	su natūraliomis sultimis ir 1,00% IBI
Prieš membraninį emulsavimą	98,62	100,00	95,76
1 - as	100,00	100,00	95,53
2 - as	100,00	89,68	93,85
3 - as	92,15	81,21	91,21
4 - as	86,89	75,08	89,17
5 - as	84,50	-	89,01

4.3.4. Dvigubų emulsijų (V/A/V), su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, reologinės charakteristikos

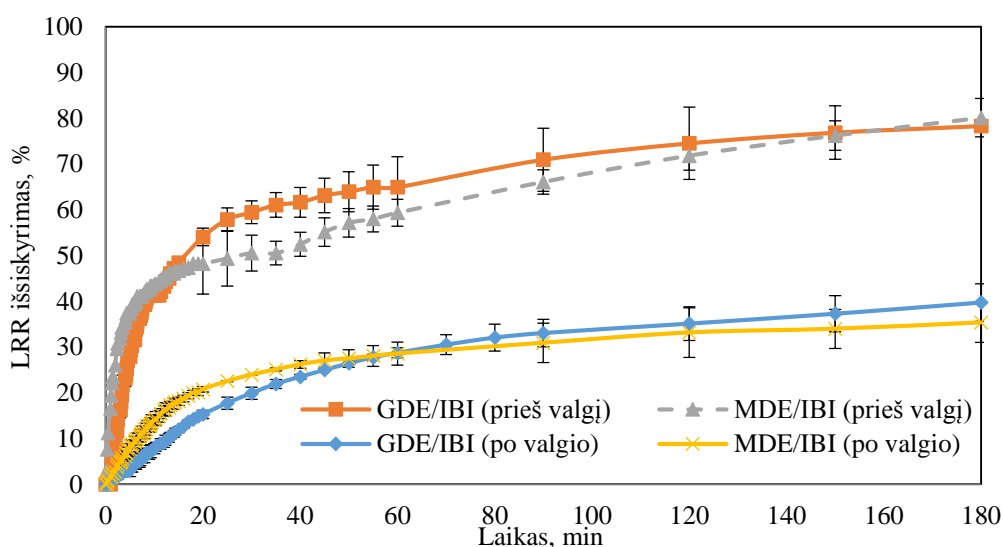
Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, klampa buvo matuojama iškart po paruošimo esant 30 s^{-1} poslinkio gradientui, gauti rezultatai pateikti 13 lentelėje. Matome, kad visose emulsijose prieš membraninį emulsavimą klampa yra labai maža ($0,03\text{-}0,04 \text{ Pa}\cdot\text{s}$), o po praleidimo per membraninę sistemą padidėja iki keleto kartų. Emulsijose, su natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotose $0,50\%$ IBI, klampa po pirmo praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą padidėja daugiau kaip 5 kartus ($0,16 \text{ Pa}\cdot\text{s}$). Klamos padidėjimas nustatytas ir 2 bei 3 emulsavimo etapo metu, kuris gali būti siejamas su vandens perėjimu iš išorinės vandens fazės į vidinę. Tačiau jau po 4 praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą emulsijos klampa ženkliai sumažėja, o tokie rezultatai siejami su sistemos nestabilumu ir aiškiai matomu fazių atsiskyrimu. Tokia pati klamos kitimo tendencija nustatyta ir emulsijose, su koncentruotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotose $0,50\%$ IBI. Tik šiose emulsijose klampa yra didesnė, nei su natūraliomis sultimis paruoštose emulsijose, nes po vieno praleidimo per membraninę sistemą emulsijų su natūraliomis burokėlių sultimis klampa $0,16 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, o emulsijose su koncentruotomis burokėlių sultimis – $0,34 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Tokius rezultatus, kaip jau buvo paminėta aptariant įkapsuliavimo efektyvumo rezultatus, galėjo nulemti natūraliai burokėlių sultyse esantys, stabilizuojančiomis ar emulsuojančiomis savybėmis pasižymintys, komponentai (pektinas). Kadangi koncentruotose sultyse šių medžiagų yra didesnis kiekis, todėl ir emulsijų klampa yra didesnė nei emulsijose su natūraliomis burokėlių sultimis.

Emulsijoje, su natūraliomis burokėlių sultimis ir stabilizuotoje su $1,00\%$ IBI, taip pat nustatytas klamos padidėjimas po pirmo praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą ($0,17 \text{ Pa}\cdot\text{s}$), kuris atsiranda dėl osmosinio slėgio sukulto vidinės vandens fazės lašelių padidėjimo.

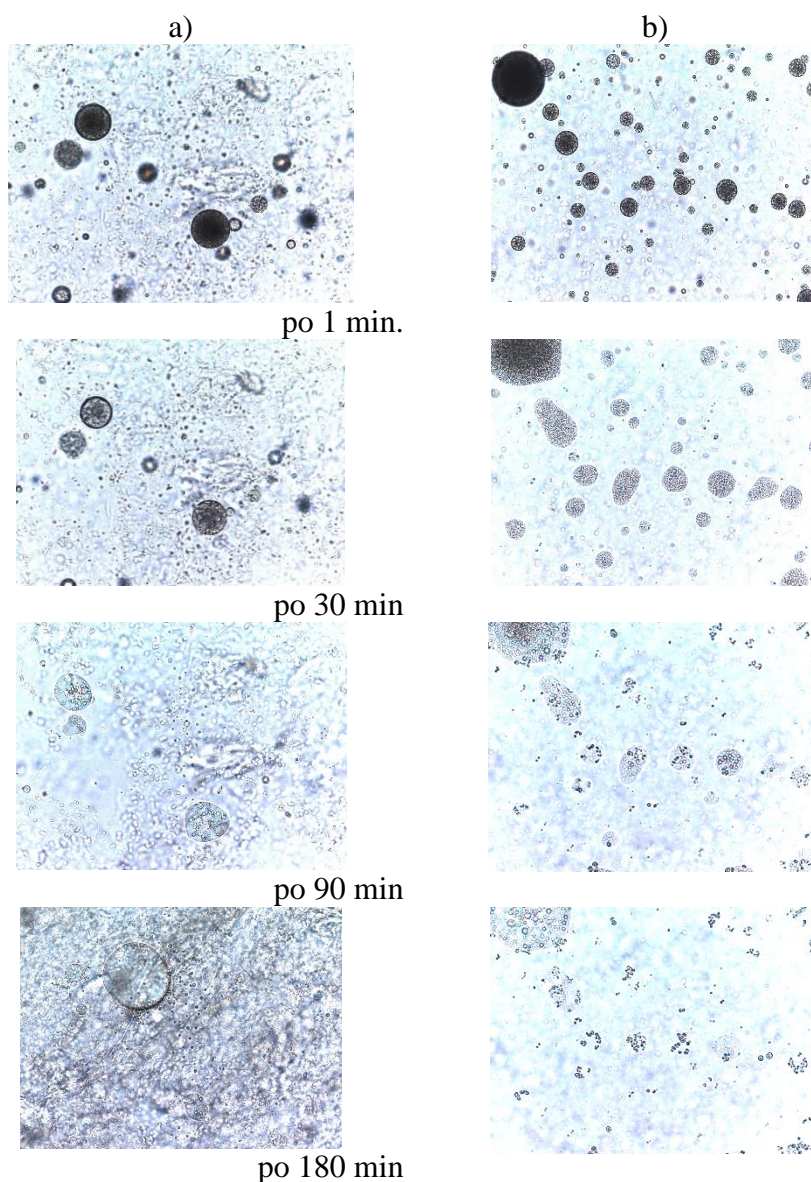
paruošimo būdas (prieš membraninį emulsavimą ir po vieno praleidimo per membraninę emulsavimo sistemą), turi įtakos virškinimo procesui ir LRR išsiskyrimui. *In vitro* virškinimo metu gauti išsiskyrusių LRR rezultatai pateikti 15 paveiksle, o virškinimo metu vykstančių riebalų rutulėlių pokyčio morfologinis vaizdas – 16 paveiksle.

Virškinant dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotas 0,50% IBI, paruoštas tik su Ultra-Turrax aparatu (prieš membraninį emulsavimą), matome, kad taikant pirmąjį virškinimo atvejį (prieš valgį) riebalų virškinimas prasideda greičiau, nes susidariusių LRR kiekis jau po kelių minučių siekia ~15%, o antrojo atvejo (po valgio) metu, išsiskyrusių LRR kiekis, po to paties laiko yra tik ~4%. Taip pat iš gautų duomenų, matome, kad taikant pirmąjį *in vitro* virškinimo atvejį (prieš valgį), ne tik greičiau prasideda ir vyksta dvigubos emulsijos virškinimas, bet ir lengviau paveikiami riebalai (aliejus), po 20 min. virškinimo išsiskyrusių LRR kiekis yra apie 55%, o virškinimo pabaigoje (po 180 min.) – ~80%. Kai tuo tarpu antrojo virškinimo atveju (po valgio) išsiskyrusių LRR kiekis po 20 min. yra ~15%, o virškinimo pabaigoje (po 180 min.) - ~35%.

Analizuojant dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų 0,50% IBI, praleistų per membraninę emulsavimo sistemą *in vitro* virškinimo rezultatus, matome, kad abiem (prieš ir po valgio) emulsijos virškinimo atvejais gauti rezultatai beveik atitinka prieš tai aptartos emulsijos (prieš membraninį emulsavimą) gautus išsiskyrusių LRR rezultatus. Tad galime daryti išvadą, jog emulsijos paruošimo būdas, o tuo pačiu ir dalelių dydis, neturi įtakos *in vitro* virškinimo procesui ir išsiskyrusių LRR kiekiui. Tačiau yra svarbus virškinimo atvejis (prieš ar po valgio), nes greitesnis ir geresnis LRR išsiskyrimas nustatytas dvigubas emulsijas virškinant pirmąjį virškinimo atvejį (prieš valgį).



15 pav. Dvigubų emulsijų prieš (GDE/IBI) ir po (MDE/IBI) membraninio emulsavimo *in vitro* virškinimo metu LRR išsiskyrimas, taikant du virškinimo atvejus: prieš valgį; po valgio.



16 pav. Dvigubų emulsijų riebalų rutulėlių morfologinis vaizdas *in vitro* virškinimo metu, taikant du virškinimo atvejus: a) po valgio; b) prieš valgi.

4.4. Dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotų IBI, įtaka modelinių mėsos sistemų technologiniams rodikliams

4.2. skyrelyje aptarti modelinių mėsos sistemų, su V/A/V emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, technologiniai rodikliai. Nustatyta, kad mėsos sistemose pakeitus kiaulienos lašinius dvigubomis emulsijomis, galime gauti beveik vienodos tekstūros, cheminės sudėties, geru vandens ir riebalų surišimu pasižyminčias mėsos sistemas, lyginant su kontroliniais bandiniais. Tačiau aiškūs skirtumai pastebimi vertinant spalvos rodiklius tarp kontrolinių bandinių ir bandinių su dvigubomis emulsijomis, gauname daug šviesesnes sistemas. Tam, kad būtų galima išspręsti mėsos sistemų trūkumus, susijusius su spalva, naujų modelinių mėsos sistemų gamybai naudojamos dviem būdais pagamintos V/A/V emulsijos, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis,

kurios emulsijai suteikia rausvą spalvą. Siekiama įvertinti ar nuo emulsijos paruošimo būdo priklauso modelinių mėsos sistemų technologiniai rodikliai, ar galime naudodami emulsijas išlaikyti įprastam gaminiui būdingą spalvą be pridėtinių sintetinių dažiklių.

Šios modelinės mėsos sistemos buvo paruoštos, kaip nurodyta 3.5. skyrelyje ir vėliau ištirtos jų savybės (spalva ir pH, tekstūra, vandens ir riebalų surišimo pajėgumas, įkapsuliavimo efektyvumas).

4.4.1. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, vandens ir riebalų surišimo savybės

Modelinėse mėsos sistemose su V/A/V emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotos IBI, bendras ištekėjęs vandens ir riebalų kiekis svyruoja 18-24% ribose, išsiskyrusių riebalų kiekis tarp 6-7%, o išsiskyrusio vandens kiekis, nuo BIS, tarp 93-94%. Iš 14 lentelėje pateiktų rezultatų matome, kad BIS kontroliniuose bandiniuose yra didesnis, nei sistemose su dvigubomis emulsijomis, tokia pati tendencija nustatyta ir modelinėse mėsos sistemose su dvigubomis emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC (4.2.2. skyrelis) bei S.Cofrades su kolegomis (2013) [70] atliktuose tyrimuose, nustatčius, kad BIS mėsos sistemose su V/A/V emulsijomis mažėja nuo 9,6% iki 5-6,7%. Vertinant mėsos sistemas, kuriose naudotos skirtingais būdais paruoštos dvigubos emulsijos (MS-GDE/IBI-7 su MS-MDE/IBI-7, MS-GDE/IBI-11 su MS-MDE/IBI-11) matome, kad tarp nustatytų rodiklių ryškių skirtumų nėra, todėl norint panaudoti dvigubas emulsijas modeliniuose mėsos gaminiuose, svarbu paruošti stabilias emulsijas, nepriklausomai, koks gamybos būdas (rotoriaus-statoriaus ar membraninė sistema) pasirinktas.

pH vertės, kaip ir 4.2.1. skyrelyje nustatytose modelinėse mėsos sistemose, taip ir šiose yra apie 6. Šios vertės taip pat labai artimos S.Cofrades ir kiti (2013) [70] nurodytuose rezultatuose. Tad matome, kad pakeitus lašinius, dvigubomis emulsijomis, nepakeičiame mėsos sistemų pH ir išlaikome geras vandens ir riebalų sušišimo savybes.

14 lentelė. Modelinių mėsos sistemų su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys, vandens ir riebalų surišimo savybės ir pH.

Bandinys	Bendras ištekėjęs skystis (BIS), %	Vandens kiekis bendrame ištekėjusiame skystyje (IV), %	Išsiskyrusių riebalų kiekis (IR), %	pH
MS-K2-7	23,46± 0,34	93,80±0,12	6,20±0,12	6,05±0,01
MS-K2-11	23,06±0,12	93,59±0,15	6,41±0,15	6,02±0,02
MS-GDE/IBI-7	23,14±0,73	93,87±0,01	6,13±0,01	6,01±0,01
MS-GDE/IBI-11	18,12±0,55	93,75±0,01	6,25±0,00	5,98±0,01
MS-MDE/IBI-7	21,73±0,44	93,96±0,05	6,04±0,05	5,98±0,02
MS-MDE/IBI-11	22,82±0,30	93,79±0,07	6,21±0,07	5,98±0,01

4.4.2. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, spalvos charakteristikos

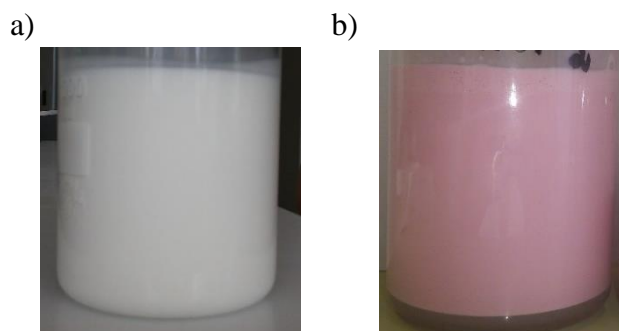
Mėsos sistemų spalvos charakteristikos prieš ir po terminio apdoravimo (30min. 70°C) pateiktos 15 lentelėje. Vertinant mėsos sistemų spalvos rodiklius prieš terminį apdoravimą matome, kad šviesumo (L^*) vertės visuose bandiniuose, nepriklausomai nuo naudojamo komponento (lašiniai ar V/A/V emulsija) ir jo kiekio, yra labai panašios (~55). Tačiau dvigubos emulsijos panaudojimas vietoje lašinių, žymiai padidina sistemų rausvumą (a^* - 15,59-17,13) ir sumažina gelsvumą (b^* - 13,30-14,83), lyginant su kontroliniais bandiniais, kuriuose a^* - 10,32-10,79, b^* - 18,32-18,43. Gauti rausvumo rezultatai visiškai priešingi 4.2.3. skyrelyje pateiktiems modelinių mėsos sistemų su dvigubomis emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, rausvumo rezultatams, kur buvo gauta, kad kontroliniuose bandiniuose rausvumas didesnis, nei bandiniuose su dvigubomis emulsijomis (8 lentelė). Tokius rezultatus nulemia dvigubos emulsijos, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, panaudojimas, nes ji yra rausvos spalvos, priešingai nei įprastos baltos dvigubos emulsijos (17 pav).

Modelinėse mėsos sistemose po terminio apdoravimo rausvumas sumažėjo, lyginant su rezultatais prieš terminį apdoravimą. Tokius rezultatus galėjo nulemti natūraliai mėsoje vykstantys mioglobino pokyčiai. Tačiau sistemose su dvigubomis emulsijomis rausvumas išliko daug didesnis (8,84-10,12), lyginant su kontroliniais bandiniais (2,19-2,40), nepriklausomai nuo emulsijos tipo ir kiekio. Mėsos sistemų gelsvumas po terminio apdoravimo taip pat sumažėjo, o šviesumo rezultatai išliko artimi išmatuotiems prieš terminį apdoravimą.

Panaudodami dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, galime ne tik išlaikyti kontroliniams gaminiams būdingą spalvą (rausvumą), bet taip pat ir padidinti modelinių mėsos gaminių rausvumą.

15 lentelė. Modelinių mėsos sistemų su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys, spalvos charakteristikos.

Bandinys	Spalva prieš terminį apdoravimą			Spalva po terminio apdoravimo		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
MS-K2-7	54,58±0,14	10,79±0,06	18,32±0,05	57,55±0,28	2,40±0,10	13,12±0,25
MS-K2-11	56,13±0,07	10,32±0,07	18,43±0,10	58,18±0,22	2,19±0,07	13,20±0,24
MS-GDE/IBI-7	55,15±0,03	15,62±0,02	14,83±0,03	55,47±0,33	8,84±0,03	11,78±0,18
MS-GDE/IBI-11	55,90±0,03	16,31±0,04	13,30±0,05	57,14±0,07	9,17±0,12	11,31±0,03
MS-MDE/IBI-7	55,71±0,04	15,49±0,03	14,71±0,01	56,70±0,24	8,39±0,08	11,55±0,25
MS-MDE/IBI-11	54,85±0,08	17,13±0,02	13,64±0,01	55,85±0,29	10,12±0,03	11,10±0,13



17 pav. Dvigubų (V/A/V) emulsijų spalva: a) įprasta emulsijų spalva (balta); b) dvigubos emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis.

4.4.3. Modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys ir stabilizuotų IBI, tekstūros profilio charakteristikos ir įkapsuliuavimo efektyvumas

Tiriant modelinių mėsos sistemų su dvigubomis emulsijomis, stabilizuotomis IBI ir KMC, tekstūros profilio rodiklius (4.2.3. skyrelis) nebuvo nustatyta didesnių skirtumų tarp visų tirtų tekstūros rodiklių, išskyrus kietumo, kur nustatyta, kad kontrolinės mėsos sistemos (su kiaulienos lašiniais) yra kietesnės nei mėsos sistemos su dvigubomis emulsijomis. Atsižvelgiant į tai, kad tarp kitų rodiklių ryškių skirtumų nepastebėta, tiriant modelines mėsos sistemas su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys, buvo analizuojami kietumo ir rišlumo rodikliai, gauti rezultatai pateikti 16 lentelėje.

16 lentelė. Modelinių mėsos sistemų su dvigubomis emulsijomis, kuriose įkapsuliuotos burokėlių sultys, tekstūros rodikliai ir įkapsuliuavimo efektyvumas.

Bandinys	Kietumas, N	Rišlumas, bedimensinis dydis	Įkapsuliuavimo efektyvumas
MS-K2-7	24,65±2,69	0,89±0,04	-
MS-K2-11	24,03±0,95	0,93±0,06	-
MS-GDE/IBI-7	13,97±0,96	0,88±0,05	98,95±0,01
MS-GDE/IBI-11	14,02±2,29	0,93±0,01	98,91±0,03
MS-MDE/IBI-7	15,70±1,30	0,91±0,01	98,91±0,02
MS-MDE/IBI-11	16,71±1,95	0,85±0,05	98,90±0,00

Atlikus tyrimus gauta, kad modelinių mėsos sistemų kietumas žymiai sumažėjo bandiniuose su dvigubomis emulsijomis (13,97-16,71 N), lyginant su kontroliniais bandiniais (24,03-24,65 N). Toks skirtumas siejamas su naudojamų komponentų prigimtimi, nes kontroliniuose bandiniuose naudoti kiaulienos lašiniai yra kieti, o kituose bandiniuose naudotos emulsijos yra skystos, todėl jos suminkština mėsos sistemas, lyginant su kontroliniais bandiniais. Vertinant kietumo rezultatus tarp bandinių su vienodais komponentais, bet skirtingais riebalų kiekiais (7% ir 11%), matome,

kad skirtumų beveik nėra, tad galime teigti, kad kietumo rezultatai nepriklauso nuo riebalų kiekio mėsos sistemoje. Tačiau iš gautų duomenų matome, kad šių sistemų kietumui įtakos turi dvigubos emulsijos paruošimas, nes mėsos sistemose, kur kiaulienos lašiniai buvo pakeisti dviguba emulsija, paruošta su rotorius-statorius sistema yra šiek tiek minkštesnės (kietumas ~14 N), nei mėsos sistemos, paruoštos su membraninio emulsavimo sistema (kietumas 15,70-16,71 N).

Vertinant rišlumo rezultatus ryškių skirtumų tarp bandinių nepastebime, jis nepriklauso nei nuo panaudotos dvigubos emulsijos tipo, nei nuo riebalų kiekio modelinėje mėsos sistemoje.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad naudojant rotoriaus-statoriaus sistemą, paruoštų dvigubų (V/A/V) emulsijų, stabilizuotų skirtingomis išrūgų baltymų izoliato (0,50%, 1,00% ir 1,50%) arba karboksimetilceliuliozės (0,25%, 0,30%, 0,35%) koncentracijomis, stabilumas, dalelių dydis bei reologinės charakteristikos priklauso nuo naudojamo hidrofilinio emulsikio koncentracijos. Karboksimetilceliulioze stabilizuotos emulsijos pasižymi geresniu gravitaciniu stabilumu, didesne klampa, vienodesniu dalelių pasiskirstymu, lyginant su emulsijomis, stabilizuotomis išrūgų baltymų izoliatu.
2. Dvigubos (V/A/V) emulsijos gali būti panaudojamos modeliniuose mėsos gaminiuose, siekiant pakeisti gyvūninės kilmės riebalus augaliniais riebalais, išlaikant kontroliniam gaminiui (be dvigubos emulsijos) būdingas savybes. Nustatyta, kad modelinių mėsos sistemų, su dvigubomis emulsijomis, stabilizuotomis 0,50% IBI ar 0,30% KMC, cheminės sudėties, tekstūros rodiklių bei vandens ir riebalų surišimo pajėgumo vertės yra artimos kontrolinių bandinių atitinkamiems rodikliams (baltymai - ~15-18%, drėgmė - ~68-73%, mineralinės medžiagos ~2,5%, riebalai ~7% ir ~11%). Tačiau neišvengiama spalvos pokyčių, modelinės mėsos sistemos, su dvigubomis emulsijomis, yra šviesesnės ir praradusios įprastiems mėsos gaminiams būdingą rausvumą.
3. Nustatyta, kad galima paruošti stabilias dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, stabilizuotas 0,5% ir 1,0% IBI, ir taip apsaugoti burokėlių sultyse esantį pigmentą, nuo išorinių aplinkos sąlygų (įkapsuliovimo efektyvumas 95-100%), bei suteikti emulsijai rausvą spalvą. Taip pat nustatyta, kad dvigubų (V/A/V) emulsijų paruošimui, naudojant membraninį emulsavimo metodą, gauname emulsijas, kurios pasižymi geresnėmis stabilumo savybėmis, mažesnėmis dalelėmis ir tolygesniu jų pasiskirstymu bei geresniu įkapsuliovimo efektyvumu, nei emulsijos paruoštos naudojant rotoriaus-statoriaus sistemą. Tačiau, visada ruošiant emulsijas, yra svarbu parinkti tinkamus komponentus, jų kiekius bei santykius ir nustatyti optimalias paruošimo sąlygas (slėgį, apsisukimų greitį, ciklų skaičių, temperatūrą, laiką).
4. Nustatyta, kad panaudojus dvigubas emulsijas, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotas 0,50% IBI, modelinėse mėsos sistemose yra gaunamos geresnės šių sistemų vandens ir riebalų surišimo savybės bei spalvos rodikliai, lyginant su kontroliniais bandiniais (be dvigubų emulsijų). Nepriklausomai nuo emulsijos paruošimo būdo, modeliniuose mėsos gaminiuose su emulsijomis, gaunamas mažesnis bendro ištekėjusio skysčio kiekis bei kur kas rausvesnė gaminių spalva.
5. Taikant imituojamąjį *in vitro* dvigubų emulsijų, su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir stabilizuotas 0,50% IBI, virškinimą plonajame žarnyne, nustatyta, kad išsiskiriančių laisvų riebalų rūgščių kiekis priklauso ne nuo emulsijos paruošimo būdo, bet nuo naudojamo virškinimo atvejo: nevalgius ar valgio metu. Taikant pirmąjį *in vitro* virškinimo atvejį (prieš valgį) nustatytas

greitesnis ir efektyvesnis virškinimo procesas, nes laisvos riebalų rūgštys pradeda greičiau išsiskirti ir virškinimo pabaigoje (po 180 min) gaunamas didesnis išsiskyres kiekis (~80%), o antruoju virškinimo atveju (po valgio) išsiskyrusių laisvų riebalų rūgščių kiekis virškinimo pabaigoje - ~37% .

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. 2003. WHO Technical Report Series 916, Geneva, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. [žiūrėta 2016 m. balandžio 16 d.]. Prieiga per internetą:
http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/en/gsfao_introduction.pdf
2. Garti, N. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsion in food application. *LWT – Food Science and Technology*. 1997, 30, 222-235. ISSN 0023-6438.
3. Muschiolik, G. Multiple emulsions for food use. *Current Opinion Colloid & Interface Science*. 2007, 12, 213–220. ISSN 1359-0294.
4. Schubert, H., Armbruster, H. Principles of formation and stability of emulsions. *International Journal of Chemical Engineering*. 1992, 32, 14. ISSN 1687-8078.
5. Mc Clements, D.J., Decker, E.A., Weiss, J. Emulsion – based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Jurnal fo Food Science* [interaktyvus]. 2007, 72, R109-R124. [žiūrėta 2016 vasario 6 d.]. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x.
6. Jiménez-Colmenero, F. Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Research International*. 2013, 52, 64-74. ISSN 0963-9969.
7. Grossiord, J.L., Sellier, M. W/O/W multiple emulsions: a review of the release mechanisms by break-up of the oily membrane. *STP Pharma Science*. 2001, 11, 331–339. ISSN 1157-1489.
8. Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V., Grossiord, J.L., Agnely, F. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, 436, 359–378. ISSN 0378-5173.
9. Solans, C., Pons, R., Kunieda, H. Overview of basic aspects of microemulsions, *Industrial Applications of Microemulsions*. 1997, 66, 1–19.
10. Capek, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2004, 107, 125–155. ISSN: 0001-8686.
11. Mason, T.G., Wilking, J.N., Meleson, K., Chang, C.B., Graves, S.M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2006, 18, R635–R666. ISSN 1361-648X.
12. Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcia-Celma, M.J. Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2005, 10, 102–110. ISSN 1359-0294.

13. McClements, D.J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*. 2011, 7, 2297–2316. ISSN 1744-6848.
14. Pays, K., Giermanska-Kahn, J., Poulligny, B., Bibette, J., Leal-Calderon, F. Coalescence in surfactant-stabilized double emulsions. *Langmuir* [interaktyvus]. 2001, 17 (25), 7758–7769. [žiūrėta 2016 m. sausio 26 d.]. ISSN 1520-5827. Prieiga per: doi: 10.1021/la010735x.
15. Kanouni, M., Rosano, H.L., Naouli, N. Preparation of a stable double emulsion (W1/O/W2): role of the interfacial films on the stability of the system. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2002, 99 (3), 229–254. ISSN 0001-8686.
16. Michaut, F. Amphiphilic polyelectrolyte for stabilization of multiple emulsions. *Polymer International*. 2003, 52 (4), 594–601. ISSN 1097-0126.
17. Myers, D. Surfaces, Interfaces and Colloids Principles and Applications. *VCH, Publishers, New York*. 1999, 433. DM 84, ISBN 1-56081-033-5.
18. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Owen, S.C. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association, London, (5th edition). 2006.
19. McClements, D.J. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [interaktyvus]. 2004, 9, 305–313. [žiūrėta 2016 m. sausio 26 d.]. ISSN 1359-0294. Prieiga per: doi: 10.1016/j.cocis.2004.09.003.
20. Dickinson, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*. 2009, 23, 1473–1482. ISSN 0268-005X.
21. Guzey, D., McClements, D.J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006, 128-130, 227–248. ISSN 0001-8686.
22. Gu, Y.S., Decker, E.A., McClements, D.J. Application of multi-component biopolymer layers to improve the freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions: β -lactoglobulin- κ -carrageenan-gelatin. *Journal of Food Engineering*. 2007, 80, 1246–1254. ISSN 0260-8774.
23. Schubert, H., Engel, R. Product and formulation engineering of emulsions. *Chemical Engineering Research and Design*. 2004, 82, 1137–1143. ISSN 0263-8762.
24. Schuch, A., Helfenritter, C., Funck, M., Schuchmann, H.P. Observations on the influence of different biopolymers on coalescence of inner water droplets in W/O/W (water-in-oil-in-water) double emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [interaktyvus]. 2015, 475, 2–8. [žiūrėta 2016 m. vasario 16 d.]. ISSN 0927-7757. Prieiga per: doi: doi:10.1016/j.colsurfa.2014.06.012.

25. Norde, Willem. *Colloids and Interfaces in Life Sciences*. Marcel Dekker, INC. New York. 2003, p. 382-405. ISBN 0-203-91215-2.
26. Damodaran, S. Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science* [interaktyvus]. 2005, 70, 54–66. [žiūrėta 2016 m. sausio 14 d.]. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1365-2621.
27. Mitidieri, F.E., Wagner, J.R. Coalescence of o/w emulsions stabilized by whey and isolate soybean proteins. Influence of thermal denaturation, salt addition and competitive interfacial adsorption. *Food Research International*. 2002, 35, 547–557. ISSN 2231-7546.
28. Tcholakova, S., Denkov, N.D., Ivanov, I.B., Campbell, B. Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins. *Advances in Colloid and Interface Science* [interaktyvus]. 2006, 123–126, 259–293. [žiūrėta 2016 m. sausio 18 d.]. ISSN 0001-8686. Prieiga per: doi: 10.1016/j.cis.2006.05.021.
29. Ye, A. Surface protein composition and concentration of whey protein isolate-stabilized oil-in-water emulsions: effect of heat treatment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010, 78, 24–29. ISSN 0927-7765.
30. Paraskevopoulou, A., Boskou, D., Kiosseoglou, V. Stabilization of olive oil–lemon juice emulsion with polysaccharides. *Food Chemistry*. 2004, 90, 627–634. ISSN 0308-8146.
31. Dickinson, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*. 2003, 17, 25–39. ISSN 0268-005X.
32. Hattori, K., Abe, E., Yoshida, T., Cuculo, J.A. New solvents for cellulose. II. ethylenediamine/thiocyanate salt system. *Polymer Journal*. 2004, 36 (2), 123–130. ISSN 0032-3896.
33. Keller, J.D. Sodium carboxymethylcellulose (CMC). *Food hydrocolloids*. 1986, 3, 45–104. ISSN 0268-005X.
34. Barba, C., Montane, D., Rinaudo, M., Farriol, X. Synthesis and characterization of carboxymethylcelluloses (CMC) from non-wood fibers I. Accessibility of cellulose fibers and CMC synthesis. *Cellulose*. 2002, 9 (3/4), 319–326. ISSN 0969-0239.
35. Blijdenstein, T.B.J., van der Linden, E., van Vliet, T., van Aken, G.A. Scaling behavior of delayed demixing, rheology, and microstructure of emulsions flocculated by depletion and bridging. *Langmuir*. 2004, 20, 11321–11328. ISSN 0743-7463.
36. McClements, D.J. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. *Food Hydrocolloids*. 2000, 14 (2), 173–177. ISSN 0268-005X.
37. Evans, M., Ratcliffe, I., Williams, P.A. Emulsion stabilisation using polysaccharide–protein complexes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2013, 18 (4), 272–282. ISSN 1359-0294.

38. Mezzenga, R., Folmer, B.M., Hughes, E. Design of double emulsions by osmotic pressure tailoring. *Langmuir*. 2004, 20 (9), 3574–3582. ISSN 1520-5827.
39. Pays, K., Giermanska-Kahn, J., Pouligny, B., Bibette, J., Leal-Calderon, F. Double emulsions: How does release occur? *Journal of Controlled Release* [interaktyvus]. 2002, 79 (1–3), 193–205. [žiūrėta 2016 m. vasario 23 d.]. ISSN 0168-3659. Prieiga per: doi: 10.1016/S0168-3659(01)00535-1.
40. Schuch, A., Deiters, P., Henne, J., Köhler, K., Schuchmann, H.P. Production of W/O/W (water-in-oil-in-water) multiple emulsions: droplet breakup and release of water. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013, 402, 157–164. ISSN 0021-9797.
41. Matsumoto, S., Kang, W.W. Formation and application of multiple emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology* [interaktyvus]. 1989, 10, 455-482. [žiūrėta 2016 m. sausio 25 d.]. ISSN 0193-2691. Prieiga per: doi: 10.1080/01932698908943184.
42. Dickinson E., Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*. 2002, 60, 1-11. ISSN 1557-1858.
43. Graaf, S., Schroën, C.G.P.H., Boom, R.M. Preparation of double emulsions by membrane emulsification—a review. *Journal of Membrane Science*. 2005, 251 (1–2), 7–15. ISSN 0376-7388.
44. Nakashima, T., Shimizu, M., Kukizaki, M. Membrane emulsification by microporous glass. *Key Engineering Materials*. 1991, 61/62, 513. ISSN 1662-9795.
45. Suzuki, K., Fujiki, I., Hagura, Y. Preparation of corn oil/water and water/corn oil emulsions using PTFE membranes. *Food Science and Technology International Tokyo*. 1998, 4 (2), 164-167. ISSN 1532-1738.
46. Charcosset, C., Limayem, I., Fessi, H. The membrane emulsification process – a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* [interaktyvus]. 2004, 79, 209-21. [žiūrėta 2016 m. sausio 14 d.]. Prieiga per: doi: 10.1002/jctb.969.
47. Nazir, A., Schroën, K., & Boom, R. Premix emulsification: A review. *Journal of Membrane Science* [interaktyvus]. 2010, 362(1-2), 1-11. [žiūrėta 2016 m. sausio 23 d.] ISSN 0376-7388. Prieiga per: doi: 10.1016/j.memsci.2010.06.044.
48. Okuyama, M., Suzuki, T., Ogami, Y., Kumagami, M., Kobayashi, H. Turbulent combustion characteristics of premixed gases in a packed pebble bed at high pressure. *Proceedings of the Combustion Institute*. 2011, 33,1639-1646. ISSN 1540-7489.
49. Dickinson, E. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*. 2011, 6, 1–11. ISSN 1557-1858.
50. McClements, D.J., Decker, E.A., Park, Y., Weiss, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceutical and functional foods. *Critical Review of*

- Food Science and Nutrition* [interaktyvus]. 2009, 49, 577–606. [žiūrėta 2016 m. sausio 26 d.]. Prieiga per: doi: 10.1080/10408390902841529.
51. Lobato-Calleros, C., Rodríguez, E., Sandoval-Castilla, O., Vernon-Carter, E., Álvarez-Ramírez, J. Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from W-1/O/W-2 multiple emulsions: Viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International* [interaktyvus]. 2006, 39, 678–685. [žiūrėta 2016 m. vasario 26 d.]. Prieiga per: doi: 10.1016/j.foodres.2006.01.006.
52. Lobato-Calleros, C., Sosa-Pérez, A., Rodríguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C., Vernon-Carter, E. Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W₁/O/W₂ emulsions and skim milk. *LWT – Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2008, 41, 1747–1856. [žiūrėta 2016 m. vasario 21 d.]. ISSN 0023-6438. Prieiga per: doi: 10.1016/j.lwt.2008.01.006.
53. Serrano, A., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F.J., Jiménez-Colmenero, F. Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*. 2007, 77, 304–313. ISSN 0309-1740.
54. Wruss, J., Waldenberger, G., Huemer, S., Uygun, P., Lanzerstorfer, P., Muller, U., Hoglinger, O., Weghuber, J. Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *Journal of Food Composition and Analysis* [interaktyvus]. 2015, 42, 46-55. [žiūrėta 2016 m. sausio 27 d.]. Prieiga per: doi:10.1016/j.jfca.2015.03.005.
55. Zielinska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Dobrowolska-Zachwieja, A., Grajek, W. (2009). In vitro effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytotherapy Research*. 2009, 23 (1), 49–55. ISSN 1099-1573.
56. Herbach, K.M., Stintzing F.C., Carle, R. Betalain Stability and Degradation – Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science* [interaktyvus]. 2006, 71(4), 41-50. [žiūrėta 2016 m. vasario 8 d.]. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x.
57. McClements, D.J. Food emulsions: Principles, practice, and techniques. *International Journal of Food Science & Technology* [interaktyvus]. 2005, 36, 223–224. [žiūrėta 2016 m. vasario 4 d.]. Prieiga per: doi: 10.1046/j.1365-2621.2001.00459.x.
58. Singh, H., Ye, A., Horne, D. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in Lipid Research* [interaktyvus]. 2009, 48 (2), 92–100. [žiūrėta 2016 m. vasario 27 d.]. ISSN 0163-7827. Prieiga per: doi: 10.1016/j.plipres.2008.12.001.

59. McClements, D.J., Li, Y. Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2010, 159 (2), 213–228. ISSN 0001-8686.
60. Li, Y., Hu, M., McClements, D.J. Factors affecting lipase digestibility of emulsified lipids using *in vitro* digestion model: Proposal for a standardised pH-stat method. *Food Chemistry* [interaktyvus]. 2011, 126 (2), 498–505. [žiūrėta 2016 m. vasario 9 d.]. ISSN 0308-8146. Prieiga per: doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.027.
61. Ibraheem, D., Iqbal, M., Agusti, G., Fessi, H., Elaissari, A. Effects of process parameters on the colloidal properties of polycaprolactone microparticles prepared by double emulsion like process. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [interaktyvus]. 2014, 445, 79–91. [žiūrėta 2016 m. sausio 23 d.]. Prieiga per: doi: doi:10.1016/j.colsurfa.2014.01.012.
62. Sahin, S., Sawalha, H., & Schroën, K. High throughput production of double emulsions using packed bed premix emulsification. *Food Research International* [interaktyvus]. 2014, 66, 78-85. [žiūrėta 2015 m. spalio 26 d.]. ISSN 0963-9969. Prieiga per: doi: 10.1016/j.foodres.2014.08.025.
63. Kaimainen, M., Marze, S., Järvenpää, E., Anton, M., Huopalahti, R. Encapsulation of betalain into w/o/w double emulsion and release during *in vitro* intestinal lipid digestion. *LWT - Food Science and Technology* [interaktyvus]. 2015b, 60, 899-904. [žiūrėta 2015 m. rugsėjo 24 d.]. ISSN 0023-6438. Prieiga per: doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.016.
64. Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., Solas M.T. The effect of use of freeze-thawed pork on properties of bologna sausage with two fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*. 1995, 30, 335–346. ISSN 1365-2621.
65. LST ISO 1442:2000. Mėsa ir mėsos produktai. Drėgmės kiekio nustatymas (pamatinis metodas). Vilnius: LST departamentas, 2000.
66. LST ISO 1443:2000. Mėsa ir mėsos produktai. Bendrojo riebalų kiekio nustatymas. Vilnius: LST departamentas, 2000.
67. LST ISO 937:2000. Mėsa ir mėsos produktai. Azoto kiekio nustatymas (pamatinis metodas). Vilnius: LST departamentas, 2000.
68. LST ISO 936:2000. Mėsa ir mėsos produktai. Bendrojo pelenų kiekio nustatymas. Vilnius: LST departamentas, 2000.
69. Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. W/O/W double emulsions stabilized with WPI–polysaccharide complexes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [interaktyvus]. 2007, 294, 20-32. [žiūrėta 2016 m. gegužės 11 d.]. Prieiga per: doi: doi:10.1016/j.colsurfa.2006.07.056.

70. Cofrades, S., Antoniou, I., Solas, M.T., Herrero, A.M., Jiménez-Colmenero, F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chemistry*. 2013, 141 (1), 338–346. ISSN 0308-8146.
71. Eisinaitė V., Jūraitė D., Leskauskaitė D., Schroën K. Preparation of stable food-grade double emulsions with a hybrid premix membrane emulsification system. *Food Chemistry*. 2016, 206, 59–66. ISSN 1873-7072; 0308-8146.