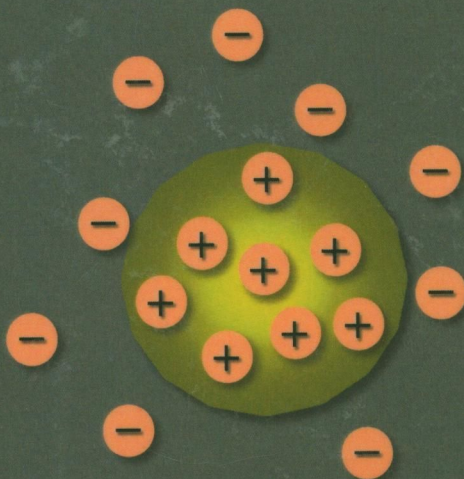


GRAŻYNA BORTNOWSKA

EMULSJE SPOŻYWCZE

- Bioskładniki
- Reometria rotacyjna i oscylacyjna
- Innowacyjne technologie



ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE

GRAŻYNA BORTNOWSKA

EMULSJE SPOŻYWCZE

- BIOSKŁADNIKI
- REOMETRIA ROTACYJNA I OSCYLACYJNA
- INNOWACYJNE TECHNOLOGIE

Szczecin 2017

Recenzenci
TOMASZ JANKOWSKI
LESŁAW JUSZCZAK

Opracowanie redakcyjne
WOJCIECH MARKOWSKI

Wydano za zgodą
REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIWERSYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-132-5

Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, al. Piastów 48
70-311 Szczecin, tel. 91 449 47 60, e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl
Druk Zapol, Sobczyk Sp.j., al. Piastów 42, 71-062 Szczecin, tel. 91 434 10 21

SPIS TREŚCI

Przedmowa	5
Wykaz ważniejszych skrótów i oznaczeń	7
1. Definicja i podział emulsji	9
2. Podstawowe składniki emulsji	13
2.1. Tłuszcze	13
2.2. Substancje emulgujące	14
2.2.1. Podział i właściwości	14
2.2.2. Białka	21
2.2.3. Węglowodany	27
2.2.4. Surfactanty	28
2.3. Substancje zagęszczające, stabilizujące i żelujące	29
3. Wytwarzanie emulsji	33
3.1. Przebieg procesu	33
3.2. Stosowane urządzenia	35
3.3. Metody niskoenergetyczne	38
4. Charakterystyka faz emulsji	41
4.1. Faza rozproszona	41
4.1.1. Stężenie	41
4.1.2. Rozmiar i polidispersyjność	41
4.1.3. Interakcje	46
4.2. Powierzchnia międzyfazowa	50
4.2.1. Adsorpcja w stężeniu nadmiarowym	50
4.2.2. Biopolimery i surfaktanty	53
4.2.3. Napięcie międzyfazowe	57
4.3. Faza ciągła	61
5. Właściwości reologiczne	63
5.1. Zasady pomiaru	63
5.2. Powierzchnia rozdziału faz	64
5.3. Układ emulsyjny	69
5.3.1. Matematyczne modelowanie lepkości	69
5.3.2. Reometria rotacyjna	71
5.3.3. Reometria oscylacyjna	82
5.3.4. Testy statyczne	86
5.3.5. Pomiar tekstury	91
6. Barwa emulsji	95
7. Stabilność fizyczna emulsji	97
7.1. Czynniki warunkujące trwałość	97
7.1.1. Śmietankowanie – sedymentacja	98
7.1.2. Flokulacja	101
7.1.3. Dojrzewanie Ostwaldowskie	105
7.1.4. Koalescencja	107
7.1.5. Odwrócenie faz	110
8. Stabilność chemiczna emulsji	111
8.1. Mechanizm destabilizacji	111

8.2. Utlenianie lipidów i białek	112
8.3. Przeciwtleniacze	115
9. Zastosowanie emulsji	119
9.1. Innowacyjne technologie	119
9.2. Nośniki substancji bioaktywnych i/lub zapachowych	121
Literatura	129

Przedmowa

Emulsje spożywcze to ciekłe niejednorodne układy dyspersyjne o dużym zróżnicowaniu w zakresie mikrostruktury, zawierające substancje hydrofilowe i hydrofobowe rozpuszczone odpowiednio w fazie polarnej i niepolarnej, które znajdują coraz większe i coraz bardziej wielokierunkowe zastosowanie w przemyśle spożywczym.

Do grupy tej należą np. sosy, w tym majonezy, dipy i dressingi. Emulsje spożywcze są również podukładami w wielu innych produktach o znacznie bardziej złożonym składzie i/lub strukturze, takich jak: drobno rozdrobnione wędliny, jogurty, desery mleczne, słodczyce i inne. Z przeglądu najnowszej literatury wynika, że emulsje zawierające zewnętrzną fazę wodną są szczególnie przydatne w produkcji tzw. żywności projektowanej (ang. *designed food*), na którą, z uwagi na jej specyficzne właściwości, obserwuje się ciągle rosnące zapotrzebowanie.

Emulsje w zdecydowanej większości to układy termodynamicznie niestabilne. Stosując jednak odpowiednio dobrane składniki (wysokoaktywne emulgatory oraz stabilizatory), a także nowoczesne techniki wytwarzania, umożliwiające m.in. formowanie trwałych struktur, można skutecznie przeciwdziałać procesom destabilizacyjnym w określonym przedziale czasu.

W niniejszej monografii przedstawiono współczesne osiągnięcia w zakresie inżynierii powierzchni międzyfazowej olej–woda oraz scharakteryzowano występujące zależności pomiędzy składem a mikrostrukturą emulsji, a także właściwości fizykochemiczne, głównie reologiczne oraz dotyczące stabilności i barwy. Zwrócono również uwagę na sposoby wyznaczania przeciwutleniającego statusu układów emulsyjnych oraz ich przydatność jako nośników substancji bioaktywnych i/lub zapachowych. W każdym z podrozdziałów zamieszczono także wskaźniki opisujące wybrane cechy emulsji.

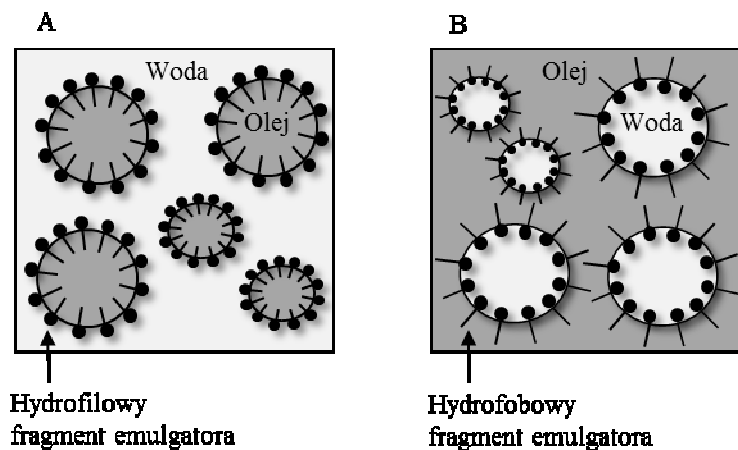
Monografia przeznaczona jest dla osób zajmujących się problematyką badawczą związaną z wytwarzaniem emulsji spożywczych oraz oceną ich właściwości fizykochemicznych. Dla producentów żywności natomiast może być źródłem wiedzy w zakresie nowoczesnych technik profilowania tego typu układów w kierunku żywności prozdrowotnej.

Wykaz ważniejszych skrótów i oznaczeń

BKZ	–	β -kazeina
BLG	–	β -laktoglobulina
BSA	–	albumina osocza
CMC	–	krytyczne stężenie micelarne
DF	–	wskaźnik flokulacji
DLS	–	dynamiczne rozpraszanie światła
Ea	–	energia aktywacji
EA	–	aktywność emulgowania
EAI	–	wskaźnik aktywności emulgowania
EC	–	wydajność emulgowania
ES	–	stabilność emulsji
GA	–	guma arabska
GG	–	guma guar
GK	–	guma ksantanowa
HDL	–	lipoproteiny o wysokiej gęstości
HLB	–	wskaźnik równowagi hydrofilowo-hydrofobowej
K	–	współczynnik konsystencji
KS	–	kazeinian sodu
LA	–	liczba anizydynowa
LBG	–	mączka chleba świętojańskiego
LDL	–	lipoproteiny o niskiej gęstości
LMWS	–	emulgatory o małej masie cząsteczkowej – surfaktanty
LN	–	liczba nadtlenkowa
LVR	–	zakres liniowej lepkości
MRP	–	produkty reakcji Maillarda
ODE	–	Ostwaldowskie dojrzewanie emulsji
PDI/SPAN	–	wskaźnik polidispersyjności
PEG	–	glikol polietylenowy
PGPR	–	polirycynooleinian poliglicerolu
PIC	–	odwrócenie faz w wyniku zmian w składzie emulsji
PIT	–	odwrócenie faz emulsji pod wpływem temperatury
PM	–	powierzchnia międzyfazowa
Pp	–	parametr upakowania
PSH	–	hydrofobowość powierzchniowa białek
SBZ	–	substancje bioaktywne i/lub zapachowe
SLD	–	statyczne rozpraszanie światła
SPC	–	substancje powierzchniowo-czynne
SSG	–	guma z nasion szafwii
TBARS	–	substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym
VDW	–	siły van der Waalsa

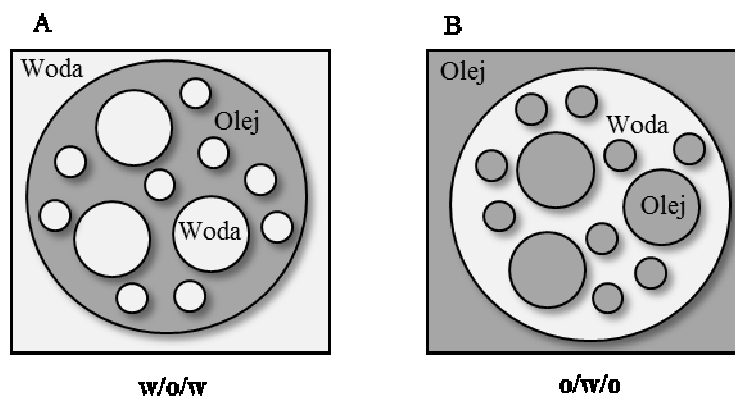
1. Definicja i podział emulsji

Emulsje spożywcze to metastabilne układy niejednorodne składające się z co najmniej dwóch niemieszających się ze sobą cieczy. W klasyfikacji emulsji pod pojęciem wody (w) rozumie się fazę o właściwościach polarnych (hydrofilowych), natomiast oleju (o) – substancje charakteryzujące się stosunkowo znaczną lipofilowością (składniki niepolarne), do których zalicza się tłuszcze roślinne i zwierzęce. Ogólnie emulsje dzieli się na proste (ang. *simple emulsions*), w których jedna faza jest rozproszona (zdyspergowana) w drugiej różniącej się polarnością (ryc. 1A i B), oraz wielokrotne (ang. *multiple emulsions*), nazywane też emulsjami emulsji (ryc. 2A i B).



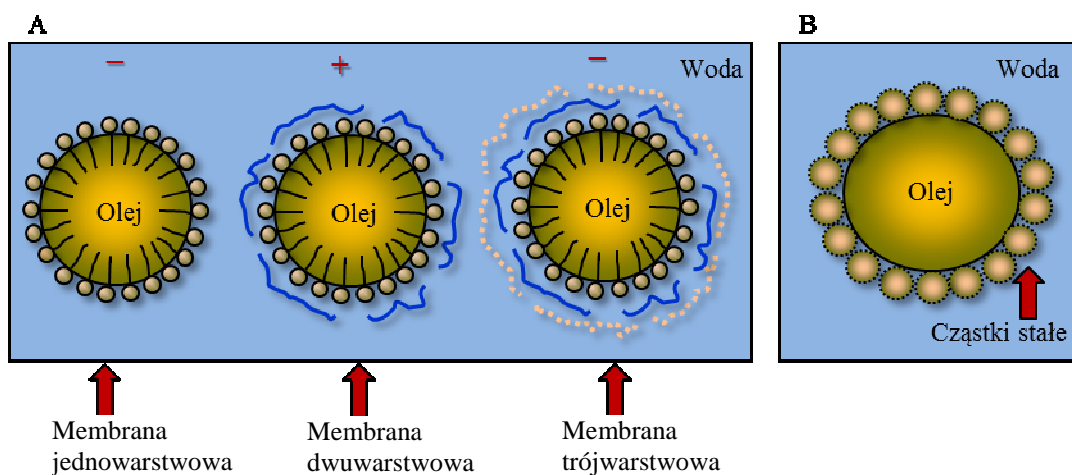
Ryc. 1. Układ faz w emulsjach prostych typu: olej-w-wodzie (A) oraz woda-w-oleju (B)

W zależności od wzajemnego układu poszczególnych faz spośród emulsji prostych wyróżnia się emulsje typu olej-w-wodzie (o/w) – np. mleko, majonez, sosy sałatkowe (ang. *salad dressings*) oraz woda-w-oleju (w/o) – np. margaryna i masło.



Ryc. 2. Układ faz w emulsjach wielokrotnych typu: woda-w-oleju-w-wodzie (A) oraz olej-w-wodzie-w-oleju (B)

Typowymi strukturami emulsji wielokrotnych są: woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) oraz olej-w-wodzie-w-oleju (o/w/o), do wytwarzania których stosowane są emulsje proste. Emulsje proste typu o/w, zawierające fazę rozproszoną pokrytą membranami w liczbie większej niż jedna, określa się mianem wielowarstwowych (ang. *multilayer emulsions*) (ryc. 3A).

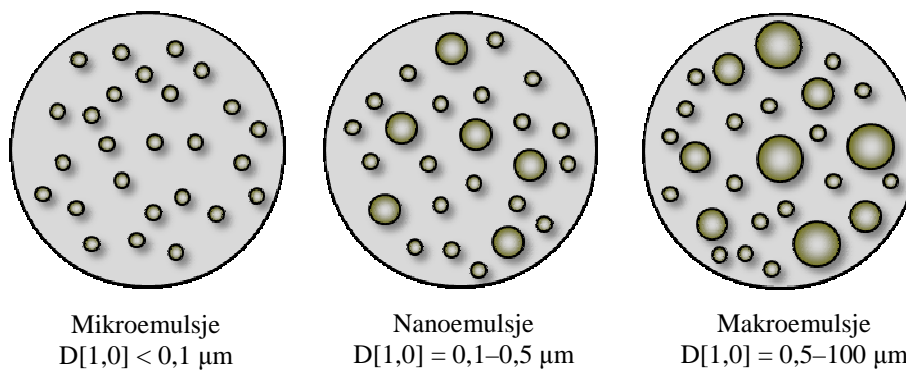


Ryc. 3. Membrany na cząstkach fazy rozproszonej: jedno-, dwu- i trójwarstwowa (A) oraz zawierająca cząstki emulgatora w stanie stałym (B)

Poszczególne warstwy mogą być komponowane w zależności od narażenia na czynniki środowiskowe, co umożliwia zwiększenie stabilności fizycznej i chemicznej układu. W literaturze przedmiotu sugeruje się również możliwość wykorzystania tego typu powłok jako regulatorów poziomu trawienia tłuszczu. Powierzchnia międzyfazowa (PM) olej-woda może też być stabilizowana cząstkami substancji powierzchniowo-czynnych (SPC) w stanie stałym, co umożliwia tworzenie emulsji typu Pickering (ang. *Pickering emulsion*) (rys. 3B). Membrana pokrywająca cząstki fazy rozproszonej w tych emulsjach tworzy gęsto upakowaną warstwę, stosunkowo dobrze przeciwdziałającą procesowi flokulacji i koalescencji w wyniku oddziaływań sterycznych i/lub elektrostatycznych. Emulsje typu Pickering mogą być wytwarzane jako o/w i w/o (Bouyer i in. 2012; Dickinson 2012; Kargar i in. 2012; Carrillo i in. 2015; Serदारोग्लu i in. 2015; Duffus i in. 2016; Tavernier i in. 2016; Yuan i Williams 2016).

Innym kryterium podziału emulsji jest rozmiar cząstek fazy rozproszonej. W opracowaniach naukowych stosowane są różne zakresy średnic w klasyfikacji emulsji, co utrudnia jednoznaczny interpretację wyników badań. Typowe przedziały średnic w odniesieniu do mikro-, nano- i makroemulsji przedstawiono na ryc. 4. Z podziału tego wynika, że nanoemulsje charakteryzują się większym rozmiarem cząstek niż mikroemulsje, co jest konsekwencją braku odpowiednich uregulowań normatywnych.

W literaturze przedmiotu znaleźć można również opracowania, w których autorzy nanoemulsje zaliczają do grupy mini- lub submikronowych (Solans i Solé 2012; Rao i McClements 2012; McClements 2012a; Santana i in. 2013; Saberi i in. 2014; Tabibiazar i in. 2015; Prasert i Gohtani 2016).



Ryc. 4. Zakresy średnic cząstek fazy rozproszonej $D[1,0]$ w mikro-, nano- i makroemulsjach

2. Podstawowe składniki emulsji

2.1. Tłuszcze

Fazę tłuszczową emulsji spożywczych w zdecydowanej większości stanowią oleje roślinne, m.in. dlatego, że w temperaturze pokojowej (warunki przechowywania) znajdują się w stanie ciekłym. Przy czym niektóre produkty spożywcze zaliczane do emulsji typu w/o, np. margaryna, zawierają zestalone oleje roślinne (poddane procesowi uwodornienia). Tłuszcz roślinny jest bardzo ważnym składnikiem emulsji, ponieważ: (i) rozpuszczają się w nim lipofilowe witaminy oraz substancje zapachowe; (ii) nadaje pożądaną lepkość i smakowość; (iii) wprowadza uczucie sytości, a ponadto (iv) zawiera kwasy tłuszczowe omega-3 i omega-6, które przyczyniają się do wytwarzania wielu hormonów oraz lipoprotein o niskiej gęstości (ang. *low-density lipoproteins*, LDL) i wysokiej gęstości (ang. *high-density lipoproteins*, HDL), kształtując tym samym cechy prozdrowotne produktów spożywczych. Główną wadą tłuszczu jest jego wysoka energetyczność (ok. 38 kJ/g) oraz podatność na procesy utleniania, które prowadzą do powstawania niepożądanego zapachu i smaku (Genot i in. 2003; Bortnowska 2015b; Qiu i in. 2015; Fernandez-Avila i in. 2016).

Do produkcji emulsji o/w mogą być stosowane oleje roślinne powszechnie dostępne i produkowane na dużą skalę, takie jak: sojowy, rzepakowy, palmowy, słonecznikowy, a ponadto olej lniany oraz oliwa z oliwek. Z kolei do wytwarzania emulsji typu w/o (margaryna) używa się obecnie głównie utwardzonego oleju palmowego, chociaż można stosować także inne oleje, takie jak: arachidowy, sojowy, słonecznikowy oraz rzepakowy. Oleje roślinne, w zależności od sposobu ich pozyskiwania, dzieli się na rafinowane oraz tłoczone na zimno. Rafinację olejów prowadzi się w celu zwiększenia ich stabilności chemicznej i mikrobiologicznej, co związane jest np. z inaktywacją enzymów oraz mikroorganizmów. Jednocześnie proces ten usuwa wiele składników cennych żywieniowo, takich jak: sterole roślinne (fitosterole), tokoferole, fosfolipidy, związki fenolowe, składniki mineralne. Podczas procesu rafinacji stosuje się bardzo wysokie temperatury, często przekraczające 200°C, a w takich warunkach nienasycone kwasy tłuszczowe przekształcają się w izomery *trans*, postrzegane obecnie jako przyczyna wielu chorób metabolicznych. Oleje tłoczone na zimno z kolei nie zawierają izomerów *trans* i są bogate w naturalne przeciwutleniacze (tokoferole, związki fenolowe), dlatego mogą być postrzegane jako dobry surowiec do produkcji emulsji o właściwościach prozdrowotnych. Duże zastosowanie w produkcji emulsji spożywczych typu majonezowego ma olej rzepakowy. Zawiera on zaledwie 6% nasyconych kwasów tłuszczowych, a także 26% tłuszczu z grupy n-6 i 10% z n-3 (w/w). Znajduje się w nim ponadto stosunkowo duża ilość substancji zaliczanych do grupy bioaktywnych, takich jak: tokoferole, witamina A, sterole oraz witamina K (Cichosz i Czeczot 2011; Wroniak i Ratusz 2014; Galus i Kadzińska 2015). Olej rzepakowy charakteryzuje się również bardzo dobrymi właściwościami w zakresie przydatności technologicznej. W literaturze przedmiotu uważa się, że jest znacznie bardziej odporny na utlenianie niż olej sojowy i słonecznikowy, a ponadto wykazuje większą lepkość oraz łatwo ulega emulgowaniu. Stosunkowo duża trwałość oleju rzepakowego przypuszczalnie wynika z tego, że

zawiera on znaczną ilość α -tokoferolu (ok. 180 mg/kg), substancji wykazującej wysoką aktywność przeciwrodnikową (Bortnowska 2008b; Karmowski i in. 2015). Sugeruje się ponadto, że stabilność chemiczną olejów w zakresie ich zmian oksydacyjnych zachodzących podczas przechowywania można zwiększyć dodatkiem ekstraktów z roślin zawierających substancje przeciwutleniające. Wykazano np., że wodno-etanolowe ekstrakty: tymianku (*Thymus vulgaris* L.), majeranku (*Origanum majorana* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), bazylii (*Ocimum basilicum* L.), cząbrku (*Satureja hortensis* L.), mięty pieprzowej (*Mentha piperita* L.) lub szalwii (*Salvia officinalis* L.) w ilościach 0,01 i 0,04% skutecznie przeciwdziałały procesowi utleniania oleju słonecznikowego, poddanego ogrzewaniu (30–300°C) (Kozłowska i Żontała 2015).

2.2. Substancje emulgujące

2.2.1. Podział i właściwości

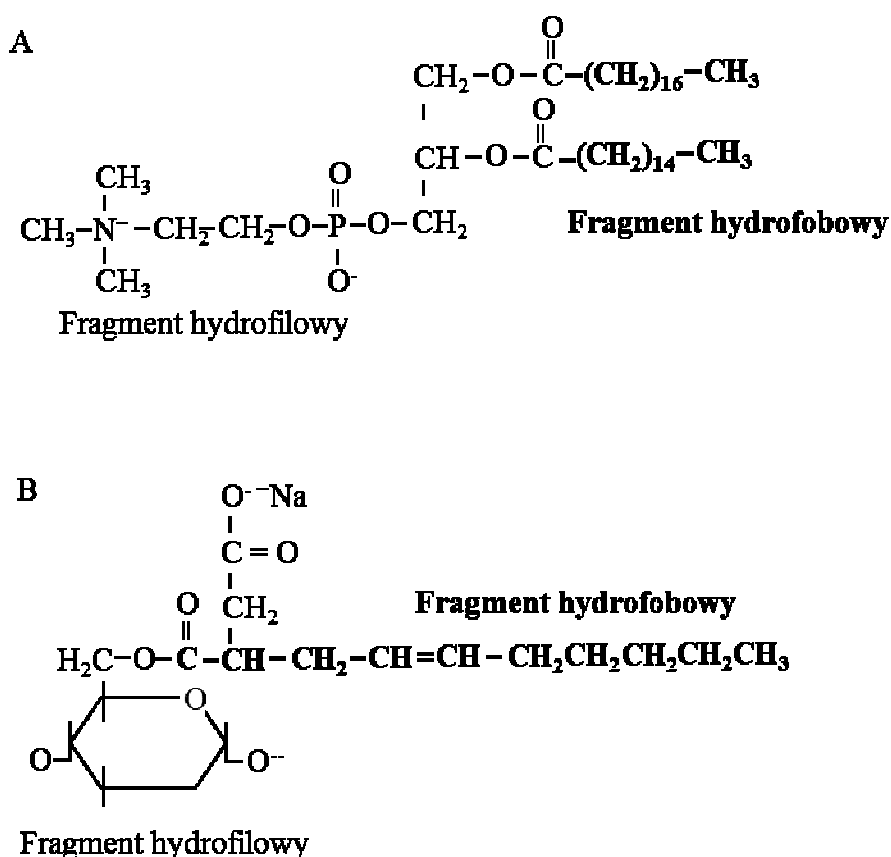
Substancje emulgujące należą do grupy związków powierzchniowo-czynnych (ang. *surface active agents*), które redukując napięcie międzyfazowe, umożliwiają zmniejszenie wielkości energii niezbędnej do rozproszenia fazy wewnętrznej w odpowiedniej ciągłej układzie emulsyjnego. Związki powierzchniowo-czynne często dzieli się na surfaktanty, charakteryzujące się stosunkowo małą masą molową, oraz biopolimery (białka i polisacharydy), w tym ich chemicznie modyfikowane pochodne. W wielu opracowaniach naukowych sugeruje się, że terminy „surfaktant” i „emulgator” są synonimami, jednak w przemyśle spożywczym raczej powinno używać się określenia „emulgator”. Białka i polisacharydy z kolei pomimo wykazywanej aktywności powierzchniowo-czynnej, szczególnie te niepoddane modyfikacji chemicznej, zaliczane są najczęściej do składników żywności (Dickinson 2003, 2009; McClements i Weiss 2005; McClements 2016).

W literaturze przedmiotu często stosuje się również podział na emulgatory naturalne i syntetyczne, nieobejmujący jednak biopolimerów, w których dokonano niewielkich modyfikacji chemicznych, takich jak np. kazeinian sodu, zaliczany czasem do emulgatorów naturalnych. Pod względem ładunku wykazywanego w roztworze substancje powierzchniowo-czynne można podzielić ponadto na: (i) jonowe (kationowe – grupa hydrofilowa ma charakter jonu dodatniego, niestosowane w przemyśle spożywczym oraz anionowe – grupa hydrofilowa ma postać jonu ujemnego); (ii) niejonowe (grupa hydrofilowa nie ma właściwości jonu) oraz (iii) amfoteryczne (mają zarówno grupę kationową, jak i anionową). Do grupy jonowych emulgatorów zalicza się białka i polisacharydy oraz ich pochodne, a także substancje o stosunkowo małej masie cząsteczkowej (ang. *low-molecular-weight surfactant*, LMWS), takie jak: sole (sodowe, potasowe, wapniowe, magnezowe) kwasów tłuszczowych (E 470a, 470b), stearyoilomleczan sodu i wapnia (E 481, E 482), mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych estryfikowane kwasem cytrynowym lub mono- i diacetylwinowym (E 472c, E 472e). Przykładem emulgatorów o właściwościach amfoterycznych są fosfolipidy (fosfatydyloetanolamina i fosfatydylocholina) wchodzące w skład lecytyny. Do emulgatorów niejonowych należą z kolei: mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych (E 471), mono- i diglicerydy kwasów

tłuszczowych estryfikowane kwasem octowym lub mlekowym (E 472a, E 472b), estry kwasów tłuszczowych i poliglicerolu (E 475), estry kwasów tłuszczowych i glikolu propylenowego (E 477), estry sacharozy i kwasów tłuszczowych (E 473), monostearynian sorbitolu, Span 60 (E 491), tristearynian sorbitolu, Span 65 (E 492), monostearynian polioksyetylenosorbitolu, Polisorbat 60 (E 435), tristearynian polioksyetylenosorbitolu, Polisorbat 65 (E 436), monooleinian polioksyetylenosorbitolu, Polisorbat 80 (E 433) (McClements i in. 2007; Bortnowska 2015b; Dickinson 2015; Wang i Marangoni 2016).

Specyficzną grupą SPC są te, które po zaadsorbowaniu się na PM (olej–woda) występują w postaci cząstek stałych (emulsje typu Pickering). W literaturze przedmiotu uważa się, że do stabilizacji emulsji typu Pickering mogą być zastosowane: (i) kryształy tłuszczu (np. monoglicerydy kwasów tłuszczowych, w tym estryfikowane kwasem cytrynowym); (ii) polisacharydy (np. modyfikowana fizycznie skrobia z kukurydzy, nanokryształy skrobi poddane hydrolizie kwasowej lub modyfikacji chemicznej bezwodnikiem kwasu oktenylobursztynowego, nanokryształy celulozy, celuloza mikrokryształiczna, metyloceluloza, chityna, chitozan); (iii) białka (np. β -laktoglobulina – BLG, laktoferyna i jej kompleksy z polisacharydami, albumina osocza – BSA, żelatyna, izolat białek sojowych, białka grochu, zeina), a także woski, flawonoidy, guma ksantanowa (GK), w tym szelakowa (ang. *shellac-xanthan gum*) i inne (Dickinson 2010; Duffus i in. 2016; Perdones i in. 2016; Tavernier i in. 2016; Yuan i Williams 2016).

Uważa się, że do najważniejszych cech dobrego emulgatora spożywczego należą: (i) skuteczne (określone wymogami technologicznymi) obniżanie napięcia międzyfazowego (olej–woda) i tworzenie membran na cząstkach fazy rozproszonej, stabilizujących układ w wyniku strukturalnych i elektrostatycznych interakcji; (ii) kompatybilność z innymi składnikami emulsji; (iii) stabilność chemiczna; (iv) nietoksyczność oraz (v) brak lub pożądana dla określonego produktu smakowość i barwa. Ponadto uważa się, że SPC zaadsorbowane na PM (olej–woda) powinny: opóźniać krystalizację fazy olejowej, wchodzić w interakcje z zagęstnikami (np. hydrokoloidami znajdującymi się w fazie wodnej) oraz poprzez tworzenie ściśle upakowanej lepkosprężystej powłoki wpływać na kontrolowany przepływ tlenu i wody pomiędzy poszczególnymi fazami układu emulsyjnego. Miarą efektywności emulgatora są jego specyficzne właściwości fizykochemiczne, takie jak: (i) aktywność powierzchniowa; (ii) aktywność i wydajność emulgowania; (iii) kinetyka adsorpcji; (iv) poziom redukcji napięcia międzyfazowego; (v) przydatność do stabilizacji układu emulsyjnego; (vi) stężenie powierzchniowe emulgatora na cząstkach fazy rozproszonej zapewniające jej stabilność w układzie i inne. Aktywność powierzchniową emulgatora odnosi się do jego właściwości wynikającej z adsorpcji na PM olej–woda, co wiąże się z obecnością w cząsteczce grup o właściwościach hydrofobowych (niepolarnych) oraz hydrofilowych (polarnych) wykazujących odpowiednio powinowactwo do fazy lipidowej i wodnej (Bortnowska 2008b; Dickinson 2009; Zeeb i in. 2011; Serdaroğlu i in. 2015; McClements 2016; Ozturk i McClements 2016). Na ryc. 5A i B zamieszczono wzory strukturalne fosfatydylocholicy oraz soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450) z podziałem na fragmenty hydrofilowe oraz hydrofobowe. Miarą proporcji grup polarnych i niepolarnych w cząsteczce emulgatora jest wskaźnik równowagi hydrofilowo-hydrofobowej (ang. *hydrophile-lipophile balance*, HLB).



Ryc. 5. Fragmenty hydrofilowe i hydrofobowe (czcionka pogrubiona): fosfatydylocholiny (A) oraz soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (B)

W literaturze przedmiotu znaleźć można różne sposoby obliczania tego wskaźnika. Do najczęściej stosowanych należą metody Griffina i Daviesa. W metodzie Griffina wielkość HLB wyznacza się ze wzoru:

$$\text{HLB} = (L/T_C) \times 20$$

gdzie: L – masa cząsteczkowa fragmentu hydrofilowego;

T_C – całkowita masa cząsteczkowa surfaktantu.

Według powyższego wzoru HLB czystego węglowodoru oraz hydrofilu (np. sacharydu) wynosi odpowiednio 0 oraz 20. Metoda ta pozwala na wyznaczenie wielkości HLB mających jedynie orientacyjne znaczenie, ponieważ nie uwzględnia wpływu budowy chemicznej emulgatora na ten parametr. Stosowana jest w praktyce głównie do określenia przydatności technologicznej emulgatorów niejonowych. Znacznie szersze zastosowanie ma metoda Daviesa polegająca na tym, że udziałom grup hydrofilowych oraz hydrofobowych przypisano odpowiednio wartości liczbowe dodatnie i ujemne. Wskaźnik HLB według Daviesa wyznacza się ze wzoru:

$$\text{HLB} = \Sigma (\text{wartości hydrofilowe}) - \Sigma (\text{wartości hydrofobowe}) + 7$$

Stosunkowo duże wartości hydrofilowe mają grupy: $-\text{SO}_3\text{Na}$ (+38,7); $-\text{COOK}$ (+21,1); $-\text{COONa}$ (+19,1); natomiast niskie: $-\text{COOH}$ (+2,1); $-\text{OH}$ – pierścień sorbitanu (+1,3); $-\text{OH}$ –

inne (+1,9). Wartości liczbowe dla najczęściej występujących grup lipofilowych: $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ wynoszą $-0,475$, natomiast dla pierścienia benzenowego $-1,662$ (Tadros 2013). Wskaźniki HLB wyznaczone według Gryffina i Daviesa różnią się np. dla Spanu 80 oraz 60 i wynoszą odpowiednio: 4,3 oraz 5 i 4,7 oraz 5,7. W odniesieniu z kolei do innych emulgatorów są bardzo zbliżone i dla Spanu 40 oraz Spanu 20 przyjmują odpowiednio 6,7 i 6,6 oraz 8,6 i 8,5. HLB można też wyznaczyć metodą odwrócenia (inwersji) faz emulsji przy zmiennej temperaturze i stałym składzie (ang. *phase inversion temperature*, PIT) (Ontiveros i in. 2014). Wskaźnik HLB dostarcza informacji o funkcjonalności emulgatorów, które o wartościach liczbowych 3–6 oraz 8–18 tego parametru stosowane są odpowiednio do wytwarzania emulsji typu woda-w-oleju (w/o) oraz olej-w-wodzie (o/w) (McClements 2008). Istnieje ponadto możliwość uzyskania, w pewnym zakresie, wielkości pośrednich HLB poprzez zmieszanie emulgatorów w odpowiedniej proporcji, stosując poniższą zależność:

$$\text{HLB} = X_A \times \text{HLB}_A + X_B \times \text{HLB}_B$$

gdzie: X_A i X_B – ułamki wagowe surfaktantów o wartościach liczbowych, odpowiednio HLB_A i HLB_B (ang. *X_A and X_B , are the weight fractions of surfactants with HLB_A and HLB_B , respectively*) (Tadros 2013).

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że wraz ze wzrostem liczby HLB emulgatora można uzyskać cząstki o mniejszych rozmiarach, zachowując takie same warunki emulgowania (Komaiko i McClements 2015). Należy podkreślić, że wyznaczone teoretycznie wskaźniki HLB mają często w układach złożonych znaczenie orientacyjne, ponieważ znajdujące się tam inne substancje (białka, fosfolipidy, polisacharydy) również wpływają na ogólny poziom emulgowania tłuszczu. Inny sposób przewidywania typu emulsji (mikroemulsji) zaproponował Winsor, który wprowadził wskaźnik będący ilorazem energii kohezji surfaktantu do oleju i wody (ang. *Winsor interaction energies ratio*, R):

$$R = A_{CO}/A_{CW}$$

gdzie: A_{CO} – energia kohezji (spójności) pomiędzy cząsteczkami surfaktantu i oleju (ang. *cohesive energy between surfactant-oil molecules*);

A_{CW} – energia kohezji pomiędzy cząsteczkami surfaktantu i wody (ang. *cohesive energy between surfactant-water molecules*).

Uważa się, że wielkość wskaźnika R jest miarą hydrofilowo-hydrofobowych właściwości surfaktantu (Nguyen i Sabatini 2011). Wskaźnik R może też być zapisany w postaci równania uwzględniającego oddziaływanie pomiędzy fragmentami lipofilowymi (L) i hydrofilowymi (H) cząsteczek surfaktantu a cząsteczkami fazy wodnej (W) i olejowej (O):

$$R = A_{CO} - A_{OO} - A_{LL}/A_{CW} - A_{WW} - A_{HH}$$

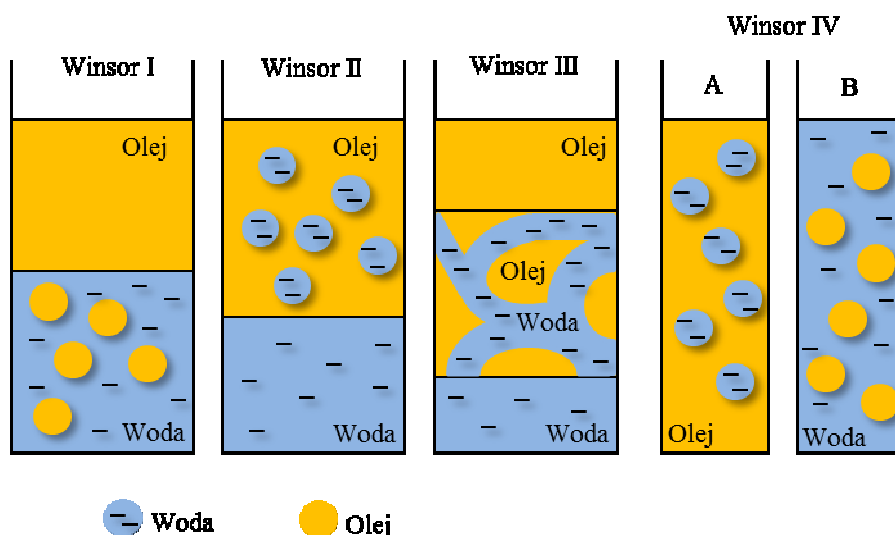
gdzie: A_{OO} – energia kohezji pomiędzy cząsteczkami oleju (ang. *cohesive energy between oil-oil molecules*);

A_{LL} – energia kohezji pomiędzy częściami hydrofobowymi surfaktantu (ang. *cohesive energy between hydrophobic-hydrophobic parts of surfactant molecules*);

A_{WW} – energia kohezji pomiędzy cząsteczkami wody (ang. *cohesive energy between water-water molecules*);

A_{HH} – energia kohezji pomiędzy częściami hydrofilowymi surfaktantu (ang. *cohesive energy between hydrophilic-hydrophilic parts of surfactant molecules*).

Przyjmuje się, że gdy: (i) $R < 1$, to powstaje układ typu o/w z nadmiarem fazy olejowej (Winsor I); (ii) $R > 1$, tworzy się struktura typu w/o z nadmiarem fazy wodnej (Winsor II); (iii) $R = 1$, powinowactwo fragmentu lipofilowego i hydrofilowego do odpowiednio fazy olejowej i wodnej jest równoważone; według Winsora znajdują się tam trzy fazy ciekłe będące w stanie równowagi faz. Mikroemulsję stanowi faza środkowa, górną – olej, a dolną – woda (Winsor III). Układ stanowiący przezroczystą fazę emulsji (w/o lub o/w) klasyfikowany jest jako Winsor IV (Perazzo i in. 2015). Graficzną ilustrację faz tworzonych w mieszaninach zawierających wodę, surfaktant i olej przedstawiono na ryc. 6.



Ryc. 6. Klasyfikacja mikroemulsji według Winsora

Wpływ struktury geometrycznej surfaktantów na właściwości tworzących się micel i emulsji można wyznaczyć poprzez obliczenie wielkości parametru upakowania (ang. *packing parameter, Pp*) (McClements 2008):

$$Pp = V_H / L_H \cdot A_o$$

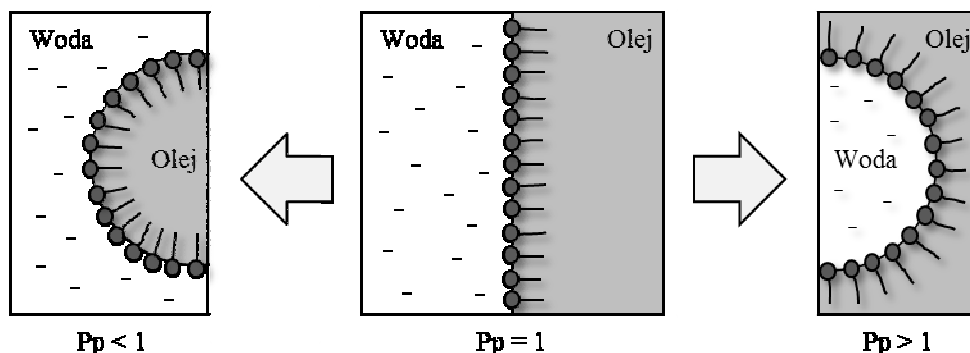
gdzie: V_H – objętość zajmowana przez grupę hydrofobową surfaktantu (ang. *volume of the hydrophobic tail*);

L_H – długość grupy hydrofobowej (ang. *length of the hydrophobic tail*);

A_o – pole powierzchni przekroju poprzecznego grupy hydrofilowej (ang. *cross-sectional area of the hydrophilic head group*).

Molekuły surfaktantów łącząc się, tworzą membranę z charakterystyczną krzywizną zależną od wartości Pp . Jeżeli $Pp < 1$, to krzywizna jest wypukła (ang. *convex curvature*), dla $Pp = 1$ membrana ma kształt płaski (ang. *zero curvature*), a gdy $Pp > 1$, powstaje krzywizna wklęsła (ang. *concave curvature*). Podobną interpretację przyjmuje się dla wskaźnika R (Santana i in.

2013). Na ryc. 7 przedstawiono zależność pomiędzy molekularną geometrią surfaktantu a tworzoną optymalną krzywizną. Aktywność emulgowania (ang. *emulsifying activity*, EA) substancji powierzchniowo-czynnej odnosi się do jej właściwości tworzenia układu emulsyjnego. W literaturze przedmiotu do oceny wielkości EA stosuje się różne metody. Przyjmuje się np., że miarą EA jest: (i) proporcja wydzielonej fazy emulsyjnej do całkowitej początkowej objętości emulsji; (ii) powierzchniowe stężenie emulgatora na cząstkach fazy rozproszonej; (iii) średnia średnica cząstek, którą interpretuje się następująco: im mniejsza jest jej wielkość, tym większa jest aktywność emulgowania SPC (Campbell i in. 2005; Yust i in. 2010).



Ryc. 7. Układ fazy olejowej i wodnej w zależności od parametru upakowania (P_p)

Wu i in. (2014) wykazali np., że przy wzroście proporcji rozpuszczalnych polisacharydów nasion soi (ang. *soluble soybean polysaccharide*, SSPS) do olejku tymiarkowego, wynoszących 5 : 1 → 9 : 1, odpowiednie zmiany międzyfazowego stężenia (ang. *interfacial concentration*, Γ) SSPS mieściły się w zakresie: 80–140 mg·m⁻². Bardzo często przy ocenie aktywności emulgowania białek stosuje się metodę turbidymetryczną (ang. *turbidimetric technique*) pomiaru absorbancji, która polega na wyznaczaniu wskaźnika aktywności emulgowania (ang. *emulsifying activity index*, EAI). Wskaźnik ten ma wymiar powierzchni stabilizowanej przez określoną masę SPC i jest zależny m.in. od: stężenia fazy rozproszonej i stopnia jej dyspersji oraz ilości, a także rodzaju SPC w układzie. Wielkość EAI (m²·g⁻¹) wyznacza się ze wzoru:

$$EAI = 2T_B / \Phi_V \times C_S$$

przy czym $T_B = 2,303A/L$,

gdzie: Φ_V – ułamek objętościowy frakcji olejowej (ang. *volume fraction of the dispersed phase*);

C_S – stężenie substancji powierzchniowo-czynnej w fazie wodnej przed formowaniem emulsji;

A – absorbancja (ang. *absorbance*);

L – długość drogi optycznej w kuwecie (ang. *pathlength of cuvette*).

Pearce i Kinsella (1978) uważają, że wartości EAI, przy pH 8 dla: albuminy jaja, białek serwatki, kazeinianu sodu oraz dodecylosiarczanu sodu wynoszą odpowiednio: 49, 101, 166 oraz 212 m²·g⁻¹. W opracowaniu Matemu i in. (2011) zwrócono uwagę, że proces acylowania białek soi (ang. *soy proteins acylation*), związany z wytworzeniem kowalencyjnych wiązań pomiędzy grupami karboksylowymi kwasów tłuszczowych i wolnymi grupami aminowymi

białek (ang. *covalent linkages between carboxyl groups of fatty acids and free amino groups of proteins*), znacząco wpływał na zwiększenie EAI, szczególnie β -konglicyniny (7S) oraz glicyniny (11S) i w mniejszym wymiarze białek soi poddanych kwasowej precypitacji (ang. *acid-precipitated protein*). Khan i in. (2014) zauważyli z kolei, że białka pozyskiwane z wilca ziemniaczanego – słodkich ziemniaków (ang. *sweet potato protein*) poddane wysokociśnieniowej obróbce (ang. *hydrostatic pressure treatment*) w zakresie 0,1–600 MPa wykazywały wartości parametru EAI, przy pH 3, 7 i 8, odpowiednio w zakresach: 34–41, 35–46 i 33–48 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Badania wykonywane przez Gong i in. (2016) dowiodły znacznej zależności EAI od pH, który dla izolatu białka orzeszków ziemnych wynosił ok.: 110 (pH 2), 2 (pH 4,5) oraz 150 (pH 12) $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Podobne sugestie wynikają z badań Wani i in. (2015), którzy udowodnili, że przy pH: 3, 5 i 7 wartości EAI dla izolatu białka pozyskiwanego z czarnej fasoli wynosiły odpowiednio: 10,1, 4,8 i 30,8 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Autorzy sugerowali również, że wpływ na wielkość EAI miało proteolityczne oddziaływanie papainy, np. przy pH 3 i czasie oddziaływania enzymu 0, 30 i 60 min wartości mierzonego parametru wynosiły odpowiednio: 12; 21,1 i 5,3 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Z innych badań wynika, że na aktywność emulgowania białek wpływ ma termiczny proces ich denaturacji. Thaiphanit i Anprung (2016) zauważyli, że proces ogrzewania białka (85°C) pozyskiwanego z orzecha kokosowego zwiększał EAI, przy czym znacznie bardziej w odniesieniu do emulgowanego oleju słonecznikowego niż oliwy z oliwek.

Kolejnym parametrem wyznaczanym w ocenie właściwości funkcjonalnych emulgatorów jest wydajność emulgowania (ang. *emulsifying capacity, EC*). Z przeglądu literatury wynika, że wielkość tego parametru najczęściej odnosi się do ilości oleju zemulgowanego przez jednostkę masy emulgatora (Bortnowska i Tokarczyk 2009). Jakkolwiek w niektórych opracowaniach naukowych do wyrażenia wielkości EC autorzy posługują się wskaźnikami proporcji faz emulsji po rozdzieleniu wymuszonym wirowaniem. Dokonywana w ten sposób ocena wydajności emulgowania nie różni się zatem od odpowiedniej stosowanej do charakteryzowania stabilności emulsji. Wydajność emulgowania poszczególnych substancji wykazujących aktywność powierzchniowo-czynną różni się i może być zależna od wielu czynników. Özalp i Karakaya (2009) wykazali, że wydajność emulgowania mięsa pozyskiwanego z ośmiornicy, kalmarów oraz mątwy wynosiła średnio ok. 291 g oleju $\cdot \text{g}^{-1}$ mięsa. Według Seher (2006) wielkość parametru EC zależała od składu mieszaniny ekstrakcyjnej użytej do wydzielenia białek i dla mięsa pozyskiwanego z piersi kurczaka (2,5% NaCl, 0,5% K_2HPO_4) wynosiła 235 g oleju $\cdot \text{g}^{-1}$ białka. Zdecydowanie niższą wartość EC wykazują polisacharydy. Rodriguez Furlán i in. (2014) zauważyli, że dla inuliny wartość tego parametru wynosiła ok. 95 g oleju $\cdot \text{g}^{-1}$. Podobne obserwacje wynikają z badań Han i Lim (2012), którzy ustalili, że wielkość EC była zależna od zawartości amylozy w skrobi ryżowej i przyjmowała wartości 151 i 166 g oleju $\cdot \text{g}^{-1}$ skrobi natywnej zawierającej odpowiednio 0 i 28,1% (w/w) amylozy. Autorzy wykazali ponadto, że proces modyfikacji chemicznej zwiększa wydajność emulgowania, ponieważ po poddaniu skrobi estryfikacji bezwodnikiem kwasu n-oktenylobursztynowego przy stopniu podstawienia (ang. *degree of substitution*) 0,023 (skrobia woskowa) i 0,025 (skrobia wysokoamylozowa) wartości EC wynosiły odpowiednio ok. 207 i 217 g oleju $\cdot \text{g}^{-1}$ skrobi. Wzrost wielkości EC zależny był również od zastosowanej dawki promieniowania gamma (ang. *dose of gamma-rays*), przy jej optymalnej wartości 10 kGy.

2.2.2. Białka

W grupie biopolimerów stosowanych jako emulgatory szczególnie ważną rolę pełnią białka będące liniowymi produktami kondensacji ok. 20 różnych α -L-aminokwasów połączonych wiązaniami trans-peptydowymi. Liczba oraz sekwencja ułożenia poszczególnych aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym determinuje: masę cząsteczkową, konformację, hydrofobowość, ładunek elektryczny oraz zakres fizycznych i chemicznych interakcji białek z innymi składnikami znajdującymi się w żywności. Masy cząsteczkowe białek mieszczą się w granicach od 10 000 Da (daltonów) do kilku milionów Da. Z uwagi na bardzo złożoną budowę molekularną białka charakteryzują się wielopolarnością (ang. *multipolar*), co odróżnia je od innych jonowych substancji powierzchniowo-czynnych, które zasadniczo są bipolarne (ang. *bipolar*).

Ze względu na skład chemiczny białka można podzielić na (i) proste, takie jak albuminy (obecne w mleku, jajach), globuliny (immunoglobuliny, fibrynogen, miozyna, znajdujące się w mleku i jajach, mięsie), skleroproteiny (kolagen) oraz (ii) złożone, które oprócz aminokwasów zawierają składnik niebiałkowy, nazywany grupą prostetyczną, do których zalicza się m.in.: metaloproteiny, chromoproteiny, glikoproteiny, lipoproteiny; fosfoproteiny (kazeina, białka żółtka jaja). Ze względu z kolei na kształt cząsteczki białka można podzielić na: (i) globularne, rozpuszczalne w wodzie (np. albuminy, globuliny) oraz (ii) fibrylarne, nierozpuszczalne w wodzie, o cząsteczkach w kształcie włókien (np. kolagen). W literaturze przedmiotu stosuje się też podział na białka: (i) obojętne (albuminy, globuliny); (ii) kwaśne (prolaminy, gluteliny) oraz (iii) zasadowe (histony, protaminy). Białka zawierają średnio 50–55% (w/w) węgla, 6–7% (w/w) wodoru, 20–23% (w/w) tlenu oraz 0,2–0,3% (w/w) siarki (Augustin i Hemar 2009; Jones i McClements 2010; Bouyer i in. 2012; Hoffmann i Reger 2014; Sikorski 2014a, 2014b). Rodzima konformacja białek, w której hydrofobowe fragmenty znajdują się głównie we wnętrzu cząsteczki, utrzymywana jest w większości w wyniku interakcji niekowalencyjnych, takich jak: wiązania wodorowe, oddziaływania elektrostatyczne i sił van der Waalsa (ang. *van der Waals interactions*, VDW). Występowanie słabych wiązań niekowalencyjnych umożliwia stosunkowo łatwe zmiany konformacji białka. Na przykład, gdy białko znajdzie się na granicy faz, ulega częściowemu rozfałdowaniu i jego łańcuchy hydrofobowe przenikają do fazy niepolarniej (oleju, powietrza), natomiast hydrofilowe do fazy polarnej, najczęściej wody (Krägel i Derkatch 2010; Zeeb i in. 2011; Ozturk i McClements 2016). Proces zwiększenia hydrofobowości powierzchniowej białek ma istotne znaczenie w poprawie ich funkcjonalnych właściwości w zakresie stabilizowania emulsji, ponieważ umożliwia lepszą adsorpcję na powierzchni cząstek rozproszonej fazy olejowej (Hoogenkamp 2011; Chang i in. 2016).

W literaturze przedmiotu sugeruje się, że zwiększenie aktywności i wydajności emulgowania białek można uzyskać w wyniku modyfikacji: fizycznych, chemicznych lub enzymatycznych (Krägel i Derkatch 2010; Jiang i Xiong 2015). W zakresie metod fizycznych uważa się, że pozytywnie wpływa proces oddziaływania temperaturą, szczególnie ogrzewanie. Efekt ten przypuszczalnie związany jest z rozfałdowaniem łańcucha polipeptydowego i odsłonięciem reszt aminokwasów hydrofobowych. Występowanie tej zależności potwierdzono w wie-

lu doniesieniach naukowych wykonywanych z użyciem białek pochodzących z różnych surowców. Yin i in. (2014) zauważyli, że hydrofobowość powierzchniowa białek pozyskiwanych z części białkowej jaja (ang. *egg white proteins*) wyraźnie wzrosła po poddaniu ich suszeniu w 85°C przez 3 dni. Podobne wnioski wynikają z badań Gong i in. (2016), którzy zastosowali suszenie rozpyłowe (ang. *spray-drying method*) izolatu orzeszków ziemnych (ang. *peanut protein isolate*). Jednocześnie w literaturze przedmiotu uważa się, że przekroczenie charakterystycznych wielkości temperatury dla określonego białka prowadzi do jego całkowitej nierozpuszczalności w wodzie i powoduje drastyczny spadek aktywności emulgującej. Z niektórych doniesień wynika, że czynnikiem umożliwiającym kontrolowany proces denaturacji białek może być dodatek niektórych składników, w tym kształtujących – na wymaganym poziomie – siłę jonową układu (Jones i McClements 2010). Campbell i in. (2005) wykazali, że użycie mieszaniny chlorku sodu i sacharozy pozwoliło na zachowanie stosunkowo dobrych właściwości emulgujących składników całego jaja oraz żółtka, poddanych ogrzewaniu w 80°C przez 2 min. W literaturze przedmiotu napotkać można różne sugestie co do oddziaływania niskich temperatur na aktywność emulgującą białek. W odniesieniu do białek mięśniowych uważa się, że proces tzw. zimnej denaturacji (ang. *protein cold denaturation*), nazywany też efektem hydrofobowym (ang. *hydrophobic effect*), powoduje sfałdowanie łańcucha polipeptydowego, a tym samym efekt przeciwny do opisanego powyżej, związanego z oddziaływaniem podwyższonej temperatury. Krzezińska (2016) dowiodła, że mięso wołowe i wieprzowe było bardziej podatne na niekorzystne zmiany zimnej denaturacji niż mięso z kurczaka i indyka. Badania Gong i in. (2016) wykazały jednak, że proces zamrażalniczego suszenia (ang. *freeze-drying method*) izolatu orzeszków ziemnych umożliwił uzyskanie lepszych właściwości emulgujących niż przy użyciu suszenia rozpyłowego.

Białka z uwagi na obecność grup reaktywnych (aminowych, hydroksylowych, imidazolowych, tiolowych, tioeterowych) stosunkowo łatwo ulegają przemianom chemicznym. Procesem często zachodzącym samorzutnie w układach zawierających białka jest alkilowanie, będące efektem oddziaływań ze związkami karbonyłowymi powstającymi podczas utleniania lipidów. W literaturze przedmiotu uważa się, że dużą podatność w tym zakresie wykazują reszty: lizyny, metioniny, histydyny i treoniny. Alkilowane pochodne mają inną konformację i właściwości funkcjonalne niż białka w stanie natywnym, a ponadto mogą wykazywać mniejszą wartość biologiczną. Glikozylacja grup aminowych białka może zmieniać jego hydrofilowość, ładunek oraz objętość łańcuchów bocznych, co wpływa na rozpuszczalność i zdolność do asocjacji.

Kolejnym sposobem modyfikacji chemicznej białek jest acylowanie, polegające na przyłączeniu grupy acylowej (RCO^-) do aminokwasów. Szybkość tego procesu zależy od właściwości czynnika acylującego i grupy nukleofilowej, pH środowiska, konformacji acylowanego białka oraz obecności inhibitorów. Uważa się, że najłatwiej acylują się pierwszorzędowe grupy aminowe, zwłaszcza ϵ -aminowe grupy reszt lizyny, stosunkowo dobrze także grupa fenolowa tyrozyny, przy czym acylowe pochodne histydyny i cysteiny szybko hydrolizują. Sugeruje się także, że acylowanie grup hydroksylowych reszt seryny i treoniny zachodzi po prze-reagowaniu grup aminowych. Proces acylowania powoduje zmiany w strukturze białek i w konsekwencji ich właściwości funkcjonalnych, które są następstwem: częściowej denatu-

racji, zmniejszenia lub zwiększenia hydrofobowości i innych (Sikorski 2014a). Matemu i in. (2011) wykazali, że proces acylowania białek soi: β -konglicynina, 7S, glicynina, 11S oraz pozyskanych w wyniku kwasowej precypitacji (ang. *acid-precipitated protein*) z użyciem estrów nasyconych kwasów tłuszczowych powodował wzrost hydrofobowości powierzchniowej 7S, brak zmian 11S i zmniejszenie wielkości tego parametru w odniesieniu do kwasowej precypitacji. W innych badaniach (Yang i in. 2016) dowiedziono, że proces sukcylnylacji (ang. *succinylation*), czyli acylowania bezwodnikiem kwasu bursztynowego, przyczyniał się do zmniejszania hydrofobowości powierzchniowej białek, co umożliwiło hydratację miceli kazeinowych znajdujących się w mleku. Ważnym i również skutecznym sposobem modyfikacji chemicznej białek jest ich fosforylacja, która polega na przyłączaniu grup fosforanowych do reszt seryny, tyrozyny, treoniny, histydyny i lizyny. Proces fosforylacji powoduje wzrost rozpuszczalności powstałych preparatów białkowych i wpływa na zmianę wielkości punktu izoelektrycznego białek. Yin i in. (2014) użyli pirofosforanu sodu do fosforylowania białek znajdujących się w części białkowej jaja, wykazując ponad dwukrotny wzrost hydrofobowości powierzchniowej, a także znaczne zwiększenie aktywności przeciwutleniającej w porównaniu do białka niepoddanego procesowi fosforylacji.

Dużą uwagę zwraca się ponadto na możliwość stosowania w formie emulgatorów kompleksów białkowo-polisacharydowych, które mogą być otrzymywane w wyniku stosowania reakcji typowo chemicznych (wiązania kowalencyjne) lub innych interakcji, takich jak: oddziaływania hydrofobowe i elektrostatyczne oraz wiązania wodorowe. Efektem reakcji białek z cukrami redukującymi są skondensowane N-podstawne glikozyloaminy (aldozoamina lub ketoaminoaminy), które ulegają przekształceniu, tworząc m.in. produkty przegrupowania Amadori. Następnie w wyniku kolejnych przemian (reakcje Maillarda) powstaje wiele małowczątkowych związków o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Augustin i Hemar (2009) uważają, że produkty reakcji Maillarda (ang. *Maillard reaction products*, MRP) charakteryzują się mniejszymi wartościami pH i lepszą rozpuszczalnością w środowisku kwaśnym niż białka. Autorzy sugerują ponadto, że zaadsorbowane na cząstkach fazy olejowej MRP tworzą grubsze membrany niż proteiny oraz umożliwiają lepszą stabilizację steryczną układu emulsyjnego. Troise i in. (2016) dowiedli z kolei, że produkty przegrupowania Amadori, glukoza-leucyna, glukoza-fenylalanina, poddane oddziaływaniu termicznemu (2–8 min, 131°C) umożliwiały formowanie kropel oleju, odpowiednio w zakresach: 0,183–0,200 μm oraz 0,220–0,191 μm , przy wartościach pola PM wynoszącej odpowiednio: 43,38–40,14 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ oraz 39,98–45,62 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Interakcje pomiędzy białkami i polisacharydami wykorzystywane są również do tworzenia membran wielowarstwowych (ang. *polylayered interfacial coatings*) na cząstkach rozproszonej fazy olejowej, które umożliwiają lepszą stabilizację układu w wyniku oddziaływań sterycznych i elektrostatycznych, szczególnie w warunkach zmiennych wielkości: pH, siły jonowej i temperatury (McClements 2006; Dickinson 2009; Jones i McClements 2010; Zeeb i in. 2011; Bouyer i in. 2012; Li i in. 2012; McClements 2012b; Tomasik 2014; Chen i in. 2015; Bortnowska 2015a). Należy również podkreślić, że od wielu lat coraz powszechniej stosuje się enzymatyczną hydrolizę białek w celu uzyskania produktów charakteryzujących się wysoką wydajnością do emulgowania lipidów. Proces ten związany jest z rozszczepieniem wiązań peptydowych w łańcuchach białek na mniejsze fragmen-

ty. Jako enzymy stosuje się najczęściej: pepsynę, trypsynę, chymotrypsynę, papainę i ficynę. Uważa się, że w ogólnym wymiarze hydroliza prowadzi do zwiększenia ekspozycji grup hydrofobowych, co zwiększa aktywność emulgowania białek (Yust i in. 2010). W literaturze przedmiotu sugeruje się, że produkty enzymatycznej degradacji białek wykazują zróżnicowaną przydatność technologiczną do stabilizacji układu emulsyjnego. Augustin i Hemar (2009) uważają, że hydroliza prowadząca do powstawania małych peptydów jest niekorzystna, ponieważ mają one nieodpowiedni rozkład hydrofobowych i hydrofilowych obszarów (ang. *lack an adequate distribution of hydrophobic and hydrophilic sites*). Małe peptydy ponadto nie tworzą zwartego filmu na cząstkach fazy rozproszonej w przeciwieństwie do odpowiednich dużych, które charakteryzują się wielopunktową możliwością oddziaływania w obszarze powierzchni międzyfazowej (ang. *multiple anchor points at an interface*). Potwierdzeniem powyższych sugestii są wyniki badań Yust i in. (2010), którzy poddali hydrolizie (1–10%, enzym alkalaza) białka ciecierzycy pospolitej (ang. *chickpea protein*). Autorzy zauważyli wzrost mierzonych wartości EA oraz stabilności emulsji (ang. *emulsion stability*, ES) przy stopniu hydrolizy (ang. *degree of hydrolysis*) mieszczącym się w zakresie 0–2,9% i dalszy spadek wielkości tych parametrów przy wzroście stopnia hydrolizy do 10%. Podobne sugestie wynikają z doniesienia Wani i in. (2015), którzy wykazali, że optymalny czas proteolitycznego oddziaływania papainy (enzym z klasy proteaz) w celu uzyskania hydrolizowanych izolatów białka pozyskiwanych z fasoli typu mungo (łac. *Phaseolus mungo* L.) wynosił 30 min, a dalsze zwiększanie czasu trwania tego procesu choć powodowało znaczący wzrost wielkości stopnia hydrolizy, to jednak przyczyniało się do zmniejszania aktywności emulgowania oraz stabilności emulsji.

Do metod umożliwiających zwiększenie hydrofobowości powierzchniowej białek (ang. *protein surface hydrophobicity*, PSH) zalicza się również ich rozdrabnianie do wielkości mikrocząstek. Z badań Sun i in. (2015) wynika, że białka serwatki poddane homogenizacji przez 8 godz. lub homogenizacji i następnie liofilizacji również przez 8 godz. zmieniały wymiary cząstek (średnica medialna, $d_{(0,5)}$) w odniesieniu do próbek kontrolnych, jak następuje: 51,1–8 μm lub 13,3–8,9 μm , przy wartościach PSH wynoszących odpowiednio 99,8–175,7 lub 231,5–561,2. Według Chang i in. (2015) czynnikiem modulującym wielkości PSH może być pH układu. Autorzy dowiedli, że zmiana pH (3–7) wpływała na kształtowanie parametru PSH wyrażonego w jednostkach a.u. (ang. *arbitrary units*) dla izolatów białek grochu, soi, soczewicy oraz rzepaku w zakresach: 8–4, 19–3, 22–1 oraz 12–2, odpowiednio. Zmiany hydrofobowości powierzchniowej białek wpływają także na wielkość interakcji z innymi niepolarnymi składnikami znajdującymi się w układzie emulsyjnym.

Właściwości emulgowania lipidów wykazują zarówno białka zwierzęce, jak i roślinne. Zastosowanie tych składników (biokomponentów) jako substancji emulgujących fazę lipidową jest szczególnie przydatne w produkcji żywności niskokalorycznej o właściwościach prozdrowotnych, ponieważ charakteryzują się one wartością energetyczną zbliżoną do węglowodanów, znacznie mniejszą niż emulgatory lipidowe, a także dużą wartością odżywczą. Ważnymi cechami funkcjonalnymi białek (w tym pochodnych) są również ich właściwości żelujące oraz przeciwutleniające (Bortnowska i in. 2013; Sikorski 2014a; Khan i in. 2014). Wang i in. (2013) zauważyli, że MRP powstałe w wyniku interakcji izolatu białek serwatki z cu-

krami (fruktoza, laktoza, maltoza, sacharoza) wykazywały stosunkowo dobrą aktywność do wygaszania rodników DPPH^{*}, przy czym dowiedziono, że aktywność przeciwutleniająca MRP wyraźnie wzrastała ze zwiększającymi się wielkościami pH. Duże znaczenie w procesie emulgowania lipidów mają białka pozyskiwane z mięsa ssaków, ryb i bezkręgowców. W środowisku obojętnym białka występujące w cieczy międzykomórkowej i sarkoplazmie można wyekstrahować wodą, natomiast białka miofibrylarne rozcieńczonymi roztworami soli o sile jonowej >0,15 po uprzednim usunięciu frakcji sarkoplazmatycznej. Dodatek chlorku sodu (NaCl) zwiększa rozpuszczalność białek miofibrylarnych dlatego, że następuje ujemna polaryzacja molekuł białka, co powoduje ich wzajemne odpychanie się i zwiększa poziom immobilizacji fazy wodnej. Dodatek fosforanów do roztworu NaCl umożliwia lepszą ekstrakcję miozyny, ponieważ ich cząsteczki wnikają w przestrzeń pomiędzy filamentami aktyny i miozyny. Wydzielenie miozyny z kompleksu aktomiozynowego ma duże znaczenie praktyczne z uwagi na zawartość fragmentów dobrze rozpuszczalnych w wodzie oraz efektywność w tworzeniu trwałych membran na cząstkach fazy tłuszczowej (Hoogenkamp 2011; Bortnowska i in. 2013; Jiang i Xiong 2015; Yang i Xiong 2015). Seher (2006) wykazał, że zwiększenie stężenia fosforanu dipotasowego w zakresie 0,0–2,5% (w/w) w mieszaninie ekstrakcyjnej zawierającej 2,5% (w/w) NaCl powodowało wzrost wydajności emulgowania mięsa drobiowego o ok. 11%. Krzemińska (2016) dowiodła ponadto, że na wzrost wydajności emulgowania mięsa zwierząt rzeźnych wpływały zarówno stężenie NaCl, jak i K₂HPO₄, szczególnie w zakresie: 0,0–2,5% (w/w) i 0,0–0,5% (w/w), odpowiednio. Bioemulgatorem często stosowanym do stabilizacji fazy olejowej, np. w sosach białych, jest mleko, będące naturalną emulsją (Bortnowska i in. 2016). Wśród białek mleka szczególnie duże znaczenie mają kazeiny zawierające w swoim składzie: α_{s1}-, α_{s2}-, β-, κ-, γ-kazeiny oraz białka serwatki, takie jak: α-laktoalbumina, BLG, BSA oraz laktoferyna (Singh 2011; Bouyer i in. 2012; Sun i in. 2015; Tabibiazar i in. 2015; Yang i in. 2016). Murphy i in. (2016) zauważyli, że BLG stosowana w postaci mikrożelu wykazywała szczególnie dobre właściwości do tworzenia lepkosprężystych powłok na cząstkach zdyspergowanej fazy niepolarniej. Kazeina jest najważniejszym białkiem mleka (78–85% w/w masy białek), a jej wartość biologiczna dorównuje białkom mięsa i znacznie przewyższa wartość białek roślinnych. W porównaniu z białkiem jaja kurzego kazeina charakteryzuje się niedoborem aminokwasów siarkowych i znacznym nadmiarem lizyny. Białka kazeinowe w stanie natywnym znajdują się w mleku w postaci miceli tworzących roztwór o charakterze koloidalnym, które mają kształt sferyczny, a ich średnica waha się od 50 do 250 nm. Szacuje się, że w 1 cm³ mleka znajduje się ok. 7×10^{13} miceli, co łącznie stanowi 5–6% objętości mleka. W wyniku wirowania wydziela się: α_s- (α_{s1}-, α_{s2}-), β-, γ- oraz κ-kazeiny, znacznie różniące się między sobą hydrofobowością (Singh 2011; Bouyer i in. 2012; Zhao i in. 2014; Sikorski 2014b). Najbardziej hydrofobowa β-kazeina (BKZ) razem z frakcjami α_s i γ stanowi wnętrze miceli kazeinowej. Zewnętrzną powłokę miceli tworzą cząsteczki κ-kazeiny, która jako jedyna z głównych frakcji kazeinowych zawiera fragmenty o właściwościach silnie hydrofilowych, przez co zdolna jest do wiązania cząsteczek wody i tworzenia warstwy wodnej na powierzchni miceli. Kazeina kwasowa otrzymywana z odtłuszczonego mleka ukwaszonego dodatkiem czystych kultur bakterii fermentacji mlekowej lub przez dodanie kwasu mlekowego, solnego, octowego albo siarkowego jest w zasadzie

nierozpuszczalna w wodzie i stąd wynika jej ograniczona przydatność do produkcji emulsji. Znacznie lepsze właściwości funkcjonalne do emulgowania tłuszczu oraz wiązania wody wykazują kazeiniany, a wśród nich kazeinian sodu (KS), otrzymywany z kazeiny kwasowej w wyniku reakcji z wodorowęglanem sodu i następnie suszony rozpyłowo (Xuexin i Golding 2014; Zhao i in. 2014; Julio i in. 2015; Davidov-Pardo i in. 2016; Hu i in. 2016; Su i Zhong 2016). Matsumiya i in. (2011) dowiedli, że kazeinian sodu (0,1% w/w) w układzie woda–olej sojowy lub kukurydziany zmniejszał napięcie międzyfazowe odpowiednio do ok. 7 i 5 mN·m⁻¹. Uważa się również, że KS poddany obróbce cieplnej metodą ekstruzji charakteryzuje się zwiększoną rozpuszczalnością zawartego w nim białka oraz stosunkowo dobrą wydajnością emulgowania tłuszczu, a wytwarzane z jego użyciem emulsje wykazują większą stabilność niż odpowiednie przygotowane z dodatkiem KS niepoddanego tej formie obróbki termicznej (Szpendowski i Świgoń 2003). Kolejnym naturalnym wieloskładnikowym bioemulgatorem jest żółtko jaja kurzego stosowane do wytwarzania emulsji w postaci natywnej lub wysuszonej. Żółtko jaja samo w sobie jest emulsją o/w i zawiera średnio 48,7% (w/w) wody, 16,6% (w/w) białek, 32,6% (w/w) lipidów, 1% (w/w) cukrów oraz ok. 1,1% (w/w) związków nieorganicznych. W żółtku jaja znajduje się: znaczna ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy n-3, witamin (A, D, B₁, B₂), β-karotenu oraz choliny. Żółtko jaja jest złożonym układem składającym się z granulek zdyspergowanych w przezroczystej, żółtej, fluidalnej plazmie. Stosując metodę wirowania, można rozdzielić żółtko jaja na granule oraz plazmę, a dalej na frakcje różniące się gęstością wskutek różnego udziału lipidów. Granule zawierają 70% (w/w) HDL i 16% (w/w) foswitiny (fosfoglikoproteiny) oraz 12% (w/w) LDL, natomiast plazma składa się z 85% (w/w) lipoprotein zaliczanych do LDL i 15% (w/w) liwetyny, będącej białkiem globularnym. Głównymi białkami granul o charakterze lipoprotein są α- i β-lipowiteliny, które wchodzi w interakcje z foswityną (białko kwaśne, bogate w fosfor), występującą w ponad 20% ogółu białek znajdujących się w żółtku jaja. W literaturze przedmiotu uważa się, że wszystkie główne składniki żółtka, tzn. LDL, HDL, liwetyny i foswityny, wykazują wysoką aktywność do adsorpcji na PM olej–woda (Sikorski 2014b). Białka żółtka jaja są bardzo podatne na oddziaływanie czynników środowiskowych: pH, siły jonowej, temperatury (Campbell i in. 2005). Mine (1998) wykazał, że średnia wielkość D[3,2] cząstek fazy rozproszonej oraz stężenie na powierzchni międzyfazowej (ang. *surface concentration*) były większe przy pH 3 i 5 niż 7 i 9, co było przypuszczalnie wynikiem powstawania dimerów lipoprotein w środowisku kwaśnym. Zauważono również, że wzrost siły jonowej układu (100–1500 mM NaCl) powodował zwiększenie D[3,2] oraz stężenia na PM odpowiednio w zakresach: 0,503–0,517 μm oraz 0,990–1,067 mg·m⁻². Z kolei Chang i in. (2016) zwrócili uwagę, że dobre właściwości emulgujące wykazują również białka części białkowej jaja, szczególnie poddane modyfikacji kwasowej lub kwasowo-temperaturowej.

Białka pochodzenia roślinnego są ważnymi bioskładnikami stosowanymi do stabilizacji układów emulsyjnych, pozyskiwanymi obecnie z coraz większej grupy surowców, m.in.: pszenicy, żyta, jęczmienia, owsa, ryżu, prosa, kukurydzy, soi, ziemniaków, grochu, fasoli, orzeszków ziemnych. Stosunkowo dużą zawartością białka charakteryzuje się proso (14–18% w/w), owies (8–20% w/w) oraz pszenica i jęczmień (10–16% w/w). Ogólnie białka ziarna zbóż klasyfikuje się jako albuminy, globuliny, prolaminy oraz gluteiny. W literaturze przedmiotu

zwraca się uwagę, że znaczną ilość albumin zawiera frakcja białkowa żyta, globulin owsa, prolamin kukurydzy i glutelin ryżu (Sikorski 2014b; Gong i in. 2016). Romero i in. (2012) wykazali, że białka ryżu (koncentrat) użyte w stężeniach: $0,1\text{--}1\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (pH 2) oraz $0,2\text{--}1\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (pH 8) zmieniały napięcie międzyfazowe (stan równowagowy po 18 000 s) układów (olej słonecznikowy–roztwór białek) w zakresach $12,9\text{--}10,8\text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ oraz $13,8\text{--}12,2\text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Duże znaczenie w wytwarzaniu układów emulsyjnych mają białka soi. Frakcja globulinowa soi zawiera wicylinę (β -konglicynina) o stałej sedymentacji 7S oraz leguminę 11S, nazywaną glicyniną. W skład globulin 7S wchodzi dwa różne białka o masie cząsteczkowej mieszczącej się w przedziale 150–170 kDa. W roztworze o sile jonowej 0,5 globuliny 7S występują jako monomery, a w roztworze o sile jonowej 0,1 tworzą dimery charakteryzujące się masą cząsteczkową ok. 370 kDa. W środowisku o bardzo małej sile jonowej i kwaśnym odczynie wicylina dysocjuje na podjednostki. Cząsteczka globuliny 11S jest zbudowana z 12 łańcuchów polipeptydowych tworzących oddzielne podjednostki, 6 kwasowych oraz 6 zasadowych, mających odpowiednio masę cząsteczkową ok. 37 kDa oraz 22 kDa. Pomiedzy każdą parą podjednostek, złożoną z łańcucha kwaśnego i zasadowego, znajdują się wiązania disulfidowe. Podjednostki tworzą czwartorzędową strukturę glicyniny w postaci dwóch 6-członowych pierścieni ułożonych jeden nad drugim (Nishinari i in. 2014; Sikorski 2014b; Fernández-Ávila i in. 2015).

2.2.3. Węglowodany

Emulgatory węglowodanowe, w tym ich modyfikowane chemicznie pochodne, są ważną grupą związków polihydroksylowych zaliczanych do biosurfaktantów niejonowych. W grupie tej znajdują się estry sacharydów otrzymywane poprzez estryfikację sacharozy kwasami tłuszczowymi. W zależności od liczby wprowadzonych grup acylowych można wytwarzać emulgatory o wskaźniku HLB mieszczącym się w zakresie (1–18). Kolejną grupą emulgatorów węglowodanowych są polisacharydy. Do najczęściej stosowanych polisacharydowych emulgatorów należą produkty uzyskane w wyniku modyfikacji: skrobi, celulozy oraz pektyn, a także niektóre gumy spożywcze mające status dozwolonych substancji dodatkowych do żywności. Wśród modyfikowanych skrobi na szczególną uwagę zasługuje sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450). Emulgator ten jest szczególnie przydatny w produkcji niskotłuszczowych, bezcholesterolowych sosów typu majonezowego (Dickinson 2009; Bortnowska 2012). W grupie pochodnych celulozy właściwości powierzchniowo-czynne wykazuje wiele związków (np. metyloceluloza, hydroksypropyloceluloza, hydroksypropylometyloceluloza, etylometyloceluloza, sól sodowa karboksymetylocelulozy), których użycie jednak z uwagi na wzrastające obawy przed spożywaniem substancji wytwarzanych na drodze syntezy chemicznej systematycznie maleje. Wśród polisacharydów zaliczanych do grupy gum spożywczych aktywność powierzchniowo-czynną wykazują: mączka chleba świętojańskiego (LBG), guma guar (GG), guma arabska (GA), GK, a ponadto również pektyny (Castellani i in. 2010; Wu i McClements 2015; Kaltsa i in. 2016). Właściwość emulgatorów węglowodanowych skutecznego obniżania napięcia międzyfazowego (olej–woda) wynika z dołączenia do ich cząsteczek grup niepolarnych (hydrofobowo modyfikowana skrobia, celuloza i sacha-

roza) lub obecności kowalentnie, a w niektórych przypadkach fizycznie związanych białek (gumy oraz pektyny) (Augustin i Hemar 2009; Dickinson 2009; Ozturk i McClements 2016; Zhang i in. 2016a). Zawartość białek np. w hydrokoloidach, takich jak: pektyna, LBG, GG, GK, GA, guma gellan i karagen, może wynosić odpowiednio ok.: 7,9, 6,4, 4,2, 4,2, 1,8, 0,4 i 0,2% (w/w) (Huang i in. 2001; Xiang i in. 2015; Kaltsa i in. 2016). Zastosowanie hydrokoloidów w emulsjach zwiększa ich stabilność podczas oddziaływania zmiennych czynników środowiskowych. Abdolmaleki i in. (2016) dowiedli, że emulsje stabilizowane gumą tragakanta nie wykazywały oznak destabilizacji przy stężeniu NaCl w zakresie 0–1,0% (w/w), natomiast były niestabilne przy $\text{pH} = \text{pK}_a$ ($\text{pK}_a = -\log K_a$, gdzie K_a , stała dysocjacji). Z badań wynika, że znaczną poprawę właściwości emulgujących polisacharydów uzyskuje się poprzez modyfikację fizyczną, np. poddanie skrobi procesowi wysokociśnieniowego kleikowania (600 MPa, 6 min, 20°C) (Villamonte i in. 2016). W innych doniesieniach naukowych sugeruje się możliwość występowania synergizmu w zakresie adsorpcji na cząstkach fazy rozproszonej, co wykazano na przykładzie modyfikowanej fizycznie celulozy oraz kazeinianu sodu (Hu i in. 2016).

2.2.4. Surfaktanty

Na rynku dodatków do żywności dostępny jest duży asortyment emulgatorów zaliczanych do LMWS. W grupie tej można wyróżnić: (i) mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych estryfikowane kwasem octowym, mlekowym, cytrynowym, winowym, mono- i diacetylowinowym, w tym również ich mieszaninami; (ii) estry sacharozy i kwasów tłuszczowych; (iii) pochodne sorbitolu; (iv) pochodne polioksyetylenosorbitolu; (v) sole kwasów tłuszczowych; (vi) fosfolipidy i inne. Emulgatory te charakteryzują się bardzo szerokim zakresem wielkości liczby HLB i pozwalają na wytwarzanie emulsji zarówno typu o/w, jak i w/o. Wykazano, że niektóre surfaktanty, np. stearyoilomleczan sodu, mogą być stosowane do wytwarzania emulsji typu Pickering (Bezelguesa i in. 2008; Bortnowska 2015a; Ozturk i McClements 2016).

Szczegółowy wykaz dozwolonych dodatków do żywności w grupie substancji emulgujących wytwarzanych na drodze syntezy chemicznej lub modyfikacji chemicznej zawarty jest w odpowiednich dokumentach normatywnych (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności, Dz.U. L 354 z 31.12.2008, s. 16 oraz Rozporządzenie Komisji Nr 1129/2011 z dnia 11 listopada 2011 r., zmieniające załącznik II do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1333/2008 poprzez ustanowienie unijnego wykazu dodatków do żywności). Spożycie większości surfaktantów jest limitowane, a ich wielkość ADI (ang. *acceptable daily intake*) wynosi w większości przypadków 0–25 mg/kg masy ciała. Pomimo wielu ograniczeń surfaktanty są chętnie stosowane w produkcji żywności zawierającej emulsje, głównie dlatego, że są bezpieczne pod względem mikrobiologicznym, a ponadto skutecznie obniżają napięcie powierzchniowe. Bezelguesa i in. (2008) wykazali, że przy stężeniu 2,55 mM (roztwór wodny, 25°C, stan równowagowy): Tweenu 80, DATEM (mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych estryfikowane kwasem mono- i diacetylowinowym) i SSL (stearyoilomleczan sodu) napięcie powierzchniowe (NP) wynosiło odpowiednio: 39,5, 28 i 22 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, a białka serwatki, dla porównania,

obniżały NP do poziomu ok. $49,5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Konsekwencją znacznego obniżania napięcia międzyfazowego przez surfaktanty jest również możliwość wpływu na rozmiar cząstek fazy rozproszonej w układzie emulsyjnym. Lopez-Pena i McClements (2015) dowiedli, że dodatek Tweenu (0–1% w/w) w emulsjach (4% w/w olej kukurydziany) zmniejszał krople oleju wyrażone wartością $D[3,2]$ z 0,54 do 0,13 μm .

2.3. Substancje zagęszczające, stabilizujące i żelujące

Substancje zagęszczające (ang. *thickeners*), stabilizujące (ang. *stabilizers*) i żelujące (ang. *gelling agents*), podobnie jak emulgujące, należą do grupy dodatków kształtujących strukturę emulsji. Przy czym należy podkreślić, że poszczególne składniki z tej grupy wykazują bardzo często jednocześnie kilka cech funkcjonalnych, w tym mogą obniżać napięcie międzyfazowe pomiędzy cieczą polarną i niepolarną (woda i olej). Zdolność substancji do stabilizowania umożliwia utrzymanie homogeniczności emulsji w wyniku ich interakcji z emulgatorami, z kolei zagęszczanie związane jest z występowaniem splotów łańcuchów polimerowych podatnych na oddziaływanie wody, a proces żelowania polega na tworzeniu uporządkowanej przestrzennej struktury polimeru. Substancje zagęszczające, stabilizujące i żelujące absorbują znaczne ilości wody, dlatego często określa się je terminem hydrokolidów. Dodatkami tych substancji można modyfikować wiele parametrów fizykochemicznych i sensorycznych emulsji, z tym że wielkość tych zmian zależy od: (i) właściwości molekularnych użytych zagęstników, takich jak m.in. masa molowa, stopień rozgałęzienia, konformacja, ładunek, hydrofobowość; (ii) ich stężenia i zakresu interakcji z innymi składnikami żywności; (iii) zdolności do żelowania i zagęszczania oraz zwiększania stabilności układu (Dickinson 2009; Saha i Bhattacharya 2010; Salas i in. 2014; Bortnowska i in. 2014a, 2014b; Chung i in. 2014a).

Hydrokoloidy ogólnie klasyfikuje się jako polisacharydowe (gumy spożywcze, skrobia, celuloza, pektyny) oraz białkowe (żelatyna). Wyróżnia się także: (i) naturalne (pochodzenia zwierzęcego, np. żelatyna; z roślin lądowych, np. GA, pektyna, skrobia; z wodorostów, np. agar, karageny, alginiany; pochodzenia mikrobiologicznego, np. guma ksantanowa i dekstran); (ii) modyfikowane metodami chemicznymi i fizycznymi. Polisacharydowe hydrokoloidy pod względem budowy chemicznej można podzielić na homopolimery oraz heteropolimery. Sposób łączenia się poszczególnych merów może być w całym polimerze jednakowy (amyloza) lub zróżnicowany (amylopektyna). Heteropolimery są zbudowane z różnych merów. Liniowe łańcuchy hydrokolidów polisacharydowych zbudowane są z heksoz (glukoza, galaktoza, mannoza), pentoz (arabinoza, ksyloza) lub kwasów uronowych (kwas galakturonowy). W łańcuchach bocznych mogą się też znajdować pochodzące od kwasów organicznych reszty kwasowe. Ważną właściwością polisacharydów jest możliwość wchodzenia w interakcje z innymi składnikami, w tym z białkami, do których zalicza się wiązania kowalencyjne i wodorowe oraz oddziaływania elektrostatyczne, przy czym szczególnie te ostatnie umożliwiają tworzenie powłok wielowarstwowych na cząstkach fazy rozproszonej, co wpływa na zwiększenie stabilności układu emulsyjnego (Dickinson 2003; McClements 2006; Augustin i Hemar 2009; Copeland i in. 2009; Singh i in. 2010; Jones i McClements 2010; Bouy-

er i in. 2012; Tomasik 2014; Bortnowska 2015a). Duże znaczenie jako zagęstniki niskotłuszczowych emulsji typu o/w mają gumy spożywcze, często stosowane w postaci mieszanin w proporcjach umożliwiającym oddziaływanie synergistyczne, wynikające z asocjacji cząstek różnych hydrokoloidów. Na przykład GK oraz galaktomannany: GG, guma tara, mączka chleba świętojańskiego (LBG) tworzą strukturę żelową jedynie użyte w mieszaninach (Bortnowska i Makiewicz 2006; Saha i Bhattacharya 2010; Bouyer i in. 2012). Synergistyczny zakres interakcji pomiędzy GK i galaktomannanami zależy od stężenia hydrokoloidów oraz pH i siły jonowej układu. Uważa się, że optymalne proporcje gumy ksantanowej z galaktomannanami wynoszą: GK:GG (20:80) oraz GK:LBG (50:50). Guma ksantanowa oddziałuje również synergistycznie z glukomannanem konjac, przy proporcji wynoszącej 30 : 70. Podobną interakcję wykazano także w odniesieniu do mieszanin κ -karagenu i LBG (60 : 40 i 40 : 60). W celu kształtowania pożądanych właściwości reologicznych emulsji gumy spożywcze stosowane są często w mieszaninie z innymi zagęstnikami. Chung i in. (2014a) wykazali, że wzrost stężenia LBG (0–1% w/w) w emulsjach o/w (3,75% w/w skrobia; 5% w/w olej rzepakowy; 1% w/w Tween 80) powodował zwiększenie wartości współczynnika konsystencji z 0,099 do 56,65 Pa·sⁿ, przy wartościach wskaźnika płynięcia (n) w zakresie 0,929–0,417. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że dobrą alternatywą dla gum spożywczych w celu stabilizacji układów emulsyjnych jest użycie nanofibryli celulozy (ang. *cellulose nanofibrils*) (Salas i in. 2014). Carrillo i in. (2015) dowiedli, że dodatek nanofibryli celulozy do emulsji typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) umożliwił redukcję rozmiaru cząstek fazy rozproszonej, zwiększenie stabilności oraz lepkości. Kolejnym polisacharydowym zagęstnikiem o dużym znaczeniu praktycznym jest skrobia. Do celów spożywczych skrobie pozyskuje się najczęściej z kukurydzy, pszenicy, ryżu, sorgo, ziemniaków, nasion roślin strączkowych, palmy sagowej i innych. Poszczególne skrobie różnią się zawartością amylozy i można je podzielić na: (i) wysokoamylozowe ($\geq 30\%$); (ii) o średniej zawartości amylozy (20–30%); (iii) niskoamylozowe (2–20%) oraz (iv) woskowe, zawierające $\leq 2\%$ amylozy. Niektóre skrobie mogą zawierać nawet do 70% amylozy lub 100% amylopektyny. Skrobia jest polimerycznym węglowodanem składającym się z wielu jednostek α -D-glukozowych i w naturze występuje zwykle w formie ziarenek o zróżnicowanych rozmiarach. Chemicznie nie jest to materiał jednolity, gdyż składa się z amylozy i amylopektyny. Amyloza ma postać długich nierozgałęzionych łańcuchów o masie cząsteczkowej 150–750 kDa, zbudowanych z reszt D-glukozy, połączonych wiązaniami α -(1,4) glikozydowymi. Wykazano, że amyloza zawiera również nieznaczную liczbę wiązań α -(1,6) glikozydowych. Amylopektyna z kolei jest dużym rozgałęzionym polimerem, w którym cząsteczki glukozy w łańcuchach głównych są powiązane wiązaniami α -(1,4) glikozydowymi, natomiast rozgałęzienia boczne są połączone z łańcuchami głównymi wiązaniami α -(1,6) glikozydowymi. Masa cząsteczkowa amylopektyny może dochodzić do 200 MDa, a stopień polimeryzacji przewyższa milion. Łańcuchy amylopektyny zawierają grupy fosforanowe połączone wiązaniami estrowymi z grupami hydroksylowymi glukozy, przy czym jedna grupa fosforanowa przypada na ok. 400 reszt glukozy. Pod względem szybkości trawienia skrobie można podzielić na: (i) szybko trawione (ang. *rapidly digestible starches*, RDS_S); (ii) wolno trawione (ang. *slowly digestible starches*, SDS_S) oraz (iii) skrobie odporne (ang. *resistance starches*, RS), praktycznie nietrawione lub trawione bardzo

wolno, których ilość oblicza się z różnicy zawartości skrobi ogólnej (TS) i $RDS_S + SDS_S$ (Van Hung i in. 2006; Copeland i in. 2009; Singh i in. 2010; Lee i in. 2012; Tomasik 2014; Bortnowska i in. 2016). W zdecydowanej większości skrobie obecnie stosowane w produktach spożywczych poddawane są modyfikacji w celu nadania im specyficznych właściwości, np. w zakresie: żelowania, adhezyjności, utrzymywania wody i tym samym kształtowania odpowiedniej, pożądanej przez konsumenta konsystencji żywności.

Zasadniczo wyróżnia się następujące sposoby modyfikacji skrobi: (i) fizyczną (oddziaływanie temperatury i wody – wstępne kleikowanie); (ii) konwersję (częściowa hydroliza kwasowa i enzymatyczna, oddziaływanie zasadami, dekstrynizacja) oraz (iii) chemiczną (etryfikacja, estryfikacja, utlenianie, sieciowanie, modyfikacja podwójna) (Singh i in. 2007; Kaur i in. 2012; Tomasik 2014). Shi i in. (2013) użyli do sieciowania skrobi tripolifosforanu sodu, wykazując, że dodatek NaCl (20% w/w) do przygotowanych zawiesin skrobi znacząco ($p < 0,05$) zwiększał lepkość oraz wielkości modułów zachowawczego i stratności. Duże, ciągle wzrastające znaczenie ma modyfikacja fizyczna lub fizykochemiczna w celu zmiany struktury skrobi i nadania jej pożądanych właściwości funkcjonalnych porównywalnych z odpowiednimi kształtowanymi w wyniku modyfikacji chemicznej. Z przeglądu literatury wynika, że stosowane są m.in. następujące metody modyfikacji fizycznej skrobi: (i) oddziaływanie ciśnienia osmotycznego; (ii) głębokie mrożenie i rozmrażanie; (iii) oddziaływanie temperatury i ciśnienia. W procesie ogrzewania granul skrobi w środowisku wodnym następuje uwalnianie zawartych w nich składników, głównie amylozy. Po ochłodzeniu układu amyloza i amylopektyna wchodzi w międzymolekularne interakcje, co powoduje utworzenie żelu (Singh i in. 2007; Copeland i in. 2009). Bortnowska i in. (2014b) wykazali, że z użyciem wstępnie skleikowanej skrobi ziemniaczanej można w bardzo szerokim zakresie kształtować właściwości reologiczne i sensoryczne dressingów.

Do grupy hydrokoloidów białkowych należy żelatyna, która pomimo że charakteryzuje się mniejszą zdolnością zagęszczającą niż hydrokoloidy polisacharydowe, to jednak z uwagi na właściwości emulgujące jest często stosowana do stabilizacji układów emulsyjnych. Skład chemiczny żelatyny jest typowy dla kolagenu, który występuje w 19 odmianach genetycznych, różniących się w zależności od pochodzenia składem aminokwasowym. Charakterystyczną, pozytywną właściwością kolagenu jest to, że zawiera stosunkowo dużo reszt: glicyny, proliny i alaniny, a ponadto 3- i 4-hydroksyproliny oraz hydroksylizyny, negatywną natomiast brak tryptofanu. Białka żelatynowe typu A (pI , 7–9) oraz typu B (pI , 4,7–5,4) stosowane są do wytwarzania powłok wielowarstwowych na cząstkach fazy rozproszonej (Matalanis i in. 2011; Sikorski 2014b).

Do zagęszczania – stabilizacji układów, szczególnie o budowie emulsji typu o/w (np. sosów), stosowane są też mąki. Mąka jest produktem otrzymywanym w wyniku przemiału oczyszczonego ziarna zbóż, takich jak: pszenica, żyto, jęczmień, kukurydza, ryż, gryka i innych. W zależności od zastosowanej technologii wytwarzania mąki można podzielić na pełnoziarniste (całoziarnowe) i gatunkowe. Mąki pełnoziarniste charakteryzują się ciemniejszą barwą niż gatunkowe, a ponadto są mniej trwałe z uwagi na zawartość związków lipidowych. Do podstawowych składników występujących w mące zalicza się: węglowodany, białka, tłuszcze, substancje mineralne (potas, wapń, fosfor, magnez, cynk, miedź, mangan), witaminy

(E i z grupy B) oraz występujące w znacznie mniejszych ilościach barwniki, zaliczane do karotenoidów, a także enzymy (amylazy). Należy jednak zaznaczyć, że ich zawartość zależy od stopnia oczyszczenia i jest zdecydowanie większa w mąkach całościarnowych niż gatunkowych. Głównym węglowodanem w mące jest skrobia, przy czym poszczególne rodzaje różnią się jej zawartością, jak również składem. Mąka ryżowa zawiera bardzo dużą ilość skrobi (84–86% w/w) i w zależności od genotypu 18–33% (w/w) amylozy (w odniesieniu do masy skrobi). Mąka jęczmienna charakteryzuje się mniejszą zawartością skrobi, rzędu 52–60% (w/w), przy stosunkowo dużym zróżnicowaniu zawartości amylozy, sięgającym 8–35% (w/w) w odniesieniu do masy skrobi. Mąka pszenna może natomiast zawierać 63–69% (w/w) skrobi oraz od <1% (w/w) do ok. 30% (w/w) amylozy. W mące znajdują się także cukry proste (glukoza i fruktoza), dwucukry (maltoza, sacharoza) oraz związki słabo- lub nieprzyswajalne, takie jak: hemiceluloza, celuloza, β -glukany będące błonnikiem pokarmowym. Białka, głównie albuminy, globuliny, prolaminy i gluteiny, których zawartość mieści się w zakresie 5–18% w przeliczeniu na suchą masę (s.m.) mąki, decydują o jej wartości odżywczej. Z badań wynika, że wraz ze wzrostem zawartości skrobi w mące zmniejsza się proporcjonalnie ilość białka. Biorąc pod uwagę skład aminokwasowy, wartość biologiczną mąk można uszeregować, jak następuje: owies > żyto > jęczmień > kukurydza > pszenica. Znacznie mniej w mące jest tłuszczów, których ilość najczęściej mieści się w granicach 0,29–1,5% (w odniesieniu do s.m. mąki) (Van Hung i in. 2006; Waszkiewicz-Robak 2010). Właściwości fizykochemiczne zagęstników, w zależności od ich rodzaju, ocenia się poprzez pomiar m.in. wskaźników: (i) absorpcji wody (ang. *water absorption index*); (ii) rozpuszczalności w wodzie (ang. *water solubility*) oraz (iii) stopnia pęcznienia (ang. *swelling power*). Lee i in. (2012) wykazali, że przy zawartości amylozy w skrobi 33,84 lub 1,32% (w/w) wartości wskaźników: absorpcji wody, rozpuszczalności w wodzie i stopnia pęcznienia wynosiły odpowiednio: 7, 9,9% i 7,7 lub 4,75, 79,41% i 22,76. Wyniki te wskazują, że wzrost zawartości amylopektyny w skrobi wyraźnie zwiększa jej rozpuszczalność w wodzie oraz pęcznienie granul.

3. Wytwarzanie emulsji

3.1. Przebieg procesu

Wytwarzanie emulsji prostych zarówno typu olej-w-wodzie (o/w), jak i woda-w-oleju (w/o) polega na homogenizacji dwóch niemieszających się cieczy (fazy tłuszczowej i wodnej) z dodatkiem emulgatora o odpowiedniej wielkości wskaźnika HLB. Przygotowywanie emulsji wielokrotnych typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) lub olej-w-wodzie-w-oleju (o/w/o) jest bardziej złożone i związane w pierwszej kolejności z wytworzeniem emulsji wewnętrznej typu w/o lub o/w i następnie rozproszeniu tego układu w cieczy stanowiącej fazę zewnętrzną emulsji, a zatem odpowiednio w wodzie lub w oleju (Augustin i Hemar 2009; Dickinson 2012; Li i in. 2012; McClements 2012b; Carrillo i in. 2015; Serdaroğlu i in. 2015). Do specyficznej podgrupy emulsji prostych należą emulsje typu Pickering, w wytwarzaniu których stosuje się SPC w postaci ciał stałych, takie jak: (i) kryształy tłuszczu (monooleinian glicerolu); (ii) polisacharydy (skrobia, nanokryształy celulozy, celuloza mikrokrystaliczna, metyloceluloza, sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego, chityna, chitozan); (iii) białka (BLG, laktoferyna, BSA, żelatyna, zeina, hydrofobiny); (iv) flawonoidy; (v) woski i inne (Salas i in. 2014; Pan i in. 2015; Wu i in. 2015; Duffus i in. 2016; Tavernier i in. 2016). Emulsje wielowarstwowe (ang. *multilayer emulsions*) wytwarza się poprzez sekwencyjne nakładanie warstwa po warstwie (ang. *layer-by-layer deposition technique*) na rozproszone krople oleju substancji powierzchniowo-czynnych mających przeciwny ładunek elektryczny (Gudipati i in. 2010; McClements i Li 2010; Bortnowska 2015a, 2015b). Proces emulgowania związany jest z przewyciężeniem sił spójności występujących w cieczy dyspergowanej, co przyczynia się do znacznego zwiększenia pola powierzchni międzyfazowej (A). Z termodynamicznego punktu widzenia zmiana wielkości tego parametru o ΔA wymaga wykonania pracy, zmiany energii swobodnej (ang. *free energy change*, ΔG , $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$) (McClements i Weiss 2005; Tadros 2013):

$$\Delta G = \Delta A \cdot \gamma_M$$

gdzie: γ_M – napięcie międzyfazowe;

ΔA – wzrost pola powierzchni międzyfazowej.

Wymagany nakład pracy w celu zdeformowania lub przekształcenia kropeł fazy rozproszonej do mniejszych wymiarów musi być znacząco większy niż $\Delta A \cdot \gamma_M$, co wskazuje na to, jak ważną rolę w procesie wytwarzania emulsji pełnią emulgatory, mające właściwości obniżania napięcia międzyfazowego. Według Dickinson (2009) teoretyczna wielkość energii, jaka musi być dostarczona do rozproszenia fazy olejowej (10% v/v) w wodzie zawierającej emulgator obniżający napięcie międzyfazowe do poziomu ok. $5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ i uzyskania jednolitych kropeł rzędu $1 \mu\text{m}$, wynosi ok. $10^3 \text{ J}\cdot\text{m}^{-3}$. Zakłada się przy tym, że z uwagi na znaczne straty energii faktyczna jej niezbędna wielkość wynosić może ok. $10^6 \text{ J}\cdot\text{m}^{-3}$. W ocenie zużycia energii należy ponadto uwzględnić, że wraz z malejącą średnicą cząstek fazy rozproszonej

wzrasta stopień zakrzywienia PM (olej–woda), co powoduje z kolei zwiększanie się wielkości sił wewnętrznych utrzymujących kroplę oleju. W celu zmniejszenia wymiarów kropli do wartości promienia r wymagany jest zewnętrzny gradient ciśnienia (ang. *external pressure gradient*) określany mianem ciśnienia Laplace’a (ang. *Laplace pressure*, ΔP , Pa):

$$\Delta P = 2\gamma_M/r$$

Z równania tego wynika, że łatwiej jest rozdrobnić krople duże niż małe, a ponadto skuteczność emulgowania jest większa przy stosunkowo niewielkich wartościach napięcia międzyfazowego (McClements 2008; Santana i in. 2013). W literaturze przedmiotu sugeruje się również, że zależność pomiędzy promieniem kropli (r) a napięciem międzyfazowym olej–woda (γ_M), lepkością pozorną fazy ciągłej (η_{cp}) oraz szybkością ścinania ($\dot{\gamma}$) można w przybliżeniu opisać równaniem: $r \approx \gamma_M/\eta_{cp}\cdot\dot{\gamma}$ (Tabibiazar i in. 2015). McClements i Weiss (2005) uważają z kolei, że na wielkość promienia kropli (r), wpływ mają takie czynniki, jak: (i) nadmiarowe międzyfazowe stężenie emulgatora w stanie nasycenia (ang. *excess surface concentration at saturation*, Γ_{sat}); (ii) ułamek objętościowy frakcji olejowej (ang. *volume fraction of the dispersed phase*, Φ_V) oraz (iii) stężenie emulgatora (C_E), co wynika z zależności: $r = 3\Gamma_{sat}\cdot\Phi_V/C_E$. Powyższe równanie wskazuje, że wielkość kropli można zmniejszyć, zwiększając stężenie emulgatora, redukując wielkość parametru Φ_V , jak również wprowadzając do układu emulgatory, dla których Γ_{sat} jest stosunkowo małe. Znaczący wpływ na proces emulgowania ma również temperatura (T), której wzrost w umiarkowanym zakresie zmniejsza napięcie powierzchniowe cieczy (γ_P , $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$), co wynika z analizy równania Eötvösa (Zieliński 2009; Yerima i Solomon 2015):

$$\gamma_P \cdot V^{2/3} = [K_E (T_C - 6 - T)]$$

gdzie: V – objętość molowa cieczy (ang. *liquid molar volume*, $\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$);

T_C – temperatura krytyczna cieczy – ciecz nie wykazuje napięcia powierzchniowego (ang. *critical temperature at which a phase boundary ceases to exist*);

K_E – stała Eötvösa – parametr odnoszony do polarności cieczy (ang. *Eötvös empirical parameter – related to the polarity of the liquid*).

W opracowaniach naukowych stosowane jest także równanie Eötvösa w postaci:

$$\gamma_P \cdot V^{2/3} = [K_E (T_C - T)] \text{ (oznaczenia jak powyżej).}$$

Thong i in. (2016) zaproponowali równanie Eötvösa:

$$g_s = C_1 (T_C - T),$$

przy czym: g_s – termodynamiczna funkcja – molowa energia powierzchniowa Gibbsa (ang. *thermodynamic function – molar surface Gibbs energy*),

$$g_s = \gamma_P \cdot V^{2/3} \cdot N^{1/3},$$

$$C_1 = N^{1/3} \cdot K_E,$$

gdzie N – stała Avogadro (pozostałe oznaczenia jak powyżej).

Wartości stałej Eötvösa zależą od rodzaju cieczy i średnio dla niepolarnych i polarnych wynoszą odpowiednio: $\sim 2,2 \times 10^{-7} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$ i $\sim 0,4 \times 10^{-7} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$. Wzrost temperatury zwiększa również termiczny ruch membrany międzyfazowej zawierającej surfaktanty, co prowadzi do

zmiany ich struktury molekularnej i umożliwia szybsze formowanie emulsji (Santana i in. 2013). Wykazano, że proces emulgowania przebiega dość łatwo, gdy napięcie międzyfazowe nie przekracza $10 \times 10^{-3} \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$, natomiast przy jego wartościach liczbowych rzędu poniżej $10^{-3} \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$ emulgowanie może przebiegać samorzutnie. Yerima i Solomon (2015) wykazali, że oleje: sojowy, palmowy i kukurydziany przy wzroście temperatury z 313 do 373 K zmieniały napięcie powierzchniowe odpowiednio w zakresach: $32,42\text{--}28,61 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, $33,55\text{--}28,25 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ i $33,34\text{--}28,71 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Wpływ temperatury na formowanie układu emulsyjnego determinowany jest również rodzajem SPC. Surfaktanty niejonowe, np. po osiągnięciu PIT, zmieniają HLB i w konsekwencji obserwuje się wzrost napięcia międzyfazowego (Tadros 2013).

3.2. Stosowane urządzenia

Czynnikami determinującymi wybór urządzenia do produkcji emulsji spożywczych są przede wszystkim fizykochemiczne właściwości surowców oraz produktu końcowego (McClements i Weiss 2005). Rozmiar cząstek fazy rozproszonej zależy zarówno od rodzaju i stężenia substancji powierzchniowo-czynnej oraz urządzenia stosowanego do wytwarzania emulsji, jak i ilości energii wprowadzonej do układu (Santana i in. 2013; Tadros 2013). Przemysł obecnie dysponuje szeroką, stale zwiększającą się ofertą urządzeń (mieszalników i homogenizatorów) służących do wytwarzania emulsji, z użyciem których można uzyskać układy znacznie różniące się wielkością oraz rozkładem cząstek fazy rozproszonej. Duże znaczenie mają homogenizatory przeznaczone do ujednorodnienia struktury układu emulsyjnego, co znacznie wpływa na zwiększenie jego stabilności zarówno w aspekcie kinetycznym, jak i termodynamicznym. Wydajność procesu homogenizacji odnosi się do wielu wskaźników, w tym: średniej średnicy cząstek, stabilności wyrażonej poziomem rozdziału faz i innych. W warunkach przemysłowych skuteczność homogenizacji (E_H) określa się też jako procentowy udział kropeł oleju (n_i) o określonym, założonym technologicznie wymiarze do ich ogólnej liczby (N_o) w układzie: $E_H (\%) = (\sum n_i / N_o) \times 100$, lub biorąc pod uwagę ilość energii teoretycznie niezbędnej (ΔE_{\min}) oraz faktycznie zużytej do wytworzenia emulsji (ΔE_{fakt}):

$$E_H (\%) = (\Delta E_{\min} / (\Delta E_{\text{fakt}})) \times 100.$$

Do wytwarzania emulsji w skali makro powszechnie stosuje się mieszalniki wysokoobrotowe. W urządzeniach tych proces rozdrabniania fazy olejowej następuje w wyniku oddziaływania elementu wirującego (najczęściej 20–20 000 obr./min), przy czym siły ścinające występują głównie na brzegach mieszadła. Pewnym ograniczeniem użycia tego typu mieszalników jest wymagana stosunkowo mała lepkość mieszaniny przeznaczonej do emulgowania. Wpływ szybkości przepływu cieczy spowodowany oddziaływaniem wirnika na proces rozdrabniania fazy olejowej wynika z analizy liczby Reynoldsa (ang. *Reynolds number*): $Re = v_l \cdot l \cdot \rho / \eta_p$, gdzie: v_l – liniowa prędkość przepływu; l – średnica obiektu, przez który następuje przepływ; ρ – gęstość cieczy; η_p – lepkość pozorna. Przy przepływie laminarnym (ang. *laminar flow*) $Re \leq 2100$ tory cząsteczek cieczy układają się równolegle do siebie, na-

tomiastr burzliwym, turbulentnym (ang. *turbulent flow*) $Re \geq 2100$ przyjmują nieuporządkowaną formę, a nawet mogą tworzyć się lokalne prądy wirowe. Jeżeli turbulencyjne wiry (ang. *turbulent eddies*) są znacznie większe niż rozmiary cząstek fazy rozproszonej, następuje ich rozdrabnianie w wyniku oddziaływania naprężenia ścinającego. W przypadku przeciwnym na proces podziału cząstek większych na mniejsze wpływ mają występujące siły bezwładności, inercji (ang. *inertial forces*) (Tadros 2013). Mieszalniki wysokoobrotowe pozwalają na uzyskanie cząstek fazy rozproszonej rzędu 1–10 μm . Tabibiazar i in. (2015) wykazali, że stosując mieszalnik wysokoobrotowy w wersji ultra (22 000 obr./min, 5 min), można uzyskać w zależności od rodzaju emulgatora (BSA lub w mieszaninie z glikolem polietylenowym (PEG) o masie cząsteczkowej 300 lub 10 000) średnie wartości (ang. *mean value*, MV) cząstek fazy rozproszonej mieszczące się w zakresie 2,2–2,4 μm , przy czym $MV = \sum v_i d_i / \sum v_i$, gdzie: v_i – ułamek objętościowy cząstek o wymiarze d_i . Przy stosowaniu tego typu urządzeń należy brać pod uwagę fakt, że długotrwały proces mieszania, szczególnie przy dużych szybkościach, może powodować wzrost temperatury układu, ponieważ dostarczana energia mechaniczna jest przekształcana na energię cieplną, a następnie rozpraszana w emulsji.

Układy zawierające cząstki fazy rozproszonej w skali makro mogą być też wytwarzane z użyciem młynków koloidalnych, przy pomocy których można uzyskać wielkości kropeł rzędu 1–5 μm . Urządzenia te są szczególnie przydatne do zmniejszania wymiaru cząstek fazy rozproszonej, dlatego mieszaninę wody i oleju z dodatkiem emulgatora z reguły poddaje się wstępnej emulgacji z użyciem mieszalnika wysokoobrotowego, a powstała w ten sposób emulsję (ang. *coarse emulsion premix*) homogenizuje w młynku koloidalnym. Młynki koloidalne są przydatne do homogenizacji układów emulsyjnych charakteryzujących się lepkością od średniej do dużej. Proces rozdrobnienia fazy wewnętrznej emulsji następuje w wyniku oddziaływania sił ścinających spowodowanych szybko (1000–25 000 obr./min) obracającym się wirnikiem w stojanie (młynek koloidalny stożkowy) albo pomiędzy dwoma tarczami, z których jedna wiruje, a druga pozostaje nieruchoma (młynek koloidalny tarczowy). Istnieją również młynki koloidalne, w których dwie tarcze obracają się w przeciwnych kierunkach (McClements i Weiss 2005; Tadros 2013; McClements 2016). Wydajność emulgowania w młynkach koloidalnych zależy od: szybkości obracającej się tarczy (tarcz) oraz jej (ich) stopnia chropowatości, wielkości szczeliny pomiędzy elementami ścinającymi, natężenia przepływu mieszaniny i innych. Z badań wynika, że wielkość kropli uzyskiwana w młynku koloidalnym w znacznej mierze zależy od rodzaju i stężenia substancji powierzchniowo-czynnych, dlatego stosując odpowiednie ich stężenie, można pominąć etap wstępnej homogenizacji. Hebshy i in. (2015) wykazali, że proces emulgowania (w młynku koloidalnym bez wstępnej homogenizacji) fazy olejowej (20% w/w) z dodatkiem izolatu białek serwatki (1–4% w/w) umożliwiał tworzenie cząstek fazy rozproszonej D[3,2] (wyjaśnienie w tabeli 1) w zakresie 6,22–3,79 μm .

Układy emulsyjne w skali nano i mikro mogą być wytwarzane z użyciem homogenizatorów: wysokociśnieniowych (ang. *high-pressure valve homogenizers*), ultradźwiękowych (ang. *ultrasonic homogenizers*), membranowych (ang. *membrane homogenizers*), mikrofluidyzatorów (ang. *microfluidizers*) i innych. Przygotowanie emulsji w homogenizatorach wysokociśnieniowych wymaga wstępnej emulgacji układu. W urządzeniach tych emulsja o stosunkowo

dużych wymiarach cząstek fazy wewnętrznej (ang. *coarse emulsion*) przepływa pod dużym ciśnieniem rzędu 10–100 MPa (niekiedy do 700 MPa) przez małe otworki, których wielkości średnic zależą od potrzeb technologicznych. Prędkość przepływu cieczy w otworkach może osiągać wartości liczbowe w granicach 200–250 m·s⁻¹. Rozdrabnianie kropelek oleju jest wynikiem oddziaływania bardzo dużych sił destrukcyjnych powodujących zniekształcenie i rozrywanie cząstek na drobniejsze fragmenty, ponadto sugeruje się również, że duże znaczenie ma występujący efekt burzliwego mieszania cieczy oraz kawitacji (McClements i Weiss 2005; Berton i in. 2012; Rao i McClements 2012; Chaprenet i in. 2014; Mahfoudhi i in. 2014; Nadin i in. 2014; Sarkar i in. 2016; Davidov-Pardo i in. 2016). Homogenizatory wysokociśnieniowe pozwalają na uzyskanie cząstek fazy rozproszonej <0,1 μm, jakkolwiek jest to w znacznej mierze zależne od zastosowanych ciśnień oraz rodzaju SPC. Analizując układy emulsyjne zawierające taką samą ilość fazy wewnętrznej (20% w/w), Castellani i in. (2010) wykazali, że stosując jako emulgator gumę arabską (10% w/w) oraz zakres ciśnień 5–15 MPa, można zmniejszyć rozmiar cząstek fazy rozproszonej D[4,3] od ok. 3,12 do 1,85 μm. Hebishy i in. (2015) z kolei dowiedli, że przy użyciu jako emulgatora izolatu białek serwatki (4% w/w) i ciśnieniach: 15, 100 i 200 MPa cząstki fazy rozproszonej charakteryzowały się wielkościami D[4,3] odpowiednio: 1,42; 0,21 i 0,14 μm. Homogenizatory wysokociśnieniowe przydatne są do przygotowywania emulsji zarówno w skali laboratoryjnej, jak i przemysłowej. Zaletą tego typu urządzeń jest możliwość ich użycia do wywarzania emulsji znacznie różniących się właściwościami reologicznymi, w tym lepkościowością, wadą natomiast jest stosunkowo duża ilość zużywanej energii, a także wzrost temperatury w procesie homogenizacji, co może prowadzić do zmian właściwości fizykochemicznych układu emulsyjnego (McClements 2008; Santana i in. 2013). W homogenizatorach ultradźwiękowych do rozdrabniania cząstek fazy rozproszonej stosuje się fale ultradźwiękowe, które powodują proces ścinania, głównie w wyniku efektu kawitacji. Fale ultradźwiękowe generowane są najczęściej za pomocą piezoelektrycznych przetworników lub generatorów hydromechanicznych. W homogenizatorach działających na zasadzie piezoelektrycznych przetworników proces wytwarzania fal ultradźwiękowych związany jest ze zjawiskiem oscylacji piezoelektrycznego kryształu pod wpływem prądu elektrycznego dużej częstotliwości rzędu 1 MHz. W homogenizatorach działających na zasadzie generatorów hydromechanicznych składniki emulsji (woda, olej) są przetłaczane pod ciśnieniem rzędu 0,35–1,4 MPa przez kryzę, przed pokonaniem której następuje proces burzliwego ich mieszania. Następnie ciecz uderza o ostrą krawędź zamocowanej z jednej strony płytki wibracyjnej, co powoduje, że zaczyna ona gwałtownie wirować, generując przy tym fale ultradźwiękowe mieszczące się w zakresie 18–30 kHz. Homogenizatory wyposażone w generatory hydromechaniczne mają szerokie zastosowanie w przemysłowej produkcji emulsji spożywczych (umożliwiają uzyskanie bardzo małych kropli fazy rozproszonej, mogą pracować w systemie ciągłym, zużywają mniej energii niż homogenizatory wysokociśnieniowe), natomiast odpowiednie z przetwornikami piezoelektrycznymi przeznaczone są raczej do przygotowywania próbek laboratoryjnych, w ilości od kilku do kilkuset ml (McClements i Weiss 2005). Mikrofluidyzatory umożliwiają znaczne zmniejszenie rozmiarów cząstek fazy rozproszonej, przy czym w zakresie działania są zbliżone do homogenizatorów wysokociśnieniowych. W praktyce duże znaczenie mają mikrofluidyzatory, w których emulsje wytwa-

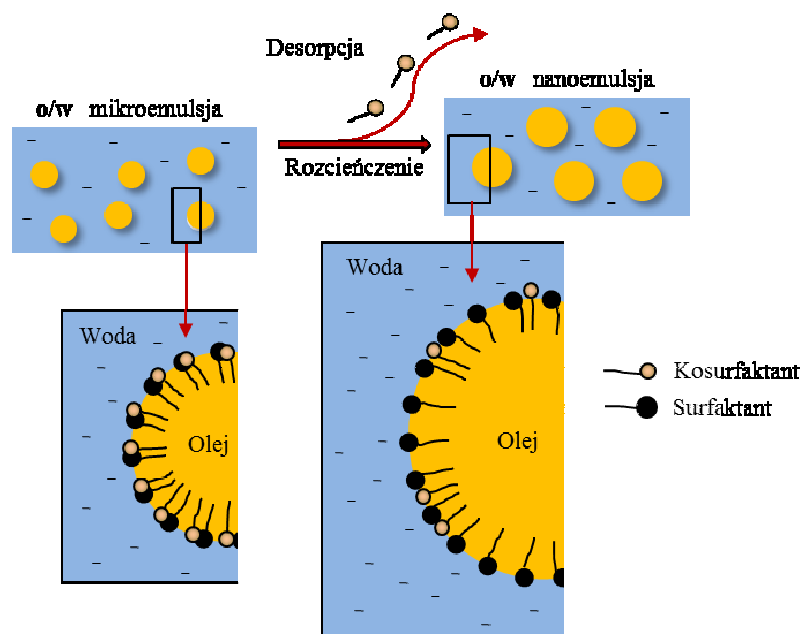
rza się bezpośrednio z wody i oleju. Proces emulgowania następuje w wyniku krzyżowania się strumienia wody i oleju, podawanych pod ciśnieniem (3,5–138 MPa), co powoduje zderzenia cząstek składników emulsji i prowadzi do ścinania oraz kawitacji cząstek fazy wewnętrznej układu emulsyjnego. W niektórych przypadkach mieszaninę wodno-olejową podaje się emulgacji wstępnej. Dwustopniowy proces wytwarzania nanoemulsji stosowali Guerra-Rosas i in. (2016), którzy w pierwszej kolejności poddali emulgowaniu olejki eteryczne (2% v/v), pozyskane z wybranych ziół i owoców, takich jak: oregano (łac. *Origanum vulgare*), tymianek (łac. *Thymus vulgaris*), palczatka cytrynowa (łac. *Cymbopogon citratus*), mandarynki (łac. *Citrus reticulata Blanco*) z dodatkiem Tweenu 80 (5% w/v), przy użyciu wysokoobrotowego mieszalnika (9500 obr./min, 2 min), uzyskując wymiary cząstek rzędu odpowiednio: 740,4, 82,1, 370,7 i 601,5 nm. Przygotowane w ten sposób układy emulsyjne poddano następnie mikrofluidyzacji (250 MPa, 5 cykli), w wyniku czego nastąpiło zmniejszenie kropli do wymiaru odpowiednio: 27,5, 40,6, 11,9 i 17,6 nm. W homogenizatorach membranowych, zaliczanych do grupy energooszczędnych, wielkość cząstek fazy rozproszonej zależy z kolei od rozmiarów mikroszczelin w membranach, które najczęściej są szklane lub ceramiczne. W zależności od rozwiązań technicznych membranowy system wytwarzania emulsji może być stosowany w warunkach laboratoryjnych lub w systemie produkcji ciągłej. Ważną zaletą tych urządzeń jest możliwość uzyskania układów zawierających cząstki fazy rozproszonej o bardzo małej polidispersyjności. Z użyciem homogenizatorów membranowych można wytwarzać emulsje proste typu olej-w-wodzie (o/w) lub woda-w-oleju (w/o) oraz wielokrotne typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) lub olej-w-wodzie-w-oleju (o/w/o) (McClements 2008; Berendsen i in. 2015; Hancocks i in. 2016; Yuan i Williams 2016).

3.3. Metody niskoenergetyczne

Do wytwarzania emulsji prostych w grupie nanoemulsji stosuje się również metody niskoenergetyczne, będące alternatywnym rozwiązaniem dla poprzednio opisanych. W zakresie stosowanych metod najczęściej przyjmuje się podział odnoszony do zmian krzywizny membrany tworzonej przez surfaktanty na cząstkach fazy rozproszonej. Wytwarzanie nanoemulsji w wyniku zainicjowania gwałtownej dyfuzji molekuł surfaktantu i/lub rozpuszczalnika z fazy rozproszonej do ciągłej (w stałej temperaturze) bez zmian uprzednio powstałej krzywizny zalicza się do samoczynnego lub spontanicznego emulgowania (ang. *self or spontaneous-emulsification*). Z analizy doniesień naukowych wynika, że produkcja emulsji tą metodą może być wykonywana poprzez kontrolowane rozcieńczenie mikroemulsji lub homogenizację fazy olejowej zawierającej surfaktant z fazą wodną. Metodę taką stosuje się m.in. do wytwarzania nośników substancji lipofilowych, takich jak: konserwanty, przeciwutleniacze, barwniki, substancje zapachowe, nutraceutyki, lekarstwa (ang. *self-nano-emulsifying drug delivery systems*) i innych (Solans i Solé 2012; Komaiko i McClements 2015; Prasert i Gohtani 2016).

Działania prowadzące do zmiany krzywizny membrany na cząstkach fazy rozproszonej, charakteryzowanej wielkością parametru upakowania z ujemnej ($Pp < 1$, emulsja o/w) na dodatnią ($Pp > 1$, emulsja w/o), zaliczane są do metod związanych z odwróceniem faz. Proces

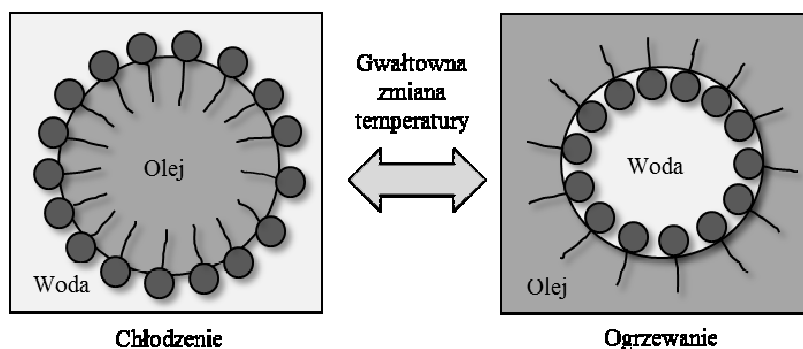
odwrócenia faz emulsji może być wykonywany przy: (i) zastosowaniu PIT; (ii) dokonaniu zmiany w składzie przy stałej temperaturze (ang. *phase inversion composition*, PIC) (Solans i Solé 2012; Su i Zhong 2016). Schematycznie wytwarzanie nanoemulsji metodą samoczynnego (spontanicznego emulgowania) poprzez rozcieńczenie fazy ciągłej przedstawiono na ryc. 8.



Ryc. 8. Proces przekształcania mikroemulsji do nanoemulsji o/w

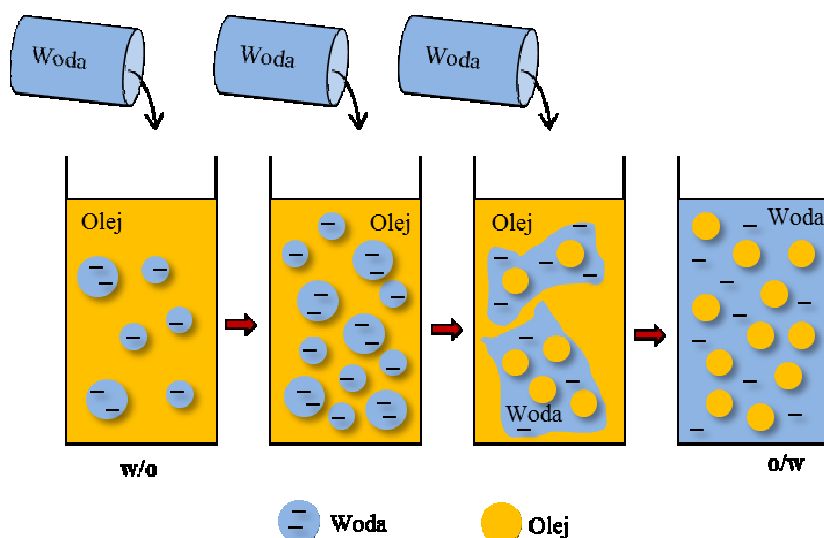
Dyfuzja z powierzchni międzyfazowej (olej–woda) części substancji użytych do wytwarzania mikroemulsji, należących do grupy: rozpuszczalników, surfaktantów i kosurfaktantów, zwiększa napięcie międzyfazowe olej–woda (γ_m) do wartości $>10^{-2} \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$ oraz powierzchnię międzyfazową (cząstka fazy rozproszonej–woda) i w konsekwencji powoduje, że układ staje się metastabilny. Metodę wytwarzania nanoemulsji poprzez homogenizację fazy olejowej zawierającej surfaktant z fazą wodną stosowali Komaiko i McClements (2015), którzy wykazali, że wielkość cząstek powstających w procesie produkcji nanoemulsji zależała od rodzaju użytego oleju oraz proporcji surfaktantu do oleju. Według Davidov-Pardo i McClements (2015) nanoemulsje wytwarzane metodą spontanicznej emulgacji doskonale nadają się jako nośniki polifenolowych substancji bioaktywnych. Autorzy zauważyli, że resweratrol poddany naświetlaniu promieniowaniem z zakresu UV (365 nm) wykazywał ok. 88% stabilność po 1 godz. W metodach związanych z odwróceniem faz emulsji wykorzystuje się energię chemiczną uwalnianą podczas przemian fazowych (ang. *phase transitions*). W metodzie odwrócenia faz emulsji przy zmiennej temperaturze (PIT) zastosowanie mają surfaktanty, których właściwości fizykochemiczne zależą od tego parametru. Przykładem mogą być niejonowe pochodne polioksyetylenu, które przy wzroście temperatury ulegają dehydratacji i lepiej rozpuszczają się w fazie olejowej niż wodnej. W konsekwencji następuje zmiana krzywizny membrany pokrywającej cząstkę fazy rozproszonej, z wypukłej (dodatnie zakrzywienie, ang. *positive curvature*), typowej dla emulsji o/w, na wklęsłą (ujemne zakrzywienie, ang. *negative curvature*), charakterystyczną dla emulsji w/o. Metoda PIT ma pewne ograniczenia, ponieważ

istnieje również ryzyko, że powolne zmiany temperatury mogą prowadzić do koalescencji cząstek fazy rozproszonej (McClements 2008; Solans i Solé 2012; Santana i in. 2013; Tadros 2013; Perazzo i in. 2015). Schematycznie wytwarzanie emulsji metodą PIT przedstawiono na ryc. 9.



Ryc. 9. Zmiana układu faz emulsji (o/w → w/o) metodą PIT

Metodę PIT stosowali Su i Zhong (2016), którzy wykazali, że nanoemulsje wytwarzane z użyciem kazeinianu sodu (2% w/w) oraz Tweenu 20 (0,2–1,2% w/w) mogą być dobrymi nośnikami olejku cytrynowego. Autorzy sugerują ponadto, że wprowadzenie do układu mieszanin emulgujących zawierających biopolimery oraz surfaktanty umożliwia redukcję ilości tych ostatnich, bardzo często stosowanych w produkcji nanoemulsji jako nośników substancji aromatycznych. Metoda PIC polega na odwróceniu faz emulsji w stałej temperaturze w wyniku zmian dokonywanych w jej składzie. W literaturze przedmiotu uważa się, że mechanizm przemian fazowych, występujący w przekształcaniu emulsji w/o na o/w, pod wpływem dodawania wody do układu, związany jest z hydratacyjnym oddziaływaniem na zmianę krzywizny membrany (ang. *hydration-driven change of curvature*), jak również zmniejszającą się rozpuszczalnością oleju, co powoduje efekt przesylenia i prowadzi do nukleacji cząstek fazy olejowej (ang. *droplet nucleation*) (Perazzo i in. 2015). Schematycznie wytwarzanie nanoemulsji metodą PIC przedstawiono na ryc. 10.



Ryc. 10. Zmiana układu faz emulsji (w/o → o/w) metodą PIC

4. Charakterystyka faz emulsji

4.1. Faza rozproszona

4.1.1. Stężenie

Stężenie fazy rozproszonej (tłuszczowej) w emulsjach typu olej-w-wodzie (o/w) jest ważnym parametrem wpływającym na ich: wygląd, właściwości fizykochemiczne, stabilność oraz smakowość i może być określone ułamkiem objętościowym (ang. *dispersed-phase volume fractions*, Φ_V) według wzoru:

$$\Phi_V = V_R/V_E$$

gdzie: V_R – objętość cząstek fazy rozproszonej;

V_E – całkowita objętość emulsji.

Wielkość wskaźnika stężenia frakcji rozproszonej wyrażana jest też w jednostkach masy: $\Phi_m = M_D/M_E$, gdzie: M_D i M_E – odpowiednio masa kropelek oleju i emulsji, lub za pomocą równania: $\Phi_m = \Phi_V \rho_2 / [\Phi_V \rho_2 + (1 - \Phi_V) \rho_1]$, gdzie: ρ_1 i ρ_2 – odpowiednio gęstość fazy ciągłej i rozproszonej. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że emulsje rozcieńczone charakteryzują się $\Phi_V < 0,2$; wielkość Φ_V dla układów monodispersyjnych stężonych mieści się w zakresie $0,2 < \Phi_V < 0,74$, natomiast dla odpowiednich monodispersyjnych wysoko stężonych $\Phi_V \approx 0,74$. Wartość ta odpowiada maksymalnemu upakowaniu cząstek fazy rozproszonej w układzie monodispersyjnym (Φ_{Max}) przy regularnym heksagonalnym uporządkowaniu, co wynika ze wzoru: $\Phi_{Max} = \pi \times (2^{1/2}/6) = 0,7405$. Jednocześnie należy zaznaczyć, że do $\Phi_V \leq 0,64$ cząstki rozproszonej fazy olejowej charakteryzują się sferycznym kształtem, natomiast powyżej tej wielkości w postaci zdeformowanej, zwiększającej się wraz ze wzrostem ich stężenia. Zawartość cząstek fazy rozproszonej może być ustalana: (i) metodami tradycyjnymi, np. poprzez suszenie, ekstrakcję rozpuszczalnikami, pomiary gęstości i inne; (ii) z zastosowaniem technik bardziej zaawansowanych, takich jak: rozpraszanie światła (ang. *light scattering*), ultradźwiękowa spektroskopia (ang. *ultrasonic spectroscopy*) oraz pomiar elektrycznej przewodności (ang. *electrical pulse counting techniques*) (McClements i Weiss 2005; Dörr i in. 2013; Foudazi i in. 2015; McClements 2016).

4.1.2. Rozmiar i polidispersyjność

Rozmiar cząstek fazy rozproszonej (kropel, ang. *droplet size*) wpływa na cechy jakościowe emulsji spożywczych, takie jak: wygląd, stabilność, właściwości reologiczne, w tym teksturalne, dlatego wytwarzanie wysokiej jakości produktów będących emulsjami lub zawierającymi je jako podukład (ang. *emulsion-based food products*) wymaga stosowania metod analitycznych dostarczających informacji zarówno o wymiarze, jak i rozkładzie kropelek (ang. *droplet size distribution*) (Cofrades i in. 2013; Chung i in. 2014b; Lett i in. 2016).

Obecnie dostępnych jest wiele metod umożliwiających scharakteryzowanie cząstek znajdujących się w układzie, różniących się dokładnością oraz czasem potrzebnym na wykonanie analizy. Stosunkowo szybko można wyznaczyć parametry cząstek fazy rozproszonej dzięki zastosowaniu techniki rozpraszania światła (ang. *light scattering*), wykonywanej metodami: (i) dynamicznego rozpraszania światła (ang. *dynamic light scattering*, DLS); (ii) statycznego rozpraszania światła (ang. *static light scattering*, SLS) (Tabibiazar i in. 2015). W metodzie SLS mierzy się natężenie całkowite rozpraszane światła, a w DLS jego fluktuacje. Obecnie do wymiarowania fazy rozproszonej stosuje się często małokątowe rozpraszanie światła laserowego (ang. *low-angle laser light scattering*) lub wielokątowe rozpraszanie światła laserowego (ang. *multi-angle laser light scattering*) (Xiang i in. 2015). Większość urządzeń pracujących techniką SLS lub DLS umożliwia pomiar cząstek o średnicach w zakresie 0,1–1000 μm , jednocześnie w literaturze przedmiotu sugeruje się, że SLS i DLS powinny być stosowane razem, ponieważ SLS pozwala na zdecydowanie precyzyjniejszy pomiar cząstek o większych rozmiarach (McClements 2016). Metodę DLS i SLS stosowano do oceny rozmiaru cząstek fazy rozproszonej w emulsjach prostych i wielokrotnych, w tym zawierających powierzchnie międzyfazowe o różnym składzie oraz mikrostrukturze (Von Staszewski i in. 2014; Xuexin i Golding 2014; Komaiko i McClements 2015; Wu i in. 2015; Abdolmaleki i in. 2016; Davidov-Pardo i in. 2016; Liu i in. 2016).

Stosunkowo szybko pomiaru wielkości cząstek można dokonać, stosując technikę opartą na pomiarze elektrycznej przewodności (ang. *electrical conductivity*), określaną też w literaturze przedmiotu jako *electrical pulse counting techniques*, *electrozone sensing* lub *Coulter counter techniques*. Zasada pomiaru polega na przepływie rozcieńczonej emulsji przez kryzę o określonej średnicy pod wpływem przyłożonego napięcia. Powoduje to zmianę reaktancji pojemnościowej, co jest rejestrowane jako impuls prądowy, następnie za pomocą licznika Coultera wyznacza się objętość każdej cząstki, co umożliwia określenie średniej średnicy objętościowej. Metoda ta pozwala na pomiar cząstek fazy rozproszonej w zakresie 0,4–1200 μm , dlatego może być użyteczna do oceny wielkości kropli w emulsjach spożywczych, jednak należy mieć na uwadze, że stosowanie tej techniki wymaga użycia kryz pomiarowych dostosowanych do wielkości mierzonych cząstek. Próbkę poddawane ponadto ocenie metodą elektrycznej przewodności oraz SLS i DLS muszą charakteryzować się stosunkowo niewielkim stężeniem fazy rozproszonej, rzędu $\varphi < 0,001$.

Do określania wielkości cząstek fazy rozproszonej w emulsjach może też mieć zastosowanie technika oparta na pomiarze szybkości sedymentacji (ang. *sedimentation technique*), która umożliwia wyznaczenie tzw. średnicy Stokesa, odpowiadającej masowej de Bruckere'a (wyjaśnienie w tabeli 1). Metodę tę stosuje się w układach zawierających cząstki o średnicy 2–50 μm . Analiza wielkości kropeł $< 2 \mu\text{m}$ może być obciążona stosunkowo dużym błędem, rzędu nawet 100%, z uwagi na nakładające się procesy związane z oddziaływaniem grawitacyjnym oraz ruchami Browna. Do pomiaru wielkości cząstek fazy wewnętrznej emulsji, w tym ich cech mikrostrukturalnych, stosuje się również metody z użyciem mikroskopii: (i) optycznej; (ii) transmisyjnej mikroskopii elektronowej (ang. *transmission electron microscopy*) oraz (iii) skaningowej mikroskopii elektronowej (ang. *scanning electron microscopy*). Zastosowanie tych metod pozwala w wielu przypadkach na bezpośrednią obserwację

cząstek fazy rozproszonej, przy czym wynik może być niedokładny, zwłaszcza w przypadku poddania analizie niereprezentatywnej próbki lub selektywnego zliczania cząstek. Do innych stosowanych obecnie mało inwazyjnych metod zaliczyć należy spektroskopię ultradźwiękową (ang. *ultrasonic spectroscopy*) oraz magnetyczny rezonans jądrowy (ang. *nuclear magnetic resonance spectroscopy*) (McClements 2008, 2016).

Emulsje, w których cząstki fazy rozproszonej mają taki sam wymiar, zalicza się do monodispersyjnych, natomiast odpowiednie różniące się wymiarem cząstek do polidispersyjnych. Układy polidispersyjne, z kolei, w zależności od liczby pików w rozkładzie (udział procentowy – wielkość cząstki) dzielą się na monomodalne, bimodalne oraz multimodalne (McClements i Weiss 2005; Xuexin i Golding 2014). Do opisu rozkładu cząstek fazy rozproszonej stosuje się różne modele, w tym np. Rosina–Rammlera oraz Nukiyama–Tanasawa. Sumaryczny rozkład objętości kropeł (ang. *cumulative volume fraction*, V_{cum}) o średnicy mniejszej niż d_i według Rosina-Rammlera przedstawia równanie (Jurado i in. 2007):

$$V_{cum} = 1 - \exp[-(d_i/a)^b]$$

gdzie: a , b – parametry rozkładu równania.

Stosuje się wiele metod pozwalających na ocenę stopnia polidispersyjności cząstek fazy rozproszonej. Jedną z nich jest pomiar wskaźnika polidispersyjności (ang. *polydispersity index*, PDI or SPAN), obliczany z zależności (Bortnowska 2008b; Zhao i in. 2014; Cheng i in. 2015):

$$PDI (SPAN) = \{[d_{(0,9)} - d_{(0,1)}]/d_{(0,5)}\}$$

gdzie: $d_{(0,1)}$, $d_{(0,5)}$ i $d_{(0,9)}$ – średnice cząstek odnoszone, odpowiednio do 10, 50 i 90% udziału kumulacyjnego objętości fazy rozproszonej.

Parametr $d_{(0,5)}$ równoważny jest ze średnicą medialną (d_M) i wskazuje, że im mniejsza jest jego wielkość, tym większa jest aktywność emulgowania SPC. Uważa się, że wskaźnik polidispersyjności dostarcza wielu informacji na temat stabilności fizycznej układu. Korzystając z powyżej przytoczonego wzoru, Chaprenet i in. (2014) dowiedli, że wraz z narastaniem flokulacji w emulsjach wielowarstwowych wielkość PDI zmieniała się z 0,5 do 3,5. Fernández-Ávila i in. (2015) wykazali natomiast, że przy użyciu wysokociśnieniowego homogenizatora (15–200 MPa) wartości SPAN mieściły się w zakresie 3,49–2,31, natomiast dalszy wzrost ciśnienia do 300 MPa powodował zwiększenie tego wskaźnika do 8,30. Abdolmaleki i in. (2016) z kolei zauważyli, że w układzie emulsyjnym stabilizowanym gumą tragakanta zmiana pH (5,4–2,5) kształtowała wartości SPAN w zakresie 8,63–9,29. Odwrotny natomiast efekt zmniejszania się tej wartości (9,10–8,58) obserwowano przy dodatku NaCl (0–1% w/w, pH 4). Badania Gomes i in. (2016) wykazały, że wraz ze wzrostem stężenia Tweenu 20 (1–4% w/w) w układzie olej sojowy : woda (75 : 25) zmniejszały się wartości SPAN z 1,43 do 1,33. W literaturze przedmiotu znaleźć można również inne zależności matematyczne pozwalające na obliczenie wskaźnika polidispersyjności. Georgieva i in. (2009) do obliczeń PDI zastosowali zależność: $PDI = 1/d_M \{[\sum n_i d_i^3 (d_M - d_i)]/\sum n_i d_i^3\}$, gdzie: d_M – średnica medialna; n_i – liczba cząstek o średnicy d_i . Li i in. (2013) do wyznaczenia PDI użyli średniej średnicy $D[4,3]$, ponieważ uwzględnia ona dobrze udział cząstek o stosunkowo dużych średnicach:

$PDI = D[4,3]/(\sum d_i/N)$, gdzie: d_i – średnica kropli; N – całkowita ilość kropli w układzie. Kolejnym wskaźnikiem pozwalającym określić polidispersyjność emulsji jest wskaźnik jednorodności (ang. *uniformity ratio*, U):

$$U = \sum V_i | (d_{(0,5)} - d_i) | / d_{(0,5)} \times \sum V_i$$

gdzie: $d_{(0,5)}$ – średnica cząstek odnoszona do 50% udziału kumulacyjnego objętości fazy rozproszonej;

V_i – objętość cząstek fazy rozproszonej o średnicy d_i .

W literaturze przedmiotu uważa się, że wskaźnik U jest miarą odchylenia średnic cząstek fazy rozproszonej od średnicy medialnej, tzn. im większa jest wielkość U , tym większy jest rozmiar rozkładu. Jurado i in. (2007) wykazali, że w emulsjach (5% w/w trioleinian glicerolu, homogenizacja: 1 min, 13 000 obr./min⁻¹) przy wzroście stężenia GA (1–5 g·l⁻¹) wartości U mieściły się w zakresie 2,43–1,26. Według Romero i in. (2011) wielkość U w badanych układach (50% w/w olej słonecznikowy, 3% (w/w) izolat białek mięsa raków, homogenizacja: 1 min, 20 000 obr./min⁻¹) zależała od pH i wynosiła: 0,68 i 0,54, odpowiednio przy pH 2 i 8. Stopień niejednorodności cząstek fazy rozproszonej (ang. *droplet size heterogeneity parameter*, DH) można natomiast obliczyć ze wzoru:

$$DH = \{ (D[4,3] - D[4,3]_{MP}) / D[4,3]_{MP} \} \times 100$$

gdzie: $D[4,3]$ oraz $D[4,3]_{MP}$ – średnie średnice cząstek fazy rozproszonej układu emulsyjnego oraz w obrębie głównego piku.

Jeżeli DH wynosi 0, to w rozkładzie cząstek fazy rozproszonej znajduje się tylko jeden pik, natomiast wartość 100 oznacza, że $D[4,3]$ jest dwukrotnie większa niż $D[4,3]_{MP}$. Castellani i in. (2010) badali układy emulsyjne wytwarzane z użyciem homogenizatora ciśnieniowego (5 MPa), zawierające 5% (w/w) GA: (i) natywnej (*Acacia senegal* (L.) Willd. var. *senegal*, EN); (ii) dwóch rodzajów (EM1, EM2) pozyskanych z gumy (*Acacia (sen) SUPER GUM*TM) *Acacia Senegal*, poddanej obróbce termicznej, przy czasie jej trwania większym dla EM2 niż EM1. Autorzy wykazali, że przy homogenizacji wielokrotnej (1–60), wielkości parametru DH zmieniały się w zakresach: 15–82, 33–2 i 19–5, odpowiednio w układach emulsyjnych przygotowanych z użyciem: EN, EM1 i EM2.

W celu zdefiniowania cząstek fazy rozproszonej o różnych wymiarach stosuje się wielkość umowną, nazywaną średnią średnicą cząstek. Wielkość ta, pomimo że nie daje informacji o samym zbiorze, pozwala jednak ocenić skuteczność procesu dyspergowania, zarówno w wymiarze rodzaju i stężenia użytych emulgatorów, jak i stosowanej metody emulgowania. Średnie średnice (D , μm) cząstek kulistych można obliczać, korzystając z ogólnego wzoru:

$$D[a,b] = [\sum n_i d_i^a / \sum n_i d_i^b]^{1/a-b}$$

gdzie: a , b – wykładniki stosowane do określania średnich średnic;

n_i – liczba kropelek oleju o średnicy d_i .

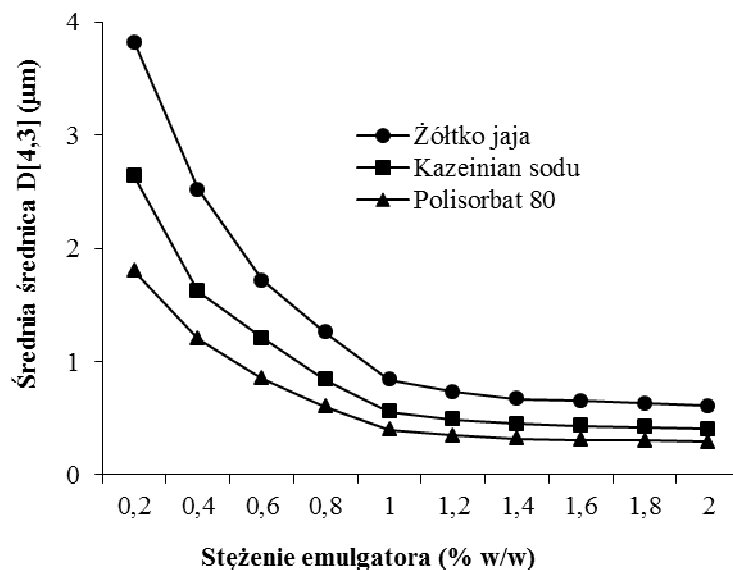
Wybrane średnie średnice stosowane w ocenie właściwości fizykochemicznych układów emulsyjnych zamieszczono w tabeli 1. Do oceny emulsji spożywczych zarówno prostych, jak

i wielokrotnych najczęściej stosuje się następujące średnie średnice: objętościowo-powierzchniową Sautera (D[3,2]) oraz masową de Brouckere'a (D[4,3]).

Tabela 1. Definicje średnich średnic cząstek fazy rozproszonej

Średnia średnica	Symbol	Parametry		Wzór
		a	b	
Względna powierzchniowa (ang. <i>length mean diameter</i>)	D[2,1]	2	1	$\Sigma n_i d_i^2 / \Sigma n_i d_i$
Arytmetyczna, liniowa, długościowa (ang. <i>mean length diameter, arithmetic mean diameter</i>)	D[1,0]	1	0	$\Sigma n_i d_i / \Sigma n_i$
Objętościowo-powierzchniowa, Sautera (ang. <i>volume-surface mean diameter, Sauter mean diameter</i>)	D[3,2]	3	2	$\Sigma n_i d_i^3 / \Sigma n_i d_i^2$
Powierzchniowa (ang. <i>mean surface diameter</i>)	D[2,0]	2	0	$[\Sigma n_i d_i^2 / \Sigma n_i]^{1/2}$
Masowa, de Brouckere'a (ang. <i>mass mean diameter, de Bruckere mean diameter</i>)	D[4,3]	4	3	$\Sigma n_i d_i^4 / \Sigma n_i d_i^3$
Objętościowa (ang. <i>mean volume diameter</i>)	D[3,0]	3	0	$[\Sigma n_i d_i^3 / \Sigma n_i]^{1/3}$

Wyniki badań przedstawione przez Romero i in. (2011) wskazują, że D[4,3] w emulsjach (50% w/w olej słonecznikowy, 3% w/w izolat białek mięsa raków) zmieniała się po 20 dniach ich przechowywania w zakresach: 0,33–0,43 μm oraz 0,30–0,31, odpowiednio przy pH 2 i 8. Z badań Zhao i in. (2014) z kolei wynika, że przy stężeniach estrów sacharozy (0–0,3% w/w) w układzie emulsyjnym następowały zmiany D[3,2] i D[4,3], odpowiednio: 0,594–0,527 μm i 1,162–0,984 μm . Cheng i in. (2015) zauważyli natomiast, że w emulsjach (4% w/w białek mleka, 10% w/w oleju kokosowego) wzrost stężenia karboksymetylocelulozy lub GG (0–0,4% w/w) zmniejszał D[4,3] o odpowiednio: 0,99–0,65 μm lub 0,99–0,72 μm . Podobny trend, z tym że przy większej redukcji rozmiarów cząstek fazy rozproszonej (1,5–0,8 μm), obserwowali Xiang i in. (2015) po dodaniu GA (3–15% w/w) oraz Zhang i in. (2016a) w układach (olej : woda, 1 : 4), gdzie użycie pektyn (1–4% w/w) powodowało zmiany D[3,2] z ok. 13 do 5 μm . Hu i in. (2016), wykonując badania w odniesieniu do stężenia celulozy regenerowanej w emulsjach (kazeinian sodu 2% w/w, olej sojowy 30% w/w), wykazali, że wprowadzenie jej do układu (0–2% w/w) wpływało na rozmiar D[4,3] cząstek fazy rozproszonej, po pierwszym i siódmym dniu przechowywania, odpowiednio w zakresach: 27,40–18,23 μm oraz 31,53–21,50 μm . Z analizy wyników doświadczeń eksperymentalnych wynika jednak, że istnieje graniczna wielkość stężenia SPC, powyżej którego praktycznie nie obserwuje się obniżania wymiarów cząstek fazy rozproszonej (McClements 2008; Julio i in. 2015). Na ryc. 11 przedstawiono zmiany średnich średnic D[4,3] w emulsji w zależności od stężenia i rodzaju emulgatora.



Ryc. 11. Wpływ rodzaju i stężenia emulgatora na wielkość cząstek D[4,3] fazy rozproszonej (20% w/w oleju rzepakowego, homogenizacja 14 000 obr./min, 40 s, badania własne niepublikowane)

W literaturze przedmiotu uważa się, że dalsze zmniejszanie wymiarów cząstek jest możliwe jedynie poprzez dostarczanie większej ilości energii do układu w czasie procesu homogenizacji. Tabibiazar i in. (2015) wykazali, że poddając sonifikacji układ emulsyjny (20% w/w oleju słonecznikowego, 15% w/w BSA), przy zastosowanej mocy urządzenia 200 W, zmiana średniej wielkości cząstek fazy rozproszonej w czasie 0–40 min mieściła się w zakresie 2,5–0,86 μm, natomiast przy mocy 400 W, w tym samym czasie sonifikacji, zmieniła się od 2,6 do 0,52 μm.

4.1.3. Interakcje

Poziom interakcji pomiędzy cząstkami fazy rozproszonej jest czynnikiem w znacznym stopniu determinującym stabilność fizyczną układu emulsyjnego. Jeżeli cząstki wykazują wzajemne przyciąganie się, następuje proces ich agregacji. W wyniku ich wzajemnego odpychania układ emulsyjny zachowuje stabilność, a cząstki pozostają w układzie w swojej rozproszonej postaci. Zasadniczo zgodnie z teorią DLVO (*Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek*) w zakresie interakcji cząstek uwzględnia się oddziaływanie sił: van der Waalsa; elektrostatycznego odpychania oraz przyciągania. W układzie emulsyjnym zawierającym znaczną ilość różnych składników mogą zachodzić również inne interakcje (Guzey i McClements 2007; McClements 2008; Tadros i in. 2013; Foudazi, 2015; Jiang i Xiong 2015; Salminen i in. 2016). Ogólną wartość potencjału interakcji (ang. *interaction potential*, ΔG , $J \cdot kg^{-1}$) pomiędzy cząstkami fazy rozproszonej można wyrazić wzorem:

$$\Delta G(s) = \Delta G_{VDW}(s) + \Delta G_{elektrostatyczne}(s) + \Delta G_{hydrofobowe}(s) + \Delta G_{krótkiego\ zasięgu}(s)$$

gdzie: ΔG_{VDW} , $\Delta G_{elektrostatyczne}$, $\Delta G_{hydrofobowe}$ oraz $\Delta G_{krótkiego\ zasięgu}$, odnoszą się do energii swobodnych związanych z oddziaływaniem sił, odpowiednio: van der Waalsa, elektrostatycznych, hydrofobowych oraz krótkiego zasięgu; s – odległość pomiędzy cząstkami.

Oddziaływanie sił VDW pomiędzy cząstkami koloidów zachodzi wtedy, gdy mają one stały lub okresowo pojawiający się moment dipolowy, który charakteryzuje się stosunkowo dużym zasięgiem i sprzyja łączeniu cząstek w większe kompleksy. Wyróżnić zatem można trzy grupy tych oddziaływań: (i) dipol trwały – dipol trwały (siły konformacyjne Keesoma); (ii) dipol trwały – dipol indukowany (siły indukcyjne Debye'a) oraz (iii) dipol indukowany – dipol indukowany (siły dyspersyjne Londona). McClements (2008) uważa, że wielkość potencjału wynikającego z oddziaływań sił van der Waalsa (ΔG_{VDW}) pomiędzy dwiema kroplami oleju, mającymi taki sam promień, oblicza się z równania:

$$\Delta G_{VDW}(s) = (-A \cdot r) / 12s$$

gdzie: r – promień kropli oleju;
 s – odległość pomiędzy kroplami;
 A – parametr Hamakera.

Równanie to wskazuje, że wielkość oddziaływań VDW jest wprost proporcjonalna do promienia cząstek fazy rozproszonej i odwrotnie proporcjonalna do odległości między nimi. Silvestre i in. (1999) sugerują, że ΔG_{VDW} może być obliczone ze wzoru:

$$\Delta G_{VDW}(s) = -A/6 [(2r^2 / s^2 + 4sr) + (2r^2 / s^2 + 4sr + 4r^2) \cdot \ln (s^2 + 4rs / s^2 + 4sr + 4r^2)]$$

gdzie: s – odległość pomiędzy kroplami;
 r – promień kropli.

Claesson i in. (2006) z kolei uważają, że wielkość oddziaływań sił van der Waalsa (ΔG_{VDW}) pomiędzy cząstkami o różnych promieniach (r_1, r_2), odległymi od siebie o wielkość s może być wyznaczona z zależności: $\Delta G_{VDW}(s) = -Ar_1r_2 / 6s(r_1 + r_2)$. Sposoby obliczenia parametru A opisali m.in.: Silvestre i in. (1999), Claesson i in. (2006), Tadros 2013, Karakashev i Manev (2015) oraz Salminen i in. (2016). Energia oddziaływań międzycząsteczkowych wynikająca z istnienia sił van der Waalsa wynosi zwykle 2–8 kJ·mol⁻¹ i jest ok. 100-krotnie mniejsza od przeciętnych energii wiązań kowalencyjnych (200–800 kJ·mol⁻¹) oraz kilkakrotnie mniejsza od energii wiązania wodorowego (20–25 kJ·mol⁻¹).

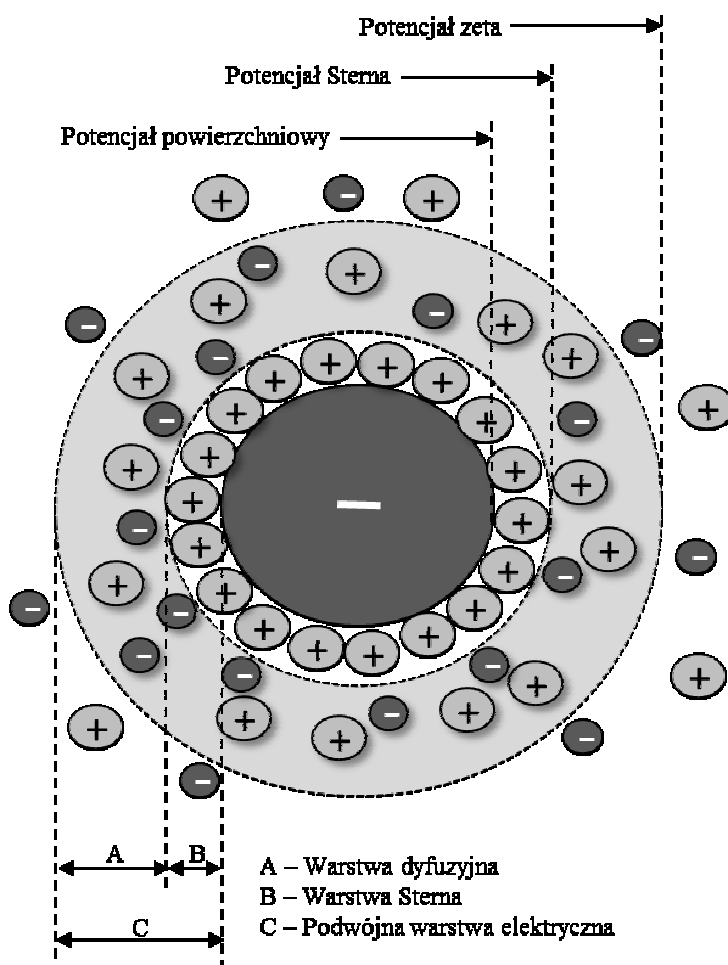
Potencjał interakcji $\Delta G_{\text{elektrostatyczny}}(s)$ pomiędzy kroplami oleju w niewielkiej odległości można wyrazić wzorem (Silvestre i in. 1999; Guzey i McClements 2007; McClements 2008; Salminen i in. 2016):

$$\Delta G_{\text{elektrostatyczny}}(s) = 4,3 \times 10^{-9} r \psi^2 \ln(1 + e^{-\kappa s})$$

przy czym: κ^{-1} – grubość podwójnej warstwy elektrycznej (ang. *thickness of the electric double layer*): $\kappa^{-1} = (\epsilon_0 \epsilon_r k_B T / 2 N_A e^2 I)^{1/2}$, natomiast $I = 1/2 \sum c_i z_i^2$. Symbole użyte w równaniach oznaczają: z_i – liczba ładunków elementarnych i -tego jonu znajdującego się w roztworze, natomiast c_i – jego stężenie molowe; ϵ_0 – stała dielektryczna próżni; ϵ_r – względna stała dielektryczna środowiska otaczającego krople oleju; k_B – stała Boltzmanna; T – temperatura bezwzględna; e – ładunek elektryczny; r – promień kropli; ψ – potencjał powierzchniowy; N_A – liczba Avogadro.

Wielkość pH układu wpływa na potencjał powierzchniowy (ψ), natomiast siła jonowa jest czynnikiem determinującym grubość podwójnej warstwy elektrycznej (κ^{-1}) (Genot i in. 2003;

McClements 2008; Jiang i in. 2016). Z analizy powyższych zależności wynika, że zakres oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy cząstkami znajdującymi się w układzie emulsyjnym w znacznej mierze zależy od ich powierzchniowego ładunku elektrycznego. Jednym z czynników wywierających wpływ na ładunek cząstek fazy rozproszonej jest wielkość stałej dielektrycznej faz wchodzących w skład emulsji. W układach, w których faza rozproszona ma większą stałą dielektryczną niż faza ciągła, cząstki fazy rozproszonej ładują się ujemnie. Zjawisko takie zachodzi w emulsjach typu olej-w-wodzie stabilizowanych emulgatorami niejonowymi. W emulsjach, w których membrana pokrywająca cząstki fazy rozproszonej zawiera emulgatory jonowe, a szczególnie biopolimery, wielkość ładunku determinowana jest składem PM oraz wielkościami pH i siły jonowej układu (Bortnowska 2015a; Ozturk i McClements 2016; Davidov-Pardo i in. 2016). Ładunek występujący na powierzchni cząstki fazy rozproszonej charakteryzowany jest wielkością potencjału powierzchniowego (ryc. 12). Prawie nieruchoma warstwa jonów ściśle przylegająca do powierzchni cząstki koloidalnej (warstwa Sterna) kształtuje wielkość potencjału Sterna. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że w bezpośrednim sąsiedztwie warstwy Sterna jest odpowiednia dyfuzyjna, odnoszona do płaszczyzny poślizgu. Warstwa Sterna oraz dyfuzyjna stanowią podwójną warstwę elektryczną (ang. *electrical double layer*), a występujący na granicy poślizgu potencjał określany jest mianem elektrokinetycznego lub zeta (ζ).



Ryc. 12. Struktura podwójnej warstwy elektrycznej na powierzchni ujemnie naładowanej cząstki

Do wyznaczania potencjału zeta stosuje się analizatory potencjału zeta, których działanie jest głównie oparte na laserowym efekcie Dopplera (ang. *laser Doppler velocimetry*) oraz elektroforetycznym rozpraszaniu światła (ang. *electrophoretic light scattering*). Pomiar potencjału zeta umożliwia m.in.: (i) określenie stabilności układu emulsyjnego, szczególnie w odniesieniu do zmian pH i siły jonowej układu; (ii) wyznaczenie zakresu interakcji pomiędzy cząstkami zaadsorbowanymi na kroplach oleju i odpowiednimi znajdującymi się w roztworze, co ma duże znaczenie przy produkcji emulsji zawierających cząstki oleju pokryte membranami wielowarstwowymi (ang. *multilayered emulsions*), jak również (iii) wyznaczenie punktu izoelektrycznego białek. Chung i in. (2014b) wykazali, że w układzie emulsyjnym (2,5% w/w białek serwatki; 1% w/w LBG; 5% w/w oleju rzepakowego) wzrost pH w zakresie 2–8 zmienił potencjał ζ od 9,03 do –17,85 mV. Z obserwacji Cheng i in. (2015) wynika, że w emulsjach zawierających białka mleka chudego przy wzroście pH (3–8) potencjał ζ przyjmował wartości: (+30)–(–31) mV, jednocześnie analogiczne zmiany pH w odniesieniu do karboksymetylocelulozy oraz GG kształtowały ζ odpowiednio w zakresach (–12)–(–42) mV oraz (+1)–(–8) mV. Abdolmaleki i in. (2016) analizie poddali oddziaływanie łączne, tzn. pH i siły jonowej, wykazując, że w układzie stabilizowanym gumą tragakanta przy pH 5,4 wartość ζ wynosiła –40,3 mV i malała wraz z rosnącym stężeniem NaCl oraz zmniejszającym się pH, osiągając najniższą wartość (–6,7 mV) przy pH 4 i 1% (w/w) NaCl. Badania Salminen i in. (2016) z kolei dotyczyły zmiany potencjału ζ w emulsjach (10% w/w oleju kukurydzianego, 1% w/w białek serwatkowych) w zależności od stężenia lipidowych nanocząstek. Autorzy zauważyli, że przy pH 3 w zakresie stężeń lipidowych nanocząstek 0–2% (w/w) potencjał ζ przyjmował wartości (+82)–(–30) mV, natomiast przy pH 5 (0–1,5% w/w) (–24)–(–58) mV. Zhao i in. (2014) natomiast dowiedli, że na wielkość ζ wpływa proces kompetytywnej adsorpcji zachodzący w układzie zawierającym biopolimery i surfaktanty. Wykazano, że wzrost stężenia estrów sacharozy (0–0,30% w/w) w emulsji (1% w/w kazeinian sodu, 20% w/w olej kukurydziany) powodował zmianę ζ w zakresie (–49,4)–(–47,1) mV. W literaturze przedmiotu zwraca się uwagę ponadto, że zastosowanie chitozanu do wytwarzania membran na cząstkach zdyspergowanej fazy olejowej umożliwia dobrą elektrostatyczną stabilizację układu emulsyjnego, przy wartościach potencjału ζ mieszczącego się w zakresie od +50 do +80 mV (Perdones i in. 2016).

Oddziaływania hydrofobowe w układach emulsyjnych ocenia się zarówno w wymiarze interakcji międzymolekularnych, jak i zachodzących pomiędzy cząstkami fazy zdyspergowanej. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że oddziaływanie hydrofobowe występujące pomiędzy cząsteczkami (cząstkami) lub niepolarnymi (hydrofobowymi) ich fragmentami mają charakter sił przyciągania. Wielkość oddziaływania hydrofobowego zależy m.in. od rozmiaru cząsteczek (cząstek). Przyjmuje się, że wielkość hydrofobowej energii swobodnej ($\Delta G_{\text{hydrofobowe}}$) procesu dimeryzacji cząsteczek rośnie proporcjonalnie do ich średnicy (d_c): $\Delta G_{\text{hydrofobowe}} \approx -20d_c$. Potencjał energii pomiędzy hydrofobowymi powierzchniami (np. cząstek zdyspergowanego oleju), rozdzielonymi przez fazę wodną z kolei, może być wyrażony wzorem (McClements 2008; Zieliński 2009):

$$\Delta G_{\text{hydrofobowe}}(s) = -0,69 \times 10^{-10} r \Phi_H \exp(-s/\lambda_0)$$

gdzie: Φ_H – powierzchnia fazy rozproszonej wykazująca właściwości hydrofobowe;

- s – odległość pomiędzy kroplami oleju;
 r – promień kropli oleju;
 λ_0 – długość zaniku, zwykle w zakresie 1–2 nm.

Zwraca się także uwagę, że oznakami oddziaływań hydrofobowych w układzie emulsyjnym mogą być: przyleganie kropelek oleju do powierzchni niepolarnych, szybka koagulacja cząstek hydrofobowych w wodzie, łączenie się monomerów substancji powierzchniowo-czynnych w micelle, zmiana kształtu łańcuchów polipeptydowych białek, destabilizacja zdyspergowanej fazy olejowej i inne. Oddziaływania hydrofobowe są czynnikiem zarówno zmniejszającym, jak i zwiększającym stabilność emulsji. W procesie dyspergowania fazy olejowej, przy niedostatecznym stężeniu emulgatora, dochodzi zwykle do zwiększonych interakcji hydrofobowych pomiędzy cząstkami, co w konsekwencji uniemożliwia uzyskanie układu o dużej jednorodności fazy wewnętrznej. W emulsjach zawierających znaczną ilość substancji o właściwościach niepolarnych oddziaływania hydrofobowe mają istotną rolę w ich stabilizacji (Zieliński 2009; McClements 2016).

Oddziaływanie krótkiego zasięgu pomiędzy kroplami oleju ma miejsce wtedy, gdy nastąpi wystarczająco duże zbliżenie ich powierzchni międzyfazowych i jest związane z: interakcją steryczną (komponenty o właściwościach osmotycznych oraz elastycznych), hydratacją, przesuwaniem się cząstek oraz falistością powierzchni. Zakres i wielkość tych oddziaływań zależą od: rozmiarów cząstek i ich kształtu, konformacji, stopnia upakowania, interakcji, mobilności, hydratacji składników zaadsorbowanych na powierzchni międzyfazowej i innych (McClements 2008; Claesson i in. 2006).

4.2. Powierzchnia międzyfazowa

4.2.1. Adsorpcja w stężeniu nadmiarowym

Powierzchnia międzyfazowa olej–woda (powierzchnia rozdziału faz, PM) w emulsjach jest zwykle bardzo duża, a jej zwartość i wytrzymałość mechaniczna w istotny sposób wpływają na stabilność całego układu emulsyjnego. Wielkość PM oblicza się, wyznaczając powierzchnię właściwą cząstek fazy rozproszonej przypadającą na jednostkę objętości lub masy. W odniesieniu do masy powierzchnię właściwą (ang. *specific surface area*, SSA, $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) oblicza się ze wzoru:

$$\text{SSA} = 6 \times (\rho \cdot D[3,2])^{-1}$$

gdzie: ρ – gęstość cząstek fazy rozproszonej;

$D[3,2]$ – średnia średnica objętościowo-powierzchniowa.

Zhao i in. (2014) wykazali, że wzrost stężenia (0–30% w/w) estrów sacharozy w układzie emulsyjnym (o składzie jak powyżej) powodował zmiany SSA w zakresie 10,1–11,4 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ oleju. Bortnowska (2008b) dowiodła, że przy wzroście pH 3–9 w układach emulsyjnych zawierających 2% (w/w) emulgatora (żółtko jaja lub lecytyna słonecznikowa) oraz 20% (w/w)

oleju rzepakowego wielkości SSA mieściły się w zakresach: 9,29–10,23 m²·g⁻¹ oleju lub 9,71–13,47 m²·g⁻¹ oleju. W tych samych badaniach ustalono również, że dodatek NaCl (0,5–2,0% w/w, pH 7) wpływał na SSA następująco: 11,02–9,43 m²·g⁻¹ oleju lub 9,71–8,92 m²·g⁻¹ oleju, odpowiednio w odniesieniu do żółtka jaja i lecytyny słonecznikowej. Stabilność PM umożliwiają substancje powierzchniowo-czynne, które adsorbując się na niej w stężeniu nadmiarowym, otaczają krople oleju warstewką grubości kilku nanometrów. Jedną z częściej stosowanych metod wyznaczania grubości warstwy międzyfazowej jest metoda spektroskopowej elipsometrii. Substancje powierzchniowo-czynne w środowisku heterogenicznym, zawierającym mieszaninę cieczy o zróżnicowanej polarności, samorzutnie migrują na granicę faz, przy czym ich fragmenty lipofilowe umiejscawiają się w cieczy niepolarnej, natomiast hydrofilowe w polarnej. Przyjmuje się, że siłą napędową procesu adsorpcji SPC na cząstkach fazy wewnętrznej jest ich częściowa rozpuszczalność w poszczególnych fazach układu emulsyjnego (Georgieva i in. 2009; Liggieri i Miller 2010; McClements 2016). Proces adsorpcji zmniejsza termodynamiczną energię swobodną układu i powoduje, że stężenie emulgatora jest większe w przestrzeni międzyfazowej (olej–woda) niż w całym układzie. Nadmiarowe stężenie powierzchniowe (międzyfazowe) emulgatora (ang. *surface excess concentration*, Γ , kg·m⁻²) zdefiniowane jest równaniem Gibbsa:

$$\Gamma = - (a/RT) \times (d\gamma_M/da)$$

gdzie: a – aktywność termodynamiczna surfaktantu;

γ_M – napięcie międzyfazowe;

R – stała gazowa;

T – temperatura bezwzględna.

Jeżeli $d\gamma_M/da < 0$, to $\Gamma > 0$, czyli substancja powierzchniowo-czynna gromadzi się na powierzchni granicznej. Adsorpcja jest w tym przypadku dodatnia, czyli następuje obniżenie napięcia międzyfazowego. Odwrotny efekt, czyli desorpcji z obszaru międzyfazowego, ma miejsce, gdy $d\gamma_M/da > 0$, czyli $\Gamma < 0$ (Souilem i in. 2014). Substancje powierzchniowo-czynne adsorbują się na PM do osiągnięcia stanu równowagi, tzn. do momentu, gdy cała powierzchnia cząstki rozproszonej pokryta zostanie cząsteczkami surfaktantu. W stanie równowagi taka sama liczba cząstek ulega adsorpcji i desorpcji, a zatem powierzchniowe stężenie emulgatora (Γ) nie ulega zmianie. Pozostała część surfaktantów znajdujących się w roztworze tworzy agregaty lub struktury micelarne, dla których charakterystyczną wielkością jest tzw. krytyczne stężenie micelarne (ang. *critical micelle concentration*, CMC). Zhao i in. (2014) zauważyli, że wielkość CMC dla estrów sacharozy w układzie emulsyjnym (20% w/w olej kukurydziany) wynosiło 0,05% (w/w). Badania eksperymentalne wykazały, że przebieg krzywych przedstawiających zależność: $\Gamma = f(\ln C)$ różni się znacząco w układach zawierających surfaktanty i biopolimery o stężeniu C (ryc. 13A i B).

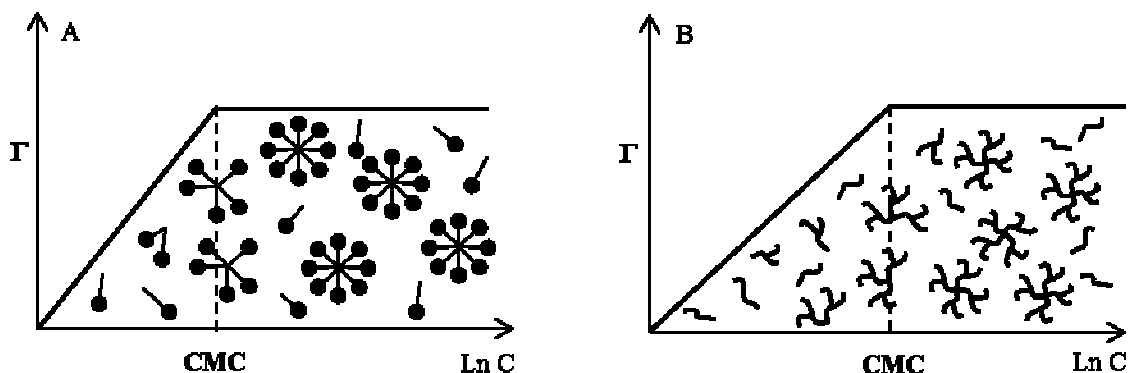
Ilość substancji powierzchniowo-czynnej (Γ , mg·m⁻²) zaadsorbowanej na cząstkach fazy rozproszonej, w odniesieniu do powierzchni, oblicza się ze wzoru (Zhao i in. 2014; Cui i in. 2014; Su i Zhong 2016):

$$\Gamma = M \times D[3,2]/6V_{olej}$$

gdzie: M – masa zaadsorbowanej substancji powierzchniowo-czynnej na powierzchni międzyfazowej;

$D[3,2]$ – średnia średnica objętościowo-powierzchniowa, Sautera;

V_{olej} – objętość fazy olejowej.



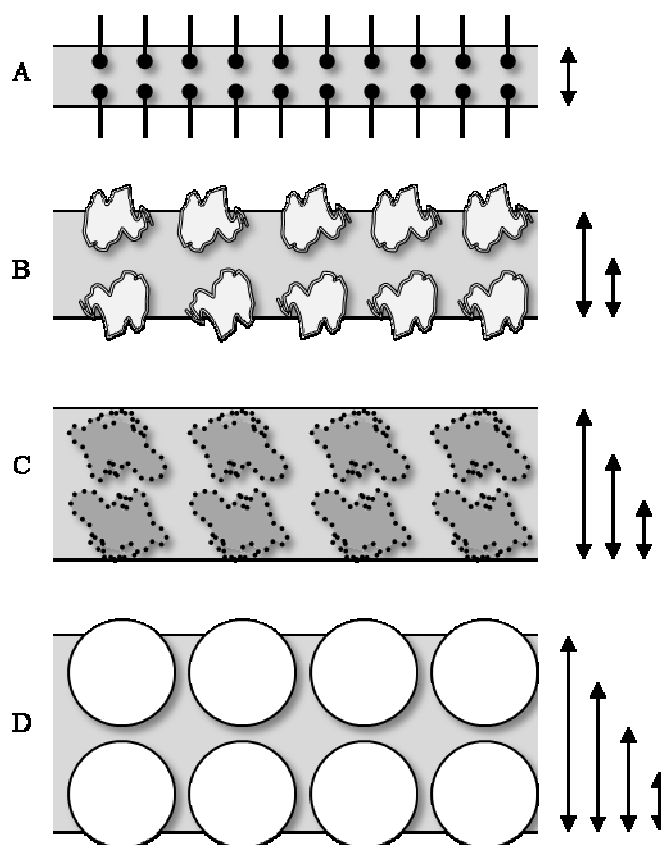
Ryc. 13. Nadmiarowe stężenie powierzchniowe (Γ) oraz krytyczne stężenie micelarne (CMC), w zależności od stężenia ($\ln C$) surfaktantu (A) oraz biopolimeru (B)

W literaturze przedmiotu sugeruje się, że wielkość parametru Γ zależy od wielu czynników, w tym m.in. od: (i) stężenia emulgatora w układzie; (ii) temperatury; (iii) siły jonowej oraz (iv) obecności substancji o zróżnicowanej aktywności powierzchniowo-czynnej. Bortnowska (2008a) wykazała, że przy dodatku żółtka jaja (sucha masa) do układu emulsyjnego w ilości: 0,2, 0,6, 1,0 i 2,0% (w/w) wartości Γ wynosiły odpowiednio: 0,23, 0,42, 0,55 i 0,86 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Dodatnią korelację pomiędzy ilością substancji powierzchniowo-czynnej a jej adsorpcją na cząstkach fazy rozproszonej potwierdzili również Shao i Tang (2014), którzy zauważyli, że układy zawierające 0,5–4% (w/w) natywnych białek soi charakteryzowały się wartościami Γ w zakresie 2,06–3,21 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Podobne sugestie wynikają z pracy Zhang i in. (2016a) w odniesieniu do adsorpcji pektyn buraka cukrowego (ang. *sugar beet pectin*), gdzie wykazano, że wzrost ich stężenia (1–4% w/w) powodował zwiększoną adsorpcję przy wartościach Γ zmieniających się w granicach 4,9–38,2 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Xiang i in. (2015) z kolei dowiedli, że GA (2–5% w/w) zwiększała wartości Γ , natomiast dalszy wzrost jej ilości w układzie powodował tendencję spadkową tego parametru. Zhao i in. (2014) zauważyli, że dodatek estrów sacharozы (0–0,30% w/w) do układu emulsyjnego zawierającego kazeinian sodu wpływał na zmianę wielkości Γ w zakresie 2,1–1,2 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. W wielu badaniach ocenie poddaje się wpływ czynników środowiskowych oraz technologicznych na wielkość adsorpcji na PM. Tcholakova i in. (2006) sugerowali, że proces ogrzewania BLG (20–78°C) nie wpływał na zmiany jej adsorpcji na PM, przy $\Gamma = 2,8 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$, natomiast dalsze ogrzewanie do 85–90°C powodowało zwiększenie wartości tego parametru do 3,8 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Wzrostowy trend adsorpcji spowodowany ogrzewaniem (95°C, 15 min), obserwowany był także przez Shao i Tang (2014) w odniesieniu do białka soi. Khan i in. (2014) ocenie poddali przydatność białek pozyskiwanych z wilca ziemniaczanego – słodkich ziemniaków (ang. *sweet potato protein*) do stabilizacji emulsji o/w poddanych wysokociśnieniowej obróbce w zakresie 0,1–600 MPa. Wykazano, że przy pH: 3, 7 i 8, wartości Γ mieściły się odpowiednio w zakresach: 0,85–1,67, 1,49–2,43

i $1,96\text{--}3,82\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Stosunkowo niewielkie zmiany w poziomej adsorpcji międzyfazowej ($13,5$ i $11,0\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$) obserwowano w odniesieniu do BSA, niepoddanej i poddanej ogrzewaniu w 58°C przez 2 godz. (Tabibiazar i in. 2015).

4.2.2. Biopolimery i surfaktanty

Skład i stężenie substancji powierzchniowo-czynnych znajdujących się na powierzchni rozdziału faz wpływają na jej: strukturę, stabilność, właściwości reologiczne i inne. W literaturze przedmiotu uważa się, że grubość warstwy międzyfazowej różni się znacznie i od najmniejszej do największej można ją uszeregować w odniesieniu do emulgatorów z poszczególnych grup, jak następuje: surfaktanty < białka < hydrokoloidy polisacharydowe < cząstki stałe. Na ryc. 14A–D, przedstawiono schematycznie grubość membran tworzonych przez: surfaktanty, białka, hydrokoloidy oraz cząstki stałe na kroplach oleju.

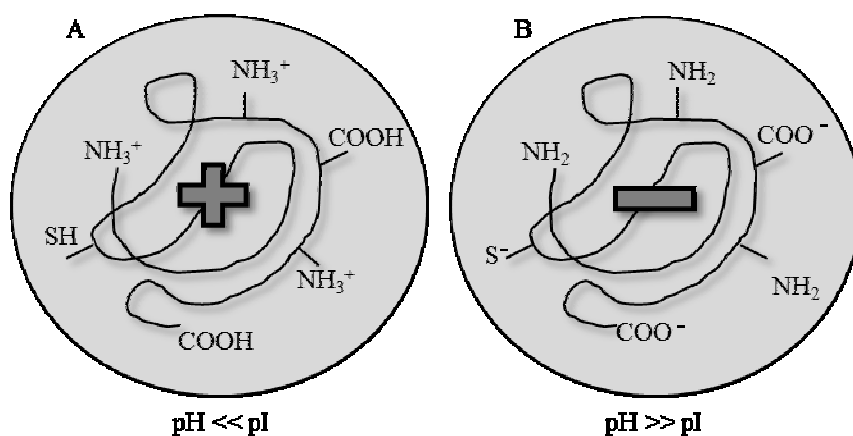


Ryc. 14. Porównanie grubości membran tworzonych przez: surfaktanty (A), białka (B), hydrokoloidy polisacharydowe (C) oraz koloidalne cząstki stałe (D) na rozproszonej fazie olejowej

Substancje o małej masie cząsteczkowej (surfaktanty) stabilizują powierzchnię międzyfazową w wyniku tzw. mechanizmu Gibbs Marangoni, który charakteryzuje się tym, że substancje aktywne powierzchniowo stosunkowo szybko ulegają adsorpcji na cząstkach fazy rozproszonej i mają możliwość przemieszczania się w jej obszarze, co powoduje bardziej efektywną redukcję napięcia międzyfazowego niż w przypadku użycia biopolimerów. Wykazano, że surfaktanty nie tworzą zwartych lepkością przystych membran na kroplach oleju,

a w zależności od ich właściwości fizykochemicznych (anionowe, amfoteryczne, niejonowe) mogą wpływać na wielkość potencjału ζ charakteryzującego podwójną warstwę elektryczną tworzoną dookoła cząstek fazy rozproszonej (Genot i in. 2003; McClements 2008; Dickinson 2009; Tadros 2013).

Emulgatory białkowe natomiast, stabilizując układ w wyniku interakcji sterycznych i elektrostatycznych, tworzą lepkosprężystą, mało mobilną powłokę, stosunkowo odporną na jej zniszczenie w wyniku przyłożonych sił zewnętrznych (Krägel i Derkatch 2010; Dickinson 2012). Oddziaływanie elektrostatyczne białek jest wynikiem ich specyficznego ładunku, który może być dodatni, zerowy lub ujemny i jest zależny od wielkości punktu izoelektrycznego (pI), charakterystycznego dla określonego białka oraz pH roztworu. Przy stosunkowo dużych stężeniach jonów wodorowych (H^+) ($pH \ll pI$) grupy aminowe charakteryzują się ładunkiem dodatnim ($-NH_3^+$), natomiast karboksylowe nie wykazują ładunku, czyli są neutralne ($-COOH$), dlatego sumaryczny ładunek białka jest dodatni. Przy małym z kolei stężeniu jonów wodorowych (H^+) ($pH \gg pI$) grupy karboksylowe mają ładunek ujemny ($-COO^-$), a aminowe są neutralne ($-NH_2$), w konsekwencji białko wykazuje ładunek ujemny (Guzey i McClements 2006; Bortnowska 2015a; Ozturk i McClements 2016; Davidov-Pardo i in. 2016). Rozmieszczenie ładunków w cząsteczce białka w zależności od pH przedstawiono na ryc. 15A i B.



Ryc. 15. Rozmieszczenie ładunków w cząsteczce białka: (A) $pH \ll pI$ oraz (B) $pH \gg pI$

Większość białek charakteryzuje się pI ok. 5, które wynosi np. dla: (i) BLG (4,9–5,4); (ii) BSA (4,7–5,1) oraz (iii) kazein (4,9–6,1). Stosunkowo duża wartość liczbową pI laktoferyny (8,1–9) umożliwia jej bardzo szerokie zastosowanie przy formowaniu membran wielowarstwowych na cząstkach rozproszonej fazy olejowej (Matalanis i in. 2011; Bortnowska 2015a). Należy również podkreślić, że rozkład ładunku na powierzchni cząsteczek białek jest heterogeniczny i charakteryzuje się obszarami wykazującymi zarówno ładunek dodatni, jak i ujemny, pomimo że sumaryczna wartość liczbową pI jest równa zero, dlatego cząsteczki białek nawet w punkcie izoelektrycznym mogą swoimi fragmentami oddziaływać elektrostatycznie z innymi składnikami układu (Matalanis i in. 2011; Ospinal-Jimenez i Pozzo 2012). Proces rozfałdowania białek na powierzchni rozdziału faz powoduje udostępnienie do reakcji ze środowiskiem wielu grup funkcyjnych ukrytych we wnętrzu cząsteczek w stanie rodzimym. Inte-

rakcje białek z polisacharydami mają istotne znaczenie w kształtowaniu pożądanej struktury i stabilności emulsji. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że te dwa biopolimery mogą wchodzić we wzajemne interakcje, w wyniku oddziaływań hydrofobowych i van der Waalsa, jak również tworzyć wiązania kowalencyjne i wodorowe, których zakres zależy w znacznym stopniu od pH i siły jonowej układu (Claesson i in. 2006; McClements 2006). Chen i in. (2015) wykazali, że proces kompleksowania chitozanu z białkami mleka jest reakcją egzotermiczną z wartościami entalpii wiązania oraz stałej wiązania, odpowiednio $-7,85 \times 10^4 \text{ cal}\cdot\text{mol}^{-1}$ i $1,06 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}$. Szczelna membrana tworzona przez białka dookoła kropli oleju chroni również tłuszcz, a w tym kwasy tłuszczowe n-3 przed utlenianiem i w konsekwencji przed powstawaniem niepożądanych sensorycznie substancji zapachowych.

Polisacharydy w przeciwieństwie do białek charakteryzują się większym zróżnicowaniem w zakresie międzymolekularnych oddziaływań w układzie emulsyjnym. W zakresie wykazywanego ładunku substancje te mogą być: (i) neutralne (skrobia, dekstran, agar, galaktomanany, celuloza); (ii) anionowe (alginiany, pektyny, GA, karageny, GK, gellan) oraz (iii) kationowe (chitozan). Ładunek elektryczny polisacharydów zależy od właściwości grup jonowych rozmieszczonych wzdłuż łańcucha polisacharydowego oraz pH roztworu. Powszechnie występującymi grupami, mającymi wpływ na wielkość ładunku, są: (i) siarczanowe (karageny); (ii) karboksylowe (pektyny, alginiany, GK, karboksymetyloceluloza) oraz (iii) aminowe (chitozan), które w zależności od pH zmieniają swój ładunek elektryczny, jak następuje: $\text{SO}_4\text{H} \leftrightarrow \text{SO}_4^-$ ($\text{pK}_a \sim 2$); $\text{CO}_2\text{H} \leftrightarrow \text{CO}_2^-$ ($\text{pK}_a \sim 3,5$); $\text{NH}_3^+ \leftrightarrow \text{NH}_2$ ($\text{pK}_a \sim 6,5$) (McClements i in. 2007; Matalanis i in. 2011; Li i in. 2012; Bortnowska 2015a). Polisacharydy anionowe wykazują ładunek neutralny przy pH poniżej ich wielkości pK_a oraz ujemny powyżej, natomiast kationowe charakteryzują się ładunkiem dodatnim przy pH poniżej ich pK_a oraz neutralnym przy pH powyżej. Należy również podkreślić, że jonowe grupy polielektrolitów mogą zmieniać swój ładunek w zależności od warunków środowiskowych, co wpływa również na poziom adsorpcji polielektrolitu na powierzchni międzyfazowej (Guzey i McClements 2006). Niektóre polisacharydy wykazują w emulsjach aktywność przeciwutleniającą (Kishk i Al-Sayed 2007).

Obecność w układzie emulsyjnym substancji powierzchniowo-czynnych o zróżnicowanej masie cząsteczkowej, w tym szczególnie biopolimerów oraz LMWS, prowadzi do wielu zjawisk na powierzchni rozdziału faz olej-woda. Sugeruje się, że możliwe są m.in. następujące interakcje: (i) adsorpcja kompetywna, gdy dwie substancje powierzchniowo-czynne niejako współzawodniczą w adsorpcji na cząstkach fazy zdyspergowanej; (ii) eliminacja z powierzchni międzyfazowej substancji o mniejszej aktywności przez odpowiednią charakteryzującą się większą wielkością tego parametru; (iii) tworzenie kompleksów pomiędzy biopolimerem (najczęściej białkiem) i surfaktantem oraz (iv) oddziaływanie synergistyczne w wyniku dodatkowej adsorpcji surfaktantu w miejscach wolnych przestrzeni (nie zajętych przez biopolimer), co zwiększa wytrzymałość mechaniczną powierzchni międzyfazowej (Dickinson 2011; Stanimirova i in. 2014; Wan i in. 2014). Uważa się, że wielkości Γ_1 ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$) i Γ_2 ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$) substancji powierzchniowo-czynnych znajdujących się w układzie w stężeniach c_1 i c_2 można opisać, posługując się izotermą adsorpcji Langmuira (ang. *Langmuir adsorption isotherm*):

$$\Gamma_1/\Gamma_{\text{TOT}} = [c_1/c_{1,1/2}]/[c_1/c_{1,1/2} + c_2/c_{2,1/2}]$$

$$\Gamma_2/\Gamma_{\text{TOT}} = [c_2/c_{2,1/2}]/[c_1/c_{1,1/2} + c_2/c_{2,1/2}]$$

gdzie: Γ_{TOT} – całkowite nadmiarowe, międzyfazowe stężenie zaadsorbowanych składników;

$c_{1,1/2}$ i $c_{2,1/2}$ – stężenia emulgatorów 1 i 2, gdy $\Gamma_1/\Gamma_{1,\text{TOT}}$ i $\Gamma_2/\Gamma_{2,\text{TOT}} = 1/2$;

$\Gamma_{1,\text{TOT}}$ i $\Gamma_{2,\text{TOT}}$ – maksymalna możliwa adsorpcja emulgatora 1 i 2 na powierzchni międzyfazowej.

Wielkość $1/c^{1/2}$ jest miarą powierzchniowej aktywności emulgatora (ang. *surface activity of the emulsifier*). Przyjmuje się, że wraz ze wzrostem wielkości tego parametru zwiększa się powinowactwo SPC do adsorpcji na PM. Wyznaczone z przebiegu krzywych wielkości: $\Gamma_{1,\text{TOT}\infty}$ oraz $\Gamma_{2,\text{TOT}\infty}$ są nadmiarowymi stężeniami w stanie nasycenia (ang. *surface excess concentrations at saturation*). Stężenie (C_{sat}) substancji powierzchniowo-czynnej w roztworze wymagane do nasycenia powierzchni cząstek fazy rozproszonej oblicza się ze wzoru:

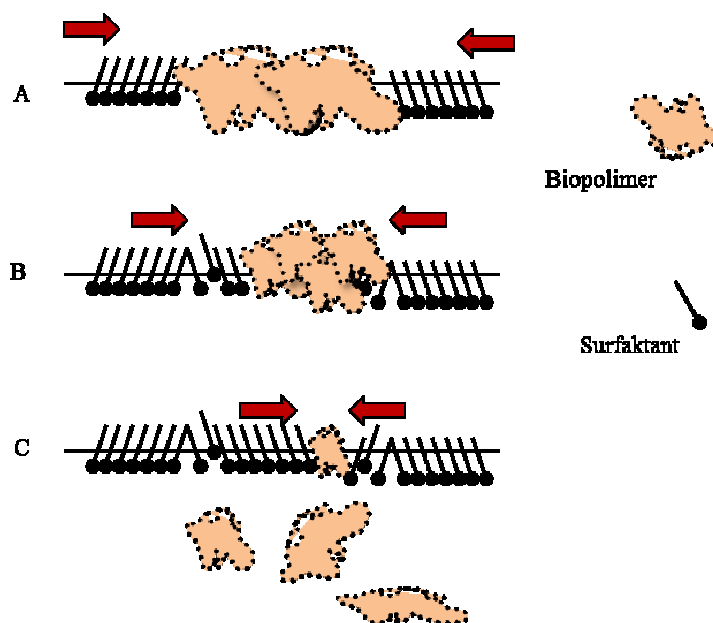
$$C_{\text{sat}} = 6 \times \Phi_V \Gamma_{\text{sat}}/D[3,2]$$

gdzie: Φ_V – ułamek objętościowy rozproszonej frakcji olejowej;

Γ_{sat} – ilość substancji powierzchniowo-czynnej na jednostkę PM w stanie nasycenia (ang. *surface load of of surface-active substance at saturation*);

$D[3,2]$ – średnia średnica objętościowo-powierzchniowa, Sautera (Bai i McClements 2016; Salminen i in. 2016).

Na ryc. 16A–C przedstawiono schematycznie proces usuwania z PM olej–woda molekuł biopolimeru przez cząsteczki LMWS. Bortnowska (2008a) wykazała, że przy stężeniu żółtka jaja: 0,2, 0,6, 1,0 oraz 2,0% (w/w) w układzie emulsyjnym zmiany stężenia powierzchniowego białek na cząstkach zdyspergowanej fazy olejowej (30% w/w) spowodowane dodatkiem Tweenu 65 (0,0–1,0% w/w) mieściły się odpowiednio w zakresach: 0,224–0,04, 0,422–0,047, 0,554–0,206 oraz 0,860–0,417 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$.

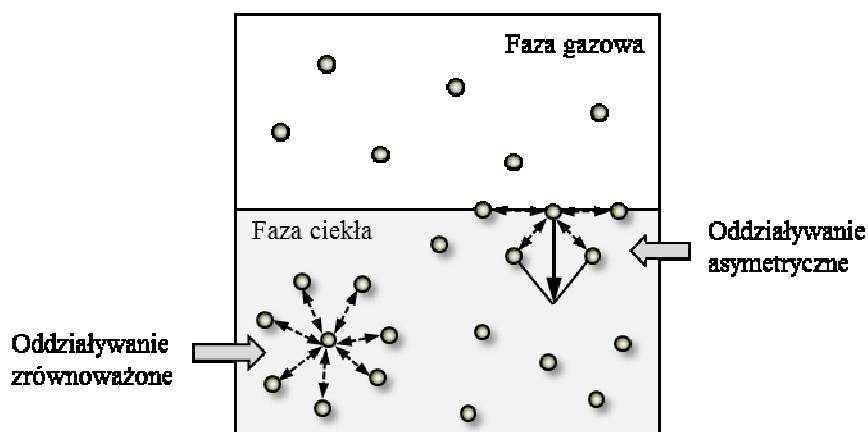


Ryc. 16. Proces usuwania z powierzchni międzyfazowej olej–woda molekuł biopolimeru przez surfaktanty

Biorąc natomiast pod uwagę wzrastającą proporcję: Tween 65 : suszone żółtko jaja (x), stężenie powierzchniowe białek zaadsorbowanych na cząstkach oleju (y) można było opisać równaniem $y = 0,8646e^{-1,619x}$ ($R^2 = 0,8401$). Znaczny spadek wartości powierzchniowego stężenia białka (Γ) z ok. 5,5 do 2,1 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ obserwowany był także przez Su i Zhong (2016) w emulsjach (1,5% w/w olejku cytrynowego, 2% w/w kazeinianu sodu) z dodatkiem Tweenu 20 (0,2–1,2% w/w). Podobne zmiany polegające na usuwaniu białek z PM olej–woda obserwowali Wan i in. (2014), którzy wykazali, że wzrost stężenia glikozydów stewiolowych (0,0–2,0% w/w) w emulsji (0,5% w/w białek soi, 10% w/w oleju słonecznikowego) zmniejszał wartości Γ w zakresie 2,5–0,1 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$. Z doniesienia natomiast Matsumiya i in. (2014) wynika, że proces kompetytywnej adsorpcji pomiędzy cząsteczkami kazeinianu sodu oraz estrów glicerolu i kwasu oleinowego zależał od stopnia estryfikacji glicerolu, przy czym dwu- i trójglicerydy zmniejszały powierzchniowe stężenie białek zaadsorbowanych na cząstkach fazy olejowej. Z badań wynika ponadto, że w niektórych przypadkach surfaktanty mogą powodować proces denaturacji białka (Ospinal-Jimenez i Pozzo 2012).

4.2.3. Napięcie międzyfazowe

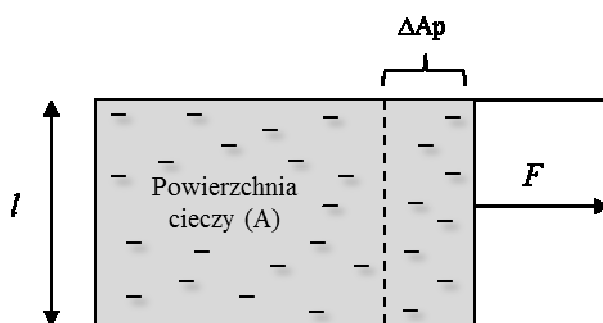
Charakterystyczną właściwością cieczy jest występowanie między cząsteczkami sił przyciągania (siły spójności – kohezji). Międzymolekularne siły oddziaływań wewnątrz cieczy w stanie równowagi termodynamicznej znoszą się wzajemnie, natomiast całkowicie inny ich układ występuje w warstwie powierzchniowej (ryc. 17).



Ryc. 17. Rozkład sił wzajemnego oddziaływania między cząsteczkami znajdującymi się na powierzchni i w głębi cieczy

W tym przypadku cząsteczki podlegają oddziaływaniu sił w płaszczyźnie poziomej oraz wciągających je w głąb cieczy, przy czym wypadkowa tych sił jest skierowana do wnętrza. Oznacza to, że przeniesienie cząsteczki na powierzchnię wymaga wykonania pracy wbrew tym siłom, co wskazuje, że cząsteczki znajdujące się chwilowo na powierzchni cieczy mają większą energię niż odpowiednie znajdujące się wewnątrz. Wartość liczbowa napięcia powierzchniowego (ang. *surface tension*, γ_p , $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$) jest miarą energii powierzchniowej cieczy (pracy, W) potrzebnej do izotermicznego zwiększenia powierzchni cieczy (A), przy czym $W = \gamma_p \cdot A$. Napięcie powierzchniowe, wyrażające dążenie cieczy do zajęcia minimalnej po-

wierzchni, można również określić, opierając się na założeniu, że powierzchnia cieczy wykazuje właściwość elastycznej błonki: $\gamma_p = F/2l$, gdzie: F – siła niezbędna do zwiększenia powierzchni cieczy o wymiarze boku l . Schematycznie zależności występujące pomiędzy działającą siłą F a zmianą powierzchni (ΔAp) błonki przedstawiono na ryc. 18. W odniesieniu do układu ciecz–gaz zwyczajowo stosuje się pojęcie napięcia powierzchniowego, natomiast w przypadku sąsiadujących ze sobą roztworów (1 i 2) wyznacza się napięcie międzyfazowe: $\gamma_M = \gamma_{p1} - \gamma_{p2}$, gdzie: γ_{p1} i γ_{p2} – napięcie powierzchniowe względem powietrza, odpowiednio fazy 1 i 2.



Ryc. 18. Zmiana pola powierzchni warstwy cieczy (ΔAp) pod wpływem działania siły F

Zmiany napięcia międzyfazowego (powierzchniowego) w wyniku adsorpcji substancji aktywnych powierzchniowo mają charakter dynamiczny, dlatego w ocenie zmian wielkości tego parametru zachodzących w określonym czasie stosuje się pojęcie przejściowego napięcia międzyfazowego (ang. *transient interfacial tension*). Seta i in. (2013) wykazali, że stan równowagowy napięcia międzyfazowego, MNR (olej słonecznikowy–wodny roztwór białek serwatki, 3% w/w lub karagenów – jota, kappa, 0,1–0,2% w/w) ustalił się dopiero po 1000 s. Z badań Zhao i in. (2014) wynika, że MNR wyraźnie zależał od rodzaju SPC i w wymiarze czasowym był znacznie krótszy w układach stabilizowanych estrami sacharozy (ok. 600 s) niż kazeinianem sodu (ok. 1200 s). Gomes i in. (2016) zwrócili uwagę, że przy zastosowaniu poliryconooleinianu poliglicerolu (PGPR, 1–4% w/w) czas osiągnięcia stanu MNR był >2000 s, natomiast w emulsjach stabilizowanych Tweenem 20 (0,1–4% w/w) wynosił ok. 1500 s. Różnicę napięcia powierzchniowego bez dodatku SPC i z jej dodatkiem określa się mianem ciśnienia powierzchniowego (ang. *surface pressure*, Π , $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$), którego wielkość oblicza się ze wzoru:

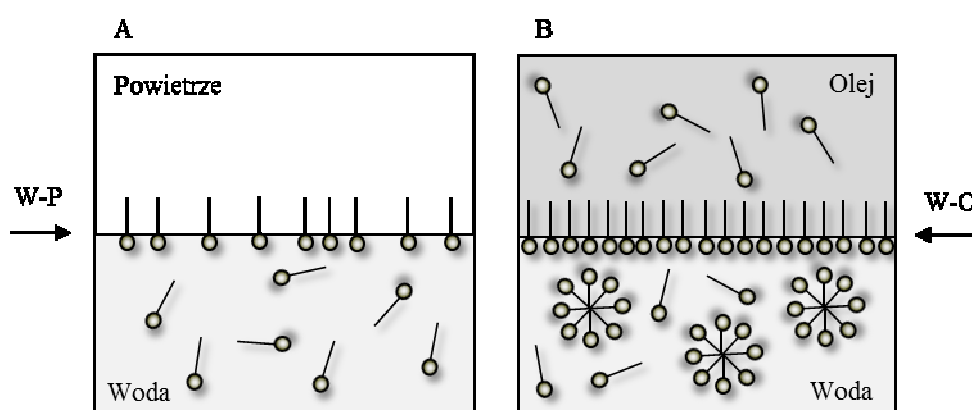
$$\Pi = \gamma_{pC} - \gamma_{pX}$$

gdzie: γ_{pC} i γ_{pX} – napięcie powierzchniowe cieczy, odpowiednio bez emulgatora i z jego dodatkiem.

W przypadku układów emulsyjnych wielkość parametru Π wyznacza się z różnicy napięć międzyfazowych, mierzonych przed dodaniem i po dodatku SPC. W literaturze przedmiotu wielkość ciśnienia powierzchniowego oblicza się także z różnicy: $\Pi = \gamma_{M0} - \gamma_{Mt}$, gdzie: γ_{M0} i γ_{Mt} – napięcie międzyfazowe początkowe (ang. *initial interfacial tension*) i po czasie t , odpowiednio. Parametr Π jest zatem miarą skuteczności emulgatora do obniżania napięcia mię-

dzyfazowego. Duże znaczenie ma określanie wartości maksymalnej (Π_{\max}), gdy nadmiarowe, międzyfazowe stężenie emulgatora (Γ) osiągnie wielkość maksymalną Γ_{\max} (Houzé i in. 2005; Torcello-Gómez i in. 2011; Pérez-Mosqueda i in. 2013; Tadros 2013; Wan i in. 2014; McClements 2016). Murphy i in. (2016) wykazali, że wartości ciśnienia powierzchniowego Π są zależne od: stężenia SPC, czasu adsorpcji oraz warunków środowiskowych, np. w układach zawierających 0,05% (w/w) mikrożelu BLG (czas adsorpcji >1000 s), przy pH 5,7 i 5,9, wartości Π wynosiły odpowiednio 19,2 i 18,1 mN·m⁻¹.

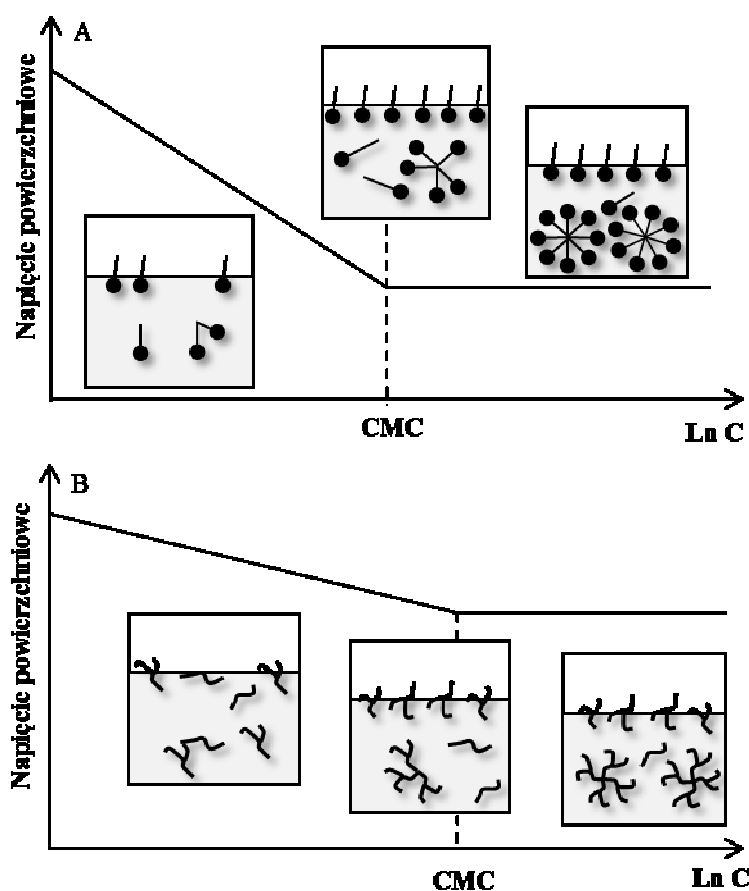
W emulsjach prostych i wielokrotnych można wyróżnić, w zależności od ich budowy, różne powierzchnie rozdziału faz, np.: woda–powietrze (W-P), olej–powietrze (O-P), woda–olej (W-O). Na ryc. 19A i B przedstawiono schematycznie powierzchnie rozdziału faz W-P oraz W-O.



Ryc. 19. Układ molekuł surfaktantu hydrofilowego o zróżnicowanym stężeniu na powierzchni rozdziału faz: woda–powietrze, W-P (A) i woda–olej, W-O (B)

Oddziaływanie poszczególnych składników, zaadsorbowanych na powierzchni rozdziału faz w zakresie napięcia powierzchniowego (międzyfazowego), opisuje równanie izotermi adsorpcji Gibbsa: $d\gamma_M = -\sum \Gamma_i \mu_i$, gdzie: Γ_i – nadmiarowe stężenie powierzchniowe oraz μ_i – potencjał chemiczny składnika i (Karakashev i Manev 2015; Foudazi i in. 2015). Zmiana napięcia powierzchniowego ma nieco odmienny przebieg w układach zawierających LMWS niż w odpowiednich przygotowanych z dodatkiem biopolimerów (białka, polisacharydy) (ryc. 20A i B).

W pierwszym przypadku zmiany napięcia powierzchniowego (γ_p) wraz z rosnącym stężeniem surfaktantu następują gwałtownie, a po osiągnięciu CMC spadku γ_p już się nie obserwuje (ryc. 20A). Komaiko i McClements (2015) wykazali, że CMC dla emulgatorów takich jak: Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 oraz Tween 85 wynosiły odpowiednio: 0,05, 0,023, 0,021, 0,01 oraz 0,00029 mM. Pawlik i in. (2010) dowiedli, że CMC dla PGPR w fazie olejowej (olej słonecznikowy) zmieniało się w zakresie 0,76–1,5% (w/w). W roztworach zawierających emulgatory o stosunkowo dużej masie cząsteczkowej (biopolimery) spadek napięcia powierzchniowego ma natomiast charakter bardziej łagodny, a CMC przyjmuje wartości przy zdecydowanie większym ich stężeniu w układzie niż dla LMWS (ryc. 20A i B). Powyższe różnice w CMC można tłumaczyć stosunkowo wolno zachodzącymi zmianami konformacyjnymi białek, po ich adsorpcji na PM (Hoffmann i Reger 2014).



Ryc. 20. Napięcie powierzchniowe na powierzchni fazy wodnej graniczącej z powietrzem w zależności od stężenia ($\ln C$) surfaktantu (A) oraz biopolimeru (B)

W literaturze przedmiotu napotkać można różne metody wyznaczania napięcia powierzchniowego, γ_p (międzyfazowego, γ_M), do których zalicza się m.in. pomiar z użyciem pierścienia du Nouya (ang. *du Nouy ring method*) lub płytki Wilhelmięgo (ang. *Wilhelmy plate method*), a także wiszącej kropli (ang. *pendant drop method*), która poddawana jest komputerowej analizie zarejestrowanego fotograficznie obrazu (ang. *drop shape analysis*, DSA). Metoda DSA może być stosowana również w formie osiowo-symetrycznej analizy kształtu kropli (*axisymmetric drop shape analysis*, ADSA), której zaletą jest brak ruchu kropli w trakcie pomiaru oraz symetria kropli względem osi pionowej (Georgieva i in. 2009; Torcello-Gómez i in. 2011; Seta i in. 2014). Metodą z użyciem płytki Wilhelmięgo posługiwali się m.in.: (i) Pawlik i in. (2010) do pomiaru wpływu dodatku PGPR oraz NaCl na wielkość napięcia międzyfazowego (γ_M), woda–olej słonecznikowy (26°C); autorzy wykazali, że wartość γ_M dla układu olej–woda wynosiła $26,45 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, natomiast dodatek 4% (w/w) PGPR zmniejszył γ_M do $3,54 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, z kolei przy 0,28 M stężeniu NaCl parametr ten przyjmował wartość $2,45 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$; (ii) Cui i in. (2014), którzy dowiedli, że dodatek rutyny ($0\text{--}0,20 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) do układu wodny roztwór białek soi (0,3% w/w)–olej sojowy zmniejszył γ_M w zakresie $7,5\text{--}5,3 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, w przypadku użycia białek w formie natywnej i nie powodował statystycznie istotnych zmian ($p > 0,05$) w przypadku poddania ich ogrzewaniu – termicznej denaturacji oraz (iii) Matsu-miya i in. (2014), w których badaniu mono-, di- i triglicerydy kwasu oleinowego wykazywały

aktywność do obniżania napięcia międzyfazowego, γ_M (olej kukurydziany–woda, 20°C) w następującej kolejności: triglicerydy > diglicerydy > monoglicerydy. Jednocześnie wykazano, że poziom obniżania γ_M zależał od rodzaju środowiska dyspergującego emulgator i w przypadku rozproszenia diglicerydów w oleju lub w wodzie parametr ten przyjmował odpowiednio wartości 2,4 lub 5,2 mN·m⁻¹. Metodę z użyciem pierścienia du Nouya do pomiaru γ_M pomiędzy fazą wodną i olejem kukurydzianym stosowali m.in.: Tabibiazar i in. (2015), sugerując wzrost wartości γ_M wraz ze zwiększającą się masą cząsteczkową (300→10 000) PEG użytego razem z BSA, jak następuje: BSA (6 mN·m⁻¹), BSA + PEG 300 (7,8 mN·m⁻¹), BSA + PEG 10 000 (8,25 mN·m⁻¹), oraz Abdolmaleki i in. (2016), wskazując, że wielkości γ_M w układach olej słonecznikowy–faza wodna (25°C) zawierająca gumę tragakanta (0,5% w/w) charakteryzowały się tendencją wzrostową: 14,71→16,43 mN·m⁻¹ oraz 15,76→16,04 mN·m⁻¹, odpowiednio przy zmianach pH (4→2,5) i siły jonowej układu (0,5→1% w/w NaCl).

Znacznie częściej obecnie stosowana jest metoda DSA, której używali m.in.: (i) Saito i in. (2005), poddając ocenie układy olej sojowy–roztwory wodne zawierające: BLG, BSA, białka serwatki oraz białkową część białka jaja w stężeniu 0,45% (w/w), dla których wartości liczbowe γ_M wynosiły odpowiednio: 11,2, 13,5, 12,6 oraz 14,8 mN·m⁻¹; (ii) Ventureira i in. (2012), zwracając uwagę, że γ_M przy stosowaniu izolatu białek pozyskanych z nasion szarłat (łac. *Amaranthus* L.) było większe przy pH 8 niż pH 2; podobne zależności w zakresie oddziaływania pH na γ_M obserwowali również Romero i in. (2012), z tym że w układzie zawierającym 1 mg·ml⁻¹ koncentratu białka ryżu; (iii) Mahfoudhi i in. (2014), którzy dowiedli występowanie różnic γ_M (ok. 6 mN·m⁻¹) przy jego niższych wartościach z użyciem gumy almond z migdałowca pospolitego (łac. *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) niż arabskiej z akacji senegalskiej (łac. *Acacia Senegal* L.) oraz (iv) Wan i in. (2014), którzy zauważyli synergistyczne oddziaływanie pomiędzy białkami soi oraz glikozydami stewiolowymi w zakresie obniżania γ_M . Metodę ADSA z kolei stosowali Seta i in. (2014), wykazując, że przy stężeniu BKZ lub BLG (1 g·l⁻¹) napięcie międzyfazowe (olej słonecznikowy–woda) w stanie ustalonym (ok. 6000 s) wynosiło odpowiednio 4,1 mN·m⁻¹ lub 8,24,1 mN·m⁻¹.

4.3. Faza ciągła

Fazą ciągłą w emulsjach typu olej-w-wodzie jest woda (lub jej roztwory) mająca istotne znaczenie w kształtowaniu ich fizykochemicznych i organoleptycznych właściwości. Specyficzne molekularne i strukturalne właściwości wody powodują, że jest ona doskonałym rozpuszczalnikiem, a ponadto może wchodzić w interakcje z wieloma innymi składnikami. W emulsjach spożywczych (sosy, majonezy, dressingi) faza wodna oprócz substancji emulgujących może zawierać również różne dodatki, takie jak: (i) przedłużające trwałość (konserwanty, regulatory kwasowości, przeciwutleniacze); (ii) kształtujące teksturę (hydrokoloidy) oraz cechy sensoryczne (barwniki, aromaty, substancje smakowe), a także (iii) wzbogacające (składniki bioaktywne, w tym witaminy i sole mineralne). Obecność często tak znacznej liczby komponentów w układzie powoduje, że właściwości fizykochemiczne i sensoryczne mogą być ostatecznie weryfikowane jedynie w badaniach eksperymentalnych. Wykazano, że dodat-

kiem hydrokoloidów można w bardzo szerokim zakresie kształtować stabilność oraz właściwości reologiczne, w tym teksturalne układów emulsyjnych o zmniejszonej, zgodnie oczekiwaniami konsumenta, zawartości tłuszczu. Faza wodna stanowi również doskonałe środowisko jako nośnik wielu przeciwutleniaczy oraz polisacharydowych substancji prebiotycznych (Batista 2006; Dickinson 2009; Chung i in. 2012; Wang i in. 2013; Rodriguez Furlán i in. 2014; Bortnowska i in. 2014a, 2015b, 2016; Serdaroğlu i in. 2015).

5. Właściwości reologiczne

5.1. Zasady pomiaru

Pojęcie reologii zdefiniowane zostało przez Binghama w 1929 roku jako nauka o deformacji i przepływie w kontrolowanych warunkach. Termin „reologia” pochodzi od greckiego słowa *rheo* (płynięcie) oraz *logos* (nauka). Właściwości reologiczne emulsji są istotnym wyróżnikiem ich jakości, pomocnym w doborze surowców oraz modyfikacji składu recepturowego przy wytwarzaniu nowych wyrobów. Oznaczenia reologiczne dostarczają także informacji w zakresie fizycznej trwałości emulsji.

Reologia jest nauką o zależnościach fizycznych opisujących reakcję układu na przyłożone siły i deformację. Wyróżnia się trzy podstawowe rodzaje odkształceń: sprężyste, plastyczne i przepływ. Przy odkształceniu sprężystym cała doprowadzona energia w wyniku deformacji jest magazynowana, a po usunięciu siły, która je spowodowała, ciało powraca do początkowego kształtu. W przeciwieństwie do odkształcenia sprężystego odpowiednie plastyczne ma charakter trwały, tzn. nie zanika po ustaniu działania siły, a zużyta energia ulega rozproszeniu i zamianie na energię cieplną. Przepływem nazywa się nieodwracalne odkształcenie, którego stopień wzrasta wraz z czasem oddziaływania przyłożonego naprężenia, a jego usunięcie nie powoduje powrotu ciała do stanu przed odkształceniem, ponieważ energia zużyta na wymuszenie przepływu uległa rozproszeniu. Materiały reagujące w ten sposób na przykładane naprężenie zalicza się do grupy lepkich. Analogami mechanicznymi ciał doskonale sprężystych (Hooke’a), plastycznych (St. Venanta) oraz lepkich (Newtona) są odpowiednio: sprężyna, suwak oraz tłumik hydrauliczny. W pomiarach reologicznych stosuje się odkształcania układu polegające m.in. na ścinaniu oraz jednostronnym (jednoosiowym) lub wielostronnym (wielokierunkowym) ściskaniu i rozciąganiu. Miarą wielkości odkształcenia ciała powstającego przy jednoosiowym lub wielokierunkowym oddziaływaniu sił jest bezwymiarowe odkształcenie względne ε , wyrażane stosunkiem zmiany określonego rozmiaru ciała Δx (liniowego lub objętości) do jego wielkości początkowej x . Ścinanie z kolei związane jest z oddziaływaniem na ciało sił stycznych wywołujących odkształcenie.

Ocena właściwości reologicznych emulsji spożywczych jest bardzo trudna, ponieważ są to najczęściej wielofazowe i wieloskładnikowe mieszaniny, ulegające wielu różnym przemianom (np. chemicznym, biochemicznym, fizycznym) zarówno w procesie ich wytwarzania, jak i przechowywania, które zachodzą zwykle przy oddziaływaniu zmiennych czynników technologicznych (np. mechanicznych, termicznych) oraz środowiskowych (pH, siła jonowa i innych). Większość tych układów charakteryzuje się właściwościami typowymi dla cieczy, jednak niektóre, np. schłodzona margaryna i masło, wykazują w pewnym zakresie cechy ciał stałych. Pomiar właściwości reologicznych emulsji ma duże znaczenie praktyczne, ponieważ wiele ich cech sensorycznych, takich jak: gęstość, płynność, konsystencja, odnosi się do określonych parametrów mierzonych instrumentalnie. Ponadto z zastosowaniem tego typu badań można analizować wpływ mikrostruktury układu oraz interakcji pomiędzy składnikami na

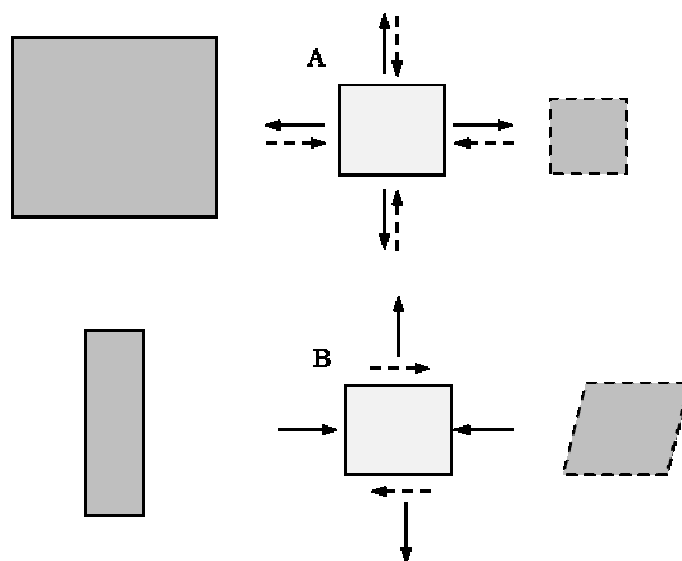
określone właściwości emulsji (Juszczak 2005; Dolz i in. 2008; Sitkiewicz 2010; Bayarri i Costell 2011; Chung i in. 2012; Bortnowska i in. 2013, 2016; Karakashev i Manev 2015).

Reologiczne właściwości emulsji zależą m.in. od budowy, składu i mikrostruktury, a ich oceny dokonuje się w odniesieniu do PM (olej–woda, powietrze–woda lub olej–powietrze) lub całego układu emulsyjnego, odpowiednio z zastosowaniem reologii międzyfazowej–dwuwymiarowej (ang. *interfacial or two-dimensional rheology*, *2D rheology*) lub trójwymiarowej (ang. *three-dimensional rheology*, *3D rheology*). Zasadnicza różnica pomiędzy reologią 2D i 3D polega na tym, że 2D dotyczy pomiarów fragmentu układu emulsyjnego, który jest szczególnie podatny na oddziaływania zewnętrzne. Pomiary reologiczne emulsji wykonuje się najczęściej z użyciem reometrii: rotacyjnej, oscylacyjnej lub teksturometrów (Batista i in. 2006; Liggieri i Miller 2010; Sitkiewicz 2010; Yilmaz i in. 2012; Tadros 2013; Bortnowska i in. 2014a, 2014b).

5.2. Powierzchnia rozdziału faz

Powierzchnia międzyfazowa olej–woda (o-w) określana jest jako dwuwymiarowy obszar, niezależny od otaczających ją cieczy o strukturze trójwymiarowej. Tworzy nierozpuszczalną warstwę charakteryzującą się znaczną lepkością. Powierzchnia międzyfazowa nie jest częścią autonomiczną układu emulsyjnego, a jej ruch, z uwagi na to, że znajduje się pomiędzy dwiema cieczami o różnej polarności, może być powodowany przemieszczaniem się przynajmniej jednej z nich. Reologiczne właściwości PM kształtowane są m.in. strukturalnymi i mechanicznymi cechami zaadsorbowanych SPC, w tym głównie: białek, polisacharydów, lipidów, fosfolipidów, a także ich interakcjami z LMWS. Zależne są też od siły jonowej i pH układu. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że wyznaczenie określonych parametrów reologicznych powierzchni międzyfazowej (olej–woda) jest użyteczne w ocenie stabilności fizycznej układu emulsyjnego (Georgieva i in. 2009; Krägel i Derkatch 2010; Romero i in. 2012; Seta i in. 2013).

Pomiary właściwości reologicznych PM pozwalają na ustalenie zależności pomiędzy odkształceniem a naprężeniem PM. Najczęściej stosuje się następujące formy odkształceń: (i) rozszerzanie/kompresja (ang. *expansion (dilation)/compression*) oraz (ii) ścinanie (ang. *shear*). W doniesieniach naukowych sugeruje się również, że rozszerzanie lub kompresja mogą powodować niewielką deformację charakterystyczną dla ścinania. Ścinanie natomiast przyczynia się w pewnym zakresie do rozszerzania lub kompresji PM (Liggieri i Miller 2010; Miller i in. 2010). Proces rozszerzania/kompresji prowadzi do adsorpcji lub desorpcji aktywnych powierzchniowo składników zaadsorbowanych na PM, co wpływa na jej grubość oraz lepkość sprężystość. Schematycznie odkształcenia stosowane w pomiarze właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowych metodą rozszerzania/kompresji i ścinania przedstawiono na ryc. 21A i B.



Ryc. 21. Odształcenia powierzchni międzyfazowych: A – rozszerzanie (linia ciągła) i kompresja (linia przerywana); B – ścinanie, zmiana kształtu w zależności od układu przyłożonych sił

Metoda rozszerzania/kompresji PM zaliczana jest do techniki dylatacyjnej (ang. *interfacial dilatational rheology*), polegającej na tym, że wymuszane są sinusoidalne zmiany wielkości zawieszanej kropli lub pęcherzyka gazu. Następstwem tych oddziaływań są zmiany PM, tzw. dylatacyjne odształcenia, co wpływa z kolei na wielkość napięcia międzyfazowego odnozonego do dylatacyjnego naprężenia. Praktyczne zastosowanie w pomiarze właściwości reologicznych metodą dylatacyjną mają obecnie tensjometry, umożliwiające analizę kształtu kropli (pęcherzyka; ang. *drop shape tensiometer*) lub pomiar ciśnienia kapilarnego (ang. *capillary pressure tensiometer*). Międzyfazowy moduł dylatacyjny (ang. *interfacial dilatational modulus*, E , $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$) określa zmiany napięcia międzyfazowego (γ_m) w funkcji międzyfazowej powierzchni (A) poddanej procesowi rozszerzania lub kompresji (Castellani i in. 2010; Torcello-Gómez i in. 2011; Serfert i in. 2014; Wan i in. 2014; Zhao i in. 2014; Yang i in. 2015):

$$E = A \cdot (\Delta\gamma_m) / \Delta A$$

przy czym $\Delta A(t) = A(t) - A_0$; $\Delta\gamma_m = \gamma_m(t) - \gamma_{m0}$; $A(t) = A_0 \sin(\omega t)$; $\gamma_m = \gamma_{m0} \sin(\omega t + \delta)$
gdzie: A_0 i γ_{m0} – parametry mierzone w czasie $t = 0$;

δ – kąt przesunięcia fazowego;

ω – częstotliwość kątowna.

Moduł E jest wskaźnikiem całkowitej dylatacyjnej oporności powierzchni międzyfazowej na deformację i zawiera dwie składowe, rzeczywistą (E') i urojoną (E''), związane odpowiednio z zachowaniem i stratą energii. Wielkość modułu E wyraża się równaniem: $E = E' + iE''$, gdzie: $E' = |E| \cos \delta$, moduł zachowawczy/dylatacyjna sprężystość (ang. *storage modulus/dilatational elasticity*); $E'' = |E| \sin \delta$ – moduł stratności/dylatacyjna lepkość (ang. *loss modulus/dilatational viscosity*) oraz δ – kąt przesunięcia fazowego pomiędzy naprężeniem a odształceniem. Dylatacyjna sprężystość jest miarą ilości energii gromadzonej w warstwie międzyfazowej i odnosi się do wielkości napięcia międzyfazowego, będącego następstwem zróżnicowanego stężenia powierzchniowego zaadsorbowanych składników w wyniku prze-

kształceń powierzchni międzyfazowej. Lepkość dylatacyjna jest miarą procesów relaksacyjnych w obszarze warstwy międzyfazowej i dotyczy zaadsorbowanych tam molekuł w zakresie: reorientacji, zmian konformacyjnych, agregacji i innych. W literaturze przedmiotu do określenia lepkośćprężystych właściwości powierzchni międzyfazowej stosuje się też pojęcie modułu zespolonego (ang. *complex modulus*, E^*), którego wielkość wyznaczana jest z zależności: $E^* = [(E')^2 + (E'')^2]^{1/2}$. Stosunek E''/E' jest liczbowo równy tangensowi kąta przesunięcia fazowego ($\tan \delta$) i określa właściwość membrany tworzonej na cząstkach fazy rozproszonej do tłumienia drgań. Dla układu doskonale sprężystego $\delta = 0^\circ$, a wielkość modułu $E'' = 0$. W przypadku natomiast doskonale lepkiego $\delta = 90^\circ$, a wielkość modułu $E' = 0$. W emulsjach spożywczych stabilizowanych mieszaninami substancji powierzchniowo-czynnych (biopolimerów i surfaktantów) wartości δ mieszczą się w przedziale $0-90^\circ$ (Guzun-Cojocar i in. 2010; Liggieri i Miller 2010; Miller i in. 2010; Romero i in. 2012; Ventureira i in. 2012; Karbaschi i in. 2014; Seta i in. 2014; Serfert i in. 2014; Wan i in. 2014; Von Staszewski i in. 2014; Pagureva i in. 2016).

W pomiarze właściwości reologicznych wykonywanym z zastosowaniem ścinania następuje zmiana kształtu przy zachowaniu stałej wielkości powierzchni międzyfazowej, dlatego w literaturze przedmiotu sugeruje się, że efekt ściśliwości (ang. *compressibility*) z uwagi na niewielki jego zakres może być pominięty. Badania techniką ścinania mogą być wykonywane z zastosowaniem metod pośrednich i bezpośrednich. Pomiar pośrednie polegają na umieszczeniu cząstek traseira na powierzchni cieczy i obserwacji trajektorii ich ruchu. W literaturze przedmiotu uważa się, że metody te przydatne są głównie do oceny właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowych faza gazowa–faza ciekła. Do najczęściej stosowanych przyrządów pomiarowych zalicza się wiskozymetry: przepływowy, głęboko kanałowy i inne. Z kolei w metodach bezpośrednich dokonywana jest ocena wielkości momentu obrotowego, podczas obrotu układów pomiarowych znajdujących się na powierzchni międzyfazowej, m.in. takich jak: pojedyncze lub podwójne ostrze, stępione ostrze, płytka, podwójny stożek, pierścień. W badaniach eksperymentalnych zastosowanie mają również inne rozwiązania techniczne, np. rejestracja ruchu igły magnetycznej umieszczonej na powierzchni cieczy (ang. *magnetic rod surface viscometer*). Badania wykonywane z zastosowaniem międzyfazowej reologii ścinania (ang. *interfacial shear rheology*) pozwalają ocenić zakres usieciowania oraz interakcji zaadsorbowanych aktywnych powierzchniowo rozpuszczalnych oraz nierozpuszczalnych składników, tworzących, odpowiednio tzw. powierzchnie Gibbsa (ang. *Gibbs layers*) oraz Langmuira (ang. *Langmuir layers*) (Krägel i in. 2008; Miller i in. 2010; Krägel i Derkatch 2010; Karbaschi i in. 2014). Do oceny właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowej użyteczna jest zarówno reometria rotacyjna, jak i oscylacyjna, przy czym pomiary, podobnie jak w przypadku metody dylatacyjnej, wykonywane są w zakresie tzw. liniowej lepkośćprężystości. Badania metodą ścinania rotacyjnego wykonywane są przy zachowaniu w czasie przepływu, stałych warunków pomiaru (ang. *steady-state flow*) i umożliwiają wyznaczenie lepkości powierzchni międzyfazowej (η_s). W wymiarze praktycznym do pomiaru tego parametru stosowane są różne rozwiązania techniczne. Dokonując np. pomiaru η_s w układzie ciecz–powietrze z użyciem płytki, która może tylko lekko dotykać powierzchnię rozdziału faz, wielkość η_s (Pa·m·s) oblicza się ze wzoru: $\eta_s = T(R_2^2 - R_1^2)/2\pi R_2^2 R_1^2 \Omega$, gdzie:

T – moment obrotowy; R_1 i R_2 – promienie płytki i naczynia pomiarowego; Ω – prędkość kątowna elementu obrotowego. Do oceny lepkości powierzchni międzyfazowej rozdzielającej ciecz polarną (roztwór wodny) oraz niepolarną (faza olejowa) używa się często podwójnego stożka, przy czym $\eta_s = T/4\pi R^2\Omega - 2R(\eta_1 + \eta_2)/3\pi$, gdzie R – promień podwójnego stożka; η_1 i η_2 – lepkość cieczy polarnej i niepolarnej, odpowiednio. Z kolei pomiary metodą oscylacyjną pozwalają na ocenę wielkości dynamicznych międzyfazowych modułów ścinania (ang. *dynamic interfacial shear modulus*). Zespolony międzyfazowy moduł ścinania (ang. *complex interfacial shear modulus*, G_s^*) wyznacza się z równania: $G_s^* = G_s' + iG_s''$, gdzie: G_s' – dynamiczny moduł sprężystości (moduł akumulacji), natomiast G_s'' – dynamiczny moduł lepkości (moduł strat) (Karbaschi i in. 2014). W ocenie właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowych należy mieć na uwadze, że ruch powierzchni międzyfazowej powoduje przemieszczanie się także warstw cieczy przylegających, co może w znaczący sposób wpływać na wielkość wyznaczanego momentu obrotowego. Zakres tych oddziaływań wyznacza się, obliczając wielkości liczby Boussinesqa (ang. *Boussinesq number*, Bo). W pomiarze metodą rotacyjną powierzchni rozgraniczającej ciecz i gaz zastosowanie ma równanie: $Bo = \eta_s/\eta_c R_s$, gdzie: η_s – lepkość powierzchniowa; η_c – lepkość cieczy; R_s – promień elementu pomiarowego. Natomiast gdy układ zawiera dwie ciecze o lepkości η_1 i η_2 , rozgraniczone powierzchnią międzyfazową, wielkości Bo oblicza się z zależności: $Bo = \eta_s/(\eta_1 + \eta_2) \times R_s$. Biorąc z kolei pod uwagę pomiary z zastosowaniem reometrii oscylacyjnej, wielkości Bo wyznacza się z równania: $Bo = G_s^*/(\eta_1 + \eta_2) \cdot \omega R_s$ (oznaczenia jak powyżej). Wielkości Bo interpretuje się, jak następuje: jeżeli $Bo \gg 1$, wtedy opór powierzchni międzyfazowej dominuje nad odpowiednim będącym reakcją przylegających cieczy, których przepływ może być pominięty. Natomiast gdy $Bo \ll 1$, wyznaczone wielkości lepkości powierzchniowej obciążone są znacznym błędem, co sugeruje konieczność zmiany metody pomiarowej (Krägel i in. 2008; Karbaschi i in. 2014).

W badaniach eksperymentalnych technikę dylatacyjną stosowali Guzun-Cojocar i in. (2010), wykazując, że wartości międzyfazowego (olej słonecznikowy – roztwór wodny BLG lub KS) modułu lepkośćsprężystości zależały od rodzaju: substancji powierzchniowo-czynnej (4×10^{-7} M białka), dodanych związków żelaza (2×10^{-7} M) oraz pH. Autorzy zauważyli, że przy zmianie pH (6,5–2) wielkości mierzonego modułu (bez dodatku związków żelaza) w temperaturze 20°C wynosiły: 7,4–10,5 oraz 20,2–9,4 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, odpowiednio przy użyciu KS i BLG. Z kolei dodatek FeSO_4 kształtował ten parametr, jak następuje: 7,1–11,4 oraz 25,5–8,5 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Podobne badania w układzie 3% (w/w) koncentrat białek ryżu–olej słonecznikowy wykonywali Romero i in. (2012). Autorzy zwrócili uwagę, że wartości modułu zespolonego E^* ($0,126 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$) w warunkach stanu równowagi zależały od pH układu i przyjmowały wartości: 32,6 i 15,3 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, odpowiednio dla pH 2 i 8, przy czym $\text{tg } \delta$ nie ulegał zmianie i wynosił 0,10, niezależnie od warunków pomiaru. Przedmiotem badań Castellani i in. (2010) wykonywanych metodą dylatacyjną była ocena właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowej (powietrze–woda, 20°C, pH 4,5) z użyciem 0,5% (w/v) GA, jak opisano w podrozdziale 4.1.2. Badania wykazały, że przy częstotliwości ścinania oscylacyjnego 0,05 Hz wielkości modułu zachowawczego mieściły się w zakresie 75–85 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, z tym że największe i najmniejsze wartości przyjmowały próbki z dodatkiem EM2 i EM1,

odpowiednio. Ventureira i in. (2012) ocenie poddali powierzchnię międzyfazową pomiędzy wodnym roztworem zawierającym izolat białek amarantusa ($0,1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) a olejem słonecznikowym (0,02 Hz). Autorzy wykazali, że wartości modułu zespolonego były średnio trzy razy większe przy pH 2 niż 8 i po 15 000 s czasu adsorpcji białek wynosiły odpowiednio 90 i 30 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Z obserwacji Seta i in. (2014) wynika, że powierzchnie międzyfazowe stabilizowane: BLG, BKZ oraz ich mieszaninami (BLG : BKZ) w proporcjach 3 : 1, 1 : 1 lub 1 : 3 (stężenie ogólne $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), w układzie z olejem słonecznikowym, charakteryzowały większymi wartościami modułu zespolonego, E^* (0,1 Hz) przy stosowaniu BLG niż pozostałych mieszanin, w tym BKZ. Wpływ pH na lepkość powierzchni międzyfazowych stabilizowanych natywną β -laktoglobuliną oraz miofibrilami o różnej długości pozyskanymi z izolatu białek serwatki oceniali również techniką dylatacyjną Serfert i in. (2014). Z badań wynika, że przy pH 2 lub 8 wartości międzyfazowego modułu zespolonego E^* (0,12 Hz), przy użyciu 1% (w/w) natywnej β -laktoglobuliny i pozyskanych z niej krótkich i długich fibryli, wynosiły: 8 lub 17, 35,6 lub 30,8, 28,2 lub 30,8 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, przy pomiarach wykonywanych w odniesieniu do oleju rybiego. Autorzy sugerowali, że monomery białek o mniejszych wymiarach łatwiej adsorbują się w wolnych przestrzeniach na powierzchni międzyfazowej, co przyczynia się do zwiększania wielkości międzyfazowego modułu.

Z innych badań wykonywanych techniką dylatacyjną wynika, że: (i) wartości modułu zespolonego (E^* , 0,1 Hz, olej słonecznikowy) rosły wraz ze zwiększającym się stężeniem (0,1–0,2% w/w) karagenu (iota, kappa) przy zawartości białek serwatki 3% (w/w) i były znacznie większe przy tym samym stężeniu polisacharydu dla frakcji iota niż kappa (Seta i in. 2013); (ii) wzrost zawartości związków polifenolowych (0–1% w/w, ekstrakt z herbaty zielonej) w nanokompleksach z β -laktoglobuliną (3% w/w, pH 6, pomiar po 10 000 s, 0,05 Hz) powodował zmniejszanie wielkości modułu sprężystości w zakresie 20,8–12,5 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$, przy pomiarach wykonywanych w odniesieniu do oleju rybiego (Von Staszewski i in. 2014); (iii) dodatek glikozydu stewiolowego (0–2% w/w) do mieszanin zawierających 0,5% (w/w) białek soi zmniejszał wartości dylatacyjnego modułu sprężystości, przypuszczalnie z powodu obniżania się międzymolekularnych interakcji pomiędzy cząsteczkami białek soi zaadsorbowanych na kroplach oleju (Wan i in. 2014); (iv) proces kompetytywnej adsorpcji zachodzący pomiędzy hydrofobinami oraz jonowym surfaktantem (dodecylosiarczanem sodu, SDS) powodował znaczące zmniejszenie lepkości powierzchni międzyfazowej, głównie w wyniku usuwania molekuł białek (Stanimirova i in. 2014); (v) w układzie: wodny roztwór kazeinianu sodu (1% w/w)–olej kukurydziany dodatek 0,025% (w/w) estrów sacharozy (SE) powodował wzrost mierzonych modułów (E , E' , E''), następnie spadek ich wartości przy SE równym 0,05% (w/w) i bardzo niewielkie zmiany przy zwiększającym się stężeniu SE do 0,30% (w/w) (Zhao i in. 2014). Chang i in. (2015) do oceny reologicznych właściwości powierzchni międzyfazowej: roztwór wodny 2% (w/w) białek (grochu, soi, soczewicy lub rzepaku)–olej rzepakowy stosowali technikę ścinania oscylacyjnego ($1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$), wykazując, że wartości modułu zespolonego (E^*) wyraźnie zależały od pH (3–7) oraz rodzaju białek i zmieniały się w zakresach: 2,4–0,2, 1,4–0,3, 2,7–0,8 lub 4,8–0,4 mPa. Zdecydowanie wyższe wartości modułu E^* , wykazane przy pH 3 niż 7, zdaniem autorów spowodowane były bardziej

zwartą membraną formowaną przy niższym niż wyższym pH, głównie w wyniku zwiększonych oddziaływań hydrofobowych.

Bardzo często do oceny właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowej stosowane są równolegle dwie metody, tzn. dylatacyjna oraz ścinania. Na przykład Torcello-Gómez i in. (2011) ocenie poddali powierzchnie międzyfazowe zawierające tristearynian sorbitolu (Span 65) lub β -laktoglobulinę. Z przedstawionych rezultatów badań wynika, że pomiary wykonywane techniką dylatacyjną oraz ścinania oscylacyjnego wzajemnie się uzupełniają. Jednocześnie autorzy sugerowali, że za pomocą metody dylatacyjnej stosunkowo dobrze można ocenić strukturalne właściwości (ang. *intramolecular properties*) molekuł zaadsorbowanych na powierzchni międzyfazowej, natomiast za pomocą techniki ścinania – właściwości w zakresie międzycząsteczkowych interakcji (ang. *intermolecular interactions*). Yang i in. (2015) ocenie poddali powierzchnie międzyfazowe: powietrze–roztwór wodny zawierający 0,1 lub 1 mg·ml⁻¹ B-hordeniny (białko z grupy prolamin znajdujących się w jęczmieniu). Autorzy wykazali, że po 120 min (1 mg·ml⁻¹ B-hordeiny) wartości modułów E' i E'' (metoda dylatacyjna) wynosiły 76 i 45 mN·m⁻¹, natomiast modułu zachowawczego wyznaczanego techniką ścinania oscylacyjnego (G') i tangensa kąta przesunięcia fazowego (tg δ) odpowiednio 18 mN·m⁻¹ i 0,26, co zdaniem autorów wskazuje na występujący efekt sieciowania zaadsorbowanej B-hordeniny z jednoczesnym wytworzeniem lepkosprężystej membrany.

Pagureva i in. (2016) do oceny właściwości reologicznych powierzchni zawierających triterpenoidowe i steroidowe saponiny stosowali metody: (i) pomiaru ciśnienia kapilarnego (ang. *capillary pressure tensiometry*, CPT) oraz (ii) płytkową Wilhelmięgo z użyciem deformacji oscylacyjnej. Badania wykazały, że niezależnie od zastosowanej techniki pomiarowej mierzone wielkości lepkosprężystości były bardzo zbliżone, przy użyciu podobnej szybkości i amplitudy odkształcenia.

5.3. Układ emulsyjny

5.3.1. Matematyczne modelowanie lepkości

Lepkość (ang. *viscosity*, η) jest miarą tarcia wewnętrznego (ang. *internal friction*) pojawiającego się w cieczy (emulsji) podczas jej przepływu wywołanego tym, że sąsiadujące ze sobą warstwy poruszają się z różną prędkością. Czynniki wpływającymi na wielkość tego parametru w układzie emulsyjnym typu olej-w-wodzie (o/w) są m.in.: skład chemiczny, gęstość, wielkość cząstek fazy rozproszonej, temperatura, szybkość ścinania oraz naprężenie ścinające. Pomiar lepkości układów emulsyjnych jest przydatny w technologii żywności, szczególnie w zakresie doboru odpowiednich komponentów i warunków procesowania, umożliwiając tym samym uzyskanie produktu o pożądanym przez konsumenta walorach sensorycznych.

W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele równań pozwalających na wyznaczenie wpływu określonych parametrów na lepkość układu emulsyjnego (Karaman i in. 2011; McClements 2016; Bai i McClements 2016). McClements i Weiss (2005) uważają, że η układu o/w jest m.in. kształtowana takimi składowymi, jak: Φ_V , η_c , η_r , r , $w(s)$, τ , gdzie: Φ_V – ułamek objętościowy frakcji olejowej; η_c i η_r – lepkość fazy ciągłej i rozproszonej (zdyspergo-

wanej); r – średni promień kropelek oleju; $w(s)$ – wskaźnik oddziaływań pomiędzy kroplami, oddległymi względem siebie o s oraz τ – naprężenie ścinające. Szczególnie duży wpływ na wzrost lepkości układu ma stężenie fazy olejowej. Bortnowska (2008b) dowiodła, że wzrost stężenia oleju rzepakowego (1–30% w/w) w układzie emulsyjnym stabilizowanym kazeinianem sodu (1% w/w, szybkość ścinania, $\dot{\gamma} = 1312 \text{ s}^{-1}$) zwiększał lepkość pozorną, η_p (wielkość omówiona w dalszej części monografii) układu emulsyjnego z 1,85 do 4,84 mPa·s. Chung i in. (2012) wykazali, że lepkość pozorna emulsji (mono- i diglicerydy kwasów tłuszczowych estryfikowane kwasem mono- i diacetylowinowym, proporcja 1 : 40 do oleju rzepakowego, $\dot{\gamma} = 20 \text{ s}^{-1}$) wzrastała w zakresie od 1,1 do 10,7 mPa·s, przy zwiększającym (0,5–30 wt%) stężeniu fazy olejowej. Podobnie Sun i Gunasekaran (2009) zauważyli, że wzrost stężenia oleju (5–40% w/w) zwiększał η_p emulsji (2% w/w izolat białek serwatki; 0,2% (w/w) GK; $\dot{\gamma} = 0,1 \text{ s}^{-1}$) z ok. 0,8 do 4,2 Pa·s. W literaturze przedmiotu znaleźć można opracowania teoretyczne opisujące zależność pomiędzy stężeniem fazy rozproszonej a lepkością emulsji. Zastosowanie praktyczne sugerowanych równań związane jest z ograniczeniami, m.in. z tym, że muszą one charakteryzować się właściwościami cieczy Newtonowskich. Dla układów rozcieńczonych zawierających sferyczne cząstki fazy rozproszonej (bez interakcji) o właściwościach układu monodispersyjnego lepkość względną (η) opisuje równanie Einsteina (Dörr i in. 2013; McClements 2008; Tadros 2013):

$$\eta = \eta_{0c} (1 + 2,5 \Phi_V)$$

gdzie: η_{0c} – lepkość fazy ciągłej (wody).

Wzrost stężenia cząstek frakcji rozproszonej powoduje znaczne odstępstwa od równania Einsteina, które w celu uwzględnienia występujących oddziaływań może być rozwinięte do postaci funkcji wielu zmiennych, a lepkość wyrażona wzorem: $\eta = \eta_{0c} (1 + a \Phi_V + b \Phi_V^2 + c \Phi_V^3 + \dots)$, gdzie: a , b , c – współczynniki wyznaczone teoretycznie lub eksperymentalnie, pozostałe oznaczenia jak powyżej. McClements i Weiss (2005) uważają, że powyższe równanie jest szczególnie przydatne, gdy stężenie cząstek fazy rozproszonej $\Phi_V \leq 10\%$ (w/w). Przy większych stężeniach Φ_V zastosowanie może mieć równanie Dougherty'ego i Kriegera: $\eta = \eta_{0c} [1 - (\Phi_V/\Phi_{\max})]^{-[\eta]\Phi_{\max}}$ lub Mooneya: $\eta = \eta_{0c} \times \exp \{[\eta]\Phi_V/1 - (\Phi_V/\Phi_{\max})\}$, gdzie: $[\eta]$ – graniczna liczba lepkościowa (ang. *intrinsic viscosity*); Φ_{\max} – maksymalny ułamek objętościowy cząstek fazy rozproszonej, dla układu jednakowej średnicy kul ściśle upakowanych (ang. *maximum packing volume fraction*), pozostałe oznaczenia jak powyżej. Graniczna liczba lepkościowa ($[\eta]$) cząstek kulistych wynosi 2,5 i może być znacznie większa dla niekulistych oraz zagregowanych, natomiast parametr Φ_{\max} , zwykle dla kształtów kulistych, nieoddziałujących między sobą w wyniku koloidalnych interakcji o dużym zasięgu, przyjmuje wartości liczbowe 0,6–0,7. Wartość Φ_{\max} układów monodispersyjnych wynosi ok. 0,64 i może być większa w przypadku polidispersyjnych, ponieważ małe cząstki mogą znajdować się w przestrzeni pomiędzy dużymi (McClements i Weiss 2005; Tadros 2013; Chung i in. 2014a). Dostępnych jest ponadto wiele innych równań opisujących wpływ stężenia i maksymalnego upakowania cząstek fazy rozproszonej na lepkość, opracowanych przez: Eilers, Quemada i Robinson (Dörr i in. 2013). Lepkość (η_p) układu emulsyjnego zależy również od rozmiaru

cząstek fazy rozproszonej i wzrasta wraz ze zmniejszaniem się ich wielkości, zgodnie z równaniem:

$$\log \eta_p = \log \eta_c + b \times (\Phi_v/D[1,0])$$

gdzie: $D[1,0]$ – średnia średnica długościowa;

b – wielkość stała (pozostałe oznaczenia jak powyżej).

Hebishy i in. (2015) wykazali, że zmniejszenie wymiaru cząstek fazy rozproszonej ($D[3,2]$) w wyniku stosowania różnych sposobów homogenizacji, jak: młynek koloidalny (6,22–3,79 μm), homogenizacja tradycyjna – 15 MPa (0,85–0,73 μm), homogenizacja wysokociśnieniowa – 100 MPa (0,20–0,113 μm) lub 200 MPa (0,15–0,11 μm) w układach emulsyjnych (15% w/w olej słonecznikowy, 5% w/w oliwa z oliwek, 1–4% w/w białek serwatki), powodowało w zdecydowanej większości wzrost wartości współczynnika konsystencji (odnoszonego do lepkości) w zakresach, odpowiednio: 1,49–2,36, 5,03–2,27, 2,04–3,40 lub 2,43–4,02 $\text{mPa}\cdot\text{s}^n$, przy wartościach n : 1,06–1,05, 0,97–0,98, 0,98–0,98 lub 0,95–1,00. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że na lepkość wpływ ma także wielkość elektrostatycznych interakcji pomiędzy zdyspergowanymi cząstkami, a w tym otaczająca je podwójna warstwa elektryczna (ang. *electrical double layer*), charakteryzowana potencjałem ζ , którego wielkość zależy od siły jonowej układu (stężenia elektrolitów). Efekt dystorsji, czyli zniekształcenia podwójnej warstwy elektrycznej, prowadzi do zwiększenia rozpraszania energii i wzrostu lepkości. Wpływ oddziaływań elektrostatycznych na lepkość uwzględnia się, wprowadzając do równania Einsteina współczynnik „elektrolepkości” (ang. *electroviscous coefficient, p_e*), które przyjmuje postać:

$$\eta = \eta_{0c} [1 + 2,5 (1 + p_e) \Phi_v]$$

Rubio-Hernández i in. (2004) wykazali, że wraz ze wzrostem siły jonowej układu wartości parametru p_e maleją, co zgodnie z powyższym równaniem wpływa na zmniejszenie lepkości. Z badań wynika jednak, że oddziaływanie elektrolitów na podwójną warstwę elektryczną nie zawsze ma jednakowy zakres. Jiang i in. (2016) zauważyli, że wzrost stężenia NaCl (0–14 mM) w układzie zawierającym zawiesiny nanokryształów skrobi (ang. *starch nanocrystals*, 5% w/w) z kukurydzy woskowej powodował zmiany lepkości (η_0), obliczanej z modelu Crossa w zakresie 2,28–136,82 Pa·s. Przy zawartości 15% (w/w) nanocząstek skrobi (ang. *starch nanoparticles*, 15% w/w) zmiany stężenia NaCl w układzie (0–256 mM), powodowały zmniejszanie się wartości η_0 w zakresie 6,18–3,31 Pa·s. Wzrost lepkości w układach zawierających zawiesiny nanokryształów skrobi mógł być spowodowany sieciującym oddziaływaniem NaCl, dlatego obserwowane z reguły zmniejszenie grubości podwójnej warstwy elektrycznej (ang. *Debye screening length*) miało znaczenie drugorzędne w przeciwieństwie do zawiesin zawierających nanocząstki skrobi.

5.3.2. Reometria rotacyjna

Reometria to dział reologii zajmujący się oceną właściwości reologicznych, do pomiaru których w odniesieniu do cieczy niewykazujących efektów naprężeń normalnych (ciecze

newtonowskie, nienewtonowskie reostabilne oraz nienewtonowskie reologicznie niestabilne) stosuje się metody ogólnie określane jako wiskozymetryczne. W pomiarze właściwości reologicznych cieczy newtonowskich zastosowanie mogą mieć wiskozymetry dające tzw. pomiar jednopunktowy. Analiza właściwości reologicznych cieczy nienewtonowskich wymaga wyznaczenia ich krzywych płynięcia, najlepiej w bardzo szerokim zakresie szybkości ścinania. Dlatego pomiary właściwości reologicznych tych cieczy muszą być wykonywane za pomocą przyrządów wielopunktowych, nazywanych najczęściej w literaturze przedmiotu reometrami, które z kolei z uwagi na specyficzne rozwiązania techniczne dzielą się na kapilarne oraz rotacyjne. Obecnie szczególnie często do oceny właściwości reologicznych emulsji spożywczych stosowane są reometry rotacyjne. W zależności od ocenianego bodźca, któremu poddawany jest badany materiał, wyróżnić można reometry rotacyjne umożliwiające monitorowanie prędkości obrotowej (ang. *rheometer controlled rate*) lub naprężenia ścinającego (ang. *rheometer controlled stress*). Reometry rotacyjne pozwalają na pomiar sił oporu powstających w cieczy, na którą z zadaną szybkością oddziałują wirujące elementy układu pomiarowego, powodujące powstawanie naprężeń stycznych. Najczęściej stosuje się następujące układy pomiarowe: współosiowe cylindry, równoległe płytki lub stożek–płytką.

Emulsje w zależności od składu mogą wykazywać zróżnicowany przebieg krzywych płynięcia, które opisują zależność pomiędzy naprężeniem ścinającym – stycznym (ang. *shear stress*, τ , Pa) a szybkością ścinania (ang. *shear rate*, $\dot{\gamma}$, s^{-1}) próbki. Produkty spożywcze, takie jak: oleje roślinne, odtłuszczone mleko oraz emulsje napojowe (mikroemulsje), które zawierają niewielkie stężenie fazy rozproszonej, a także nieznaczną ilość zagęstników w fazie ciągłej, mogą być zaliczane do cieczy newtonowskich, czyli spełniających prawo Newtona, a wykres zależności naprężenia od szybkości ścinania jest linią prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych, natomiast naprężenie ścinające (τ , Pa) jest wprost proporcjonalne do szybkości ścinania:

$$\tau = \eta_d \dot{\gamma}$$

gdzie: η_d – współczynnik proporcjonalności, zwany lepkością dynamiczną;
 $\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania.

Lepkość dynamiczna (η_d) równa jest zatem liczbowo tangensowi kąta nachylenia linii prostej, jaki tworzy ona z osią odciętych (szybkości ścinania), i wyrażana jest w Pa·s. Szacunkowa wartość (20°C) lepkości dynamicznej mleka mieści się w zakresie: 2–10 mPa·s (w zależności od zawartości tłuszczu); oleju z oliwek – 84–100 mPa·s; wody – 0,89 mPa·s; miodu – 2–10 Pa·s. Przyjmuje się, że w emulsjach newtonowskich lepkie rozproszenie energii następuje w wyniku zderzeń cząstek o stosunkowo małych wymiarach. W literaturze przedmiotu używa się też pojęcia lepkości kinematycznej (ν), obliczanej ze wzoru: $\nu (m^2 \cdot s^{-1}) = \eta_d / \rho$, gdzie: ρ – gęstość cieczy. Ponadto stosuje się też pojęcie lepkości względnej, będącej stosunkiem lepkości dynamicznej badanej cieczy do lepkości cieczy wzorcowej (najczęściej wody, η_{0w}): $\eta_{wzgl.} = \eta_d / \eta_{0w}$. W większości krajów europejskich, również w Polsce, jednostką lepkości względnej jest stopień Englera (°E). Zdecydowana większość emulsji spożywczych charakteryzuje się krzywymi płynięcia niebędącymi linią prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych. Produkty takie zalicza się do cieczy nienewtonowskich, spośród których

można wyróżnić: (i) reostabilne (właściwości reologiczne nie zależą od czasu ścinania, szybkość ścinania w dowolnym punkcie jest funkcją naprężenia stycznego); (ii) reologicznie niestabilne (właściwości reologiczne zależą od czasu ścinania, szybkość ścinania jest funkcją wielkości i czasu trwania naprężenia i może również zależeć od sposobu ścinania) oraz (iii) lepkosprężyste, przejawiające pewne cechy charakterystyczne zarówno dla ciał stałych sprężystych, jak i dla cieczy lepkich, wykazujące częściowy powrót sprężysty po usunięciu naprężenia stycznego powodującego odkształcenie (Juszczak 2005; Sitkiewicz 2010; Bortnowska i in. 2014a, 2014b; Xiang i in. 2015). Biorąc pod uwagę przebieg krzywych płynięcia opisujących zależność naprężenia stycznego (ścinającego, τ) od szybkości ścinania ($\dot{\gamma}$), $\tau = f(\dot{\gamma})$, ciecze reostabilne można podzielić na: niemające i mające granicę płynięcia, czyli wykazujące graniczne naprężenie styczne, po przekroczeniu którego zaczynają płynąć. W grupie cieczy nienewtonowskich, reostabilnych i niewykazujących granicy płynięcia wyróżnia się: odpowiednie rozrzedzane ścinaniem (tzw. ciecze pseudoplastyczne) oraz zagęszczane ścinaniem, określane jako dylatancyjne (ang. *dilatant liquids*). Zjawisko dylatacji w emulsjach spożywczych występuje stosunkowo rzadko, jednak może być obserwowane w układach zawierających znaczną ilość zagęstników polisacharydowych w fazie ciągłej. W literaturze przedmiotu uważa się, że efekt dylatacji może być związany z bardzo ciasnym upakowaniem cząstek, które podczas ścinania ulegają zniszczeniu, co powoduje zwiększenie ich objętości oraz wielkości naprężenia niezbędnego do utrzymania przepływu cieczy. Układy niemające granicy płynięcia, włączając odpowiednie spełniające prawo Newtona, zalicza się do tzw. płynów Stokesa. Do opisu krzywych płynięcia emulsji, dla których naprężenie ścinające (ang. *shear stress*, τ , Pa) jest funkcją tylko szybkości ścinania, zastosowanie ma model potęgowy Ostwalda i de-Waele'a:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

gdzie: K – współczynnik konsystencji;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania;

n – wskaźnik płynięcia.

Równanie to może być także zapisane w postaci matematycznej dla krzywej lepkości: $\eta_p = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1}$, gdzie: η_p – lepkość pozorna (ang. *apparent viscosity*, Pa·s), pozostałe oznaczenia jak powyżej. Współczynnik konsystencji K (Pa·s ^{n}) jest miarą lepkości cieczy i najczęściej jego wielkość ulega zwiększeniu, gdy układ staje się bardziej „lepkim”, natomiast wskaźnik płynięcia jest miarą nienewtonowskiego zachowania się cieczy i przyjmuje wartości: $0 < n < 1$ (pseudoplastyczna – rozrzedzana ścinaniem); $n = 1$ (newtonowska) oraz $1 < n < \infty$ (dylatancyjna, zagęszczana ścinaniem). Trzeba zwrócić ponadto uwagę, że interpretację parametrów K i n należy zawsze dokonywać łącznie, ponieważ są one współczynnikami równania potęgowego. Model potęgowy Ostwalda i de-Waele'a stosowali m.in.: (i) Sun i Gunasekaran (2009), wykazując, że wzrost stężenia oleju rybiego (5–40% w/w) w układzie emulsyjnym (0,2% w/w białka serwatki oraz 0,2% w/w GK) powodował wzrost wartości K oraz n odpowiednio w zakresach: 0,43–1,22 Pa·s ^{n} oraz 0,42–0,44, przy R^2 (współczynnik determinacji), zmieniającym się od 0,995–1; (ii) Akbulut i in. (2012), którzy dowiedli, że dodatek miodu (3–9% w/w) powodował w emulsjach typu Tahin znaczne zmiany wartości K (16,52–32,96

Pa·sⁿ) oraz stosunkowo niewielkie n (0,61–0,58) z wartościami $R^2 \geq 0,98$; (iii) Gomes i in. (2016), w celu wyznaczenia właściwości reologicznych emulsji z dodatkiem kwasu galusowego, uzyskując dobre dopasowanie krzywych płynięcia zarówno dla układów typu olej-w-wodzie, jak i woda-w-oleju. Model potęgowy Ostwalda i de-Waele'a, pomimo że jest łatwy w zastosowaniu, ma jednak pewne wady, ponieważ nie uwzględnia specyfiki przebiegu krzywych płynięcia $\tau = f(\dot{\gamma})$ w warunkach, gdy $\dot{\gamma}$ dąży do zera lub nieskończoności (Juszczak 2005). Jednym z modeli uwzględniających niedoskonałości równania Ostwalda i de-Waele'a jest równanie Carreau:

$$\tau = \eta_{\infty} \cdot \dot{\gamma} + (\eta_0 - \eta_{\infty}) \dot{\gamma} / [1 + (\lambda \cdot \dot{\gamma})^2]^m$$

gdzie: η_0 – lepkość cieczy przy szybkości ścinania dążącej do zera (ang. *zero shear viscosity*);

η_{∞} – lepkość cieczy przy szybkości ścinania dążącej do nieskończoności (ang. *infinite shear rate viscosity*);

λ – parametr mający wymiar czasu i charakteryzujący zmiany struktury ścinanego materiału (ang. *time constant*);

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania;

m – stała.

Równanie Carreau w postaci matematycznej dla krzywej lepkości ma postać:

$$\eta_p = \eta_{\infty} + (\eta_0 - \eta_{\infty}) / [1 + (\lambda \cdot \dot{\gamma})^2]^m$$

gdzie: η_p – lepkość pozorna, pozostałe oznaczenia jak wyżej.

Model Carreau może być stosowany do oceny właściwości mikrostrukturalnych układów emulsyjnych stabilizowanych biopolimerami, ponieważ wielkości stałej czasowej λ są odnośne do strukturalnego zniszczenia spletań pomiędzy makrocząsteczkami w wyniku ścinania. Stała λ jest również miarą czasu potrzebnego na relaksację powstałych naprężeń (Orczykowska i in. 2010). Wykładnik m z kolei zależy od wskaźnika płynięcia (n), według równania: $m = (1 - n)/2$.

Badania Pérez-Mosqueda i in. (2013) wykazały, że wodne roztwory NaCl (1 M) z dodatkiem (1–3% w/v) gumy spożywczej, pozyskiwanej z drzewa z rodziny ślazowatych (łac. *Sterculia apetala* (Jacq.) H. Karst), charakteryzowały się wartościami parametrów modelu Carreau mieszczącymi się w zakresach: η_0 (0,18–54,9 Pa·s); η_{∞} (0,02–0,5 Pa·s); λ (0,47–3338 s) oraz n (0,71–0,57). Orczykowska i in. (2010) badali wpływ stężenia (0–0,1% w/w) gumy gelan, wskazując, że w roztworach zawierających 4% (w/w) skrobi ziemniaczanej (25°C), parametry równania Carreau przyjmowały wartości: η_0 (405–688 Pa·s); η_{∞} (0,1–0,064 Pa·s); λ (84,28–20,23 s) oraz m (0,32–0,43).

W literaturze przedmiotu stosowane są również inne postaci modelu Carreau, odpowiadające specyfice badanych układów. Na przykład Batista i in. (2006) do oceny właściwości reologicznych emulsji typu olej-w-wodzie z dodatkiem naturalnych barwników zastosowali wzór: $\eta_p = \eta_{0N} / [1 + (\dot{\gamma} / \dot{\gamma}_c)^2]^z$, gdzie: η_{0N} – lepkość pierwszego zakresu newtonowskiego; $\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania; $\dot{\gamma}_c$ – krytyczna wielkość szybkości ścinania – początek zakresu rozrzedzania (ang. *critical shear rate for the onset of the shear thinning behavior*); z – kąt nachylenia

krzywej w zakresie, gdzie następuje rozrzedzenie ścinaniem (ang. *parameter related to the slope of the shear thinning behavior*). Autorzy wykazali, że dodatek luteiny (0,25–1,25% w/w) do emulsji (3% w/w białka grochu, 65% w/w olej roślinny) ponad 10-krotnie zmniejszał (przy maksymalnym stężeniu) wielkości η_{0N} w stosunku do próby kontrolnej bez dodatku barwnika, przy jednoczesnym również zmniejszaniu się wartości parametru z , będącego miarą podatności układu na płynięcie. Uważa się, że gdy ciecz wykazuje odstępstwa od modelu Ostwalda i de-Waele'a, to przy niewielkich i dużych wielkościach ścinania można zastosować model Crossa, dla którego $\tau = f(\dot{\gamma})$, wyraża się wzorem:

$$\tau = \dot{\gamma}[\eta_{\infty} + (\eta_0 - \eta_{\infty})/(1 + K \cdot \dot{\gamma}^n)]$$

gdzie: η_0 oraz η_{∞} – lepkość cieczy przy szybkości ścinania dążącej do zera oraz nieskończoności;

K – współczynnik konsystencji;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania;

n – wskaźnik płynięcia.

Model Crossa opisujący zależność lepkości pozornej (η_p) od szybkości ścinania ma postać: $\eta_p = \eta_{\infty} + (\eta_0 - \eta_{\infty})/(1 + K \cdot \dot{\gamma}^n)$ (znaczenia poszczególnych parametrów jak we wzorach powyżej). W literaturze przedmiotu do oceny właściwości reologicznych stosowane są również modele Crossa w innej postaci. Na przykład Moreira i in. (2013) krzywe lepkości surowego ciasta z dodatkiem różnych hydrokoloidów opisali wzorem: $\eta_p = \eta_{\infty} + (\eta_0 - \eta_{\infty})/[1 + (k_s \cdot \dot{\gamma})^{(1-n)}]$, gdzie: k_s – stała czasowa; pozostałe parametry jak we wzorach powyżej. Zauważono, że dodatek GG (0,5–2% w/w) do ciasta zawierającego 4% (w/w) mąki z nasion szafalii hiszpańskiej (łac. *Sativa hispanica* L.) wpływał na parametry równania Crossa, jak następuje: η_0 (42,5–12,5 $\times 10^{-3}$ Pa·s), η_{∞} (17,9–16,9 Pa·s), k_s (2,53–3,41 s) oraz n (0,18–0,25). Dla cieczy reostabilnych ponadto, bez granicy płynięcia, do opisu właściwości reologicznych mogą być stosowane modele, których autorami są: Ferry, Ellis, Moore i Sisco (Sitkiewicz 2010; Ali Razavi i in. 2016).

Emulsje stabilizowane i/lub zagęszczane biopolimerami w zdecydowanej większości wykazują granicę płynięcia, a układy takie zalicza się do cieczy lepkoplastycznych (nazywanych też plastycznolepkimi) (Bortnowska i in. 2014a, 2014b). Szczególnym przypadkiem układu z granicą płynięcia jest ciecz lepkoplastyczna Bingham, dla której zależność naprężenia ścinającego (τ) od szybkości ścinania można opisać równaniem:

$$\tau = \tau_{0B} + \eta_{pIB} \cdot \dot{\gamma}$$

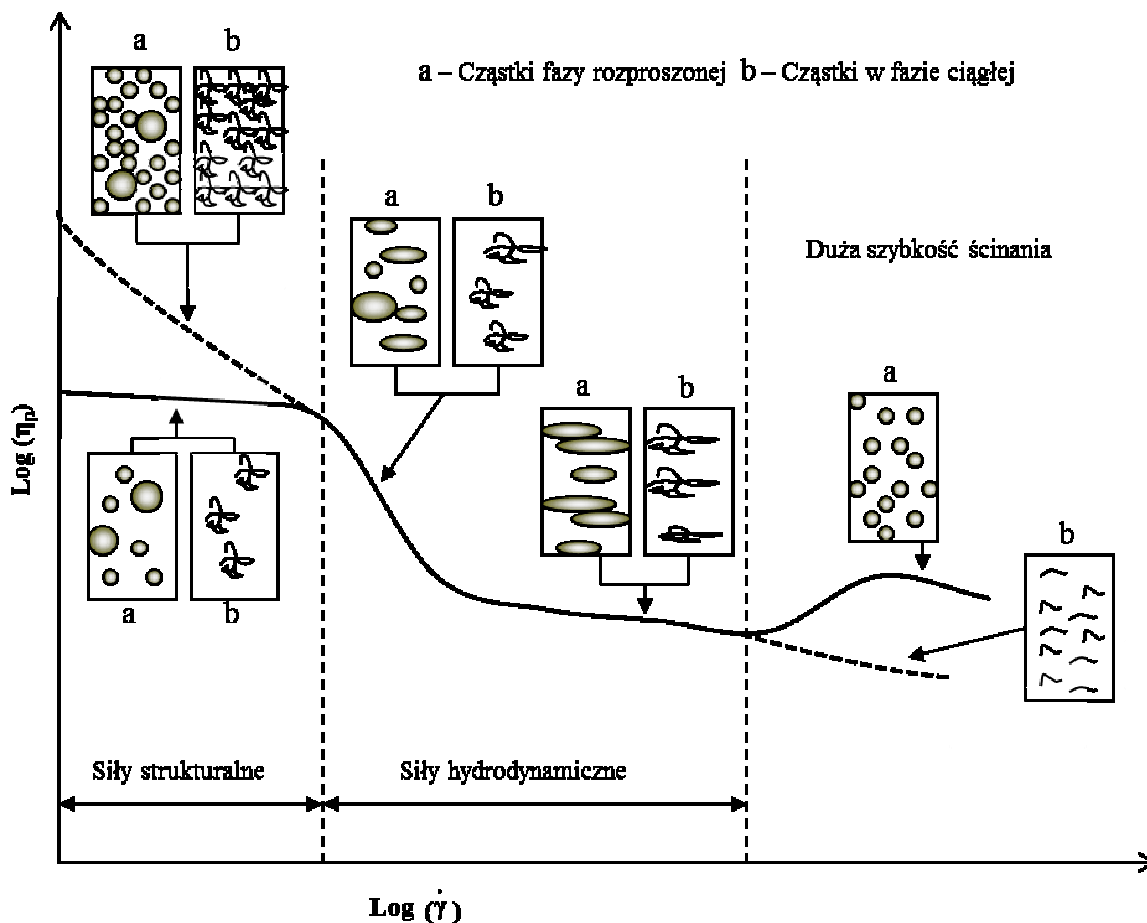
gdzie: τ_{0B} – granica płynięcia Bingham;

η_{pIB} – lepkość plastyczna Bingham;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania.

Uważa się, że ciecze zaliczane do grupy binghamowskich w stanie spoczynku mają strukturę trójwymiarową, której sprężystość jest na tyle duża, żeby przeciwdziałać przykładanemu naprężeniu stycznemu mniejszemu od granicy płynięcia (τ_{0B}). Jeżeli wielkość tego parametru zostanie przekroczona, struktura ta ulega zniszczeniu i układ przybiera cechy cieczy newtonowskiej. W zdecydowanej większości emulsje spożywcze, do których należą: majonezy,

sosy, ketchupy i inne, wykazują nieliniową zależność pomiędzy naprężeniem ścinającym a szybkością ścinania (tzw. nieliniowe ciecze lepkoplastyczne rozrzedzane ścinaniem z granicą płynięcia). Schematycznie zmiany lepkości pozornej emulsji spożywczych o różnym składzie fazy wewnętrznej i zewnętrznej, w zależności od szybkości ścinania, przedstawiono na ryc. 22.



Ryc. 22. Zależność lepkości pozornej (η_p) od szybkości ścinania emulsji typu olej-w-wodzie: rozcieńczonych (linia ciągła) oraz stężonych (linia przerywana)

Jak wynika z przebiegu krzywej lepkości pozornej (η_p), wzrost szybkości ścinania w zakresie oddziaływania sił strukturalnych powoduje bardzo niewielkie zmiany wielkości η_p emulsji rozcieńczonych (linia ciągła) i jednocześnie wyraźnie zauważalne odpowiednich stężonych (linia przerywana), dla których $\Phi_V \approx 0,74$. Ponadto emulsje stężone wykazują zwykle wyższe wielkości granicy płynięcia niż odpowiednie rozcieńczone. W układzie dyspersyjnym, w którym jedna lub więcej faz jest rozproszona w postaci cząstek w ośrodku ciągłym, powstaje struktura odporna (o właściwościach ciała sprężystego) na naprężenia styczne nieprzekraczające wartości granicznej. Im bardziej cząstki rozproszone przylegają do siebie, tym większa jest wielkość naprężenia granicznego. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że granica płynięcia jest wynikiem: oddziaływania pomiędzy dipolami, sił van der Waalsa i elektrostatycznych oraz obecności wiązań wodorowych. Granica płynięcia ma duże znaczenie

praktyczne w przypadku emulsji spożywczych, ponieważ układy charakteryzujące się tym parametrem wykazują większą stabilność przy poddaniu ich oddziaływaniu stosunkowo niewielkich naprężeń, a ponadto zachowują swój kształt po nałożeniu np. na kanapkę, sałatkę warzywną lub inne zimne przekąski. Liu i in. (2007) zwrócili uwagę, że dodatkiem mimetyków można modelować wielkość granicy płynięcia w niskotłuszczowych majonezach (ok. 40% w/w tłuszczu) w zakresie 0,02–9,51 Pa, co pozwala uzyskać produkty o właściwościach reologicznych zbliżonych w zakresie tego parametru do majonezów pełnotłuszczowych (ok. 82% w/w tłuszczu), dla których wyznaczona granica płynięcia wynosiła 12,71 Pa. Podobne wnioski wynikają z pracy badawczej Bortnowskiej i in. (2014a), którzy dowiedli, że wprowadzając do niskotłuszczowego układu (20% w/w oleju rzepakowego) natywną skrobię z kukurydzy woskowej (0–5% w/w), granica płynięcia emulsji, w zależności od użytego emulgatora: żółtko jaja lub kazeinian sodu, zmieniała się w zakresach odpowiednio: 0,02–6,08 lub 0,01–15,5 Pa. W obszarze oddziaływania sił hydrodynamicznych krzywe lepkości emulsji rozcieńczonych i stężonych mają bardzo podobny przebieg, tzn. układy te zachowują się jak ciecz rozrzedzana ścinaniem. Zmniejszając się lepkość emulsji spożywczych wraz z rosnącą szybkością ścinania w literaturze podmiotu tłumaczy się m.in.: (i) załamaniem struktury układu w wyniku zerwania niekowalencyjnych interakcji pomiędzy molekułami i cząstkami; (ii) narastającą orientacją cząstek w kierunku przepływu; (iii) deformacją cząstek kulistych do kształtu elipsy oraz (iv) rozbijaniem występujących w układzie floksów i agregatów do pojedynczych cząstek. Należy również podkreślić, że przy określonych wielkościach szybkości ścinania układy emulsyjne mogą zachowywać się jak ciecz newtonowska o stałej lepkości. Wartości lepkości granicznej (η_{∞}) przy wysokich szybkościach ścinania różnią się w odniesieniu do emulsji rozcieńczonych i stężonych. W układach rozcieńczonych rozproszona faza olejowa ulega daleko idącemu procesowi defragmentacji, co powoduje powstawanie cząstek o znacznie mniejszych rozmiarach i w konsekwencji wzrost lepkości pozornej (Liu i in. 2007; Bortnowska 2008b). W układach stężonych natomiast zmiany strukturalne dotyczą głównie fazy ciągłej, w której cząstki zagęstnika ulegają procesowi ułożenia równoległego, co zmniejsza opory tarcia i makroskopowo przejawia się jako spadek lepkości (Bortnowska i in. 2014a, 2014b). Oprócz układów opisanych powyżej możliwy jest przypadek cieczy lepkoplastycznych zagęszczanych ścinaniem, czyli dylatancyjnych z granicą płynięcia. Krzywe płynięcia $\tau = f(\dot{\gamma})$ nieliniowych cieczy lepkoplastycznych rozrzedzanych lub zagęszczanych ścinaniem, wykazujących granicę płynięcia, można opisać równaniem Herschela–Bulkleya:

$$\tau = \tau_{0HB} + K \cdot \dot{\gamma}^n$$

gdzie: τ_{0HB} – granica płynięcia Herschela–Bulkleya;

K – współczynnik konsystencji;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania;

n – wskaźnik płynięcia.

W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że równanie Herschela–Bulkleya łączy w sobie modele: Newtona, Bingham’a oraz Ostwalda i de Waele’a i dlatego może być stosowane do opisu krzywych płynięcia układów emulsyjnych, o zróżnicowanym składzie (Liu i in. 2007). Równanie Herschela–Bulkleya stosowali m.in.: (i) Koocheki i in. (2009) do oceny właściwo-

ści reologicznych ketchupów (25°C), wykazując, że wzrost stężenia GK (0,5–1% w/w) wpływał na zwiększenie wartości: τ_{0HB} , K i n , odpowiednio w zakresach: 9,37–11,87 Pa; 16,7–18,38 Pa·sⁿ; i 0,26–0,25; (ii) Bortnowska i in. (2016), z badań których wynika, że wzrost stężenia skrobi woskowej z ryżu (2–3,5% w/w; 20°C) powodował zmiany wartości: τ_{0HB} , K i n w białych sosach, odpowiednio w zakresach: 0,14–0,89 Pa; 2,15–7,53 Pa·sⁿ; i 0,32–0,24; (iii) Villamonte i in. (2016) w celu wyznaczenia zależności pomiędzy stężeniem soli (NaCl) w układzie a właściwościami reologicznymi emulsji przygotowanych z użyciem skrobi z kukurydzy (27% w/w amylozy) poddanej wysokociśnieniowej obróbce (600 MPa, 6 min). Autorzy wykazali, że wzrost stężenia NaCl (0–0,6 M) powodował zmiany wartości: τ_{0HB} , K i n , jak następuje: 0,890–0,819 Pa; 0,0415–0,0367 Pa·sⁿ; 0,831–0,847. Zbliżonym do równania Herschela–Bulkeleya jest model Cassona:

$$\tau^{1/2} = \tau_{0CA}^{1/2} + (\eta_{plCA} \dot{\gamma})^{1/2}$$

gdzie: τ_{0CA} – granica płynięcia Cassona;

η_{plCA} – lepkość plastyczna Cassona;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania.

Model ten stosowany był m.in. przez Torres i in. (2011) do porównania właściwości reologicznych niskotłuszczowych jogurtów stabilizowanych mikrocząstkami białek serwatki z ich wybranymi cechami sensorycznymi oraz Massa i in. (2010), którzy wykazali, że wielkość parametru τ_{0CA} wyraźnie zależała od składu przetartych brzoskwiń w zakresie temperatur: 5–55°C, dla układów charakteryzowanych wielkościami stopni Brix (Bx): 21 i 17°Bx i zmieniała się odpowiednio w zakresach: 24,9–26 i 1,47–0,85 Pa. Juszcak i in. (2012), natomiast model Cassona: $\tau^{0,25} = \tau_{0CA}^{0,25} + (\eta_{plCA} \dot{\gamma})^{0,25}$ zastosowali do oceny właściwości reologicznych kleików ze skrobi ziemniaczanej. Autorzy wykazali, że ogrzewanie w zakresie 65–95°C przez 5 min wpływało na zmiany τ_{0CA} i η_{plCA} , odpowiednio w zakresach: 11,5–1,7 Pa i 0,049–0,098 Pa·s. W literaturze przedmiotu sugeruje się także możliwość stosowania innych modeli matematycznych do opisu krzywych płynięcia cieczy reostabilnych z granicą płynięcia, opracowanych przez takich autorów jak: Heinz, Windhab, Falguera-Ibarz (Sitkiewicz 2010; Augusto i in. 2012).

Zarówno ciecze newtonowskie, jak i nienewtonowskie wykazują znaczną zależność, lepkości dynamicznej i pozornej (współczynnika konsystencji) od temperatury. Wzrost temperatury zwiększa energię kinetyczną cząsteczek znajdujących się w cieczy, które mogą w ten sposób łatwiej pokonywać siły przyciągania sąsiednich molekuł i zwiększać wzajemne odległości, co w konsekwencji powoduje, że lepkość układu maleje (Massa i in. 2010; Wang i in. 2010; Augusto i in. 2012; Liu i in. 2015; Su i Zhong 2016). Najczęściej stosowanym równaniem jest model Arrheniusa, którym można opisać zmiany wielkości lepkości dynamicznej (η_d , Pa·s) i pozornej (η_p , Pa·s):

$$\eta_d (\eta_p) = A \times \exp (Ea/R \cdot T)$$

gdzie: A – stała równania Arrheniusa (ang. *Arrhenius constant*);

Ea – energia aktywacji (ang. *activation energy*, J·mol⁻¹);

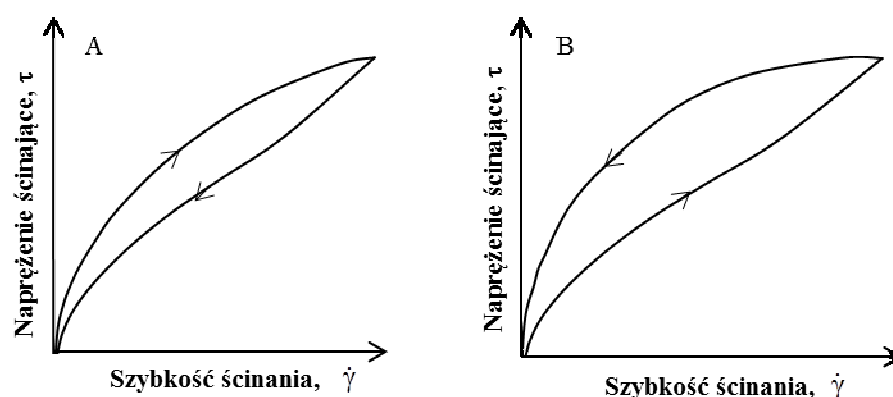
R – stała gazowa, J·K⁻¹·mol⁻¹;

T – temperatura bezwzględna, K.

Równanie Arrheniusa stosowane jest również w odniesieniu do współczynnika konsystencji: $K = K_0 \times \exp(Ea/R \cdot T)$, gdzie: K_0 – stała równania Arrheniusa, pozostałe oznaczenia jak w równaniu powyżej. Z analizy badań doświadczalnych wynika, że brak jest dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem składników w układzie a wyznaczanymi wskaźnikami równania Arrheniusa. W niektórych przypadkach energia aktywacji przepływu lepkiego cieczy newtonowskiej jest mniejsza niż odpowiednia newtonowskiej (Sitkiewicz 2010). Model Arrheniusa stosowany był m.in. przez Koocheki i in. (2009), którzy wykazali, że dodatek do keczupów zagęstników: GG, GK lub karboksymetylocelulozy w stężeniach 0–1% (w/w) powodował zmniejszenie wartości energii aktywacji (Ea), odpowiednio w zakresach: 21,5–6,5, 21,5–9,8 lub 21,5–5,5 kJ·mol⁻¹. Podobne obserwacje wynikają z badań Bortnowskiej i in. (2016), którzy dowiedli, że dodatek skrobi woskowej z ryżu lub z tapioki w stężeniach 2–3,5% (w/w) w białych sosach wzbogacanych dodatkiem skrobi odpornej wpływał na obniżenie Ea , odpowiednio: 36,73–17,14 lub 29,62–15,46 kJ·mol⁻¹. Zmniejszanie się wartości energii aktywacji w pastach sezamowych, będących emulsjami o/w zawierającymi zróżnicowaną ilość miodu (3–9% w/w), sugerowali Akbulut i in. (2012), którzy wykazali, że w zależności od rodzaju past: Tahin lub Bozkir Tahin zmiany Ea mieściły się odpowiednio w zakresach: 10,05–7,61 lub 10,05–9,02 kJ·mol⁻¹. Przeciwnie obserwacje poczynili Karaman i in. (2011), którzy dowiedli że wzrost stężenia (57,5–61,25% w/w) oleju kukurydzianego w emulsjach mięsnych wpływał na zwiększenie Ea w zakresie 6,23–10,38 kJ·mol⁻¹. Podobne wyniki uzyskali Tabibiazar i in. (2015), sugerując, że dodatek PEG o masie cząsteczkowej 300 lub 10 000 do nanoemulsji (20% w/w olej kukurydziany, 15% liofilizowanej BSA krwi bydlęcej) przyczyniał się do wzrostu Ea , odpowiednio do 21,27 lub 21,87 kJ·mol⁻¹ w odniesieniu do emulsji bez dodatku tych składników, dla której Ea wynosiła 15,30 kJ·mol⁻¹. Energia aktywacji odnosi się do zmian właściwości cieczy i może być interpretowana następująco: im większa jest jej wartość liczbowa, tym bardziej wrażliwy jest układ emulsyjny (w wymiarze zmian lepkości) na temperaturę (Juszczak 2005; Wang i in. 2010). Wartości Ea mogą być także zależne od składu chemicznego komponentów układu emulsyjnego. Bortnowska i in. (2013) dowiedli, że wzrost stężenia (0–4% w/w) skrobi z kukurydzy woskowej (0,5% w/w amylozy) oraz ziemniaczanej (22% w/w amylozy) powodował zmiany Ea w zakresie, odpowiednio 16,4–7,7 oraz 16,4–8,9 kJ·mol⁻¹. Innymi czynnikami wpływającymi na zróżnicowane Ea są zwykle zmienne warunki przygotowania składników układu emulsyjnego. Wang i in. (2010) wykazali, że kleiki skrobiowe z kukurydzy woskowej (5% w/w, 95°C), poddane mieszanemu przez 40 min (400 obr·min⁻¹), charakteryzowały się mniejszymi Ea (10,1 kJ·mol⁻¹) niż odpowiednie poddane procesowaniu przez 6 min (200 obr·min⁻¹), dla których Ea wynosiła 14 kJ·mol⁻¹.

Emulsje spożywcze w zdecydowanej większości stanowią również grupę cieczy reologicznie niestabilnych, dla których charakterystyczne jest występowanie zjawisk tiksotropii (ang. *thixotropy*) lub antytiksotropii (ang. *anti-thixotropy*). Tiksotropia jest izotermiczną, odwracalną przemianą, zachodzącą pod wpływem czynników mechanicznych, w wyniku oddziaływania których następuje zniszczenie występujących w układzie struktur, co powoduje, że wielkości naprężeń ścinających są większe przy wzrastających szybkościach ścinania niż przy malejących. Układy wykazujące zjawisko tiksotropii w znacznej mierze odbudowują swoją

strukturę wyjściową po zakończeniu procesu ścinania. Zjawisko antytiksotropii z kolei związane jest z właściwością odwrotną, tzn. tworzenia wewnętrznej struktury molekularnej emulsji w wyniku ścinania (Juszczak 2005; Wang i in. 2010). Jedną z najczęściej używanych metod do identyfikacji tiksotropii lub antytiksotropii jest test pętli histerezy. Przebieg typowych krzywych płynięcia przy występowaniu zjawiska tiksotropii i antytiksotropii przedstawiono na ryc. 23 A i B. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że wiele zjawisk związanych np. z sedimentacją cząstek lub synerezą, czyli wydzielaniem wody z cząstek zawieszonych w żelu, może powodować znaczne różnice w przebiegu krzywych płynięcia, wyznaczanych zarówno przy wzrastającej, jak i malejącej szybkości ścinania. Ponadto występowanie pętli histerezy nie zawsze jest równoznaczne ze zjawiskiem tiksotropii, dlatego że może być ono niekiedy obserwowane w odniesieniu do materiałów lepkosprężystych.



Ryc. 23. Ciecze wykazujące zjawisko tiksotropii (A) i antytiksotropii (B)

Pomimo jednak tak wielu zastrzeżeń test ten obecnie jest powszechnie stosowany do określania zjawiska tiksotropii oraz antytiksotropii w produktach spożywczych, ponieważ uzyskuje się krzywe płynięcia cieczy, których przebieg umożliwia oszacowanie właściwości reologicznych spowodowanych zmianami kierunku ścinania. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że im większe jest pole powierzchni histerezy (ang. *hysteresis loop area*, A_P , $\text{Pa} \cdot \text{s}^{-1}$), tym większa jest ilość energii potrzebnej do zniszczenia struktury układu (Mewis i Wagner 2009; Orczykowska i in. 2010; Adamczyk i in. 2012). Wielkość parametru A_P wyznacza się z zależności:

$$A_P = A_G - A_D$$

gdzie: A_G – pole powierzchni pod krzywą płynięcia przy wzrastającej szybkości ścinania;

A_D – pole powierzchni pod krzywą płynięcia przy malejącej szybkości ścinania.

Podczas oceny zmian wielkości naprężenia ścinającego przy zmiennym kierunku ścinania często wyznacza się względne pole (A_W) powierzchni pętli histerezy według wzoru:

$$A_W = [(A_G - A_D)/A_G] \times 100$$

Uważa się, że wielkości wyrażone parametrem A_W pozwalają na lepsze porównanie układów, szczególnie wyraźnie różniących się lepkością. Koh i in. (2008) wykazali, że dostępne

w handlu dressingi charakteryzowały się większą wartością A_P niż odpowiednie przygotowane z olejem sojowym.

Z badań Orczykowska i in. (2010) wynika natomiast, że A_P kleików skrobi ziemniaczanej (4% w/w), w tym z dodatkiem gumy gellan 0,05% lub 0,1% (w/w), przy wzroście temperatury (5–45°C) mieściły się, odpowiednio w zakresach: 1611–142, 1011–48 lub 948–28 Pas·s⁻¹. Bayarri i Costell (2011) zauważyli, że wzrost stężenia karboksymetylocelulozy (0,75–1,5% w/w) w mleku chudym i pełnym powodował zmiany względnych wartości liczbowych pola powierzchni pętli histerezy (A_W) odpowiednio: 2,1–11,5% oraz 7,4–18,6%. Bortnowska i in. (2016) dowiedli, że wzrost stężenia (2–3,5% w/w) skrobi ryżowej (4,8% w/w amylozy) oraz z tapioki (19,6% w/w amylozy) w białych sosach zmieniał A_W odpowiednio: 9,67–11,1% oraz 11,3–16,5%. Z doniesienia Wang i in. (2010) wynika, że kleiki (5% w/w) przygotowane ze skrobią z kukurydzy woskowej (95°C, 40 min, szybkość mieszania 400 obr·min⁻¹) wykazywały zjawisko antytiksotropii, podczas gdy w odpowiednich innych poddanych mieszaniu: z mniejszą szybkością, w niższych temperaturach lub przez krótszy okres czasu – efekt ten nie występował lub miał miejsce w znacznie mniejszym zakresie. Do oceny zmian tiksotropowych wyznacza się też inne wskaźniki, np. współczynnik mobilotiksotropii (Adamczyk i in. 2012):

$$M = \eta_{1p} - \eta_{2p} / \ln(\dot{\gamma}_{\max 1} / \dot{\gamma}_{\max 2})$$

gdzie: η_{1p} i η_{2p} – lepkość pozorna mierzona przy maksymalnej szybkości ścinania, odpowiednio $\dot{\gamma}_{\max 1}$ i $\dot{\gamma}_{\max 2}$.

Orczykowska i in. (2010) uważają, że zakres tiksotropii można ocenić, obliczając współczynnik tiksotropii: $K_T = A_P / \dot{\gamma}_{\max}$, gdzie: A_P – pole powierzchni histerezy oraz $\dot{\gamma}_{\max}$ – maksymalna szybkość ścinania. Właściwości tiksotropowe emulsji można także wyznaczać, biorąc pod uwagę krzywe zależności naprężenia ścinającego (lepkości pozornej) od czasu ścinania ($\tau = f(t)$), przy stałej wartości $\dot{\gamma}$ (Juszczak 2005; Mewis i Wagner 2009). Metoda ta oparta jest na założeniu, że gdy materiał poddawany jest ścinaniu przy stałej szybkości, lepkość zmniejsza się wraz z czasem ścinania, co jednocześnie oznacza częściowe zniszczenie struktury. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że do oceny zakresu zmian naprężenia ścinającego (τ) w funkcji czasu, przy określonej wielkości $\dot{\gamma}$, można stosować następujące modele:

$$\text{Weltman: } \tau = A_N - B \cdot \ln(t)$$

$$\text{Figoni-Shomaker: } \tau = \tau_e + (\tau_i - \tau_e) \cdot \exp(-K_I \cdot t)$$

$$\text{Tiu-Boger: } \tau = \tau_e + [(\tau_i - \tau_e) / (1 + K_{II} \cdot t)]$$

$$\text{Hahn, Ree i Eyring: } \ln(\tau - \tau_e) = A_N - B \cdot t$$

gdzie: A_N – wielkość naprężenia ścinającego w pierwszej sekundzie testu (ang. *shear stress needed for initiating structure breakdown*);

B – parametr kinetyczny, współczynnik niszczenia struktury tiksotropowej (ang. *time coefficient of thixotropic breakdown*);

τ_i – początkowe naprężenie ścinające;

τ_e – równowagowe naprężenie ścinające;

K_I – stała kinetyczna 1. rzędu;

K_{II} – stała kinetyczna 2. rzędu;

t – czas.

W badaniach eksperymentalnych ustalono, że dla zawiesin skrobi wielkości parametrów A_N i B równania Weltmana zmniejszały się wraz ze wzrostem czasu ścinania i temperatury (Juszczak i in. 2012). Podobny trend zmian parametrów A_N i B wraz ze zwiększającą się temperaturą sugerowali w swoim artykule Massa i in. (2010) w odniesieniu do przetartych brzośkwiń. Bortnowska i in. (2016) wykazali, że dodatek skrobi (ryżowa, tapiokowa) w białych sosach był czynnikiem powodującym zwiększanie wartości parametrów A_N i B , przy czym bardziej w układach zawierających skrobię tapiokową niż ryżową. Z badań Augusto i in. (2012) wynika, że w soku pomidorowym wszystkie parametry równań: Figoni–Shoemaker, Weltman oraz Hahn, Ree i Eyring wykazywały tendencję wzrostową. Uważa się ponadto, że dobrym wskaźnikiem określającym szybkość rozpadu struktury w czasie, przy stałej szybkości ścinania, jest tzw. współczynnik chronotiksotropii (Adamczyk i in. 2012).

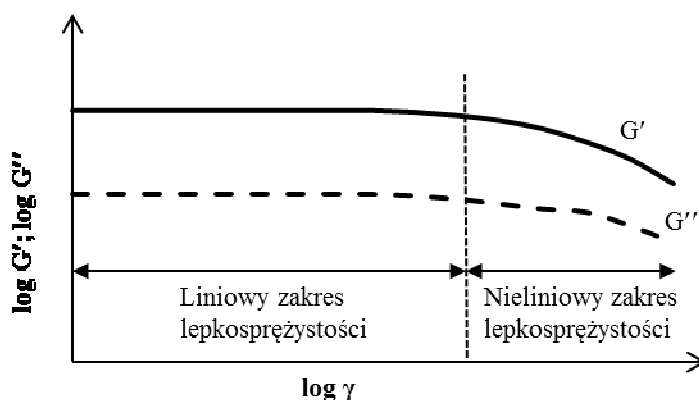
$$B = \eta_{1p} - \eta_{2p} / \ln(t_2/t_1)$$

gdzie: η_{1p} i η_{2p} – lepkość pozorna mierzona, odpowiednio po czasie: t_1 i t_2 .

5.3.3. Reometria oscylacyjna

Reometria oscylacyjna ma powszechne zastosowanie w badaniu właściwości lepkosprężystych emulsji spożywczych, szczególnie przygotowanych z dodatkiem biopolimerów (białka, polisacharydy), dodawanych w celu stabilizacji układu oraz kształtowania jego cech reologicznych. Reakcja cieczy lepkosprężystych poddanych działaniu naprężeń zewnętrznych zależy od czasu działania tego czynnika. W przypadku gdy naprężenie działa w bardzo krótkim czasie, zachowują się one jak ciała sprężyste, natomiast gdy czas działania jest dostatecznie długi, wykazują cechy cieczy lepkiej. Bardzo często stosowaną metodą w ocenie właściwości lepkosprężystych jest dynamiczne ścinanie oscylacyjne, polegające na poddawaniu materiału harmonicznemu sinusoidalnemu odkształcaniu w czasie. Badania właściwości lepkosprężystych wykonywane są głównie w zakresie liniowej lepkosprężystości (ang. *linear viscoelastic region*, LVR), czyli w obszarze, w którym zmiany odkształcenia i naprężenia wyrażone są funkcjami sinusoidalnymi o tej samej częstotliwości, lecz przesuniętymi względem siebie o określony kąt przesunięcia fazowego (ang. *phase angle*, δ). W przypadku ciała doskonale sprężystego (ang. *elastic solid*) kąt przesunięcia fazowego wynosi zero ($\delta = 0$), ponieważ ulegają one natychmiastowemu odkształceniu. Przy wartościach $\delta = 90^\circ$, pomiędzy naprężeniem i odkształceniem, układ określa się mianem cieczy lepkiej (ang. *viscous fluid*), natomiast przy δ mieszczącym się w zakresie $0-90^\circ$ materiał uważa się za lepkosprężysty (ang. *viscoelastic material*) (Juszczak 2005; Sitkiewicz 2010). Zakres liniowej lepkosprężystości (LVR) można wyznaczyć poprzez określenie maksymalnych wartości odkształcenia (naprężenia), przy których wielkości modułów: zachowawczego/sprężystości (ang. *storage/elastic modulus*, G') oraz stratności/lepkości (ang. *loss/viscous modulus*, G'') są stałe. Pomiary w zakresie LVR wykonane są zwykle z zastosowaniem małej amplitudy oscylacyjnego

ścianania (ang. *small-amplitude oscillatory shear*), jakkolwiek w odniesieniu do układów, gdzie celem jest zauważenie zmian spowodowanych oddzielnie odkształceniem oraz naprężeniem, oceny dokonuje się również przy braku liniowej lepkości i stosunkowo dużej amplitudzie oscylacyjnego ścianania (ang. *large-amplitude oscillatory shear*). Zastosowanie zarówno małej, jak i stosunkowo dużej amplitudy odkształcenia wymaga odpowiedniego doboru amplitudy odkształcenia oraz częstotliwości kątowej (Karaman i in. 2011; Bortnowska i in. 2014a, 2014b; Patel i in. 2015). Schematyczną ilustrację testu umożliwiającego wyznaczenie LVR, czyli zależności pomiędzy wielkościami modułów zachowawczego (G') i stratności (G'') a przykładanym odkształceniem, γ (ang. *strain sweep test*), przedstawiono na ryc. 24.



Ryc. 24. Interpretacja graficzna zakresu liniowej lepkości, zmiany wielkości modułów G' i G'' w zależności od odkształcenia (γ)

Wielkość LVR wskazuje na trwałość emulsji i jednocześnie dostarcza informacji o cechach sensorycznych układu, szczególnie dotyczących zmian struktury podczas konsumpcji (Koh i in. 2008). Poszczególne układy emulsyjne w zależności od składu różnią się wielkościami liniowej lepkości, od stosunkowo małej (ang. *small linear viscoelastic region*) do dużej (ang. *large linear viscoelastic region*). Patel i in. (2015) wykazali, że emulsje stabilizowane dodatkiem (1–4% w/w) mieszanin gum (LBG : lambda karagen, 1 : 1) zachowywały liniową lepkość przy odkształceniu w zakresie 10^{-4} – 10^{-1} . Podobne sugestie wynikają z doniesienia Hu i in. (2016), którzy dowiedli, że emulsje (2% w/w kazeinian sodu, 30% w/w olej sojowy) charakteryzowały się liniową lepkością przy stężeniu 0 i 2% (w/w) celulozy regenerowanej, odpowiednio w zakresach: 0,1–1 i 0,1–8%. Z uzyskanych w teście dynamicznego ścianania oscylacyjnego wielkości modułów G' (Pa) oraz G'' (Pa), będących odpowiednio miarą właściwości materiału do gromadzenia oraz utraty energii, oblicza się: moduł zespolony (ang. *complex modulus*, G^* , Pa), tangens kąta przesunięcia fazowego (ang. *loss tangent angle*, $\tan \delta$) oraz lepkość zespoloną (ang. *complex viscosity*, η^* , Pa·s) według wzorów:

$$G^* = [(G')^2 + (G'')^2]^{1/2}$$

$$\tan \delta = G''/G'$$

$$\eta^* = G^*/\omega$$

gdzie: ω – częstotliwość kątowna (ang. *angular frequency*).

Wyniki pomiarów wykonywane z zastosowaniem dynamicznego ścinania oscylacyjnego bardzo często przedstawia się w odniesieniu do wzrastającej częstotliwości (ang. *frequency sweeps*). W literaturze przedmiotu uważa się, że wykonywanie badań opisaną powyżej metodą ma dużo zalet, ponieważ: (i) uzyskuje się znacząco szybszy pomiar właściwości lepko-sprężystych niż z zastosowaniem innych technik pomiarowych bazujących na małej amplitudzie odkształcenia; (ii) nie następuje zniszczenie próbki, co tym samym pozwala odnieść wyniki badań do molekularnej struktury układu; (iii) można precyzyjnie dobrać zakres częstotliwości determinowany specyfiką badań oraz właściwościami materiału, a ponadto (iv) wielkości modułów (G' , G'') mierzone są jednocześnie, co umożliwia kontrolowanie błędu pomiaru oraz odniesienie się do wpływu czasu i temperatury (Sitkiewicz 2010; Bortnowska i in. 2016). Z przeglądu literatury wynika, że badania z zastosowaniem reometrii oscylacyjnej wykonywano w odniesieniu do emulsji spożywczych różniących się składem oraz mikrostrukturalnymi właściwościami. Abdolmaleki i in. (2016) zauważyli, że emulsje typu olej-w-wodzie (10% w/w olej słonecznikowy; 0,5% w/w guma tragakanta), dla których stosowano zmienne wartości pH (2,5–5,4) oraz stężenia NaCl (0–1% w/w), wykazywały przy pH = 2,5 i zawartości NaCl 1% (w/w) najniższe wartości modułu G' . Bortnowska i in. (2014a) ocenie poddali natomiast wpływ stężenia zagęstnika (skrobia woskowa z kukurydzy, 0–5% w/w) w emulsjach zawierających 20% w/w oleju rzepakowego, stabilizowanych żółtkiem jaja lub kazeinianem sodu (2% w/w). Uzyskane przez autorów wyniki badań pozwoliły zauważyć, że wielkości parametrów obliczonych z zależności: $G' = K' \cdot \omega^{n'}$, $G'' = K'' \cdot \omega^{n''}$, gdzie: ω – częstotliwość kątowna; n' , n'' – stałe, mieściły się w zakresach emulsji stabilizowanych: (i) żółtkiem jaja (K' : 0,02–51,4 Pa s^{n'}; n' : 0,99–0,18) i K'' (0,1–15,5 Pa·s^{n''}; n'' : 0,93–0,32) oraz (ii) kazeinianem sodu, K' (0,01–124 Pa·s^{n'}; n' : 0,98–0,17) i K'' (0,03–34,1 Pa·s^{n''}; n'' : 0,99–0,25). Podobną analizę uzyskanych wyników stosowali (Karaman i in. 2011), wykazując, że w emulsjach mięsnych z dodatkiem 57,50% (w/w) oleju kukurydzianego, poddanych ogrzewaniu (5–15°C), zmiany: K' i K'' oraz n' , n'' wynosiły odpowiednio: 270,6–244,5 i 27,5–24,7 Pa·s^{n''} oraz 0,076–0,096 i 0,162–0,121, natomiast przy stężeniu oleju 61,25% (w/w), przyjmowały wartości: K' : 343–314,9 Pa·s^{n'}; K'' : 54,8–44,6 Pa·s^{n''}; n' : 0,102–0,078; n'' : 0,227–0,230.

Kolejnym parametrem, często stosowanym w ocenie właściwości reologicznych układów emulsyjnych, jest tangens kąta przesunięcia fazowego (ang. *loss tangent angle*): $\text{tg } \delta = G''/G'$. Bortnowska i in. (2016) wykazali, że wielkość $\text{tg } \delta$ wyraźnie zależała od rodzaju i stężenia skrobi (woskowa z ryżu lub tapioki) użytych do modelowania właściwości teksturalnych białych sosów i przy wzroście stężenia tych zagęstników (2–3,5% w/w) zmiany $\text{tg } \delta$ (1 Hz) mieściły się w zakresach: 0,54–0,33 oraz 0,31–0,11, odpowiednio dla skrobi woskowej z ryżu i tapioki. Podobnie jak dla testów wykonywanych techniką ścinania rotacyjnego, zastosowanie reometrii oscylacyjnej pozwala ocenić także wpływ temperatury na układ emulsyjny, a wyznaczone np. wielkości modułów G' (Pa) i G'' (Pa) mogą służyć do określania energii aktywacji z równań, jak następuje:

$$G' = G'_1 \cdot \exp(Ea/R \cdot T)$$

$$G'' = G''_2 \cdot \exp(Ea/R \cdot T)$$

gdzie: G''_1 i G''_2 – stałe równania Arrheniusa.

Właściwości mikrostrukturalne emulsji oblicza się z równania Bohlina:

$$G^* = A \cdot \omega^{1/z}$$

gdzie: A – współczynnik proporcjonalności;

ω – częstotliwość kątowna;

z – liczba koordynacyjna (ang. *coordination number*).

Parametry z (–) oraz A ($\text{Pa} \cdot \text{s}^{1/z}$) interpretuje się odpowiednio jako liczbę reologicznych jednostek tworzących trójwymiarową strukturę oraz wielkość oddziaływań pomiędzy nimi. Równanie Bohlina stosowano do oceny właściwości mikrostrukturalnych, m.in. takich produktów jak: majonezy o różnej zawartości tłuszczu oraz emulsje o strukturze żelowej. Bortnowska i in. (2016) wykazali, że zarówno wartości A , jak i z charakteryzowały się tendencją wzrostową wraz ze zwiększającą się ilością zagęstnika (skrobi) w białych sosach (3% w/w olej rzepakowy; 10% w/w mleko w proszku; 2% w/w skrobia oporna) i jednocześnie były wyższe w układach zagęszczanych skrobią tapiokową zawierającą 19,6% (w/w) amylozy niż ryżową (4,8% w/w amylozy). Anvari i Chung (2016) ocenie podali żele przygotowane z mieszaninami żelatyny rybnej (ang. *fish gelatin*) oraz GA. Uzyskane wyniki badań wykazały, że przy szybkości chłodzenia żeli ($0,012$ – $0,025^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) parametry A i z kształtowały się odpowiednio w zakresach: $111,7$ – $79,5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^{1/z}$ oraz $6,3$ – $4,9$. Obserwowane różnice mierzonych parametrów autorzy odnosili do zróżnicowanych wielkości: (i) strukturalnych przekształceń; (ii) tworzenia się wiązań wodorowych oraz (iii) występowania obszarów splątanych łańcuchów polimerów (ang. *junction zones*). Wpływ temperatury oraz zawartości oleju kukurydzianego na kształtowanie się mikrostruktury emulsji mięsnych badali Karaman i in. (2011), wykazując, że wartości A wzrastały wraz z dodatkiem tłuszczu do układu, a przy wzroście temperatury obserwowano tendencję malejącą tego parametru. Ali Razavi i in. (2016) zauważyli, że wodne roztwory mieszanin gumy pozyskiwanej z nasion szałwii (ang. *sage seed gum*, SSG) oraz GG charakteryzowały się największymi wartościami A przy proporcji SSG : GG, 3 : 1 i najmniejszymi dla 1 : 3. W ocenie właściwości reologicznych emulsji korzysta się też z równania Cox-Merz, w celu porównania wyników lepkości zespolonej (η^* , $\text{Pa} \cdot \text{s}$) i pozornej (η_p , $\text{Pa} \cdot \text{s}$) mierzonych z zastosowaniem reometrii oscylacyjnej i rotacyjnej:

$$\eta^*(\omega) = C \{ [\eta_p(\dot{\gamma})]^\beta \}_{\omega = \dot{\gamma}}$$

gdzie: C i β – współczynniki równania;

ω – częstotliwość;

$\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania rotacyjnego;

η^* – lepkość zespolona (ang. *complex viscosity*);

η_p – lepkość pozorna.

Bortnowska i in. (2014b) zwrócili uwagę, że w dressingach stabilizowanych żółtkiem jaja lub kazeinianem sodu i zagęszczanych wstępnie skleikowaną skrobią ziemniaczaną (0–5% w/w) wielkości parametru C przekraczały 1 z tendencją wzrostu przy zwiększającym się stężeniu

skrobi w układzie, co zdaniem autorów mogło być związane z większą podatnością badanych układów na destrukcyjne siły ścinania rotacyjnego niż oscylacyjnego. Podobne spostrzeżenia wynikają z badań Juszcak i in. (2004) w odniesieniu do musztard dostępnych w handlu detalicznym, dla których C i β mieściły się w zakresach: 15,85–28,2 i 1,12–1,295. Zauważone różnice w wielkości mierzonych parametrów, zdaniem autorów, związane były przypuszczalnie ze składem chemicznym produktów, a w szczególności ilością białka i tłuszczu. Z doniesienia Bortnowskiej i in. (2016) wynika, że wzajemne proporcje lepkości pozornej oraz zespolonej w funkcji szybkości ścinania zależne są nie tylko od stężenia zagęstnika w układzie, lecz również od jego składu. Wykazano, że w białych sosach (3% w/w olej rzepakowy; 10% w/w mleko w proszku; 2% w/w skrobia oporna) dodatek (2–3,5% w/w) skrobi natywnej woskowej z ryżu (4,8% w/w amylozy) zwiększał wartości C w zakresie 2,68–6,06, natomiast przy użyciu skrobi z tapioki (19,6% w/w amylozy) parametr C charakteryzował się wzrostem lub spadkiem i wyraźnie zależał od stężenia zagęstnika. Karaman i in. (2011) do porównania lepkości pozornej (η_p) oraz zespolonej (η^*) w emulsjach mięsnych zastosowali równanie: $\eta^*(\omega \alpha_{CM}) = \eta_p(\dot{\gamma})$, wykazując, że wartości α_{CM} mieściły się w zakresie: 0,894–0,992. Przebieg krzywych lepkości w opinii autorów sugeruje rozwój struktury żelowej oraz wzrost lepko-sprężystych właściwości układu. Ali Razavi i in. (2016) do oceny różnic (α) właściwości reologicznych wodnych roztworów mieszanin SSG oraz GG, wyznaczanych metodą ścinania rotacyjnego oraz dynamicznego ścinania oscylacyjnego, posłużyli się równaniem:

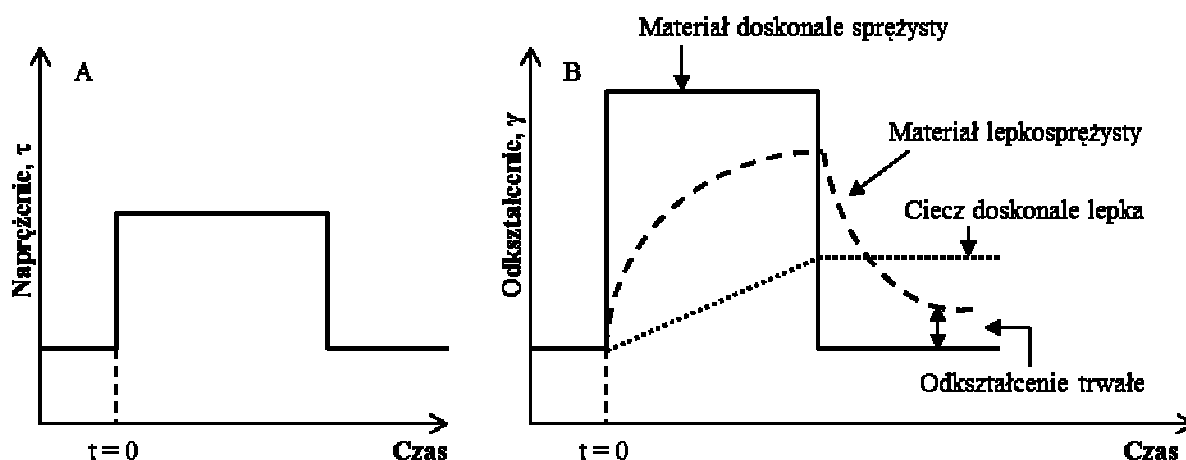
$$\alpha = abs \left(\int_{\omega_0}^{\omega} \eta^* \omega - \int_{\dot{\gamma}_0}^{\dot{\gamma}} \eta_p d\dot{\gamma} \right)$$

wykazując, że wartości wskaźnika α przy wzroście frakcji SSG (0–1) zmieniały się w zakresie ~12–32 Pa.

5.3.4. Testy statyczne

Właściwości lepko-sprężyste (ang. *viscoelastic*) układów emulsyjnych można również wyznaczać, stosując testy statyczne, do których należą m.in. odpowiednie pełzania i powrotu (ang. *creep and recovery test*) oraz relaksacji naprężeń (ang. *stress relaxation test*). Pomiarów metodą statyczną wykonywane są w zakresie liniowej lepko-sprężystości, czyli w obszarze, w którym zależność pomiędzy naprężeniem ścinającym a odkształceniem i jego szybkością jest liniowa. W literaturze przedmiotu uważa się, że testy statyczne można wykonywać z użyciem reometrii rotacyjnej i oscylacyjnej oraz różnego rodzaju urządzeń zaliczanych do grupy teksturometrów. Jednocześnie należy mieć na uwadze, że w przypadku reometrów rotacyjnych mogą być stosowane aparaty mające możliwość pracy w trybie kontrolowanego naprężenia (ang. *stress-controlled rheometer*) lub deformacji (ang. *strain-controlled rheometer*) (Juszcak 2005; Saha i Bhattacharya 2010; Lorenzo i in. 2013; Kiljański 2014; Patel i in. 2015). Zależności pomiędzy przykładanym naprężeniem (τ) oraz krzywymi pełzania i powrotu obrazującymi zmiany odkształcenia (γ) przedstawiono na ryc. 25A i B. W zakresie lepko-sprężystości liniowej ciało doskonale sprężyste osiąga natychmiast stałą wartość odkształcenia, które zanika po usunięciu zadanego naprężenia. W przypadku cieczy doskonale lepkiej

po przyłożeniu naprężenia następuje przepływ, a odkształcenie wzrasta proporcjonalnie do czasu.



Ryc. 25. Zmiany naprężenia (A) oraz krzywe pełzania i powrotu dla materiału doskonale sprężystego i lepkosprężystego oraz cieczy doskonale lepkiej (B), w funkcji czasu

Przepływ jest deformacją nieodwracalną, dlatego po usunięciu naprężenia odkształcenie pozostaje na stałym poziomie. Lepkosprężyste właściwości materiałów odnoszone są do modeli mechanicznych, takich jak model cieczy Maxwella i ciała stałego Kelvina–Voighta. Odkształcenie jest zależne od wielkości przyłożonego naprężenia, dlatego jako miarę reakcji cieczy przyjmuje się zwykle podatność (ang. *compliance*, J , Pa^{-1}), czyli stosunek odkształcenia γ do naprężenia τ (Kiljański 2014). Często obserwowany zakres zmian odnosi się do modelu Burgera, będącego połączeniem opisanych powyżej modeli. Model Burgera stosowali Dolz i in. (2008), badając emulsje (34% w/w oleju roślinnego; 3,4% w/w żółtko jaja) zagęszczane hydrokoloidami (4% w/w). Do opisu wielkości parametru J (podatności) w funkcji czasu (t) autorzy posłużyli się zależnością: $J(t) = 1/G_0 + 1/G_1 [1 - \exp(-t \cdot G_1/\eta_1)] + t/\eta_{01}$, gdzie: G_0 i η_{01} – moduł sprężystości i parametr lepkości, według modelu Maxwella oraz G_1 i η_1 – parametry odnoszone do modelu Kelvina–Voighta. Natomiast $J(t)$ dla fazy powrotu (ang. *recovery phase*) opisano równaniem: $J(t)_R = J_\infty + J_{KV} \exp(-Bt^C)$, gdzie: J_∞ – podatność mierzona w czasie $t \rightarrow \infty$ (ang. *irreversible compliance*); J_{KV} – podatność (Kelvin–Voight); B i C – parametry równania. W powyższych badaniach ustalono, że mierzone wielkości charakteryzujące układy zagęszczane m.in. modyfikowaną skrobią (SM) lub gumą ksantanową (GK) wynosiły: G_0 (247 Pa, SM), (497 Pa, XG); G_1 (1190 Pa, SM), (1540 Pa, GK) oraz η_{01} ($23,4 \times 10^{-4}$ Pa·s, SM), ($30,9 \times 10^{-4}$ Pa·s, GK); η_1 ($1,8 \times 10^{-4}$ Pa·s, SM), (3×10^{-4} Pa·s, GK), a dla fazy powrotu: J_∞ (58×10^5 Pa^{-1} , SM), (27×10^5 Pa^{-1} , GK); J_{KV} (196×10^5 Pa^{-1} , SM), (156×10^5 Pa^{-1} , GK); B (0,265 s^{-C} , SM), (0,193 s^{-C} , GK); $C = 0,36$. Yilmaz i in. (2012), analizując z kolei emulsje mięsne, do opisu matematycznego uzyskanych wyników również użyli modelu Burgera w wersji opisanej przez Dolz i in. (2008). Autorzy wykazali, że wzrost stężenia oleju kukurydzianego (57,5–61,3% w/w) wpływał na mierzone parametry modelu Burgera: G_0 , G_1 , η_{01} oraz η_1 , jak następuje: 97–135,7 Pa; 114,3–241,5 Pa; $35\text{--}67,4 \times 10^{-3}$ Pa·s oraz $0,5\text{--}1,3 \times 10^{-3}$ Pa·s, natomiast wzrost temperatury (5–15°C), kształtował te wielkości odpowiednio: 147,5–220,1 Pa; 275–130 Pa; $48,7\text{--}46,9 \times 10^{-3}$ Pa·s oraz $1,8\text{--}0,9 \times 10^{-3}$ Pa·s. Biorąc

natomiast pod uwagę fazę powrotu, mierzone parametry B i C oraz J_∞ i J_{KV} wykazywały następujące zależności: zwiększenie stężenia oleju powodowało spadek wartości: J_∞ , J_{KV} i B oraz wzrost C , natomiast przyrost temperatury zwiększał J_∞ , J_{KV} przy zróżnicowanych zmianach parametrów B i C . Lorenzo i in. (2013) do oceny lepkosprężystych właściwości emulsji (0–30% w/w olej słonecznikowy; 1% w/w Tween 80) z dodatkiem 0,1–0,5% w/w gumy gellan użyli modelu Burgera z matematycznym opisem: $J(t) = J_0 + J_1(1 - \exp(-t/\lambda_{ret1})) + t/\eta_{0M}$, dla $t \leq t_1$, oraz $J(t) = J_1 \exp(-t/\lambda_{ret1}) (\exp(-t_1/\lambda_{ret1}) - 1) + t_1/\eta_{0M}$, dla $t \geq t_1$, gdzie: J_0 – podatność natychmiastowa (ang. *instantaneous compliance*); η_{0M} – lepkość modelu Maxwella; J_1 i λ_{ret1} – podatność i czas retardacji, odnoszone do modelu Kelvina–Voighta; t_1 – czas, przy którym naprężenie zostało usunięte. W badaniach ustalono następujące wartości parametrów modelu Burgera przy stężeniu gumy gellan 0,1% (w/w) i zmieniającej się ilości oleju (0–30% w/w): J_0 , J_1 , λ_{ret} i η_{0M} mieściły się w zakresach odpowiednio: $178\text{--}115 \times 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$; $80\text{--}32,5 \times 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$; $149\text{--}118 \text{ s}$; $1,32\text{--}2,82 \times 10^4 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, natomiast dla 0,5% (w/w) gumy gellan i w tym samym przedziale zmian zawartości oleju parametry te wynosiły: $9,39\text{--}7,84 \times 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$, $4,16\text{--}3,46 \times 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$, $118\text{--}80,9 \text{ s}$; $20,5\text{--}28,5 \times 10^4 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Reologię rotacyjną w testach statycznych w odniesieniu do układów emulsyjnych o strukturze typu żel-w-oleju-w-żelu, zawierających: 19,6% w/w oleju słonecznikowego; 0,4% w/w polirycynooleinianu poliglicerolu oraz w różnych proporcjach LBG i karagen, stosowali Patel i in. (2015). Autorzy wykazali, że przy LBG : Car (1 : 1) wysokość maksymalnego piku odkształcenia w emulsjach zawierających 1% (w/w) zagęstników była ok. 100 razy większa niż w odpowiednich przygotowanych z dodatkiem 4% (w/w), co oznacza znacząco większą płynność układów zawierających 1% niż 4% LBG i karagenu. Wartości z kolei względnego procentu odzysku (ang. *relative recovery*, R%) wynosiły: 58,8 i 38,3% w układach zawierających 4 i 1% (w/w) zagęstników. Powyższe sugeruje, że wzrost stężenia polimeru przyczynia się do zwiększenia wielkości komponentu sprężystości jako składowej lepkosprężystych właściwości układu (ang. *elastic component of the viscoelastic behavior*). Analizując natomiast układy emulsyjne zawierające LBG : karagen w różnych proporcjach, przy ogólnym stężeniu 2% (w/w), autorzy wykazali maksymalną wartość $R = 82,7\%$ dla LBG : karagen wynoszącej 0,5 : 1,5, przy jednocześnie najmniejszej wielkości piku odkształcenia. Obserwowano ponadto wzrost płynności układów ze zmniejszającą się zawartością karagenu w mieszaninie oraz stopniowy zanik właściwości lepkosprężystych. Moreira i in. (2013) do interpretacji uzyskanych wyników z testu pełzania i powrotu ciasta o różnej zawartości hydrokoloidów użyli modelu Burgera, w którym podatność ($J(t)$) materiału na odkształcenia w odniesieniu do fazy pełzania (ang. *creep phase*, $J(t)_C$, Pa^{-1}) oraz powrotu (ang. *recovery phase*, $J(t)_R$, Pa^{-1}) opisują równania:

$$J(t)_C = J_{0C} + J_{mC} (1 - \exp(-t/\lambda_C)) + t/\eta_{0C}$$

$$J(t)_R = J_{\max} - J_{0R} - J_{mR} (1 - \exp(-t/\lambda_R))$$

gdzie: J_{0C} , J_{0R} , J_{mC} i J_{mR} – natychmiastowa i lepkosprężysta podatność w fazie pełzania (C) i powrotu (R), odpowiednio;

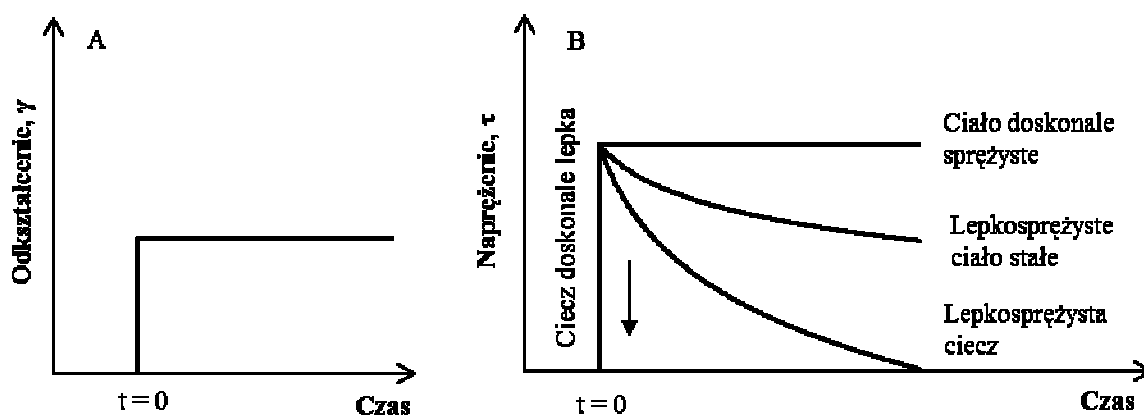
J_{\max} – podatność maksymalna;

λ_C i λ_R – średnie wartości czasów retardacji w czasie pełzania i powrotu (ang. *mean retardation time of creep and recovery phases*);

η_{0C} – lepkość cieczy przy szybkości ścinania dążącej do zera, test pełzania;
 t – czas pomiaru.

Biorąc pod uwagę uzyskane wielkości współczynników równania Burgera, autorzy sugerowali, że dodatek (0,5–2 g/100 g mąki) GG, hydroksypropylocelulozy lub gumy tragakanta znacząco wpływał na sprężystość (ang. *elasticity*) surowego ciasta. Hernández-Estrada i in. (2012) z kolei do oceny wyników uzyskanych w teście pełzania użyli modelu Kelvina–Voighta, wykazując, że masa cząsteczkowa glutenin wpływała na wielkość modułu sprężystości i lepkości ziaren pszenicy.

Kolejnym testem statycznym jest pomiar metodą relaksacji naprężeń. W teście tym próbkę poddaje się nagłemu odkształceniu z jednoczesnym pomiarem zmian naprężenia w funkcji czasu. Wielkość odkształcenia jest tak dobierana, żeby uzyskać wysoką dokładność pomiaru przy minimalnym zniszczeniu struktury próbki (Juszczak 2005; Kiljański 2014). Schemat przebiegu typowych zmian naprężeń w odniesieniu do przykładanego odkształcenia w czasie dla: (i) ciała doskonale sprężystego; (ii) lepkosprężystego ciała stałego; (iii) lepkosprężystej cieczy oraz (iv) cieczy doskonale lepkiej przedstawiono na ryc. 26A i B. Ciało doskonale sprężyste magazynuje prawie całą dostarczoną energię, a przyłożone początkowo naprężenie pozostaje niezmienione. Carrillo-Navas i in. (2014) stosowali test relaksacji naprężeń (ang. *stress relaxation test*) w odniesieniu do żeli przygotowanych z natywnych skrobi (15% w/w): pszenicy, kukurydzy i bananów. W ocenie uzyskanych wyników autorzy posłużyli się równaniem opisującym zależność modułu zespolonego (G^*) w funkcji spektrum relaksacji (ang. *relaxation spectrum*).



Ryc. 26. Zmiany odkształcenia (A) oraz krzywe relaksacji naprężeń (B), w funkcji czasu

W badaniach wykazano, że wszystkie spektra były monomodalne i mieściły się w zakresie 0,005–0,015 s, a wprowadzone do układu odkształcenia ulegały relaksacji w czasie 0,005–0,01 s. Najmniejszy dominujący czas relaksacji zauważono w próbkach żelu przygotowanego ze skrobi ziemniaczanej, co według autorów należy tłumaczyć stosunkowo małymi wymiarami granul.

Wyniki pomiarów żeli z dodatkiem skrobi z kukurydzy lub banana wykazały, że układy te miały strukturę heterogeniczną. Anvari i Chung (2016) stosując test relaksacji naprężeń, wy-

kazali, że żele (2% w/w) z użyciem mieszaniny żelatyny rybiej oraz GA (50/50) charakteryzowały się właściwościami lepkosprężystymi, niezależnie od zastosowanej ich szybkości chłodzenia. Ali Razavi i in. (2016) natomiast testu relaksacji naprężeń użyli w odniesieniu do zawiesin mieszanin SSG oraz GG. Wyniki badań uzyskane z pomiarów reologicznych analizowano w oparciu o uogólniony model Maxwella (ang. *generalized Maxwell model*):

$$G' = \Sigma [G_{i1}/1 + (\omega^2 \times \lambda_{irel1}^2)]$$

$$G'' = \Sigma [G_{i2}/1 + (\omega^2 \times \lambda_{irel2}^2)]$$

gdzie: G' – moduł zachowawczy/sprężystości;

G'' – moduł stratności/lepkości;

G_{i1} i G_{i2} – moduły relaksacji;

λ_{irel1} i λ_{irel2} – czasy relaksacji;

ω – częstotliwość kątowna.

Badania wykazały, że wraz ze wzrostem ilości GG wielkości G_i i λ_i , malały, przy czym największe i najmniejsze wartości obserwowano w układach zawierających SSG i GG. Autorzy sugerowali, że większe wartości mierzonych parametrów w układach zawierających SSG niż GG można tłumaczyć znaczną liczbą międzymolekularnych połączeń, podczas gdy w roztworach z GG występują jedynie splątane łańcuchy.

W literaturze przedmiotu zwraca się uwagę, że do wykonywania testów relaksacji naprężeń mają zastosowanie również teksturometry. Houzé i in. (2005), stosując teksturometr Instron 1122, dokonywali pomiaru lepkosprężystych właściwości emulsji mlecznych poddanych żelowaniu, które zawierały 2% (v/v): oleju słonecznikowego, oliwy z oliwek, oleju z orzeszków ziemnych lub odwodnionego tłuszczu mlecznego. Do opisu krzywej testu relaksacji naprężeń σ (Pa) w funkcji czasu (t) posłużono się równaniem:

$$\sigma(t) = \sigma_{eq} + \sigma_{max} \cdot e^{(-t/\tau_{rel})}$$

gdzie: σ_{eq} – naprężenie w układzie mierzone na koniec trwania testu relaksacji;

σ_{max} – maksymalne naprężenie mierzone w czasie końca kompresji układu;

τ_{rel} – czas relaksacji.

Badania wykazały, że rodzaj tłuszczu użytego do przygotowania żeli mlecznych w temperaturze 5 i 10°C nie wpływał statystycznie istotnie na wyznaczane czasy relaksacji (τ_{rel}), natomiast wyniki pomiarów wykonane w 20°C dowiodły, że układy z dodatkiem tłuszczu mlecznego charakteryzowały się większymi wartościami τ_{rel} niż odpowiednie zawierające: olej słonecznikowy, oliwę z oliwek oraz olej z orzeszków ziemnych. Wielkości parametru τ_{rel} wskazują również na zróżnicowanie czasu rozproszenia energii zgromadzonej w wyniku zastosowanej kompresji układu. Hernández i in. (2012) użyli z kolei analizatora tekstury TA-XT2 do oceny właściwości reologicznych ziaren z pszenicy zawierających gluteniny o różnej masie cząsteczkowej. Uzyskane wyniki poddano analizie z użyciem uogólnionego 4-elementowego modelu Maxwella:

$$\sigma(t) = \sigma_0 + \sigma_1 \cdot e^{(-t/\tau_1)} + \sigma_2 \cdot e^{(-t/\tau_2)} + \sigma_3 \cdot e^{(-t/\tau_3)} + \sigma_4 \cdot e^{(-t/\tau_4)}$$

gdzie: $\tau_i = \eta_i \cdot \mathcal{E} / \sigma_i$;

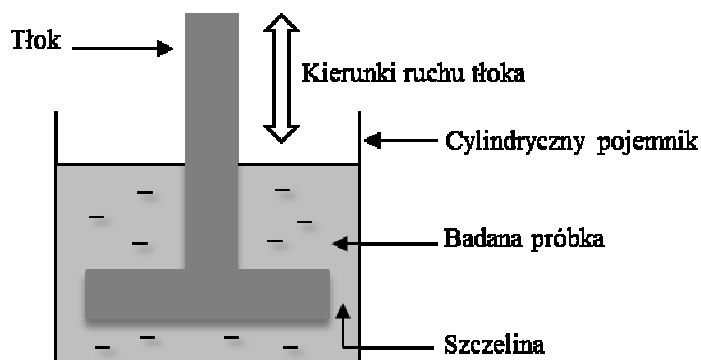
$\sigma(t)$ – parametr zaniku naprężenia po czasie t relaksacji;
 σ_i – naprężenie zanikowe i -tego elementu modelu Maxwella;
 τ_i – czas relaksacji i -tego elementu modelu Maxwella lub czas zaniku naprężenia do 36,8% w odniesieniu do początkowej wartości;
 η_i – lepkość poszczególnych składowych;
 ε – odkształcenie;
 σ_0 – naprężenie równowagowe lub mierzone w czasie nieskończenie długim, parametr odnoszony do pojedynczego elementu modelu Maxwella.

Autorzy wykazali, że wielkości czasów relaksacji wyznaczanych jako poszczególne składowe równania Maxwella są bardzo pomocne w ocenie przydatności technologicznej surowca. Webber i in. (2012) test relaksacji naprężeń wykonywali z użyciem analizatora tekstury TA-XT2, na układach zawierających roztwory karagenu natywnego pozyskiwanego z czerwonej makroalgi (*Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva) oraz zakupionego w handlu). Do oceny uzyskanych wyników zastosowano równania: $R_{\text{relax}} = (F(t)/F_0) \times 100$; $F(t)/F_0 = 1 - (c_1 \cdot t / (c_2 + t))$, gdzie: $F(t)$ i F_0 – siła nacisku w czasie t i początkowa; c_1 i c_2 – wielkości obliczane z równania regresji nieliniowej. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że żele przygotowane zarówno z karagenem natywnym, jak i handlowym wykazywały cechy materiału lepkosprężystego, jakkolwiek wartości F_0 były większe dla karagenu handlowego niż natywnego, co zdaniem autorów można tłumaczyć większą masą cząsteczkową oraz wyższym poziomem agregacji karagenu handlowego w porównaniu do natywnego. Myhan i in. (2015) test relaksacji naprężeń wykonywali analizatorem tekstury TA.HD Plus. Zakresem badań objęto dostępne w handlu emulsje przygotowane z mięsem wieprzowym oraz drobiowym. Autorzy wykazali m.in. dodatnią korelację pomiędzy zawartością białka a: naprężeniem plastycznym, modułem sprężystości oraz wskaźnikiem konsystencji. Zauważono ponadto, że czas relaksacji był odwrotnie skorelowany z zawartością kolagenu, natomiast ilość tłuszczu nie wpływała na mierzone parametry reologiczne.

5.3.5. Pomiar tekstury

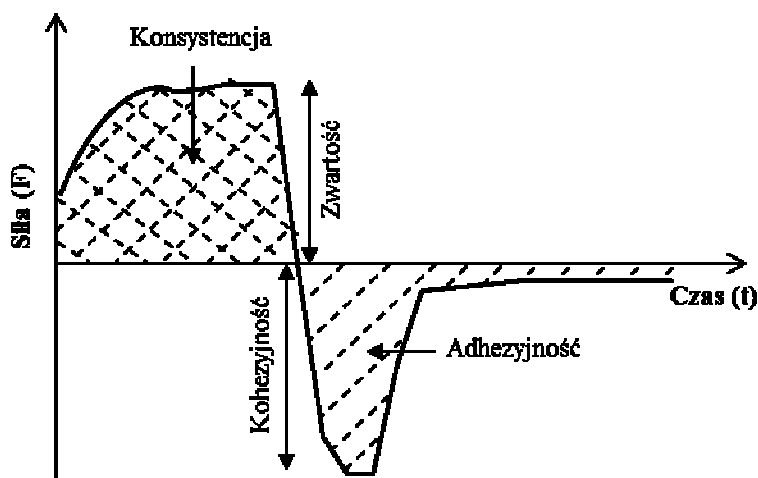
Analizatory tekstury to urządzenia, które w sposób precyzyjny pozwalają badać fizyczne cechy produktów związane z ich reakcją na nacisk. Często stosowaną metodą w odniesieniu do emulsji spożywczych jest tzw. ekstruzja wsteczna (ang. *backward extrusion*) (Bortnowska i in. 2014b). Zasada działania urządzeń ekstruzji wstecznej polega na wciskaniu tłoka w badaną próbkę, ruchem pionowym w dół, powodując przeciskanie części jej objętości przez szczelinę znajdującą się między tłokiem a pojemnikiem, następnie przy ruchu pionowym w górę próbka będąca nad tłokiem spływa z powrotem przez szczelinę do pojemnika (ryc. 27).

Wielkość szczeliny dobiera się eksperymentalnie, przy czym powinna być ona tym większa, im bardziej gęsty jest układ. Należy jednak mieć na uwadze, że jej szerokość wpływa na wartości mierzonych parametrów, co ma szczególnie duże znaczenie przy porównywaniu wyników badań różnych autorów.



Ryc. 27. Układ pomiarowy stosowany w metodzie ekstruzji wstecznej

Typowy przebieg zmian wartości siły (F) w funkcji czasu przedstawiono na ryc. 28. Uzyskane wartości z pomiaru $F(t)$ przeliczane są następująco: (i) maksymalną wielkość siły (F) mierzoną przy nacisku tłoka na próbkę odnosi się do zwartości (ang. *firmness*), a pole powierzchni pod krzywą (powyżej osi OX – czasu) definiuje się jako konsystencję (ang. *consistency*); (ii) maksymalną siłę (F) identyfikowaną przy wycofywaniu tłoka z próbki określa się jako kohezyjność (ang. *cohesiveness*), a pole powierzchni ograniczone przebiegiem krzywej poniżej osi czasu przyjmuje się jako adhezyjność (ang. *adhesiveness*). Zwartość i kohezyjność (spójność) związane są z deformacją emulsji, czyli przewyciężeniem oddziaływania sił międzycząsteczkowych.



Ryc. 28. Schemat zmian wartości siły (F) w funkcji czasu (t) przy pomiarze parametrów tekstury emulsji typu majonezowego, metodą ekstruzji wstecznej

Konsystencja jest miarą pracy, jaką należy wykonać w celu przewyciężenia oporu próbki przy nacisku tłoka, natomiast adhezyjność odnosi się do pracy niezbędnej do pokonania sił interakcji występujących pomiędzy powierzchnią próbki i tłoka, przy jego ruchu do góry. Ekstruzja wsteczna charakteryzuje się dużą powtarzalnością, a czas potrzebny do wykonania pomiaru jest stosunkowo krótki, dlatego może być stosowana w zakładach produkcyjnych w dziale kontroli jakości. Metodę tę w ocenie niskotłuszczowych majonezów z dodatkiem mimetyków o zróżnicowanej zawartości białka stosowali Liu i in. (2007). Autorzy zauważyli,

że parametry tekstury były wyższe w badanych próbkach majonezów wysokotłuszczowych (82,5% w/w tłuszczu i 1,3% w/w białka) niż niskotłuszczowych (43,9% w/w tłuszczu i 5,4% w/w białka) i przyjmowały wartości dla zwartości, konsystencji, kohezji oraz adhezyjności odpowiednio: 3,4–2,5 N, 35,8–28,2 N·s, 1,9–1,4 N, 16,4–9,8 N·s. Bortnowska i Tokarczyk (2009) zauważyli ponadto, że w emulsjach niskotłuszczowych (20% w/w oleju rzepakowego) zagęszczanych dodatkiem gumy ksantanowej (0–0,6% w/w), parametry tekstury zmieniały się w zależności od rodzaju użytego emulgatora: suszonego żółtka jaja, natywnego żółtka jaja, soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450), dodanych do układu w stężeniu 2% (w/w). Biorąc pod uwagę maksymalne stężenie zagęstnika w odniesieniu do rodzaju emulgatora: suszonego żółtka jaja, natywnego żółtka jaja oraz E 1450, odpowiednie wartości parametrów tekstury wynosiły: zwartość – 0,79, 0,62, 0,67 N; konsystencja – 21,1, 16,9, 17,8 N·s; kohezja – 0,42, 0,30, 0,33 N oraz adhezyjność – 11,1, 7,4, 8,1 N·s. Wyniki te wskazują, że zastosowanie hydrofobowo modyfikowanej skrobi pozwala na kształtowanie tekstury niskotłuszczowych emulsji na poziomie zbliżonym do żółtka jaja. W innych badaniach Bortnowska i in. (2014a) wykazali, że przy użyciu jako zagęstnika modyfikowanej fizycznie skrobi z kukurydzy woskowej (5% w/w) wartości parametrów tekstury: zwartości, konsystencji, kohezji i adhezyjności w emulsjach (20% w/w oleju rzepakowego) stabilizowanych żółtkiem jaja (2% w/w) wynosiły: 1,1 N, 22,9 N·s, 0,71 N i 36,6 N·s, natomiast przy dodatku jako emulgatora kazeinianu sodu (w tym samym stężeniu) odpowiednie wartości mierzonych parametrów przyjmowały wartości: 1,9 N, 38,0 N·s, 1,4 N i 50,6 N·s. Wyniki z powyższego, że kazeinian sodu jest składnikiem oddziałującym teksturotwórczo w większym wymiarze niż żółtko jaja. Autorzy zwrócili ponadto uwagę na występowanie statystycznie istotnych ($p < 0,05$) korelacji pomiędzy wybranymi parametrami mierzonymi z użyciem teksturometru i reometru lub wyznaczanymi sensorycznie (Bortnowska i in. 2014b). W odniesieniu do układów emulsyjnych o dużej zawartości fazy tłuszczowej lub substancji zagęszczająco-stabilizujących wykonywane są zwykle również testy analizy profilu tekstury (ang. *texture profile analysis test*, TPA test). Pomiar TPA jest wykonywany poprzez dwukrotną (2 cykle) kompresję próbki z rejestracją: siły, dystansu i wymiarów próbki. Test TPA stosowali m.in.: (i) Batista i in. (2006) w celu wyznaczenia zwartości (ang. *firmness*) układów emulsyjnych (65% w/w olej roślinny, 3% w/w białka grochu) z dodatkiem luteiny, przy czym wykazano, że wzrost ilości (0–1,25% w/w) tego składnika powodował wyraźne zmniejszenie się zwartości w zakresie 0,652–0,366 N; (ii) Yilmaz i in. (2012) do wyznaczenia profilu tekstury emulsji (o/w) mięsnych, oceniając takie parametry jak: twardość (ang. *hardness*), żujność (ang. *chewiness*), gumowatość (ang. *gumminess*), adhezyjność (ang. *adhesiveness*), sprężystość (ang. *springiness*), elastyczność (ang. *resilience*) i kohezja (ang. *cohesiveness*); (iii) Pothiraj i in. (2012), dokonując pomiaru: twardości, adhezyjności, kohezji, elastyczności, gumowatości oraz żujności, emulsji spożywczych typu woda-w-oleju w odniesieniu do czasu ich przechowywania oraz (iv) Zhu i in. (2016) do wyznaczenia parametrów teksturalnych (twardość, sprężystość, żujność) tofu przygotowanego z dodatkiem $MgCl_2$ jako koagulantu.

6. Barwa emulsji

Barwa jest cechą fizyczną emulsji, która w znaczący sposób decyduje o wyborze produktu przez konsumenta. W zakresie przepuszczalności światła emulsje można podzielić na: przezroczyste (ang. *transparent*), półprzezroczyste (ang. *translucent*) oraz nieprzezroczyste (ang. *opaque*). Barwa emulsji spożywczych typu olej-w-wodzie kształtowana jest wieloma czynnikami, w tym szczególnie zależy od: (i) charakterystyki widma absorpcyjnego (ang. *absorption spectra*) barwników; (ii) stężenia i rozmiaru cząstek fazy rozproszonej, stosunku wielkości współczynnika refrakcji – załamania światła (ang. *refractive indice*) frakcji rozproszonej do ciągłej; (iii) stopnia krystalizacji fazy tłuszczowej, ponieważ z jej wzrostem zwiększa się rozpraszanie światła. W układach zawierających tylko fazę olejową i wodną rozmiar cząstek fazy rozproszonej może mieć dominujący wpływ na barwę emulsji. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że jeżeli krople oleju mają średnice mniejsze ($d < 50$ nm) niż długość fali światła (ang. *wavelength*), wtedy rozpraszanie fal światła jest stosunkowo słabe, a emulsje są przezroczyste lub lekko mętne. W przypadku gdy cząstki fazy rozproszonej mają wymiary porównywalne z długością fali światła ($d = 100$ nm– 10 μ m), rozpraszanie fal światła następuje w znacznym wymiarze, a emulsje są mętne lub nawet nieprzezroczyste. Dalszy wzrost wymiarów ($d > 50$ μ m) cząstek fazy rozproszonej nieznacznie zmniejsza mętność i nieprzezroczystość emulsji (McClements i Weiss 2005; Rao i McClements 2012; Bai i McClements 2016). Do pomiaru barwy wykorzystuje się różnego rodzaju spektrofotometri (kolorymetry) umożliwiające pomiar w świetle odbitym lub przechodzącym (Bortnowska i in. 2013; McClements 2016). Pomiar barwy metodą trójkromatyczną regulowany jest ustaleniami międzynarodowej komisji do spraw iluminacji (ang. *Commission Internationale de l'Eclairage*, CIE). Jedną z metod jest system CIE XYZ, oparty na współrzędnych kartezjańskich. Parametry X, Y, Z nazywane są składowymi trójkromatyczności i odnoszone kolejno do barw: czerwonej, zielonej i niebieskiej. W ocenie instrumentalnej barwy emulsji spożywczych dokonuje się pomiarów z użyciem trójprzestrzennego układu barw: L, a, b (Hunter Lab) lub L*, a*, b* (CIELAB). Parametry L (L*) oznaczają jasność, której wielkość zmienia się od 100 (dla idealnej bieli) do 0 (dla czerni), natomiast a (a*) i b (b*) są współrzędnymi chromatyczności i odpowiadają barwie: +a (+a*), czerwonej; –a (–a*), zielonej; +b (+b*), żółtej i –b (–b*), niebieskiej (McClements i Weiss 2005). Barwę emulsji najczęściej charakteryzuje się przy użyciu układu barw CIELAB w odniesieniu do: jasności (L*), nasycenia barwy (ang. *chroma*, C*) oraz kąta tonu barwy (ang. *hue angle*, H*) (Bortnowska i in. 2014a):

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$H^* = \text{tg}^{-1} (b^*/a^*)$$

Wielkość parametru kąta tonu barwy interpretuje się, jak następuje: $H^* = 0^\circ$, czerwony; $H^* = 90^\circ$, żółty; $H^* = 180^\circ$, zielony i $H^* = 270^\circ$, niebieski. Korzysta się ponadto również z innych zależności, takich jak: rozpiętość barwy (ang. *color distance*, ΔE^*_{ab}), wskaźnik bia-

łości (ang. *whiteness index*, WI^*) oraz całkowita różnica barw (ang. *total color difference*, ΔE^*):

$$\Delta E^*_{ab} = [L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$WI^* = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

gdzie: ΔL^* , Δa^* , Δb^* – różnice barwy pomiędzy próbką badaną i kontrolną.

W literaturze przedmiotu uzyskane wyniki różnicy barw interpretuje się następująco: $\Delta E^* < 1$ – różnice niedostrzegane; $1 \leq \Delta E^* < 2$ – minimalne; $2 \leq \Delta E^* < 3$ – słabo postrzegane; $3 \leq \Delta E^* < 5$ – postrzegane; $5 \leq \Delta E^* < 12$ – duża różnica i ≥ 12 – różna barwa.

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że wzrost stężenia fazy olejowej w emulsji o/w ma znaczący wpływ na kształtowanie się parametrów barwy emulsji o/w. Chung i in. (2012) zauważyli, że przy zawartości fazy rozproszonej w zakresie 0,5–30% (w/w) jasność (L^*) zwiększała się z 67,9 do 94,8. Yilmaz i in. (2012), z kolei dowiedli, że zmiany zawartości tłuszczu w emulsjach mięsnych (57,5–61,3% w/w) powodowały zwiększenie wartości parametru L w zakresie 69,1–72,0. Zjawisko to tłumaczy się wzrostem wstecznego rozpraszania światła, co przyczynia się do zmniejszenia wielkości parametru C , czyli nasycenia barwy (McClements 2016). Barwa emulsji zależy również od rozmiaru cząstek fazy rozproszonej. Guerra-Rosas i in. (2016) zauważyli, że wielkości WI emulsji przygotowanych z użyciem olejków eterycznych pozyskanych z: oregano (łac. *Origanum compactum* Benth.), tymianku pospolitego (łac. *Thymus vulgaris* L.), palczatki cytrynowej (łac. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf), mandarynki (łac. *Citrus reticulata* Blanco) oraz Tweenu 80 i wysoko metoksylowanej pektyny przyjmowały mniejsze wartości po poddaniu układów procesowi mikrofluodyzacji, czyli zmniejszenia wymiarów cząstki. W literaturze przedmiotu znaleźć można liczne opracowania naukowe dotyczące zarówno wpływu dodatku różnych składników, w tym zagęszczająco-emulgujących, na zmiany barwy emulsji spożywczych w zależności od zastosowanych procesów technologicznych oraz czynników środowiskowych, jak i czasu przechowywania tych układów. Bortnowska i in. (2014a) zwrócili uwagę, że zakres zmiany barwy emulsji zależał od rodzaju emulgatora. Wykazano, że w układach zawierających żółtko jaja lub kazeinian sodu dodatek skrobi z kukurydzy woskowej (1–5% w/w) wpływał na wskaźnik całkowitej różnicy barw (ΔE) w zakresach: 0,94–19,32 oraz 1,73–10,97. Jednocześnie zmiany kąta tonu barwy (H°) wynosiły: 86,64–84,97 oraz 98,47–76,95. Gomes i in. (2016) dowiedli, że wielkość wskaźnika ΔE^* emulsji z dodatkiem kwasu galusowego, przechowywanych przez 7 dni, zależała od rodzaju układu emulsyjnego i wynosiła 20,30 w emulsjach o/w oraz 22,25 w w/o. Campos i in. (2016) z kolei zauważyli, że dodatek wydzieliny z szałwii hiszpańskiej (*Salvia hispanica* L.) stosowanej do produkcji lodów jako substancja zagęszczająco-emulgująca w ilości 1 lub 2% (w/w) przyczyniał się do zmiany wartości parametru ΔE^* , odpowiednio: 9,74 lub 11,75.

7. Stabilność fizyczna emulsji

7.1. Czynniki warunkujące trwałość

Trwałość emulsji należy rozpatrywać w wymiarze wieloaspektowym, w tym m.in. stabilności fizycznej (Genot i in. 2003; Gomes i in. 2016; McClements 2016). Emulsje są w większości układami termodynamicznie niestabilnymi z powodu znacznej dodatniej energii swobodnej, dostarczanej podczas ich wytwarzania (ang. *positive free energy of emulsion formation*, ΔG_f , J·mol⁻¹):

$$\Delta G_f = \gamma_M \cdot \Delta A - T \cdot \Delta S_f$$

gdzie: γ_M – napięcie międzyfazowe;

T – temperatura bezwzględna;

ΔA – zmiana powierzchni międzyfazowej;

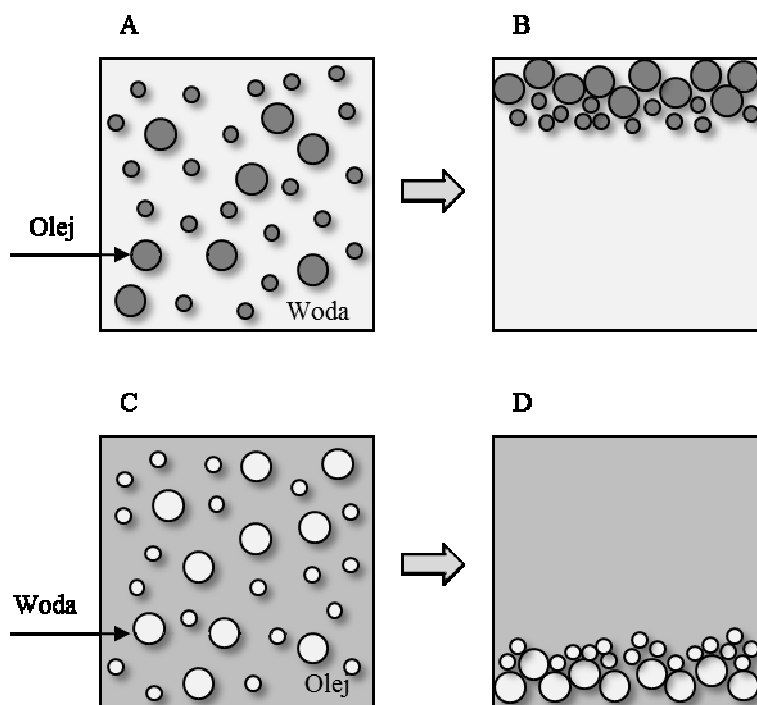
ΔS_f – zmiana entropii układu.

Mając na uwadze, że $\gamma_M \cdot \Delta A = \Delta H_f$, powyższe równanie można zapisać również jako: $\Delta G_f = \Delta H_f - T \cdot \Delta S_f$, gdzie: ΔH_f (J·mol⁻¹), entalpia formowania emulsji. Układy o wysokiej energii swobodnej dążą do jej minimalizacji, co w konsekwencji prowadzi do destabilizacji emulsji (Santana i in. 2013; Tadros 2013; Foudazi 2015). Warunkiem stabilności termodynamicznej układu emulsyjnego jest ujemna wielkość energii swobodnej, co przy dużym wzroście powierzchni międzyfazowej można uzyskać, m.in. znacznie zmniejszając napięcie międzyfazowe (γ_M). Kryteria stabilności termodynamicznej spełniają mikroemulsje, dla których wielkości ΔH są bardzo małe i mogą być pominięte. Jednocześnie należy podkreślić, że termodynamiczna stabilność mikroemulsji dotyczy ściśle określonych warunków, takich jak: skład, temperatura, pH, siła jonowa i inne (Rao i McClements 2012). W literaturze przedmiotu uważa się również, że stosując: (i) emulgatory o dużej aktywności emulgowania; (ii) stabilizatory tworzące przestrzenną strukturę układu oraz (iii) odpowiednio dobrane warunki środowiskowe, można wytwarzać układy stabilne kinetycznie w określonym czasie, dla których energia aktywacji jest znacząco większa niż energia termiczna. Niestabilność fizyczna zarówno w wymiarze termodynamicznym, jak i kinetycznym powoduje zmiany struktury układu emulsyjnego (Dickinson 2003; Genot i in. 2003; McClements 2016).

Do zasadniczych procesów destabilizacyjnych emulsji zalicza się: śmietankowanie (podstawianie) lub sedymentację – nazywane też grawitacyjnym rozdziałem faz, flokulację, koalescencję, Ostwaldowskie dojrzewanie emulsji (ODE) oraz odwrócenie faz (Dickinson 2009; Foudazi i in. 2015; Perazzo i in. 2015; Bai i McClements 2016; Degrand i in. 2016). Proces destabilizacji fizycznej wiąże się najczęściej ze wzrostem wymiaru cząstek fazy wewnętrznej oraz postępującą w następstwie tego separacją faz. Jednocześnie należy podkreślić, że wiele zjawisk mających znamiona destabilizacji układu zachodzi równolegle według odrębnych specyficznych mechanizmów.

7.1.1. Śmietankowanie – sedymentacja

Proces rozdziału faz emulsji pod wpływem oddziaływania ziemskiego pola grawitacyjnego związany jest z różnicą gęstości ($\Delta\rho$) pomiędzy fazą wewnętrzną i zewnętrzną, przy czym jeżeli gęstość fazy wewnętrznej jest mniejsza niż zewnętrznej, to występuje zjawisko śmietankowania, czyli przemieszczania się cząstek fazy rozproszonej do góry, natomiast w przypadku sedymentacji obserwuje się zjawisko przeciwne (ryc. 29A–D). Zjawisko śmietankowania zachodzi bardzo wolno (mikroemulsje), gdy energia ($k_B T$) dyfuzji spowodowanej ruchami Browna (ang. *Brownian diffusion*) przewyższa znacznie siłę ciężenia cząstek fazy rozproszonej: $k_B T \gg 4/3 \pi r^3 \Delta\rho g h$, gdzie: k_B – stała Boltzmana; T – temperatura bezwzględna; r – promień kropli; h – wysokość emulsji w naczyniu; $\Delta\rho$ – różnica gęstości fazy ciągłej i rozproszonej; g – przyspieszenie ziemskie.



Ryc. 29. Proces śmietankowania (B) i sedymentacji (D) w emulsjach typu olej-w-wodzie, o/w (A) i woda-w-oleju, w/o (C)

Natomiast gdy $k_B T < 4/3 \pi r^3 \Delta\rho g h$, co ma miejsce szczególnie w przypadku makroemulsji, obserwuje się często gwałtowny proces śmietankowania, czyli układ emulsyjny wykazuje znacznie ograniczoną stabilność kinetyczną. Zjawisko śmietankowania występuje najczęściej w emulsjach typu olej-w-wodzie (o/w), z kolei sedymentacja w odpowiednich typu woda-w-oleju (w/o) (Tadros 2013; Liu i in. 2015). Szybkość (ang. *velocity of separation*, V_{PS} , $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), z jaką cząstki fazy rozproszonej przemieszczają się do góry (śmietankowanie) lub do dołu (sedymentacja) w emulsjach o/w, opisuje równanie Stokesa:

$$V_{PS} = g \cdot d_h^2 (\rho_2 - \rho_1) / 18 \eta_{cp}$$

przy czym $d_h = k_B \cdot T / 3\pi \cdot \eta_{cp} \cdot D$

gdzie: d_h – hydrodynamiczna średnica kroplek oleju;
 ρ_2 – gęstość fazy ciągłej;
 ρ_1 – gęstość fazy rozproszonej;
 η_{cp} – lepkość pozorna fazy ciągłej;
 g – przyspieszenie ziemskie;
 k_B – stała Boltzmanna;
 T – temperatura bezwzględna;
 D – współczynnik dyfuzji cząstek fazy rozproszonej.

Dodatnia wielkość V_{PS} oznacza proces przemieszczania się cząstek fazy rozproszonej do góry, natomiast ujemna do dołu (Bouyer i in. 2012). W wielu opracowaniach naukowych w ocenie szybkości rozdziału faz emulsji (V_P) bierze się pod uwagę również inne czynniki. Carrillo i in. (2015) uważają, że wielkość parametru V_P układu emulsyjnego (bez dodatku zagęstników) zależy od stężenia fazy tłuszczowej i może być dla emulsji typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/ow) wyrażona zależnością: $V_P = [\Phi_M \cdot g \cdot d_h^2 (\rho_2 - \rho_1) / 18 \eta_p] \cdot (1 - \Phi_E)^{4,65}$, gdzie: Φ_M i Φ_E – odpowiednio ułamek objętościowy maksymalnie upakowanej i efektywnej fazy wewnętrznej; d_h – średnica hydrodynamiczna cząstek fazy rozproszonej, pozostałe oznaczenia jak w powyżej przedstawionym równaniu Stokesa.

Hebshy i in. (2015) wielkość parametru (V_P) obliczali ze wzoru:

$$V_P = [g \cdot d_h^2 (\rho_2 - \rho_1) / 18 \eta_{pc} \rho_2] \{ [(1 - \Phi_V) / [1 + (4,6 \Phi_V) / (1 - \Phi_V)^3]] \}$$

gdzie: Φ_V – objętość frakcji rozproszonej;
 η_{pc} – lepkość pozorna fazy ciągłej.

McClements i Weiss (2005) sugerują natomiast, że V_P emulsji skoncentrowanych można obliczyć, korzystając z zależności: $V_P = V_{PS} (1 - \Phi_V / \Phi_M)^{k \Phi_m}$, gdzie: V_{PS} – szybkość podstawowa liczona według równania Stokesa; Φ_m oraz k – parametry zależne od właściwości sferycznych zdyspergowanej fazy olejowej, takich jak: rozmiar, polidispersyjność oraz koloidalne interakcje. Współczynniki Φ_m oraz k dla monodispersyjnych koloidalnych zawiesin, w których nie zaszedł proces flokulacji, wynoszą odpowiednio: 0,5–0,6 oraz 5,4. Szybkość rozdziału faz emulsji można zatem ograniczyć poprzez: (i) zmniejszenie różnicy gęstości pomiędzy fazą ciągłą i rozproszoną oraz rozmiaru cząstek tej fazy; (ii) dobór odpowiedniego stężenia fazy wewnętrznej; (iii) zwiększenie lepkości fazy ciągłej, szczególnie w emulsjach typu o/w w następstwie dodatku hydrokoloidów oraz (iv) przeciwdziałanie procesowi krystalizacji fazy tłuszczowej. Wydzielenie zemułgowanej fazy olejowej w wyniku procesu śmientankowania nie zmienia w zasadzie rozmiarów kroplek oleju, a ponowne łagodne wstrząsanie zawartością naczynia powoduje odtworzenie układu emulsyjnego (Pongsawatmanit i in. 2006; Bai i McClements 2016; McClements 2016). W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele sposobów oceny stabilności emulsji. Najprostszą formą jest tzw. obserwacja wizualna, polegająca na tym, że próbkę emulsji przechowuje się w ściśle określonych warunkach (temperatura, oświetlenie), dokonując pomiaru wysokości rozdzielonych faz w funkcji czasu. Kolejną metodą oceny stabilności jest oznaczanie rozdzielonych faz emulsji pod wpływem oddziaływania wielokrotności przyspieszenia ziemskiego, tzw. metoda przyspieszonego starzenia emulsji (ang. *accelerated ageing*). W odniesieniu do emulsji o/w wskaźnik stabilności wy-

znaczany jest z proporcji objętości (wysokości w naczyniu pomiarowym) wydzielonej skondensowanej fazy emulsyjnej do objętości (wysokości w naczyniu pomiarowym) emulsji przed rozdziałem. Do obliczeń przyjmuje się także inne proporcje wydzielonych faz emulsji, bardzo często poddając badane układy procesowi ogrzewania (Yust i in. 2010; Cofrades i in. 2013; Cui i in. 2014; Chang i in. 2015). Hu i in. (2016) zwrócili uwagę, że wartości wskaźnika stabilności w emulsjach o/w (30% w/w olej sojowy, 2% w/w kazeinian sodu), odnoszonego do wydzielonej fazy zewnętrznej, wykazywały nieznaczną tendencję wzrostową przy zwiększającym się stężeniu (0–2% w/w) mikrokryształicznej celulozy oraz zdecydowanie dużą przy użyciu celulozy regenerowanej. Villamonte i in. (2016) ocenie poddali emulsje zawierające modyfikowaną pod wysokim ciśnieniem (600 MPa, 6 min) skrobię z kukurydzy. Autorzy wykazali, że przy stężeniu skrobi (3,5–28 mg·ml⁻¹) stabilność układu emulsyjnego wyznaczana ze wzoru: $ES = (V_c/V_t) \times 100$, gdzie: V_c i V_t – objętość fazy emulsyjnej po wirowaniu (4000 g, 15 min) i całkowita mieściła się w zakresie 2,6–39,4%, natomiast ilość wydzielonej fazy olejowej malała i wynosiła 75,1–15,3%. Guerra-Rosas i in. (2016) ocenie wielkości ES poddali z kolei nanoemulsje spożywcze przygotowane z użyciem olejków eterycznych, pozyskanych z: oregano, tymianku, palczatki cytrynowej oraz mandarynki i z dodatkiem Tweenu 80 (5% w/v) oraz wysoko metoksyloowanej pektyny (1% w/v). Z przeprowadzonych badań wynika, że wartości wskaźnika śmietankowania obliczane z proporcji jak powyżej w odniesieniu do czasu przechowywania (0–56 dni) były największe w próbkach zawierających olejek z oregano, a najmniejsze (brak rozwarstwienia układu) – mandarynkowy. Abdolmaleki i in. (2016) do oceny stabilności emulsji zaproponowali równanie uwzględniające również ulegającą sedymentacji fazę cząstek ciał stałych: $ESI (\%) = [(HE - HS)/HE] \times 100$, gdzie: HE – wysokość cieczy emulsyjnej w naczyniu przed rozdziałem; HS – wysokość wydzielonej przezroczystej cieczy po rozdziale emulsji. Autorzy wykazali, że emulsje (10% w/w olej słonecznikowy; guma tragakanta 0,5% w/w), były szczególnie podatne na zmiany odczynu i przy pH 2,5 po 150 dniach przechowywania, stabilność układu wynosiła zaledwie 30%.

Proces sedymentacji ma miejsce głównie w emulsjach typu woda-w-oleju w/o, a wskaźnik stabilności oblicza się z proporcji objętości (wysokości w naczyniu pomiarowym) wydzielonej fazy olejowej (wodnej) do ogólnej objętości emulsji (wysokości w naczyniu pomiarowym emulsji przed rozdziałem). Sapei i in. (2012) do oceny wskaźnika sedymentacji (S) w emulsjach typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) zastosowali równanie: $S(\%) = [(H_0 - H_t)/H_0] \times 100$, gdzie: H_0 – początkowa wysokość układu emulsyjnego; H_t – wysokość warstwy nieprzezroczystej w czasie t dokonywanego pomiaru. Autorzy wykazali, że stosunkowo wysoką niestabilnością charakteryzowały się układy zawierające: 0% (w/w) NaCl i 3% (w/w) żelatyny lub 2% (w/w) NaCl i 0% (w/w) żelatyny, przyjmując wartości wskaźnika S , odpowiednio: 44,8 lub 90,2% po 1 dniu oraz 28,5 lub 78,5% po 29 dniach przechowywania. Zauważyli ponadto, że zastosowanie do stabilizacji fazy wodnej żelatyny (3–10% w/w) i NaCl (2–8% w/w), w różnych proporcjach, przeciwdziało procesowi rozwarstwiania się badanych w doświadczeniu emulsji. Gomes i in. (2016) wykazali ponadto, że wskaźnik sedymentacji w emulsjach w/o (polirycynooleinian poliglicerolu 1–4% w/w): $SI(\%) = (H_{olej(t)}/H_0) \times 100$, gdzie: H_0 – początkowa wysokość warstwy emulsyjnej i $H_{olej(t)}$ – wysokość wydzielonej warstwy olejowej w odniesieniu do czasu (t), mieścił się w zakresach: 1,90–1,65% lub

1,09–0,13%, odpowiednio: gdy fazą wewnętrzną była czysta woda lub roztwór kwasu galusowego. Metody oparte na pomiarze wydzielonych faz emulsji są stosunkowo proste, przy czym wyniki pomiaru mogą być porównywane jedynie w odniesieniu do układów zawierających takie same składniki dodawane w różnej ilości. Dlatego do analizy stabilności układów emulsyjnych stosowane są również inne metody pomiaru. Bortnowska (2008b) w celu oceny kinetycznej stabilności emulsji dokonywała pomiaru odległości pomiędzy cząstkami fazy zdyspergowanej, charakteryzowanymi średnią średnicą masową de Brouckere'a ($D[4,3]$) w funkcji czasu. Stabilność emulsji można ocenić także instrumentalnie, przy użyciu aparatów Turbiscan (Von Staszewski i in. 2014; Sun i in. 2015; Fernández-Ávila i in. 2015; Julio i in. 2015). Urządzenia te służą do analizowania stabilności/niestabilności emulsji o szerokim zakresie stężenia i wielkości cząstek fazy rozproszonej. Zasada ich działania oparta jest na analizie światła wielokrotnie rozproszonego, przechodzącego i wstecznie odbitego (ang. *backscattering*). Z zastosowaniem aparatów Turbiscan można identyfikować oprócz śmietankowania także takie zjawiska, jak: sedymentacja, flokulacja, agregacja cząstek i inne. W literaturze przedmiotu uważa się, że aparaty tego typu mogą być użyteczne do oznaczania innych parametrów, w tym średnicy hydrodynamicznej cząstek. Xuexin i Golding (2014) stabilność emulsji (2, 4, 6% w/w kazeinian sodu; 30% v/v olej sojowy; 1,1–6,6 M mocznik) oceniali z użyciem aparatu Turbiscan Classic MA 2000. Autorzy wykazali, że wzrost stężenia mocznika w układzie zwiększał stabilność w zakresie podstawiania, głównie w wyniku dysocjacji submiceli kazeinowych. Degrand i in. (2016) wyznacali kinetykę procesu śmietankowania emulsji o/w (1–3% w/w koncentrat białek serwatki, KBS lub 1% w/w Tween 20, 4,5 lub 9% w/w siarczan dekstranu; 0,25–0,78% w/w NaCl; 10–11% w/w olej rzepakowy), stosując Turbiscan Lab[®] wyposażony w statyczny układ do wielokrotnego rozpraszania światła (ang. *static multiple light scattering*). Na podstawie uzyskanych wyników sugerowano, że układy zawierające Tween 20 oraz siarczan dekstranu charakteryzowały się większą stabilnością niż odpowiednie przygotowane z dodatkiem KBS. Podobnego systemu pomiarowego (Turbiscan Lab Exper Stability Analyzer) użyli Zhu i in. (2016) do oceny wpływu $MgCl_2$ (0,4–2,6 M) na stabilność emulsji typu w/o (0,6 lub 1% w/w PGPR; 60% w/w olej sojowy), zwracając uwagę, że wraz z rosnącym stężeniem $MgCl_2$ oraz PGPR następował wolniejszy proces śmietankowania. Hebishy i in. (2015) ocenie poddali wpływ sposobu (młynek koloidalny, homogenizacja tradycyjna lub homogenizacja wysokociśnieniowa: 100 lub 200 MPa) rozdrabniania cząstek fazy rozproszonej na stabilność emulsji (15% w/w olej słonecznikowy; 5% w/w oliwa z oliwek; 1, 2 lub 4% w/w izolat białek serwatki). Badania wykonane z użyciem Turbiscan MA 2000 wykazały wzrost stabilności układów w zakresie podstawiania, przy zastosowaniu poszczególnych metod w kolejności, jak następuje: homogenizacja wysokociśnieniowa > homogenizacja tradycyjna > młynek koloidalny.

7.1.2. Flokulacja

Cząstki fazy rozproszonej, szczególnie w emulsjach typu o/w, znajdują się w ciągłym ruchu, będącym efektem: posiadanej energii termicznej, oddziaływania ziemskiego pola grawitacji oraz sił mechanicznych, co powoduje, że przemieszczając się obok siebie lub zderzając, tworzą agregaty. Proces agregacji cząstek często jest utożsamiany z flokulacją, jakkolwiek

uważa się, że flokulacja jest wynikiem słabszego oddziaływania cząstek niż agregacja i w związku z tym powstałe tzw. flokuły można ponownie zdyspergować (rozproszyć) poprzez wstrząsanie lub mieszanie układu emulsyjnego. Flokulacja i agregacja kropele oleju zachodzi wtedy, gdy zaadsorbowane na nich SPC nie są w stanie przeciwdziałać procesowi zbliżania się cząstek fazy rozproszonej. Agregaty oraz flokuły zachowują się jak jedna duża kropla oleju, co znacznie przyspiesza proces rozwarstwiania emulsji. Przyjmuje się, że im mniejsze są wymiary cząstek fazy rozproszonej, tym wolniej zachodzi proces flokulacji (Genot i in. 2003; McClements 2008; Tadros 2013; Bai i McClements 2016). Zjawisko flokulacji może mieć bardzo zróżnicowane podłoże. McClements i Weiss (2005) uważają, że proces ten związany jest m.in. z: (i) redukcją elektrostatycznych, odpychających interakcji pomiędzy cząsteczkami fazy rozproszonej; (ii) efektem osmotycznym; (iii) wzrostem oddziaływań hydrofobowych oraz (iv) tworzeniem wiązań o charakterze nie- lub kowalencyjnym pomiędzy makrocząsteczkami zaadsorbowanych biopolimerów. Odpychanie elektrostatyczne występuje wtedy, gdy powierzchnie cząstek fazy rozproszonej obdarzone są tym samym ładunkiem. W odniesieniu do emulsji efekt ten uzyskuje się przy zastosowaniu emulgatorów jonowych. Ładunek w roztworze mają: białka, niektóre polisacharydy oraz emulgatory o stosunkowo małej masie cząsteczkowej (surfaktanty) (Matalanis i in. 2011; Bortnowska 2015a; Guerra-Rosa i in. 2016). Wielkość elektrostatycznych interakcji charakteryzuje się potencjałem zeta (ang. *zeta potential*, ζ , mV), który może być obliczony z równania (Silvestre i in. 1999):

$$\zeta = \sigma_p / \epsilon_0 \cdot \epsilon_r \cdot \kappa$$

gdzie: σ_p – powierzchniowa gęstość ładunku;

ϵ_0 – stała dielektryczna próżni;

ϵ_r – względna stała dielektryczna środowiska otaczającego krople oleju;

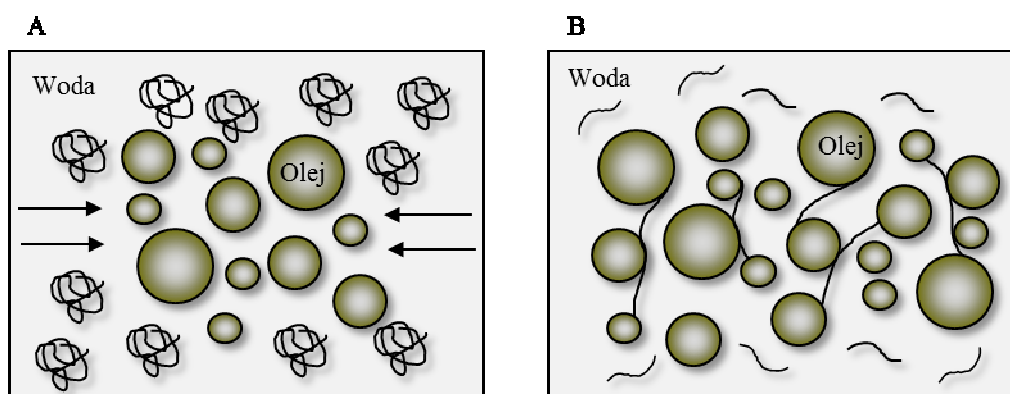
κ^{-1} – grubość podwójnej warstwy elektrycznej (ang. *thickness of the electric double layer*).

W literaturze przedmiotu uważa się, że układ emulsyjny zachowuje dobrą stabilność wynikającą z oddziaływań elektrostatycznych, jeżeli potencjał zeta jest większy niż +30 mV lub mniejszy niż -30 mV (Lesmes i in. 2010; Tabibiazar i in. 2015). Zmiana potencjału zeta w układzie emulsyjnym może być spowodowana różnymi czynnikami. Silvestre i in. (1999) wykazali, że emulsje stabilizowane izolatem białek serwatki (0,1% w/w) przy stężeniu chloru miedzi(II), CuCl_2 , w zakresie stężeń 0–50 μM , zmieniały wartości potencjału zeta od -32 do -10 mV. Z innych badań wynika (Gharsallaoui i in. 2010), że dodatek (0–0,5% w/w) wysoko metoksylowanej (poziom estryfikacji ~60) pektyny do układów stabilizowanych białkami grochu zmieniał wartości potencjału zeta w zakresie od +16 do -2 mV. Chaprenet i in. (2014) zauważyli ponadto możliwość dobrej stabilizacji elektrostatycznej emulsji z użyciem membran wielowarstwowych zawierających: kazeinian sodu, lizozym, pochodną dekstranu, które mogą wykazywać potencjał zeta od -55 do +35 mV.

Znaczna liczba prac badawczych dotyczy emulsji stabilizowanych dodatkiem biopolimerów, które są bardzo podatne na zmiany wielkości potencjału zeta, przy zróżnicowanych pH układu. Pongsawatmanit i in. (2006) zauważyli, że w emulsjach (5% w/w oleju palmowego, 0,45% w/w β -laktoglobuliny) zmiana pH (3–7) kształtowała potencjał zeta od +60 do -70 mV.

Dodatek natomiast alginianu sodu (0,5% w/w) powodował, że przy analogicznych pH wartości wynosiły od -25 do -60 mV. Z obserwacji Chang i in. (2016) wynika także, że użycie do stabilizacji emulsji o/w białek części białkowej jaja poddanych: modyfikacji kwasowej (ang. *acid induced protein*) lub kwasowo-temperaturowej (ang. *acid-heat synergistically modified protein*) umożliwiło kształtowanie potencjału zeta przy zmianach pH (3–4,2) w zakresach odpowiednio: 69–48 oraz 57–44 mV. W literaturze przedmiotu uważa się również, że obecność w układach emulsyjnych soli mineralnych znacząco modyfikuje wielkości potencjału zeta (Tcholakova i in. 2008). Guzey i McClements (2007) podają, że dla roztworów wodnych grubość podwójnej warstwy elektrycznej może być obliczona ze wzoru: $\kappa^{-1} = 0,304\sqrt{I}$ (nm), gdzie: I – wielkość siły jonowej układu emulsyjnego ($I = 1/2 \sum c_i z_i^2$); z_i – wartościowość i -tego jonu znajdującego się w roztworze oraz c_i – jego stężenie molowe. Autorzy dowiedli, że dodatek NaCl (0–100 mM) w emulsjach (0,1% w/w oleju kukurydzianego; 0,005% w/w β -laktoglobuliny; 0,02% pektyn; pH 4) powodował zmiany potencjału zeta z ok. -30 do -15 mV. Zauważono także, że wraz ze wzrostem stężenia NaCl (0–50 mM) następowało znaczące zmniejszanie się grubości podwójnej warstwy elektrycznej, przy zmianie parametru κ^{-1} , z 2 do 1,1 nm.

Biorąc pod uwagę mechanizm flokulacji, wyróżnia się flokulację mostkową (ang. *bridging flocculation*) lub wyczerpującą (ang. *depletion flocculation*) (Bortnowska 2008b; Dickinson 2009; Gharsallaoui i in. 2010; Bouyer i in. 2012). Schematycznie proces flokulacji wyczerpującej i mostkowej przedstawiono na ryc. 30A i B. Flokulacja mostkowa spowodowana jest wzajemnymi interakcjami pomiędzy substancjami powierzchniowo-czynnymi zaadsorbowanymi na cząstkach rozproszonej fazy olejowej. W homogenizowanym mleku oraz sosach mlecznych krople oleju ulegają mostkowaniu micelami kazein, przy czym są to połączenia nietrwałe, które można bardzo łatwo zniszczyć poprzez powtórny homogenizację. Ten rodzaj destabilizacji ma również miejsce wtedy, gdy makrocząsteczki polisacharydów łączą się z białkami i między sobą w obrębie sąsiadujących cząstek fazy rozproszonej (McClements i Weiss 2005).



Ryc. 30. Zjawisko flokulacji wyczerpującej (A) oraz mostkowej (B) w emulsjach typu o/w

Flokulacja wyczerpująca jest wynikiem oddziaływań w układzie cząsteczek polisacharydów, które wykazują niewielką aktywność powierzchniowo-czynną oraz są zbyt duże, żeby zmieścić się w przestrzeni pomiędzy cząstkami fazy rozproszonej. Powoduje to, że woda

w wyniku zjawiska osmozy jest usuwana z obszaru pomiędzy kroplami oleju, które mają w ten sposób możliwość większego zbliżania się do siebie (Bouyer i in. 2012). Gharsallaoui i in. (2010) wykazali, że użycie pektyny do tworzenia membran ochronnych na cząstkach fazy rozproszonej w emulsji typu olej-w-wodzie znacznie przeciwdziała zjawisku flokulacji mostkowej oraz wyczerpującej powodowanej dodatkiem maltodekstryny. Pongsawatmanit i in. (2006) dowiedli, że przy pH 4 i 5 z użyciem ultradźwiękowego homogenizatora można rozbić flokuły tworzące się pomiędzy zemulgowanymi β -laktoglobuliną kroplami oleju w wyniku flokulacji mostkowej po dodaniu do układu alginianu sodu. Ye i in. (2004) do oceny wielkości potencjału interakcji ($W_{dep}(0)$) pomiędzy cząstkami fazy rozproszonej, w warunkach występowania flokulacji wyczerpującej, posłużyli się wzorem:

$$W_{dep}(0) = - (3k_B T c R_v / 2\rho) (1 + c R_v / 2\rho) (r_d / r_g + 2/3)$$

przy czym $R_v = 4\pi r_g^3 \rho N_A / 3M$

gdzie: c – stężenie polisacharydu;

ρ – gęstość polisacharydu;

r_d – promień kropli oleju;

r_g – promień bezwładności cząsteczki (ang. *radius of gyration of the molecule*);

N_A – liczba Avogadra;

M – masa cząsteczkowa polisacharydu;

k_B – stała Boltzmann.

Autorzy wykazali, że w emulsjach (4% w/w hydrolizat białek serwatki, 4% w/w olej kukurydziany, $r_d = \sim 0,5 \mu\text{m}$), wartości $-W_{dep}(0)$ rosły wraz ze zwiększającym się stężeniem polisacharydów (GK, GG, κ -karagen), użytych w zakresie stężeń 0–0,12% (w/w), jednocześnie z analizy $-W_{dep}(0)$ wynika, że zakres flokulacji w zależności od rodzaju użytego polisacharydu był taki, jak następuje: GG > GK > κ -karagen. Xuexin i Golding (2014) sugerują, że wielkość energii swobodnej związanej ze zjawiskiem flokulacji wyczerpującej (ang. *depletion free energy*, ΔG_{dep}) w układzie emulsyjnym stabilizowanym kazeinianem sodu może być wyrażona równaniem:

$$\Delta G_{dep} = -2\pi r_m^2 P_{osm} [r_d + (2r_m/3)]$$

przy czym $P_{osm} = (C_M R \cdot T / M) (1 + 2C / \rho_m)$,

gdzie: r_m – promień miceli;

r_d – promień kropli oleju;

P_{osm} – ciśnienie osmotyczne roztworu micelnego;

C_M – stężenie miceli w fazie ciągłej;

M – średnia masa cząsteczkowa miceli;

R – stała gazowa;

T – temperatura bezwzględna;

ρ_m – gęstość miceli.

Autorzy dowiedli, że dodatek mocznika zmniejszał wielkość ΔG_{dep} , przyczyniając się do redukcji poziomu interakcji międzycząsteczkowych powodujących efekt flokulacji wyczerpującej. Czynnikiem zwiększającym flokulację wyczerpującą jest występowanie takiego samego

ładunku pomiędzy zewnętrzną warstwą elektryczną cząstek rozproszonych a zagęstnikiem. Zjawisko to zachodzi zarówno w układach zawierających małą, jak i dużą ilość zagęstnika, przy czym uważa się, że większa ilość zagęstnika wzmacnia proces flokulacji wyczerpującej (Dickinson 2009). Ten rodzaj destabilizacji może również mieć miejsce w przypadku nadmiernej ilości emulgatora będącego biopolimerem, np. białka, a jej efektem może być tworzenie zwartej struktury emulsji przeciwdziałającej procesowi śmietankowania układu (Singh 2011). Flokulacja będąca wynikiem oddziaływań hydrofobowych zachodzi głównie wtedy, gdy w układzie emulsyjnym niepolarne fragmenty cząstek fazy rozproszonej zwrócone są do środowiska wodnego. Przykładem mogą być globularne białka serwatkowe, które będąc zaadsorbowane na cząstkach oleju, po ogrzaniu do 70°C ulegają rozfałdowaniu, a następnie zwiększają swoją hydrofobowość powierzchniową i umożliwiają proces flokulacji w wyniku wzrostu oddziaływań hydrofobowych (Sikorski 2014a). Zakres flokulacji (ang. *degree of flocculation*, *DF*, %) można określić poprzez pomiar zmian średnich średnic Sautera $D[3,2]$ lub de Brouckere'a $D[4,3]$, w odniesieniu do wybranych czynników. Wartość liczbowa tego parametru dla $D[4,3]$ wynosi:

$$DF = \{(D[4,3] - D[4,3]_{+SDS})/D[4,3]_{+SDS}\} \times 100$$

gdzie: $D[4,3]$ – pomiar średniej średnicy po czasie t , bez dodatku dodecylsulfanu sodu, SDS;

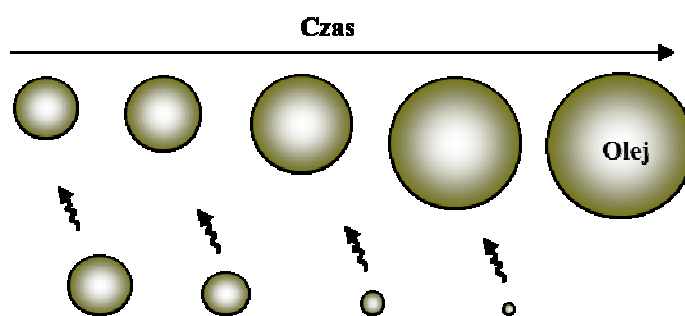
$D[4,3]_{+SDS}$ – pomiar po czasie t , z dodatkiem SDS.

Ventureira i in. (2012) ustalili, że wielkości *DF*, w odniesieniu do $D[3,2]$, zależały od pH oraz składu białek pozyskanych z nasion amarantusa z rodziny szarłatowatych (łac. *Amaranthus hypochondriacus* L.) użytych do stabilizacji układu. Na przykład przy pH 2, dodatek pełnej frakcji białek oraz rozpuszczalnej powodował zmiany *F* (w czasie 0–7 dni), odpowiednio w zakresach 4,3–9,7 oraz 3,5–4,7, natomiast przy pH 8: 10,7–21,3 oraz 5,9–3,3. W wielu opracowaniach naukowych wielkości *DF* wyznacza się, stosując $D[4,3]$. Między innymi w pracy Hu i in. (2016) wykazano, że w emulsjach (2% w/w kazeinian sodu, 30% w/w olej sojowy, 0–2% w/w celuloza regenerowana) wartości tego parametru po 1 oraz 7 dniach przechowywania wynosiły odpowiednio: 8,87–6,84% oraz 10,90–11,63%. Villamonte i in. (2016) zauważyli natomiast, że układy z dodatkiem skrobi z kukurydzy (3,5–28 mg·ml⁻¹) poddane wysokociśnieniowej obróbce (600 MPa, 6 min) przyjmowały wartości *DF* mieszczące się w zakresie 1,50–1,29. Eksperymentalne próbki z kolei z użyciem 0,2% w/w koncentratu białek orzecha kokosa (łac. *Cocos nucifera* L.), natywnych i po obróbce termicznej, charakteryzowały się wartością *DF* odnoszoną do układów przygotowanych z oliwą z oliwek oraz olejem słonecznikowym, odpowiednio: 39,7 i 59,2% oraz 22,7 i 56,1%, co wskazuje, że oddziaływanie temperatury przyczyniało się do obniżenia zakresu flokulacji niezależnie od rodzaju fazy tłuszczowej (Thaiphanit i Anprung 2016).

7.1.3. Dojrzewanie Ostwaldowskie

Ostwaldowskie dojrzewanie emulsji (ang. *Ostwald ripening*) jest procesem wzrostu rozmiarów dużych kropli kosztem małych. W zakresie termodynamiki siłą napędową tego proce-

su są różnice w potencjale chemicznym cząsteczek oleju, ponieważ odpowiednie znajdujące się w małych kroplach oleju charakteryzują się większą wartością liczbową tego parametru niż w dużych. Potencjał chemiczny odnoszony jest do różnicy ciśnień (ΔP) Laplace'a, wyrażonego zależnością: $\Delta P = 2\gamma_M/r$, gdzie: γ_M – napięcie międzyfazowe olej–woda; r – promień cząstki fazy rozproszonej (Tcholakova i in. 2008; Georgieva i in. 2009; Dickinson 2012; Hoffmann i Reger 2014). Schematycznie ODE przedstawiono na ryc. 31. W literaturze przedmiotu przyjmuje się, że ODE ma charakter dyfuzyjny (Rao i McClements 2012). Ponadto uważa się, że istotnym warunkiem, żeby ODE miało miejsce, jest duża rozpuszczalność fazy rozproszonej w ciągłej. Zjawisko to szczególnie łatwo może zachodzić np. w emulsjach napojowych zawierających zdyspergowane olejki eteryczne, natomiast zdecydowanie wolniej w emulsjach, w których faza tłuszczowa zawiera głównie trójglicerydy (Dickinson 2009).



Ryc. 31. Ostwaldowskie dojrzewanie emulsji

Proces ODE istotnie zależy od wielkości kropli, ponieważ rozpuszczalność (S) substancji znajdujących się w układzie wzrasta wraz ze zmniejszaniem się wymiaru cząstki fazy rozproszonej:

$$S(r) = S(\infty) \cdot \exp(2\gamma_M V_M / R \cdot T \cdot r)$$

gdzie: $S(\infty)$ – rozpuszczalność składnika w fazie ciągłej dla kropli przy $Pp \rightarrow 1$;

γ_M – napięcie międzyfazowe;

V_M – objętość molowa substancji rozpuszczonej;

R – stała gazowa;

T – temperatura bezwzględna;

r – promień kropli.

Różnice w rozpuszczalności składników emulsji powodują występowanie gradientu stężeń, inicjując tym samym proces dyfuzji cząsteczek z mniejszych do większych kropli (ryc. 31). Obecność zatem małych cząstek fazy rozproszonej przyspiesza proces ODE, w przeciwieństwie do podstawiania, flokulacji oraz koalescencji (McClements 2008; Tadros 2013; Saberi i in. 2014; Bai i McClements 2016). W warunkach ustalonych szybkość wzrostu (V_W) promienia cząstek (r) w funkcji czasu (t) może być wyrażona zgodnie z teorią Lifshitz-Slezow i Wagner za pomocą wzoru:

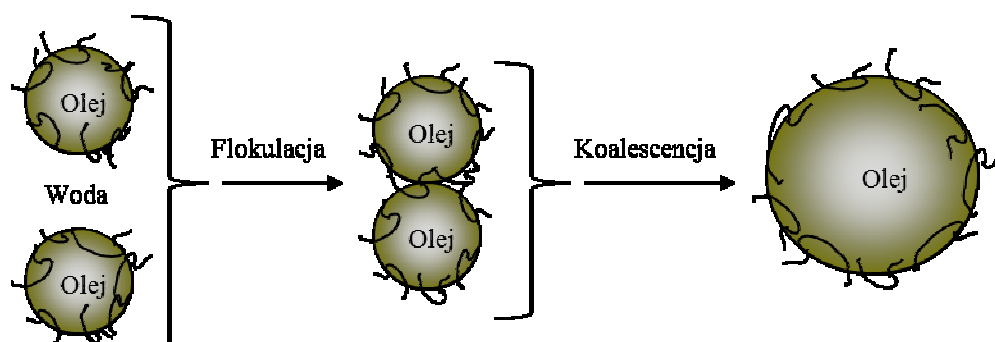
$$V_W = d(r)^3/dt = 8\gamma_M V_M S(\infty) D / 9R \cdot T$$

gdzie: D – współczynnik dyfuzji składnika w fazie ciągłej emulsji, pozostałe oznaczenia jak powyżej.

W literaturze przedmiotu sugeruje się również, że zakres i szybkość zmian destabilizacyjnych wywołanych przez ODE mogą być zależne od składu substancji powierzchniowo-czynnych zaadsorbowanych na powierzchni międzyfazowej. W emulsjach z dodatkiem surfaktantów napięcie międzyfazowe jest stosunkowo niskie, a to przeciwdziała procesowi przenikania masy z małych cząstek do dużych. Jednocześnie występujące w układzie struktury micelarne mogą ten proces intensyfikować. W emulsjach stabilizowanych białkami proces przenikania masy z małych do dużych kropli generuje zwiększenie powierzchniowego stężenia białek z możliwością utworzenia lepkością powłoki przeciwdziałającej procesowi dyfuzji. Dickinson (2009) sugeruje, że mimo tego zjawiska proces przenikania masy może dalej postępować aż do chwili, gdy grubość zaadsorbowanej warstwy osiągnie promień cząstki rozproszonej. Tcholakova i in. (2008) uważają z kolei, że w układach emulsyjnych, w których faza wewnętrzna stabilizowana jest cząstkami ciał stałych, ODE może praktycznie być ograniczone do zera, z uwagi na wysoką energię desorpcji cząstek stałych.

7.1.4. Koalescencja

Koalescencja zachodzi zwykle wtedy, gdy energia adhezji pomiędzy cząstkami fazy rozproszonej przewyższa energię powodującą dyspersję. W wymiarze zmian strukturalnych emulsji jest to zjawisko łączenia się cząstek fazy rozproszonej w większe krople w wyniku zniszczenia membrany otaczającej cząstkę fazy wewnętrznej. Proces ten można też traktować jako dążność układu do osiągnięcia stanu równowagi termodynamicznej (Tcholakova i in. 2008; Tadros 2013; McClements 2016). Schematycznie mechanizm koalescencji przedstawiono na ryc. 32. Proces koalescencji często jest poprzedzany flokulacją oraz ODE. Georgieva i in. (2009) sugeruje, że jeżeli średnia średnica cząstek fazy rozproszonej $D[4,3]$ osiągnie krytyczną wielkość D^* , wtedy szybkość procesu koalescencji i Ostwaldowskiego dojrzenia są takie same: $(dD[4,3]/dt)_{\text{koalescencja}} = (dD[4,3]/dt)_{\text{Ostwaldowskie dojrzenie}}$. Natomiast gdy $D[4,3] > D^*$, wówczas koalescencja ma charakter dominujący.



Ryc. 32. Koalescencja w układach emulsyjnych typu o/w

W procesie rozwoju koalescencji wyróżnić można dwie zasadnicze przyczyny niszczenia membrany tworzącej powierzchnię rozdziału faz. Pierwszą z nich jest słaba wytrzymałość

mechaniczna filmu otaczającego cząstki rozproszone, powodująca spinodalną dekompozycję (ang. *spinodal decomposition*) emulsji, pod pojęciem której rozumie się mechanizm opisujący dynamikę separacji faz (Leclaire i in. 2014). Druga z kolei związana jest z powstawaniem termicznie aktywowanych przerw pomiędzy molekułami tworzącymi membranę na cząstkach rozproszonych, które mają tendencję do wzrostu, czego efektem jest proces łączenia się dwóch sąsiednich kropli. Efektem koalescencji jest zmniejszenie ogólnej wielkości pola powierzchni międzyfazowej pomiędzy fazą rozproszoną a odpowiednią ciągłą (McClements i Weiss 2005). W emulsjach zjawisko koalescencji związane jest często z niedostateczną ilością emulgatora lub zbyt małą lepkością układu, co umożliwia w wyniku np. ruchów Browna zderzanie się kropli oleju i powstawanie większych cząstek (Genot i in. 2003; Liu i in. 2015). Według McClements (2008) w układach, w których nie następuje przepływ cieczy, częstość zderzeń (ang. *collision frequency*, N) pomiędzy kroplami oleju można obliczyć z zależności: $N = 4k_B T n_0^2 / 3\eta_p$. Biorąc z kolei pod uwagę odpowiednie prowadzące do agregacji, powyższy wzór przyjmuje postać: $N = 4k_B T n_0^2 E_z / 3\eta_p$. W dyspersjach natomiast, w których następuje proces mieszania, parametr N można obliczyć ze wzoru: $N = 16/3(Gr^3 n_0^2)$, gdzie: k_B – stała Boltzmanna; n_0 – początkowa liczba cząstek w jednostce objętości emulsji; T – temperatura bezwzględna; η_p – lepkość pozorna; G – szybkość ścinania; E_z – wielkość odnosząca się do zderzeń cząstek rozproszonych powodujących agregację, która mieści się w zakresie od 0 (brak flokulacji) do 1 (intensywna flokulacja). Szybkość procesu koalescencji można wyznaczyć z równania kinetyki pierwszego rzędu:

$$N_t = N_0 \times \exp(-K_c \cdot t)$$

przy czym $N_t/N_0 = [D[3,0]_{t=0}/D[3,0]_{t=t}]^3$,

gdzie: N_0 – liczba kropli oleju w emulsji w czasie $t = 0$;

N_t – liczba kropli oleju w emulsji w czasie t ;

K_c – wielkość stała, wyrażająca prawdopodobieństwo zniszczenia powierzchni międzyfazowej w czasie t ;

$D[3,0]$ – średnia średnica objętościowa.

Ye i in. (2004) wykazali, że w emulsjach (4% w/w hydrolizat białek serwatki, 4% w/w olej kukurydziany) z dodatkiem polisacharydów, takich jak: GK, GG, κ -karagen, wprowadzonych do układu w ilości 0–0,12% (w/w), wartości stałej K_c po 7 dniach ich przechowywania zmieniły się odpowiednio w próbkach zawierających: GK, GG i κ -karagen, jak następuje: 0–0,075 h⁻¹, 0–0,37 h⁻¹ i 0–0,01 h⁻¹. W układach, w których koalescencja jest zasadniczym mechanizmem powodującym narastającą niestabilność, zmiany wielkości cząstek (r) w funkcji czasu mogą być opisane równaniem: $1/r^2 = 1/r_0^2 - 8\pi/3\omega \cdot t$, gdzie: r_0 – średni promień cząstek fazy rozproszonej w czasie $t = 0$; ω – częstotliwość niszczenia membrany na cząstkach fazy rozproszonej, liczona na jednostkę. Wykazano również, że koalescencja może być intensyfikowana obecnością substancji powierzchniowo-czynnych o małej masie cząsteczkowej (Dickinson 2011). Proces ten jest generowany także śmietankowaniem oraz flokulacją, które powodują, że cząstki fazy rozproszonej znajdują się w bardzo niewielkiej odległości od siebie.

Koalescencja jest zjawiskiem nieodwracalnym, z zasady obniżającym liczbę cząstek fazy wewnętrznej, co prowadzi do całkowitego załamania emulsji (Genot i in. 2003; Ye i in. 2004). Uważa się, że koalescencji w emulsjach można przeciwdziałać m.in. poprzez: (i) stosowanie mieszanin emulgatorów, w tym jonowych i niejonowych, które umożliwiają kształtowanie lepkości właściwości powierzchni międzyfazowej oraz zapobiegają dyfuzji zaadsorbowanych składników z powierzchni międzyfazowej do fazy ciągłej; (ii) odpowiedni dobór stężenia fazy wewnętrznej; (iii) tworzenie wielowarstwowych membran pokrywających cząstki fazy rozproszonej, znacznie ograniczających oddziaływanie sił van der Waalsa oraz (iv) zwiększenie lepkości fazy ciągłej w celu ograniczenia śmietankowania i flokulacji (McClements i Weiss 2005; Tadros 2013). Zakres koalescencji (Ko) w układach emulsyjnych można określić poprzez porównanie zmian średnich średnic $D[3,2]$ lub $D[4,3]$ dodając SDS (np. 1% w/v) w celu rozbitcia kompleksów powstałych w wyniku flokulacji (agregacji). Wielkość Ko (%) w zależności od $D[3,2]$ przedstawia poniższy wzór:

$$Ko = \{(D[3,2]_{t+SDS} - D[3,2]_{b+SDS})/D[3,2]_{b+SDS}\} \times 100$$

gdzie: $D[3,2]_{t+SDS}$ – średnia średnica mierzona po czasie t ;

$D[3,2]_{b+SDS}$ – średnia średnica mierzona bezpośrednio po przygotowaniu emulsji (b).

Ventureira i in. (2012) pomiary koalescencji oceniali, porównując układy emulsyjne opisane przy omawianiu procesu flokulacji (podrozdział 7.1.2) i wykazali, że wartości Ko w czasie ich przechowywania przez 1–7 dni, przy użyciu pełnej oraz rozpuszczalnej frakcji białek szarlatu (pH 2), mieściły się odpowiednio w zakresach: 0–0,3 oraz 0,1–0,2, natomiast przy pH 8 wynosiły: 3,5–4,3 oraz 3,4–4,1. Zakres koalescencji można też wyznaczać poprzez porównanie zmian wielkości średnich średnic $D[4,3]$. Xiang i in. (2015) dowiedli, że w emulsjach stabilizowanych GA różnice $D[4,3]$, liczone pomiędzy 7. dniem przechowywania emulsji i bezpośrednio po jej sporządzeniu, wynosiły ok. 0,2 i 2,6 μm , odpowiednio przy stężeniu 5 i 15% (w/w) GA, co przypuszczalnie związane było ze znacznie mniejszym powierzchniowym stężeniem gumy arabskiej przy jej całkowitej zawartości w układzie wynoszącym 15 niż 5% (w/w). W emulsjach rozcieńczonych typu napojowego różnice stabilności spowodowane zmianą wielkości cząstek fazy rozproszonej można oceniać poprzez pomiar stopnia zmętnienia. Su i Zhong (2016) wykazali, że emulsje przygotowane z mieszaninami kazeinianu sodu oraz Tweenu 20 charakteryzowały się mniejszym stopniem zmętnienia oraz wielkością kropli niż odpowiednie zawierające tylko jeden emulgator. W ocenie zakresu koalescencji przydatny może też być pomiar wskaźnika stabilności (ang. *emulsifying stability index*, ESI, min):

$$ESI = A_0 \cdot \Delta t / (A_0 - A_{10})$$

gdzie: A_0 – absorbancja w czasie $t = 0$ min;

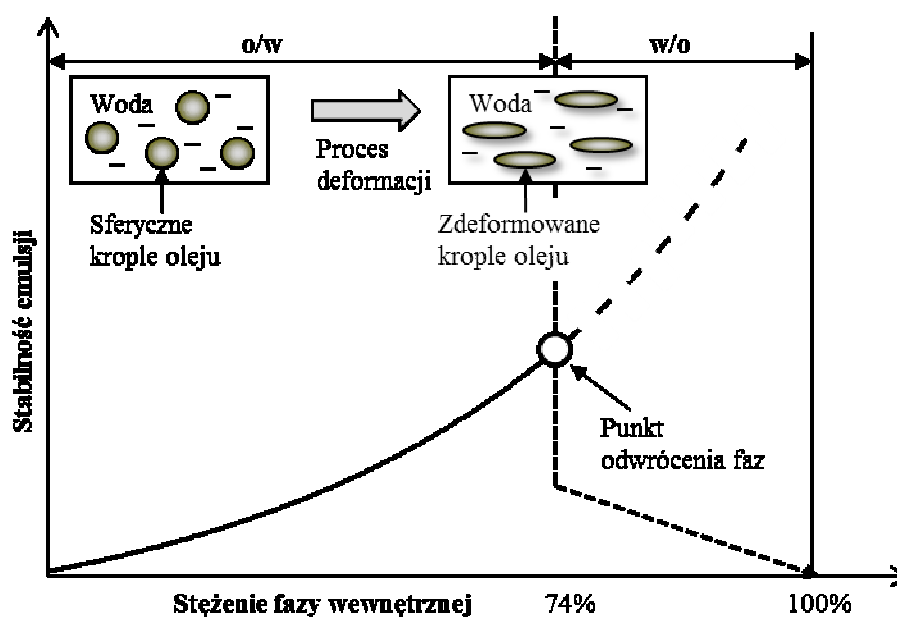
A_{10} – absorbancja po czasie t , od chwili zakończenia homogenizacji;

Δt – przedział czasowy.

Gong i in. (2016) wykazali, że w układach emulsyjnych stabilizowanych izolatami białek z orzeszków arachidowych wielkości wskaźnika ESI zależały od pH układu oraz formy obróbki protein, jednocześnie najwyższe wartości w odniesieniu do preparatów: bez procesowania, suszonych rozpyłowo lub zamrażalniczo, obserwowano przy pH odpowiednio: 12, 6 lub 2.

7.1.5. Odwrócenie faz

Odwrócenie faz emulsji jest zjawiskiem prowadzącym do zmiany typu emulsji, czyli z o/w na w/o lub odwrotnie. Proces ten wykonywany z użyciem metody PIT lub przy zmiennym składzie i stałej temperaturze (ang. *phase inversion composition*, PIC) omówiono w podrozdziale 3.3 dotyczącym wytwarzania emulsji. W literaturze przedmiotu uważa się, że zjawisko odwrócenia faz może być też wywoływane: (i) czynnikami środowiskowymi (pH, siła jonowa); (ii) wzrostem stężenia fazy wewnętrznej; (iii) niewłaściwym doбором rodzaju i stężenia emulgatora; (iv) obecnością niektórych rozpuszczalników; (v) niezachowaniem wymaganych parametrów procesu homogenizacji i innymi. Wybrane zmiany właściwości fizykochemicznych emulsji o/w przy wzroście stężenia fazy wewnętrznej przedstawiono na ryc. 33.



Ryc. 33. Wpływ stężenia fazy wewnętrznej na właściwości mikrostrukturalne oraz stabilność emulsji typu olej-w-wodzie (o/w)

Według Ostwalda krytyczny stosunek między fazą ciągłą a rozproszoną zawierającą monodispersyjne krople oleju wynosi 26 : 74 (McClements 2008; Tadros 2013). W nielicznych przypadkach zjawisko odwrócenia faz emulsji spowodowane wzrostem stężenia fazy tłuszczowej jest z technologicznego punktu widzenia korzystne i służy do otrzymywania emulsji spożywczych typu woda-w-oleju, takich jak masło. W większości jednak układów emulsyjnych ich niestabilność związana z odwróceniem faz przyczynia się do niekorzystnych zmian, a w szczególności związanych z: wyglądem ogólnym, teksturą, stabilnością oraz smakiem. Odwróceniu faz często towarzyszy proces całkowitej destabilizacji układu i tylko niektóre emulsje są w stanie tworzyć po przekształceniu z o/w na w/o układy stabilne kinetycznie.

8. Stabilność chemiczna emulsji

8.1. Mechanizm destabilizacji

Składniki emulsji, zarówno w procesie jej formowania, jak i przechowywania, narażone są na zmiany chemiczne, głównie o charakterze hydrolitycznym oraz oksydacyjnym, które z reguły zachodzą szybciej w warunkach oddziaływania czynników takich jak: podwyższona temperatura, siła jonowa pH, światło i innych. Utlenianie składników emulsji może też mieć miejsce na etapie procesu emulgowania, w wyniku którego wprowadza się do układu znaczne ilości powietrza, dlatego zaleca się optymalizację tego procesu, a w skrajnych warunkach wykonywanie w atmosferze gazu chemicznie obojętnego. Inną przyczyną może być samoczynny, powodowany procesem dyfuzji wzrost zawartości tlenu w układzie, zachodzący w czasie przechowywania emulsji w kontakcie z tlenem atmosferycznym (Genot i in. 2003; Alexa i in. 2011; Berton-Carabin i in. 2013). Berton i in. (2012) wykazali, że stężenie tlenu w emulsji stabilizowanej β -laktoglobuliną podczas inkubacji układu (kontrolowanego procesu utleniania) w czasie 70 min wzrosło do ok. $130 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ oleju. Tikekar i in. (2011) z kolei dowiedli, że w zależności od składu membrany formowanej na cząstkach oleju można regulować wielkość dyfuzji tlenu przez powierzchnię międzyfazową rozdzielającą fazę wewnętrzną i zewnętrzną układu emulsyjnego. Autorzy wykazali, że współczynnik dyfuzji (D) charakteryzował się zróżnicowaną wartością i przy zastosowaniu do tworzenia membrany białek serwatki lub SDS wynosił odpowiednio: $0,14 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ lub $1,16 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Przy użyciu natomiast białek serwatki poddanych procesowi sieciowania oraz powłok dwuwarstwowych (SDS-chitozan) wartości D (25°C) wynosiły: $0,28 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ oraz $1,15 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Z przeglądu literatury wynika, że w emulsjach spożywczych składnikami szczególnie narażonymi na oddziaływanie środowiska oksydacyjnego są lipidy, jakkolwiek może to również dotyczyć labilnych chemicznie substancji powierzchniowo-czynnych (głównie białek) zaadsorbowanych na cząstkach fazy rozproszonej. Proces zmian chemicznych w emulsjach ma nieco odmienny przebieg niż w innych produktach spożywczych, ponieważ faza lipidowa jest chroniona membraną, a podatne na proces utleniania emulgatory często są pokrywane warstwą polisacharydowych polielektrolitów (w tym będących cząstkami ciał stałych), w emulsjach zawierających powłoki wielowarstwowe (Genot i in. 2003; Estévez 2011; Kargar i in. 2012; Yi i in. 2014; Hebishy i in. 2015; Bortnowska i in. 2015a; Pan i in. 2015; Jiménez-Martín i in. 2015; Fernandez-Avila i in. 2016). Hydrolityczne zmiany białek powodują w pierwszym etapie powstawanie krótkich peptydów oraz aminokwasów, które mogą podlegać dalszym zmianom chemicznym, podobnie jak białka. Hydroliza lipidów uwarunkowana jest ich składem i w przypadku triacylogliceroli przebiega poprzez kolejne stadia uwalniania reszt kwasowych z jednoczesnym powstawaniem di- i monoacylogliceroli. W efekcie końcowym w układzie mogą znajdować się wolne kwasy tłuszczowe oraz glicerol. Procesy hydrolitycznych zmian lipidów zachodzą szybciej w obecności enzymów lipolitycznych, natomiast spowalniane są poprzez dobór odpowiednich SPC tworzących powłokę na cząstkach fazy rozproszonej. Produkty powstające w procesie hydrolitycznych zmian lipidów

zwykle oddziałują negatywnie na walory sensoryczne emulsji, ponieważ niektóre z uwolnionych kwasów tłuszczowych charakteryzują się nieprzyjemnym zapachem (Genot i in. 2003; Drozdowski 2014; Sikorski 2014a).

8.2. Utlenianie lipidów i białek

W literaturze przedmiotu uważa się, że najbardziej niekorzystnie na jakość sensoryczną emulsji wpływają przemiany oksydacyjne jej składników wywołane oddziaływaniem tlenu atmosferycznego, przy czym szczególnie podatne na ten proces są białka i lipidy, w tym jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Przyjmuje się, że proces utleniania lipidów (L) i białek (P) może zachodzić według dwóch mechanizmów: autooksydacji (samoutleniania) oraz utleniania fotosensybilizowanego. Utlenianie fotosensybilizowane wywoływane jest wpływem światła i katalizowane obecnością sensybilizatora (tzw. uczulacza), a powstałe w wyniku tego procesu rodniki z reguły zapoczątkowują łańcuchową reakcję autooksydacji (Genot i in. 2003; Berton i in. 2012; Drozdowski 2014; Yi i in. 2014; Lahir 2015; Qiu i in. 2015; Fernandez-Avila i in. 2016). W procesie tym wyróżnia się zasadniczo trzy etapy: (i) inicjacji (rozpoczęcia); (ii) propagacji (rozwinęcia); (iii) terminacji (zakończenia). Podczas etapu inicjacji pod wpływem reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*), takich jak np.: (i) tlen singletowy (ang. *singlet oxygen*, $^1\text{O}_2$); (ii) anionorodnik ponadtlenkowy (ang. *superoxide radical*, $\text{O}_2^{\bullet-}$); (iii) nadtlenek wodoru (ang. *hydrogen peroxide*, H_2O_2); (iii) rodnik hydroksylowy (ang. *hydroxyl radical*, $\bullet\text{OH}$); (iv) rodniki alkoksyłowe (ang. *alkoxyl radicals*, $\text{RO}\bullet$) oraz (v) rodniki nadtlenkowe (ang. *peroxyl radicals*, $\text{ROO}\bullet$), następuje oderwanie atomu wodoru przy podwójnym wiązaniu kwasu tłuszczowego (L) lub z cząsteczki białka (P) na węglu α w łańcuchu bocznym (podatnością w tym zakresie charakteryzuje się również grupa OH^- , a także połączenia z S- i N-), w efekcie czego tworzą się rodniki lipidowe ($\text{L}\bullet$) i białkowe ($\text{P}\bullet$). W literaturze przedmiotu uważa się, że szczególnie podatnymi na proces utleniania są fragmenty białek zawierające reszty tryptofanu, histydyny, lizyny, cysteiny, metioniny, proliny i tyrozyny. Powstawanie rodników białkowych może być też wywoływane oddziaływaniem rodników lipidowych ($\text{P} + \text{L}\bullet \rightarrow \text{P}\bullet + \text{L}$). Duże znaczenie w powstawaniu rodników ma obecność wodoronadtlenków, szczególnie nadtlenku wodoru stosowanego w niektórych procesach technologicznych oraz jonów metali (żelaza, miedzi i kobaltu) znajdujących się na niższych poziomach utlenienia. Metale te wchodząc w reakcję z wodoronadtlenkami (reakcja Fentona), generują powstawanie rodników hydroksylowych, według schematu: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Me}^{n+} \rightarrow \bullet\text{OH} + \text{HO}^- + \text{Me}^{(n+1)+}$. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że jony żelaza i miedzi wykazują prooksydacyjne działanie już przy stężeniach odpowiednio: 0,3 i 0,01 ppm. Jony żelaza mogą znajdować się w żywności w formie wolnej lub wchodzić w skład białek (np. hemoglobiny, mioglobiny, cytochromu C) i enzymów (np. katalazy i peroksydazy). Ogrzewanie powoduje proces denaturacji enzymów i uwalnia żelazo, które w ten sposób zaczyna działać prooksydacyjnie. Oddziaływanie jonów metali szczególnie wyraźnie zależy od pH układu. Żelazo jest bardziej rozpuszczalne w środowisku kwaśnym niż obojętnym, w którym jego jony mogą wchodzić w interakcje z anionowymi oraz niejonowymi emulgatorami zaadsorbo-

wanymi na powierzchni międzyfazowej, inicjując ich utlenianie. Sugeruje się również, że w obecności reduktorów, przy niskich wartościach pH, następuje aktywacja jonów metali i uwolnienie z substancji chelatujących, co znacznie zmniejsza ich skuteczność oddziaływania, nawet gdy znajdują się w pobliżu składników zaadsorbowanych na powierzchni międzyfazowej. Zwraca się również uwagę, że przy dużym stężeniu NaCl wzrasta katalityczna aktywność jonów żelaza. W pewnym zakresie, negatywnie na stabilność chemiczną białek wpływać może obecność monotlenku azotu (NO), związanego z powszechnie stosowanymi w produkcji żywności azotanami(III). Zasadniczo NO[•] jest silnym przeciwutleniaczem, jednak w większych stężeniach działa prooksydacyjnie, ponieważ wchodzi w reakcję anionorodnikiem ponadtlenkowym (O₂^{•-}), tworząc nadtlenoazotyn, który charakteryzuje się właściwościami utleniającymi i może reagować z grupami tiolowymi białek oraz nienasyconymi resztami kwasów tłuszczowych (Genot i in. 2003; Shahidi i Zhong 2005; Estévez 2011; Sikorski 2014a; Jiang i Xiong 2015; Lahir 2015). Mechanizm drugiego etapu (propagacji) utleniania lipidów i białek jest bardzo złożony. W uproszczeniu można przyjąć, że powstałe rodniki (lipidowe i białkowe) reagują z tlenem cząsteczkowym (O₂), co prowadzi do tworzenia się rodników nadtlenkowych (LOO[•], POO[•]), które wchodząc w interakcje z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi (L) lub białkami (P), tworzą wodoronadtlenki (LOOH, POOH) i nowe rodniki lipidowe (L[•]) lub białkowe (P[•]) reagujące z tlenem cząsteczkowym (O₂), a następnie powyższy proces powtarza się. W ostatnim etapie autooksydacji może dochodzić do wielu reakcji pomiędzy nagromadzonymi formami wolnorodnikowymi lipidów oraz białek, np. L[•] i L[•], co prowadzi do powstania produktów nieaktywnych typu L-L lub P-P. Proces terminacji może też zachodzić pomiędzy rodnikowymi formami lipidów i białek z wytworzeniem struktur typu: P-L, P-O-L, P-O-O-L i innych. Tworzące się w procesie utleniania lipidów i białek wodoronadtlenki są pierwotnymi produktami autooksydacji i na tym etapie nie wywołują jeszcze niepożądanych odczuć sensorycznych. Dalsze przemiany chemiczne prowadzą do złożonej i wielokierunkowej dekompozycji pierwotnych produktów utleniania i powstawania głównie związków zawierających grupy karbonylowe, takich jak: aldehydy, ketony, kwasy i inne. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że karbonyłowe pochodne powstające w procesie utleniania mogą wywoływać proces sieciowania białek będący następstwem reakcji zachodzącej między produktami utleniania lipidów (aldehydy) oraz aminowymi grupami białek i prowadzącej do powstawania tzw. zasad Schiffa. Sugeruje się, że zasady Schiffa w zależności od składu mogą wykazywać korzystne żywieniowo właściwości, takie jak aktywność przeciwnowotworowa, antywirusowa oraz antybakteryjna. Niektóre z zasad Schiffa charakteryzują się ponadto dużą labilnością i poprzez liczne przegrupowania (reakcje Amadori) mogą tworzyć MRP. Niekorzystnym natomiast jest proces ogrzewania zasad Schiffa, ponieważ może on prowadzić do powstania akryloamidu, uznanego przez International Agency for Research on Cancer (IARC) za substancję o potencjalnym działaniu rakotwórczym (Estévez 2011; Berton i in. 2012; Sikorski 2014a; Lahir 2015). Zakres powstawania pierwotnych produktów utleniania fazy tłuszczowej emulsji ocenia się, wyznaczając liczbę nadtlenkową (LN) wyrażaną w milirównoważnikach (meq O₂) aktywnego tlenu na kilogram badanej substancji, przeważnie tłuszczu. Ilość wtórnych produktów utleniania tłuszczu określa się poprzez wyznaczenie wielkości liczby anizydynowej (LA). Z uzyskanych wartości LN i LA oblicza się wskaźnik

całkowitego utleniania, tzw. wskaźnik totox: $TV = 2 \times LN + LA$. Wtórne produkty utleniania oznacza się również poprzez pomiar ilości substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (ang. *thiobarbituric acid-reactive substances*, TBARS) (Kishk i Al-Sayed 2007; Sun i Gunasekaran 2009; Qiu i in. 2015; Julio i in. 2015; Fernandez-Avila i in. 2016). Wtórne produkty utleniania tłuszczu analizuje się też selektywnie, głównie metodą chromatograficzną (Berton i in. 2012; Cui i in. 2014; Yi i in. 2014; Jiménez-Martín i in. 2015). Zmiany chemiczne białek pod wpływem utleniania odnosi się najczęściej do takich produktów jak aldehydy i ketony, ponieważ powstające wodoronadtlenki są nietrwałe i stosunkowo szybko ulegają rozpadowi pod wpływem: światła, podwyższonej temperatury, związków redukujących i jonów metali. Do oznaczania powstających grup karbonylowych w białkach stosuje się zwykle 2,4-dinitrofenylohydrazynę, a powstający w reakcji addycji 2,4-dinitrofenylohydrazon oznacza się spektrofotometrycznie (Qiu i in. 2015; Yang i Xiong 2015).

W badaniach eksperymentalnych zauważono m.in., że ilość pierwotnych i wtórnych produktów utleniania rozproszonej fazy olejowej zależała w znacznej mierze od temperatury oraz czasu narażenia układu na prooksydacyjne oddziaływanie środowiska. Poyato i in. (2013) zwrócili uwagę, że w czasie przechowywania (0–48 godz.) emulsji o/w (faza tłuszczowa – olej lniany) w temperaturze 65°C wzrost wartości LN mieścił się w zakresie 2,5–15,2 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju oraz 2,5–6,1 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju, przy dodatku butylohydroksytoluenu (BHT) oraz ekstraktu melisy, odpowiednio. Jednocześnie autorzy sugerowali, że zmiany oksydacyjne w przypadku emulsji typu w/o/w wynosiły 2,5–7,6 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju (BHT) oraz 2,5–10,2 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju (ekstrakt melisy). Negatywne oddziaływanie temperatury na stabilność chemiczną fazy olejowej w emulsjach wykazali również Sarkar i in. (2016), którzy dowiedli, że w emulsjach sproszkowanych, przechowywanych przez okres 0–20 tygodni zmiany LN mieściły się w zakresach: 0,5–2,1 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju oraz 0–54 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju, odpowiednio przy przechowywaniu w temperaturze 4°C oraz 35°C. Duży wpływ na intensyfikację procesu utleniania fazy lipidowej ma obecność metali przejściowych. Alexa i in. (2011) ocenie poddali mieszaniny wodno-olejowe (olej kukurydziany) w proporcji 40 : 60. Autorzy wykazali, że dodatek do układu jonów miedzi (Cu^{2+}), w zakresie stężeń 0–5 mM, w postaci niezwiązanej lub kompleksów z alginianem sodu, powodował zmiany oksydacyjne fazy lipidowej (po 7 dniach przechowywania) wyrażone wartościami LN : 2,5–17,4 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju lub 2,4–13,1 meq $O_2 \cdot kg^{-1}$ oleju, odpowiednio. W literaturze przedmiotu zwraca się też uwagę na wpływ pH, szczególnie w układach stabilizowanych polielektrolitami (białka, polisacharydy). Kargar i in. (2012) wykazali, że emulsje typu Pickering (20% w/w olej słonecznikowy), stabilizowane mikrokrystaliczną celulozą w zakresie stężeń 0,5–2,5% (w/w), charakteryzowały się zróżnicowaną stabilnością chemiczną przy pH 4 i 6. Autorzy wykazali ponadto, że niezależnie od pH ilość powstających zarówno pierwotnych, jak i wtórnych produktów utleniania malała wraz z rosnącym stężeniem mikrokrystalicznej celulozy. Do innych czynników, mających wpływ na stabilność chemiczną układów emulsyjnych, należy zaliczyć wielkość ładunku elektrycznego membrany tworzonej na cząstkach fazy rozproszonej. Gudipati i in. (2010) zwrócili uwagę, że krople oleju pokryte membranami dwuwarstwowymi (ang. *two-layered interfacial membranes*) o wartości $\zeta = +56,27$ mV charakteryzowały się większą stabilnością chemiczną niż odpowiednie z membranami jednowarstwowymi (ang. *single layered membra-*

ne) z ładunkiem $\zeta = -45,13$ mV lub trzywarstwowymi (ang. *three-layered interfacial membranes*) $\zeta = -24,8$ mV.

Yang i Xiong (2015) oceniali przydatność białek miofibrylarnych (pozyskiwanych z mięsa wieprzowego) do stabilizacji emulsji o/w, w tym przeciwdziałanie oksydacyjnym zmianom zdyspergowanego oleju sojowego. Autorzy wykazali, że białka miofibrylarne charakteryzowały się większą podatnością na utlenianie niż faza tłuszczowa, głównie z uwagi na obecność grup tiolowych, co jednocześnie wskazuje na ich dużą skuteczność antyoksydacyjną w warunkach użycia ich do tworzenia membran ochronnych na cząstkach oleju. W badaniach Qiu i in. (2015) z kolei przedstawiono przydatność: gliadyny (białko znajdujące się w glutenie), kazeinianu sodu oraz białek serwatki do stabilizacji emulsji o/w. Autorzy wykazali, że zmiany oksydacyjne białek były wyraźnie zależne od ich rodzaju oraz pH układu i czasu przechowywania.

8.3. Przeciwutleniacze

Spożywanie produktów zawierających reaktywne formy tlenu, przy jednoczesnej limitowanej zawartości przeciwutleniaczy, przyczynia się do rozwoju m.in. chorób nowotworowych, serca i neurodegeneracyjnych (Parkinsona, Alzheimer, stwardnienia rozsianego), co jest związane z wieloma niekorzystnymi reakcjami biochemicznymi zachodzącymi w komórkach organizmu (np. uszkodzenia błon komórkowych, zmiany strukturalne i funkcjonalne białek enzymatycznych i nieenzymatycznych, zaburzenia w budowie DNA) (Gutowicz 2011).

Emulsje, podobnie jak inne produkty spożywcze, zawierają składniki o właściwościach przeciwutleniających, które wprowadzane są wraz z surowcem użytym do ich przygotowania oraz bardzo często również w postaci dozwolonych substancji dodatkowych, w celu zwiększenia trwałości układu. W literaturze przedmiotu wielu autorów zamiast słowa przeciwutleniacz stosuje, transponując z języka angielskiego, termin „antyoksydant” (ang. *antioxidant*), dlatego też w dalszej części pracy te dwa pojęcia będą używane zamiennie. Przeciwutleniacze można podzielić, biorąc pod uwagę właściwości do interakcji w układzie, na: pierwotne – pierwszorzędowe (ang. *primary antioxidants*) i wtórne – drugorzędowe (ang. *secondary antioxidants*). Mechanizm działania przeciwutleniaczy pierwszorzędowych polega głównie na zmiataniu wolnych rodników oraz przerywaniu łańcuchowej reakcji autooksydacji, natomiast drugorzędowych związany jest m.in. z: (i) chelatowaniem jonów metali przejściowych; (ii) zmiataniem tlenu (ang. *scavenging oxygen*); (iii) pochłanianiem światła z zakresu ultrafioletu; (iv) odtwarzaniem aktywności przeciwutleniaczy pierwszorzędowych (ang. *replenishing to primary antioxidants*); (v) wygaszaniem tlenu singletowego (ang. *quenching singlet oxygen*) oraz (vi) działaniem ułatwiającym rozpad nadtlenków (wodoronadtlenków) do produktów niebędących rodnikami. Do naturalnych pierwszorzędowych przeciwutleniaczy o dużej aktywności oddziaływania zalicza się m.in.: kwas askorbinowy i jego pochodne, tokoferole i polifenole, natomiast syntetycznych: estry kwasu galusowego, butylohydroksyanizol (E 320), BHT (E 321), tert-butylohydrochinon (E 319), mających status dozwolonych substancji dodatkowych, których użycie jest regulowane odpowiednimi dokumentami normatywnymi (podroz

dział 2.2.4). W grupie przeciwutleniaczy wtórnych znajdują się m.in.: lecytyna, witamina E i karotenoidy (Genot i in. 2003; Zou i Akoh 2015; Thong i in. 2016). Przeciwutleniacze charakteryzuje się m.in. poprzez ocenę: ich zdolności antyoksydacyjnej (ang. *antioxidant capacity*), aktywności antyoksydacyjnej (ang. *antioxidant activity*) oraz potencjału antyoksydacyjnego (ang. *antioxidant potential*). Zdolność antyoksydacyjną odnosi się najczęściej do liczby przekazywanych elektronów albo molekuł inaktywowanych przez jeden mol przeciwutleniacza, w określonych warunkach, po ustaleniu się stanu równowagi w układzie. Pod pojęciem antyoksydacyjnej aktywności rozumie się stężenie antyoksydanta, które może spowodować oczekiwaną szybkość oddziaływania przeciwutleniającego i osiągnięcie zamierzonego efektu. Uważa się, że aktywność antyoksydacyjną można wyznaczać poprzez analizę wielkości entalpii dysocjacji wiązań (ang. *bond dissociation enthalpy*) i potencjału jonizacyjnego. Uzyskane wyniki interpretuje się w ten sposób, że im mniejsze są te dwie wymienione wielkości, tym szybciej zachodzi proces dysocjacji lub odszczepienia elektronu i większe są interakcje z wolnymi rodnikami, a tym samym wzrasta aktywność antyoksydacyjna przeciwutleniacza. Stosunkowo mało czytelne jest określenie „potencjał antyoksydacyjny”, które może być tłumaczone jako możliwość przeciwutleniacza do wygaszania wolnych rodników w określonych warunkach. Jednocześnie w literaturze przedmiotu podkreśla się, że termin ten jest w pewnej sprzeczności z odpowiednim definiowanym jako potencjał termodynamiczny (ang. *thermodynamic potential*) i dlatego może być pojęciem kontrowersyjnym (Mazzone i in. 2013; Schaich i in. 2015; Bakhouché i in. 2015).

Zdolność i aktywność antyoksydacyjna oraz potencjał antyoksydacyjny charakteryzują się też wielkościami: (i) całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (ang. *total antioxidant capacity*) jako całkowitej zdolności do zmiatania wolnych rodników; (ii) całkowitej aktywności antyoksydacyjnej (ang. *total antioxidant activity*) oraz (iii) całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (ang. *total antioxidant potential*). W literaturze przedmiotu stosuje się też pojęcia: (i) całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (ang. *total antioxidant capability*); (ii) całkowitej reaktywności przeciwutleniającej (ang. *total antioxidant reactivity*) oraz (iii) całkowitego statusu antyoksydacyjnego (ang. *total antioxidant status*). Wysokie wartości opisanych powyżej parametrów mają ważne znaczenie technologiczne, ponieważ wskazują na ochronne oddziaływanie emulsji, szczególnie w zakresie zmian oksydacyjnych składników znajdujących się w układzie. Wyróżnia się dwa sposoby oznaczania aktywności antyoksydacyjnej ze względu na mechanizm reagowania przeciwutleniaczy. Pierwszy dotyczy przeniesienia pojedynczego elektronu (ang. *single electron transfer*, SET) i w tym zakresie wyróżnia się metody: (i) redukcji jonów Cu^{+2} do Cu^{+1} (ang. *cupric ion reducing antioxidant capacity*, CUPRAC); (ii) redukcji Fe^{+3} do Fe^{+2} (ang. *ferric reducing-antioxidant power*, FRAP); (iii) ABTS (skrót od soli amonowej kwasu 2,2'-azyno-bis (3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego); (iv) DPPH (skrót od 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu); (v) Folina-Ciocalteu (ang. *Folin-Ciocalteu method*, F-C); (v) DPMD (skrót od dichlorodorku dimetylo-*p*-fenyldiaminy). Drugi natomiast związany jest z przeniesieniem atomu wodoru (ang. *hydrogen atom transfer*, HAT), który zachodzi w takich metodach jak: (i) ORAC (ang. *oxygen radical absorbance capacity*) oraz (ii) TRAP (ang. *total radical-trapping antioxidant parameter*) i (iii) CBA (ang. *crocin bleaching assay*) (Genot i in. 2003; Poyato i in. 2013; Mazzone i in. 2013; Schaich i in. 2015;

Thong i in. 2016). W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele przykładów wyjaśniających mechanizmy oddziaływania przeciwutleniaczy (AH). Uważa się, że mechanizm SET związany z redukcją jonów metali (M) oraz rodników X^\bullet może przebiegać według schematu: (i) $X^\bullet + AH \rightarrow X^- + AH^+$; (ii) $AH^+ + H_2O \leftrightarrow A^\bullet + H_3O^+$; (iii) $X^- + H_3O^+ \rightarrow XH + H_2O$; (iv) $M(III) + AH \rightarrow AH^+ + M(II)$. Reakcje te zachodzą powoli i zależne są od pH i obecności jonów metali. Mechanizm HAT z kolei odnosi się do reakcji: $X^\bullet + AH \rightarrow XH + A^\bullet$, zachodzących stosunkowo szybko i tylko w pewnym zakresie zależnym od pH rozpuszczalnika oraz obecności substancji redukujących, np. metali, które mogą zawyżać wynik (Prior i in. 2005; Schaich i in. 2015). W opracowaniach naukowych znaleźć można również inne interpretacje mechanizmu antyoksydacyjnego oddziaływania przeciwutleniaczy. Sugeruje się, że w odniesieniu do związków fenolowych i tokoferoli (ArOH) może on mieć następujący przebieg: (i) $ArOH \rightarrow ArO^\bullet + H^\bullet$, homolityczne przeniesienie atomu wodoru (ang. *homolytic hydrogen atom transfer*, HAT); (ii) $ArOH \rightarrow ArOH^{\bullet+} + e^-$, $ArOH^{\bullet+} \rightarrow ArO^\bullet + H^+$, przeniesienie pojedynczego elektronu – przeniesienie protonu (ang. *single electron transfer – proton transfer*, SET-PT); (iii) $ArOH \rightarrow ArO^- + H^+$, $ArO^- \rightarrow ArO^\bullet + e^-$, sekwencyjna utrata protonu i przeniesienie elektronu (ang. *sequential proton loss electron transfer*) (Benayahoum i in. 2015; Bakhouché i in. 2015). Wykazano, że mechanizm wygaszania rodników przez tokoferole zależy również od polarności układu, w którym ten proces zachodzi. W matematycznym modelowaniu Bakhouché i in. (2015) posłużyli się zależnościami: $H_2O_{(w)} + e^-_{(g)} \rightarrow H_2O^-_{(w)}$; $H_2O_{(w)} + H^+_{(g)} \rightarrow H_3O^+_{(w)}$; $\Delta G_r(e^-) = \Delta G(H_2O^-_{(w)}) - \Delta G(H_2O_{(w)}) - \Delta G_g(e^-)$; $\Delta G_r(H^+) = \Delta G(H_3O^+_{(w)}) - \Delta G(H_2O_{(w)}) - \Delta G_g(H^+)$, gdzie: $\Delta G_r(H^+)$ i $\Delta G_r(e^-)$ – energia swobodna ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) protonu i elektronu, odpowiednio; znaczniki w i g oznaczają fazę wodną i gazową, odpowiednio wskazując, że wartości ΔG zależały od polarności środowiska i wynosiły (i) $\Delta G_r(H^+)$: $-857,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (benzen), $-1004 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (woda); (ii) $\Delta G_r(e^-)$: $-1,6 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (benzen), $-89,3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (woda). Uzyskane w pomiarach wielkości oddziaływania przeciwutleniającego określonych substancji często przelicza się na równoważniki Troloksu (ang. *trolox equivalent antioxidant capacity*, TEAC) lub α -tokoferolu (ang. *α -tokoferol equivalent antioxidant capacity*, α -TEAC) (Karmowski i in. 2015). Aktywność przeciwutleniająca substancji pozyskiwanych syntetycznie jest z reguły większa niż odpowiednich naturalnych, jakkolwiek jest to zależne również od wykonywanego testu. Ramsaha i in. (2015) wykazali, że w odniesieniu do inaktywacji rodnika $ABTS^{\bullet+}$ ekstrakt zielonej herbaty charakteryzował się większą aktywnością niż BHT. Niektóre przeciwutleniacze wykazują także działanie synergistyczne, co zauważyli Zou i Akoh (2015) w przypadku α -tokoferolu oraz β -karotenu. Właściwości przeciwutleniające wykazują również biopolimery (białka i polisacharydy) zarówno w formie natywnej, jak i poddane częściowej modyfikacji chemicznej. Duże znaczenie w tym zakresie mają pozyskiwane z białek peptydy oraz aminokwasy. Uważa się, że głównymi aminokwasami białek wykazującymi właściwości przeciwutleniające są: cysteina, tyrozyna, tryptofan, fenyloalanina oraz histydyna. Grupami aktywnymi oddziałującymi przeciwutleniająco są grupy tiolowe ($-SH$) (Singh 2011; Jiang i Xiong 2015; Zhang i in. 2016b).

W literaturze przedmiotu problematyka przeciwutleniającego oddziaływania białek i polisacharydów zajmuje znaczącą pozycję z uwagi na ciągle rosnące zainteresowanie konsumentów żywnością zawierającą wyłącznie naturalne składniki. Charoen i in. (2012) wykazali, że

poziom tworzenia się pierwotnych i wtórnych produktów utleniania tłuszczu w emulsjach o/w był wyraźnie zależny od rodzaju użytego do stabilizacji układu biopolimeru oraz pH. Na przykład przy pH 3 (37°C, przechowywanie bez dostępu światła przez 10 dni) wartość *LN* wynosiła ok.: 5,2, 12,4 i 14,1 mmol/kg oleju, odpowiednio dla układów stabilizowanych: białkami serwatki, SM i GA. Poziom tworzenia się drugorzędowych (heksanalu) produktów utleniania tłuszczu emulsji stabilizowanych gumą arabską był wyższy przy pH 3 niż 7, natomiast w emulsjach zawierających SM lub białka serwatki obserwowano zależności przeciwnie. Wykazano ponadto, że białka serwatki znacznie skuteczniej niż SM i GA przeciwdziałały powstawaniu heksanalu niezależnie od pH układu. Yang i Xiong (2015) dowiedli możliwość stabilizowania emulsji białkami frakcji miofibrylarnej pozyskiwanej z mięsa wieprzowego (1% w/w), gdzie po 24 godz. poziom stężenia sprzężonych dienów wynosił ok. 0,038 mM, natomiast ilość substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym – 0,025 µM. Tabibiazar i in. (2015) wykazali, że emulsje poddane sonifikacji (20% w/w olej kukurydziany, czas przechowywania 30 dni, 40°C) z dodatkiem liofilizowanej BSA charakteryzowały się większą stabilnością chemiczną (mniejsze wartości wskaźnika TBARS) niż odpowiednie przygotowane z użyciem mieszanin BSA i PEG o masie cząsteczkowej 300 lub 10 000. Przeciwwutleniające oddziaływanie membran białkowych tworzonych na kroplach oleju obserwowali również Fernandez-Avila i in. (2016), wskazując na większą skuteczność w tym zakresie izolatu białek sojowych niż pozyskiwanych z grochu. Właściwości przeciwwutleniające mają również MRP. Wang i in. (2013) ocenie poddali MRP uzyskane w wyniku reakcji białek serwatki z ksylozą, glukozą, fruktozą, laktozą, maltozą i sacharozą, wskazując na ich zróżnicowaną aktywność do wygaszania rodników DPPH[•], największą dla zawierających ksylozę i najmniejszą maltozę, przy dodatniej korelacji ze wzrostem pH. Proces modyfikacji chemicznej i fizycznej białek zwiększa ich właściwości przeciwwutleniające. Yin i in. (2014) dowiedli, że białka zawarte w części białkowej jaja poddane fosforylowaniu oraz kompleksowaniu z epigallokatechiną miały prawie 100% skuteczność do zmiatania rodników ABTS^{•+}. W literaturze przedmiotu sugeruje się, że tłuszcz stanowiący cząstki fazy zdyspergowanej może być doskonale chroniony poprzez wytwarzanie na nich wielowarstwowych struktur zawierających biopolimery (białka i polisacharydy) (Gudipati i in. 2010). Lesmes i in. (2010) zauważyli, że w emulsjach zawierających krople oleju pokryte membraną jednowarstwową (kazeinian sodu) oraz dwuwarstwową (laktoferyna – kazeinian sodu) wartość liczby nadtlenkowej po 7 dniach przechowywania (37°C) wynosiła odpowiednio ok. 3,8 oraz 0,9 µM. Podobny trend prewencyjnego oddziaływania membrany dwuwarstwowej autorzy sugerowali również w odniesieniu do powstawania wtórnych produktów utleniania.

9. Zastosowanie emulsji

9.1. Innowacyjne technologie

Układy emulsyjne o różnej budowie i strukturze, dostępne na rynku w postaci typowych produktów spożywczych (np. kremy, majonezy, dipy, jogurty), coraz częściej znajdują zastosowanie w produkcji tzw. żywności projektowanej (ang. *designed food*) (Bortnowska i Makiewicz 2006; Serdaroğlu i in. 2015; McClements 2016). W wielu opracowaniach naukowych znaleźć można wyniki badań dotyczące wprowadzania hydrokoloidów zamiast tłuszczu do niskoenergetycznych emulsji typu majonezowego, w celu zachowania pożądanej konsystencji układu (Chung i in. 2014b; Bortnowska i in. 2014, 2014b; Wu i McClements 2015). Cofrades i in. (2013) wykazali dobrą przydatność emulsji typu woda-w-oleju-w-wodzie (w/o/w) do zastąpienia tłuszczu zwierzęcego roślinnym w drobno rozdrobnionym produkcie mięsnym, co przyczyniło się do obniżenia jego wartości energetycznej oraz zwiększenia odżywczej. Szczególnie przydatne w produkcji żywności projektowanej mogą być obserwacje Lett i in. (2016), którzy zauważyli, że zmniejszenie rozmiaru cząstek fazy tłuszczowej (50→2 μm) w emulsjach powodowało szybsze sygnalizowanie odczucia sytości przez konsumentów. Ostatnie badania dotyczące inżynierii membran pokrywających cząstki fazy rozproszonej wskazują na możliwość ograniczenia poziomu trawienia tłuszczu poprzez modyfikację ich składu. Lopez-Pena i McClements (2015) wykazali, że zastosowanie kationowego biopolimeru ε-polilizyny (ang. *ε-polylysine*, *ε-PL*), w układzie: Tween 20 – ε-PL lub saponiny – ε-PL, umożliwiło obniżenie hydrolitycznego oddziaływania lipazy trzustkowej, odpowiednio o 53 lub 28%. Sugeruje się również, że mikrostrukturalne zmiany w obrębie membran pokrywających fazę rozproszoną mogą umożliwiać kontrolowane uwalnianie komponentów bioaktywnych (również leków) w ściśle pożądanych miejscach przewodu pokarmowego (McClements i Li (2010)). Duże znaczenie praktyczne może mieć kapsułkowanie olejków eterycznych, których składniki wykazują oddziaływanie synergistyczne, co zwiększa zakres i aktywność tych mieszanin do inaktywacji bakterii chorobotwórczych (Calo i in. 2015). Do tej grupy badań zaliczyć również należy użycie przez Perdones i in. (2016) wykazującego właściwości przeciwgrzybicze chitozanu do stabilizacji olejków eterycznych tymianku oraz bazylii. Praktyczne zastosowanie w produkcji żywności projektowanej przypuszczalnie będą miały wyniki badań dotyczących możliwości wykorzystania emulsji typu w/o/w do kontrolowanego uwalniania NaCl z wewnętrznej fazy wodnej. Pawlik i in. (2010) wykazali, że wzrost ciśnienia osmotycznego zewnętrznej fazy wodnej emulsji w/o/w, w wyniku dodatku glukozy w stężeniu 0,14–0,86 M, powodował po 300 s ilości kapsułkowanego NaCl wynoszącą 0,4 pkt% (punktów procentowych). Sapei i in. (2012) z kolei dowiedli, że wysoką stabilność NaCl (>94%, po miesiącu przechowywania w 4°C) w wewnętrznej fazie wodnej emulsji w/o/w można uzyskać poprzez odpowiedni dobór zagęstników o właściwościach żelujących. Cui i in. (2014) uważają, że proces kompleksowania natywnych izolatów białek soi z rutyną skutecznie przeciwdziała procesowi utleniania fazy olejowej. Z doniesienia Nadin i in. (2014)

wynika, że użycie do stabilizacji emulsji typu w/o monostearynianu glicerolu, który tworzy układy typu emulsji typu Pickering, umożliwiło stosunkowo wysoką retencję NaCl.

W literaturze przedmiotu zwraca się uwagę, że w projektowaniu żywności powinno się mieć na względzie stosowanie składników wykazujących jednocześnie różne właściwości funkcjonalne. Bortnowska i in. (2016) uważają, że istnieje możliwość suplementacji białych sosów skrobią oporną typu drugiego, w celu prewencyjnego oddziaływania, szczególnie w zakresie rozwoju chorób nowotworowych jelita grubego. Autorzy dowiedli ponadto, że dodatek skrobi odpornej przyczynia się do zwiększenia stabilności układu emulsyjnego w wyniku tworzenia powłok typu Pickering. Do innych innowacyjnych rozwiązań dotyczących wytwarzania emulsji typu Pickering zaliczyć można zastosowanie: (i) flawonoidów (rutyna, naringenina), które nie tylko dobrze stabilizują dyspersje olejowo-wodne, ale również wykazują działanie prozdrowotne (Duffus i in. 2016); (ii) termicznie inaktywowanych drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*), zawierających 1,3/1,6- β -glukany, oraz bakterii fermentacji mlekowej (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*), co umożliwia wytwarzanie emulsji z tzw. czystą etykietą (ang. *clean label declarations*) (Firoozmand i Rousseau 2016) oraz (iii) białek serwatki poddanych sieciowaniu (Wu i in. 2015). Dickinson (2015) do stabilizacji emulsji użył także mikrożeli o strukturze polimerycznej, niewykazujących cech cząstek ciał stałych stosowanych do wytwarzania emulsji typu Pickering. Mikrozele – zdaniem autora – doskonale nadają się do stabilizacji emulsji olejowo-wodnych, ponieważ wykazują lepkosprężystość i aktywność powierzchniowo-czynną oraz reagują na zmiany pH i temperatury. Wykazano także, że duże znaczenie może mieć produkcja emulsji zawierających zemulgowane olejki eteryczne o właściwościach przeciwbakteryjnych, co zauważyli Wu i in. (2014) w odniesieniu do: *Listeria monocytogenes* Scott A, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7, w układach zawierających olejek tymianku, stabilizowany rozpuszczalnymi polisacharydami soi. Emulsje spożywcze coraz częściej znajdują zastosowanie w produkcji opakowań nadających się do konsumpcji, którymi pokrywane są zarówno produkty świeże, jak i poddane wcześniejszemu przetwarzaniu (owoce, warzywa, sery, przetwory mięsne oraz zbożowe), gdzie spełniają funkcję barierową, przeciwdziałając głównie hydrolytycznemu oddziaływaniu wody i/lub oksydacyjnemu promieniowania świetlnego (Galus i Kadzińska 2015). Do grupy innowacyjnych technologii można też zaliczyć badania Berton-Carabin i in. (2013), którzy wykazali, że skład i mikrostruktura powierzchni międzyfazowej olej-woda mogą być czynnikami regulującymi dyfuzję tlenu do fazy olejowej, a tym samym skutecznie przeciwdziałać jej utlenianiu. Zhang i in. (2016a) jako nośniki probiotycznych bakterii (*Lactobacillus salivarius*) użyli emulsje stabilizowane polimerycznym surfaktantem (ang. *polymeric surfactant*), zawierające po wysuszeniu zestaloną fazę olejową (ang. *solid/oil/water, S/O/W emulsions*). Badania wykazały, że nośniki takie zwiększają stabilność probiotycznych bakterii również w czasie oddziaływania czynników technologicznych, w tym przechowywania.

9.2. Nośniki substancji bioaktywnych i/lub zapachowych

Emulsje są szczególnie przydatne w przemyśle spożywczym jako nośniki labilnych fizycznie i chemicznie składników, wprowadzanych do żywności w celu zwiększenia jej wartości odżywczej i/lub prozdrowotnej oraz walorów sensorycznych. Proces absorpcji substancji bioaktywnych i/lub zapachowych (SBZ) w układach emulsyjnych często w literaturze określany jest mianem kapsułkowania (Nadin i in. 2014; McClements 2015). Zarówno emulsje proste, jak i wielokrotne z uwagi na swoją wielofazowość, tzn. obecność fazy polarnej (woda) i niepolarną (olej), są dobrymi nośnikami lipofilowych i hydrofilowych składników. Emulsje z zewnętrzną fazą wodną tworzą roztwory makroskopowo jednorodne po dodaniu ich do środowiska polarnego, natomiast odpowiednie zawierające fazę olejową w roztworach niepolarnych. Właściwości takie umożliwiają wprowadzanie do żywności składników o przeciwnej polarności. W literaturze przedmiotu sugeruje się również możliwość dokonywania zmian w obrębie faz emulsji oraz powierzchni międzyfazowej. Uważa się, że jako nośniki można stosować układy, w których faza olejowa zawiera cząstki żelu lub tłuszcz w stanie stałym, a także pokryta jest membraną zawierającą cząstki koloidalne, natomiast wodna występuje w postaci żelu albo zżelowana jej postać zawiera cząstki oleju. Ponadto zastosowanie mogą mieć takie struktury jak micelle i ich odwrócone formy, liposomy, w tym zawierające cząstki oleju lub pokryte membraną i inne (McClements 2015; Bai i McClements 2016; Dan 2016). Nośniki SBZ powinny charakteryzować się wysokimi wielkościami takich parametrów jak: (i) pojemność kapsułkowania (ang. *loading capacity*, LC), definiowana jako: $LC = ME/MC$, gdzie: ME – ilość absorbowanej SBZ oraz MC – masa nośnika; (ii) skuteczność kapsułkowania (ang. *loading efficiency*, LE), wyznaczana ze wzoru: $LE = 100 \times [ME(t)/ME(0)]$, gdzie: ME(t) i ME(0) – masa kapsułkowanej SBZ w czasie t i 0, odpowiednio; (iii) efektywność przenoszenia (ang. *delivery efficiency*, DE), którą można obliczyć ze wzoru: $DE = 100 \times [(ME(I) - ME(F))/ME(I)]$, gdzie: ME(I) i ME(F) – masa początkową kapsułkowanych SBZ i końcowa w określonym miejscu przeznaczenia. Ponadto w ocenie nośnika SBZ należy uwzględniać takie charakterystyki, jak: (i) mechanizm przenoszenia (ang. *delivery mechanism*), czyli podatność nośnika do uwalniania SBZ pod wpływem czynników środowiskowych (pH, siła jonowa, temperatura, aktywność enzymatyczna); (ii) skuteczność ochrony przed degradacją chemiczną oraz (iii) biodostępność (McClements i Li. 2010; Bai i McClements 2016). Dobrym wskaźnikiem opisującym kinetykę uwalniania SBZ jest czas zaniku o połowę ($t_{1/2}$) ilości substancji bioaktywnej i/lub zapachowej znajdującej się w nośniku, co dla układów zawierających cząstki kuliste można opisać równaniem: $t_{1/2} = 0,0585 \times (r^2 K_{DC}/D_m)$, gdzie: r – promień cząstki fazy rozproszonej, K_{DC} – współczynnik podziału, określający stosunek stężeń substancji bioaktywnej w fazie rozproszonej i ciągłej; D – współczynnik dyfuzji molekularnej. Równanie to wskazuje, że dla substancji znajdującej się w fazie wewnętrznej układu emulsyjnego czas połowicznego zaniku wzrasta ze zwiększającym się promieniem r , współczynnikiem podziału (K_{DC}) oraz zmniejszającą się wielkością D .

Do składników bioaktywnych wymagających szczególnego zabezpieczenia w zakresie stabilności fizycznej oraz chemicznej należą m.in.: (i) lipidy proste i złożone, a w tym zawierające reszty polienowych kwasów tłuszczowych z grupy n-3 (α -linolenowy, eikozapentaeno-

wy, dokozaheksaenowy); (ii) alkohole lipidowe zaliczane do nieglicerydowych składników tłuszczów, głównie z grupy steroli roślinnych, tzw. fitosterole (kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol); (iii) karotenoidy (likopen, luteina, zeaksantyna, astaksantyna, β -karoten; (iv) polifenole, a szczególnie flawonoidy (flawony, flawonole, flawanole, flawanony, izoflawony, antocyjany); (v) witaminy (A, B, C, D, E, K), a ponadto: białka, peptydy, aminokwasy, składniki mineralne, witaminy, koenzymy i prebiotyki (McClements 2007; Bernal i in. 2011; Saberi i in. 2014; Bortnowska 2015a, 2015b; Julio i in. 2015).

W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele opracowań naukowych dotyczących oceny możliwości zastosowania emulsji prostych o różnej budowie i wymiarach cząstek fazy wewnętrznej jako nośników następujących substancji: (i) polifenoli, co wykazali Davidov-Pardo i in. (2016) w odniesieniu do luteiny oraz Pan i in. (2015) w odniesieniu do kurkuminy na nośniku typu o/w; (ii) fitosteroli (β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, brassikasterol) z użyciem mikroemulsji jako nośnika (Fisher i in. 2013); (iii) karotenoidów (luteiny) (Davidov-Pardo i in. 2016) oraz (iv) witaminy E (Yang i McClements 2013). Istotne znaczenie mają też w tym zakresie emulsje wielokrotne stosowane jako nośniki: (i) witamin (E i B₂, z użyciem emulsji typu woda-w-oleju-w-wodzie, w/o/w) (Li i in. 2012); (ii) aminokwasów (L-tryptofanu, emulsja typu w/o/w) (Weiss i in. 2005); (iii) probiotyków (bakterii *Lactobacillus rhamnosus*, emulsja typu w/o/w) (Pimentel-González 2009); (iv) składników mineralnych, takich jak: chlorek wapnia, mleczan wapnia, węglan wapnia, emulsja typu w/o/w) (Márquez i Wagner 2010) oraz chlorek magnezu, emulsja typu w/o/w) (Bonnet i in. 2010); (v) związków polifenolowych (procyjanidyny, o różnym stopniu polimeryzacji, od monomerów do pentamerów, emulsja typu w/o/w) (Berendsen i in. 2015). Dużą skutecznością w zakresie przeciwdziałania degradacji labilnych chemicznie substancji bioaktywnych charakteryzują się również emulsje, w których cząstki fazy rozproszonej pokryte są membranami wielowarstwowymi, co wykazali Gudipati i in. (2010) w odniesieniu do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Liu i in. (2016) dowiedli z kolei, że użycie do formowania membran wielowarstwowych kompleksów laktoferyny z polifenolami (kwas chlorogenowy, galusan epigallokatechiny) znacząco wpływało na zwiększenie stabilności chemicznej β -karotenu.

Stabilność SBZ w układzie ocenia się w zależności od ich rodzaju, z zastosowaniem klasycznych metod analitycznych lub obecnie najczęściej chromatograficznych, a w tym (1) gazowej (ang. *gas chromatography*, GC), sprzężonej z różnymi detektorami, np.: (i) płomienio-jonizacyjny (ang. *flame ionization detector*, FID); (ii) wychwytu elektronów (ang. *electron capture detector*, ECD); (iii) spektrometrii mas (ang. *mass spectrometry*) oraz (2) wysokosprawnej chromatografii cieczowej (ang. *high performance liquid chromatography*, HPLC) z zastosowaniem: (i) detektora fotodiodowego (ang. *photodiode array detector*, PAD); (ii) tandemowego spektrometru mas (ang. *tandem mass spectrometry*, MS/MS) lub (iii) magnetycznego rezonansu jądrowego (ang. *nuclear magnetic resonance*, NMR) i innych (Jouenne i Crouzet 2000; Bortnowska 2008b; Bernal i in. 2011).

Emulsje mają również ważne znaczenie jako nośniki substancji zapachowych, do których należą odpowiednie wykazujące właściwości bioaktywne. Składniki te znacznie różnią się właściwościami fizykochemicznymi, takimi jak: masa molowa, temperatura wrzenia, objętość molowa oraz rozpuszczalność (Jouenne i Crouzet 2000; Seuvre i in. 2007; Bortnowska 2012).

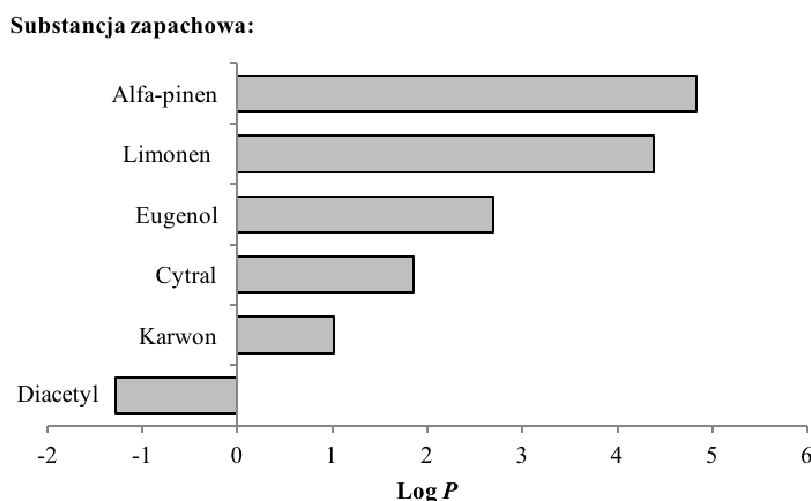
Jednym z częściej stosowanych wskaźników określających poziom rozpuszczalności w fazie polarnej i niepolarniej substancji zapachowej jest współczynnik podziału (ang. *oil-water partition coefficient*, P_{OW}), wyrażony zależnością (Bortnowska 2008b):

$$P_{OW} = C_o/C_w$$

gdzie: C_o – stężenie substancji zapachowej w fazie olejowej;

C_w – stężenie substancji zapachowej w fazie wodnej.

Logarytm współczynnika podziału ($\log P$) jest miarą hydrofobowości substancji zapachowej, powszechnie stosowaną w literaturze przedmiotu w celu oceny rozpuszczalności składnika lotnego w określonej fazie emulsji. Wartość tego parametru wyznacza się zarówno w odniesieniu do oleju jako substancji hydrofobowej, jak i n-butanolu, dlatego faza odniesienia musi być zawsze zdefiniowana (Jouenne i Crouzet 2000). Substancje zapachowe różnią się znacznie wielkością $\log P$, co porównawczo przedstawiono na ryc. 34.



Ryc. 34. Porównanie wielkości $\log P$ w zależności od rodzaju substancji zapachowej (badania własne)

Wielkość $\log P$ określa rozpuszczalność w fazie polarnej i niepolarniej, jak również w pewnym zakresie niezbędne proporcje tych faz umożliwiające immobilizację komponentu lotnego. Nongonierma i in. (2006) wykazali, że rozpuszczalność w wodzie zależała od hydrofobowości substancji zapachowych, która wyraźnie zmniejszała się wraz ze wzrostem $\log P$ (tabela 2).

Tabela 2. Rozpuszczalność (R) wybranych substancji zapachowych w wodzie (4°C) w zależności od $\log P$

Nazwa substancji	Log P	R (g·l ⁻¹)
Octan etylu	0,68	62,9
Izomaślan etylu	1,60	10,8
Maślan etylu	1,73	8,4
Heksanal	1,89	8,7
Heksanian etylu	2,79	1,35
Oktanian etylu	3,84	0,022

Wg Nongonierma i in. (2006).

Przyjmuje się, że podstawowym wskaźnikiem wyznaczającym zakres oddziaływania układu emulsyjnego na stabilność substancji zapachowej jest współczynnik podziału (ang. *partition coefficient gas – emulsion system*, K_{GE}), wyznaczany w stanie termodynamicznej równowagi faz z równania (De Roos 2003):

$$K_{GE} = C_G/C_E$$

gdzie: C_G i C_E – stężenie substancji zapachowej w fazie gazowej i emulsyjnej.

Wyznaczone wartości K_{GE} , są miarą lotności substancji zapachowych zależnej od składu i temperatury układu. Istotne znaczenie w ocenie wielkości K_{GE} ma uwalnianie się substancji zapachowych z poszczególnych faz emulsji. W badaniach eksperymentalnych Landy i in. (2007) wykazali, że lotność substancji zapachowych uwalnianych z oleju zmniejszała się wraz ze wzrostem wskaźnika $\log P$ (tabela 3).

Tabela 3. Wartości współczynnika podziału (faza gazowa – faza olejowa, K_{GO}) wybranych substancji zapachowych w zależności od $\log P$, w temperaturze 70°C

Nazwa substancji	Log P	$K_{GO} \times 10^{-5}$
Aldehyd octowy	-0,16	2890
Mrówczan metylu	-0,23	1883
Butanol	0,88	161
Octan etylu	0,71	546
Heksanal	1,97	84
Maślan etylu	1,77	113
Oktanol	3,00	7,5
Nonanal	3,56	6,1
Dekanal	4,09	1,3

Wg Landy i in. (2007).

W literaturze przedmiotu podjęto wiele prób matematycznego opisu zjawisk związanych ze stabilnością i uwalnianiem się substancji zapachowych z układów emulsyjnych. Harrison i in. (1997) zaproponowali model charakteryzujący K_{GE} w zależności od stężenia objętościowego cząstek fazy rozproszonej w stanie międzyfazowej równowagi termodynamicznej:

$$K_{GE} = K_{GC}/1 + [(K_{DC} - 1) \times \Phi_V]$$

gdzie: K_{GC} oraz K_{DC} – równowagowy współczynnik podziału pomiędzy fazą gazową i ciągłą oraz rozproszoną i ciągłą, odpowiednio;

Φ_V – ułamek objętościowy rozproszonej frakcji olejowej.

Przedstawiona powyżej zależność może mieć zastosowanie zarówno do emulsji o/w, jak i w/o, jednocześnie wskazuje się, że służy ona jedynie do wstępnej oceny, ponieważ nie uwzględnia wielu innych właściwości układu emulsyjnego, do których m.in. należą: (i) stężenie powierzchniowe substancji zaadsorbowanych na cząstkach fazy rozproszonej; (ii) grubość membrany międzyfazowej; (iii) rodzaj i stężenie składników zagęszczająco-stabilizujących w fazie ciągłej lub rozproszonej emulsji o/w lub w/o; (iv) pH i siła jonowa układu, ponadto brak jest również odniesienia do innych struktur takich jak np. emulsje wielokrotne. Van Ruth i in. (2002) dowiedli, że lotność substancji zapachowych zależała także od średnicy kropeł

oleju w emulsjach o/w. Obserwowano przy tym, że wzrost wielkości D[3,2] oraz log P przyczyniały się w zdecydowanej większości do zmniejszania K_{GE} (tabela 4).

Tabela 4. Wartości współczynnika podziału pomiędzy fazą gazową i emulsyjną (K_{GE}) w zależności od średnicy cząstek (D[3,2]) oraz log P substancji zapachowych

Nazwa substancji	Log P	$K_{GE} \times 10^{-3}$	
		D[3,2] = 0,60 μm	D[3,2] = 1,10 μm
Octan etylu	0,73	6,93	4,89
Diacetyl	0,80	1,95	1,79
Octan propylu	1,24	3,90	2,63
Heksanal	1,78	1,53	0,95
Maślan etylu	1,90	2,09	1,55
2-Heptanon	1,98	0,87	0,67
Oktanal	2,03	0,28	0,16
α -Pinen	3,27	0,90	0,52

Wg Van Ruth i in. (2002).

Wykazano ponadto, że znaczna liczba składników emulsji, a szczególnie białka, może wchodzić w różne interakcje z substancjami zapachowymi o charakterze zarówno wiązań kowalencyjnych, jak i niespecyficznych (oddziaływanie hydrofobowe, elektrostatyczne). Jung i Ebeler (2003) wykazali, że w roztworach wodnych dodatek β -laktoglobuliny istotnie obniżał ($p < 0,05$) lotność: heksanianu etylu, 2-heptanonu oraz heksanalu w porównaniu do octanu izoamylu, natomiast dodatek katechiny zmniejszał o 10–20% lotność heksanianu etylu i heksanalu oraz zwiększał o ok. 15% 2-heptanonu. Harrison i Hills (1997) opracowali model matematyczny pozwalający na ocenę wielkości współczynnika podziału (ang. *equilibrium effective partition coefficient*, K_{GE}^{eff}) w obecności biopolimerów wchodzących w interakcje z substancjami zapachowymi:

$$K_{GE}^{\text{eff}} = K_{GE} / (1 + K_B \cdot C_B)$$

gdzie: K_{GE} – równowagowy współczynnik podziału pomiędzy fazą gazową i emulsyjną bez dodatku substancji wchodzących w interakcje;

K_B – współczynnik określający zakres interakcji pomiędzy składnikiem lotnym i makrocząsteczką w stanie równowagi;

C_B – stężenie składnika wchodzącego w interakcje z substancją zapachową.

Analiza zmiennych niezależnych tego równania wskazuje, że wartości K_{GE}^{eff} maleją wraz ze wzrostem stężenia oraz aktywności substancji wchodzącej w interakcje z lotnymi składnikami zapachowymi. Harrison i Hills (1997) wykazali, że przy wzroście (0–200) iloczynu $K_B \cdot C_B$ wartości współczynnika podziału (K_{GE}^{eff}) pomiędzy fazą gazową (G) i wodną (W), czyli zewnętrzną fazą emulsji o/w, przygotowanych z dodatkiem estrów sacharozy, zmieniały się w zakresach: $3,2 \times 10^{-4}$ – $2,1 \times 10^{-6}$ oraz $6,4 \times 10^{-3}$ – $4,8 \times 10^{-5}$, odpowiednio dla diacetylu oraz 2-heptanonu. Wyznaczenie wartości stałej K_B jest stosunkowo trudne, z uwagi na wiele czynników jednocześnie wpływających na ten parametr, a uzyskane wyniki należy odnosić do ściśle określonych warunków pomiaru, dlatego w literaturze przedmiotu stosuje się też pojęcie pozornej stałej wiązania (ang. *apparent binding constant*, K_{BA}). Jouenne i Crouzet (2000) dowiedli, że przy wzroście stężenia ($2,17$ – $4,35 \times 10^{-4}$ M) BLG (25°C, pH 3) wartości K_{BA} dla

limonenu oraz β -jononu wynosiły odpowiednio: $2,61\text{--}3,21 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ oraz $520\text{--}540 \text{ M}^{-1}$. Dla porównania K_{BA} odnośnie do α -jononu przy stężeniu BLG $4,35 \times 10^{-4} \text{ M}$ wynosiły zaledwie 170 M^{-1} . Wyniki te wskazują, że dominującą formą interakcji były oddziaływania hydrofobowe, przy czym wpływ miała też struktura substancji zapachowych. W przedstawionym opracowaniu Jouenne i Crouzet (2000) zwrócili też uwagę, że zakres interakcji zależał od pH (3–11) układu (BLG $2,17 \times 10^{-4} \text{ M}$; 25°C), a uzyskane wartości K_{BA} dla: α -jononu, β -jononu i limonenu mieściły się odpowiednio w zakresach: 170–185, 520–670, 2600–1180 M^{-1} . Zróżnicowane wartości stałej K_{BA} związane były przypuszczalnie ze zmieniającym się zakresem oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy poszczególnymi substancjami zapachowymi i BLG. Harrison i Hills (1997) uważają, że wpływ interakcji pomiędzy składnikami lotnymi i emulsji na wielkość K_{GE}^{eff} może być zauważony, jeżeli w układzie znajduje się niewielkie stężenie substancji zapachowych, ponieważ przy ich dużej zawartości w procesie uwalniania udział biorą głównie cząsteczki znajdujące się w stanie niezwiązany. W literaturze przedmiotu znaleźć można wiele badań eksperymentalnych dotyczących wyznaczania lotności substancji zapachowych z układów emulsyjnych lub poszczególnych ich faz. Terta i in. (2006) wykazali, że wartości współczynnika podziału limonenu ($\log P = 4,57$) oraz trans-2-heksenalu ($\log P = 1,58$) z żelu zawierającego 2% (w/w) alginianu glikolu propylenowego wynosiły odpowiednio: $2,26 \times 10^{-3}$ oraz $1,98 \times 10^{-3}$, natomiast przy tej samej zawartości gumy arabskiej: $2,24 \times 10^{-3}$ i $1,99 \times 10^{-3}$. Limonen należy do monoterpenu, natomiast trans-2-heksenal jest aldehydem, dlatego mógł wchodzić w szerszy zakres interakcji z zagęstnikami, co przypuszczalnie wpływało na jego mniejszą lotność, niezależnie od użytej matrycy żelowej. Z opracowania Bortnowskiej (2008b) wynika natomiast, że zmiana pH (3–9) w emulsjach (20% w/w olej rzepakowy) stabilizowanych żółtkiem jaja (2% w/w) wpływała na wartości K_{GE} diacetylu w zakresie $3,78\text{--}2,81 \times 10^{-3}$, natomiast dodatek NaCl (0,5–2% w/w) kształtował K_{GE} od 3,05 do $5,31 \times 10^{-3}$. Badania wykonane na tych samych matrycach aromatyzowanych (–) α -pinenem wykazały wartości K_{GE} : $6,24\text{--}3,09 \times 10^{-3}$ oraz $3,97\text{--}1,19 \times 10^{-3}$, odpowiednio przy zmianie pH i siły jonowej układu.

Ważnym zagadnieniem w ocenie stabilności substancji zapachowych jest wyznaczanie dynamiki ich uwalniania się z fazy emulsyjnej do nadpowierzchniowej. W literaturze przedmiotu uważa się, że strumień J_E (ang. *mass flux*, $\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$) składnika, czyli masa substancji zapachowej przepływająca przez jednostkowy przekrój w czasie z fazy emulsyjnej do fazy gazowej w układzie zamkniętym, może być opisany wzorem (De Roos 2003; Bortnowska 2010):

$$J_E = K_E \times [(C_G/K_{GE}) - C_E]$$

gdzie: K_E – współczynnik przenikania masy (ang. *mass transfer coefficient*) w układzie emulsyjnym, pozostałe oznaczenia jak powyżej.

Juteau i in. (2004) uważają, że $K_E = f(D)$ może być wyrażony zależnością: $K_E = 2 \times (D_m/\pi Te)^{1/2}$, gdzie: Te – czas kontaktu uwalnianych z układu emulsyjnego molekuł z fazą gazową. Z przeglądu literatury wynika, że wartości współczynnika dyfuzji molekularnej (D_m , $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) najczęściej wynoszą: 10^{-5} i $10^{-9} \text{ m}^2\cdot\text{s}^{-1}$, odpowiednio w fazie gazowej i ciekłej. War-

tość D_m dla składnika lotnego w fazie ciekłej może być wyznaczona z równania Wilke i Chang (Seuvre i in. 2007):

$$D_m = 7,4 \times 10^{-12} \times (\varphi \times M_B)^{0,5} \times T/\eta_B \times V_A^{0,6}$$

gdzie: M_B – masa cząsteczkowa rozpuszczalnika;

T – temperatura bezwzględna;

η_B – lepkość rozpuszczalnika;

V_A – objętość molowa składnika lotnego w temperaturze wrzenia;

φ – parametr określający zakres asocjacji cząsteczek rozpuszczalnika.

W fazie gazowej wartości współczynnika wyznacza się z zależności:

$$D_m = \{ [3,03 \times (0,98/M_{AB}^{0,5})] 10^{-3} T^{1,5} / P M_{AB}^{0,5} \sigma_{AB}^2 \Omega_D \} \times 10^{-4}$$

przy czym $M_{AB} = 2[(1/M_A) + (1/M_B)]^{-1}$ oraz $\sigma_{AB} = 1,18 \times V_A^{1,3}$,

gdzie: M_A i M_B – masy cząsteczkowe składnika lotnego oraz rozpuszczalnika, odpowiednio;

P – ciśnienie;

T – temperatura bezwzględna;

σ_{AB} – charakterystyczna długość;

Ω_D – współczynnik odnoszony do ilości zderzeń cząsteczek będący funkcją temperatury oraz energii molekularnych interakcji.

Seuvre i in. (2007) wykazali, że wartości współczynnika dyfuzji: octanu etylu, maślanu etylu, heksanianu etylu oraz ketonu metylo-izopropylowego w powietrzu (25°C) wynosiły odpowiednio: 0,884, 0,724, 0,611 oraz $0,830 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Natomiast w trioleinianie glicerolu (25°C, $\eta = 67,1 \text{ m} \cdot \text{Pas}$) D przyjmował wartości: 0,59, 0,48, 0,41 oraz $0,55 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Harrison i in. (1997) opracowali matematyczną zależność określającą wpływ stężenia fazy olejowej oraz rozmiarów cząstek fazy rozproszonej na wielkość współczynnika przenikania masy K_E ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$) z układów emulsyjnych:

$$K_E = K_0 \exp\{-b (\ln 10) \times [(1 + s)/2]\} \times (\Phi_V/D[1,0])$$

gdzie: b – wartość stała;

K_0 – współczynnik przenikania masy substancji zapachowej z wody;

b i s – wielkości stałe, wyznaczone eksperymentalnie;

$D[1,0]$ – średnia średnica długościowa;

Φ_V – ułamek objętościowy frakcji rozproszonej.

Wpływ stężenia frakcji olejowej oraz rozmiaru kropelek oleju należy rozpatrywać osobno w odniesieniu do substancji lipofilowych oraz hydrofilowych. Redukcja wymiarów cząstek fazy rozproszonej może przyczynić się do zwiększonego uwalniania substancji niepolarnych z powodu skrócenia drogi dyfuzji. Harrison i in. (1997) wskazują, że czas (t) niezbędny do dyfuzji składnika lotnego na odcinku L może być wyznaczony z zależności: $t = L^2/D$, gdzie: D , współczynnik dyfuzji molekularnej. Oznacza to, że jeżeli kropla oleju ma wymiar $1 \mu\text{m}$, a $D = 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, to czas uwolnienia się cząsteczki lipofilowej substancji zapachowej wynosi ok. 10 ms. Jednocześnie należy mieć na uwadze, że proces zmniejszania wymiaru cząstek fazy olejowej w emulsjach o/w przyczynia się do wzrostu lepkości, co zmniejsza wielkość

współczynnika dyfuzji, a tym samym współczynnika przenikania masy (De Roos 2003; Bortnowska 2010; Bai i McClements 2016).

Obecnie najczęściej stosowaną metodą badawczą pozwalającą na ocenę stabilności substancji zapachowych w emulsji jest analiza chromatograficzna fazy nadpowierzchniowej (ang. *headspace*), która może być wykonywana metodą statyczną (ang. *static headspace*) oraz dynamiczną (ang. *dynamic headspace*) (Kolb i Ettore 1997; Terta i in. 2006; Bortnowska 2008b). Metoda statyczna i dynamiczna często stosowane są równolegle, przy czym uważa się, że statyczna pozwala lepiej identyfikować czynniki wpływające na termodynamiczną stabilność substancji zapachowych, podczas gdy dynamiczna, odpowiednio związana ze stabilnością kinetyczną (Juteau i in. 2004). W metodzie statycznej pobieranie próbek z warstwy nadpowierzchniowej (ang. *headspace sampling*, HS) może być wykonywane igłą nastrzykową lub tzw. techniką mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (ang. *solid phase microextraction*, SPME). Przy zastosowaniu mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej włókno (stopiona krzemionka pokryta polidimetylosiloksanem) jest wysuwane z igły strzykawki i eksponowane w fazie nadpowierzchniowej, następnie po umieszczeniu w igle strzykawki wprowadzane do dozownika chromatografu gazowego, gdzie związki lotne są desorbowane termicznie i przenoszone za pomocą gazu nośnego do kolumny chromatograficznej w celu ich rozdziału (Jung i Ebeler 2003; Jiménez-Martín i in. 2015). Pomiar chromatograficzny wykonywany metodą statycznej analizy fazy nadpowierzchniowej ze spektrometrią mas (ang. *static headspace gas chromatography-mass spectrometry*, SH-GC-MS) pozwala zarówno na kompleksową ocenę wpływu oddziaływania nośnika na lotność substancji zapachowych, jak i na wyznaczenie zakresu ich zmian chemicznych powstających w czasie przechowywania układu emulsyjnego. Metodę statyczną stosowano do oceny stabilności substancji zapachowych różniących się hydrofobowością oraz należących do różnych grup i klas związków chemicznych w układach emulsyjnych prostych o zróżnicowanym składzie, teksturze, pH, sile jonowej i innych. Uzyskane wyniki sugerują, że na lotność substancji zapachowych w układzie mają wpływ m.in.: (i) białka (Jung i Ebeler 2003); (ii) rozmiar cząstek fazy rozproszonej (Van Ruth i in. 2002); (iii) stężenie polisacharydów (Terta i in. 2006); (iv) pH i siła jonowa układu (Bortnowska 2012); (v) hydrofobowość substancji zapachowych oraz temperatura układu (Nongonierma i in. 2006). Metodę dynamiczną z kolei użyto m.in. do oceny kinetyki uwalniania się substancji zapachowych o zróżnicowanej hydrofobowości w odniesieniu do: (i) polisacharydowych żeli (Juteau i in. 2004); (ii) składu fazy tłuszczowej (Landy i in. 2007); (iii) modelowych matryc, w tym emulsji (Seuvre i in. 2007). Wyniki tych badań wskazują, że badania eksperymentalne są obecnie najlepszą formą oceny oddziaływania matrycy na szybkość uwalniania się substancji zapachowych.

Literatura

- Abdolmaleki K., Mohammadifar M.A., Mohammadi R., Fadavi G., Meybodi N.M. 2016. The effect of pH and salt on the stability and physicochemical properties of oil-in-water emulsions prepared with gum tragacanth. *Carbohyd. Polym.* 140, 342–348.
- Adamczyk G., Sikora M., Krystyjan M. 2012. Metody pomiaru właściwości tiksotropowych produktów żywnościowych. *Żyw. Nauka. Tech. Jakość* 3, 19–34.
- Akbulut M., Cemalettin Saricoban C., Ozcan M.M. 2012. Determination of rheological behavior, emulsion stability, color, and sensory of sesame pastes (tahin) blended with pine honey. *Food Bioprocess Technol.* 5, 1832–1839.
- Alexa R.I., Mounsey J.S., O’Kennedy B.T., Jacquier J.-C. 2011. Oxidative stability of water/oil mixtures as influenced by the addition of free Cu²⁺ or Cu–alginate gel beads. *Food Chem.* 129, 253–258.
- Ali Razavi S.M., Alghooneh A., Behrouzian F., Cui S.W. 2016. Investigation of the interaction between sage seed gum and guar gum: Steady and dynamic shear rheology. *Food Hydrocoll.* 60, 67–76.
- Anvari M., Chung D. 2016. Effect of cooling–heating rate on sol-gel transformation of fish gelatin-gum arabic complex coacervate phase. *Int. J. Biol. Macromol.* 91, 450–456.
- Augustin M.A., Hemar Y. 2009. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem. Soc. Rev.* 38, 908–912.
- Augusto P.E.D., Falguera V., Cristianini M., Ibarz A. 2012. Rheological behavior of tomato juice: steady-state shear and time-dependent modeling. *Food Bioprocess Technol.* 5, 1715–1723.
- Bai L., McClements D.J. 2016. Extending emulsion functionality: Post-homogenization modification of droplet properties. *Processes* 4, 1–18.
- Bakhouch K., Dhaouadi Z., Jaidane N., Hammoutché D. 2015. Comparative antioxidant potency and solvent polarity effects on HAT mechanisms of tocopherols. *Comput. Theor. Chem.* 1060, 58–65.
- Batista A.P., Raymundo A., Sousa I., Empis J. 2006. Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocoll.* 20, 44–52.
- Bayarri S., Costell E. 2011. Flow properties of carboxymethylcellulose dairy systems with different fat content. *J. Food Process Eng.* 34, 1903–1914.
- Benayahoum A., Amira-Guebailia H., Houache O. 2015. On the role of ethylene bridge elongation in the antioxidant activity of polyhydroxylated stilbenes: A theoretical approach. *C. R. Chimie* 18, 149–159.
- Berendsen R., Güell C., Ferrando M. 2015. A procyanidin-rich extract encapsulated in water-in-oil-in-water emulsions produced by premix membrane emulsification. *Food Hydrocoll.* 43, 636–648.
- Bernal J., Mendiola J.A., Ibáñez E., Cifuentes A. 2011. Advanced analysis of nutraceuticals. *J. Pharmaceut. Biomed.* 55, 758–774.
- Berton C., Ropers M.H., Bertrand D., Viau M., Genot C. 2012. Oxidative stability of oil-in-water emulsions stabilised with protein or surfactant emulsifiers in various oxidation conditions. *Food Chem.* 131, 1360–1369.
- Berton-Carabin C., Genot C., Gaillard C., Guibert D., Ropers M.H. 2013. Design of interfacial films to control lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocoll.* 33, 99–105.
- Bezelguesa J.-B., Serieye S., Crosset-Perrotin L., Leser M.E. 2008. Interfacial and foaming properties of some food grade low molecular weight surfactants. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 331, 56–62.

- Bonnet M., Cansell M., Placin F., Anton M., Leal-Calderón F. 2010. Impact of sodium caseinate concentration and location of magnesium release from multiple W/O/W emulsions. *Langmuir* 26, 9250–9260.
- Bortnowska G. 2008a. The effect of competitive adsorption between proteins of dried egg yolk and Tween 65 on the stability and microstructure of oil-in-water emulsions. *EJPAU* 11 (3), # 01.
- Bortnowska G. 2008b. *Retencja substancji zapachowych w emulsjach spożywczych typu o/w o różnej zawartości fazy olejowej* [rozprawa habilitacyjna]. Szczecin, Wyd. Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie, 253.
- Bortnowska G. 2010. Influence of thermodynamic and kinetic factors on the retention and release of aroma compounds in liquid food systems – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 60, 4, 301–307.
- Bortnowska G. 2012. Effects of pH and ionic strength of NaCl on the stability of diacetyl and (–)-alpha-pinene in oil-in-water emulsions formed with food-grade emulsifiers. *Food Chem.* 135, 2021–2028.
- Bortnowska G. 2015a. Multilayer oil-in-water emulsions: formation, characteristics and application as the carriers for lipophilic bioactive food components – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 65, 157–166.
- Bortnowska G. 2015b. Emulsyjne nośniki substancji bioaktywnych. *Przem. Spoż.* 69, 40–45.
- Bortnowska G., Makiewicz A. 2006. Technological utility of guar gum and xantan for the production of low-fat inulin-enriched mayonnaise. *Acta Sci. Pol. Tech. Alim.* 5, 135–146.
- Bortnowska G., Tokarczyk G. 2009. Comparison of the physical and sensory properties of model low-fat mayonnaises depending on emulsifier type and xanthan gum concentration. *EJPAU* 12 (3), # 11.
- Bortnowska G., Krzezińska N., Mojka K. 2013. Effects of waxy maize and potato starches on the stability and physicochemical properties of model sauces prepared with fresh beef meat. *Int. J. Food Sci. Tech.* 48, 2668–2675.
- Bortnowska G., Balejko J., Tokarczyk G., Romanowska-Osuch A., Krzezińska N. 2014a. Effects of pregelatinized waxy maize starch on the physicochemical properties and stability of model low-fat oil-in-water food emulsions. *Food Hydrocoll.* 36, 229–237.
- Bortnowska G., Balejko J., Schube V., Tokarczyk G., Krzezińska N., Mojka K. 2014b. Stability and physicochemical properties of model salad dressings prepared with pregelatinized potato starch. *Carbohydr. Polym.* 111, 624–632.
- Bortnowska G., Krudos A., Schube V., Krawczyńska W., Krzezińska N., Mojka K. 2016. Effects of waxy rice and tapioca starches on the physicochemical and sensory properties of white sauces enriched with functional fibre. *Food Chem.* 202, 31–39.
- Bouyer E., Mekhloufi G., Rosilio V., Jean-Louis Grossiord J.-L., Florence Agnely F. 2012. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *Int. J. Pharm.* 436, 359–378.
- Calo J.R., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Steven C., Ricke S.C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – a review. *Food Control.* 54, 111–119.
- Campbell L., Raikos V., Euston S.R. 2005. Heat stability and emulsifying ability of whole egg and egg yolk as related to heat treatment. *Food Hydrocoll.* 19, 533–539.
- Campos B.E., Ruivo T.D., da Silva Scapim M.R., Madrona G.S., de C. Bergamasco R. 2016. Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT-Food Sci. Technol.* 65, 874–883.
- Carrillo C.A., Nypelö T.E., Rojas O.J. 2015. Cellulose nanofibrils for one-step stabilization of multiple emulsions (W/O/W) based on soybean oil. *J. Colloid Interf. Sci.* 445, 166–173.
- Carrillo-Navas H., Hernández-Jaimes C., Utrilla-Coello R.G., Meraz M., Vernon-Carter E.J., Alvarez-Ramirez J. 2014. Viscoelastic relaxation spectra of some native starch gels. *Food Hydrocoll.* 37, 25–33.

- Castellani O., Guibert D., Al-Assaf S., Axelos M., Phillips G.O., Anton M. 2010. Hydrocolloids with emulsifying capacity. Part 1 – Emulsifying properties and interfacial characteristics of conventional (*Acacia senegal* L.) Willd. var. *senegal*) and matured (*Acacia* (sen) SUPER GUMTM). *Acacia Senegal*. *Food Hydrocoll.* 24, 193–199.
- Chang C., Tu S., Ghosh S., Nickerson M.T. 2015. Effect of pH on the inter-relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates. *Food Res. Int.* 77, 360–367.
- Chang C., Niu F., Su Y., Qiu Y., Gu L., Yang Y. 2016. Characteristics and emulsifying properties of acid and acid-heat induced egg white protein. *Food Hydrocoll.* 54, 342–350.
- Chaprenet J., Berton-Carabin C.C., Elias R.J., John N., Coupland J.N. 2014. Effect of interfacial properties on the reactivity of a lipophilic ingredient in multilayered emulsions. *Food Hydrocoll.* 42, 56–65.
- Charoen R., Jangchud A., Jangchud K., Harnsilawat T., Decker E.A., McClements D.J. 2012. Influence of interfacial composition on oxidative stability of oil-in-water emulsions stabilized by biopolymer emulsifiers. *Food Chem.* 131, 1340–1346.
- Chen C.-C., Chen S.-T., Hsieh J.-F. 2015. Proteomic analysis of polysaccharide-milk protein interactions induced by chitosan. *Molecules* 20, 7737–7749.
- Cheng J., Ma Y., Li X., Yan T., Cui J. 2015. Effects of milk protein-polysaccharide interactions on the stability of ice cream mix model systems. *Food Hydrocoll.* 45, 327–336.
- Chung C., Degner B., McClements D.J. 2012. Rheology and microstructure of bimodal particulate dispersions: Model for foods containing fat droplets and starch granules. *Food Res. Int.* 48, 641–649.
- Chung C., Degner B., McClements D.J. 2014a. Development of reduced-calorie foods: Microparticulated whey proteins as fat mimetics in semi-solid food emulsions. *Food Res. Int.* 56, 136–145.
- Chung C., Degner B., McClements D.J. 2014b. Understanding multicomponent emulsion-based products: Influence of locust bean gum on fat droplet – Starch granule mixtures. *Food Hydrocoll.* 35, 315–323.
- Cichosz G., Czeczot H. 2011. Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV, 1, 50–60.
- Claesson P.M., Kjellin M., Rojas O.J., Stubenrauch C. 2006. Short-range interactions between non-ionic surfactant layers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8, 5501–5514.
- Cofrades S., Antoniou I., Solas M.T., Herrero A.M., Jiménez-Colmenero F. 2013. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chem.* 141, 338–346.
- Copeland L., Blazek J., Salman H., Tang M.C. 2009. Form and functionality of starch. *Food Hydrocoll.* 23, 1527–1534.
- Cui Z., Kong X., Chen Y., Zhang C., Hua Y. 2014. Effects of rutin incorporation on the physical and oxidative stability of soy protein-stabilized emulsions. *Food Hydrocoll.* 41, 1–9.
- Dan N. 2016. Transport and release in nano-carriers for food applications. *J. Food Eng.* 175, 136–144.
- Davidov-Pardo G., Gumus C.E., McClements D.J. 2016. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: Influence of pH and temperature on physical and chemical stability. *Food Chem.* 196, 821–827.
- Davidov-Pardo G., McClements D.J. 2015. Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Food Chem.* 167, 205–212.
- Degrand L., Michon C., Bosc V. 2016. New insights into the study of the destabilization of oil-in-water emulsions with dextran sulfate provided by the use of light scattering methods. *Food Hydrocoll.* 52, 848–856.
- De Roos K.B. 2003. Effect of texture and microstructure on flavour retention and release. *Int. Dairy J.* 13, 593–605.

- Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocoll.* 17, 25–39.
- Dickinson E. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocoll.* 23, 1473–1482.
- Dickinson E. 2010. Food emulsions and foams: Stabilization by particles. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 15, 40–49.
- Dickinson E. 2011. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophys.* 6, 1–11.
- Dickinson E. 2012. Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions. *Trends Food Sci. Technol.* 24, 4–12.
- Dickinson E. 2015. Microgels – An alternative colloidal ingredient for stabilization of food emulsions. *Trends Food Sci. Technol.* 43, 178–188.
- Dolz M., Hernández M.J., Delegido J. 2008. Creep and recovery experimental investigation of low oil content food emulsions. *Food Hydrocoll.* 22, 421–427.
- Dörr A., Sadiki A., Mehdizadeh A. 2013. A discrete model for the apparent viscosity of polydisperse suspensions including maximum packing fraction. *J. Rheol.* 57, 743–765.
- Drozdowski B. 2014. Lipidy, w: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy i białka*, red. Z.E. Sikorski. Warszawa, WNT, 73–144.
- Duffus L.J., Norton J.E., Smith P., Norton I.T., Spyropoulos F. 2016. A comparative study on the capacity of a range of food-grade particles to form stable O/W and W/O Pickering emulsions. *J. Colloid Interf. Sci.* 473, 9–21.
- Estévez M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: a review. *Meat Sci.* 89, 259–279.
- Fernández-Ávila C., Escriu R., Trujillo A.J. 2015. Ultra-High Pressure Homogenization enhances physicochemical properties of soy protein isolate-stabilized emulsions. *Food Res. Int.* 75, 357–366.
- Fernández-Ávila C., Arranz E., Guri A., Trujillo A.J., Corredig M. 2016. Vegetable protein isolate-stabilized emulsions for enhanced delivery of conjugated linoleic acid in Caco-2 cells. *Food Hydrocoll.* 55, 144–154.
- Firoozmand H., Rousseau D. 2016. Microbial cells as colloidal particles: Pickering oil-in-water emulsions stabilized by bacteria and yeast. *Food Res. Int.* 81, 66–73.
- Fisher S., Wachtel E.J., Aserin A., Garti N. 2013. Solubilization of simvastatin and phytosterols in a dilutable microemulsion system. *Colloid. Surface B.* 107, 35–42.
- Foudazi R., Qavi S., Masalova I., Ya Malkin A. 2015. Physical chemistry of highly concentrated emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 220, 78–91.
- Galus S., Kadzińska J. 2015. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends Food Sci. Technol.* 45, 273–283.
- Genot C., Meynier A., Riaublanc A. 2003. Lipid oxidation in emulsions, w: *Lipid oxidation pathways*, red. A. Kamal-Eldin. Champaign, AOCS, 191–244.
- Georgieva D., Schmitt V., Leal-Calderon F., Langevin D. 2009. On the possible role of surface elasticity in emulsion stability. *Langmuir* 25, 5565–5573.
- Gharsallaoui A., Yamauchi K., Chambin O., Cases E., Saurel R. 2010. Effect of high methoxyl pectin on pea protein in aqueous solution and at oil/water interface. *Carbohydr. Polym.* 80, 817–827.
- Gomes A., Costa A.L.R., de Assis Perrechil F., da Cunha R.L. 2016. Role of the phases composition on the incorporation of gallic acid in O/W and W/O emulsions. *J. Food Eng.* 168, 205–214.
- Gong K.-I., Shi A.-M., Liu H.-Z., Liu L., Hu H., Adhikari B., Qiang Wang Q. 2016. Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate. *J. Food Eng.* 170, 33–40.
- Gudipati V., Sandra S., McClements D.J., Decker E.A. 2010. Oxidative stability and in vitro digestibility of fish oil-in-water emulsions containing multilayered membranes. *J. Agric. Food Chem.* 58, 8093–8099.

- Guerra-Rosas M.I., Morales-Castro J., Ochoa-Martínez L.A., Salvia-Trujillo L., Martín-Belloso O. 2016. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. *Food Hydrocoll.* 52, 438–446.
- Gutowicz M. 2011. Wpływ reaktywnych form tlenu na ośrodkowy układ nerwowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 65, 104–113.
- Guzey D., McClements D.J. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Adv. Colloid Interface Sci.* 128–130, 227–248.
- Guzey D., McClements D.J. 2007. Impact of electrostatic interactions on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by β -lactoglobulin-pectin complexes. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 475–485.
- Guzun-Cojocar T., Cayot P., Loupiac C., Cases E. 2010. Effect of iron chelates on oil–water interface, stabilized by milk proteins: The role of phosphate groups and pH. Prediction of iron transfer from aqueous phase toward fat globule surface by changes of interfacial properties. *Food Hydrocoll.* 24, 364–373.
- Han J.-A., Lim S.-T. 2012. Effect of γ -irradiation on pasting and emulsification properties of octenyl succinylated rice starches. *Carbohydr. Polym.* 90, 1480–1485.
- Hancocks R.D., Spyropoulos F., Norton I.T. 2016. The effects of membrane composition and morphology on the rotating membrane emulsification technique for food grade emulsions. *J. Membrane Sci.* 497, 29–35.
- Harrison M., Hills B.P. 1997. Mathematical model of flavor release from liquids containing aroma – binding macromolecules. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1883–1890.
- Harrison M., Hills B.P., Bakker J., Clothier T. 1997. Mathematical models of flavor release from liquid emulsions. *J. Food Sci.* 62, 4, 653–658, 664.
- Hebishy E., Buffa M., Guamis B., Anabel Blasco-Moreno A., Trujillo A.-J. 2015. Physical and oxidative stability of whey protein oil-in-water emulsions produced by conventional and ultra high-pressure homogenization: Effects of pressure and protein concentration on emulsion characteristics. *Innov. Food Sci. Emerg.* 32, 79–90.
- Hernández Z.J.E., Figueroa J.D.C., Rayas-Duarte P., Martínez-Flores H.E., Arámbula G.V., Luna G.B., Peña R.J. 2012. Influence of high and low molecular weight glutenins on stress relaxation of wheat kernels and the relation to sedimentation and rheological properties. *J. Cereal Sci.* 55, 344–350.
- Hernández-Estrada Z.J., Figueroa J.D.C., Rayas-Duarte P., Peña R.J. 2012. Viscoelastic characterization of glutenins in wheat kernels measured by creep tests. *J. Food Eng.* 113, 19–26.
- Hoffmann H., Reger M. 2014. Emulsions with unique properties from proteins as emulsifiers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 205, 94–104.
- Hoogenkamp H.W. 2011. Protein performance in emulsion stability. *Fleischwirtschaft Int.* 3, 54–59.
- Houzé G., Cases E., Colas B., Cayot P. 2005. Viscoelastic properties of acid milk gel as affected by fat nature at low level. *Int. Dairy J.* 15, 1006–1016.
- Hu H.-y., Xing L.-j., Hu Y.-y., Qiao C.-l., Wu T., Zhou G.-h., Wan-gang Zhang W.-g. 2016. Effects of regenerated cellulose on oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate. *Food Hydrocoll.* 52, 38–46.
- Huang X., Kakuda Y., Cui W. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocoll.* 15, 533–542.
- Jiang S., Liu C., Han Z., Xiong L., Sun Q. 2016. Evaluation of rheological behavior of starch nanocrystals by acid hydrolysis and starch nanoparticles by self-assembly: A comparative study. *Food Hydrocoll.* 52, 914–922.
- Jiang J., Xiong Y.L. 2015. Role of interfacial protein membrane in oxidative stability of vegetable oil substitution emulsions applicable to nutritionally modified sausage. *Meat Sci.* 109, 56–65.

- Jiménez-Martín E., Gharsallaoui A., Pérez-Palacios T., Carrascal J.R., Rojas T.A. 2015. Volatile compounds and physicochemical characteristics during storage of microcapsules from different fish oil emulsions. *Food Bioprod. Process* 96, 52–64.
- Jones O.G., McClements D.J. 2010. Functional biopolymer particles: design, fabrication, and applications. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 9, 374–397.
- Jouenne E., Crouzet J. 2000. Determination of apparent binding constants for aroma compounds with β -lactoglobulin by dynamic coupled column liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5396–5400.
- Julio L.M., Ixtaina V.Y., Fernández M.A., Sánchez R.M.T., Wagner J.R., Nolasco S.M., Mabel Cristina Tomás M.C. 2015. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of ω -3 fatty acids. *J. Food Eng.* 162, 48–55.
- Jung D.M., Ebeler S.E. 2003. Headspace solid-phase microextraction method for the study of the volatility of selected flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.* 51, 200–205.
- Jurado E., Bravo V., Camacho F., Vicaria J.M., Alejandro Fernández-Arteaga A. 2007. Estimation of the distribution of droplet size, interfacial area and volume in emulsions. *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.* 295, 91–98.
- Juszczak L. 2005. Metody reologiczne w analizie żywności. *Laboratorium – Przegląd Ogólnopolski* 5, 34–39.
- Juszczak L., Witczak M., Fortuna T., Banyś A. 2004. Rheological properties of commercial mustards. *J. Food Eng.* 63, 209–217.
- Juszczak L., Witczak M., Zięba T., Fortuna T. 2012. Rheological behaviour of heated potato starch dispersions. *Int. Agrophys.* 26, 381–386.
- Juteau A., Cayot N., Chabanet C., Doublier J.L. Guichard E. 2004. Flavour release from polysaccharide gels: different approaches for the determination of kinetic parameters. *Trends Food Sci. Tech.* 15, 394–402.
- Kaltsa O., Yanniotis I., Mandala I. 2016. Stability properties of different fenugreek galactomannans in emulsions prepared by high-shear and ultrasonic method. *Food Hydrocoll.* 52, 487–496.
- Karakashev S.I., Manev E.D. 2015. Hydrodynamics of thin liquid films: Retrospective and perspectives. *Adv. Colloid Interface Sci.* 222, 398–412.
- Karaman S., Yilmaz M.T., Dogan M., Yetim H., Kayacier A. 2011. Dynamic oscillatory shear properties of O/W model system meat emulsions: Linear viscoelastic analysis for effect of temperature and oil concentration on protein network formation. *J. Food Eng.* 107, 241–252.
- Karbaschi M., Lotfi M., Krägel J., Javadi A., Bastani D., Miller R. 2014. Rheology of interfacial layers. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 19, 514–519.
- Kargar M., Fayazmanesh K., Alavi M., Spyropoulos F., Norton I.T. 2012. Investigation into the potential ability of pickering emulsions to increase the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *J. Colloid Interf. Sci.* 366, 209–215.
- Karmowski J., Hintze V., Kschonsek J., Killenberg M., Volker Böhm V. 2015. Antioxidant activities of tocopherols/tocotrienols and lipophilic antioxidant capacity of wheat, vegetable oils, milk and milk cream by using photochemiluminescence. *Food Chem.* 175, 593–600.
- Kaur B., Ariffin F., Bhat R., Karim A.A. 2012. Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocoll.* 26, 398–404.
- Khan N.M., Mu T.-H., Zhang M., Arogundade L.A. 2014. The effects of pH and high hydrostatic pressure on the physicochemical properties of a sweet potato protein emulsion. *Food Hydrocoll.* 35, 209–216.
- Kiljański T. 2014. Metody pomiaru własności lepkosprężystych. *Inż. Ap. Chem.* 53, 344–346.
- Kishk Y.F.M., Al-Sayed H.M.A. 2007. Free-radical scavenging and antioxidative activities of some polysaccharides in emulsions. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 40, 270–277.

- Koh S.-P., Arifin N., Tan C.-P., Yusoff M.S. A., Long K., Idris N.A., Lai O.-M. 2008. Rheological properties, oxidative stability and sensory evaluation of enzymatically synthesized medium- and long-chain triacylglycerol-based salad dressings. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 1116–1126.
- Kolb B., Ettre L.S. 1997. *Static headspace-gas chromatography, theory and practice*. New York, Wiley-VCH. Inc.
- Komaiko J., McClements D.J. 2015. Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: Factors influencing particle size. *J. Food Eng.* 146, 122–128.
- Koocheki A., Ghandi A., Razavi S.M.A., Mortazavi S.A., Vasiljevic T. 2009. The rheological properties of ketchup as a function of different hydrocolloids and temperature. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44, 596–602.
- Kozłowska M., Żontała K. 2015. Stabilność oksydacyjna oleju słonecznikowego tłoczonego na zimno wzbogaconego w ekstrakty z roślin przyprawowych. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLVIII, 3, 423–428.
- Krägel J., Derkatch S.R. 2010. Interfacial shear rheology. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 15, 246–255.
- Krägel J., Derkatch S.R., Miller R. 2008. Interfacial shear rheology of protein–surfactant layers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 144, 38–53.
- Krzemińska N. 2016. *Przydatność technologiczna mięsa zwierząt rzeźnych i skrobi funkcjonalnych do produkcji niskotuszczowych sosów z dodatkiem substancji bioaktywnych*. Praca doktorska. Szczecin, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie [maszynopis].
- Lahir Y.K. 2015. Lipid oxidation in biological systems: biochemical, biological & biophysical aspects. *G.J.B.B.* 4, 224–233.
- Landy P., Pollien P., Rytz A., Leser M.E., Sagałowicz L., Blank I., Spadone J.-C. 2007. Model studies on the release of aroma compounds from structured and nonstructured oil systems using Proton-Transfer Reaction Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1915–1922.
- Leclaire S., Pellerin N., Reggio M., Jean-Yves Trépanier J.-Y. 2014. Multiphase flow modeling of spinodal decomposition based on the cascaded lattice Boltzmann method. *Physica A* 406, 307–319.
- Lee I., We G.J., Kim D.E., Cho Y.-S., Yoon M.-R., Shin M., Ko S. 2012. Classification of rice cultivars based on cluster analysis of hydration and pasting properties of their starches. *LWT-Food Sci. Technol.* 48, 164–168.
- Lesmes U., Sandra S., Decker E.A., McClements D.J. 2010. Impact of surface deposition of lactoferrin on physical and chemical stability of omega-3 rich lipid droplets stabilised by caseinate. *Food Chem.* 123, 99–106.
- Lett A.M., Norton J.E., Yeomans M.R. 2016. Emulsion oil droplet size significantly affects satiety: A pre-ingestive approach. *Appetite* 96, 18–24.
- Li B., Jiang Y., Liu F., Chai Z., Li Y., Li Y., Leng X. 2012. Synergistic effects of whey protein-polysaccharide complexes on the controlled release of lipid-soluble and water-soluble vitamins in $W_1/O/W_2$ double emulsion systems. *Int. J. Food Sci. Tech.* 47, 248–254.
- Li C., Li Y., Sun P., Yang C. 2013. Pickering emulsions stabilized by native starch granules. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 431, 142–149.
- Liggieri L., Miller R. 2010. Relaxation of surfactants adsorption layers at liquid interfaces. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 15, 256–263.
- Liu H., Xu X.M., Guo Sh D. 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT-Food Sci. Technol.* 40, 946–954.
- Liu Q., Huang S., Suo Z. 2015. Brownian motion of molecular probes in supercooled liquids. *Phys. Rev. Lett.* 114, 224301–224305.
- Liu F., Wang D., Sun C., Gao Y. 2016. Influence of polysaccharides on the physicochemical properties of lactoferrin-polyphenol conjugates coated β -carotene emulsions. *Food Hydrocoll.* 52, 661–669.

- Lopez-Pena C.L., McClements D.J. 2015. Impact of a food-grade cationic biopolymer (ϵ -polylysine) on the digestion of emulsified lipids: In vitro study. *Food Res. Int.* 75, 34–40.
- Lorenzo G., Zaritzky N., Califano A. 2013. Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. *Food Hydrocoll.* 30, 672–680.
- Mahfoudhi N., Sessa M., Chouaibi M., Ferrari G., Donsì F., Hamdi S. 2014. Assessment of emulsifying ability of almond gum in comparison with gum arabic using response surface methodology. *Food Hydrocoll.* 37, 49–59.
- Márquez A.L., Wagner J. 2010. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. *J. Texture Stud.* 41, 651–671.
- Massa A., González C., Maestro A., Labanda J., Ibarz A. 2010. Rheological characterization of peach purees. *J. Texture Stud.* 41, 532–548.
- Matalanis A., Jones O.G., McClements D.J. 2011. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocoll.* 25, 1865–1880.
- Matemu A.O., Kayahara H., Murasawa H., Katayama S., Nakamura S. 2011. Improved emulsifying properties of soy proteins by acylation with saturated fatty acids. *Food Chem.* 124, 596–602.
- Matsumiya K., Nakanishi K., Matsamura Y. 2011. Destabilization of protein-based emulsions by diglycerol esters of fatty acids – The importance of chain length similarity between dispersed oil molecules and fatty acid residues of the emulsifier. *Food Hydrocoll.* 25, 773–780.
- Matsumiya K., Takahashi Y., Nakanishi K., Dotsu N., Yasuki Matsumura Y. 2014. Diglycerol esters of fatty acids promote severe coalescence between protein-stabilized oil droplets by emulsifier-protein competitive interactions. *Food Hydrocoll.* 42, 397–402.
- Mazzone G., Malaj N., Russo N., Toscano M. 2013. Density functional study of the antioxidant activity of some recently synthesized resveratrol analogues. *Food Chem.* 141, 2017–2024.
- McClements D.J. 2006. Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides. *Biotechnol. Adv.* 24, 621–625.
- McClements D.J. 2008. Lipid-based emulsions and emulsifiers, w: *Food lipids*, red. C.C. Akoh, D.B. Min. CRC. Boca Raton, Taylor & Francis Group, 64–101.
- McClements D.J. 2012a. Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. *Soft Matter.* 8, 1719–1729.
- McClements D.J. 2012b. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 17, 235–245.
- McClements D.J. 2015. Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems. *Adv. Colloid Interface. Sci.* 219, 27–53.
- McClements D.J. 2016. *Food emulsions, principles, practices, and techniques*. Boca Raton, CRC. Taylor & Francis Group.
- McClements D.J., Weiss J. 2005. Lipid emulsions, in: *Bailey's Industrial oil and fat products*, red. F. Shahidi. John Wiley & Sons, Inc., Sixth Edition, Six Volume Set, 457–500.
- McClements D.J., Decker E.A., Weiss J. 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *J. Food Sci.* 72, 8, R109–R124.
- McClements D.J., Li Y. 2010. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Adv. Colloid Interfac.* 159, 213–228.
- Mewis J., Wagner N.J. 2009. Thixotropy. *Adv. Colloid Interface Sci.* 147–148, 214–227.
- Miller R., Ferri J.K., Javadi A., Krägel J., Mucic N., Wüstneck R., 2010. Rheology of interfacial layers. *Colloid Polym. Sci.* 288, 937–950.
- Mine Y. 1998. Adsorption behavior of egg yolk low-density lipoproteins in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 46, 36–41.
- Moreira R., Chenlo F., Torres M.D. 2013. Effect of chia (*Sativa hispanica* L.) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour. *LWT-Food Sci. Technol.* 50, 160–166.

- Murphy R.W., Farkas B.E., Jones O.G. 2016. Dynamic and viscoelastic interfacial behavior of β -lactoglobulin microgels of varying sizes at fluid interfaces. *J. Colloid Interf. Sci.* 466, 12–19.
- Myhan R., Markowski M., Daszkiewicz T., Zapotoczny P., Sadowski P. 2015. Non-linear stress relaxation model as a tool for evaluating the viscoelastic properties of meat products. *J. Food Eng.* 146, 107–115.
- Nadin M., Rousseau D., Ghosh S. 2014. Fat crystal-stabilized water-in-oil emulsions as controlled release systems. *LWT-Food Sci. Technol.* 56, 248–255.
- Nguyen T.T., Sabatini D.A. 2011. Characterization and emulsification properties of rhamnolipid and sophorolipid biosurfactants and their applications. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 1232–1244.
- Nishinari K., Fang Y., Guo S., Phillips G.O. 2014. Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocoll.* 39, 301–318.
- Nongonierma A.B., Springett M., Le Quéré J.-L., Cayot P., Voilley A. 2006. Flavour release at gas / matrix interfaces of stirred yoghurt models. *Int. Dairy J.* 16, 102–110.
- Ontiveros J.F., Pierlot C., Catté M., Molinier V., Salager J.-L., Aubry J.-M. 2014. A simple method to assess the hydrophilic lipophilic balance of food and cosmetic surfactants using the phase inversion temperature of C10E4/n-octane/water emulsions. *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.* 458, 32–39.
- Orczykowska M., Budzyński P., Dziubiński M. 2010. Wpływ temperatury na stabilność skrobiowych kleików tiksotropowych w obecności środka zagęszczającego. *Acta Agrophys.* 16, 401–411.
- Ospinal-Jimenez M., Pozzo D.C. 2012. Structural analysis of protein denaturation with alkyl perfluorinated sulfonates. *Langmuir* 28, 17749–17760.
- Ozturk B., McClements D.J. 2016. Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Curr. Opin. Food Sci.* 7, 1–6.
- Özalp B., Karakaya M. 2009. Determination of some functional and technological properties of octopus (*Octopus vulgaris* C.), calamari (*Illex coindetti* V.), mussel (*Mytilus galloprovincialis* L.) and cuttlefish (*Sepia Officinalis* L.) meats. *J. Fish. Sci.* 3 (4), 275–284.
- Pagureva N., Tcholakova S., Golemanov K., Denkova N., Pelan E., Simeon D., Stoyanov S.D. 2016. Surface properties of adsorption layers formed from triterpenoid and steroid saponins. *Colloid Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 491, 18–28.
- Pan Y., Tikekar R.V., Wang M.S., Avena-Bustillos R.J., Nitin N. 2015. Effect of barrier properties of zein colloidal particles and oil-in-water emulsions on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds. *Food Hydrocoll.* 43, 82–90.
- Patel A.R., Dumlu P., Vermeir L., Lewille B., Lesaffer A., Dewettinck K. 2015. Rheological characterization of gel-in-oil-in-gel type structured emulsions. *Food Hydrocoll.* 46, 84–92.
- Pawlik A., Cox P.W., Ian T. Norton I.T. 2010. Food grade duplex emulsions designed and stabilised with different osmotic pressures. *J. Colloid Interf. Sci.* 352, 59–67.
- Pearce K.N., Kinsella J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* 26, 3, 716–723.
- Perazzo A., Preziosi V., Guido S. 2015. Phase inversion emulsification: Current understanding and applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* 222, 581–599.
- Perdones Á., Chiralt A., Vargas M. 2016. Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil. *Food Hydrocoll.* 57, 271–279.
- Pérez-Mosqueda L.M., Ramírez P., Alfaro M.C., Rincón F., Muñoz J. 2013. Surface properties and bulk rheology of Sterculia apetala gum exudate dispersions. *Food Hydrocoll.* 32, 440–446.
- Pimentel-González D.J., Campos-Montiel R.G., Lobato-Calleros C., Pedroza-Islas R. 2009. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Res. Int.* 42, 292–297.

- Pongsawatmanit R., Harnsilawat T., McClements D.J. 2006. Influence of alginate, pH and ultrasound treatment on palm oil-in-water emulsions stabilized by β -lactoglobulin. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 287, 59–67.
- Pothiraj C., Zuñiga R., Simonin H., Chevallier S., Le-Bail A. 2012. Methodology assessment on melting and texture properties of spread during ageing and impact of sample size on the representativeness of the results. *J. Stored Prod. Postharvest Res.* 3, 137–144.
- Poyato C., Navarro-Blasco I., Calvo M.I., Cavero R.Y., Astiasarán I., Ansorena D. 2013. Oxidative stability of O/W and W/O/W emulsions: Effect of lipid composition and antioxidant polarity. *Food Res. Int.* 51, 132–140.
- Prasert W., Gohtani S. 2016. Effect of sucrose on phase behavior of aqueous phase/polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester (Tween xx)/vegetable oil systems and food nano-emulsification using low-energy methods. *J. Food Eng.* 168, 119–128.
- Prior R.L., Wu, X., Schaich K. 2005. standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290–4302.
- Qiu C., Zhao M., Decker E.A., McClements D.J. 2015. Influence of protein type on oxidation and digestibility of fish oil-in-water emulsions: Gliadin, caseinate, and whey protein. *Food Chem.* 175, 249–257.
- Ramsaha S., Aumjaud B.E., Neergheen-Bhujun V.S. Bahorun T. 2015. Polyphenolic rich traditional plants and teas improve lipid stability in food test systems. *J. Food Sci. Technol.* 52, 773–782.
- Rao J., McClements D.J. 2012. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. *Food Hydrocoll.* 29, 326–334.
- Rodriguez Furlán L.T., Padilla A.P., Campderrós M.E. 2014. Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Sci.* 96, 762–768.
- Romero A., Beaumal V., David-Briand E., Cordobés F., Anton M. 2011. Interfacial and emulsifying behaviour of crayfish protein isolate. *LWT-Food Sci. Technol.* 44, 1603–1610.
- Romero A., Beaumal V., David-Briand E., Cordobés F., Guerrero A., Anton M. 2012. Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate. *Food Hydrocoll.*, 29, 1–8.
- Rubio-Hernández F.J., Carrique F., Ruiz-Reina E. 2004. The primary electroviscous effect in colloidal suspensions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 107, 51–60.
- Saberi A.H., Fang Y., McClements D.J. 2014. Stabilization of vitamin E-enriched mini-emulsions: Influence of organic and aqueous phase compositions. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 449, 65–73.
- Saha D., Bhattacharya S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *J. Food Sci. Tech.* 47, 587–597.
- Saito M., Yin L.-J., Kobayashi I., Nakajima M. 2005. Preparation characteristics of monodispersed oil-in-water emulsions with large particles stabilized by proteins in straight-through microchannel emulsification. *Food Hydrocoll.* 19, 745–751.
- Salas C., Nypelö T., Rodriguez-Abreu C., Carrillo C., Rojas O.J. 2014. Nanocellulose properties and applications in colloids and interfaces. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 19, 383–396.
- Salminen H., Helgason T., Kristinsson B., Kristbergsson K., Weiss J. 2016. Formation of nanostructured colloidosomes using electrostatic deposition of solid lipid nanoparticles onto an oil droplet interface. *Food Res. Int.* 79, 11–18.
- Santana R.C., Perrechil F.A., Cunha R.L. 2013. High- and low-energy emulsifications for food applications: a focus on process parameters. *Food Eng. Rev.* 5, 107–122.
- Sapei L., Naqvi M.A., Rousseau D. 2012. Stability and release properties of double emulsions for food applications. *Food Hydrocoll.* 27, 316–323.
- Sarkar A., Arfsten J., Golay P.-A., Acquistapace S., Heinrich E. 2016. Microstructure and long-term stability of spray dried emulsions with ultra-high oil content. *Food Hydrocoll.* 52, 857–867.

- Schaich K.M., Tian X., Xie J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *J. Funct. Foods*. 14, 111–125.
- Seher A. 2006. Effects of salt and phosphate levels on the emulsion properties of fresh and frozen hen meats. *Afr. J. Biotechnol.* 5, 1006–1012.
- Serdaroğlu M., Öztürk B., Kara A. 2015. An overview of food emulsions: description, classification and recent potential applications. *Turk. J. Agric. – Food Sci. Tech.* 3, 430–438.
- Serfert Y., Lamprecht C., Tan C.-P., Keppler J.K., Appel E., Rossier-Miranda, F.J., Schroen K., Boom R.M., Gorb S., Selhuber-Unkel C., Drusch S., Schwarz K. 2014. Characterisation and use of β -lactoglobulin fibrils for microencapsulation of lipophilic ingredients and oxidative stability thereof. *J. Food Eng.* 143, 53–61.
- Seta L., Baldino N., Gabriele D., Lupi F.R., de Cindio B. 2013. The influence of carrageenan on interfacial properties and short-term stability of milk whey proteins emulsions. *Food Hydrocoll.* 32, 373–382.
- Seta L., Baldino N., Gabriele D., Lupi F.R., de Cindio B. 2014. Rheology and adsorption behavior of β -casein and β -lactoglobulin mixed layers at the sunflower oil/water interface. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 441, 669–677.
- Seuvre A.-M., Philippe E., Rochard S., Voilley A. 2007. Kinetic study of the release of aroma compounds in different model food systems. *Food Res. Int.* 40, 480–492.
- Shahidi F., Zhong Y. 2005. Lipid oxidation: Measurement methods, w: *Bailey's industrial oil and fat products*, red. F. Shahidi. John Wiley & Sons, Inc., 357–384.
- Shao Y., Tang C.-H. 2014. Characteristics and oxidative stability of soy protein-stabilized oil-in-water emulsions: Influence of ionic strength and heat pretreatment. *Food Hydrocoll.* 37, 149–158.
- Shi A.-m., Wang L.-j., Li D., Adhikaric B. 2013. Suspensions of vacuum-freeze dried starch nanoparticles: Influence of NaCl on their rheological properties. *Carbohydr. Polym.* 94, 782–790.
- Sikorski Z.E., 2014a. Białka-budowa i właściwości, w: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy i białka*, red. Z.E. Sikorski. Warszawa, WNT, 167–201.
- Sikorski Z.E. 2014b. Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych, w: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy i białka*, red. Z.E. Sikorski. Warszawa, WNT, 202–254.
- Silvestre M.P.C., Decker E.A., McClements D.J. 1999. Influence of copper on the stability of whey protein stabilized emulsions. *Food Hydrocoll.* 13, 419–424.
- Singh H. 2011. Aspects of milk-protein-stabilized emulsions. *Food Hydrocoll.* 25, 1938–1944.
- Singh J., Dartois A., Kaur L. 2010. Starch digestibility in food matrix – a review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 168–180.
- Singh J., Kaur L., McCarthy O.J. 2007. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – a review. *Food Hydrocoll.* 21, 1–22.
- Sitkiewicz I. 2010. Właściwości reologiczne, w: *Właściwości fizyczne żywności*, red. Z. Pałacha, I. Sitkiewicz. Warszawa, WNT, 13–61.
- Solans C., Solé I. 2012. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 17, 246–254.
- Souilem S., Kobayashi I., Neves M.A., Jlaïel L., Isoda H., Sayadi S., Nakajima M. 2014. Interfacial characteristics and microchannel emulsification of oleuropein-containing triglyceride oil-water systems. *Food Res. Int.* 62, 467–475.
- Stanimirova R.D., Marinova K.G., Danova K.D., Kralchevskya P.A., Basheva E.S., Simeon D., Stoyanov S.D., Pelan E.G. 2014. Competitive adsorption of the protein hydrophobin and an ionic surfactant: Parallel vs sequential adsorption and dilatational rheology. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 457, 307–317.
- Su D., Zhong Q. 2016. Lemon oil nanoemulsions fabricated with sodium caseinate and Tween 20 using phase inversion temperature method. *J. Food Eng.* 171, 214–221.

- Sun C., Gunasekaran S. 2009. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocoll.* 23, 165–174.
- Sun C., Wu T., Liu R., Liang B., Tian Z., Zhang E., Zhang M. 2015. Effects of superfine grinding and microparticulation on the surface hydrophobicity of whey protein concentrate and its relation to emulsions stability. *Food Hydrocoll.* 51, 512–518.
- Szpendowski J., Świgoń J. 2003. Mikrostruktura i właściwości funkcjonalne kazeinianów otrzymanych metodą ekstruzji. *Żywność* 3, 83–92.
- Tabibiazar M., Davaran S., Hashemi M., Homayonirad A., Rasoulzadeh F., Hamishehkar H., Mohammadifar M.A. 2015. Design and fabrication of a food-grade albumin-stabilized nanoemulsions. *Food Hydrocoll.* 44, 220–222.
- Tadros T.F. 2013. Emulsion formation, stability and rheology, w: *Emulsion formation and stability*, red. T.F. Tadros. Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1–75.
- Tavernier I., Wijaya W., Van der Meeren P., Dewettinck K., Patel A.R. 2016. Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends Food Sci. Technol.* 50, 159–174.
- Tcholakova S., Denkov N.D., Sidzhakova D., Campbell B. 2006. Effect of thermal treatment, ionic strength, and pH on the short-term and long-term coalescence stability of β -lactoglobulin emulsions. *Langmuir* 22, 6042–6052.
- Tcholakova S., Denkov N.D., Lips A. 2008. Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 10, 1608–1627.
- Terta M., Blekas G., Paraskevopoulou A. 2006. Retention of selected aroma compounds by polysaccharide solutions: A thermodynamic and kinetic approach. *Food Hydrocoll.* 20, 863–871.
- Thaiphanit S., Anprung P. 2016. Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (*Cocos nucifera* L.) processing by-products and the influence of heat treatment. *Food Hydrocoll.* 52, 756–765.
- Thong N.M., Dao D.Q., Ngo T.C., Le Huyen T., Pham Cam Nam P.C. 2016. Antioxidant activities of [60]fullerene derivatives from chalcone, flavone and flavanone: A ONIOM approach via H-atom and electron transfer mechanism. *Chem. Phys. Lett.* 652, 56–61.
- Tikekar R.V., Johnson A., Nitin N. 2011. Real-time measurement of oxygen transport across an oil-in-water emulsion interface. *J. Food Eng.* 103, 14–20.
- Tomasik P. 2014. Sacharydy w żywności-budowa i przekształcenia, w: *Chemia żywności sacharydy, lipidy i białka*, red. Z.E. Sikorski. Warszawa, WNT, 13–56.
- Torcello-Gómez A., Maldonado-Valderrama J., Gálvez-Ruiz M.J., Martín-Rodríguez A., Cabrerizo-Vílchez M.A., Vicente J. 2011. Surface rheology of sorbitan tristearate and β -lactoglobulin: Shear and dilatational behavior. *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* 166, 713–722.
- Torres I.C., Janhøj T., Mikkelsen B.Ø., Richard Ipsen R. 2011. Effect of microparticulated whey protein with varying content of denatured protein on the rheological and sensory characteristics of low-fat yoghurt. *Int. Dairy J.* 21, 645–655.
- Troise A.D., Berton-Carabin C.C., Fogliano V. 2016. Amadori products formation in emulsified systems. *Food Chem.* 199, 51–58.
- Van Hung P., Maeda T., Naofumi Morita N. 2006. Waxy and high-amylose wheat starches and flours-characteristics, functionality and application. *Trends Food Sci. Tech.* 17, 448–456.
- Van Ruth S.M., King C., Giannouli P. 2002. Influence of lipid fraction, emulsifier fraction, and mean particle diameter of oil-in-water emulsions on the release of 20 aroma compounds. *J. Agric. Food Chem.* 50, 8, 2365–2371.
- Ventureira J.L., Bolontrade A.J., Speroni F., David-Briand E., Scilingo A.A., Ropers M.-H., Boury F., Añón M.C., Anton M. 2012. Interfacial and emulsifying properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates under different conditions of pH. *LWT-Food Sci. Technol.* 45, 1–7.

- Villamonte G., Jury V., de Lamballerie M. 2016. Stabilizing emulsions using high-pressure-treated corn starch. *Food Hydrocoll.* 52, 581–589.
- Von Staszewski M., Ruiz-Henestrosa V.M.P., Pilosof A.M.R. 2014. Green tea polyphenols- β -lactoglobulin nanocomplexes: Interfacial behavior, emulsification and oxidation stability of fish oil. *Food Hydrocoll.* 35, 505–511.
- Wan Z.-L., Wang L.-Y., Wang J.-M., Zhou Q., Yang Yuan Y., Yang X.-Q. 2014. Synergistic interfacial properties of soy protein-stevioside mixtures: Relationship to emulsion stability. *Food Hydrocoll.* 39, 127–135.
- Wang W.-q., Bao Y.-h., Chen Y. 2013. Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maltol reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. *Food Chem.* 139, 355–361.
- Wang B., Li D., Wang L.J., Özkan N. 2010. Anti-thixotropic properties of waxy maize starch dispersions with different pasting conditions. *Carbohydr. Polym.* 79, 1130–1139.
- Wang F.C., Marangoni A.G. 2016. Advances in the application of food emulsifier a-gel phases: Saturated monoglycerides, polyglycerol fatty acid esters, and their derivatives. *J. Colloid Interf. Sci.* 483, 394–403.
- Wani I.A., Sogi D.B., Gill B.H. 2015. Physico-chemical and functional properties of native and hydrolysed protein isolates from Indian black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. *LWT-Food Sci. Technol.* 60, 848–854.
- Waszkiewicz-Robak B. 2010. Technologia oraz ocena jakości przetworów zbożowych: mąka, kasza, makaronów, w: *Towaroznawstwo żywności przetworzonej z elementami technologii*, red. F. Świąderski, B. Waszkiewicz-Robak. Warszawa, Wyd. SGGW, 374–404.
- Webber V., de Carvalho S.M., Barreto P.L.M. 2012. Molecular and rheological characterization of carrageenan solutions extracted from *Kappaphycus alvarezii*. *Carbohydr. Polym.* 90, 1744–1749.
- Weiss J., Scherze I., Muschiolik G. 2005. Polysaccharide gel with multiple emulsions. *Food Hydrocoll.* 19, 605–615.
- Wroniak M., Ratusz K. 2014. Oleje jadalne – część 2, w: *Wybrane zagadnienia z technologii żywności pochodzenia roślinnego*, red. M. Mitek i K. Leszczyński. Warszawa, Wyd. SGGW, 170–180.
- Wu B.-C., McClements D.J. 2015. Design of reduced-fat food emulsions: Manipulating microstructure and rheology through controlled aggregation of colloidal particles and biopolymers. *Food Res. Int.* 76, 777–786.
- Wu J.-E., Lin J., Zhong Q. 2014. Physical and antimicrobial characteristics of thyme oil emulsified with soluble soybean polysaccharide. *Food Hydrocoll.* 39, 144–150.
- Wu J., Shia M., Lia W., Zhao L., Wang Z., Yan X., Norde W., Li Y. 2015. Pickering emulsions stabilized by whey protein nanoparticles prepared by thermal cross-linking. *Colloid. Surface. B* 127, 96–104.
- Xiang S., Yao X., Zhang W., Zhang K., Fang Y., Nishinari K., Phillips G.O., Jiang F. 2015. Gum Arabic-stabilized conjugated linoleic acid emulsions: Emulsion properties in relation to interfacial adsorption behaviors. *Food Hydrocoll.* 48, 110–116.
- Xuexin W., Golding M. 2014. Effects of urea addition on the structural and material properties of sodium caseinate solutions and emulsions. *Food Hydrocoll.* 42, 162–170.
- Yang J., Huang J., Zeng H., Chen L. 2015. Surface pressure affects B-hordein network formation at the air–water interface in relation to gastric digestibility. *Colloids Surface B*. 135, 784–792.
- Yang Y., McClements D.J. 2013. Encapsulation of vitamin E in edible emulsions fabricated using a natural surfactant. *Food Hydrocoll.* 30, 712–720.
- Yang J., Xiong Y.L. 2015. Inhibition of lipid oxidation in oil-in-water emulsions by interface-adsorbed myofibrillar protein. *J. Agric. Food Chem.* 63, 8896–8904.
- Yang M., Yang J., Zhang Y., Weibing Zhang W. 2016. Influence of succinylation on physicochemical property of yak casein micelles. *Food Chem.* 190, 836–842.

- Ye A., Hemar Y., Singh H. 2004. Influence of polysaccharides on the rate of coalescence in oil-in-water emulsions formed with highly hydrolyzed whey proteins. *J Agric. Food Chem.* 52, 17, 5491–5498.
- Yerima J.B., Solomon S. 2015. The thermodynamic interpretation of surface tension constants of some vegetable oils locally produced in Nigeria. *IOSRJEN.* 5, 19–23.
- Yi J., Zhu Z., McClements D.J., Decker E.A. 2014. Influence of aqueous phase emulsifiers on lipid oxidation in water in-walnut oil emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 62, 2104–2111.
- Yilmaz M.T., Karaman S., Dogan M., Yetim H., Kayacier A. 2012. Characterization of O/W model system meat emulsions using shear creep and creep recovery tests based on mechanical simulation models and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters. *J. Food Eng.* 108, 327–336.
- Yin C., Yang L., Zhao H., Can-Peng Li C.-P. 2014. Improvement of antioxidant activity of egg white protein by phosphorylation and conjugation of epigallocatechin gallate. *Food Res. Int.* 64, 855–863.
- Yuan Q., Williams R.A. 2016. CO-stabilisation mechanisms of nanoparticles and surfactants in Pickering Emulsions produced by membrane emulsification. *J. Membrane Sci.* 497, 221–228.
- Yust M.M., Pedroche J., Millan-Linares M.C., Alcaide-Hidalgo J.M., Millan F. 2010. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised alcalase. *Food Chem.* 122, 1212–1217.
- Zeeb B., Fischer L., Jochen Weiss J. 2011. Cross-linking of interfacial layers affects the salt and temperature stability of multilayered emulsions consisting of fish gelatin and sugar beet pectin. *J. Agric. Food Chem.* 59, 10546–10555.
- Zhang Y., Lin J., Zhong Q., 2016a. S/O/W emulsions prepared with sugar beet pectin to enhance the viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514. *Food Hydrocoll.* 52, 804–810.
- Zhang Y., Dai B., Deng Y., Zhao Y. 2016b. In vitro anti-inflammatory and antioxidant activities and protein quality of high hydrostatic pressure treated squids (*Todarodes pacificus*). *Food Chem.* 203, 258–266.
- Zhao Q., Liu D., Long Z., Yang B., Fang M., Kuang W., Zhao M. 2014. Effect of sucrose ester concentration on the interfacial characteristics and physical properties of sodium caseinate-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Chem.* 151, 506–513.
- Zhu Q., Wu F., Saito M., Tatsumi E., Yin L. 2016. Effect of magnesium salt concentration in water-in-oil emulsions on the physical properties and microstructure of tofu. *Food Chem.* 201, 197–204.
- Zieliński R. 2009. *Surfaktanty, budowa, właściwości, zastosowania*. Poznań, Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
- Zou L., Akoh C.S. 2015. Oxidative stability of structured lipid-based infant formula emulsion: Effect of antioxidants. *Food Chem.* 178, 1–9.

Biblioteka Główna
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu
Technologicznego w Szczecinie

CZ.61094



001-061094-00-0

CZ 17.05

ISBN 978-83-7663-132-5