

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Goda Ziutelytė

**Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų fizikiniam ir
cheminiam stabilumui**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovė

Doc. dr. Daiva Leskauskaitė

KAUNAS, 2018

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų fizikiniam ir
cheminiam stabilumui**

Baigiamasis magistro projektas

Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

Vadovė

Doc. dr. Daiva Leskauskaitė

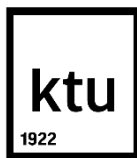
Recenzentė

Lekt. Viktorija Eisinaitė

Projekto autorė

Goda Ziutelytė

KAUNAS, 2018



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Goda Ziutelytė

Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

„Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų fizikiniam ir cheminiam stabilumui“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2018 m. birželio 4 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano, Godos Ziutelytės, baigiamasis projektas tema „Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų fizikiniam ir cheminiam stabilumui“ 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	12
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	13
1.1. Dvigubųjų emulsijų V/A/V struktūra ir savybės	13
1.1.1. Tarpfazių A/V ir V/A įtaka dvigubųjų emulsijų fizikiniam stabilumui.....	13
1.1.2. Tarpfazio savybių matavimo metodai	15
1.1.3. Riebalų fazės įtaka dvigubųjų emulsijų stabilumui	18
1.2. Dvigubųjų emulsijų cheminis stabilumas	19
1.2.1. Riebalų kilmės įtaka dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui.....	19
1.2.2. Struktūros įtaka dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui	20
1.2.3. Dvigubųjų emulsijų cheminio stabilumo didinimo būdai.....	21
1.3. Dvigubųjų emulsijų stabilumas virškinimo metu <i>in vitro</i> sąlygomis	24
2. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	26
3. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI.....	26
3.1. Medžiagos.....	26
3.2. Įvairios struktūros dvigubųjų V/A/V emulsijų gamyba	27
3.3. Dvigubųjų V/A/V emulsijų fizikinio stabilumo vertinimo metodai.....	28
3.4. Tarpfazių A/V ir V/A savybių matavimo metodai	29
3.5. Dvigubųjų V/A/V emulsijų cheminio stabilumo vertinimo metodai	30
3.5.1. Peroksidų skaičiaus nustatymo jodometrinis metodas	30
3.5.2. Distiliavimo metodas kiekybiniam monoaldehido nustatymui.....	31
3.5.3. Dvigubųjų V/A/V emulsijų virškinamumo <i>in vitro</i> tyrimas	31
4. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	34
4.1. Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų reologinėms-struktūros savybėms ir fizikiniam stabilumui.....	34
4.1.1. Emulsijų homogenizavimo trukmės įtaka jų stabilumui	34
4.1.2. Emulsijų gamyba su skirtingais vandens ir aliejinės fazės santykiais	37
4.1.3. Emulsijų gamyba su skirtingu IBI kiekiu išorinėje V ₂ vandens fazėje	38

4.1.4. Emulsijų gamyba su skirtingu KMC kiekiu išorinėje V_2 vandens fazėje	40
4.2. Dvigubųjų emulsijų tarpfazių V/A ir A/V savybių priklausomybė nuo riebalų fazės sudėties ir tarpfazių formuojančių medžiagų prigimties bei kiekio	44
4.3. Riebalų kilmės ir antioksidanto įtaka dvigubųjų emulsijų V/A/V cheminiam stabilumui.....	47
4.4. Riebalų hidrolizės įvertinimas, imituojant dvigubosios emulsijos virškinimo sąlygas <i>in vitro</i>	63
IŠVADOS	65
LITERATŪROS SĄRAŠAS	66

Paveikslų sąrašas

1 pav. Dvigubųjų emulsijų V/A/V struktūra.....	13
2 pav. Kabančio lašo / burbulo profilio tensiometras	17
3 pav. Sukamojo bikoninio reometro schema. $\alpha = 5^\circ$ yra kūgio kampas; R1 yra vidinis indo spindulys; R2 – sukamojo kūno spindulys.....	18
4 pav. Tarpfazio struktūros sudarymo schema	30
5 pav. pH-stat metodo veikimo schema.....	33
6 pav. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų gravitaciniam stabilumui	35
7 pav. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymui	35
8 pav. Dvigubosios emulsijos su skirtingais vandens ir aliejaus fazės svorių santykiais: a) V ₁ /A (30:70) ir V/A/V (50:50) ; b) V ₁ /A (40:60) ir V/A/V (60:40) ; c) V ₁ /A (50:50) ir V/A/V (70:30)	38
9 pav. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymui	41
10 pav. Dvigubųjų emulsijų tepumas, esant skirtingai KMC koncentracijai a) 0,2 % KMC; b) 0,3 % KMC	42
11 pav. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, dalelių dydžio pasiskirstymui.....	42
12 pav. Dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, tepumas, esant skirtingai KMC koncentracijai: a) 0,2 % KMC; b) 0,3 % KMC.....	43
13 pav. Dvigubųjų emulsijų struktūros bei sudėties įtaka kietumui	44
14 pav. V/A tarpfazio reologinės charakteristikos, aliejinėje fazėje esant 6 % PGPR, kai $\gamma = 0,1$ %	45
15 pav. V/A tarpfazio reologinės charakteristikos, aliejinėje fazėje esant 6 % PGPR; $\gamma = 0,5$ %	46
16 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų peroksidų skaičiaus priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 20 °C temperatūrai	49
17 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų peroksidų skaičiaus priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 37 °C temperatūrai.	50
18 pav. Kalibracinė TBR tyrimo kreivė.....	54
19 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų monoaldehido koncentracijos priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 20 °C temperatūrai ..	55
20 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų monoaldehido koncentracijos priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 37 °C temperatūrai ..	56
21 pav. Dvigubosios emulsijos su žuvies riebalais dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo emulsijų laikymo trukmės	58

22 pav. Dvigubųjų emulsijų su aliejumi dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)	60
23 pav. Dvigubųjų emulsijų su pieno riebalais dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)	60
24 pav. Dvigubųjų emulsijų su žuvies riebalais dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)	61
25 pav. LRR atpalaidavimas iš dvigubųjų emulsijų virškinimo in vitro metu priklausomai nuo emulsijose esančių riebalų kilmės	63

Lentelių sąrašas

Lentelė 1. Darbinių ir bazinių virškinimo sulčių paruošimas.....	32
Lentelė 2. Virškinimo burnoje etapas.....	32
Lentelė 3. Skrandžio virškinimo etapas.....	32
Lentelė 4. Žarnyno virškinimo etapas	33
Lentelė 5. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui.....	35
Lentelė 6. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų struktūros savybėms.....	36
Lentelė 7. Fazių santykio dvigubosiose emulsijose įtaka jų struktūros ir tekstūros savybėms ...	37
Lentelė 8. IBI koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui.....	39
Lentelė 9. IBI koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui.....	39
Lentelė 10. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui.....	41
Lentelė 11. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, dalelių dydžiui.....	43
Lentelė 12. Maksimalus leistinas peroksidų kiekis riebaluose.....	48
Lentelė 13. Dvigubosios emulsijos su žuvies riebalais dalelių dydis ir pasiskirstymo rodiklis priklausomai nuo emulsijų laikymo trukmės	59

Ziutelytė, Goda. Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų fizikiniam ir cheminiam stabilumui. Magistro baigiamasis projektas / vadovė doc. dr. Daiva Leskauskaitė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Technologijų mokslai, Maisto technologijos.

Reikšminiai žodžiai: dviguboji emulsija, riebalai, dalelių dydis, reologija, oksidacija, virškinimas. Kaunas, 2018. 73 p.

SANTRAUKA

Dvigubosios V/A/V emulsijos dėl savo struktūros ypatumų turi didelį pritaikomumo potencialą. Viena iš šių emulsijų panaudojimo maisto produktuose galimybių – maisto produktų su sumažintu riebalų kiekiu kūrimas, pakeičiant dalį riebalų vandens faze, bet išlaikant įprastas produkto savybes bei tekstūrą. Dėl didelio vandens fazių tūrio bei dviejų tarpfazių, dvigubosios emulsijos linkusios greičiau prarasti savo fizikinį bei cheminį stabilumą. Todėl šio darbo tikslas buvo nustatyti dvigubųjų emulsijų sudėties įtaką jų fizikiniam bei cheminiam stabilumui. Tyrimų objektais buvo V/A/V, kuriose riebalų fazė buvo saulėgražų aliejus arba pieno arba žuvies riebalai, taip pat keitėme tarpfazių formuojančių medžiagų prigimtį ir koncentracijas.

Nustatyta, kad stabiliausias emulsijos gautos taikant pirminės V/A emulsijos homogenizavimą 5 min, dvigubosios – 3 min. Geriausias fazių santykis – V/A (40:60) ir V/A/V (60:40). Emulsiklio panaudojimo atžvilgiu geriausiu stabilumu pasižymėjo emulsijos, kurių aliejinėje fazėje buvo 6 % poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR), o išorinėje vandens fazėje – 0,2 % ir 0,3 % karboksimetilceliuliozės (KMC).

Tarpfazio reologinių savybių tyrimų rezultatai parodė, kad geriausiomis reologinėmis savybėmis pasižyminčią plėvelę formuoja lipofilinės prigimties emulsiklis - poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR), kurio koncentracija 6 %.

Ištyrus riebalų kilmės įtaką dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui nustatyta, kad mažiausiu cheminiu stabilumu pasižymėjo emulsijos su aliejaus ir žuvies riebalais dėl jų riebalų rūgščių kompozicijos, kuriose ~65-90 % sudaro nesočiosios riebalų rūgštys. Cheminiam emulsijų stabilumui įtaką darė laikymo temperatūra ir riebalų emulsavimas, kuris ankstino oksidacijos procesų pradžią.

Atlikus dvigubųjų emulsijų virškinimą *in vitro* sąlygomis, nustatyta, kad greičiausiai riebalų hidrolizė vyko emulsijose su pieno riebalais, t y. virškinimo pabaigoje iš jų buvo atpalaiduotas didžiausias kiekis laisvųjų riebalų rūgščių. Tai lėmė emulsijos sudėtyje esantys pieno riebalai, savo sudėtyje turintys ~70 % trumpos grandinės riebalų rūgščių, kurios greičiausiai ir lengviausiai virškinamos.

Ziutelytė, Goda. The Influence of Composition of Double Emulsions on the Physical and Chemical Stability of Emulsions Master's Final Degree Project / supervisor doc. dr. Daiva Leskauskaitė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Technological Sciences, Food Technology.

Keywords: double emulsion, lipids, droplet size, reology, oxidation, digestion.

Kaunas, 2018.73 p.

SUMMARY

Double W/O/W emulsions are considered to have great application potential due to their structural features. One possibility of using these emulsions in food manufacturing is creation of low fat foods by replacing part of the fat with water phase but maintaining the usual properties and texture of the product. Due to the high volume of water phases and the two interfaces, the double emulsion lose its physical and chemical stability more quickly. Therefore, the purpose of this work was to determine the effect of the composition of the double emulsions on their physical and chemical stability. The research objects were W/O /W, where the fat phase was sunflower oil or milk or fish fats. Also we changed the nature and concentrations of interface forming substances.

It has been found that the most stable emulsions are produced when primary W/O emulsions are homogenized for 5 minutes, and the double ones for 3 minutes. The best phase ratio has been found to be W/O (40:60) and W/O/W (60:40). What concerns the emulsifier used in the experiments, the best stability was shown by the emulsions which had 0,6 % of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) in their oil phase and 0,2 % and 0,3 % of carboxymethyl cellulose (CMC) in their outer phase.

The results of the inter-phase rheological study showed that interfacial film with the best rheological properties is formed by polyglycerol polyricinoleate (PGPR), an emulsifier of lipophilic nature, at a concentration of 6 %.

After examining the influence of fat on the chemical stability of double emulsions, it has been found that emulsions with oil and fish fats maintained the lowest chemical stability because of their fatty acids, that contain 65-90 % of unsaturated fatty acids composition. The chemical stability of emulsions has also been influenced by the storage temperature and fat emulsification, which causes the early oxidation processes.

Having simulated the digestion of double emulsions *in vitro* conditions, it has been determined that fat hydrolysis is most quickly accomplished in emulsions containing milk fat, i.e. at the end of digestion the greatest amount of free fat acids has been released from the sample. It has been caused by milk fats which are present in the emulsion and which contain ~70 % of short chain fatty acids digested most quickly and most easily.

Santrumpos

A/V – aliejus-vanduo; įprastinė emulsija, kurioje vanduo emulsuotas aliejuje;

Al – aliejus;

Al.a. – aliejus su antioksidantu;

Al.E. – aliejaus emulsija;

Al.E.a. – aliejaus emulsija su antioksidantu;

HLB - hidrofilinis-lipofilinis balansas;

IBI – išrūgų baltymų izoliatas;

KMC – karboksimetilceliuliozė;

P.R. – pieno riebalai;

P.R.a. – pieno riebalai su antioksidantu;

P.R.E. – pieno riebalų emulsija;

P.R.E.a. – pieno riebalų emulsija su antioksidantu;

PAM - paviršiaus aktyviosios medžiagos;

PGPR – poliglicerolio poliricinoleatas;

PNRR- polinesočiosios riebalų rūgštys

TBR – 2-tiobarbitūrinė rūgštis;

TEP – 1,1,3,3 – tetraetoksipropanas;

V/A – vanduo-aliejus; įprastinė emulsija, kurioje aliejus emulsuotas vandenyje;

V/A/V* – vanduo-aliejus-vanduo; dviguboji emulsija, kurioje maži vandens lašeliai pasiskirstę aliejaus lašelių viduje, o šie disperguoti tolydinėje vandens fazėje;

Ž.R. – žuvies riebalai;

Ž.R.a. – žuvies riebalai su antioksidantu;

Ž.R.E. – žuvies riebalų emulsija;

Ž.R.E.a. – žuvies riebalų emulsija su antioksidantu.

* Dvigubosios emulsijos gamintos su aliejumi, pieno ir žuvies riebalais, joms taikomas bendrinis sutrumpinimas V/A/V.

IVADAS

Pasaulyje vis didėjant netinkamo maisto vartojimo sukeltų sveikatos problemų (širdies kraujagyslių susirgimai, diabetas, nutukimas), auga vartotojų susidomėjimas maisto produktais, kurie teikia naudą sveikatai. Pastaruoju metu nemažai dėmesio maisto mokslininkai bei technologai skiria daigianarių arba kitaip vadinamų – dvigubųjų, emulsijų tyrimams. Potencialus dvigubųjų emulsijų panaudojimas maisto technologijoje dažniausiai siejamas su įvairių funkcinių ingredientų, lakiųjų ar jautrių ingredientų (skonių, mineralų, vitaminų ir kt.) įkapsuliavimu vidinėje vandens fazėje, apsaugant nuo galimų aplinkos veiksnių.

Tačiau yra ir kitų šių emulsijų panaudojimo maisto produktuose galimybių. Viena jų – maisto produktų su sumažintu riebalų kiekiu kūrimas. Žmonėms kenčiant nuo per didelio suvartojamo riebalų kiekio, atsiradusių svorio problemų, produktai su sumažintu riebalų kiekiu ypač aktualūs. Dvigubosios emulsijos yra tinkamos pakeisti lipidų frakcijos kokybinę ir kiekybinę sudėtį produktuose ir taip sumažinti riebalų kiekį juose, nepabloginant produktų tekstūros. Nepaisant akivaizdžių dvigubųjų emulsijų privalumų, mažinant riebalų kiekį, jų dalį pakeičiant vandens fazę, vis dar pagrindine problema išlieka jų stabilumas. Dėl dvigubųjų emulsijų terminio nestabilumo ir sudėtingos struktūros jų panaudojimas yra ribotas.

Šiame darbe iškeltas tikslas - nustatyti dvigubųjų emulsijų sudėties įtaką jų fizikiniam bei cheminiam stabilumui.

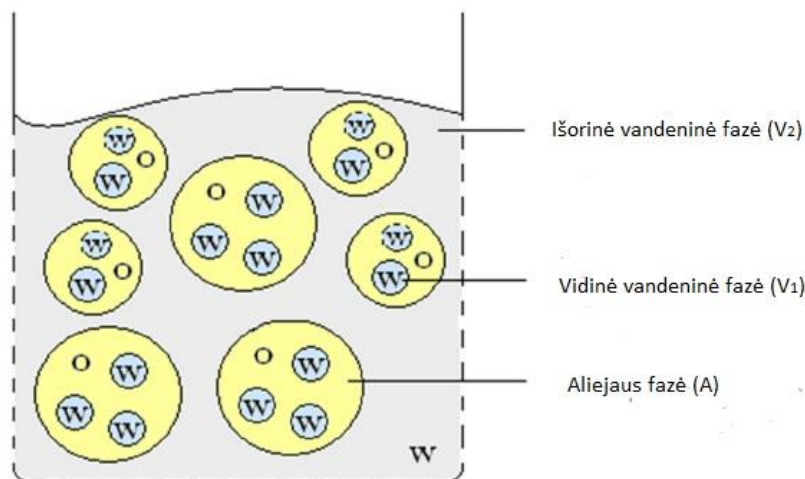
Tiksliui pasiekti iškelti keturi uždaviniai:

1. Pagaminti statinėmis sąlygomis stabilias dvigubąsias V/A/V emulsijas su pieno riebalais, keičiant homogenizavimo trukmę, fazių santykį ir emulsiklio prigimtį bei kiekį;
2. Įvertinti dvigubųjų emulsijų tarpfazio A/V reologinių savybių priklausomybę nuo tarpfazį formuojančių medžiagų prigimties bei kiekio;
3. Nustatyti riebalų kilmės įtaką dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui ir palyginti emulsuotų bei neemulsuotų riebalų oksidaciją;
4. Nustatyti dvigubųjų emulsijų sudėtyje esančių skirtingos kilmės riebalų hidrolizę, imituojant emulsijų virškinimo sąlygas *in vitro*.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Dvigubųjų emulsijų V/A/V struktūra ir savybės

Pastaraisiais dešimtmečiais mokslinių tyrimų dėmesio centre buvo daugianarės vanduo/aliejus/vanduo (V/A/V) emulsijos dėl daugybės perspektyvių jų taikymo galimybių bioaktyvių komponentų įkapsuliavimo tikslais. Nors įvairūs pramonės sektoriai išreiškė didelį susidomėjimą V/A/V emulsijomis, rinkoje yra tik keletas dvigubų emulsijų pagrindu pagamintų produktų. Nepakankamas dvigubųjų emulsijų fizinis stabilumas, kurio priežastis – sudėtinga struktūra, išlieka didžiausias iššūkis sėkmingai daugianarių emulsijų gamybai ir rinkodarai. Stabilumo didinimui naudojami įvairūs stabilizatoriai. Stabilizatoriai gali sąveikauti tarpusavyje, dėl ko gali pasikeisti tarpfazių savybės ir emulsijos struktūra [1]. Dvigubos emulsijos susideda iš vandens lašelių (V_1), pasiskirsčiusių aliejaus rutuliukuose (A), kurie disperguoti išorinėje vandens fazėje (V_2) (žr. 1 pav.) [2].



1 pav. Dvigubųjų emulsijų V/A/V struktūra [3].

1.1.1. Tarpfazių A/V ir V/A įtaka dvigubųjų emulsijų fizikiniam stabilumui

Dvigubosios emulsijos (V/A/V), sudarytos iš nesimaišančių fazių, yra termodinamiškai nestabilios. Tokias emulsijas sunkiau paruošti ir valdyti negu paprastas emulsijas, nes paprastai jos susideda iš santykinai didelių riebalų dalelių, kurios linkusios suartėti ir susijungti [4]. Atsižvelgiant į emulsijos pobūdį, emulsavimo metu dispersinėje ir ištisinėje fazėse sukuriama struktūrinės sritys, priklausomai nuo emulsijų sudėties ir išorinės energijos panaudojimo jas emulsuojant. Dispersinė fazė gali išlikti stabili ribotą laiką, nes disperguotos riebalų dalelės ilgainiui susilies ir atsiskirs į atskiras komponentų fazes. Stabilizavimas apsaugant nuo koalescencijos yra vienas iš svarbiausių parametrų emulsijos kokybei nustatyti. Stabilumo trukmė priklauso nuo tarpfazio, skiriančio dispersines ir vientisas fazes, savybių. Įprastai tarpfazis

susideda iš paviršiaus aktyviųjų molekulių (PAM), kurios gali būti adsorbuotos iš dispersinės ar ištisinės fazės. Siekiant stabilizuoti emulsijas, pridedama mažos molekulinės masės aktyviųjų paviršiaus medžiagų, baltymų, koloidinių dalelių ir jų derinių [5, 6].

Kalbant apie aliejaus ir vandens (A/V) ar vandens ir aliejaus (V/A) tarpfazių, paviršiaus aktyviosios molekulės adsorbuojasi aliejaus ir vandens sąlyčio paviršiuje. Jų adsorbcija priklauso nuo kiekvienos molekulės savybių. Šios molekulės turi būti amfifilinės, t. y. turinčios tiek hidrofilines, tiek hidrofobines dalis. Hidrofilinės molekulių galvutės būna vandenyje, o hidrofobinės uodegėlės aliejuje. Molekulės pritraukiamos į tarpfazio sritį, kad jų sudedamosios hidrofilinės ir hidrofobinės dalys galėtų būti susietos su atitinkamomis polinėmis ir nepolinėmis fazėmis. Taip paviršiaus aktyviosios medžiagos sudaro stabilius plonus sluoksnius, stabilizuojančius emulsijas [6, 7].

Taip pat emulsijos gali būti stabilizuotos katijoninėmis arba anijoninėmis aktyviomis paviršiaus medžiagomis. Priklausomai nuo to, disperguoti lašeliai yra įkraunami teigiamu arba neigiamu krūviu. Dėl krūvių savybės atstumi viena nuo kito, paviršiaus aktyviosios medžiagos padeda pristabdyti lašelių koalescenciją. Toks procesas vadinamas elektrostatische stabilizacija.

Emulsiklių tipai skirti stabilizuoti emulsijoms:

- hidrofiliškos prigimties emulsikliai A/V sistemoms stabilizuoti (anijoniniai ir katijoniniai);
- lipofilinės prigimties emulsikliai V/A sistemoms stabilizuoti;
- silpniau išreikštų savybių mažos molekulinės masės emulsikliai;
- didelės molekulinės masės emulsikliai [7].

Šie stabilizatoriai slopina procesus, kurie kitu atveju paveiktų emulsijos stabilumą. Tokie procesai yra:

- sedimentacija (vandens dalelių nusėdimas iš emulsijos dėl tankio skirtumo tarp aliejaus ir vandens);
- aregacija / flokuliacija (dalelių sujungimas emulsijoje be paviršiaus pasikeitimo);
- koalescencija (dalelių susiliejimas, susidarant didesniems lašams);
- fazės inversija (reiškinys kai A/V emulsija virsta V/A emulsija ir atvirkščiai).

Veiksniai, veikiantys tarpfazių sluoksnių savybės ir aliejaus emulsijos stabilumą:

- temperatūra;
- dalelių dydis ir dalelių dydžio pasiskirstymas;
- pH.

Temperatūra

Temperatūra gali paveikti emulsijos stabilumą. Temperatūra daro įtaką aliejaus, vandens, tarpfazių sluoksnių fizikinėms savybėms ir paviršiaus aktyviųjų medžiagų tirpumui aliejaus ir

vandens fazėse. Tai turi įtakos emulsijos stabilumui. Svarbiausias temperatūros poveikis yra emulsijų klampai. Klampa mažėja didėjant temperatūrai. Šis sumažėjimas daugiausia susijęs su aliejaus klampos sumažėjimu. Temperatūra padidina šiluminę dalelių energiją, todėl padidėja koalescencija. Tai irgi sumažina tarpfazio klampa, dėl ko taip pat pagreitėja dalelių susilieėjimas [8].

Dalelių dydis

Emulsijų stabilumas taip pat priklauso nuo dalelių dydžio ir jų pasiskirstymo. Dalelių dydžio pasiskirstymas emulsijose daro įtaką gravitaciniam, koalescenciniam ir mikrobiologiniam stabilumui laikymo metu. Taip pat daro įtaką emulsijų reologinėms savybėms, išvaizdai, tekstūrai, skoniui ir junginių atpalaidavimo greičiui. Be to, dalelių dydžio pasiskirstymas leidžia suvokti naudojamo emulsiklio ir emulsijos gamybos proceso efektyvumą [9, 10].

Emulsijos, kuriose yra mažesnio dydžio dalelių, paprastai būna stabilesnės. Vandens fazės išskyrimui iš emulsijos dalelės turi susijungti, tačiau kuo mažesnės dalelės, tuo ilgiau trunka fazėms atskirti. Dalelių pasiskirstymas veikia emulsijos klampumą, nes ji yra didesnė, kai pasiskirsčiusių dalelių dydis yra mažesnis. Emulsijos klampa taip pat yra didesnė, kai dalelių dydis pasiskirsto siaurame intervale (t. y. dalelių dydis yra gana vienodas) [11].

pH

Tarpfazių savybes galima reguliuoti mažais pH pokyčiais po jų susidarymo [12]. Pakeitimai tirpalo pH gali keisti elektrostatinę sąveiką tarp dalelių paviršiaus ir adsorbuoto polielektrolito. Taip pat tarp dviejų ar daugiau adsorbuotų polielektrolitų sluoksnyje arba tarp adsorbuotų ir ne adsorbuotų polielektrolitų. Šie pakeitimai gali keisti tarpfazio storį ir vientisumą [13].

Emulsijoms susidaryti ir jų stabilumui išlaikyti itin svarbu sudaryti adsorbuotą dalelių sluoksnį aliejaus lašeliuose, nes didėjant adsorbuotų dalelių kiekiui, sumažėja paviršiaus įtempis. Dėl šių procesų emulsijos tampa stabilesnės. Padidėjus dispersijos pH ir dalelių koncentracijai, emulsijų stabilumas pagerėja, o emulsijų dalelės sumažėja. Be to, dispersinės struktūros stiprumo didinimas, didėjant pH ir dalelių koncentracijai, taip pat pagerina emulsijų stabilumą. Galutinė emulsijų būklė yra gelio forma. Gelio formos struktūra nėra būtina emulsijai formuoti. Ji pagerina emulsijų stabilumą. Emulsijas taip pat galima deemulsuoti, reguliuojant emulsijos pH [14].

1.1.2. Tarpfazio savybių matavimo metodai

Mokslinėje literatūroje yra daug publikacijų apie paviršinio aktyvumo pusiausvyrinės adsorbcijos savybes, t. y. adsorbcijos izotermas [1]. Tačiau daugeliui šiuolaikinių technologijų dar svarbiau yra dinaminių tarpfazių savybių tyrimai. Šie tyrimai yra skirti adsorbcijos kinetikai, tarpfazio klampiai elastingai elgsenai, tarpfazio elektros krūvio pokyčiams nustatyti.

Lengviausias išmatuojamas skysčio paviršiaus ar tarpfazio dinaminis dydis, atspindintis paviršiaus aktyvios medžiagos ar polimero molekulių adsorbcijos dinamiką tarpfazyje, yra tarpfazio įtempis. Šio rodiklio nustatymo metodika pagrįsta greitu naujo paviršiaus tarpfazyje susidarymu ir tolimesniu paviršiaus įtempių matavimu. Tačiau norint išsamiai išnagrinėti dinaminį tarpfazio elgesį, reikia atlikti daugiau matavimų, tokių kaip tarpsluoksnio šlyties nustatymas ir dilatantinė reologija.

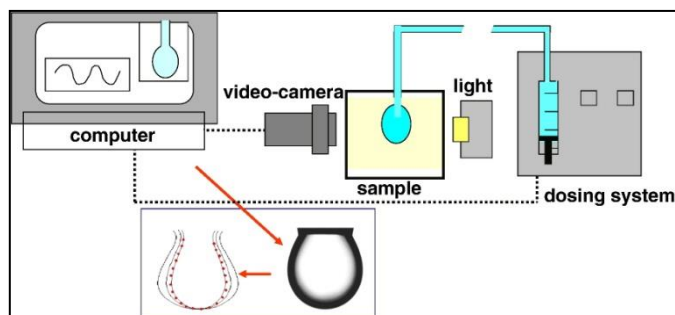
Kaip minėta anksčiau, adsorbcija yra dinamiškas procesas, o adsorbuotų sluoksnių savybėms daro įtaką adsorbcijos mechanizmas. Be to, emulsuojant įvairiomis sąlygomis, tarpfazio savybės priklauso nuo skirtingų išorės poveikių, pvz., išsiplėtimo ir suspaudimo ar poslinkio, taip pat nuo tarpfazio dydžio ir formos pokyčių. Todėl labai svarbu žinoti apie adsorbuoto sluoksnio atsistatymą po tokių išorinių poveikių.

Dauguma paskelbtų tarpfazio aliejus-vanduo savybių tyrimų buvo atlikti naudojant emulsiklius – grynus baltymus ar mišinius su paviršinio aktyvumo medžiagomis bei kitais baltymais, nes šios sistemos dažnai naudojamos kaip maisto emulsijų stabilizatoriai [15]. Mokslinėje literatūroje yra keletas publikacijų, nagrinėjančių paviršinio aktyvumo medžiagų struktūros poveikį reologinėms tarpfazio savybėms. Buvo tiriamas hidrofobinių grandinių, esančių paviršiaus aktyviosiose medžiagose, poveikis tarpfazio savybėms. Reologinių matavimų metu nustatyta, kad didesnės elastingumo vertės būdingos ilgesnėms hidrofobinėms grandinėms, esant mažoms paviršiaus aktyviųjų medžiagų koncentracijoms, palyginti su trumpesnėmis hidrofobinėms grandinėms. Kitokie rezultatai buvo pastebėti esant didesnėms paviršiaus aktyviųjų medžiagų koncentracijoms su ilgesne hidrofobine grandine – lengviau desorbuojasi iš tarpfazio [16, 17]. Tarpfazio sluoksnio savybės yra svarbus rodiklis šių skysčių dispersinių sistemų ilgalaikiam stabilumui. Literatūroje plačiausiai aprašomi reologiniai tyrimo metodai, kuriais nustatoma tarpfazio poslinkio ir dilatantinė deformacija.

Dilatantinė reologija – priemonė tirti paprastų ir sudėtingesnių tarpfazių sluoksnių, kuriose yra paviršinio aktyvumo medžiagų, baltymų, polimerų arba mikro – nano – dalelių pusiausvyrą ir dinamines savybes. Dilatantinė reologija turi ypatingą reikšmę sistemoms, kurių sudėtyje yra aktyviųjų paviršiaus medžiagų arba, apskritai, sudėtiniams tarpfazio sluoksniams, kurių tarpfazio įtempiai keičiasi dėl paviršiaus relaksacijos procesų ar difuzijos [15]. Kalbant apie dilatatinėje reologijoje naudojamus metodus, ypač efektyvūs yra lašo / burbulo tensiometrai. Dėl jų universalumo lašo / burbulo profilio tensiometrija (DPT) yra gerai žinoma technika, skirta nustatyti skysčių-dujų ir skysčių-skysčių tarpfazių mechanines savybes.

Tipiškas DPT (žr. 2 pav.) susideda iš celės, kurioje lašelis arba burbulas suformuojamas kito skysčio viduje vertikalios arba U formos kapiliario viršuje. Lašą / burbulą nuolatos stebi vaizdo

kamera, sujungta su kompiuteriu, o jo profilis gaunamas automatiškai, kad būtų galima apskaičiuoti paviršiaus įtempį [18].



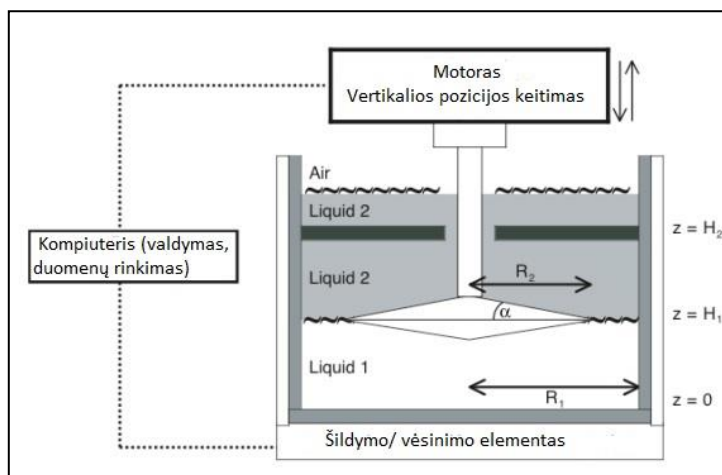
2 pav. Kabančio lašo / burbulo profilio tensiometras [18]

Tarpfazio poslinkio reologija suteikia informaciją apie tarpfazio formavimąsi. Poslinkio deformavimo eksperimentų metu keičiama tik tarpfazio sluoksnio forma, o jo ploto dydis išlieka pastovus. Todėl suspaudimo poveikį galima ignoruoti ir matuojamos tik šoninės jėgos [15].

Pastaraisiais dešimtmečiais buvo pasiūlyta įvairių modelių, skirtų tarpfazio poslinkio klampai ir klampiai elastingoms savybėms matuoti (žr. 3 pav.). Dauguma iš jų gali būti klasifikuojami:

1. Netiesioginiai poslinkio reometrai, kuriuose tarpfazyje esančių dalelių poslinkis užfiksuojamas ir įvertintas naudojant vaizdo analizę. Šių reometrų srauto tipas yra slėginis. Įrenginiai, tokie kaip gilus kanalo arba „peilio į sieną“ reometras, užtikrina didelį jautrumą net esant žemai tarpfazio klampai. Be to, jie tinka matavimams tiek skysčių / skysčių ir dujų / skysčių tarpfaziams.
2. Tiesioginiai poslinkio reometrai, kuriuose sukimo momentas arba poslinkis išmatuojamas tiesiogiai tarpfazyje esančiame darbiniam kūne. Ši kategorija apima sukimosi diskų geometriją (tinka skysčių / skysčių ir dujų / skysčių tarpfaziams). Taip pat sukurtas labai jautrus, įtempį kontroliuojantis reometras, kuriame adata yra ant tarpfazio ir jis sukuriamas svyruojančiu judesiu magnetiniame lauke. Taip pat buvo aprašytos panašios sąrankos, pagrįstos sukamaisiais magnetiniais diskais [19].

Tarpfazio poslinkio reometro schema pateikta 3 paveiksle.



3 pav. Sukamojo bikoninio reometro schema. $\alpha = 5^\circ$ yra kūgio kampas; R_1 yra vidinis indo spindulys; R_2 – sukamojo kūno spindulys [19].

1.1.3. Riebalų fazės įtaka dvigubųjų emulsijų stabilumui

Dėl galimo plataus pritaikymo, ypač, produktų su sumažintu riebalų kiekiu gamyboje, dvigubosios emulsijos (V/A/V) yra intensyvių tyrimų objektas. Mokslinėje literatūroje paprastosios ir dvigubosios emulsijos aprašytos gana plačiai, tačiau visur akcentuojamas jų stabilumas ir patvarumas laike. Vis dar siekiama išsiaiškinti, kokie veiksniai bei sudėtis turi įtakos emulsijų stabilumui.

Emulsijų stabilumui įtakos gali turėti daugybė išorės veiksnių, tokių kaip fizinis, cheminis ir mikrobiologinis poveikis ar temperatūros poveikis. Visi šie poveikiai gali sukelti emulsijų destabilizaciją. Kadangi vidinę fazę, kuri atskiria dvi vandenines fazes, sudaro riebalai, akivaizdu, jog ši fazė gali turėti įtakos emulsijų savybėms ir stabilumui. Mokslininkų buvo nustatyta, kad didėjant riebalų fazės santykiniam kiekiui, didėja emulsijų klampa. Klampos didėjimas siejamas su didesniu stabilumu, nes sumažėja disperguotų dalelių judėjimas emulsijoje. Tačiau reikia siekti optimalaus riebalų ir vandeninės fazės santykio, atsižvelgiant į cheminę riebalų struktūrą (riebalų rūgščių grandinių ilgį bei dvigubųjų jungčių kiekį), nes tai irgi turi įtakos emulsijų klampai [20, 21].

Kadangi aktualu gaminti produktus su sumažintu riebalų kiekiu, buvo aiškinamasi, kaip emulsijų stabilumą veikia mažėjantis riebalų fazės kiekis jose. Mažėjant riebalų fazės santykiui su vandens faze, emulsijos skystėja, jų klampa mažėja ir todėl atsiranda didesnė erdvė disperguotų dalelių judėjimui, kas skatina jų agregaciją ir to pasekoje – emulsijos išsisluoksniavimą. Tačiau tokiu atveju emulsijos stabilumą galima padidinti mažinant riebalų dalelių dydį intensyvesnio homogenizavimo pagalba. O, apsaugant riebalų daleles nuo flokuliacijos ir emulsiją nuo destabilizavimo, naudojami emulsikliai [22].

1.2. Dvigubųjų emulsijų cheminis stabilumas

1.2.1. Riebalų kilmės įtaka dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui

Įvairios kilmės riebalų įtaka emulsijų savybėms nėra plačiai tyrinėta. Neabejotinai, skirtingos kilmės riebalai dėl sudėties skirtumų gali įvairiai paveikti emulsijų cheminį stabilumą, nes skiriasi jų oksidacijos procesai.

Riebalų oksidacija yra viena iš didžiausių problemų, norint pagaminti kokybišką maisto emulsiją. Taip yra dėl to, kad riebalų oksidacija yra tarpfazis reiškinys, o emulsijoms būdinga didelė tarpfazė sritis. Riebalų oksidaciją skatina metalo jonų, šviesos, temperatūros, deguonies, pH poveikis, dalelių dydis ir daugelis kitų veiksnių, susijusių su emulsijos sudėtimi.

Taip pat oksidacijos procesui bene didžiausią įtaką gali turėti naudojamų lipidų riebalų rūgščių kompozicija. Kuo daugiau nesočiųjų jungčių yra naudojamuose riebaluose, tuo oksidacijos greitis bus didesnis. Sočiosios riebalų rūgštys oksiduojasi lėčiau nei nesočiosios. Riebalų oksidacija koreliuoja su polinesočiųjų riebalų rūgščių kiekiu riebaluose [23]. T. y. riebalų oksidacijos greitis didėja, didėjant dvigubųjų jungčių skaičiui, nes konjungacija padidina vandenilio išsiskyrimą ir emulsijų stabilumas sumažėja [24]. Taip pat tyrimai rodo, kad oksidacijos procesai vyksta lėčiau, esant didesniai anglies atomų skaičiui nesočiosiose riebalų rūgštyse, tačiau polinesočiųjų riebalų rūgščių (PNRR), kurios turi daugiau dvigubųjų jungčių oksidacijos procesai vyks greičiau, lyginat su mažesnės masės polinesočiosiomis riebalų rūgštimis. Taip pat riebalų rūgštyse su konjuguotomis dvigubosiomis jungtimis oksidacija vyksta labai intensyviai ir cis-formų riebalų rūgštys oksiduojasi greičiau nei trans [21, 25]. Todėl augaliniai riebalai dėl savo riebalų rūgščių kompozicijos, kuriuose didžioji dalis yra mononesočiosios riebalų rūgštys, bus atsparesni oksidacijai, nei riebalai turintys linolo ir linoleno grupes, o riebalai sudaryti iš sočiųjų riebalų rūgščių – atspariausi.

Plačiausiai ištirti yra įvairūs augalinės kilmės aliejai. Įvertinta skirtingų augalų aliejų sudėties įtaka oksidaciniams procesams. Taip pat įvertinus grynąjį riebalų ir iš jų pagamintų emulsijų oksidacijos proceso eigą, žinoma, kad matavimų vertės gautos panašios. Oksidacijos procesų panašumas rodo, kad vandeninė fazė, supanti aliejaus fazę gali neturėti reikšmingo poveikio oksidacijos procesui [23, 24]. Tačiau yra eksperimentų, kurie parodė didesnę antrinės (A/V) emulsijos stabilumą riebalų oksidacijai lyginant su pirmine (V/A). Tokie rezultatai, pasak autorių, gali būti siejami su storesniu tarpfazio sluoksniu ir teigiamą krūvį turinčiu emulsikliu, kuris padengia aliejaus lašelius. Tokiu būdu sustabdoma metalo jonų katalizuojama riebalų oksidacija [26].

Mažiau ištirta gyvūninės kilmės riebalų įtaka emulsijų cheminiam stabilumui. Per pastarąjį dešimtmetį vis dažniau į maisto produktų sudėtį dedami žuvų riebalai. Tačiau žuvų riebalų, kaip

funkcinių maisto sudedamųjų dalių naudojimas yra ribotas dėl jų didelio hidrofobiškumo. Todėl žuvų riebalai paprastai turi būti įtraukti į emulsinę sistemą prieš įdedant į vandeninius maisto produktus [26, 27]. Žuvies riebalų panaudojimas maisto produktuose gali tapti iššūkiu, nes žuvų riebaluose esančios polinesočiosios ω -3 riebalų rūgštys, dėl didelio nesotumo lygio greitai oksiduojasi perdirbimo ir saugojimo metu – todėl prarandamas produktų stabilumas ir maistingumas [28].

1.2.2. Struktūros įtaka dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui

Vienas pagrindinių procesų lemiantis emulsijų cheminį stabilumą – riebalų oksidacija. Oksiduojantis riebalų fazei susidaro įvairūs junginiai, keičiantys emulsijos savybes ir jų stabilumą. Riebalų fazės oksidacijai įtakos gali turėti keletas veiksnių. Dažnai šis procesas siejamas su emulsijos struktūra. Kai kuriose publikacijose skelbiama, kad oksidacijos greitis priklauso nuo disperguotų dalelių dydžio [29]. Iš esmės, riebalų oksidacijos greitis turėtų padidėti mažėjant dalelių dydžiui, nes vandens paviršiaus plotas didesnis. Tačiau yra tyrimų, leidžiančių manyti, kad dalelių dydžio padidėjimas gali spartinti oksidacijos procesus. O kai kurių autorių nuomone dalelių dydis neturi įtakos riebalų oksidacijos greičiui aliejaus ir vandens emulsijose [30, 31].

Riebalų oksidacija paprastai vyksta anksčiau ir greičiau A/V emulsijose, nei gryname aliejuje. Oksidacija, kurią sukelia emulsija, yra susijusi su keliomis priežastimis. Pirma, suformuotas tarpfazio plotas tarp aliejaus ir vandens fazės skatina sąveiką tarp nesočiųjų riebalų ir prooksidantų junginių, tokių kaip metalo jonai, ištirpusių vandeninėje fazėje. Be to, didelė tarpfazio sritis gali palengvinti aliejinės fazės prieigą prie vandens fazėje ištirpinto deguonies. Antra, emulsavimo procesas gali skatinti oksidaciją homogenizavimo metu įmaišant papildomo deguonies, taip pat dėl temperatūros padidėjimo gamybos metu. Toks emulsinimo etapo poveikis yra pagrįstas eksperimentiniais įrodymais, kad riebalų oksidacija emulsijose gali skirtis priklausomai nuo pradinės homogenizavimo procedūros. Neseniai buvo tiriama homogenizacijos įrangos įtaka riebalų oksidacijai žuvų emulsijose su natrio kazeinatu arba IBI. Homogenizacijos proceso metu nebuvo paveiktas emulsijų pagamintų naudojant natrio kazeiną oksidacinis stabilumas, o mikrofluidizatoriaus homogenizavimas sumažino oksidacijos lygį, kai IBI buvo naudojamas kaip emulsiklis. Manoma, kad homogenizavimo įranga, taip pat homogenizavimo slėgis, veikia santykinę išrūgų baltymų adsorbciją, todėl atsiranda įvairių rezultatų rodančių skirtingus duomenis.

Taip pat kai kurių tyrimų metu nenustatytas riebalų oksidacijos padidėjimas emulsijose, lyginant su grynais riebalais, netgi parodė ilgos grandinės riebalų rūgščių aliejų oksidacinį stabilumą po emulsijos sudarymo. Šis stabilumas buvo susietas su mažu dalelių dydžiu ir riebalų dalelių judėjimo greičio sulėtėjimu [32].

Šie priešingi rezultatai rodo, kad sunku aiškiai suvokti aliejaus emulsijos įtaką riebalų oksidacijai, nes veiksniai lemiantys oksidacijos reakcijas (pvz., homogenizavimo sąlygos, vandens fazės komponentai ir emulsikliai) taip pat skiriasi.

Kaip minėta, yra tyrimų, rodančių, kad dvigubosios emulsijos mažiau jautrios riebalų oksidacijai, dėl storesnio tarpfazio sluoksnio ir teigiamo krūvio emulsiklio. Taip pat yra eksperimentų, rodančių, kad daugiasluoksnės emulsijos turi geresnį oksidacinį stabilumą nei vienasluoksnės emulsijos. Atlikti tyrimai su žuvų riebalais parodė, kad pirminės emulsijos buvo žymiai mažiau stabilios riebalų oksidacijai nei antrinės arba daugiasluoksnės emulsijos. Pirminių emulsijų nestabilumas dėl riebalų oksidacijos priskiriamas teigiamai įkrautų Fe^{2+} jonų gebėjimui adsorbuotis į neigiamai įkrautų dalelių paviršių ir tokiu būdu katalizuoti oksidacijos reakcijas. Didesnis antrinių emulsijų stabilumas gali būti siejamas su tuo, kad emulsikliu padengtos riebalų dalelės yra teigiamai įkrautos, todėl elektrostatiškai atremia Fe^{2+} . Be to, didesnis tarpinės membranos storis gali padėti fiziškai užkirsti kelią geležies katalizatoriui glaudžiai kontaktuoti su lipidiniu substratu. Įdomu pažymėti, kad daugiasluoksnės emulsijos vis dar buvo stabilios riebalų oksidacijai, net jei jose yra neigiamai įkraunamų dalelių, o tai dar kartą parodė, kad tarp sluoksninės membranos storis vaidina svarbų vaidmenį stabdant geležies katalizuojamą riebalų oksidaciją A/V emulsijose [26, 33].

1.2.3. Dvigubųjų emulsijų cheminio stabilumo didinimo būdai

Mokslinėje literatūroje aptariama keletas būdų, kaip padidinti emulsijų stabilumą. Galima išskirti du pagrindinius būdus:

- emulsiklių / paviršiaus aktyviųjų medžiagų pridėjimas;
- antioksidantų pridėjimas.

Emulsikliai yra vieni iš svarbiausių stabilizatorių, naudojamų bet kurios emulsijos kompozicijoje. Be emulsijų stabilizavimo galimybės, naudojamo emulsiklio pobūdis taip pat lemia emulsijos galutinio produkto funkcines savybes. Todėl tinkamo emulsiklio parinkimas yra vienas svarbiausių sprendimų gaminant emulsinius produktus. Emulsikliai paprastai yra amfifilinės molekulės, turinčios tiek hidrofilies, tiek hidrofobines grupes toje pačioje molekulėje, pavyzdžiui, mažos molekulinės paviršiaus aktyviosios medžiagos, fosfolipidai, baltymai, polisacharidai ir kiti paviršinio aktyvumo polimerai [28, 34].

Emulsija gali būti suformuota naudojant vieno tipo emulsiklį. Tačiau daugeliu atvejų emulsijų stabilumas ir funkciniai požymiai gali būti pagerinti, naudojant emulsiklių derinius.

Emulsiklių tirpumas turi stiprų poveikį jų funkcinei veiklai emulsijose [34]. Paprastai reikalaujama, kad emulsiklis gerai ištirptų vandenyje. Tačiau tai ne visada būtina, nes geriau ištirpinti tam tikrus fosfolipidų tipus aliejaus fazėje prieš emulsijų sudarymą. Mažos molekulinės

masės paviršinio aktyvumo medžiagoms ir fosfolipidams hidrofiliškas-lipofiliškas balansas (HLB) dažnai naudojamas apibūdinti jų tirpumą ir skilimo savybes. Paviršinio aktyvumo medžiagos su mažu HLB ištirpinamos aliejaus fazėje ir stabilizuoja vanduo-aliejuje (V/A) emulsijas, o paviršinio aktyvumo medžiagos su dideliu HLB ištirpinamos vandens fazėje ir stabilizuoja aliejus-vandenyje (A/V) emulsijas. Veiksmingas mišrių aktyviųjų paviršiaus medžiagų HLB gali būti apskaičiuojamas pagal atskirų emulsiklių koncentracijas ir HLB reikšmes [35].

Emulsiklių tirpumo charakteristikų skirtumai gali būti naudojami sudarant emulsijas su emulsiklių deriniais. Vandenyje tirpstantis emulsiklis gali būti ištirpintas vandeninėje fazėje (pvz., biopolimeras), o aliejuje tirpstantis emulsiklis gali būti ištirpintas aliejaus fazėje (pvz., lecitinas) prieš homogenizavimą [36]. Kitu atveju, prieš gaminant emulsiją, vandeninėje fazėje, gali būti ištirpinti du vandenyje tirpūs emulsikliai (pvz., joninė ir nejoninė paviršinio aktyvumo medžiaga). Dviejų skirtingų emulsiklių derinys gali sudaryti emulsijas su skirtingu dydžiu ir stabilumu, nei atskirai naudojamų atskirų emulsiklių [37].

Atskirų emulsiklių paviršiaus aktyvumas yra ypač svarbus nustatant jų tendenciją adsorbuotis mišriose sistemose, esančiose aliejaus ir vandens tarpfazio sąsajose. Esant tokioms pat koncentracijoms galima tikėtis, kad emulsiklis su didesniu paviršiaus aktyvumu geriau adsorbuosis aliejaus ir vandens tarpfazyje. Tokiu būdu sumažindamas tarpfazio įtempį ir stabilizuodamas emulsijas [38, 39].

Emulsijų stabilumą ir funkcionalumą labiausiai lemia tarpfazio plėvelė, susidariusi emulsiklių molekulėms adsorbuojantis aliejaus ir vandens paviršiuje, ir jos fizikinės ir cheminės savybės. Tarpfazio savybės gali priklausyti nuo jo storio, tankio ir reologinių savybių, priklausomai nuo adsorbuotų emulsiklių molekulių matmenų, išsidėstymo ir sąveikos. Šie tarpfazių skirtumai turi didelę įtaką emulsijų fiziniam stabilumui. Pavyzdžiui, tarpfazio storis daro didelę įtaką emulsiklių išsidėstymui tarp emulsijos dalelių, o elektrinės charakteristikos turi didelę įtaką elektrostatinių sąveikų stiprumui [40, 41, 42].

Tarpfazių sluoksnių storis, išsidėstymas ir reologinės savybės dažnai gali būti keičiamas naudojant emulsiklių derinius [39, 41]. Mažos molekulinės masės emulsikliai sąveikoje su baltymais sumažina tarpfazio įtempius ir taip stabilizuoja bei pagerina maisto emulsijų susidarymą. Baltymai, be paviršiaus įtempio sumažinimo, gali sudaryti nepertraukiamą sluoksnį aliejaus ir vandens tarpfazyje ir taip jam suteikti struktūrinį nelankstumą. Mažos molekulinės masės emulsikliai gali adsorbuotis tose tarpfazio srityse, kuriose nėra baltymų. Dėl to atsiranda galimybė pagaminti emulsiją su mažesnėmis dalelėmis ir didesniu stabilumu [43, 44].

Daugelyje emulsiklių yra funkcinių grupių, galinčių dalyvauti cheminėse reakcijose, kurios gali vykti emulsijų gamybos ir laikymo metu (oksidacijos ar redukcijos reakcijos). Kai kuriais atvejais kruopštus emulsiklio tipo pasirinkimas gali būti naudojamas emulsijų cheminiam

stabilumui pagerinti. Tai gali būti antioksidaciniai baltymai arba fosfolipidai, naudojami slopinti riebalų oksidaciją riebalų fazėje [45]. Pastebėta, kad riebalų dalelės, padengtos baltymais, kurie turi stiprias antioksidacines savybes, turi gerą oksidacinį stabilumą. Todėl yra galimybė modeliuoti aliejaus ir vandens tarpfazio cheminį reaktyvumą naudojant skirtingų savybių emulsiklių mišinius. Vienas emulsiklis gali būti naudojamas emulsijos formavimui ir jo fiziniam stabilumui gerinti, o cheminiam stabilumui pagerinti – kitas emulsiklis [46].

Dėl padidėjusio polinesočiųjų aliejų naudojimo ir kai kurių maistinių medžiagų (pvz., geležies) naudojimo didinant maisto naudą sveikatai, pagrindiniu rūpesčiu emulsinių maisto produktų gamyboje tapo riebalų oksidacija [25]. Riebalų oksidacijos proceso metu pereinamieji metalai yra svarbūs grandininės reakcijos procesui. Dėl jų dalyvavimo riebalų hidroperoksido skilimo procese susidaro reaktyvūs laisvieji radikalai, tokie kaip lipidų peroksilas ir alkoksilo radikalai. Jie inicijuoja laisvųjų radikalų grandinės oksidaciją [47]. Riebalų oksidaciją gali sulėtinti arba slopinti antioksidantai.

Bendrieji antioksidantai klasifikuojami kaip pirminiai arba antriniai antioksidantai, remiantis jų veikimo mechanizmu. Be to, kai kurie antioksidantai vadinami daugiafunkciais antioksidantais, nes jie turi daugiau nei vieną veikimo mechanizmą. Pirminiai antioksidantai, taip pat vadinami grandines nutraukiantys, nes geba reaguoti su laisvaisiais radikalais ir paversti produktus stabilesniais [24]. Antioksidantai reaguoja su lipidų, peroksilo radikalais, tokiu būdu skaidydami riebalus į aldehydus ir kitus lakiuosius oksidacijos produktus. Riebalų oksidacijos prevencijos strategijose paprastai naudojami metalų chelatoriai (cheminės medžiagos, kurios gali surišti sunkiuosius metalus) – veiksmingas būdas atidėti oksidaciją. Kai kurie tyrimai parodė, kad polifenoliai gali veikti kaip metalo chelatoriai aliejuje, todėl jie gali sumažinti kitų antioksidantų vartojimą [48]. Fenolio junginiai su viena ar daugiau hidroksilo grupių yra veiksmingi grandines nutraukiantys antioksidantai, nes jie gali atiduoti H atomų laisviems radikalams. Po to, kai jie atiduoda savo H atomą, jie sudaro stabilius ir santykinai nereaguojančius fenoksilo radikalus. Sintetinių fenolio junginių pavyzdžiai yra butilintas hidroksitoluenas (BHT), butilintas hidroksianizolas (BHA), propilgalatas ir tretinis butilo hidrochinonas (TBHQ). Pastarasis ES draudžiamas. Natūralių fenolio junginių pavyzdžiai yra tokoferolis, askorbo rūgštis, kofeino rūgštis ir chlorogeninė rūgštis. α -tokoferolis yra svarbus lipofilinis pirminis antioksidantas, kuris atiduoda fenolio vandenilį lipidų laisviems radikalams [49, 50].

Antriniai antioksidantai gali slopinti riebalų oksidaciją keliomis skirtingomis priemonėmis, įskaitant deguonies slopinimą ir deguonies pašalinimą. Kai kurie antriniai antioksidantai gali regeneruoti pirminius antioksidantus. Maisto sistemose dažnai svarbūs antriniai antioksidantai yra metalo chelatai, kurie neleidžia metalų jonams suskaidyti lipidų hidroperoksidų į reaktyvius radikalus. Metalų chelatų pavyzdžiai yra sintetiniai etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA),

polifosfatai, fitatas, kazeinatas ir laktoferinas. Polifenoliai dažnai yra daugiavysčiai antioksidantai, kurių savybės – laisvųjų radikalų šalinimas ir metalų chelatų sudarymas. Pvz., vandenyje tirpi askorbo rūgštis yra daugiavysčinis antioksidantas, kuris savo antioksidaciniu poveikiu inaktyvuoja laisvųjų radikalų susidarymą, pirminio antioksidanto regeneravimą per vandenilio atidavimą, metalo kompleksavimą ir deguonies išstūmimą redukuojant [49, 50].

1.3. Dvigubųjų emulsijų stabilumas virškinimo metu *in vitro* sąlygomis

Virškinimo metu maisto pradinė forma ir struktūra keičiama mechaniniu poveikiu, praskiedimu, fermentų poveikiu bei pH pokyčiais. Supratimas apie maisto suskaidymą ir virškinimą žmogaus organizme yra svarbus maisto produktų tobulinimui ir mitybos gerinimui. Maisto virškinamumo tyrimai *in vivo* sistemose su žmonėmis nors ir duoda puikius rezultatus, jų nėra daug dėl etikos apribojimų. Sukurti *in vitro* modeliai, imituojantys virškinamojo trakto veiklą, rodo, kad lengva tirti maisto virškinimo reiškinius. Nors vis dar neįmanoma visiškai sukurti realių fiziologinių sąlygų, *in vitro* virškinimo tyrimai gali suteikti naudingos informacijos apie *in vivo* vykstančius procesus, pvz., riebalų rūgščių išsiskyrimą iš disperguotų riebalų ir aliejų [51].

Maistas virškinamas šiais etapais: burnoje, skrandyje bei žarnyne. Kramtant kietas maistas skaldomas į smulkias daleles ir sumaišoma su seilėmis, kad sudarytų vientisą masę, paruoštą nuryti. Skysti maisto produktai burnoje išlaikomi kelias sekundes ir tada tiesiog nuryjami [52, 53]. Apskritai kietų maisto produktų suskaidymo laipsnis didėja, didėjant maisto kietumui. Nors kramtymas, maišymas su seilėmis ir trintis tarp paviršių suskaldo maisto produktus į daugybę smulkių dalelių, jų mikrostruktūra išliks beveik nepakitusi. Nesvarbu, ar kalbame apie kietą maistą, tokį kaip riešutai, spagečiai, ar apie skystas emulsijas, tokias kaip salotų padažai [54, 55].

Skrandyje baltymai hidrolizuojami pepsinu, o riebalai ir angliavandeniai yra tik iš dalies suskaidyti. A/V emulsijų destabilizacija atsiranda virškinimo skrandyje metu, o jos laipsnis priklauso nuo disperguotų aliejaus dalelių ir jas supančios maistinės matricos [56, 57]. Virškinimo skrandyje metu didesnės aliejaus dalelės (> 6 μm) gali susijungti ir inicijuoti fazių atsiskyrimą. Fazių atsiskyrimas turi įtakos skrandžio ištuštinimo greičiui ir tolesniam riebalų virškinimui plonojoje žarnoje. Vis dėlto, aliejaus dalelės dažnai yra disperguotos sudėtingose struktūrose (emulsijose), dauguma jų negali būti atpalaiduotos virškinimo skrandyje metu [58, 59].

Žarnyne dauguma maisto makroelementų yra fiziškai ir chemiškai suskaidomi fermentais, pvz., tripsinu, chimotripsinu, kasos lipaze, kolipaze ir α-amilaze, kurie padeda suvirškintų maisto medžiagų absorbcijai.

Projektuojant produktus, kuriuose yra aliejų ir riebalų, reikėtų atsižvelgti į juos sudarančių trigliceridų sudėtį. Trigliceridų kompozicija yra svarbus veiksnys, nes turi įtakos daugeliui aliejų

ir riebalų savybių, pvz., lydymosi taškui, sočiųjų riebalų kiekiui, kristalinei struktūrai ir skilimo metu atpalaiduojamų laisvųjų riebalų rūgščių tipui bei kiekiui [56].

Riebalų rūgšties grandinės ilgis ir nesotumo laipsnis kartu su jų padėties pasiskirstymu gali turėti įtakos trigliceridų kiekiui ir lipolizės laipsniui. Nustatyta, kad trigliceridų virškinimo greitis *in vitro* virškinimo metu mažėja, didinant riebalų rūgšties grandinės ilgį. Virškinamumas mažėja tokia tvarka: trumpos grandinės trigliceridas > vidutinio ilgio grandinės trigliceridas > ilgos grandinės trigliceridas [60, 61]. Tai susiję su tuo, kad iš ilgos grandinės trigliceridų atpalaiduojamos laisvosios riebalų rūgštys gali kauptis aliejaus lašelių paviršiuje. Tokiu būdu ribojama lipazės prieiga prie kitų trigliceridų [62]. Kitaip nei ilgos grandinės trigliceridų, iš vidutinės ar trumpos grandinės atpalaiduotos laisvosios riebalų rūgštys greitai pereina į vandeninę fazę, todėl lipazei lengviau hidrolizuoti dar nepaveiktas trigliceridų grandines. Tačiau šis ilgų grandinių laisvųjų riebalų rūgščių poveikis, slopinantis riebalų virškinimą, priklauso nuo tulžies koncentracijos. Padidėjusi tulžies druskų koncentracija padidina ilgos grandinės trigliceridų virškinimo greitį. Trumpos ar vidutinio ilgio grandinės trigliceridų virškinimas nepriklauso nuo tulžies druskų koncentracijos [63, 64].

Fizinė riebalų ir aliejaus būklė taip pat gali žymiai paveikti jų virškinamumą emulsijose. Neseniai atliktame emulsijų virškinamumo *in vitro* tyrime buvo nustatyta, kad emulsuoti riebalai su didesniu kietųjų riebalų kiekiu buvo mažiau jautrūs lipolizei nei jų analogai su mažesniu kietųjų riebalų kiekiu [65]. Tikėtina, kad to priežastimi buvo ribota kasos lipazės prieiga prie trigliceridų didesniame kietųjų riebalų kiekyje. Be to, *in vivo* gyvūnų ir žmonių tyrimai parodė, kad kietoje būsenoje esančių trigliceridų biopasisavinamumas yra žymiai mažesnis nei skystų trigliceridų [58, 66].

Emulsijų virškinimo *in vitro* tyrimai parodė, kad pradinis emulsijos dalelių dydis ir dalelių dydžio pasikeitimas virškinimo metu turi didelės įtakos riebalų virškinimo greičiui. Esant didesniam dalelių dydžiui riebalų virškinimo greitis sulėtėja [67, 68]. Apskritai aliejaus dalelių dydis padidėja virškinimo skrandyje ir žarnyne metu dėl flokuliacijos ir koalescencijos procesų, nors tai labai priklauso nuo pradinio aliejaus dalelių dydžio ir paviršiaus savybių. Emulsijos suskaidymas žmogaus žarnyne priklauso nuo stabilizuojančios paviršiaus aktyviosios medžiagos ar baltymo pasirinkimo, nes tai gali labai paveikti aliejaus dalelių koalescencijos mastą ir greitį [69, 70]. Koalescencija sumažina aliejaus dalelių paviršiaus plotą, o tai sulėtina riebalų virškinimo greitį, galintį daryti įtaką riebalų absorbcijai ir su sotumo jausmu susijusių virškinamojo trakto hormonų išsiskyrimui [52, 56].

2. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas – nustatyti dvigubųjų emulsijų sudėties įtaką jų fizikiniam bei cheminiam stabilumui

Darbo tikslui pasiekti, suformuluoti tokie uždaviniai:

1. Pagaminti statinėmis sąlygomis stabilias dvigubąsias V/A/V emulsijas su pieno riebalais, keičiant homogenizavimo trukmę, fazių santykį ir emulsiklio prigimtį bei kiekį;
2. Įvertinti dvigubųjų emulsijų tarpfazio A/V reologinių savybių priklausomybę nuo tarpfazį formuojančių medžiagų prigimties bei kiekio;
3. Nustatyti riebalų kilmės įtaką dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui ir palyginti emulsuotų bei neemulsuotų riebalų oksidaciją;
4. Nustatyti dvigubųjų emulsijų sudėtyje esančių skirtingos kilmės riebalų hidrolizę, imituojant emulsijų virškinimo sąlygas *in vitro*.

3. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI

3.1. Medžiagos

Dvigubųjų emulsijų gamybai naudotos medžiagos:

Distiliuotas vanduo; natrio chloridas (NaCl), pirкта iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jo grynumas $\geq 99,9\%$; poliglicerolio poloricinoleatas (PGPR), pirкта iš „Radiamuls Poly 2253K“, OLEON, Belgija; karboksimetilceliuliozė (KMC), pirкта iš Carl Roth GmbH + Co. KG, Frankfurtas, Vokietija, jos grynumas $\geq 99,5\%$; išrūgų baltymų izoliatas (IBI), pirktas iš gamintojo Lacprodan DI-9213, Arla Foods Ingredients Group, Danija. IBI sudėtis: $89,7 \pm 0,3\%$ baltymų, $6,0 \pm 0,1\%$ drėgmės, $4,0 \pm 0,1\%$ pelenų, $0,2\%$ riebalų ir $0,1\%$ laktozės. rozmarino antioksidantas, pirktas iš PRODUCTOS SUR, S.A., Ispanija. Antioksidanto sudėtis: rozmarino ekstraktas 92% , diterpeno 4% , karnozino rūgšties $3,15\%$, karnozolio $0,7\%$, 12-O-metil karnozino rūgšties $0,15\%$; rafinuotas saulėgrąžų aliejus „Natura“, pirktas vietiniame prekybos centre; pieno riebalai; žuvies riebalai.

Pieno riebalų išskyrimas

Pieno riebalai buvo išskirti iš sviesto (82%), pirktos vietiniame prekybos centre, taikant kaitinimą. Temperatūros pagalba, pieno riebalai deemulsuojami iš sviesto, vėliau nufiltruojami atskiriant kitas medžiagas ir taip gaunami beveik bevandeniai pieno riebalai.

Žuvies riebalų išskyrimas

Žuvies riebalai gauti iš karpio, pirktu vietiniame prekybos centre. Maltos žuvies masė be odos, kaulų, pelekų, galvos ir vidaus organų vykdoma fermentinė hidrolizė. Po atliktos hidrolizės, inaktyvavus fermentą, gauta masė centrifuguojama. Po centrifugavimo automatinė pipete atskiriamas viršutinis sluoksnis (riebalai).

Tyrimams naudoti reagentai:

Chloroformas (CHCl_3), pirktas iš FIRMA CHEMPUR, Lenkija, jo grynumas $\geq 98,5$ %; Ledinė acto rūgštis (CH_3COOH), pirktas iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jos grynumas $\geq 99,9$ %; natrio tiosulfatas ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA, jo grynumas ≥ 99 %; kalio jodidas (KI), pirktas iš UAB „Eurochemicals“, Lietuva, jo grynumas $\geq 99,5$ %; bulvių krakmolai, pirktas vietiniame prekybos centre; 2-tiobarbitūrinė rūgštis (TBR), pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA; druskos rūgštis (HCl), pirktas iš UAB „Eurochemicals“, Lietuva; 1,1,3,3 – tetraetoksipropanas (TEP), pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA, jo grynumas ≥ 96 %; kalio chloridas (KCl), pirktas iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jo grynumas $\geq 99,9$ %; kalio dihidrofosfatas (KH_2PO_4), pirktas iš AppliChem GmbH, Vokietija, jo grynumas ≥ 98 %; natrio chloridas (NaCl), pirktas iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jo grynumas $\geq 99,9$ %; magnio chlorido heksahidratas ($\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$), pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA, jo grynumas ≥ 99 %; Natrio hidroksidas (NaOH), pirktas iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jo grynumas ≥ 99 %; bevandenis kalcio chloridas (CaCl_2), pirktas iš REACHEM SLOVAKIA s.r.o., Slovakija, jo grynumas ≥ 97 %; pepsinas, pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA, jo aktyvumas 600 – 1200 U/mg; lipazė, pirktas iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA, jos aktyvumas 100 – 500 U/mg; tulžies druskos, pirktos iš SIGMA-ALDRICH, Co., USA.

3.2. Įvairios struktūros dvigubųjų V/A/V emulsijų gamyba

Emulsijos gamyba:

Pirmiausia, paruošiama vidinė vandens fazė (V_1). Distiliuotame vandenyje ištirpinamas 0,5 % NaCl (kambario temperatūroje 20 °C). Aliejaus (A) fazei paruošti 6,0 % lipofilinio emulsiklio – PGPR, tirpinama pieno arba žuvies riebaluose, arba aliejuje 50 °C temperatūroje 15 minučių ir atvėsinama iki kambario temperatūros (20 °C). Antroji vandens fazė (V_2) gaminama keliais būdais: ruošiant 1,0 % IBI tirpalą. Baltymai tirpinami vandenyje, maišant ant magnetinės maišyklės 2-3 val.; ruošiant 0,2 %; 0,3 %; 0,4 %; 0,5 % KMC tirpalus, juos taip pat tirpinant vandenyje.

V/A emulsijos paruošimas: pipete į aliejaus (A) fazę lašinama vandens (V_1) fazė (vandens ir aliejaus fazių svorių santykis 20:80) ir homogenizuojama naudojant Ultra – Turrax (IKA® T-18 basic, Staufen, Vokietija) 50 °C temperatūroje 15 min 15000 aps./min greičiu. Gauta pirminė

emulsija atvėsinama iki kambario temperatūros (20 °C). Atvėsinta V/A emulsija lėtai lašinama į vandens V₂ fazę santykiu 40:60 (svorių santykis). Homogenizuojama 11000 aps./min greičiu 5 min, kambario temperatūroje [71].

Emulsijų gamyba su skirtingais vandens ir aliejinės fazių santykiais:

Naudojant tą pačią emulsijų gamybos metodiką, paruošiamos emulsijos keičiant pirminės V/A emulsijos ir išorinės V₂ fazės tarpusavio santykį. Sudarytos trys skirtingos emulsijų variacijos: V/A (30:70) ir V/A/V (50:50) ; V/A (40:60) ir V/A/V (60:40) ; V/A (50:50) ir V/A/V (70:30). Pirminė emulsija homogenizuojama 5 min, o dviguboji emulsija – 3 min.

3.3. Dvigubųjų V/A/V emulsijų fizikinio stabilumo vertinimo metodai

Dvigubųjų V/A/V emulsijų gravitacinis stabilumo tyrimas

Gravitacinio stabilumo įvertinimas atliekamas statinėmis sąlygomis, fiksuojant fazių atsiskyrimą. Tik praruoštos dvigubosios emulsijos supilamos į 30 ml sugraduotus mėgintuvėlius ir paliekamos stebėjimui kambario temperatūroje (20 °C). Matuojamas išsiskyrusio serumo tūris procentais nuo viso emulsijos tūrio. Rezultatai fiksuojami po 1, 7 ir 30 parų.

Dvigubųjų V/A/V emulsijų dalelių dydžio nustatymas

Dvigubųjų emulsijų dalelių dydis ir dalelių dydžio pasiskirstymas išmatuotas lazeriniu difrakciniu spektrofotometru Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instrument, Vusteršyras, Didžioji Britanija). Paruoštas mėginys lašinamas į Hydro 2000 talpą su distiliuotu vandeniu ir mėginys disperguojamas 1400 aps./min greičiu. Mėginys lašinamas tol, kol pasiekiami reikiama koncentracija, kurią fiksuoja aparato viduje esantis lazeris. Dalelių dydis išreiškiamas pagal paviršiaus plotą (D_{3,2}). Dalelių dydžio pasiskirstymui įvertinti sudaromas dalelių dydžio pasiskirstymo grafikas ir apskaičiuojamas santykinis dalelių pasiskirstymo (span) rodiklis. Tai bedimensinis parametras, kuris parodo lašelių pasiskirstymo vienodumą ir yra išreikštas santykiu:

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

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

Kiekvienas mėginys matuojamas 3 kartus. Visi matavimai atliekami kambario temperatūroje (20 °C). Paprastų dvigubųjų emulsijų, laikomų 20 °C temperatūroje matavimai buvo atliekami po pagaminimo, o emulsijų 37°C temperatūroje – po pagaminimo, po 5, 10, 15 ir 20 parų.

Dvigubųjų V/A/V emulsijų tekstūros tyrimas

Emulsijų tekstūros vertinimas atliktas TA-XT2 tekstūros analizatoriumi (Stable Micro Systems, TA.XT Plus, Godlmingas, Jungtinė Karalystė) Paruošti emulsijų bandiniai (30 mm skersmens ir 50 mm aukščio) suspaudžiami iki 20 % savo pradinio aukščio, naudojant 5 kg apkrovą, kuri juda 0,5 mm/s greičiu. Iš gautų jėgos ir laiko deformacijų kreivių apskaičiuojamas

kietumas (N). Matavimai buvo atliekami praėjus parai po emulsijų pagaminimo ir pakartoti po savaitės.

Reologinių savybių tyrimas

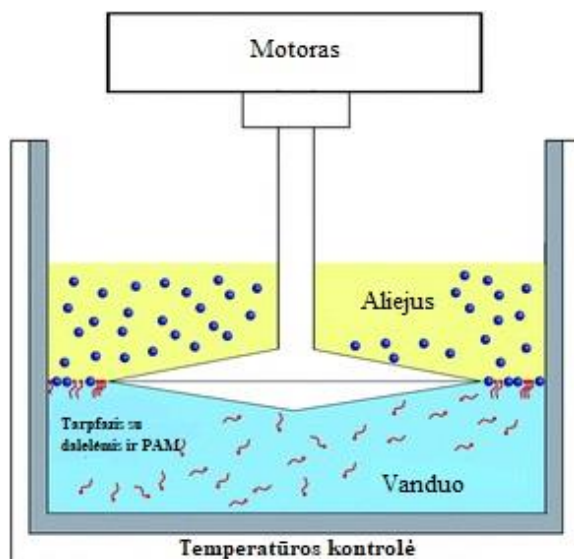
Emulsijos reologinės savybės (tikotropija ir lydymosi temperatūra) matuojamos reometru Physica MCR (Anton Paar GmbH, Austrija). Tikotropija parodo emulsijos gebėjimą grįžti į pradinę būseną po mechaninio poveikio. Mėginio reologinės savybės buvo matuojamos uždėjus jį ant darbinio paviršiaus, naudojant plokštė-plokštė geometrijos sistemą ir užrašant tekėjimo kreives [72]. Besisukančios plokštės skersmuo – 49,976 mm, pasvirimo kampas – 1,992°. Rezultatai buvo fiksuojami keliais intervalais: esant 20 °C temperatūrai ir didinant poslinkio deformacijos greitį nuo 1 iki 100 s⁻¹; temperatūrai kintant nuo 20 iki 75 °C ir nuo 75 iki 20 °C bei esant pastoviam poslinkio deformacijos greičiui 1 s⁻¹; esant 20 °C temperatūrai ir didinant poslinkio deformacijos greitį nuo 1 iki 100 s⁻¹. Temperatūra buvo palaikoma naudojant temperatūros palaikymo Peltier sistemą. Gauti duomenys apdorojami ir kompiuterine programa apskaičiuojamas histerezės kilpos plotas.

3.4. Tarpfazių A/V ir V/A savybių matavimo metodai

Tarpfazių savybės buvo tiriamos reometru Physica MCR (Anton Paar GmbH, Austrija), turinčiu bikoninio disko geometriją. Besisukančio disko diametras – 68,41 mm, o pasvirimo kampas – 4,978°. Tyrimui atlikti į matavimo celę supilama ~120 ml vandens, paviršiuje susidarę burbuliukai pašalinami. Po to bikoninis diskas dedamas tiesiai ant vandens paviršiaus ir padengiamas ~100 ml aliejaus (žr. 4 pav.).

Tarpfluoksnio struktūros susidarymas ir savybių matavimai buvo atliekami 9 val. Struktūros susiformavimui nustatyti buvo taikomas mažų deformacijų metodas, kai matuojama modulių G' (Pa) ir G'' (Pa) dinamika laike, esant pastoviai deformacijos amplitudei $\gamma = 0,1 \%$ ir dažniui $f = 1 \text{ Hz}$. Mėginiai buvo išmatuoti 20 °C temperatūroje. Šiomis sąlygomis norima gauti informacijos apie emulsijų tarpfazio atsparumą deformacijai, esant osciliaciniam svyravimui. Pastebėjus, kad fiksuojamas vienas modulis, buvo keičiamos sąlygos – didinama amplitudė. Bandymai atlikti su $\gamma = 1 \%$; $\gamma = 0,7 \%$; $\gamma = 0,5 \%$.

Tarpfazio savybės apibūdinamos elastingumo (G') ir klampos moduliais (G''). Ryšys tarp elastingumo ir klampos modulių parodo klampiai elastingas susidariusios sistemos savybes.



4 pav. Tarpfazio struktūros sudarymo schema

3.5. Dvigubųjų V/A/V emulsijų cheminio stabilumo vertinimo metodai

3.5.1. Peroksidų skaičiaus nustatymo jodometrinis metodas

Peroksidų skaičiaus nustatymas atliktas pagal ISO 3960 standartą, naudojamą nustatyti peroksidų skaičių gyvūniniuose ir augaliniuose riebaluose. Peroksidų skaičius – tai mėginio masės dalis, išreikšta aktyvaus deguonies mekv./kg riebalų, kuris pagal šį metodą oksiduoja kalio jodidą [73].

Metodo esmė – rūgščioje terpėje, pridėjus kalio jodido (KI), susidaro vandenilio jodido (HI) rūgštis. Peroksidai HI oksiduoja iki laisvo jodo (I_2), kuris titruojamas natrio tiosulfato ($Na_2S_2O_3$) tirpalu.

Kūginėje kolboje 0,001 g tikslumu pasveriamas mėginys (~1 g). Į kolbą su mėginiu įpilama 10 ml chloroformo ir 15 ml ledinės acto rūgšties, sumaišoma ir įpilama 1 ml 50 – 60 % KI tirpalo. Kolba užkemšama, maišoma 1 min ir 5 min laikoma tamsoje (15 – 25 °C). Tada įpilama 75 ml distiliuoto vandens, maišoma, įlašinami keli 0,5 % krakmolo tirpalo lašai ir išsiskyres jodas titruojamas 0,01 mol/l $Na_2S_2O_3$ tirpalu kol išnyks spalva. Lygiagrečiai atliekamas tuščias bandinys (be riebalų). Gauti rezultatai apskaičiuojami formule: [77].

$$\text{Per. sk.} = \frac{(V_1 - V_0) \times C}{m} \times 1000;$$

V_1 – $Na_2S_2O_3$ tirpalo, sunaudoto mėginio tirpalui titruoti, mililitrų kiekis;

V_0 – $Na_2S_2O_3$ tirpalo, sunaudoto tuščiojo bandymo tirpalui titruoti, mililitrų kiekis;

C – $Na_2S_2O_3$ tirpalo moliaringumas;

M – mėginio masė gramais.

3.5.2. Distiliavimo metodas kiekybiniam monoaldehido nustatymui

Šis metodas naudojamas nustatyti riebalų oksidaciją maisto produktuose. Metodas pagrįstas 2-tiobarbitūrinės rūgšties (TBR) reakcija su nesočiųjų riebalų rūgščių oksidacijos produktais. Reakcijos metu atsiranda rausva spalva, kurios optinis tankis išmatuojamas spektrofotometru (bangos ilgis – 538 nm).

10 g produkto homogenizuojama su 50 ml distiliuoto vandens 2 min. 47,5 ml homogenizuoto mėginio pasveriami į Kjeldalio kolbą ir pridedama 2,5 ml HCl ir distiliuojama. Iš gauto distiliato, paimami 5 ml ir pilami į mėgintuvėlį su 5 ml TBR reagento (0,02 M 2-tiobarbitūrinės rūgšties ištirpinta 90 % ledinėje acto rūgštyje). Paruošti mėgintuvėliai dedami į vandens vonelę (100 °C) ir kaitinami 35 min. Pakaitinti mėgintuvėliai atvėsunami šaltame vandenyje (~10 min) ir spektrofotometru matuojamas mėginių optinis tankis ties 538 nm bangos ilgiu, kur nustatoma monoaldehido koncentracija bandinyje.

Standartinė kreivė ruošiamą iš 1×10^{-3} TEP (1,1,3,3-tetraetoksipropanas), standarto, kuris duoda lygties sprendinius, kai 5 ml monoaldehido praskiedžiama nuo 1×10^{-8} iki 7×10^{-8} mol. Pirmas (1T) tirpalas paruošiamas sveriant 0,3284 g TEP ir praskiedžiant matavimo kolboje iki 200 ml distiliuotu vandeniu. Antras tirpalas (2T) – 10 ml (1T) praskiedžiama distiliuotu vandeniu 100 ml matavimo kolboje. Trečias tirpalas (3T) – 10 ml (2T) praskiedžiama distiliuotu vandeniu 100 ml matavimo kolboje. Ketvirtas – 25 ml (3T) tirpalo praskiedžiama distiliuotu vandeniu 50 ml matavimo kolboje. Penktas, šeštas, septintas ir aštuntas tirpalai paruošiami analogiškai, kaip ketvirtas. Visų tirpalų optinis tankis išmatuojamas analogiškai, kaip ir bandinių. Nubrėžiama absorbcijos priklausomybė nuo koncentracijos [74].

3.5.3. Dvigubųjų V/A/V emulsijų virškinamumo in vitro tyrimas

In vitro virškinimo tyrimas atliktas vadovaujantis „INFOGEST“ protokolu [78].

Bazinių ir darbinių tirpalų paruošimas:

SSF (simuliuojamos seilių sultys), SGF (simuliuojamos skrandžio sultys), SIF (simuliuojamos žarnyno sultys). Koncentracijos yra paskaičiuotos 500 ml tūrio tirpalui.

Baziniai tirpalai ir simuliuojančios seilių, skrandžio bei žarnyno sultys ruošiamos pagal kiekius nurodytus 1 lentelėje.

Lentelė 1. Darbinių ir bazinių virškinimo sulčių paruošimas

		Darbiniai Virškinimo tirpalai		
		SSF (pH 7)	SGF (pH 3)	SIF (pH 7)
Druskų baziniai tirpalai (DBT)	Druskų tirpalų koncentracija, g/L	DBT kiekis paruošti 0.5 L	DBT kiekis paruošti 0.5 L	DBT kiekis paruošti 0.5 L
KCl	46,7	10	28	5,4 (47,7 g/L)
KH ₂ PO ₄	0,5 M	20	0,9	0,8
NaCl	116	5	16,5	50,5
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15 M	1	2	1,1
pH koregavimui				
NaOH	1 mol/L	4		0,5
HCl	1 mol/L	1	3 (32%)	0,3
Tirpalai skiedžiami distiliuotu vandeniu iki 500 ml ir užšaldomi -20°C.				

Virškinimo eiga:

Į mėgintuvėlį įdedama 5 g tiriamojo mėginio ir 2 g stiklinių rutuliukų. Virškinimo metu fermentai nėra dedami dėl nedidelio angliavandenių kiekio produkte, tačiau pilamas SSF ir virškinimas vyksta 2 min.

Lentelė 2. Virškinimo burnoje etapas

Eigos etapas	Medžiaga	Kiekis	Komentaras
1	Tiriamas mėginys (skystas, kietas)	5 g/ml	
2	SSF elektrolitų tirpalas	4,9975 ml	Tirpalas turi būti pašildytas iki 37 °C
3	CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	2,5 µl	
Galutinis tūris 10 ml			
5	Inkubuojama 2 min 37°C 150 rpm		

Lentelė 3. Skrandžio virškinimo etapas

Eigos etapas	Medžiaga	Kiekis	Komentaras
1	SGF elektrolitų tirpalas	8 ml	Tirpalas turi būti pašildytas iki 37 °C
2	CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0,15 µl	
3	6 M HCl (šiaip nenurodytas)		Koreguojamas pH iki 3
4	Pepsinas	1 ml	1ml-tre turi būti toks fermento aktyvumas, kuris visame mėginio tūryje t. y. 20 ml būtų 1000 U/ml*
SGF Pilamas iki 20 ml			
5	Išviso virškinimas skrandžio fazėje vyksta 120 min 37 °C 150 rpm		

Lentelė 4. Žarnyno virškinimo etapas

Eigos etapas	Medžiaga	Kiekis	Komentaras
1	SDF elektrolitų tirpalas	11 ml	Tirpalas turi būti pašildytas iki 37 °C
2	1 M NaOH		Koreguojamas pH iki 7
3	CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	3 µl	
4	Tulžies druskos	1 ml	1 ml-tre turi būti tokia koncentracija, kuri visame mėginio tūryje t. y. 40 ml būtų 10 mM
5	Lipazė	1 ml	1 ml-tre turi būti toks fermento aktyvumas, kuris visame mėginio tūryje t.y. 40 ml būtų 2000U/ml
Elektrolitų tirpalas pilamas iki 40 ml			
6	Iš viso virškinimas žarnyno fazėje vyksta 120 min 37 °C 150 rpm		

Riebalų hidrolizė emulsijų virškinimo žarnyne metu, nustatyta pH-stat metodu. Metodo esmė – pH-stat automatinio titravimo prietaisu (TitroLine alpha plus, Vokietija) fiksuojamas pH ir išlaikoma pastovi jo vertė (pH = 7,0) titruojant 0,25 M NaOH tirpalu. Principinė ph-stat veikimo schema pateikta 5 paveiksle. Į virškinamą emulsiją pridėtas NaOH kiekis naudojamas laisvųjų riebalų rūgščių, gautų lipolizės metu, koncentracijai apskaičiuoti.

Atpalaiduotų laisvųjų riebalų rūgščių kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{LRR} = 100 \times \frac{V_{\text{NaOH}} \times m_{\text{NaOH}} \times M_{\text{lipid}}}{W_{\text{lipid}} \times 2}, \%$$

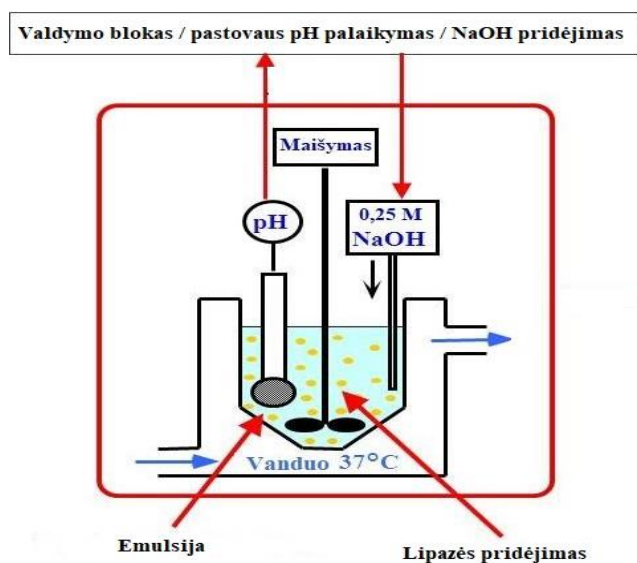
V_{NaOH} – sunaudoto 0,25 M NaOH neutralizuoti LRR mėginyje (L);

M_{NaOH} – natrio šarmo reikalingo neutralizuoti LRR moliaringumas (mol/L);

M_{lipid} – vidutinė molekulinė riebalų masė (g/mol);

W_{lipid} – riebalų kiekis mėginyje (g).

Matavimas buvo kartojamas 2 kartus ir į pateiktą formulę statomas sunaudoto NaOH kiekio aritmetinis vidurkis. Apskaičiavus rezultatus pagal duotą formulę, brėžiama laisvųjų riebalų rūgščių atpalaidavimo *in vitro* sąlygomis virškinimo metu priklausomybė nuo laiko.

**5 pav.** pH-stat metodo veikimo schema

4. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

4.1. Dvigubųjų emulsijų sudėties įtaka jų reologinėms-struktūros savybėms ir fizikiniam stabilumui

Dvigubosios emulsijos dažniausiai naudojamos įvairių funkcinų ingredientų įkapsuliavimui vidinėje vandens fazėje bei jų apsaugojimui nuo aplinkos veiksnių. Tačiau yra ir kitų potencialių šių emulsijų panaudojimo maisto produktuose galimybių. Viena jų – maisto produktų su sumažintu riebalų kiekiu kūrimas. Dvigubos emulsijos yra tinkamos pakeisti riebalų frakcijos kokybinę ir kiekybinę sudėtį produktuose ir taip sumažinti riebalų kiekį juose, nepabloginant produktų tekstūros. Nepaisant akivaizdžių dvigubųjų emulsijų privalumų, mažinant riebalų kiekį, jų dalį pakeičiant vandens fazę, mokslinėje literatūroje mums pavyko rasti tik kelis pavyzdžius, kai pieno produktuose dalis pieno riebalų buvo pakeisti dvigubąja emulsija ir taip sumažintas produkto riebumas. Vienas tokių pavyzdžių – sūrio produktai su dvigubosiomis emulsijomis, kuriuose pavyko sumažinti riebalų kiekį, tačiau jų tekstūra išliko panaši kaip tradiciniu būdu pagamintų sūrių [75].

Šio darbo etapo tikslas buvo pagaminti stabilias dvigubąsias emulsijas, kurių riebalų fazėje būtų pieno riebalai, o vidinės vandens fazės santykinis kiekis emulsijoje būtų galimai didesnis. Taip pat buvo siekiama pagaminti emulsijas, kurios savo tekstūros savybėmis, tokiomis kaip kietumas, tepumas, būtų panašios į sviestą.

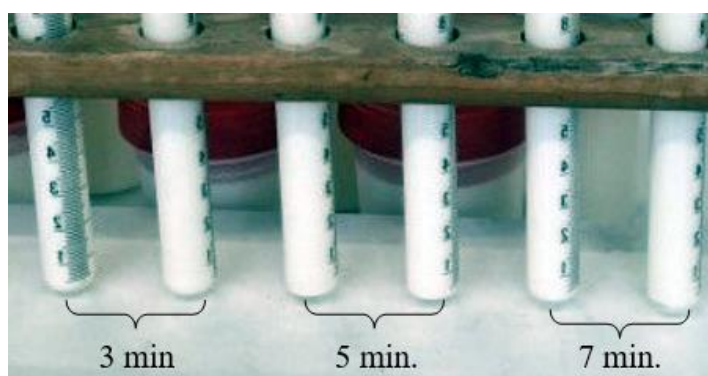
Tyrimų pradžioje nustatėme homogenizacijos trukmės įtaką dvigubųjų emulsijų struktūros savybėms, o tolesniuose etapuose tyrėme skirtingais vandens bei riebalų fazių santykiniais suformuotų emulsijų savybes.

4.1.1. Emulsijų homogenizavimo trukmės įtaka jų stabilumui

Siekiant išsiaiškinti geriausią homogenizavimo trukmę dvigubosioms emulsijoms, sudėtyje turinčioms pieno riebalų, buvo eksperimentuojama mažinant homogenizavimo trukmę. Tuo tikslu paruoštos trys pirminės emulsijos V/A, kurių homogenizavimo trukmė buvo skirtinga: 7min, 5 min ir 3 min. Taip pat gaminant šias emulsijas buvo sutrumpintas dvigubosios emulsijos antrojo homogenizavimo etapas nuo 5 min iki 3 min. Pagamintos dvigubosios emulsijos iki tyrimų buvo laikomos kambario temperatūroje (20 °C) parą laiko.

Norint sužinoti ar homogenizavimo trukmė turi įtakos dvigubųjų emulsijų savybėms, remiantis kitų autorių aprašytais tyrimais, buvo nustatytos šios emulsijų charakteristikos: gravitacinis stabilumas, vidutinis dalelių dydis ir jų pasiskirstymas (žr. 6 ir 7 pav.), kietumas ir tiksotropija (žr. 5 lent.).

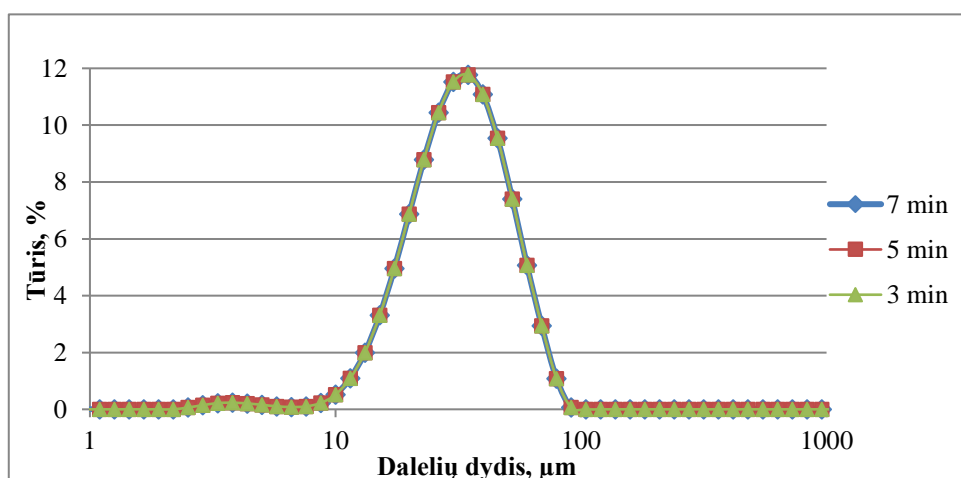
Tik pagamintos emulsijos buvo supilstytos į graduotus 30 ml stiklinius mėgintuvėlius gravitaciniam stabilumui stebėti.



6 pav. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų gravitaciniam stabilumui

Dvigubųjų emulsijų stabilumas buvo stebimas mėnesį laiko. Po 1, 7 ir 30 parų nebuvo pastebėta fazių atsiskyrimo užuomazgų – emulsijų stabilumas nebuvo pakitęs. Šis tyrimas parodo, kad emulsijos stabilios (žr. 6 pav.).

Toliau buvo atliktas dalelių dydžio ir pasiskirstymo tyrimas, siekiant išsiaiškinti ar homogenizavimo trukmė turi įtakos dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymo diapazonui dvigubosiose emulsijose. Gauti rezultatai pateikti 7 paveiksle ir 5 lentelėje.



7 pav. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymui

Lentelė 5. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui

	Emulsijos homogenizavimo trukmė, min		
	3	5	7
Vidutinis dalelių dydis, μm	$30,18 \pm 1,2$	$30,18 \pm 1,2$	$30,18 \pm 1,2$
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	1,2	1,2	1,2

Pagal mokslinėje literatūroje pateikiamus duomenis, dažniausiai, dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymas yra ribose nuo 1 iki 100 μm , o vidutinis dalelių dydis – apie 10 μm [76, 77].

Iš 6, 7 paveiksle ir 5 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad skirtinga homogenizavimo trukmė neturėjo įtakos nei emulsijų stabilumui, nei jų dalelių dydžiui ir jo pasiskirstymo diapazonui. Visų tyrimo metu analizuotų skirtingos homogenizavimo trukmės dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymas nustatytas ribose nuo 10 iki 100 μm (žr. 7 pav.), o vidutinis dalelių dydis $30,18 \pm 1,02 \mu\text{m}$. Nepaisant to, kad stabilių emulsijų dalelių dydis daugumoje tyrimų pateikiamas iki 10 μm , emulsijos gautos stabilios. Tai reiškia, kad esant ir didesniai dalelių dydžiui emulsijos gali būti stabilios. Tam įtakos turi emulsijose naudojami pieno riebalai, kurių lydymosi temperatūra nustatyta 34 – 35,6 $^{\circ}\text{C}$ intervale (žr. 6 lent.), o kambario temperatūroje ($\sim 20^{\circ}\text{C}$) būdami kieti, skirtingai nuo skysto aliejaus emulsijų riebalų rutulėliuose, stabilizuoja emulsiją.

Praėjus 1 parai nuo emulsijų pagaminimo, jų kietumas buvo matuojamas tekstūros analizatoriumi (žr. 6 lent.). Mėginių matavimai kartoti po tris kartus, smeigiant tekstūros analizatoriaus rutuliuką (10 mm gylis) į skirtingas mėginio vietas. Nustatyta, kad 7 min homogenizuotos emulsijos buvo kietiausios (2,49 N), o 3 min – minkščiausios (1,37 N). Tyrimas buvo pakartotas praėjus 7 paroms, emulsijų kietumo vertės padidėjo, tačiau rezultatai labai nepasikeitė, t. y. 7 min homogenizuoto emulsijos išliko kietiausios (5,31 N), o homogenizuotos 3 min – minkščiausios (2,98 N).

Taip pat siekiant išsiaiškinti ir pasirinkti tinkamiausią homogenizavimo trukmę dvigubųjų emulsijų gamybai su pieno riebalais, buvo atliktas emulsijų tiksotropijos tyrimas (žr. 6 lent.). Šio tyrimo metu buvo išsiaiškinta, kad veikiant mažoms deformacijos jėgoms, greičiausiai po deformacijos atsistato emulsija, kurios homogenizavimo trukmė buvo 5 min.

Lntelė 6. Homogenizavimo trukmės įtaka dvigubųjų struktūros savybėms

Mėginiai	$G' = G''$ ($^{\circ}\text{C}$)	Histerezės kilpa	Tekstūra (kietumas), N	
			Po paros	Po savaitės
3 min	34	4,17 Pa/(s*ml)	1,37	2,98
5 min	34,22	0,1 Pa/(s*ml)	1,98	4,14
7 min	35,6	622,12 Pa/(s*ml)	2,49	5,31

Išanalizavus atliktų tyrimų duomenis, matyti, kad homogenizavimo trukmė neturi ryškios įtakos dvigubųjų emulsijų su pieno riebalais savybėms. Atliktas tiksotropijos tyrimas padėjo apsispręsti kurį dvigubųjų emulsijų gamybos būdą rinktis tolimesniems tyrimams. Šis tyrimas aiškiai parodė, kad sunkiausiai po deformacijų atsistato 7 min homogenizavimo trukmės emulsija (622,12 Pa/(s*ml)), o geriausiai į deformacijas reaguoja 5 min homogenizavimo trukmės emulsija

(0,1 Pa/(s*ml)). Priimtas sprendimas gaminti emulsijas trumpinant homogenizavimo trukmę. Pirminės emulsijos homogenizacijos trukmė – 5 min, o dvigubosios emulsijos – 3 min.

4.1.2. Emulsijų gamyba su skirtingais vandens ir aliejinės fazės santykiais

Naudojant tą pačią emulsijų gamybos metodiką, paruošiamos emulsijos keičiant pirminės V/A emulsijos ir išorinės vandens fazės V_2 tarpusavio santykį, didinant vidinės vandens fazės kiekį. Sudarytos trys skirtingos sudėties emulsijų variacijos: V/A (30:70) ir V/A/V (50:50); V/A (40:60) ir V/A/V (60:40); V/A (50:50) ir V/A/V (70:30).

Buvo vertinamas pagamintų dvigubųjų emulsijų stabilumas, dalelių dydis ir jo pasiskirstymas bei tekstūra.

Pagamintos emulsijos, buvo supilstytos į stiklinius graduotus 30 ml mėgintuvėlius stabilumo stebėjimui. Stabilumas buvo stebimas 30 dienų, tačiau pokyčių ir fazių išsiskyrimo stebėjimo metu nebuvo pastebėta. Todėl galima teigti, kad fazių keitimas, didinant vidinę vandens fazę, taip pat nedaro įtakos dvigubųjų emulsijų stabilumui.

Atliekant dalelių dydžio pasiskirstymo tyrimą, nustatyta, kad jis išliko tose pačiose ribose (10 – 100 μm). Dalelių dydis tolygus ir vienodas, gauta sistema monodispersinė. Nors dalelių pasiskirstymo diapazonas nepakito, tačiau stebimas vidutinis dalelių dydžio padidėjimas beveik 10 μm (žr. 7 lent.), lyginant su pradinėmis emulsijomis.

Lentelė 7. Fazių santykio dvigubosiose emulsijose įtaka jų struktūros ir tekstūros savybėms

Mėginiai	Histerezės kilpa Pa/(s*ml)	Tekstūra (kietumas), N		Vidutinis dalelių dydis, μm	Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)
		Po paros	Po savaitės		
V/A/V (50:50)	29,49 Pa/(s*ml)	7,73	10,55	39,05 \pm 0,31	1,17
V/A/V (60:40)	1,28 Pa/(s*ml)	9,03	13,13	41,16 \pm 0,28	1,09
V/A/V (70:30)	0,18 Pa/(s*ml)	6,73	9,33	40,9 \pm 1,39	1,05

Nors ir buvo minėta, kad paprastai dvigubosios emulsijos išlieka stabilesnės, kai dalelių dydis mažesnis, tačiau šios emulsijos išliko stabilios esant ir didesniai dalelių dydžiui. Tai gali būti siejama su dalelių pasiskirstymo rodikliu, kuris šiek tiek sumažėjo, lyginant su pradinėmis emulsijomis, kurių *span* buvo ~ 0,1 didesnis.

Atlikus kietumo bandymą tekstūros analizatoriumi, nustatyta, kad emulsija V/A/V (60:40) – kiečiausia, o V/A/V (70:30) – minkščiausia (žr. 7 lent.). O tiksotropijos tyrimai parodė, kad geriausiai po deformacijos atsistato emulsija V/A/V (70:30), blogiausiai – emulsija V/A/V (50:50).

Nors ir V/A/V (60:40) emulsija tekstūros analizatoriaus duomenimis kiečiausia, tačiau pasižymėjo geriausiomis savybėmis – veikiant šią emulsiją mechanine jėga neišsiskyrė vanduo, priešingai negu kitose emulsijose.



8 pav. Dvigubosios emulsijos su skirtingais vandens ir aliejaus fazės svorių santykiais: a) V_1/A (30:70) ir $V/A/V$ (50:50); b) V_1/A (40:60) ir $V/A/V$ (60:40); c) V_1/A (50:50) ir $V/A/V$ (70:30).

Vizualiai buvo įvertintas emulsijų tepumas, grūdėtumas, vandeninės fazės išsiskyrimas mechaninio poveikio metu. Vizualinio vertinimo metu, nustatyta, kad priimtiniausiai atrodanti, geriausiu tepumu ir mažiausiu grūdėtumu pasižyminti buvo emulsija *b*, kurios fazių santykis V/A (40:60) ir $V/A/V$ (60:40) (žr. 8 pav.).

4.1.3. Emulsijų gamyba su skirtingu IBI kiekiu išorinėje V_2 vandens fazėje

Dvigubųjų emulsijų tyrimai parodė, kad nors laikymo metu emulsijos išliko stabilios ir jų fazės neišsisluoksniavo, po mechaninio poveikio iš visų jų išsiskyrė išorinė vandens fazė. Siekiant sumažinti V_2 fazės išsiskyrimą mechaninio poveikio metu, buvo nuspręsta padidinti išrūgų baltymų izoliato kiekį išoriniame vandens sluoksnyje. IBI pagrindinė funkcija – emulsuoti riebalų daleles, sudarant V/A tarp sluoksnyje apsauginę plėvelę. Padidinus baltymų kiekį vandens fazėje, tikėtina, kad baltymų perteklius, kuris nebus adsorbuotas ant tarpfazio, vandens fazėje veiks kaip vandens surišėjas ir taip sumažins vandens išsiskyrimą po mechaninio emulsijų poveikio. Šiai hipotezei patvirtinti dvigubosios emulsijos buvo gaminamos tokiomis pat sąlygomis kaip ir prieš tai atliktuose bandymuose (pirminė emulsija buvo homogenizuojama 5 min, o dviguba – 3 min; 50 °C temperatūroje).

IBI kiekis V_2 fazėje buvo 1,5 %; 2 % ir 3 %. Buvo stebimas šių emulsijų stabilumas ir matuojamas dalelių dydis.

Dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio matavimo rezultatai, esant skirtingam išrūgų baltymų izoliato (IBI) kiekiui rodo vidutinio dalelių dydžio mažėjimo tendenciją didinant IBI kiekį (žr. 8 lent.)

Lentelė 8. IBI koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui

	Išrūgų baltymų izoliato kiekis, % išorinėje V ₂ vandens fazėje		
	1,5	2	3
Vidutinis dalelių dydis, μm	30,85±0,43	28,81±0,29	26,09±0,21
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	1,25	1,24	1,28

Iš 8 lentelėje pateiktų duomenų, matyti, kad didesnis išrūgų baltymų izoliato kiekis išorinėje V₂ fazėje sąlygoja mažesnį dalelių dydį. Nors mažesnis dalelių dydis dažniausiai siejamas su geresniu stabilumu, atlikus gravitacinio stabilumo tyrimą, buvo gauti priešingi rezultatai.

Gravitacinio stabilumo tyrimo metu, nustatyta, kad padidinus IBI kiekį išorinėje vandens fazėje, padidėjo vandeninės fazės atskyrimas. Serumo išsiskyrimas mėginiuose fiksuotas po 1, 7 ir 30 parų. Tačiau po paros išsiskyrusio serumo tūris per likusį stebėjimo laiką nebekito. Po 30 parų užfiksuoti rezultatai parodė, kad esant 1,5 % IBI emulsijose, išsiskyrusio serumo tūris buvo 5,6 %. Padidinus IBI kiekį iki 2 % išorinėje vandens fazėje, išsiskyrusio serumo kiekis padidėjo beveik dvigubai (11,33 %). Toliau didinant IBI kiekį iki 3 %, serumo išsiskyrimas mažai padidėjo (11,66 %).

Tai netikėti rezultatai, nes esant mažesniai dalelių dydžiui emulsijos turėtų likti stabilesnės. Autoriai Eisainaitė (2016 m.) ir Cofrades (2013 m.) savo tyrimuose mini, kad tai gali būti aiškinama didėjančiu riebalų dalelių pasiskirstymo rodikliu (*span*) [78, 79]. Tačiau lyginant gautus rezultatus, nėra žymaus šio rodiklio pasikeitimo. Todėl didelis vandeninės fazės išsiskyrimo kiekis gali būti siejamas su įvykusia riebalų dalelių flokuliacija.

Gavus nepageidaujamus rezultatus, nuspręsta dar padidinti IBI kiekį išorinėje vandens fazėje – 4 %, 5 % 6 %. Visi trys emulsijų variantai buvo pagaminti maišant pirminę emulsiją homogenizuojant su V₂ faze santykiais: 40:60 ir 60:40. Buvo nustatytas pagamintų dvigubųjų emulsijų dalelių dydis ir stebimas emulsijų stabilumas.

Lentelė 9. IBI koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui

	Išrūgų baltymų izoliato kiekis, % išorinėje V ₂ vandens fazėje					
	4		5		6	
	V/A/V (40:60)	V/A/V (60:40)	V/A/V (40:60)	V/A/V (60:40)	V/A/V (40:60)	V/A/V (60:40)
Vidutinis dalelių dydis, μm	29,11±0,31	27,43±0,24	27,42±0,55	25,86±0,48	26,98±0,65	24,59±0,32
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	1,22	0,939	1,18	0,933	1,17	0,883

Dalelių dydžio matavimo duomenys pateikti 9 lentelėje. Iš jų matome, kad toliau didinant IBI kiekį išorinėje vandens fazėje, stebimas mažėjantis vidutinis dalelių dydis ir jų pasiskirstymo rodiklis. Atsižvelgiant į šių parametrų reikšmes ir mokslinėje literatūroje nagrinėjamus rodiklius, kurie sąlygoja dvigubųjų emulsijų stabilumą, šios emulsijos turėtų būti stabilesnės už tirtas anksčiau. Tačiau gravitacinio stabilumo tyrimas parodė kitokius rezultatus.

Gravitacinio stabilumo tyrimo metu iškilo sunkumų stebint emulsijų stabilumą. Dvigubosios emulsijos su fazių santykiu 60:40 mėginiai buvo per tiršti stabilumo stebėjimui tam skirtuose mėgintuvėliuose. Todėl mėginiai buvo supilstyti į didesnio skersmens indelius ir palikti stebėjimui. Vizualiai buvo matyti, kad emulsija, kurios pirminės emulsijos ir vandens fazės santykis buvo 60:40 buvo stabilesnės už emulsijas, kuriose fazių santykis buvo 40:60. T. y. nebuvo pastebima fazių atsiskyrimo.

Dvigubosiose emulsijose su fazių santykiu 40:60 buvo stebimas serumo išsiskyrimas. Mėginiuose, kuriuose buvo 4 % IBI išsiskyrusio serumo tūris – 9,11 %. Padidinus IBI kiekį iki 5 % išorinėje vandens fazėje, išsiskyrusio serumo kiekis padidėjo iki 10 %. Toliau didinant IBI kiekį iki 6 %, išsiskyrusio serumo tūris sumažėjo dvigubai – 5 %

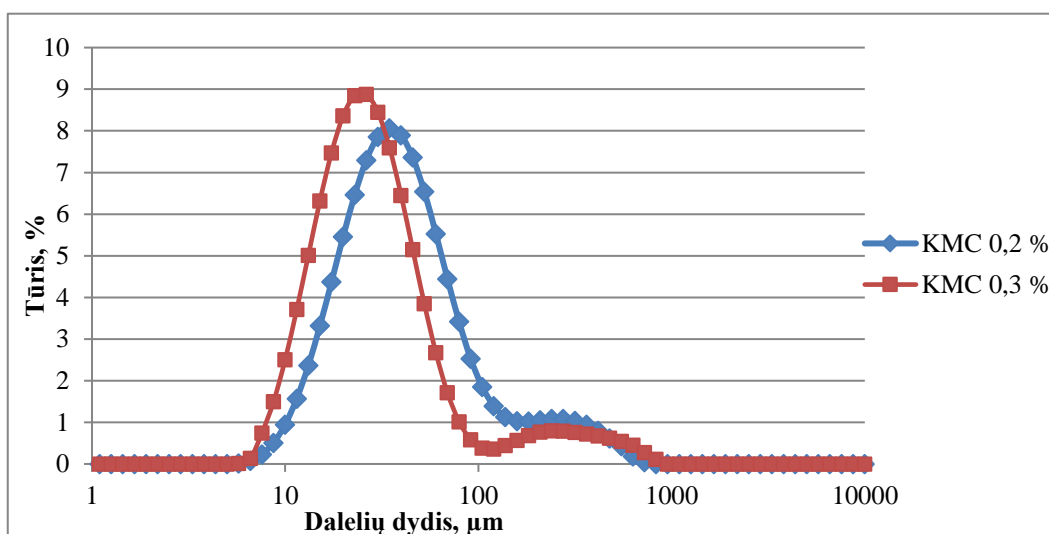
Gravitacinio stabilumo tyrimo rezultatai buvo fiksuojami po 1, 7 ir 30 parų. Išsiskyrusio serumo tūris, kuris buvo užfiksuotas praėjus parai nuo emulsijų pagaminimo, likusio laikymo metu nepakito.

Apibendrinant gautus rezultatus, matyti, kad esant didžiausiai išrūgų baltymų izoliato koncentracijai (6 %) riebalų dalelių dydis mažiausias ir dviguboji emulsija stabiliausia. Tačiau atsižvelgiant į anksčiau atliktus tyrimus, kai kurios emulsijos su didesniu vidutiniu dalelių dydžiu ir jų pasiskirstymo rodikliu – stabilesnės. T. y. gravitacinio stabilumo tyrimo metu nebuvo stebimas vandeninės fazės išsiskyrimas. Vandeninės fazės išsiskyrimą šiuose mėginiuose galima susieti su riebalų dalelių išstūmimo flokuliacija. Tokios flokuliacijos priežastimi gali būti per didelė baltymų koncentracija ar sistemoje esantys tarpfazėje neabsorbuoti baltymai. Tokioje sistemoje tarp riebalų dalelių padidėja traukos jėgos ir dėl osmosinio slėgio skirtumo dalis baltymo polipeptidinės grandinės pašalinama iš tarpfazės sritys, kurioje liečiasi keli emulsijos riebalų rutulėliai [80].

4.1.4. Emulsijų gamyba su skirtingu KMC kiekiu išorinėje V_2 vandens fazėje

Didinant IBI kiekį išorinėje V_2 vandens fazėje nebuvo pasiektas norimas rezultatas – sumažintas vandens fazės išsiskyrimas laikymo ir mechaninio poveikio metu. Todėl norint pagerinti vandens surišimą dvigubosiose emulsijose ir jų stabilumą, gaminant emulsijas IBI buvo pakeistas karbosimetilceliuloze (KMC). Šiam tyrimui atlikti buvo pasirinkta dviguboji emulsija, kurioje fazių svorių santykis $V/A/V$ buvo 60:40. Ši emulsija pasižymėjo geriausiomis

savybėmis – stabilumu, vandens surišimu, tepumu. Pagaminti du variantai dvigubųjų emulsijų: 0,2 % ir 0,3 % KMC V₂ fazėje.



9 pav. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų dalelių dydžio pasiskirstymui

Iš 9 paveiksle pavaizduotų duomenų matyti, kad naudojant KMC išorinėje V₂ vandens fazėje, susidaro polidispersinė sistema, kurioje dalelių dydžio pasiskirstymas yra netolygus. Nors analizuojamose emulsijose nustatyta daugiau mažesnių dalelių, pasiskirsčiusių diapazone nuo 10 iki 100 μm, tačiau matome, kad yra ir didelių dalelių, pasiskirsčiusių 100 – 1000 μm regione.

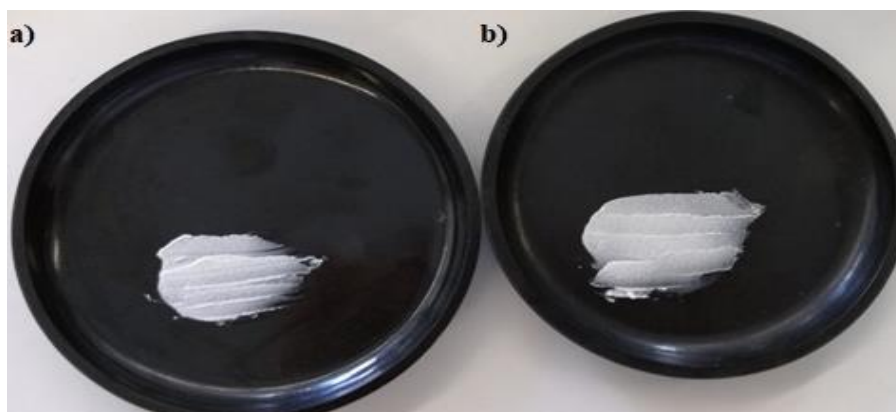
Lentelė 10. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui

	Karbosimetilceliuliozės kiekis, % išorinėje V ₂ vandens fazėje	
	0,2	0,3
Vidutinis dalelių dydis, μm	61,92±0,35	55,15±0,39
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	4,72	3,39

Įvertinus vidutinį dalelių dydį ir jų pasiskirstymo rodiklį, matome, kad šie rodikliai žymiai padidėjo (žr. 10 lent.), lyginant su dvigubosiomis emulsijomis, kurių išorinėje vandens fazėje buvo baltymai. Tai rodo didelį dalelių dydžio nevienodumą, kas turėtų daryti įtaką greitesniam dalelių susijungimui, lemiančiam emulsijų nestabilumą. Kadangi emulsijos buvo labai tirštos, jų stabilumą vertinome supylę į didelio skersmens indelius vizualiai. Emulsijose nebuvo pastebėta jokių fazių atsiskyrimo požymių. Tai galima susieti su padidėjusia emulsijų klampa dėl KMC kaip ypač efektyvaus vandens fazės tirštiklio funkcijos emulsijoje. Kai kurie autoriai aptaria, kad padidėjusi nepertraukiamos fazės klampa, mažina dalelių judėjimo greitį, dėl ko mažėja dalelių susijungimo ir emulsijos destabilizavimo galimybė [70, 81].

Tiriant dvigubąsias emulsijas su pieno riebalais, viena iš svarbių tekstūros savybių buvo tepumas. Siekiant dvigubosios emulsijos tekstūros panašumo su sviestu, iškeltas tikslas pagaminti lengvai tepų produktą. Tačiau tyrimų pradžioje susidūrėme su išorinės V₂ fazės išsiskyrimo

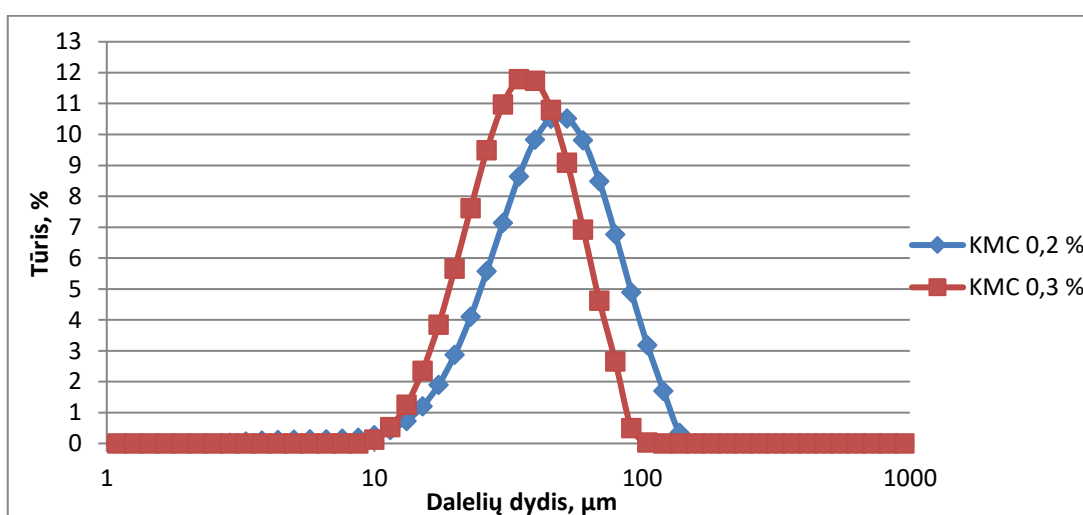
problema, veikiant emulsijas mechaniškai. Todėl, pastebėjus, kad mėginiai su KMC beveik neišskiria vandens, išmėginome jų tepumą. Kaip matome iš 10 paveiksle pateiktų nuotraukų, dvigubosios emulsijos tepėsi lengvai, gerai dengdamos paviršių.



10 pav. Dvigubųjų emulsijų tepumas, esant skirtingai KMC koncentracijai a) 0,2 % KMC; b) 0,3 % KMC

Nustačius, kad dvigubųjų emulsijų gamyboje naudojant KMC sumažinamas išorinės V_2 fazės išsiskyrimas mechaninio poveikio metu, nuspręsta sumažinti riebalų kiekį emulsijoje, siekiant padidinti emulsijų minkštumą ir sumažinti grūdėtumą. Buvo pagamintos dvigubosios emulsijos su sumažintu riebalų kiekiu, kai pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, o KMC kiekiai išorinėje vandens fazėje buvo 0,2 %, 0,3 %, 0,4 % ir 0,5 %.

Atlikus dalelių dydžio matavimus, pastebėtas skirtumas, lyginant su prieš tai tirtomis emulsijomis (žr. 11 pav.).



11 pav. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, dalelių dydžio pasiskirstymui

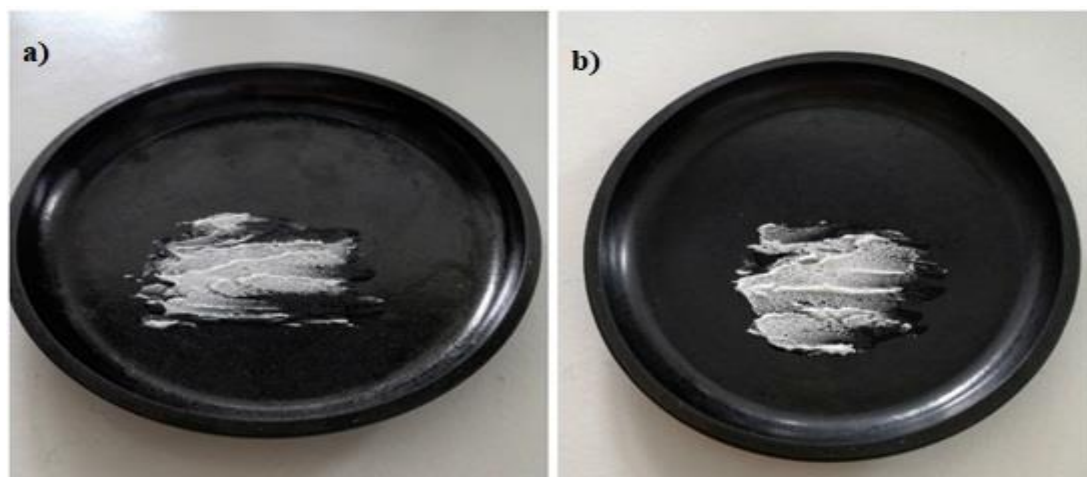
Šiuo atveju gauta jau monodispersinė sistema, o pagrindinis dalelių dydžio pasiskirstymo diapazonas kaip ir visose nagrinėtose emulsijose išliko nuo 10 iki 100 μm . Taip pat aiškiai matyti, kad sumažėjo vidutinis dalelių dydis ir jų pasiskirstymo rodikliai (žr. 11 lent.).

Lentelė 11. KMC koncentracijos įtaka dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, dalelių dydžiui

	Karbosimetilceliuliozės kiekis, % išorinėje V_2 vandens fazėje			
	0,2	0,3	0,4	0,5
Vidutinis dalelių dydis, μm	45,61±1,24	35,32±0,5	32,24±1,55	28,01±1,27
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	1,33	1,21	1,22	1,26

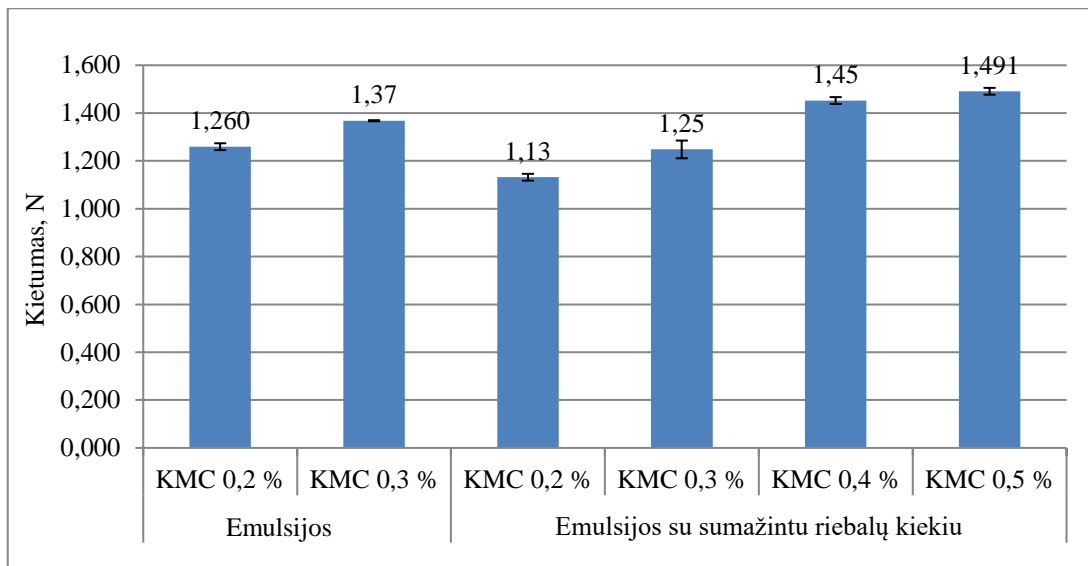
Vidutinis dalelių dydis sumažėjo ~30 % lyginant dvigubąsias emulsijas su KMC, kuriose pirminės emulsijos ir vandens santykis buvo 40:60 (riebalų fazė didesnė), o dalelių pasiskirstymo rodiklis sumažėjo dar daugiau ~70 %. Šie rodikliai aiškiai rodo, kad riebalų kiekis dvigubosiose emulsijose daro įtaką jų savybėms.

Vizualus emulsijų vertinimas parodė, kad jos stabilios, tačiau tepumas pablogėjo – tepant išsiskyrė vandens fazė (žr. 12 pav.).



12 pav. Dvigubųjų emulsijų, kuriose pirminės emulsijos santykis su vandens faze buvo 30:70, tepumas, esant skirtingai KMC koncentracijai: a) 0,2 % KMC; b) 0,3 % KMC

Iš mokslinėje literatūroje publikuojamų duomenų žinoma, kad didesnę dvigubųjų emulsijų stabilumą ir mažesnę dalelių migraciją galima pasiekti keičiant paviršiaus aktyvių medžiagų koncentraciją išorinėje vandens fazėje [82]. Tačiau paviršiaus aktyvias medžiagas – baltymus, pakeitus vandens fazės tirštikliu – KMC ir padidinus jo kiekį iki 0,4 % ir 0,5 % emulsijose, kuriose riebalų kiekis sumažintas iki 30 %, išorinės V_2 fazės išsiskyrimas mechaninio poveikio metu nesumažėjo. Padidinus KMC kiekį, dalelių vidutinio dydžio ir jo pasiskirstymo rodiklio parametru vertės sumažėjo, dalelių dydžio pasiskirstymas nepakito (10 – 100 μm), emulsijos išliko stabilios, tačiau nepavyko išvengti išorinės V_2 fazės išsiskyrimo, mechaninio poveikio metu. Tai galėjo lemti per mažas riebalų kiekis emulsijoje, nes palyginus su emulsijomis, kuriose buvo daugiau riebalų, užteko 0,2 % ir 0,3 % KMC, kad išvengti vandens išsiskyrimo mechaninio poveikio metu. Taip pat nustatėme emulsijų kietumą (žr. 13 pav.)



13 pav. Dvigubųjų emulsijų struktūros bei sudėties įtaka kietumui

Iš paveiksle pateiktų duomenų, matome, kad sumažinus riebalų kiekį dvigubosiose emulsijose, jų kietumas šiek tiek sumažėjo. Tačiau didinant KMC kiekį, emulsijų su sumažintu riebalų kiekiu kietumas didėjo.

Tokią kietumo didėjimo tendenciją, didinant KMC galima susieti su šio tirštinio funkcijomis dvigubose emulsijose. Kitų autorių tyrimų duomenimis gaminant dvigubas emulsijas su KMC, pastebimas didesnis emulsijų klampumas, nei naudojant IBI [70].

4.2. Dvigubųjų emulsijų tarpfazių V/A ir A/V savybių priklausomybė nuo riebalų fazės sudėties ir tarpfazių formuojančių medžiagų prigimties bei kiekio

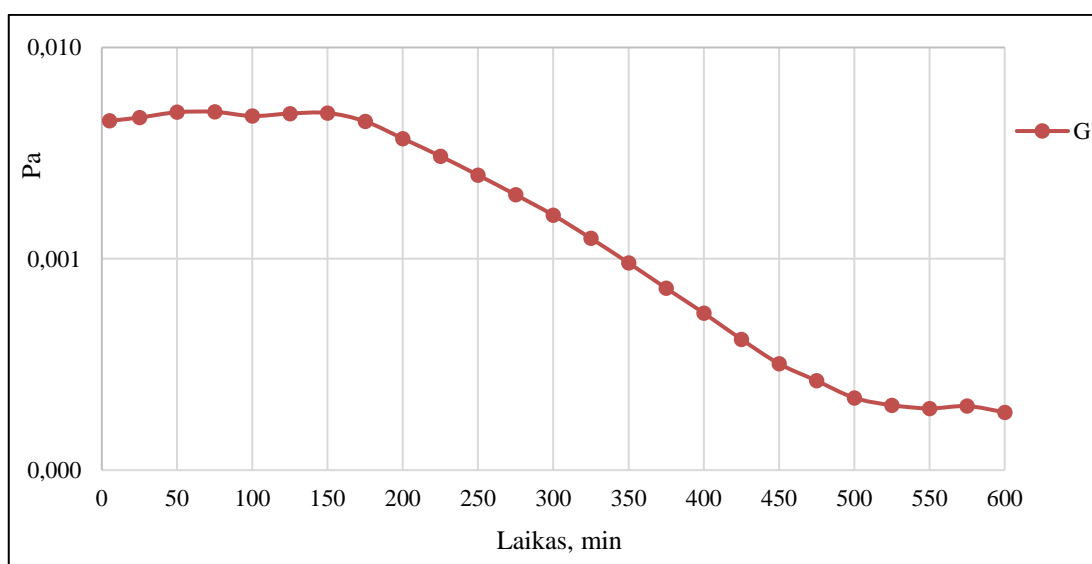
Vienas pagrindinių veiksnių, lemiančių dvigubųjų emulsijų stabilumą – fazių tarpusavio sąveika. T. y. ar fazių susijungimo vietoje (tarpfazyje) susidaro fazes jungianti plėvelė ar ne. Tarpfazių savybės ypač svarbios dvigubųjų emulsijų stabilumui, nes šiose sistemose yra du tarpfaziai – A/V ir V/A, kuriuos reikia atskirti, siekiant išvengti fazių sąveikos.

Dvigubųjų emulsijų tarpfazių matavimus atlikome pagal literatūroje pateiktas metodikas, kuriose naudojami reologiniai tarpfazių matavimo metodai. Struktūros susiformavimui buvo taikoma deformacijos amplitudė $\gamma = 0,1 \%$ ir dažnis $f = 1 \text{ Hz}$, o duomenys fiksuojami kas 5 min [83, 84]. Šio tyrimo metu buvo matuojamos dvi reikšmės – elastingumo modulis (G') ir klampos modulis (G''). Ryšys tarp elastingumo ir klampos modulių, veikiant tam tikru dažniu parodo klampiai elastingas sistemos savybes.

Kaip buvo minėta anksčiau, emulsijų savybės labai priklauso nuo jų sudėties, ypač aliejinės fazės. Ne išimtis ir jų įtaka tarpfazių savybėms, kurios susijusios su aliejinės fazės hidrofibiškumu, nesotumo laipsniu, priemaišų buvimu [85]. Kadangi atliekant tyrimus su dvigubosiomis

emulsijomis, dažniausiai naudojama aliejinė fazė – rapsų, alyvuogių, saulėgrąžų aliejai, todėl nusprendėme pirmiausia tarpfazio A/V formavimo tyrimus atlikti aliejinėje fazėje naudojant saulėgrąžų aliejų. Siekiant išsiaiškinti kaip veikia skirtingos prigimties medžiagos formuojant tarpfazį nuspręsta naudoti emulsiklį tik vienoje iš fazių. Pasirinkta bandymą atlikti su emulsikliu poliglicerolio poliricinoleatu (PGPR), kuris dedamas į tiriamųjų emulsijų aliejinę fazę. Emulsiklio kiekis aliejinėje fazėje 6 % – toks pats kaip ir gaminamose emulsijose. Į vandens fazę nebuvo dedama jokia medžiaga.

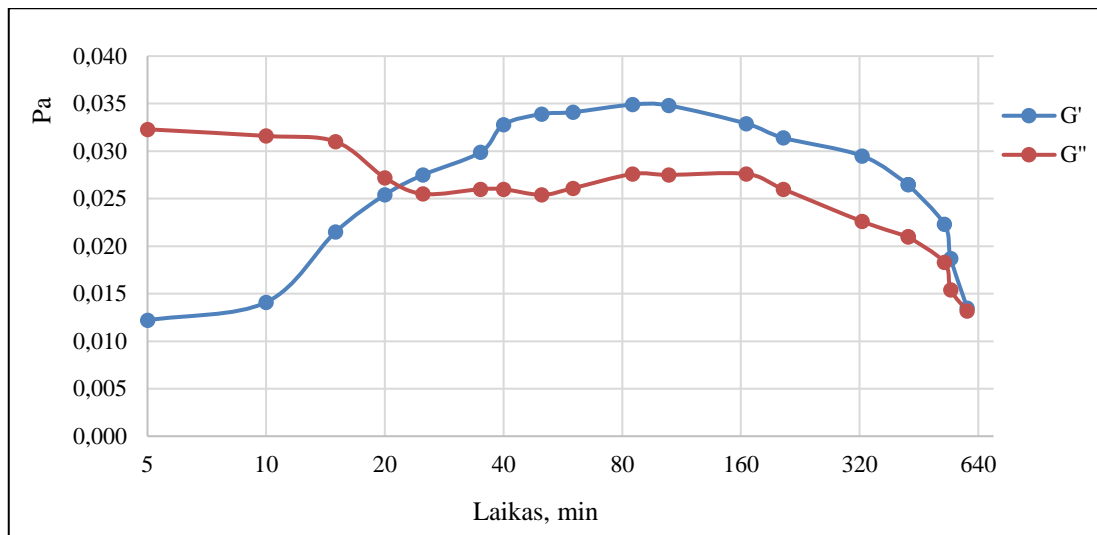
Atliekant pirmąjį bandymą, buvo užfiksuota tik viena reikšmė – klamos modulis (G''), o elastingumo modulis nebuvo fiksuojamas (žr. 14 pav.). Toks rezultatas parodo, kad tarpfazyje susidaręs paviršiaus aktyvios medžiagos – PGPR, sluoksnis nesuformavo plėvelės, kuri pasižymėtų tam tikromis išmatuojamomis kietos medžiagos savybėmis, o išliko skystis.



14 pav. V/A tarpfazio reologinės charakteristikos, aliejinėje fazėje esant 6 % PGPR, kai $\gamma = 0,1\%$

Gavus pirmojo bandymo rezultatus, buvo nuspręsta keisti matavimo parametrus. Atsižvelgiant į publikuojamus kitų autorių tyrimus, kuriuose naudojama skirtinga deformacijos amplitudė, pasirinkta keisti tik deformacijos amplitudę (γ), o deformacijos dažnį (f) palikti tokį patį. Bandymai atlikti, esant $\gamma = 1\%$, $\gamma = 0,7\%$ ir $\gamma = 0,5\%$, o dažnis nekeičiamas.

Atlikus tarpfazio reologinių savybių matavimus, esant deformacijos amplitudėms $\gamma = 1\%$ ir $\gamma = 0,7\%$, gauti tokie patys rezultatai kaip ir ankstesniuose matavimuose, t. y. fiksuotas tik G'' modulis. Abiejų modulių – G' ir G'' reikšmės užfiksuotos, atliekant tarpfazio reologinių savybių matavimą, esant deformacijos amplitudei $\gamma = 0,5\%$ buvo gautas teigiamas rezultatas, t. y. gautos G' ir G'' reikšmės (žr. 15 pav.).



15 pav. V/A tarpfazio reologinės charakteristikos, aliejinėje fazėje esant 6 % PGPR; $\gamma = 0,5$ %

Gauti rezultatai rodo, kad esant deformacijos sąlygoms $\gamma = 0,5$ % ir $f = 1$ Hz, tarpfazyje formuojasi PGPR plėvelė, pasižyminti kietos medžiagos savybėmis. 15 paveiksle pavaizduoti elastingumo (G') ir klamos (G'') moduliai, kurių susikirtimo taškas 25 min rodo tarpfazio plėvelės susiformavimą ir išsilaikymą iki tyrimo pabaigos.

Toliau nuspręsta, taikant tokius pačius matavimo parametrus, matuoti tarpfazio plėvelės susidarymą keičiant tarpfazį formuojančių medžiagų koncentraciją. Atlikti bandymai mažinant PGPR kiekį aliejinėje fazėje. Bandymai atlikti esant 4 % ir 5 % emulsiklio koncentracijoms. Tačiau tyrimų metu vėl buvo išmatuotas tik klamos modulis. Todėl galima daryti išvadą, kad esant šioms konkrečioms sąlygoms, mažinant lipofilinio emulsiklio koncentraciją, jis nepajėgus tarpfazyje suformuoti plėvelę, kuri pasižymėtų kietoms medžiagoms būdingomis reologinėmis savybėmis. Padidinus PGPR kiekį iki 7 %, buvo stebimas klamos ir elastingumo modulių reikšmių fiksavimas, kaip pavaizduota 15 paveiksle.

Išsiaiškinus lipofilinio emulsiklio poveikį tarpfazio formavimui, toliau nuspręsta ištirti hidrofilinio emulsiklio poveikį. Tyrimai atlikti nuosekliai didinant išrūgų baltymų izoliato (IBI) koncentraciją nuo 1 % iki 6 % vandens fazėje, tačiau užfiksuoti abiejų modulių reikšmių nepavyko nei su viena baltymų koncentracija. Šių tyrimų duomenys leidžia manyti, kad vien tik IBI kaip emulsiklis, esant eksperimente naudojamoms sąlygoms, yra per silpnas suformuoti tarpfazio plėvelę.

Sekantis tyrimų etapas buvo atliekamas, pridėdant emulsiklių tiek į aliejinę, tiek į vandens fazę. Aliejinėje fazėje nuspręsta palikti pastovų PGPR kiekį (6 %) ir keisti IBI koncentraciją nuo 1 % iki 6 %. Tačiau ir šių tyrimų metu nebuvo užfiksuoti abudu tarpfazio klampiai elastingų savybių moduliai. Tokiems rezultatams galėjo padaryti įtaką emulsiklių tarpusavio sąveika. Yra žinoma, kad skirtingų tipų emulsikliai, naudojami sudaryti vienam tarpfaziui gali slopinti vienas kito poveikį [86].

4.3. Riebalų kilmės ir antioksidanto įtaka dvigubųjų emulsijų V/A/V cheminiam stabilumui

Siekiant išaiškinti aliejinėje fazėje esančių skirtingų riebalų įtaką cheminiam dvigubųjų emulsijų stabilumui pasirinkta tyrimus atlikti su V/A/V emulsijomis, kurias formuojant riebalų fazėje panaudoti saulėgražų aliejaus, pieno ir žuvies riebalai. Pagamintos emulsijos buvo laikomos kambario (20 °C) ir 37 °C temperatūroje. Dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui įvertinti buvo stebimi peroksidų skaičiaus ir monoaldehido (TBR) pokyčiai. Analogiški tyrimai buvo atlikti su tokios pačios sudėties V/A/V emulsijomis, kuriose į riebalų fazę buvo dedamas antioksidantas, oksidaciniams procesams slopinti. Abiejuose eksperimentuose kontrolė buvo neemulsuoti aliejus, pieno riebalai ir žuvų riebalai.

Tiriamieji mėginiai buvo koduojami tokiais trumpiniais:

- Aliejus (Al); Aliejus su antioksidantu (Al.a.); Aliejaus emulsija (Al.E.); Aliejaus emulsija su antioksidantu (Al.E.a.);
- Pieno riebalai (P.R.); Pieno riebalai su antioksidantu (P.R.a.); Pieno riebalų emulsija (P.R.E.); Pieno riebalų emulsija su antioksidantu (P.R.E.a.)
- Žuvies riebalai (Ž.R.); Žuvies riebalai su antioksidantu (Ž.R.a.); Žuvies riebalų emulsija (Ž.R.E.); Žuvies riebalų emulsija su antioksidantu (Ž.R.E.a.)

Peroksidų skaičiaus tyrimas leidžia įvertinti pirminę riebalų oksidaciją pagal susidariusį peroksidų kiekį riebaluose. Peroksidų skaičiaus matavimas paprastai atliekamas grynuose riebaluose ir aliejuje ir parodo jų oksidacijos pradžią, nes peroksidai yra pirmieji komponentai, susidarantys riebalų oksidacijos metu. Nustatant peroksidų skaičių, riebalai turėtų būti išgryninti, o kiti komponentai, tokie kaip baltymai, kiek įmanoma pašalinami, nes gali trukdyti analizei. Mokslinėje literatūroje vyrauja nuomonė, kad peroksidų skaičiaus vertė naudinga nustatant sočiųjų riebalų kokybę ir mažiau naudinga nesočiųjų riebalų kokybės vertinimui. Peroksidai, suformuoti iš daug nesočiųjų riebalų rūgščių turinčių riebalų yra nestabilūs ir greitai transformuojasi į antrinės oksidacijos medžiagas. Todėl nesočiuose riebaluose sunkiau tiksliai nustatyti peroksidų skaičių. Pats peroksidai nepasižymi juslinėmis savybėmis, kurios galėtų būti siejamos su riebalų apkartimu. Pagrindinės riebalų oksidacijos produktų kvapiosios medžiagos yra ketonai ir aldehidai. Dėl to net ir labai apkartę riebalai dėl antrinių oksidacijos reakcijų gali pasižymėti nedideliu peroksidų skaičiumi [87, 88].

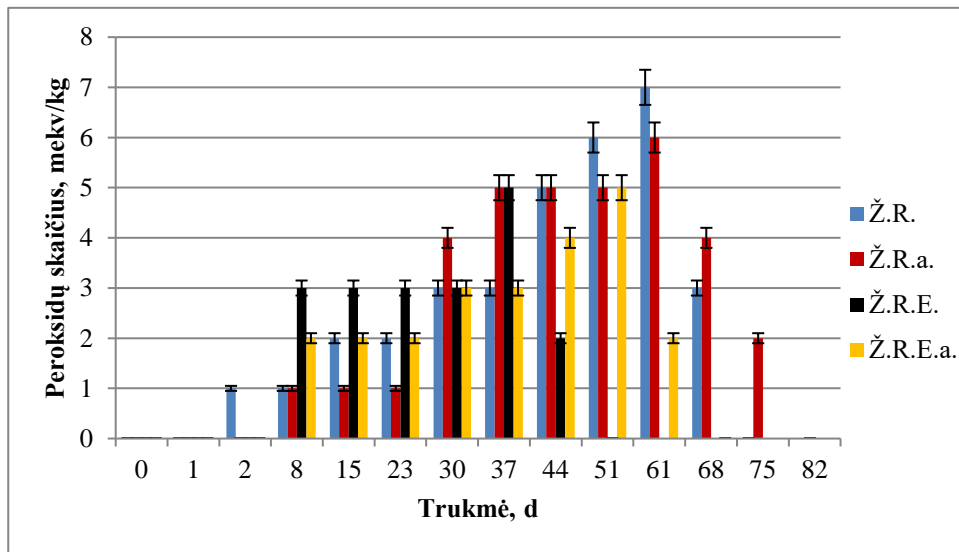
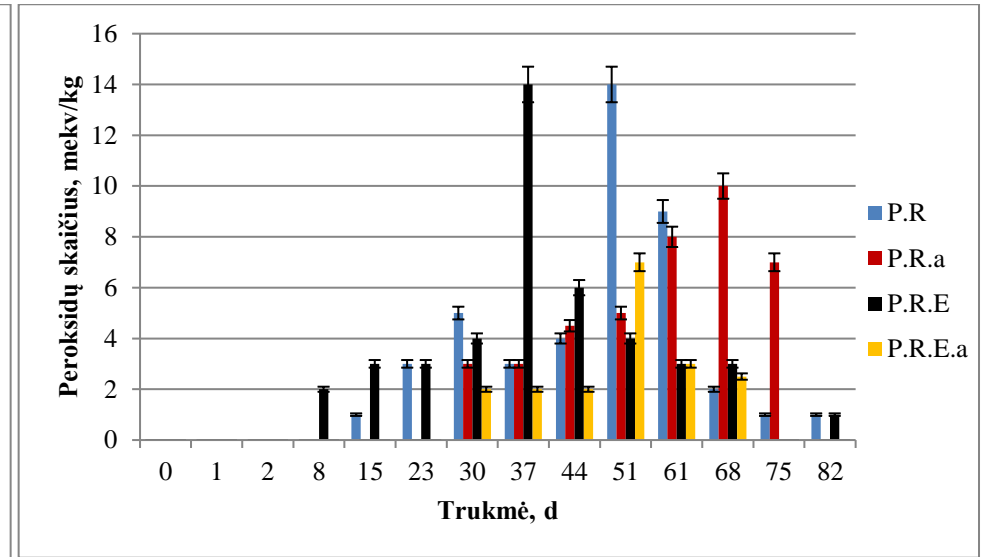
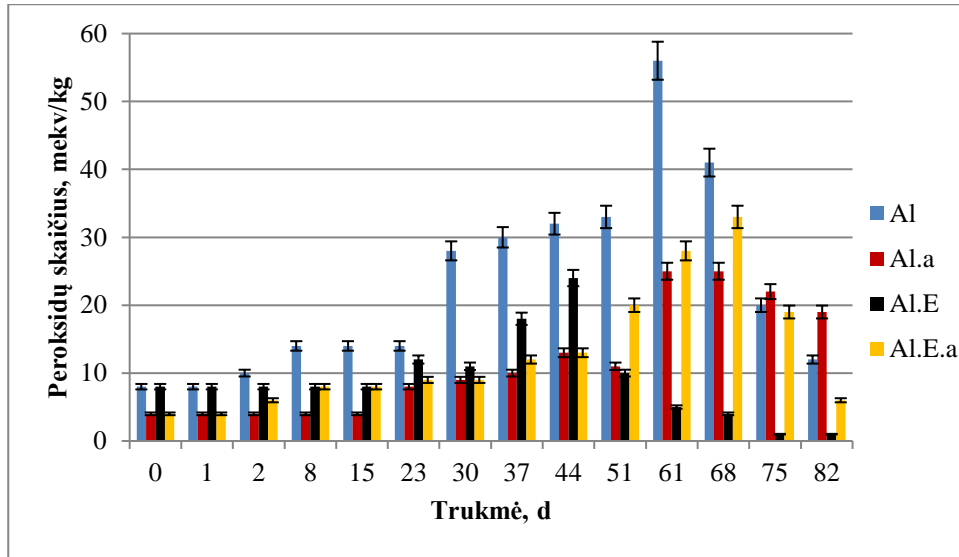
Įprastai peroksidų skaičiaus vertę nuo 0 iki 6 turintys riebalai dažniausiai laikomi nesugedusiais ir neapkartusiais, nuo 7 iki 10 riebalai laikomi šiek tiek apkartę. Vertės, didesnės nei 10, aiškiai rodo, kad riebaluose vyksta oksidacijos reakcijos ir apkartimas [88].

Tačiau LST EN ISO 3960:2017 standarte ir Codex Alimentarius nurodoma maksimali leistina peroksidų skaičiaus vertė skirtinguose riebaluose skiriasi (žr. 12 lent.).

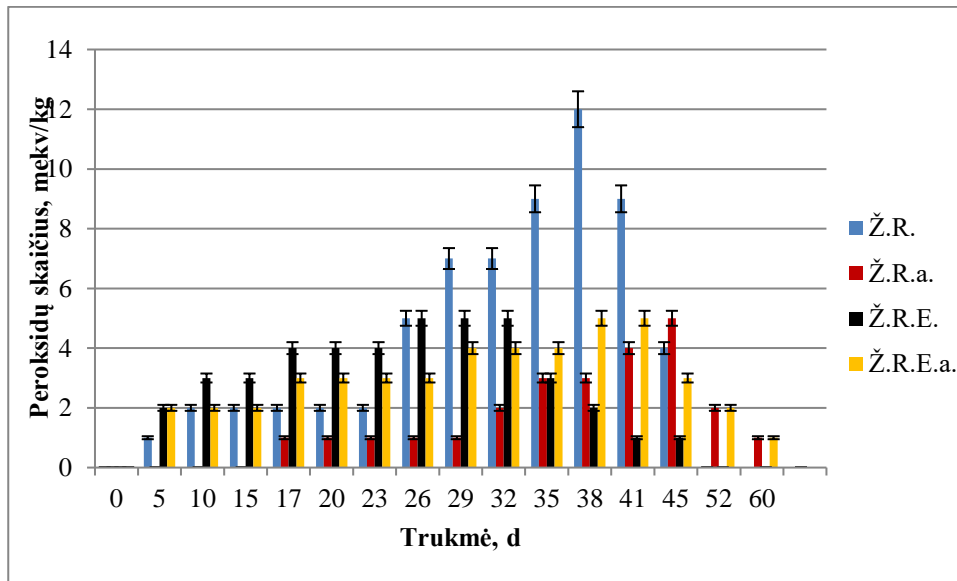
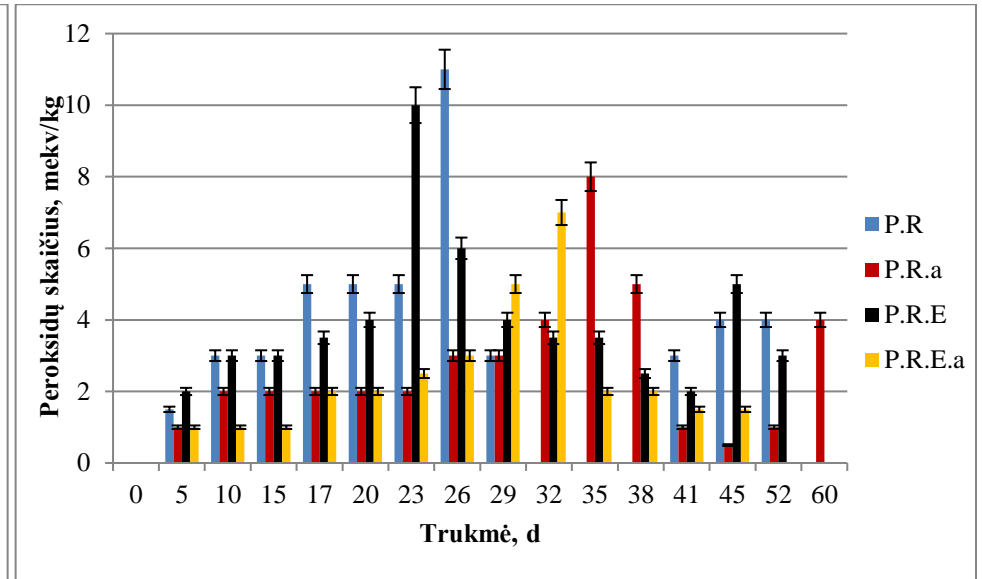
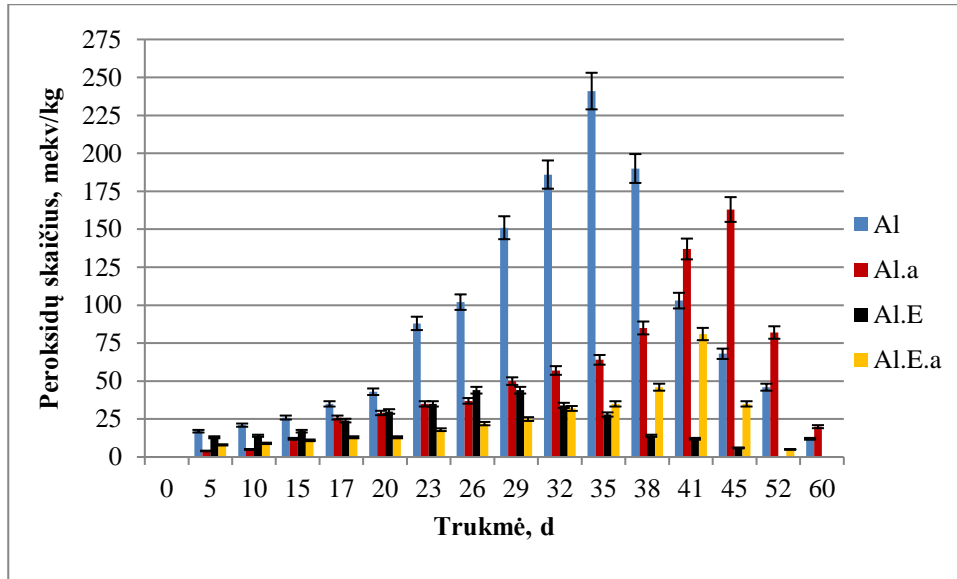
Lentelė 12. Maksimalus leistinas peroksidų kiekis riebaluose [89, 90, 91, 92]

Produktas	Peroksidų skaičius mekv/kg	
	ISO 3960:2017	Codex Alimentarius
Rafinuoti aliejai	10	10
Taukai / žuvų riebalai	3	≤5
Sviestas / pieno riebalai	4,5	0,6

Dvigubųjų emulsijų cheminio stabilumo tyrimo pradžioje peroksidų skaičių matavome 20 °C temperatūroje laikomuose emulsijų mėginiuose, kas dieną. Pastebėjus, kad oksidacijos procesai vyksta lėčiau nei tikėtasi, mėginius tyrėme kas savaitę. Dvigubųjų emulsijų mėginiai taip pat buvo laikomi 37 °C temperatūroje. Šiuose mėginiuose eksperimento pradžioje peroksidų skaičių nustatėme kas 5 dienos, o užfiksavus peroksidų skaičiaus pokyčius – kas 3 dienas. Nors dvigubųjų emulsijų laikymo metu jų mėginiai gana greitai viršijo standarte pateiktas maksimalias riebalų peroksidų skaičiaus vertes, tyrimas buvo tęsiamas toliau ir rezultatai fiksuojami iki maksimalių reikšmių, po kurių peroksidų vertės pradėjo mažėti (žr. 16 ir 17 pav.).



16 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų peroksidų skaičiaus priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 20 °C temperatūrai



17 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų peroksidų skaičiaus priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 37 °C temperatūrai.

Išanalizavus gautus tyrimų rezultatus matoma, kad į mėginius pridėtas antioksidantas buvo veiklus abiem atvejais, tiek 20 °C, tiek 37 °C temperatūroje.

Aliejaus mėginyje (20 °C) be antioksidanto peroksidų skaičius viršijo reglamente nustatytą maksimalią reikšmę jau 8 matavimo parą, o mėginys su antioksidantu 44 parą. Nors ir didžiausios aliejaus ir aliejaus su antioksidantu mėginių reikšmės nustatytos tuo pačiu metu (61 parą), tačiau peroksidų skaičiaus vertės skyrėsi daugiau nei du kartus ir buvo atitinkamai 56 mekv./kg ir 25 mekv./kg. Su aliejumi pagamintų dvigubųjų emulsijų mėginiuose peroksidų skaičiaus verčių skirtumas mažesnis. Mėginiuose su antioksidantu didžiausios vertės užfiksuotos 24 paromis vėliau nei mėginiuose be antioksidanto, o tarp peroksidų skaičiaus reikšmių nebuvo aiškaus skirtumo. Lyginant peroksidų skaičiaus vertės kitimą laikant neemulsuotą aliejų ir su juo pagamintas dvigubas emulsijas, oksidacijos procesai emulsijose be antioksidanto užfiksuoti anksčiausiai (44 parą), o emulsijose su antioksidantu – vėliausiai (68 parą).

Aliejaus mėginiai laikomi 37 °C temperatūroje viršijo leistiną maksimalią peroksidų skaičiaus vertę (10 mekv./kg) anksčiau, lyginant su mėginiais laikytais 20 °C temperatūroje (atitinkamai 5 ir 15 parą), o jų vertės skyrėsi 4–6 kartus. Didžiausios užfiksuotos peroksidų skaičiaus vertės tyrimo metu neemulsuoto aliejaus be antioksidanto – 241 mekv./kg ir neemulsuoto aliejaus su antioksidantu – 163 mekv./kg. Aliejaus mėginyje su antioksidantu didžiausia vertė užfiksuota 10 parų vėliau nei mėginyje be antioksidanto. Emulsijų mėginiai, laikyti 37 °C temperatūroje taip pat kaip ir laikyti 20 °C temperatūroje didžiausias peroksidų skaičiaus vertes pasiekė anksčiau nei neemulsuoto aliejaus mėginiai. Emulsijose su antioksidantu didžiausios peroksidų skaičiaus vertės užfiksuotos 12 parų vėliau nei mėginiuose be antioksidanto, o tarp reikšmių ryškaus skirtumo nebuvo.

Mokslinėje literatūroje yra skelbiamų tyrimų lyginančių įvairių aliejų ir paprastų A/V emulsijų cheminį stabilumą, kurie rodo, kad emulsijos jautresnės oksidaciniams procesams. Taip pat lyginant paprastų A/V emulsijų ir dvigubųjų V/A/V emulsijų cheminį stabilumą įrodyta, kad dvigubosios emulsijos mažiau jautrios lyginant su A/V emulsijomis [93, 94]. Lyginant su darbe atliktais tyrimais, rezultatai skiriasi, tiek laiku, kada pasiektas didžiausias peroksidų skaičius, tiek gautomis vertėmis. Pagrindinė rezultatų skirtumo priežastis – skirtingos sudėties, gaminimo ir laikymo sąlygos. Tačiau visuose tyrimuose tendencija tokia pati: temperatūros, aliejinės fazės sudėties ir riebalų emulsavimo įtaka oksidaciniams procesams. Temperatūra, didesnis riebalų nesotumo laipsnis ir riebalų emulsavimas pagreitina oksidacinius procesus.

Analizuojant pieno riebalų ir su jais pagamintų dvigubųjų emulsijų duomenis apie peroksidų skaičiaus kitimą, iš gautų rezultatų eksperimento metu matyti stipresnis antioksidanto poveikis oksidacijos procesams nei mėginiuose su aliejumi.

Kaip jau minėjome, teisės aktuose nurodyta maksimali leistina peroksidų skaičiaus vertė pieno riebaluose skiriasi: ISO 3960:2017 – 4,5 mekv./kg, o Codex – 0,6 mekv./kg. Analizuodami tyrimo rezultatus rėmėmės ISO 3960:2017 reikalavimais. Neemulsuotų pieno riebalų be antioksidanto ir su antioksidantu mėginių peroksidų skaičiaus vertės pasiekė / viršijo leistiną normą atitinkamai 30 ir 44 parą. Didžiausia peroksidų skaičiaus vertė mėginyje su antioksidantu (10 mekv./kg) užfiksuota 17 dienų vėliau nei mėginyje be antioksidanto (14 mekv./kg). Dvigubųjų emulsijų su pieno riebalais peroksidų skaičiaus vertės panašios, lyginant su neemulsuotais riebalais: P.R.E. – 14 mekv./kg, P.R.E.a – 7 mekv./kg. Emulsijų su pieno riebalais mėginiuose, esant antioksidanto didžiausios vertės užfiksuotos 14 parų vėliau nei mėginiuose be antioksidanto. Taip pat emulsijų didžiausios peroksidų skaičiaus vertės užfiksuotos 14–17 dienų anksčiau nei neemulsuotų riebalų.

Pieno riebalų mėginiai kaip ir prieš tai aptarti aliejaus mėginiai, laikyti 37 °C temperatūroje maksimalią leistiną peroksidų skaičiaus vertę pasiekė anksčiau nei laikyti 20 °C temperatūroje. Didžiausios vertės taip pat pasiektos anksčiau, tačiau pačios vertės šiek tiek mažesnės: P.R. – 11 mekv./kg, P.R.a. – 8 mekv./kg. Pieno riebalų mėginyje su antioksidantu didžiausia vertė užfiksuota 9 parom vėliau nei mėginyje be antioksidanto. Analizuojant su pieno riebalais pagamintų emulsijų duomenis, taip pat matome, kad didžiausios peroksidų skaičiaus vertės pasiektos anksčiau ir mažesnės nei 20 °C temperatūroje: P.R.E. – 10 mekv./kg, P.R.E.a. – 7 mekv./kg. Emulsijose, kuriose į pieno riebalų fazę buvo pridėta antioksidanto didžiausios peroksidų skaičiaus vertės užfiksuotos 9 parom vėliau nei mėginiuose be antioksidanto.

Analizuojant peroksidų skaičiaus nustatymo duomenis neemulsuoti žuvies riebalų mėginiai laikomi 20 °C temperatūroje tiek su antioksidantu, tiek be jo ISO standarte nurodytą maksimalią leistiną peroksidų skaičiaus vertę pasiekė tuo pačiu metu – 30 parą. Didžiausias peroksidų skaičiaus vertes šiuose mėginiuose taip pat nustatėme tuo pačiu metu ir jos skyrėsi tik 1 mekv./kg: Ž.R. – 7 mekv./kg, Ž.R.a. – 6 mekv./kg. Emulsijų, pagamintų su žuvies riebalais, kuriuose įdėta antioksidanto, didžiausios peroksidų skaičiaus vertės užfiksuotos 14 parų vėliau nei mėginiuose, kurių riebalų fazė buvo be antioksidanto. Didžiausios peroksidų skaičiaus vertės pasiektos anksčiau nei neemulsuotų riebalų. Tiek Ž.R.E (37 parą), tiek Ž.R.E.a. (51 parą) didžiausios peroksidų skaičiaus vertės tokios pačios – 5 mekv./kg

Žuvies riebalų mėginiai laikomi 37 °C temperatūroje didžiausias peroksidų skaičiaus vertes pasiekė anksčiau lyginant su mėginiais laikomais 20 °C temperatūroje. Taip pat mėginių vertės buvo didesnės: Ž.R. – 12 mekv./kg, Ž.R.a. – 5 mekv./kg. Žuvies riebalų mėginiai, kuriuose buvo įdėta antioksidanto, didžiausią peroksidų skaičiaus vertę pasiekė 8 parom vėliau (45 parą) nei mėginiai be antioksidanto (38 parą). Emulsijos pasiekė didžiausias vertes anksčiau nei neemulsuoti riebalai. Emulsijų mėginiai su antioksidantu didžiausias vertes parodė 12 dienų vėliau nei mėginiai

be antioksidanto (26 ir 38 parą). Peroksidų skaičiaus vertės tiek Ž.R.E., tiek Ž.R.E.a. gautos tokios pačios – 5 mekv./kg.

Mokslinėje literatūroje aptariami keli skirtingi tyrimai su žuvies riebalais. Kurie vykdyti 4 °C ir 40 °C temperatūroje. Mėginius laikant žemoje temperatūroje peroksidų skaičius iki 5 mekv./kg pakilo po 30 d., tačiau tolimesnis peroksidų didėjimas vyko gerokai lėčiau ir 10 mekv./kg viršijo tik 150 tyrimo dieną [95]. Kiti mokslinėje literatūroje aprašyti tyrimai atlikti su emulsijomis buvo vykdomi trumpiau (14-21 d.) ir jau buvo fiksuojamas oksidacijos poveikis (≥ 5 mekv./kg) [96, 97]. Tai tik patvirtina, kad emulsuoti riebalai yra jautresni oksidacijos procesams.

Didžiausios peroksidų skaičiaus reikšmės, mėginiuose laikomuose 20 °C temperatūroje ir turinčiuose antioksidanto, vidutiniškai gautos 14-20 dienų vėliau nei mėginiuose be antioksidanto. O mėginiuose laikomuose 37 °C temperatūroje ir turinčiuose antioksidanto, didžiausios peroksidų skaičiaus vertės gautos vidutiniškai 7-12 dienų vėliau nei mėginiuose be antioksidanto. Taip pat mėginiuose su antioksidantu gautos mažesnės peroksidų skaičiaus reikšmės. Tai reiškia, kad pridėtas antioksidantas ne tik ilgina oksidacinių procesų pradžią, bet ir slopina pirminių oksidacijos produktų susidarymą. Tokie rezultatai rodo oksidacijos procesų slopinimą antioksidanto dėka.

Taigi, apibendrinant peroksidų skaičiaus nustatymo rezultatus galime sakyti, kad intensyviausi riebalų oksidacijos procesai buvo fiksuojami aliejaus mėginiuose. Šiuose mėginiuose oksidacijos procesai buvo fiksuojami nuo tyrimo pirmųjų dienų, o pieno ir žuvies riebalų mėginiuose tik po 5-8 dienų. Taip pat aliejaus mėginiuose gautos didžiausios peroksidų skaičiaus vertės kelis kartus didesnės negu pieno ir žuvies riebalų. Tokiems tyrimo rezultatams turi įtakos riebalų kilmė ir sudėtis. Kaip jau minėta anksčiau, nesotieji riebalai oksiduojasi greičiau, o aliejaus riebalų rūgščių kompoziciją sudaro didžioji dalis nesočiųjų riebalų rūgščių.

Lyginant rezultatus gautus laikant mėginius 20 °C temperatūroje su 37 °C temperatūroje laikomais mėginiais, matomas ir temperatūros poveikis oksidaciniams procesams. Visais atvejais gauta, kad tiek aliejaus, tiek pieno ir žuvies riebalų mėginiuose didžiausios peroksidų skaičiaus vertės pasiektos vidutiniškai 15-25 parom anksčiau 37 °C temperatūroje nei 20 °C temperatūroje.

Taip pat, iš tyrimo metu gautų rezultatų matyti, kad dar vienas iš veiksnių, skatinantis riebalų oksidaciją – riebalų emulsavimas. Atkreipiant dėmesį į rezultatus gautus tiriant riebalų emulsijas – visais atvejais emulsijose didžiausios peroksidų skaičiaus reikšmės užfiksuotos anksčiau nei grynų riebalų. Riebalų oksidacijos emulsijų tyrimai rodo, kad lipidų hidroperoksidų, esančių tarpfazio paviršiuje ir metalų, esančių vandeninėje fazėje, sąveika yra labiausiai paplitusi oksidacinio nestabilumo priežastis [98].

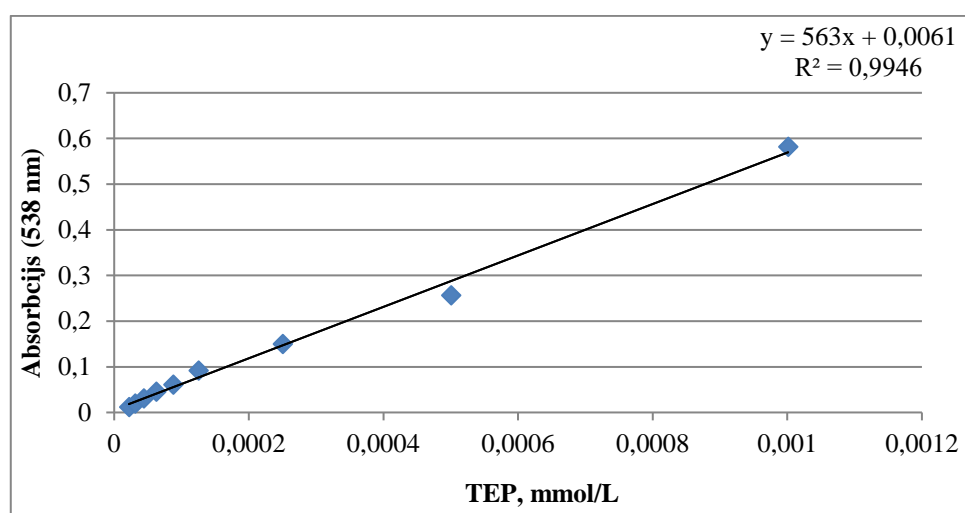
Kitas atliktas tyrimas taip pat parodantis riebaluose ir su jais pagamintose emulsijose vykstančius oksidacinius procesus – TBR tyrimas. Kiekybinis monoaldehido nustatymas

riebaluose atliekamas norint nustatyti juose susidariusių antrinių oksidacijos produktų kiekį. Kolorimetrinio metodo dėka galima nustatyti junginius, kurie susidaro reaguojant 2-tiobarbitūrinei rūgščiai ir antriniam riebalų oksidacijos produktams, daugiausia – malonoaldehydai [87].

Monoaldehydo kiekis nustatomas fotometriškai būdu. Šiame bandyme prisotinti aldehydai, gauti per riebalų oksidacijos nutraukimo etapą, reaguoja su 2-TBR. TBR vertės analizė atliekama maistui, o ne riebalams. TBR skaičiai dažniausiai koreliuoja su apkartimo būkle, o padidėję skaičiai rodo pažangią riebalų apkartimo ir gedimo būklę [88].

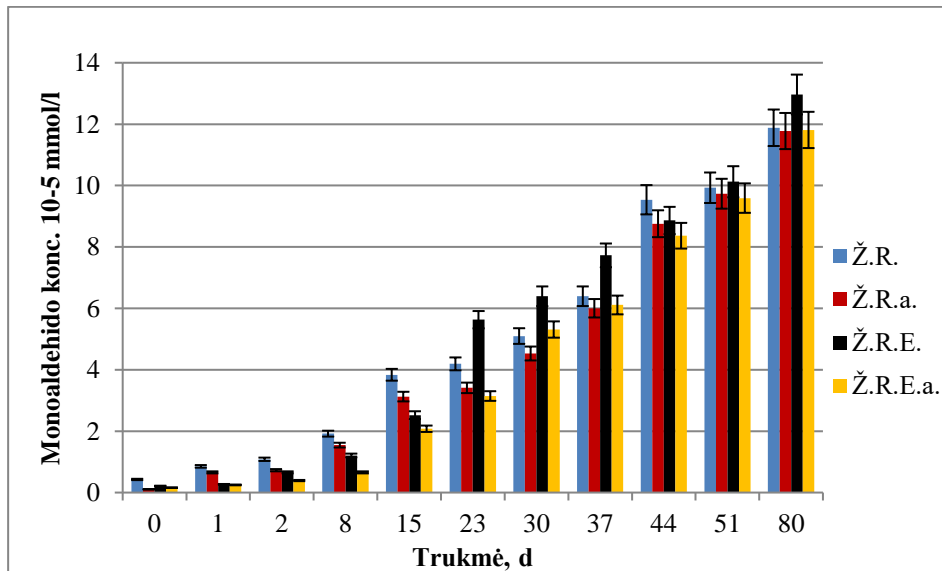
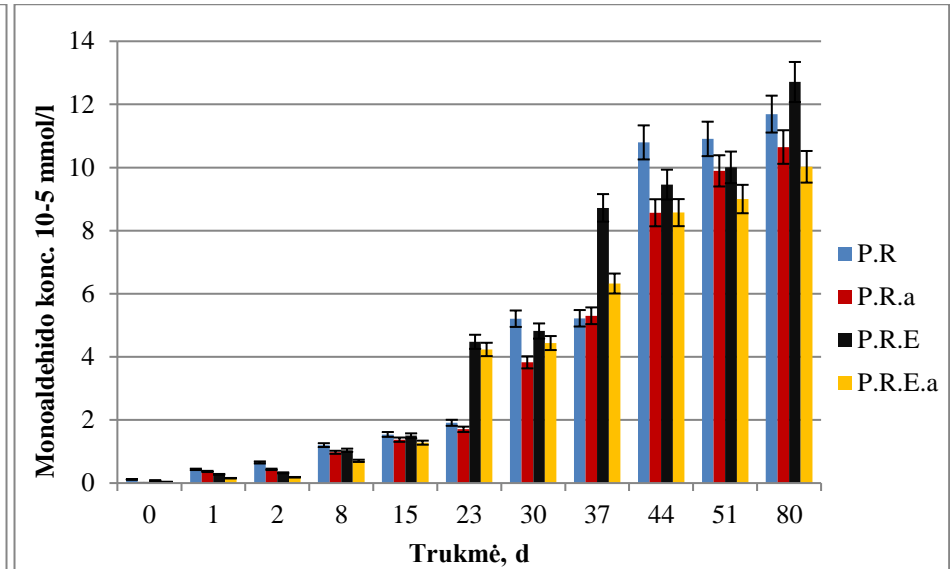
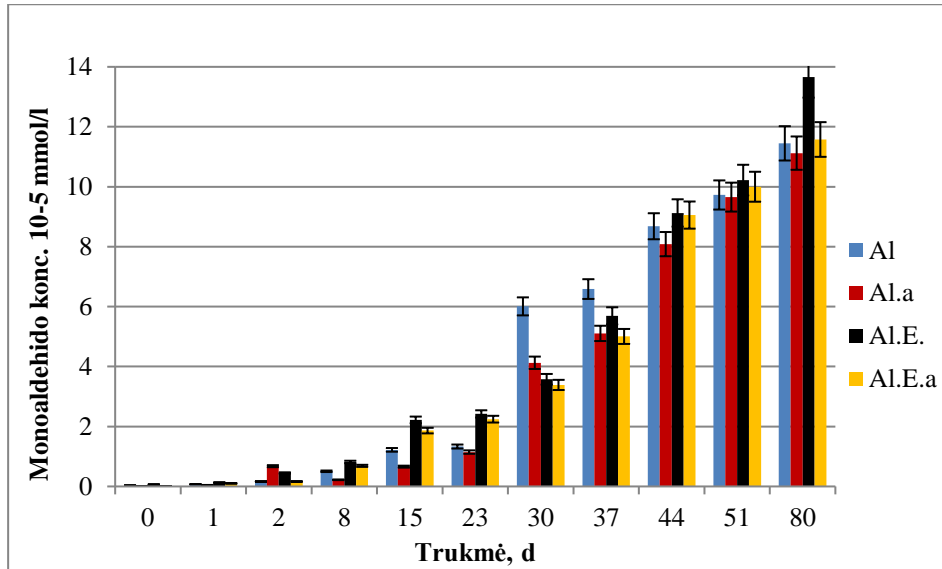
Kaip minėta anksčiau, peroksidų skaičiaus vertės ne visada parodo prasidėjusią riebalų oksidaciją, todėl papildomai sekti oksidacijos procesus neemulsuotų ir emulsuotų riebalų mėginiuose buvo pasitelktas TBR nustatymo metodas.

Tam, kad nustatyti monoaldehydo koncentraciją mėginiuose, sudaryta kalibracinė kreivė (žr. 18 pav.), kurios dėka pagal formulę išskaičiuojama monoaldehydo koncentracija mėginiuose.

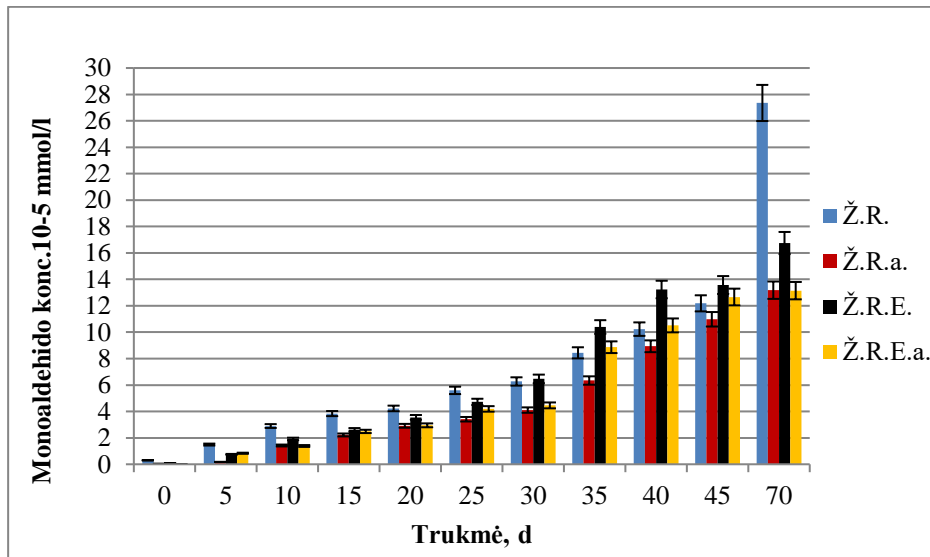
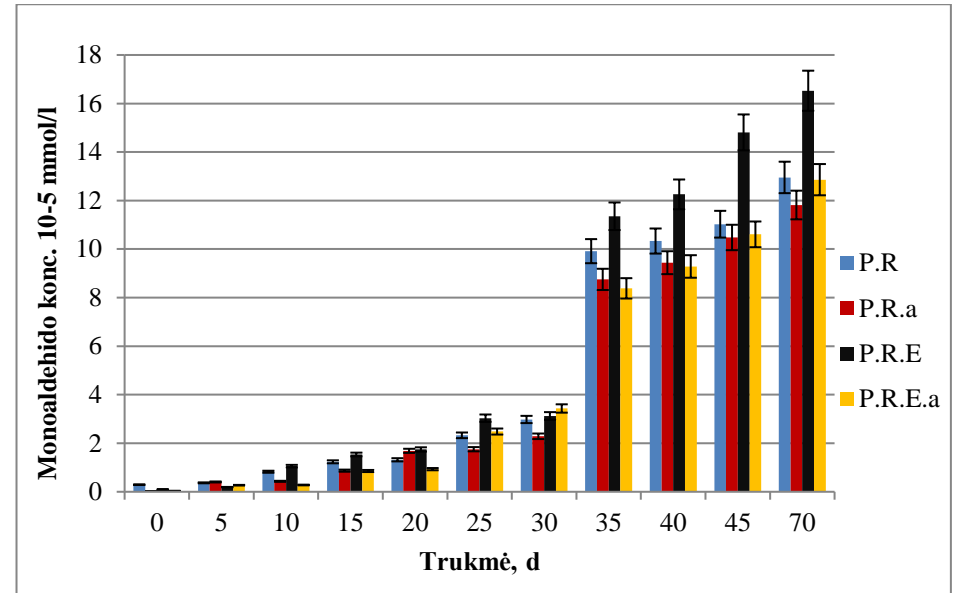
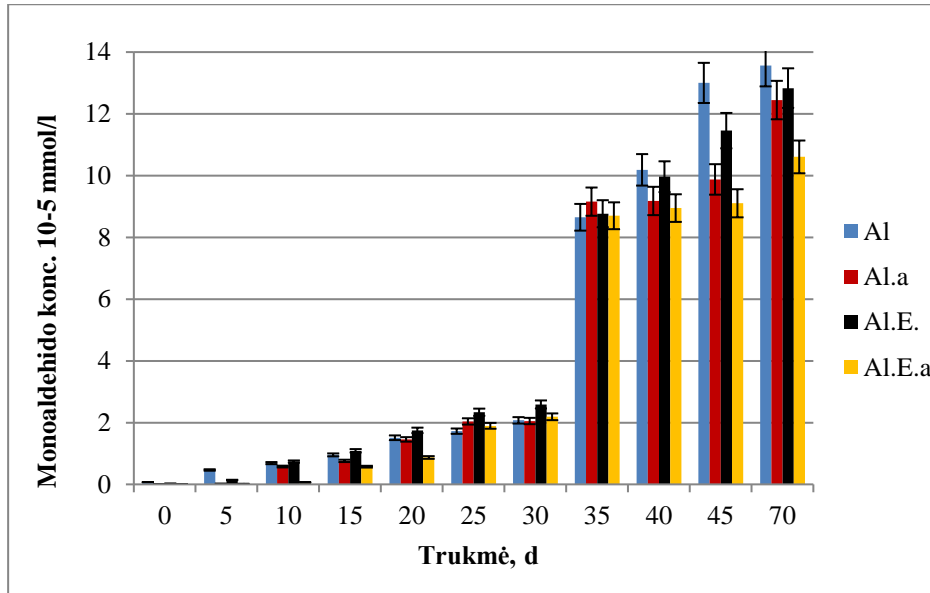


18 pav. Kalibracinė TBR tyrimo kreivė

TBR tyrimo rezultatai, parodantys aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų monoaldehydo koncentracijos priklausomybę nuo laikymo trukmės pateikti 19 ir 20 paveiksluose.



19 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų monoaldehido koncentracijos priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 20 °C temperatūrai



20 pav. Aliejaus, pieno ir žuvies riebalų bei su šiais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų monoaldehydo koncentracijos priklausomybė nuo laikymo trukmės, esant 37 °C temperatūrai

Grafikuose, kuriuose pateikta TBR tyrimo informacija apie mėginius, laikomus 20 °C temperatūroje, matyti, kad visuose tiriamuosiuose mėginiuose monoaldehido koncentracija kilo tolygiai ir galutiniuose matavimo taškuose gautos panašios reikšmės – nuo $\sim 10 \times 10^{-5}$ iki $\sim 13,5 \times 10^{-5}$ mmol/l. Neemulsuotuose aliejaus ir pieno riebalų mėginiuose monoaldehido koncentracijos ryškesnis padidėjimas fiksuojamas nuo 23 – 30 matavimo paros, o žuvies riebalų mėginiuose nuo pat pradžių buvo fiksuojama šiek tiek didesnė, tolygiai kylanti, monoaldehido koncentracija. Visų skirtingų riebalų emulsijų mėginiuose užfiksuotas didesnis monoaldehido kiekis, lyginant su gryniais riebalais. Taip pat visų matavimų metu matyti skirtumas tarp mėginių, kuriuose buvo pridėta antioksidanto – rezultatai mažesni.

Lyginant tyrimo rezultatus gautus 20 °C ir 37 °C temperatūroje laikomų mėginių, matyti skirtumas tarp aliejaus mėginių ir pieno riebalų mėginių grafikų. 37 °C temperatūroje laikomuose mėginiuose monoaldehido kiekio staigus padidėjimas užfiksuotas 35 matavimo parą – nuo $2-9 \times 10^{-5}$ iki $9-11 \times 10^{-5}$ mmol/l. Tuo tarpu žuvų riebalų mėginiuose monoaldehido kiekis kito tolygiai. Iš visų 37 °C temperatūroje laikomų aliejaus mėginių, didžiausia monoaldehido koncentracija užfiksuota neemulsuotame aliejuje ($13,5 \times 10^{-5}$ mmol/l) be antioksidanto. Pieno riebalų mėginiuose didžiausia koncentracija užfiksuota pieno riebalų emulsijoje ($16,5 \times 10^{-5}$ mmol/l). Žuvies riebalų mėginiuose labiausiai išsiskyrė didžiausia reikšmė užfiksuota grynuose žuvies riebaluose (27×10^{-5} mmol/l). Visuose 37 °C temperatūroje laikomuose mėginiuose, kuriuose buvo pridėta antioksidanto, monoaldehido koncentracija taipogi buvo mažesnė.

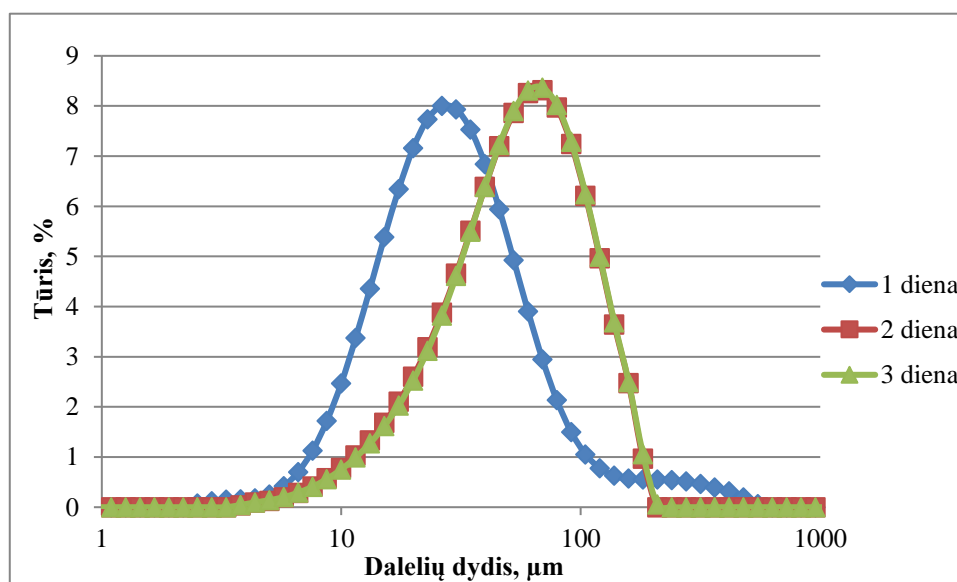
Apibendrinant TBR tyrimo rezultatus, antrinių oksidacijos produktų susidarymas anksčiausiai buvo fiksuojamas žuvies riebalų mėginiuose. Galutiniame tyrimo taške monoaldehido kiekis žuvies riebalų mėginiuose ryškiai nesiskyrė nuo aliejaus ir pieno riebalų mėginių, išskyrus žuvų riebalus laikomus 37 °C temperatūroje. Monoaldehido kiekis žuvies riebaluose buvo daugiau nei 10×10^{-5} mmol/l didesnis. Greitesnį antrinių oksidacijos produktų susidarymą skatino temperatūra. Mėginių laikytų 37 °C temperatūroje monoaldehido kiekio vertės šiek tiek didesnės ir užfiksuotos anksčiau negu 20 °C temperatūroje.

Taip pat galima pabrėžti, kad 20 °C temperatūroje laikomose emulsijose visais atvejais galutiniame tyrimo taške užfiksuotos didžiausias monoaldehido kiekis. Iš 37 °C temperatūroje laikomų mėginių tik pieno riebalų emulsijoje užfiksuotas didžiausias monoaldehido kiekis. Aliejaus ir žuvies riebalų mėginiuose, daugiausiai monoaldehido užfiksuota grynuose riebaluose.

TBR tyrimo rezultatai papildė peroksidų skaičiaus nustatymo rezultatus, parodydami, kad oksidacijos procesai greičiau ir intensyviau vyksta aliejaus ir žuvies riebalų mėginiuose. Lengviausiai oksidavosi aliejaus ir žuvies riebalų mėginiai. Kaip minėta anksčiau, greičiausiai

oksiduojasi nesočiašias riebalų rūgštis, ypač linolo ir linoleno grupes turintys riebalai. Saulėgražų aliejus savo sudėtyje turi ~59 % linoleno rūgštis, o iš viso nesočiųjų riebalų rūgščių ~89 % [99]. Žuvų riebalai savo sudėtyje linoleno rūgštis turi ~47,98 %, o iš viso nesočiųjų riebalų rūgščių ~66 % [100]. Tai parodo, kad riebalų kilmė ir riebalų rūgščių kompozicija turi įtakos oksidacijos procesams.

Tiriant dvigubųjų emulsijų oksidacijos procesus, lygiagrečiai buvo vykdyti ir dalelių dydžio tyrimai, siekiant išsiaiškinti ar dalelių dydžio pokyčiai laikymo metu turi įtakos emulsijų cheminiam stabilumui. Siekėme nustatyti su skirtingais riebalais pagamintų dvigubųjų emulsijų struktūros pokyčius laikymo metu. Juos vertinome matuodami riebalų dalelių vidutinį dydį ir jų pasiskirstymą. Eksperimentą pradėjome su žuvies riebalų emulsijomis, kurių dalelių dydį pamatavome iš karto po pagaminimo, po paros, dviejų parų ir t. t., laikant mėginius kambario temperatūroje (~20°C) (žr. 21 pav.). Pastebėjus, kad dalelių dydis ir jo pasiskirstymas po kelių dienų nebekito – matavimai nutraukti.



21 pav. Dvigubosios emulsijos su žuvies riebalais dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo emulsijų laikymo trukmės

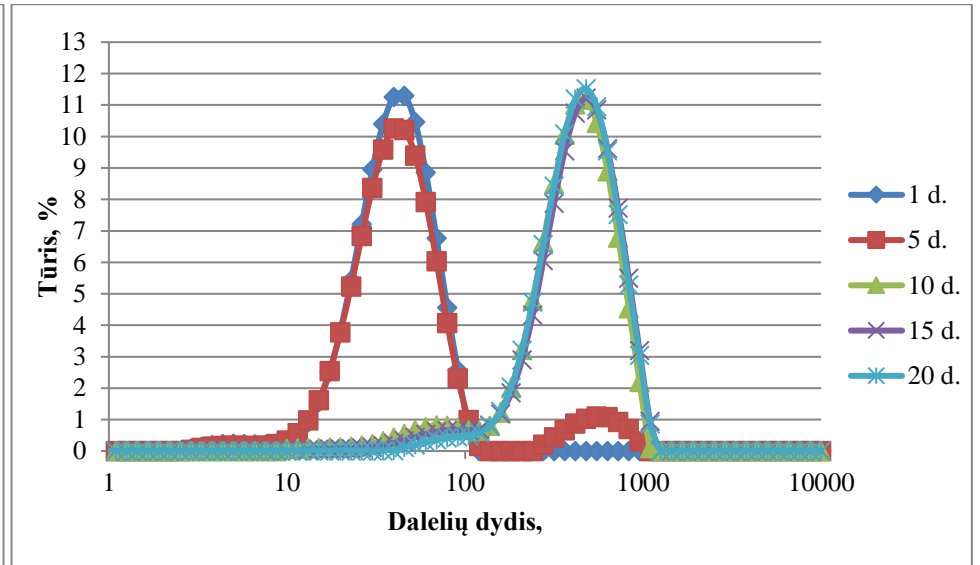
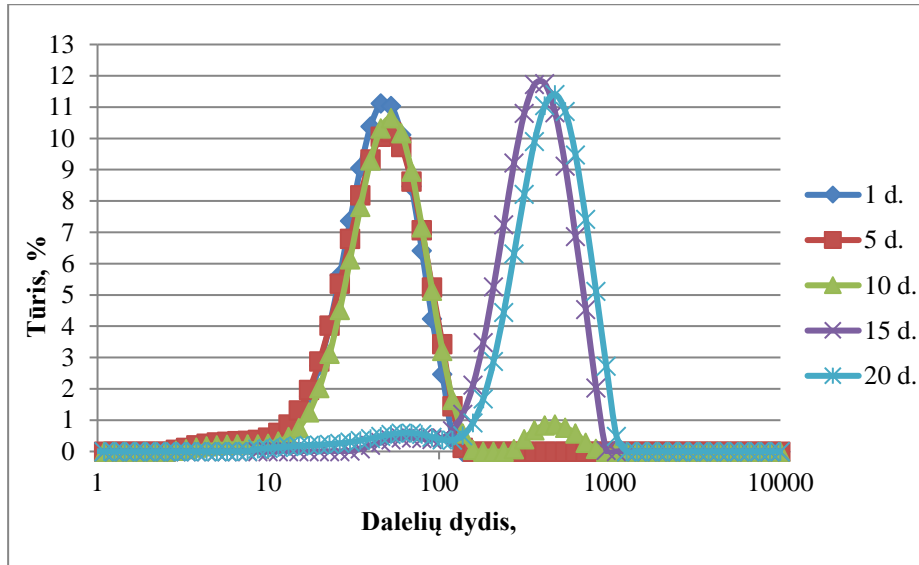
Iš gautų duomenų, matyti, kad dvigubųjų emulsijų su žuvies riebalais dalelės pasiskirstė ribose nuo 5 iki 200 μm. Praėjus 1 parai nuo emulsijų pagaminimo, riebalų dalelių pasiskirstymo diapazonas šiek tiek pasislinko į didesnę pusę, tačiau ilgiau laikomose emulsijose dalelių dydžio pasiskirstymo kreivė nebesikeitė. Todėl galima manyti, kad parą laiko nuo emulsijų pagaminimo vyko riebalų dalelių persigrupavimas, kuriam įvykus jos toliau nebekito. Tai patvirtina ir vidutinis dalelių dydžio bei pasiskirstymo rodiklio vertės emulsijose, kurios skyrėsi nuo laikymo trukmės (žr. 13 lent.).

Lentelė 13. Dvigubosios emulsijos su žuvies riebalais dalelių dydis ir pasiskirstymo rodiklis priklausomai nuo emulsijų laikymo trukmės

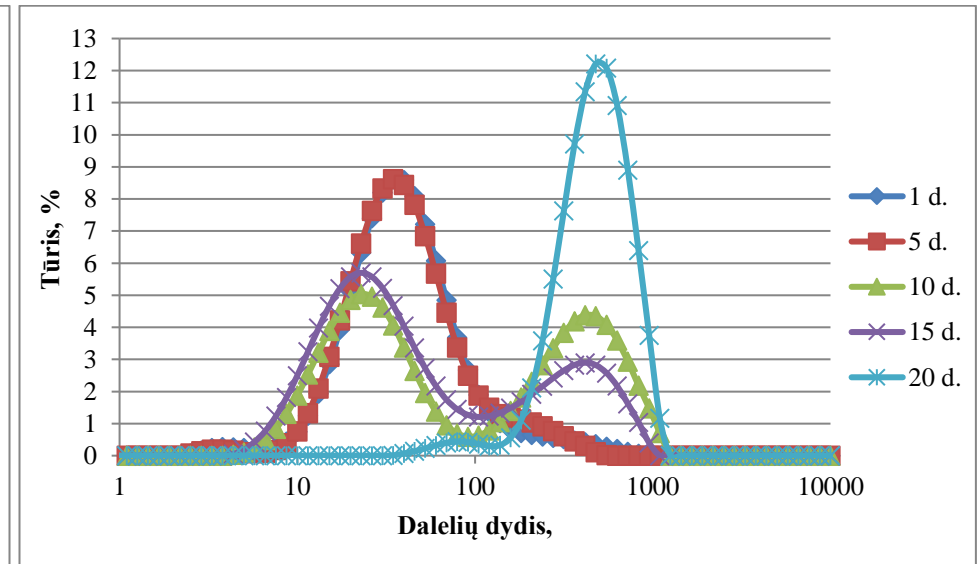
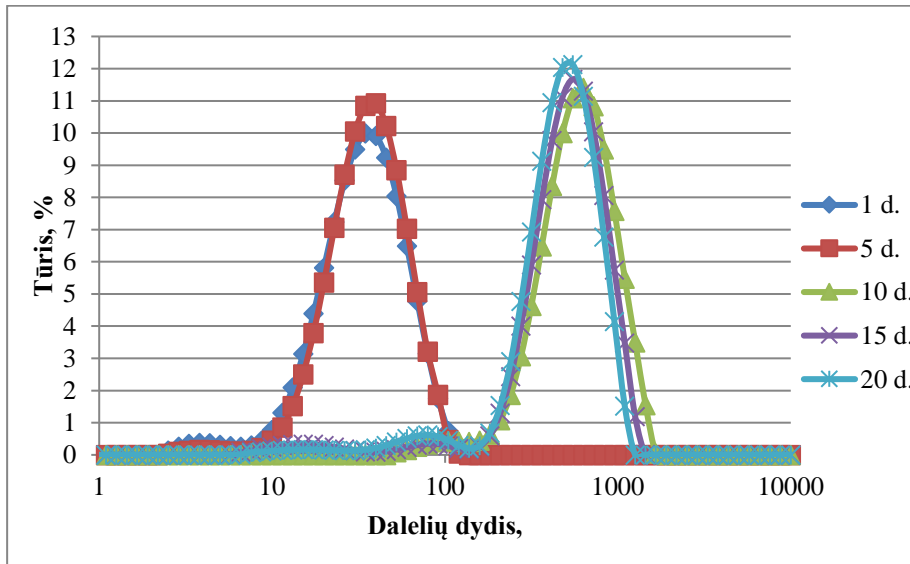
	Matavimo dienos po emulsijos pagaminimo		
	1	2	3
Vidutinis dalelių dydis, μm	$45,86 \pm 0,61$	$59,64 \pm 0,4$	$59,86 \pm 0,11$
Dalelių pasiskirstymo rodiklis (span)	2,41	1,75	1,73

Iš karto po emulsijos pagaminimo vidutinis dalelių dydis buvo mažiausias ($45,86 \pm 0,61 \mu\text{m}$) lyginant su sekančių dienų rezultatais, tačiau jų pasiskirstymo rodiklis didžiausias, o tai rodo emulsijoje esančių dalelių nevienodumą. Tai taip pat iš 21 paveiksle pateiktų kreivių galima matyti bimodalinio dalelių dydžio pasiskirstymo užuomazgą. Tačiau praėjus parai ir daugiau vidutinis dalelių dydis padidėjo, o pasiskirstymo rodiklis sumažėjo beveik 30 %. Tai reiškia, kad per parą laiko nuo dvigubosios emulsijos pagaminimo disperguotos fazės dalelių dydis susivienodino ir nusistovėjo, o dalelių dydžio pasiskirstymo grafikas atspindi monodispersinę sistemą.

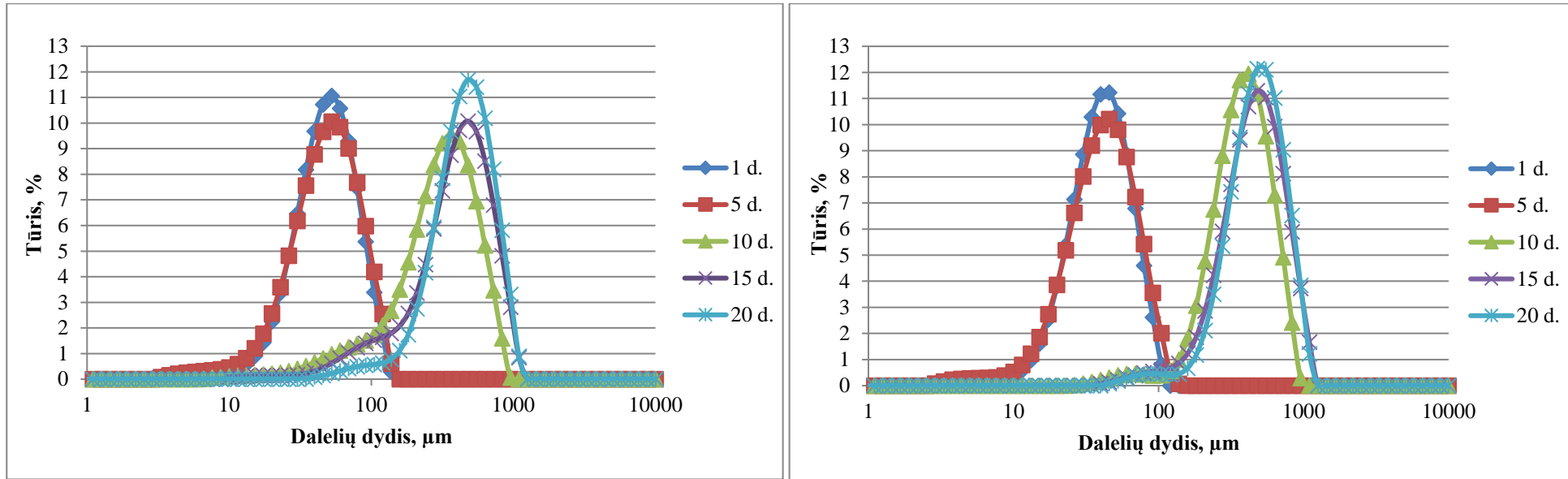
Toliau dalelių dydžio matavimai buvo atliekami mėginių, laikomų 37°C temperatūroje, kas penkias dienas, iki pasiekto pastovumo. Šie matavimai atlikti, norint stebėti temperatūros ir antioksidanto įtaką dvigubųjų emulsijų savybėms. Dalelių dydžio tyrimo rezultatai pateikti 22, 23, 24 paveiksluose.



22 pav. Dvigubųjų aliejaus emulsijų be antioksidanto ir su antioksidantu dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)



23 pav. Dvigubųjų pieno riebalų emulsijų be antioksidanto ir su antioksidantu dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)



24 pav. Dvigubųjų žuvies riebalų emulsijų be antioksidanto ir su antioksidantu dalelių dydžio pasiskirstymas priklausomai nuo laiko (37 °C)

Iš pateiktų grafikų matome, kad laikant emulsijas 37 °C temperatūroje, dalelės agreguojasi į didesnes ir nusistovi ribose tarp 100 – 1000 μm. Mėginiuose, kuriuose buvo įdėta antioksidanto, dalelių pasiskirstymo diapazonas nuo 10 – 100 μm pasislinko į 100 – 1000 μm ribas jau 10 laikymo parą. O mėginiuose, kuriuose nebuvo antioksidanto, dalelių pasiskirstymo ribos pakito 15 tyrimo parą, išskyrus dvigubą emulsijas su žuvies riebalais. Tarp emulsijų su žuvies riebalais nepastebėta dalelių pasiskirstymo skirtumo. Mėginiuose tiek su antioksidantu, tiek be jo, dalelių pasiskirstymo ribos pasikeitė jau 10 tyrimo parą.

Aliejaus emulsijos 10 parą ir aliejaus emulsijos su antioksidantu 5 parą, matavimų metu buvo gauta nevienalytė sistema. Nors ir nežymus, bet atsirado bimodalinis dalelių pasiskirstymas. Tolesniuose matavimuose vėl gauta monodispersinė sistema, tačiau dalelių pasiskirstymo diapazonas jau pasislinkęs iš 10 – 100 μm ribos į 100 – 1000 μm. Taigi, gauto bimodalinio pasiskirstymo rezultatas – tarpinis dalelių didėjimas / susilieėjimas ir nusistovėjimas. Panašūs rezultatai užfiksuoti mėginyje su pieno riebalų emulsija, kurioje buvo antioksidanto. Šiame mėginyje dviejų matavimų metu 10 ir 15 paromis buvo užfiksuotas bimodalinis dalelių dydis, kuris vėliau dingo ir galiausiai vėl susidarė monodispersinė sistema. Emulsijose su žuvies riebalais bimodalinio dalelių pasiskirstymas nebuvo pastebėtas.

Visais atvejais, kuomet mėginiuose buvo užfiksuotas dalelių pasiskirstymo diapazono pasislinkimas į dešinę, emulsijos prarado stabilumą. Be to mėginiuose, kuriuose buvo antioksidanto, dalelių pasiskirstymo ribos pakito anksčiau nei mėginiuose be antioksidanto. Išskyrus mėginius su žuvies riebalais, juose dalelių pasiskirstymo ribos pasikeitė tuo pačiu metu.

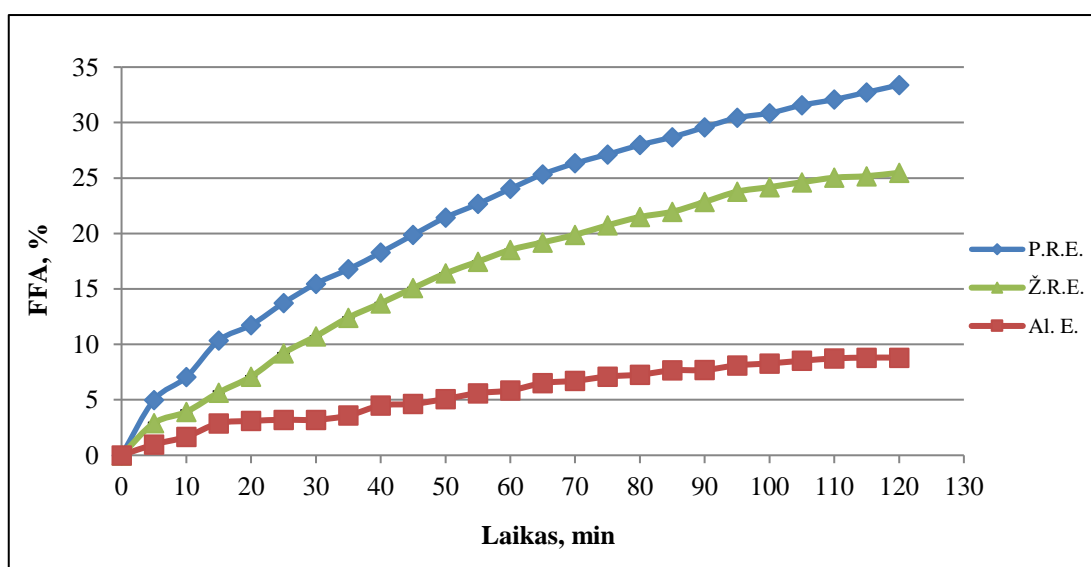
Šie dalelių dydžio matavimo rezultatai parodo galimai neigiamą įtaką emulsijų cheminiam stabilumui. Dalelių dydžio matavimo rezultatus ir jų pokyčius galima sieti su peroksidų skaičiaus ir TBR nustatymo tyrimais. Po užfiksuoto dalelių dydžio padidėjimo ir dalelių pasiskirstymo diapazono pasislinkimo buvo fiksuojamas peroksidų ir monoaldehido atsiradimas mėginiuose. Tai parodo, kad dalelių dydžio padidėjimas lemia prasidėjusius oksidacinius procesus. Kaip minėta anksčiau, mokslinėje literatūroje yra tyrimų parodančių, kad pirminės emulsijos (V/A) yra jautresnės oksidacijai lyginant su antrine emulsija. Tokie rezultatai, pasak autorių, gali būti siejami su storesniu tarpfazio sluoksniu. Tokiu būdu lėčiau vyksta metalo jonų katalizuojama riebalų oksidacija [26]. Todėl įvykus dalelių susijungimui ir emulsijų destabilizacijai, išorinė vandens fazė išsiskyrė ir pirminės emulsijos tarpfasis tapo jautresnis oksidacijos procesams.

Taip pat emulsijų destabilizavimosi procesui ir jo greičiui įtakos turėjo ir temperatūra. 20 °C temperatūroje laikomi mėginiai stabilumo neprarado, o 37 °C temperatūroje laikomi mėginiai destabilizavosi. Aukštesnė temperatūra mažina emulsijų klampą, kuri susijusi su aliejineje fazėje esančių riebalų suskystėjimu, tokiu būdu palengvindama dalelių judėjimą ir tarpusavio susilieėjimą.

4.4. Riebalų hidrolizės įvertinimas, imituojant dvigubosios emulsijos virškinimo sąlygas *in vitro*

Siekiant sukurti tokią emulsijų struktūrą, kuri leistų sumažinti riebalų kiekį nepakeičiant jų tekstūros savybių, svarbu iširti tokių emulsijų elgesį virškinimo sistemoje. Tyrimo tikslas – nustatyti, ar dvigubųjų emulsijų struktūra turi įtakos riebalų rūgščių atpalaidavimui iš emulsijų į virškinamojo trakto sultis. Kitas šio etapo tyrimo tikslas buvo išsiaiškinti, ar skiriasi dvigubosiose emulsijose esančių skirtingos kilmės riebalų hidrolizė virškinimo sąlygomis *in vitro*. Iš mokslinėje literatūroje pateiktų duomenų žinome, kad didžiausi baltymais stabilizuotų emulsijų pokyčiai vyksta skrandžio ir plonųjų žarnų aplinkoje. Skrandyje, kur yra rūgštinė terpė, proteolitinių fermentų bei mechaninės jėgos (peristaltikos) poveikyje, keičiasi emulsijų struktūra dėl riebalų dalelių flokuliacijos bei koalscencijos. Plonosiose žarnose emulsijų pH 7–8, pasikeitus emulsijų rutulėlių paviršiaus savybėms, fermentai gali absorbuotis jų paviršiuje ir hidrolizuoti riebalų trigliceridus iki laisvų riebalų rūgščių bei monogliceridų. Lėtesne riebalų hidrolize pasižyminčios emulsijos laikomos produktų su mažesniu riebalų kiekiu analogu.

Dvigubųjų emulsijų virškinamumą tyrėme imituodami jų virškinimą skrandyje ir plonojoje žarnoje ir matuodami riebalų hidrolizės produktus – laisvas riebalų rūgštis, virškinimo plonojoje žarnoje etape. Mūsų gauti rezultatai patvirtina, kad riebalų rūgščių išsiskyrimas iš emulsijų virškimo metu yra susijęs ne tik su riebalų rūgščių padėtimi riebalų / aliejaus trigliceriduose, bet ir su riebalų rūgščių anglies atomų grandinės ilgiu. Trumpos anglies atomų grandinės riebalų rūgščių virškinimo greitis ir apimtys yra didesni nei riebalų, susidedančių iš ilgos anglies atomų grandinės riebalų rūgščių (žr. 25 pav.).



25 pav. LRR atpalaidavimas iš dvigubųjų emulsijų virškinimo *in vitro* metu priklausomai nuo emulsijose esančių riebalų kilmės

Dvigubųjų emulsijų su skirtingos kilmės riebalais virškinimo metu gauti rezultatai (žr. 25 pav.) rodo, kad lengviausiai laisvosios riebalų rūgštys atpalaiduojamos iš pieno riebalų emulsijos, o sunkiausiai – iš aliejaus. Kaip minėta anksčiau riebalų rūgščių nesotumo laipsnis ir anglies atomų grandinės ilgis turi įtakos riebalų savybėms – tarp jų ir virškinamumo greičiui. Pieno riebalų rūgščių kompozicija daugiausiai susideda iš sočiųjų, trumpos grandinės riebalų rūgščių, o žuvies riebalų ir aliejaus – ilgos grandinės nesočiųjų riebalų rūgščių. Riebalų virškinimo greitis ir laipsnis buvo didesnis, emulsijose, kuriose riebalų fazėje buvo naudojami riebalai sudėtyje turintys trumpos grandinės riebalų rūgščių, o ne ilgos grandinės.

Mokslinėje literatūroje autorius Xianqian (2013 m.) aprašė emulsuotų pieno, žuvies riebalų ir sojos pupelių aliejaus laisvųjų riebalų rūgščių (LRR) atpalaidavimą *in vitro* virškinimo metu. Aprašyto tyrimo rezultatai parodė, kad iš pieno riebalų emulsijų trumpos grandinės riebalų rūgštys atsipalaidavo greičiau nei ilgos grandinės riebalų rūgštys. Virškinant žuvies riebalų emulsijas, nustatyta, kad ilgos grandinės polinesočiosios riebalų rūgštys, tokios kaip eikozapentaeno rūgštis ir dokozaheksaeno rūgštis, išsiskyrė lėčiau nei kitos ilgos grandinės riebalų rūgštys. O sojų pupelių aliejaus emulsijų virškinimo rezultatai parodė, kad sočiųjų riebalų rūgštys (C16:0 ir C18:0) buvo atpalaiduotos greičiau nei nesočiosios riebalų rūgštys (C18:1n9, C18:2n6 ir C18:3n3). Tyrimo metu iš pieno riebalų emulsijos buvo atpalaiduota daugiausiai LRR, o iš žuvies riebalų emulsijos – mažiausiai. Nors tarp žuvies riebalų ir aliejaus emulsijų LRR reikšmių nebuvo didelio skirtumo [101].

Eksperimento metu gauti rezultatai ir mokslinėje literatūroje aprašytų tyrimų rezultatai patvirtina, kad riebalų rūgščių išsiskyrimas iš emulsijų, virškinimo metu yra susijęs ne tik su riebalų rūgščių padėtimi riebalų ir aliejaus trigliceriduose, bet ir su riebalų rūgščių anglies atomų grandinės ilgiu. Trumpųjų grandžių riebalų rūgščių virškinimo greitis ir yra didesnis nei riebalų, susidedančių iš ilgos grandinės riebalų rūgščių.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad galima pagaminti stabilias dvigubąsias emulsijas V/A/V, taikant pirminės V/A emulsijos homogenizavimą 5 min, o dvigubosios emulsijos – 3 min, kai fazių santykis – V/A (40:60) ir V/A/V (60:40). Emulsiklio panaudojimo atžvilgiu geriausiu stabilumu pasižymėjo emulsijos, kurių aliejinėje fazėje buvo 6 % poliglicerolio poliricinoleato (PGPR), o išorinėje vandens fazėje – 0,2 % ir 0,3 % karboksimetilceliuliozės.
2. Atlikus tarpfazio A/V reologinių savybių tyrimus nustatyta, kad geriausiomis reologinėmis savybėmis pasižyminčią plėvelę formavo lipofilinės prigimties emulsiklis - poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR), kurio koncentracija 6 %. Hidrofilinės prigimties emulsiklis – išrūgų baltymų izoliatas, nesuformavo tarpfazio plėvelės, o kartu veikiantys emulsikliai taip pat nesuformavo tarpfazio.
3. Nustatyta, kad dvigubųjų emulsijų cheminiam stabilumui turi įtakos riebalų kilmė, laikymo temperatūra bei riebalų emulsavimas. Mažiausiai stabilios emulsijos buvo emulsijos, kurių riebalų fazėje buvo aliejus ir žuvų riebalai. Dėl jų riebalų rūgščių kompozicijos, kuriose ~65-90 % sudaro nesočiosios riebalų rūgštys, emulsijos greičiau oksidavosi. Temperatūra ir riebalų emulsavimas ankstino oksidacijos procesų pradžią.
4. Atlikus dvigubųjų emulsijų, kurių riebalų fazėje buvo saulėgražų aliejus arba pieno arba žuvų riebalai, virškinimą *in vitro* sąlygomis, nustatyta, kad greičiausiai riebalų hidrolizė vyko emulsijose su pieno riebalais, t. y. iš jų buvo atpalaiduotas didžiausias kiekis laisvųjų riebalų rūgščių. Tai lėmė emulsijos sudėtyje esantys pieno riebalai, savo sudėtyje turintys ~70 % trumpos grandinės riebalų rūgščių, kurios greičiausiai ir lengviausiai virškinamos.

LITERATŪROS SARAŠAS

1. NEUMANN, S.M., WITTSTOCK, N., VAN DER SCHAAF, U.S. and KARBSTEIN, H.P. *Interactions in Water in Oil in Water Double Emulsions: Systematical Investigations on the Interfacial Properties and Emulsion Structure of the Outer Oil in Water Emulsion.* , 20 January 2018, 2018 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.10.070>.
2. PAYS, K.e.a. Double Emulsions: How does Release Occur? *Journal of Controlled Release*, 2002, vol. 79. pp. 193-205.
3. BJÖRKEGREN, S., et al. A New Emulsion Liquid Membrane Based on a Palm Oil for the Extraction of Heavy Metals. *Membranes*, 06, 2015, vol. 5, no. 2. pp. 168-179 ISSN 20770375.
4. HONG, J.S. and FISCHER, P. *Bulk and Interfacial Rheology of Emulsions Stabilized with Clay Particles.* , 5 November 2016, 2016 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.08.040>.
5. SAPEI, L., NAQVI, M.A. and ROUSSEAU, D. *Stability and Release Properties of Double Emulsions for Food Applications.* , June 2012, 2012 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.10.008>.
6. WILDE, P.J. *Interfaces: Their Role in Foam and Emulsion Behaviour.* , July 2000, 2000 ISBN 1359-0294. DOI [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(00\)00056-X](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00056-X).
7. MUSNICKAS, J. *Paviršinio Aktyvumo Medžiagos (Elektroninis Išteklius): Mokomoji Knyga.* 1-a laida. ed. Vilnius i.e. Kaunas]: Vilniaus pedagoginio universiteto leidykla i.e. Technologija], 2008 ISBN 9786090203439.
8. ARORA, J.K. *Effect of Formulation and PH on Rheological Properties, Particle Size Distribution, and Stability of Oil-in-Water Beverage Emulsions*, 2009.
9. Bernewitz R., Guthausen G. and SCHUCHMANN, H.P. NMR on Emulsions: Characterisation of Liquid Dispersed Systems. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 01/31; 2018/04, 2012, vol. 49. pp. S93-S104 ISSN 0749-1581.
10. VERMEIR, L., et al. *Effect of Molecular Exchange on Water Droplet Size Analysis in W/O Emulsions as Determined by Diffusion NMR.* , 1 February 2016, 2016 ISBN 0021-9797. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.10.023>.
11. OPPERMAN, A.K.L., NOPPERS, J.M.E., STIEGER, M. and SCHOLTEN, E. *Effect of Outer Water Phase Composition on Oil Droplet Size and Yield of (W1/O/W2) Double Emulsions.* , May 2018, 2018 ISBN 0963-9969. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.021>.
12. KATO, N., SCHUETZ, P., FERY, A. and CARUSO, F. Thin Multilayer Films of Weak Polyelectrolytes on Colloid Particles. *Macromolecules*, 2002, vol. 35, no. 26. pp. 9780-9787.
13. SCHÖNHOF, M. *Self-Assembled Polyelectrolyte Multilayers.* , March 2003, 2003 ISBN 1359-0294. DOI [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(03\)00003-7](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(03)00003-7).

14. YANG, F., NIU, Q., LAN, Q. and SUN, D. *Effect of Dispersion pH on the Formation and Stability of Pickering Emulsions Stabilized by Layered Double Hydroxides Particles.* , 15 February 2007, 2007 ISBN 0021-9797. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.10.062>.
15. KARBASCHI, M., et al. *Rheology of Interfacial Layers.* , December 2014, 2014 ISBN 1359-0294. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.08.003>.
16. SHARIPOVA, A., AIDAROVA, S., CERNOCH, P. and MILLER, R. *Effect of Surfactant Hydrophobicity on the Interfacial Properties of Polyallylamine Hydrochloride/Sodium Alkylsulphate at Water/Hexane Interface.* , 5 December 2013, 2013 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.12.013>.
17. CAO, C., HUANG, T., ZHANG, L. and DU, F. *Interfacial Rheological Behavior of Ionic Liquid-Type Imidazolium Surfactant.* , 5 September 2013, 2013 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.07.013>.
18. RAVERA, F., LOGLIO, G. and KOVALCHUK, V.I. *Interfacial Dilational Rheology by Oscillating Bubble/Drop Methods.* , August 2010, 2010 ISBN 1359-0294. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.04.001>.
19. ERNI, P., et al. Stress-and Strain-Controlled Measurements of Interfacial Shear Viscosity and Viscoelasticity at Liquid/Liquid and Gas/Liquid Interfaces. *Review of Scientific Instruments*, 2003, vol. 74, no. 11. pp. 4916-4924.
20. KIM, J., et al. *Correlation of Fatty Acid Composition of Vegetable Oils with Rheological Behaviour and Oil Uptake.* , 15 January 2010, 2010 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.011>.
21. MIEŽELIENĖ, A., LIUTKEVIČIUS, A., SPEIČIENĖ, V. and ALENČIKIENĖ, G. Aliejus Mišinių Su Optimizuota Riebalų Rūgščių Sudėtimi Savybės Bei Jų Pokyčiai Laikymo Metu. *Maisto Chemija Ir Technologija*, 2007, vol. 41, no. 1. pp. 54-61 ISSN 1392-0227.
22. BUDAI-SZŰCS, M. *Formulation and Investigation of Gel-Emulsions Containing Polymeric Emulsifiers.* [interaktyvus]. Segedas 2008. [žiūrėta 2018-04-20]. Prieiga per: http://doktori.bibl.u-szeged.hu/1013/2/BudaiSzucs_angol.pdf
23. DRIDI, W., et al. *Influence of Formulation on the Oxidative Stability of Water-in-Oil Emulsions.* , 1 July 2016, 2016 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.145>.
24. ZOU, L. and AKOH, C.C. *Oxidative Stability of Structured Lipid-Based Infant Formula Emulsion: Effect of Antioxidants.* , 1 July 2015, 2015 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.073>.
25. SHAHIDI, F. and ZHONG, Y. Lipid Oxidation and Improving the Oxidative Stability. *Chemical Society Reviews*, 2010, vol. 39, no. 11. pp. 4067-4079.
26. GUZEY, D. and MCCLEMENTS, D.J. *Formation, Stability and Properties of Multilayer Emulsions for Application in the Food Industry.* , 21 December 2006, 2006 ISBN 0001-8686. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.021>.

27. VON STASZEWSKI, M., PIZONES RUIZ-HENESTROSA, V.M. and PILOSOFF, A.M.R. *Green Tea Polyphenols-B-Lactoglobulin Nanocomplexes: Interfacial Behavior, Emulsification and Oxidation Stability of Fish Oil.* , March 2014, 2014 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.008>.
28. CHARLOTTE, J. Some Strategies for the Stabilization of Long Chain N-3 PUFA-enriched Foods: A Review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 11/06; 2018/04, 2015, vol. 117, no. 11. pp. 1853-1866 ISSN 1438-7697.
29. Ambrosone L., et al. The Role of Water in the Oxidation Process of Extra Virgin Olive Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 06/01; 2018/04, 2002, vol. 79, no. 6. pp. 577-582 ISSN 0003-021X.
30. OSBORN, H.T. and AKOH, C.C. *Effect of Emulsifier Type, Droplet Size, and Oil Concentration on Lipid Oxidation in Structured Lipid-Based Oil-in-Water Emulsions.* , February 2004, 2004 ISBN 0308-8146. DOI [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00270-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00270-X).
31. KYOKO, N., et al. Effects of Droplet Size on the Oxidative Stability of Oil-in-water Emulsions. *Lipids*, 05/01; 2018/04, 2005, vol. 40, no. 5. pp. 501-507 ISSN 0024-4201.
32. BELHAJ, N., ARAB-TEHRANY, E. and LINDER, M. *Oxidative Kinetics of Salmon Oil in Bulk and in Nanoemulsion Stabilized by Marine Lecithin.* , February 2010, 2010 ISBN 1359-5113. DOI <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.09.005>.
33. KLINKESORN, U., et al. Increasing the Oxidative Stability of Liquid and Dried Tuna Oil-in-Water Emulsions with Electrostatic Layer-by-Layer Deposition Technology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, no. 11. pp. 4561-4566.
34. KRALOVA, I. and SJÖBLOM, J. Surfactants used in Food Industry: A Review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 09/30, 2009, vol. 30, no. 9. pp. 1363-1383 ISSN 0193-2691.
35. MAGNUSSON, E., NILSSON, L. and BERGENSTÅHL, B. *Effect of the Dispersed State of Phospholipids on emulsification □ Part 1. Phosphatidylcholine.* , 5 October 2016, 2016 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.07.055>.
36. DRAPALA KAMIL, P., AUTY MARK, A.E., MULVIHILL DANIEL, M. and O'MAHONY JAMES, A. Influence of Lecithin on the Processing Stability of Model Whey Protein Hydrolysate-based Infant Formula Emulsions. *International Journal of Dairy Technology*, 06/25; 2018/04, 2015, vol. 68, no. 3. pp. 322-333 ISSN 1364-727X.
37. XIN, X., et al. *Influence of CTAB and SDS on the Properties of Oil-in-Water Nano-Emulsion with Paraffin and Span 20/Tween 20.* , 5 February 2013, 2013 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.10.065>.
38. KOTSMAR, C., et al. *Thermodynamics, Adsorption Kinetics and Rheology of Mixed Protein-surfactant Interfacial Layers.* , 30 August 2009, 2009 ISBN 0001-8686. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cis.2009.05.002>.
39. GUZMÁN, E., et al. *Polymer-surfactant Systems in Bulk and at Fluid Interfaces.* , July 2016, 2016 ISBN 0001-8686. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.11.001>.

40. FAINERMAN, V.B., AKSENEENKO, E.V., KRÄGEL, J. and MILLER, R. *Thermodynamics, Interfacial Pressure Isotherms and Dilational Rheology of Mixed Protein–surfactant Adsorption Layers.* , July 2016, 2016 ISBN 0001-8686. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.06.004>.
41. A. BOS, M. and VAN VLIET, T. *Interfacial Rheological Properties of Adsorbed Protein Layers and Surfactants: A Review.* , 27 July 2001, 2001 ISBN 0001-8686. DOI [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(00\)00077-4](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(00)00077-4).
42. MCCLEMENTS, D.J. *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques.* CRC press, 2015 ISBN 13:978-1-4987-2669-6.
43. ACOSTA, E.J. and BHAKTA, A.S. The HLD-NAC Model for Mixtures of Ionic and Nonionic Surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents*, 2009, vol. 12, no. 1. pp. 7-19.
44. MIÑONES CONDE, J. and RODRÍGUEZ PATINO, J.M. *Phospholipids and Hydrolysates from a Sunflower Protein Isolate Adsorbed Films at the Air–water Interface.* , March 2007, 2007 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.03.010>.
45. ZHU, D. and DAMODARAN, S. Dairy Lecithin from Cheese Whey Fat Globule Membrane: Its Extraction, Composition, Oxidative Stability, and Emulsifying Properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2013, vol. 90, no. 2. pp. 217-224.
46. LESMES, U., SANDRA, S., DECKER, E.A. and MCCLEMENTS, D.J. *Impact of Surface Deposition of Lactoferrin on Physical and Chemical Stability of Omega-3 Rich Lipid Droplets Stabilised by Caseinate.* , 1 November 2010, 2010 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.007>.
47. GODDARD, J.M., JULIAN, M.D. and DECKER, E.A. Innovative Technologies in the Control of Lipid Oxidation. *Lipid Technology*, 12/10; 2018/04, 2012, vol. 24, no. 12. pp. 275-277 ISSN 0956-666X.
48. LEOPOLDINI, M., RUSSO, N. and TOSCANO, M. *The Molecular Basis of Working Mechanism of Natural Polyphenolic Antioxidants.* , 15 March 2011, 2011 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>.
49. WARAHO, T., MCCLEMENTS, D.J. and DECKER, E.A. *Mechanisms of Lipid Oxidation in Food Dispersions.* , January 2011, 2011 ISBN 0924-2244. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.003>.
50. REISCHE, D.W., LILLARD, D.A. and EITENMILLER, R.R. 15 Antioxidants. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, 2008. pp. 409 ISSN 13:978-1-4200-4663-2.
51. GUERRA, A., et al. *Relevance and Challenges in Modeling Human Gastric and Small Intestinal Digestion.* , November 2012, 2012 ISBN 0167-7799. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.08.001>.
52. CHEN, J. *Food Oral processing—A Review.* , January 2009, 2009 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.013>.
53. FOSTER, K.D., WODA, A. and PEYRON, M.A. Effect of Texture of Plastic and Elastic Model Foods on the Parameters of Mastication. *Journal of Neurophysiology*, 06/01; 2018/04, 2006, vol. 95, no. 6. pp. 3469-3479 ISSN 0022-3077.

54. LUCAS, P.W., PRINZ, J.F., AGRAWAL, K.R. and BRUCE, I.C. *Food Physics and Oral Physiology*. , June 2002, 2002 ISBN 0950-3293. DOI [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(00\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(00)00036-7).
55. GUO, Q., et al. *The Breakdown Properties of Heat-Set Whey Protein Emulsion Gels in the Human Mouth*. , December 2013, 2013 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.008>.
56. GUO, Q., et al. *Modulating Fat Digestion through Food Structure Design*. , October 2017, 2017 ISBN 0163-7827. DOI <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.10.001>.
57. GUO, Q., et al. Effect of Gel Structure on the Gastric Digestion of Whey Protein Emulsion Gels. *Soft Matter*, 2014, vol. 10, no. 8. pp. 1214-1223.
58. STEINGOETTER, A., et al. Imaging Gastric Structuring of Lipid Emulsions and its Effect on Gastrointestinal Function: A Randomized Trial in Healthy Subjects-. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2015, vol. 101, no. 4. pp. 714-724.
59. MARCIANI, L., et al. Effect of Intra-gastric Acid Stability of Fat Emulsions on Gastric Emptying, Plasma Lipid Profile and Postprandial Satiety. *British Journal of Nutrition*, 2008/08/05, 2008, vol. 101, no. 6. pp. 919-928 Cambridge Core. ISSN 0007-1145. DOI 10.1017/S0007114508039986.
60. LIANG, R., et al. Preparation of Pickering Emulsions with Short, Medium and Long Chain Triacylglycerols Stabilized by Starch Nanocrystals and their in Vitro Digestion Properties. *RSC Advances*, 2016, vol. 6, no. 101. pp. 99496-99508.
61. ZOU, L., et al. Influence of Lipid Phase Composition of Excipient Emulsions on Curcumin Solubility, Stability, and Bioaccessibility. *Food Biophysics*, 2016, vol. 11, no. 3. pp. 213-225.
62. DEVRAJ, R., et al. *In Vitro Digestion Testing of Lipid-Based Delivery Systems: Calcium Ions Combine with Fatty Acids Liberated from Triglyceride Rich Lipid Solutions to Form Soaps and Reduce the Solubilization Capacity of Colloidal Digestion Products*. , 30 January 2013, 2013 ISBN 0378-5173. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.11.024>.
63. LEAB, S., PORTER, C.J., KAUKONEN, A.M. and CHARMAN, W.N. Evaluation of the In-vitro Digestion Profiles of Long and Medium Chain Glycerides and the Phase Behaviour of their Lipolytic Products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 02/18; 2018/04, 2010, vol. 54, no. 1. pp. 29-41 ISSN 0022-3573.
64. SALENTINIG, S., et al. Transitions in the Internal Structure of Lipid Droplets during Fat Digestion. *Soft Matter*, 2011, vol. 7, no. 2. pp. 650-661.
65. GUO, Q., BELLISSIMO, N. and ROUSSEAU, D. The Physical State of Emulsified Edible Oil Modulates its in Vitro Digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, vol. 65, no. 41. pp. 9120-9127.
66. DAY, L., et al. *Tailoring the Digestion of Structured Emulsions using Mixed Monoglyceride-caseinate Interfaces*. , May 2014, 2014 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.019>.

67. MAJEED, H., et al. *Influence of Carrier Oil Type, Particle Size on In vitro Lipid Digestion and Eugenol Release in Emulsion and Nanoemulsions.* , January 2016, 2016 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.009>.
68. ZHANG, R., et al. Enhancement of Carotenoid Bioaccessibility from Carrots using Excipient Emulsions: Influence of Particle Size of Digestible Lipid Droplets. *Food & Function*, 2016, vol. 7, no. 1. pp. 93-103.
69. LI, J., YE, A., LEE, S.J. and SINGH, H. *Physicochemical Behaviour of WPI-Stabilized Emulsions in in Vitro Gastric and Intestinal Conditions.* , 1 November 2013, 2013 ISBN 0927-7765. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.05.034>.
70. ARBOLEYA, J. and WILDE, P.J. *Competitive Adsorption of Proteins with Methylcellulose and Hydroxypropyl Methylcellulose.* , May 2005, 2005 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.10.013>.
71. EISINAITE, V., JURAITĖ, D., SCHROËN, K. and LESKAUSKAITE, D. *Preparation of Stable Food-Grade Double Emulsions with a Hybrid Premix Membrane Emulsification System.* , 1 September 2016, 2016 Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616303995> ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.046>.
72. BRAUN, D.D. and ROSEN, M.R. *Rheology Modifiers Handbook: Practical use and Application.* Elsevier, 2013 ISBN 0-8155-1441-7.
73. ISO 3960:2017. *Animal and Vegetable Fats and Oils -- Determination of Peroxide Value - Iodometric (Visual) Endpoint Determination.*
74. TARLADGIS, B.G., WATTS, B.M., YOUNATHAN, M.T. and LEROY, D. A Distillation Method for the Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 01/01; 2018/05, 1960, vol. 37, no. 1. pp. 44-48 ISSN 0003-021X.
75. LOBATO-CALLEROS, C., et al. *Structural and Textural Characteristics of Reduced-Fat Cheese-Like Products made from W1/O/W2 Emulsions and Skim Milk.* , December 2008, 2008 ISBN 0023-6438. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.006>.
76. HEMAR, Y., et al. Encapsulation of Resveratrol using Water-in-Oil-in-Water Double Emulsions. *Food Biophysics*, 2010, vol. 5, no. 2. pp. 120-127.
77. COFRADES, S., et al. *Preparation and Impact of Multiple (Water-in-Oil-in-Water) Emulsions in Meat Systems.* , 1 November 2013, 2013 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.097>.
78. EISINAITE, V., JURAITĖ, D., SCHROËN, K. and LESKAUSKAITE, D. *Preparation of Stable Food-Grade Double Emulsions with a Hybrid Premix Membrane Emulsification System.* , 1 September 2016, 2016 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.046>.
79. COFRADES, S., et al. *Preparation and Impact of Multiple (Water-in-Oil-in-Water) Emulsions in Meat Systems.* , 1 November 2013, 2013 Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613002604> ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.097>.

80. MCCLEMENTS, D.J. *Comments on Viscosity Enhancement and Depletion Flocculation by Polysaccharides.* , March 2000, 2000 ISBN 0268-005X. DOI [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00065-X).
81. STEPHEN, A.M. and PHILLIPS, G.O. *Food Polysaccharides and their Applications.* CRC press, 2016.
82. PAYS, K., et al. Coalescence in Surfactant-Stabilized Double Emulsions. *Langmuir*, 2001, vol. 17, no. 25. pp. 7758-7769.
83. BÖTTCHER, S., KEPPLER, J.K. and DRUSCH, S. *Mixtures of Quillaja Saponin and Beta-Lactoglobulin at the Oil/Water-Interface: Adsorption, Interfacial Rheology and Emulsion Properties.* , 5 April 2017, 2017 ISBN 0927-7757. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.12.041>.
84. TAMM, F. and DRUSCH, S. *Impact of Enzymatic Hydrolysis on the Interfacial Rheology of Whey Protein/Pectin Interfacial Layers at the Oil/Water-Interface.* , February 2017, 2017 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.013>.
85. GOMES, A., COSTA, A.L.R. and CUNHA, R.L. *Impact of Oil Type and WPI/Tween 80 Ratio at the Oil-Water Interface: Adsorption, Interfacial Rheology and Emulsion Features.* , 1 April 2018, 2018 ISBN 0927-7765. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.01.032>.
86. ANDRADE, J. and CORREDIG, M. *Vitamin D3 and Phytosterols Affect the Properties of Polyglycerol Polyricinoleate (PGPR) and Protein Interfaces.* , March 2016, 2016 ISBN 0268-005X. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.001>.
87. PAULAUSKIENĖ, A. Maisto Chemija, 2012. [interaktyvus]. [žiūrėta 2018-05-05]. Prieiga per: http://dspace.lzuu.lt/bitstream/1/2076/1/MAISTO%20CHEMIJA_lab..pdf
88. FEINER, G. Salami G. FEINER ed., Academic Press, 2016 *Chapter 1 - Meat and Fat*, pp. 3-30 ISBN 9780128095980.
89. *LST EN ISO 3960:2017 Gyvūniniai Ir Augaliniai Riebalai Ir Aliejus. Peroksidų Skaičiaus Nustatymas. Jodometrinis (Vizualus) Nustatymas Pagal Ekvivalentinį Tašką (ISO 3960:2017).* Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2017.
90. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/zh/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%252FBSTAN%252B329-2017%252FCXS_329e.pdf. [žiūrėta 2018-05-12]
91. <http://www.fao.org/docrep/015/i2085e/i2085e00.pdf>. [žiūrėta 2018-05-12]
92. <http://www.fao.org/docrep/004/y2774e/y2774e04.htm>. [žiūrėta 2018-05-12]
93. POYATO, C., et al. *Oxidative Stability of O/W and W/O/W Emulsions: Effect of Lipid Composition and Antioxidant Polarity.* , April 2013, 2013 ISBN 0963-9969. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.032>.

94. ABDALLA, A.E. and ROOZEN, J.P. *Effect of Plant Extracts on the Oxidative Stability of Sunflower Oil and Emulsion.* , 16 February 1999, 1999 ISBN 0308-8146. DOI [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00112-5).
95. KAITARANTA, J.K. Control of Lipid Oxidation in Fish Oil with various Antioxidative Compounds. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1992, vol. 69, no. 8. pp. 810-813.
96. FENG, J., et al. *Improved Oxidative Stability of Fish Oil Emulsion by Grafted Ovalbumin-Catechin Conjugates.* , 15 February 2018, 2018 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.055>.
97. GUMUS, C.E., DECKER, E.A. and MCCLEMENTS, D.J. *Impact of Legume Protein Type and Location on Lipid Oxidation in Fish Oil-in-Water Emulsions: Lentil, Pea, and Faba Bean Proteins.* , October 2017, 2017 ISBN 0963-9969. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.029>.
98. MCCLEMENTS, D. and DECKER, E. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science*, 11/01; 2018/05, 2000, vol. 65, no. 8. pp. 1270-1282 ISSN 0022-1147.
99. LAJARA, J.R., DIAZ, U. and QUIDIELLO, R.D. Definite Influence of Location and Climatic Conditions on the Fatty Acid Composition of Sunflower Seed Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1990, vol. 67, no. 10. pp. 618-623.
100. STANCHEVA, M. and MERDZHANOVA, A. Fatty Acid Composition of Common Carp, Rainbow Trout and Grey Mullet Fish Species. *Agricultural Science and Technology*, 2011, vol. 3, no. 3. pp. 285-289.
101. ZHU, X., YE, A., VERRIER, T. and SINGH, H. *Free Fatty Acid Profiles of Emulsified Lipids during in Vitro Digestion with Pancreatic Lipase.* , 15 August 2013, 2013 ISBN 0308-8146. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.060>.