

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
Instytut Nauk o Żywności

Mgr inż. Iwona Szymańska

Badania właściwości emulsji
otrzymywanych z udziałem lipidów
strukturyzowanych

Exploring the properties of emulsions
obtained with structured lipids

Praca doktorska
Doctoral thesis

Praca wykonana pod kierunkiem
Promotora: Pani prof. dr hab. inż. Anny Żbikowskiej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Instytut Nauk o Żywności
Katedra Technologii i Oceny Żywności

Promotora pomocniczego: Pani dr inż. Sylwi Onacik-Gür
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego –
Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Technologii Mięsa i Tłuszczu

Warszawa, 2023 r.

Oświadczenie promotora pracy

Oświadczam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data

Podpis promotora

Oświadczenie autora pracy

Świadoma odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca doktorska została napisana przez mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego w wyższej uczelni.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data

Podpis autora pracy

Streszczenie

Badania właściwości emulsji otrzymywanych z udziałem lipidów strukturyzowanych

Celem pracy była analiza możliwości zastępowania, w produkcji wegańskich analogów śmietanki, konwencjonalnych lipidów stałych lipidami strukturyzowanymi otrzymanymi na bazie olejów roślinnych (oleożelami). Porównano właściwości oleożeli (otrzymanych z rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z dodatkiem 3%, 4%, 5%, 6%, 7% lub 8% m/m wosku kandelila) z olejem palmowym. Emulsje O/W (30/70 m/m), na bazie oleju palmowego lub oleożeli (z 3-7% stężeniem wosku) i napoju sojowego, wytwarzano stosując sonikację. Otrzymane emulsje porównano ze śmietanką wyprodukowaną w warunkach przemysłowych i stabilizowaną karagenem. Oleożele charakteryzowały się wyższą temperaturą topnienia od oleju palmowego (około 31,8°C), co miało związek z ich większą stabilnością fizyczną. Emulsje na bazie oleożeli z 3-5% m/m udziałem wosku kandelila wykazywały większą stabilność, w porównaniu do pozostałych układów. Stężenie wosku powyżej 6% m/m przyspieszyło procesy destabilizacji emulsji. Najmniej stabilna fizycznie i najbardziej stabilna oksydacyjnie, w czasie 28 dni przechowywania (w temperaturze 20°C), okazała się śmietanka. Najkorzystniejsze właściwości emulsji na bazie oleożelu stwierdzono przy zastosowaniu lipidu z 5% stężeniem wosku. Wykazano, że lipidy strukturyzowane woskiem kandelila mogą zastępować olej palmowy w produkcji stabilnych emulsji O/W, a także stanowić wegańską alternatywę śmietanki.

Słowa kluczowe – oleożelacja, emulsje O/W, śmietanka, stabilność fizyczna, utlenianie lipidów, żywność wegańska

Summary

Exploring the properties of emulsions obtained with structured lipids

The aim of the study was to analyze the possibility of replacing conventional solid lipids with structured lipids obtained on the basis of vegetable oils (oleogels) in the production of vegan cream analogues. The properties of oleogels (made from refined rapeseed and linseed oils (1:1) with addition of 3%, 4%, 5%, 6%, 7% or 8% w/w candelilla wax) were compared with palm oil. The O/W (30/70 w/w) emulsions, based on palm oil or oleogels (with 3-7% w/w wax) and soy drink, were prepared using sonication. The obtained emulsions were compared with an industrially produced and carrageenan-stabilized cream. The oleogels were characterized by a higher melting temperature than palm oil (approximately 31.8°C), which was related to their greater physical stability. Emulsions based on oleogels with 3-5% w/w candelilla wax showed a greater stability, compared to other systems. The concentration of wax over 6% w/w accelerated the destabilization processes of the emulsions. The least physically stable and the most oxidatively stable sample, during 28 days storage (at 20°C), turned out to be cream. The most favourable properties of the oleogel-based emulsion were found when using a lipid with 5% w/w wax. It has been shown, that candelilla structured lipids can replace the palm oil in the production of stable O/W emulsions, and represent a vegan alternative to cream.

Keywords – oleogelation, O/W emulsions, creams, physical stability, oxidation of lipids, vegan food

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi niepublikowane wyniki badań oraz niektóre wyniki badań zamieszczone w dwóch publikacjach (Szymańska I., Żbikowska A., Kowalska M., Golec K. 2021: Application of oleogel and conventional fats for ultrasound-assisted obtaining of vegan creams. *Journal of Oleo Science* 70 (10), 1495–1507; Szymańska I., Żbikowska A., Onacik-Gür S. 2022: Candelilla wax-based oleogels versus palm oil: evaluation of physical properties of innovative and conventional lipids using optical techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 102 (6), 2309–2320).

Wykaz najczęściej używanych skrótów i oznaczeń:

KT – kwasy tłuszczowe

SFA – nasycone kwasy tłuszczowe

TFA – nienasycone kwasy tłuszczowe w konfiguracji *trans*

MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe w konfiguracji *cis*

PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe w konfiguracji *cis*

PUFA ω -3 - wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3

PUFA ω -6 - wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-6

WK – воск kandelila

Spis treści

| | |
|--|----|
| Wstęp | 11 |
| 1. Przegląd piśmiennictwa | 13 |
| 1.1. Znaczenie lipidów w żywieniu i technologii żywności | 13 |
| 1.1.1. Wartość żywieniowa lipidów | 13 |
| 1.1.2. Wartość użytkowa lipidów | 16 |
| 1.1.2.1. Determinanty stabilności fizycznej lipidów | 16 |
| 1.1.2.2. Determinanty stabilności chemicznej lipidów | 19 |
| 1.1.3. Konwencjonalne i alternatywne metody strukturyzowania lipidów | 22 |
| 1.1.3.1. Konwencjonalne metody strukturyzowania lipidów | 23 |
| 1.1.3.2. Alternatywne metody strukturyzowania lipidów | 25 |
| 1.2. Emulsje typu olej w wodzie | 32 |
| 1.2.2. Determinanty stabilności fizycznej emulsji typu O/W | 34 |
| 1.2.3. Determinanty stabilności oksydacyjnej emulsji typu O/W | 37 |
| 1.3. Żywność wegańska | 39 |
| 1.3.1. Rozwój diety wegańskiej | 39 |
| 1.3.2. Roślinne alternatywy dla produktów mlecznych | 42 |
| 2. Cel i zakres pracy | 44 |
| 3. Materiał i metodyka pracy | 47 |
| 3.1. Surowce i materiał do badań | 47 |
| 3.2. Otrzymywanie lipidów strukturyzowanych (oleożeli) | 48 |
| 3.3. Otrzymywanie emulsji O/W typu śmietanka | 48 |
| 3.4. Wydzielanie frakcji lipidowej z emulsji | 49 |
| 3.5. Metody badań | 50 |
| 3.5.1. Metody badań lipidów | 50 |
| 3.5.1.1. Określenie składu kwasów tłuszczowych i wartości żywieniowej lipidów | 50 |
| 3.5.1.2. Ocena parametrów barwy lipidów metodą odbiciową | 51 |
| 3.5.1.3. Ocena mikroskopowa kryształów lipidowych w świetle spolaryzowanym | 52 |
| 3.5.1.4. Analiza tekstury lipidów | 53 |
| 3.5.1.5. Wyznaczenie temperatury (punktu) topnienia lipidów | 53 |
| 3.5.1.6. Określenie współczynnika odzysku lepkości lipidów | 53 |
| 3.5.1.7. Określenie właściwości mikroreologicznych lipidów | 54 |
| 3.5.1.8. Określenie stabilności grawitacyjnej lipidów metodą sączkową | 55 |
| 3.5.1.9. Określenie stabilności wirówkowej lipidów metodą tradycyjną | 56 |
| 3.5.1.10. Określenie stabilności wirówkowej lipidów metodą wielokrotnego rozpraszania światła | 56 |
| 3.5.1.11. Oznaczenie liczby nadtlenkowej lipidów | 57 |
| 3.5.1.12. Oznaczenie liczby anizydynowej lipidów | 57 |
| 3.5.2. Metody badań emulsji | 58 |
| 3.5.2.1. Pomiar pH emulsji | 58 |
| 3.5.2.2. Ocena parametrów barwy emulsji metodą odbiciową | 58 |
| 3.5.2.3. Wyznaczenie średniej wielkości cząstek lipidowych emulsji metodą wielokrotnego rozpraszania światła | 59 |
| 3.5.2.4. Wyznaczenie średniej wielkości i rozkładu wielkości cząstek lipidowych emulsji metodą mikroskopii optycznej | 60 |
| 3.5.2.5. Analiza właściwości reologicznych emulsji poddanych ścinaniu | 60 |
| 3.5.2.6. Analiza właściwości mikroreologicznych emulsji | 61 |

| | |
|---|------------|
| 3.5.2.7. Określenie stabilności wirówkowej emulsji | 61 |
| 3.5.2.8. Analiza zmian stabilności emulsji poddanych stresowi środowiskowemu | 62 |
| 3.5.2.9. Analiza zmian właściwości emulsji w czasie przechowywania | 62 |
| 3.5.3. Metody statystycznej analizy wyników | 63 |
| 3.5.3.1. Analiza wariancji | 63 |
| 3.5.3.2. Test korelacji Pearsona | 63 |
| 3.5.3.3. Analiza składowych głównych z klasyfikacją (PCA) | 64 |
| 3.5.3.4. Hierarchiczna analiza skupień (HCA) | 64 |
| 4. Omówienie i dyskusja wyników | 65 |
| 4.1. Etap I: Analiza wpływu stężenia substancji strukturyzującej na właściwości lipidów strukturyzowanych (oleożeli) | 65 |
| 4.1.1. Ocena składu kwasów tłuszczowych i wskaźników żywieniowych lipidów | 65 |
| 4.1.2. Ocena parametrów barwy lipidów | 67 |
| 4.1.3. Ocena mikroskopowa kryształów lipidowych w świetle spolaryzowanym | 69 |
| 4.1.4. Analiza cech teksturalnych i właściwości reologicznych lipidów | 71 |
| 4.1.5. Ocena właściwości mikroreologicznych lipidów | 74 |
| 4.1.6. Analiza stabilności fizycznej lipidów | 78 |
| 4.1.7. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu I | 85 |
| 4.2. Etap II: Ocena wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości emulsji typu śmietanka .. | 88 |
| 4.2.1. Dobór czasu sonikacji emulsji | 88 |
| 4.2.2. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na parametry barwy emulsji | 90 |
| 4.2.3. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na rozkład i średnią wielkość cząstek lipidowych emulsji | 93 |
| 4.2.4. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości reologiczne emulsji poddanych ścinaniu | 96 |
| 4.2.5. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości mikroreologiczne emulsji ... | 98 |
| 4.2.6. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na stabilność fizyczną emulsji | 101 |
| 4.2.7. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na stabilność emulsji poddanych działaniu stresu środowiskowego | 104 |
| 4.2.8. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu II | 117 |
| 4.3. Etap III: Określenie jakości emulsji i wydzielonych z nich lipidów w czasie przechowywania | 120 |
| 4.3.1. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany pH i barwy emulsji | 120 |
| 4.3.2. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany średniej wielkości i rozkładu wielkości cząstek lipidowych emulsji | 123 |
| 4.3.3. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany właściwości mikroreologicznych i reologicznych emulsji | 126 |
| 4.3.4. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany stabilności fizycznej emulsji | 130 |
| 4.3.5. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany stabilności oksydacyjnej frakcji lipidowej emulsji | 135 |
| 4.3.6. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu III | 142 |
| 5. Analiza statystyczna podsumowująca wszystkie etapy pracy | 147 |
| 6. Stwierdzenia i wnioski | 155 |
| 7. Spis piśmiennictwa | 158 |
| 8. Aneks | 179 |
| 8.1. Rysunki | 179 |
| 8.2. Tabele | 186 |

Wstęp

W przemyśle spożywczym szeroko stosowane są tłuszcze stałe w temperaturze pokojowej ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), gdyż wykazują wysoką wartość użytkową, powiazaną z dużą zawartością kwasów tłuszczowych (KT), charakteryzujących się wyższymi temperaturami topnienia. Spożycie, w większych ilościach, nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) oraz kwasów tłuszczowych w konfiguracji *trans* (TFA) przyczynia się do zwiększenia ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Według opinii i zaleceń ekspertów ds. żywienia wspomniane grupy KT powinny być w diecie zastępowane nienasyconymi KT.

Powszechnie stosowaną roślinną alternatywą tłuszczu mlecznego jest olej palmowy. Taka substytucja nie prowadzi do eliminacji SFA w żywności, choć przynosi korzyści ekonomiczne i technologiczne. Ponadto uprawa palmy oleistej wzbudza wiele kontrowersji, związanych z wycinaniem lasów tropikalnych, zmianami klimatu oraz niestabilnością społeczno-ekonomiczną. Dlatego celowe jest poszukiwanie innych rozwiązań, prowadzących do zmniejszenia zawartości SFA w żywności. Obecnie najnowszą i bardzo obiecującą techniką, pozwalającą na uzyskanie kompromisu pomiędzy składem a wartością użytkową tłuszczów, jest oleożelacja. Metoda ta umożliwia otrzymanie lipidów strukturyzowanych o półstałej lub stałej konsystencji (w temperaturze pokojowej) za pomocą substancji wykazujących zdolność żelowania oleju. Należą do nich niektóre polisacharydy (np. etyloceluloza), monoacyloglicerole, woski roślinne (np. kandelila, słonecznikowy, ryżowy) oraz woski zwierzęce (np. pszczeli biały). Oleożelacja pozwala zatem na wytworzenie lipidów strukturyzowanych o zaprojektowanych właściwościach, które z powodzeniem mogą zastępować tradycyjne tłuszcze o wysokiej zawartości niepożądanych żywieniowo KT.

Oleożele nie są jeszcze stosowane w przemysłowej produkcji spożywczej. W literaturze przedmiotu wskazano różne możliwości ich zastosowania w żywności, np. w produkcji ciastek kruchych i biszkoptowo-tłuszczowych, past do smarowania pieczywa, wyrobów czekoladopodobnych, kiełbas czy pasztetów. Brakuje badań dotyczących otrzymywania układów modelowych i produktów na bazie emulsji O/W z udziałem lipidów strukturyzowanych, wytworzonych na drodze oleożelacji.

Emulsje to układy stanowiące bardzo dobre matryce do modelowych badań laboratoryjnych, jak również do projektowania żywności na skalę przemysłową. Przykładami takich wyrobów są m.in. produkty mleczne (jogurty, napoje, śmietany, śmietanki). Należy podkreślić, że zwiększająca się skala problemów, związanych nie

tylko z obawami środowiskowymi, ale również z alergiami na składniki mleka, nietolerancją laktozy lub spożywaniem cholesterolu, powoduje zwiększenie popytu na produkty alternatywne. Rynek mlekopodobnych napojów roślinnych, pozyskiwanych z roślin strączkowych, orzechów czy zbóż szybko się rozwija. Na szczególną uwagę zasługuje napój sojowy, ponieważ zawiera białka w ilości podobnej jak w mleku krowim (3-4% m/m), z niewielkimi różnicami w strawności i profilu aminokwasów.

W związku z powyższym wartościowy przyczynek może stanowić opracowanie wegańskich emulsji z udziałem oleozeli oraz białka roślinnego, pełniącego funkcję emulgatora.

1. Przegląd piśmiennictwa

1.1. Znaczenie lipidów w żywieniu i technologii żywności

Lipidy stanowią złożoną grupę związków organicznych o dużej różnorodności strukturalnej. Gurr i wsp. [2016] definiują je głównie w oparciu o ich właściwości fizyczne (rozpuszczalność), a nie strukturę chemiczną. Do lipidów należą m.in. estry wyższych kwasów tłuszczowych i glicerolu, kwasy tłuszczowe (KT), woski, emulgatory, acyloglicerole, fosfolipidy (np. lecytyna) czy sterole (np. cholesterol). Terminy „lipid”, „tłuszcz” i „olej” są często używane zamiennie w branży spożywczej. Tłuszcze i oleje różnicuje stan skupienia w tzw. temperaturze pokojowej [Hartel i wsp. 2018]. Lipidy, których struktura została zmodyfikowana metodami chemicznymi, biochemicznymi lub fizycznymi, są nazywane lipidami strukturyzowanymi [Temkov i Mureşan 2021].

Tłuszcz jest niezbędnym składnikiem pokarmowym. Zgodnie z zaleceniami opublikowanymi przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) tłuszcz z diety powinien dostarczać od 20 do 35% energii całkowitej dziennie [EFSA 2017]. Zarówno jego nadmiar, jak i niedobór może zachwiać homeostazę organizmu. Z jednej strony jest składnikiem najbardziej kalorycznym (1 g tłuszczu dostarcza około 9 kcal), a z drugiej strony dostarcza korzystne żywieniowo KT, niektóre witaminy, przeciwutleniacze oraz bierze udział w budowaniu błon komórkowych czy przebiegu przemian metabolicznych [FAO 2010].

1.1.1. Wartość żywieniowa lipidów

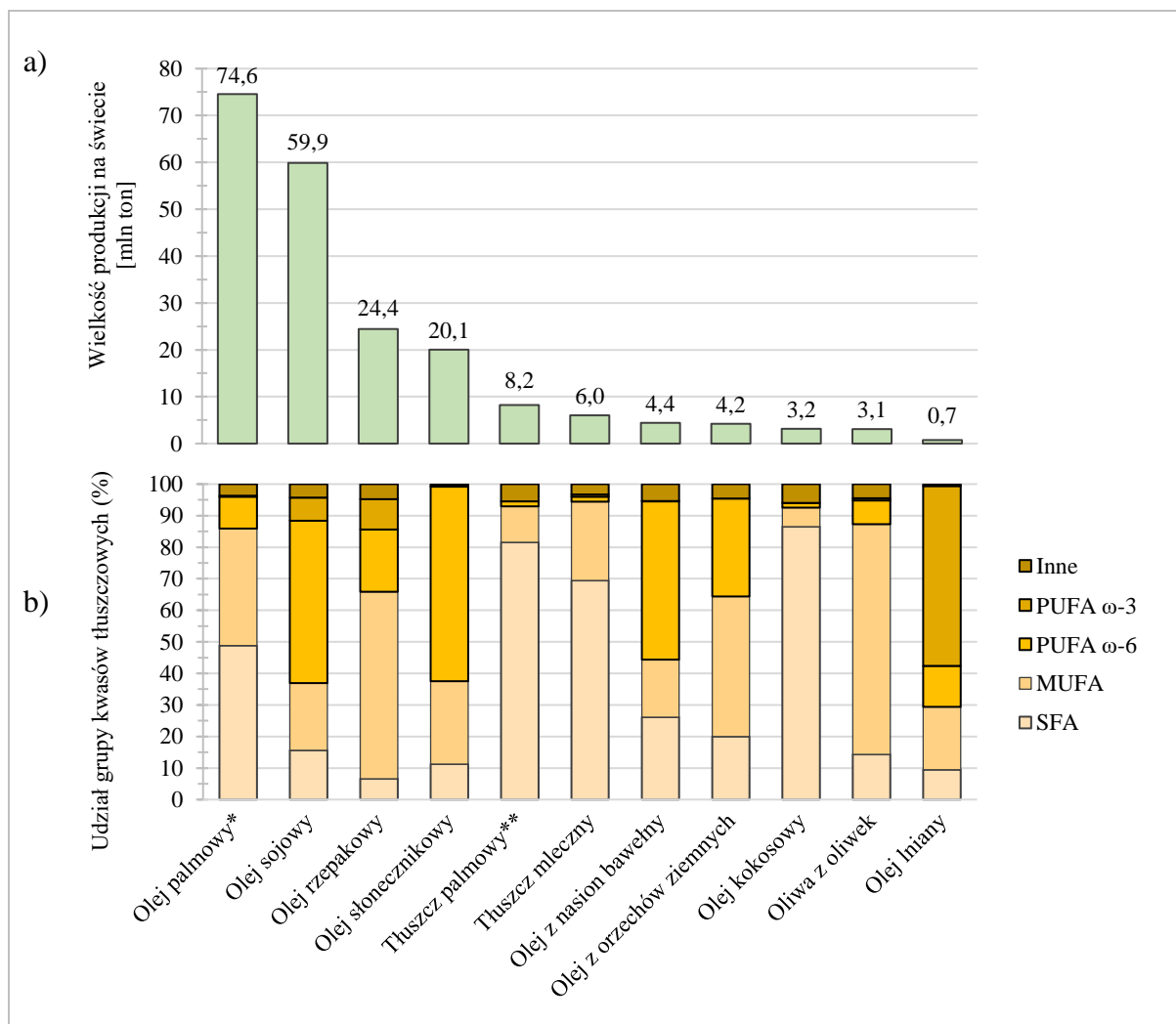
Największe zastrzeżenia zdrowotne dotyczą TFA oraz SFA. Zwiększają one ryzyko zapadalności na choroby układu krążenia (z ang. Cardiovascular Diseases – CVDs). Często choroby te są spowodowane wysokim poziomem trójglicerydów, frakcji LDL cholesterolu i niskim poziomem frakcji HDL cholesterolu. SFA występują naturalnie w dużej ilości, np. w oleju kokosowym, tłuszczu mlecznym czy oleju palmowym. Powstają również w procesie całkowitego [Billingsley i wsp. 2018] lub częściowego uwodornienia olejów w warunkach przemysłowych [Kuhnt i wsp. 2011] oraz podczas długotrwałego ogrzewania w wysokiej temperaturze [Li i wsp. 2013, Afaneh i wsp. 2017].

Według zaleceń żywieniowych ilość spożywanych SFA (niezależnie od pochodzenia) nie powinna dostarczać więcej niż 10% całkowitej energii dziennie. Z kolei zawartość TFA pochodzenia przemysłowego w 100 g tłuszczu spożywczego nie może

być większa niż 2 g [Rozporządzenie 2019/649]. Rekomenduje się również zastępowanie SFA i TFA przez jedno- (MUFA) i wielonienasycone KT (PUFA) [Briggs i wsp. 2017].

Badania kliniczne wykazały, że głównym czynnikiem decydującym o wpływie SFA na profil lipidowy jest długość łańcucha węglowego. Według tej klasyfikacji SFA dzielone są na: krótkołańcuchowe (2-4 atomy węgla), średniołańcuchowe (6-12 atomów węgla) oraz długołańcuchowe (> 12 atomów węgla). Dowiedziono, że długołańcuchowe SFA (kwasy laurynowy, mirystynowy i palmitynowy) powodują znaczące zwiększenie udziału frakcji LDL, stężenia trójglicerydów i zmniejszenie udziału frakcji HDL, zwiększając tym samym ryzyko CVD [Panth i wsp. 2018]. Należy zwrócić uwagę, że olej palmowy jest istotnym źródłem nasyconych kwasów tłuszczowych (rys. 1), w tym kwasu palmitynowego (około 44%) [Montoya i wsp. 2014]. Olej ten dominuje na rynku tłuszczów, co ma związek z jego ceną, dostępnością i wysoką stabilnością oksydacyjną [Dian i wsp. 2017]. Pomimo niechęci konsumentów do oleju palmowego, głównie ze względu na kontrowersje związane z uprawą palmy oleistej (wycinką lasów tropikalnych, zmianami klimatycznymi i dysfunkcją społeczno-ekonomiczną) [Sodano i wsp. 2018], to wielkość produkcji i eksportu tego tłuszczu (na przykładzie Malezji) nadal jest na wysokim poziomie (rys. 1) [Tam i Lim 2019].

Szczególną rolę w organizmie odgrywają niezbędne nienasycone KT (NNKT). Te z rodziny omega-3 (ω -3) odpowiadają za tworzenie związków przeciwzapalnych czy antykancerogennych, zmniejszają ryzyko występowania choroby wieńcowej i niedokrwiennej serca, cukrzycy typu II, osteoporozy, a nawet zwyrodnień neurologicznych [Swanson i wsp. 2012]. Ich podaż w codziennej diecie mieszkańców krajów Europy Zachodniej jest zbyt niska, w konsekwencji istnieje potrzeba ich suplementacji. Bardzo dobrym źródłem kwasu α -linolenowego (ALA) jest olej lniany (ponad 50% całej puli KT), zaś kwasu dokozaheksaenowego (DHA) i kwasu eikozapentaenowy (EPA) – oleje rybne. ALA jest prekursorem EPA i DHA, lecz konkuruje o te same enzymy w szlaku metabolicznym z PUFA z rodziny ω -6, spożywanych przez konsumentów w większej ilości [Shahidi i Ambigaipalan 2018]. Badania *in vivo* wykazały, że wzbogacenie diety zwierząt w olej rzepakowy (o 10% lub 20%) przyczyniło się do zmniejszenia wskaźnika zawałów i ogólnej śmiertelności. Stwierdzono, że olej rzepakowy, jako źródło ALA, ma duży potencjał do zastosowania w żywności funkcjonalnej, wpływając na zmniejszenie ryzyka udaru mózgu [Nguemeni i wsp. 2010].



Rys. 1. Średnia wielkość produkcji (a) [FAOSTAT 2021] oraz skład kwasów tłuszczowych (b) wybranych tłuszczów jadalnych

Źródło: Opracowanie własne na podstawie [Lindmark Månsson 2008, Hashempour-Baltork i wsp. 2018, Harun 2019, EFO 2021]; Objasnienia: * olej palmowy – pozyskiwany z owoców palmy oleistej; ** tłuszcz palmowy – pozyskiwany z ziaren palmy oleistej.

W przypadku olejów i tłuszczów jadalnych dużym problemem są przemiany oksydacyjne prowadzące do powstawania toksycznych produktów, które przyspieszają starzenie się organizmu, generują stany zapalne, zwiększają ryzyko miażdżycy czy nowotworów. Im większy stopień nienasycenia lipidu, tym szybciej następuje jego utlenianie. W pierwszej kolejności powstają pierwotne produkty utleniania – hydronadtlenki i wodoronadtlenki, następnie produkty wtórnego utleniania pochodzące z rozkładu KT – aldehydy, ketony czy epoksydy. Wszelkie procesy przetwórcze, które wymagają ogrzewania surowca/produktu, przyspieszają proces utleniania. W praktyce każda żywność zawierająca lipidy (nawet < 1%) jest podatna na utlenianie i może akumulować produkty utleniania w czasie przechowywania [Vieira i wsp. 2017].

Nieustannie trwają badania nad ograniczeniem tych przemian, gdyż prowadzą one do utraty możliwych efektów prozdrowotnych, wynikających ze spożycia NNKT, szczególnie PUFA ω -3 [Lee i wsp. 2019]. Jednakże problemy związane z deficytem tych KT w diecie są potencjalnie mniejsze niż te, spowodowane przez produkty ich oksydacji, które wchodzą w interakcje z innymi składnikami żywności, głównie z białkami i witaminami. Ponadto pierwotne produkty utleniania są słabo wchłaniane z jelit, działając szkodliwie na błonę śluzową przewodu pokarmowego. Z kolei niskocząsteczkowe produkty rozkładu KT są szybko wchłaniane w jelitach i przedostają się do krwiobiegu, mając tym samym dostęp do wielu tkanek organizmu [Wąsowicz i wsp. 2004].

W związku z powyższym niezwykle ważna jest dbałość o wysoką jakość spożywanego tłuszczu. Bardzo istotną rolę odgrywa również poziom świadomości konsumentów, jednak najważniejsze są decyzje podejmowane przez producentów żywności już na etapach doboru surowca i jego przetwarzania. Biorąc pod uwagę względy żywieniowe, ważne jest nie tylko samo konsumowanie tłuszczu w rekomendowanej ilości, ale także jego skład chemiczny [Żbikowska 2014].

1.1.2. Wartość użytkowa lipidów

Lipidy jadalne pełnią ważne funkcje w kształtowaniu struktury, stabilności czy cech sensorycznych produktów spożywczych. Analizując makroskopowe właściwości tłuszczów należy rozważać zarówno skład chemiczny (włączając właściwości fizykochemiczne), jak i warunki ich przetwarzania [Shi i wsp. 2005, Van den Brecht i wsp. 2012].

1.1.2.1. Determinanty stabilności fizycznej lipidów

Stabilność fizyczna lipidów, rozpatrywana jako ich podatność na separację i migrację frakcji ciekłej, jest determinowana zarówno czynnikami wewnętrznymi (składem i rozmieszczeniem KT w cząsteczkach triacylogliceroli (TAG) [Lindmark Månsson 2008], rodzajem i stężeniem substancji towarzyszących) [Ribeiro i wsp. 2015], jak i zewnętrznymi (np. temperaturą, czasem, szybkością ścinania) [Mazzanti i wsp. 2005, Domingues i wsp. 2015]. Czynniki te wywierają wpływ na strukturę i rozmieszczenie kryształów lipidowych [Sato i wsp. 2013], formy polimorficzne [Domingues i wsp. 2015] oraz temperaturę topnienia [Marangoni i Wesdorp 2012]. Kształtują one parametry teksturalne i reologiczne tłuszczu [Devi i Khatkar 2017], a także jego stabilność fizyczną.

Właściwości lipidów, składających się głównie z TAG (zwykle ponad 95%), w dużej mierze zależą od składu kwasów tłuszczowych. Przeważający udział nienasyconych KT w składzie skutkuje bardziej płynną konsystencją, a zarazem niższą temperaturą topnienia tłuszczu. Z kolei tłuszcze o konsystencji stałej w temperaturze pokojowej ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) najczęściej charakteryzuje duża zawartość SFA. TFA, podobnie jak SFA, cechuje wyższa temperatura topnienia niż odpowiadające im izomery *cis*. Wyższa temperatura topnienia wpływa na większą stabilność strukturalną lipidów. Jest to również determinowane długością łańcuchów węglowych SFA [Berg i wsp. 2002, Lindmark Månsson 2008]. Im są one dłuższe, tym wyższa temperatura topnienia tłuszczu [Devi i Khatkar 2017], np. olej palmowy (przewaga długołańcuchowego kwasu palmitynowego, C16) wykazuje wyższą temperaturę topnienia od tłuszczu mlecznego (przewaga krótko- i średniołańcuchowych KT, odpowiednio C3-C7 i C8-C13), pomimo mniejszej zawartości SFA ogółem [FAO 2010, Szymańska i wsp. 2021]. Zazwyczaj lipidy bogate w SFA i/lub TFA są najbardziej korzystne pod względem cech technologicznych, które przekładają się na pożądane właściwości fizyczne, w tym stabilność fizyczną, a nawet cechy sensoryczne produktu końcowego. Dlatego ich zastosowanie wciąż jest szeroko rozpowszechnione w przemyśle spożywczym [Żbikowska 2010, Żbikowska i wsp. 2012].

Innym ważnym aspektem, mającym związek ze stabilnością fizyczną lipidów, jest struktura i rozmieszczenie kryształów tłuszczu. Wpływ na to mają zarówno czynniki wewnętrzne, m.in. skład chemiczny tłuszczu, jak również czynniki zewnętrzne [Sato i wsp. 2013, Ribeiro i wsp. 2015], m.in. zastosowanie substancji dodatkowych czy parametry procesu przetwarzania tłuszczu (np. szybkość chłodzenia, temperatura krystalizacji, siły ścinające, emulgowanie) [Fredrick i wsp. 2011].

Na kształtowanie struktury wewnętrznej i cech makroskopowych lipidów bardzo istotny wpływ ma przebieg krystalizacji. Proces ten to spontaniczne uporządkowanie układu następujące w wyniku całkowitego lub częściowego ograniczenia ruchliwości cząstek, poprzez powstawanie fizycznych lub chemicznych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami TAG. Do zapoczątkowania krystalizacji konieczne jest przekroczenie bariery energetycznej poprzez przesylenie lub przechłodzenie układu (siła napędowa procesu). Powstają zarodki, w wyniku łączenia się pojedynczych cząsteczek TAG w skupienia (klastry), następnie tzw. jądra (zarodki) krystalizacji. W kolejnym etapie dochodzi do zwiększenia kryształów w tworzonej sieci krystalicznej, utrzymującej frakcję ciekłą w strukturze. Proces trwa do osiągnięcia stanu równowagi (znielowania siły napędowej) i maksymalnej objętości frakcji krystalicznej [Domingues i wsp. 2015].

Zdaniem Calliauw i wsp. [2010] na szybkość krystalizacji tłuszczu wpływa struktura cząsteczek TAG (rozkład KT w strukturze). Cząsteczka glicerolu może być zestryfikowana jednakowymi (TAG monokwasowy) lub różnymi KT (TAG di- lub trikwasowy) w trzech możliwych pozycjach: sn-1 i sn-3 (zewnątrznych) oraz sn-2 (wewnętrznej). Tłuszcz zawierający głównie TAG składające się z trzech SFA będzie krystalizował szybciej niż inne tłuszcze, natomiast tłuszcz z TAG z dwoma SFA w pozycji sn-1 i sn-3 i jednym nienasyconym KT, w pozycji środkowej sn-2, będzie krystalizował wolniej. Modyfikowanie procesu krystalizacji może być realizowane m.in. poprzez dodawanie mono- lub diacylogliceroli, zastosowanie środków zarodkujących czy emulgatorów [Ribeiro i wsp. 2015]. Czas krystalizacji i morfologia tworzonych kryształów (rozmiar i kształt) zależą również od szybkości chłodzenia i/lub ogrzewania czy stosowania sił ścinających. Powolne chłodzenie układu sprzyja powstawaniu nielicznych, dużych kryształów tłuszczowych. Przyspieszenie chłodzenia skutkuje tworzeniem licznych kryształów o mniejszych rozmiarach [Sato i wsp. 2013]. Taką zależność zaobserwowali Normah i wsp. [2013], którzy analizowali morfologię kryształów w rafinowanym oleju palmowym, powstałych w temperaturze 14°C lub 22°C przez 90 min.

Zagadnieniem ściśle powiązaniem z procesem krystalizacji tłuszczów jest ich natura polimorficzna. Mogą one występować w więcej niż jednej formie krystalicznej, przy tym samym składzie. W lipidach dominują trzy specyficzne formy: α (niestabilna), β' (metastabilna) i β (stabilna), które różnią się gęstością upakowania cząsteczkowego. Wraz ze zwiększeniem stabilności kryształów rośnie temperatura topnienia tłuszczu [Marangoni i Wesdorp 2012]. W przypadku trilaurynianu glicerolu (LLL), charakterystycznego dla oleju kokosowego i oleju z ziaren palmowych, wartości temperatury topnienia dla form α , β' , β wynoszą odpowiednio 15°C, 35°C i 46,5°C [Lee i wsp. 2010]. Temperatura topnienia tych form w tłuszczu mlecznym to odpowiednio 22°C, 30°C i 35°C [Rachana i Nath 2008]. TAG zazwyczaj najpierw krystalizują w formach α i β' , które mogą przekształcić się w formę β w funkcji czasu, w stałej temperaturze. Tłuszcze o małej zmienności TAG szybko przekształcają się w formę β . Złożoność mieszanin TAG powoduje, że w danej temperaturze mogą współistnieć różne formy polimorficzne i frakcja ciekła [Domingues i wsp. 2015]. Jeżeli metastabilna struktura polimorficzna jest utrzymywana niewiele poniżej jej temperatury topnienia, łatwo przekształca się w bardziej stabilną formę [Hondoh i Ueno 2016]. Transformacje polimorficzne w kolejności od formy α , przez β' , do β są nieodwracalne [Rachana i Nath

2008]. Zgodnie z Zaliha i wsp. [2015] szybkie chłodzenie oleju palmowego sprzyja powstawaniu małych, niestabilnych kryształów w formie α . Z kolei Mazzanti i wsp. [2005] badali wpływ szybkości ścinania (od 0 do 2880 1/s) na tworzenie i transformacje form krystalicznych w oleju palmowym. Stwierdzili, że duża szybkość ścinania sprzyja powstawaniu kryształów α , które łatwo przekształcają się w formę β' w temperaturach 17°C i 22°C. Niższe szybkości ścinania opóźniają zarodkowanie kryształów β' , gdyż następuje agregacja jąder α .

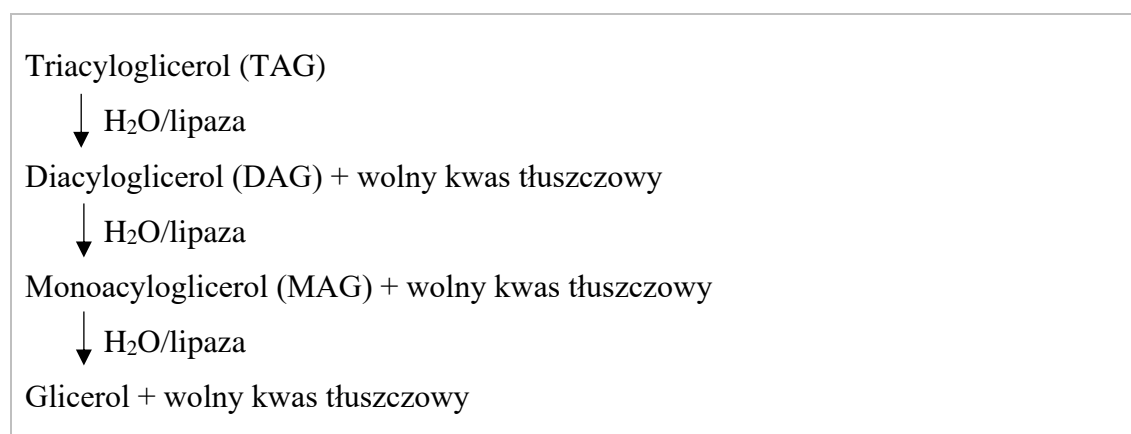
Z punktu widzenia stabilności fizycznej tłuszczu i jego produktów, bardzo ważne jest zjawisko rekrytalizacji, zwłaszcza w czasie przechowywania. Mniejsze kryształy mają niższą temperaturę topnienia niż większe kryształy, dlatego jako pierwsze ulegają rozpuszczeniu po podwyższeniu temperatury. W wyniku ponownego przechłodzenia układu nie tworzą się nowe zarodki kryształów, lecz te, które pozostały, zwiększają swoje rozmiary. W związku z tym rekrytalizacja może powodować m.in. pogorszenie konsystencji lodów, powstawanie nalotu tłuszczowego w czekoladach czy wyciek frakcji ciekłej lipidów w produktach wysokotłuszczowych [Domingues i wsp. 2015]. Kryształy tłuszczowe w formie α są kruche i kształtem przypominają płytki. Tłuszcze, które krystalizują w formie β' (w kształcie drobnych igieł) charakteryzują się gładką i kremową konsystencją. Z kolei duże kryształy β powodują piaszczystą lub ziarnistą strukturę tłuszczów [Rabiej i wsp. 2016].

Zważywszy na charakter dwufazowy (płynny i stały) układów tłuszczowych, ich zachowanie reologiczne jest złożone, co wpływa na ostateczną strukturę produktu. Oleje są płynami newtonowskimi w szerokim zakresie szybkości ścinania. Ze względu na pojawienie się kryształów w temperaturze zbliżonej do temperatury topnienia, mogą wykazywać cechy płynów nienewtonowskich. Lepkość oleju zwiększa się wraz ze zwiększeniem masy cząsteczkowej oraz wraz ze zmniejszeniem stopnia nienasycenia KT i temperatury otoczenia. Z kolei tłuszcze stałe w temperaturze pokojowej ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) to układy lepko-sprężyste [Devi i Khatkar 2017].

1.1.2.2. Determinanty stabilności chemicznej lipidów

Głównymi przemianami zachodzącymi w lipidach, ograniczającymi ich trwałość, są utlenianie i hydroliza (zwana lipolizą), które niejednokrotnie określane są łącznie jako „jełczenie”. Hydroliza lipidów może przybierać dwie formy. Pierwsza z nich obejmuje reakcję TAG z wodą, pod wpływem ciepła, w wyniku której powstają niestabilne ketony, które stosunkowo szybko przekształcają się w ketony metylowe i hydroksykwasy

tłuszczowe (prekursory γ - i δ -laktonów). W zależności od długości łańcucha węglowego ketony metylowe powodują charakterystyczny posmak, np. ketony 7-węglowe – sera pleśniowego, zaś 11-węglowe – słodki i tłuszczowy. Druga forma hydrolizy obejmuje reakcję TAG z wodą w obecności aktywnej lipazy, skutkując stopniowym uwalnianiem cząsteczek wolnych KT, aż do uzyskania glicerolu (rys. 2). Im krótszy łańcuch węglowy wolnego kwasu tłuszczowego, tym niższy próg wyczuwalności sensorycznej. Dla przykładu, uwalniany w wyniku hydrolizy tłuszczu mlecznego kwas masłowy (4-węglowy), o serowym zapachu i smaku, ma próg wyczuwalności 0,00006%. Z kolei hydroliza oleju kokosowego i oleju z ziaren palmowych powoduje uwolnienie dużych ilości kwasu laurynowego (12-węglowego), o mydlanym zapachu i smaku, którego próg wyczuwalności wynosi 0,07% [Talbot 2016].



Rys. 2. Hydrolityczny rozkład triacylogliceroli (TAG)

Źródło: opracowanie własne na podstawie [Talbot 2016].

Wszystkie produkty spożywcze zawierające lipidy (nawet < 1%) są podatne na utlenianie, które niekorzystnie wpływa na ich jakość i trwałość. W wyniku przemian oksydacyjnych następuje nie tylko utrata cennych składników odżywczych i gromadzenie szkodliwych produktów utleniania, ale również pogorszenie cech sensorycznych (smaku, zapachu, barwy) żywności [Wąsowicz i wsp. 2004].

Utlenianie lipidów w obecności katalizatorów, takich jak światło, ciepło, metale, enzymy i mikroorganizmy, zachodzi na drodze fotooksydacji, samoutleniania, utleniania termicznego lub enzymatycznego. Przemiany te generują rodniki i/lub inne reaktywne formy produktów [Shahidi i Zhong 2010]. Nienasycone KT i ich pochodne są silnie narażone na utlenianie, szczególnie na procesy autooksydacji (samoutleniania), definiowanej jako spontaniczna rodnikowa reakcja łańcuchowa lipidów z tlenem

atmosferycznym [Sun i wsp. 2011]. Samoutlenianie lipidów składa się z trzech etapów: inicjacji, propagacji i terminacji. W pierwszym etapie powstają rodniki lipidowe (L[•]) w wyniku homolizy (zerwania wiązań kowalencyjnych) w substracie lipidowym (LH) pod wpływem ciepła, światła, reaktywnej formy tlenu czy kationów metali. W następnym etapie (propagacji) rodniki reagują z tlenem, tworząc rodnik nadtlenkowy (LOO[•]), który w reakcji z atomem wodoru z substratu lipidowego tworzy wodoronadtlenek lipidowy (LOOH) i kolejny rodnik (L[•]). Długość cyklu propagacji jest wprost proporcjonalna do stopnia nienasycenia lipidów. W ostatnim etapie (terminacji) powstają produkty nierodnikowe w wyniku reakcji nadmiaru powstałych rodników LOO[•] i L[•] (rys. 3) [Dąbrowska i wsp. 2015, Ahmed i wsp. 2016].

Wodoronadtlenki to niestabilne pierwotne produkty utleniania z zachowaną strukturą łańcucha węglowego, ulegające dalszym reakcjom. W pierwszej kolejności powstają rodniki alkoksyłowy LO[•] i hydroksyłowy OH[•] z rozpadu wiązań O-O, następnie z rodnika LO[•] mogą powstać aldehydy z rozpadu wiązań C-C oraz izomery wodoronadtlenków z rozpadu wiązań C-O. Wtórne produkty utleniania lipidów to związki lotne (m.in. węglowodory, aldehydy, ketony, estry, laktony, alkohole oraz etery) bądź nielotne (m.in. dwu i trzykrotnie utlenione estry, pochodzące z odpowiednich keto-, hydroksy-, hydroksyperoksy- i estroepoksydów) [Zielińska i wsp. 2017, Domínguez i wsp. 2019].

| | |
|-------------|---|
| Inicjacja: | $LH \rightarrow L^{\bullet} + H^{\bullet}$ |
| Propagacja: | $L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$ $LOO^{\bullet} + LH \rightarrow LOOH + L^{\bullet}$ |
| Terminacja: | $LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOL + O_2$ $LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow LOOL$ $LO^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow LOL$ $L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow L-L$ |

Rys. 3. Mechanizm autooksydacji lipidów

Źródło: opracowanie własne na podstawie [Saldaña i Martínez-Monteagudo 2013, Ahmed i wsp. 2016].

Stabilność oksydacyjna lipidów jest determinowana różnorodnymi czynnikami. Można wyróżnić zarówno czynniki wewnętrzne (skład chemiczny), jak i czynniki zewnętrzne (warunki przetwarzania i przechowywania). Znaczący wpływ ma skład KT, a w szczególności liczba i położenie wiązań podwójnych w łańcuchach węglowych.

Podatność na utlenienie lipidów zwiększa się wraz ze zwiększeniem stopnia nienasycenia KT. Nienasycone KT ulegają rozpadowi (homolizie) w niższych temperaturach niż SFA [Saldaña i Martínez-Monteağudo 2013]. Ponadto tlen singletowy jest około 1450 razy bardziej reaktywny od tlenu tripletowego [Cichosz i Czczot 2011]. Niektóre metale (np. miedź, żelazo) i enzymy (np. lipooksygenaza) są silnymi katalizatorami reakcji tlenu z wielonienasyconymi KT. Ponadto utlenianie lipidów zachodzi z dużą szybkością przy bardzo niskiej aktywności wody ($< 0,3$). Z kolei obecność przeciwutleniaczy (np. tokoferoli, karotenoidów, związków fenolowych) może spowolnić te przemiany [Kong i Singh 2016, Sabolová i wsp. 2020].

Do czynników zewnętrznych, wpływających na przemiany oksydacyjne w lipidach podczas ich przetwarzania czy przechowywania, należą warunki otoczenia (temperatura, wilgotność względna, intensywność i długość fali promieniowania świetlnego) oraz właściwości opakowania (barierowość wobec tlenu, światła czy wody) oraz skład atmosfery wewnątrz opakowania [Manzocco i wsp. 2020]. W przeciwieństwie do olejów rafinowanych, oleje tłoczone na zimno często charakteryzują się wyższym stopniem pierwotnego utlenienia oraz mniej przewidywalną stabilnością oksydacyjną [Grajzer i wsp. 2020]. W konsekwencji procesu rafinacji usuwane są substancje prooksydacyjne i substancje bioaktywne, których zawartość może zostać uzupełniona do poziomu przed procesem [Redondo-Cuevas i wsp. 2018]. W ostatnim etapie tradycyjnej rafinacji stosowane są wysokie temperatury (nawet $> 200^{\circ}\text{C}$), które sprzyjają degradacji nadtlenków (pierwotnych produktów utleniania) i tworzeniu wtórnych produktów utleniania, np. aldehydów, ketonów. W metodzie rafinacji minimalnej pomijany jest etap dezodoryzacji, w celu zachowania jak największej ilości substancji bioaktywnych w oleju [Ghazani i Marangoni 2013].

1.1.3. Konwencjonalne i alternatywne metody strukturyzowania lipidów

Wysoka wartość użytkowa lipidów jest zazwyczaj ujemnie skorelowana z ich wartością żywieniową. Dlatego należy dążyć do opracowania i zaoferowania konsumentowi produktów o jednocześnie wysokiej wartości technologicznej i żywieniowej [Zetzl i Marangoni 2014, Martins i wsp. 2020]. Przewaga pożądaných technologicznie SFA w diecie może niekorzystnie wpływać na organizm człowieka. Z kolei niska stabilność fizyczna i chemiczna olejów bogatych w PUFA (w tym deficytowe w diecie KT ω -3) sprawia, że ich zastosowanie w przemyśle spożywczym jest bardzo ograniczone. W celu uzyskania lipidów o pożądaných właściwościach fizycznych,

chemicznych, sensorycznych czy odżywczych stosuje się różne metody ich strukturyzowania [Temkov i Mureşan 2021]. Do metod konwencjonalnych należą: mieszanie mechaniczne [Choi i wsp. 2014], frakcjonowanie [Gibon 2012], uwodornienie [Dijkstra 2012] czy przeestryfikowanie chemiczne [Asif 2011]. Z kolei metodami alternatywnymi strukturyzowania lipidów jadalnych są przeestryfikowanie enzymatyczne [De Clercq i wsp. 2012] oraz oleożelacja [Chaves i wsp. 2018].

1.1.3.1. Konwencjonalne metody strukturyzowania lipidów

Mieszanie mechaniczne to prosta i powszechnie stosowana metoda modyfikacji tłuszczów, mająca na celu przede wszystkim zwiększenie możliwości zastosowania lipidów, których samodzielne wykorzystanie jest ograniczone. Zmieszanie lipidów o odmiennych właściwościach pozwala na uzyskanie tłuszczu o właściwościach pośrednich. Praktykuje się mieszanie popularnych olejów z niekonwencjonalnymi, w celu obniżenia kosztów i sprostania wymaganiom przemysłu [Hashempour-Baltork i wsp. 2016]. Oleje, które zawierają dużo kwasu oleinowego (np. oliwa z oliwek, olej z orzechów ziemnych), mają tendencję do mętnienia po schłodzeniu. Zmieszanie ich z olejami o wyższym stopniu nienasycenia daje klarowną, stabilną w czasie przechowywania mieszaninę [Roiaini i wsp. 2015]. Choi i wsp. [2014] poprzez zmieszanie tłuszczu palmowego z olejem rzepakowym otrzymali fryturę o dobrym składzie KT, cechach organoleptycznych i stabilności oksydacyjnej. Z kolei El-Anany i Ali [2012], poprzez zmieszanie oleju kokosowego z olejem z orzechów tygrysi, otrzymali produkt o lepszym żywieniowo składzie KT niż olej kokosowy. Uzyskanie mieszaniny o zwiększonej stabilności oksydacyjnej czasami nie wymaga istotnej zmiany składu KT. Według Kiralan i wsp. [2016] poprawa stabilności oksydacyjnej mieszaniny rafinowanego oleju słonecznikowego z tłoczonym na zimno olejem z czarnuszki nastąpiła w wyniku zwiększenia poziomu tymochinonu i tokoferoli (przeciwutleniaczy).

Frakcjonowanie jest termomechanicznym procesem separacji, w którym mieszanina wieloskładnikowa jest fizycznie rozdzielana na frakcje o odmiennych właściwościach fizykochemicznych. Rozdział taki może opierać się na różnicy w rozpuszczalności lub lotności związków. W krystalizacji frakcyjnej wykorzystywana jest różnica rozpuszczalności stałych cząsteczek tłuszczu (np. TAG, KT) w fazie ciekłej w zależności od ich masy cząsteczkowej i stopnia nienasycenia. We frakcjonowaniu rozpuszczalnikowym stosuje się rozpuszczalniki organiczne (np. heksan czy aceton), które zwiększają nie tylko wydajność procesu, ale również koszty inwestycyjne

i produkcyjne, a także mogą stanowić zagrożenie dla środowiska. W celu poprawy skuteczności oddzielania fazy krystalicznej od fazy ciekłej, opracowano frakcjonowanie za pomocą środków powierzchniowo-czynnych, co wiąże się ze zwiększeniem kosztu i ewentualnym zanieczyszczeniem produktu końcowego [Gibon 2012]. Z kolei frakcjonowanie „na sucho” jest procesem, polegającym na kontrolowanej krystalizacji, zachodzącej na skutek powolnego chłodzenia. Wieloetapowe prowadzenie operacji umożliwia otrzymywanie wielu specyficznych frakcji lipidów. Jest techniką bardziej ekonomiczną i przyjazną środowisku niż pozostałe metody frakcjonowania [Kellens i Calliauw 2013].

Jednym z najczęściej frakcjonowanych olejów jest olej palmowy. Możliwość otrzymywania wielu różnych frakcji powoduje jego szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, np. jako substytutu masła kakaowego, margaryny czy tłuszczu do smażenia [Tong i wsp. 2021].

Uwodornienie to proces przekształcenia lipidu ciekłego w półstały lub stały poprzez częściowe lub całkowite wysycenie wiązań podwójnych za pomocą wodoru, w obecności katalizatora, w wysokiej temperaturze (do 220°C). Celem procesu jest również zwiększenie stabilności oksydacyjnej i termicznej olejów, a w konsekwencji wydłużenie ich przydatności do spożycia. Wyróżnia się uwodornienie całkowite oraz częściowe bez i z utwardzeniem [Żbikowska i Kowalska 2012]. Podczas uwodornienia częściowego powstają TFA, głównie kwas elaidynowy (C18:1t). Zawartość TFA w częściowo uwodornionym oleju zależy od parametrów procesu, tj. czasu, temperatury, ciśnienia wodoru, rodzaju i stężenia katalizatora [Dijkstra 2012, Kellens i Calliauw 2013]. Ze względu na niekorzystny wpływ TFA na zdrowie oraz wprowadzone w tym zakresie ograniczenia ich zawartości w produktach spożywczych, m.in. w UE [Rozporządzenie 2019/649], producenci żywności wykorzystują lub rozwijają różne rozwiązania technologiczne, w celu zmniejszenia lub wyeliminowania TFA w ich produktach. Realizują to m.in. poprzez modyfikację procesu uwodornienia, stosowanie procesu przeestryfikowania, wykorzystywanie frakcji lipidów naturalnych o wysokiej zawartości stałych TAG i/lub stosowanie olejów (np. wysokooleinowych, średniooleinowych, niskolinolenowych) pozyskiwanych ze specyficznych odmian powszechnie znanych roślin oleistych, np. nasion rzepaku/słonecznika [Dhaka i wsp. 2011].

Przeestryfikowanie jest reakcją wymiany grup acylowych w obrębie tej samej cząsteczki lub pomiędzy różnymi cząsteczkami TAG. Proces przebiega w obecności katalizatora. Nie powoduje zmian stopnia nienasycenia ani izomeryzacji KT, lecz

modyfikację właściwości fizycznych lipidów [Fauzi i wsp. 2013]. Reakcja **przeestryfikowania chemicznego** jest katalizowana alkoholami sodu (najczęściej metanolanem sodu), które mogą być dezaktywowane w obecności wody i nadtlenków [Rousseau i wsp. 2017]. Przeestryfikowanie chemiczne przebiega szybko, gdyż stan równowagi może zostać osiągnięty nawet po kilku minutach, lecz nie umożliwia przeprowadzenia reakcji częściowej, w przeciwieństwie do uwodornienia i przeestryfikowania enzymatycznego. Właściwości estryfikowanego lipidu mogą być kontrolowane jedynie za pomocą składu surowca. Rozmieszczenie KT w cząsteczkach TAG w otrzymanych lipidach jest losowe. Po zakończeniu procesu konieczne jest zneutralizowanie katalizatora. Dlatego mieszanina jest chłodzona do temperatury 70-100°C i dodawany jest wodny roztwór kwasu np. cytrynowego [Ribeiro i wsp. 2009]. Straty technologiczne procesu można zminimalizować stosując możliwie najmniejszą ilość katalizatora. Stosowane katalizatory są bardzo reaktywne, dlatego podczas reakcji mogą powstawać produkty uboczne [Asif 2011]. W związku z tym otrzymane lipidy wymagają oczyszczenia (przefiltrowania, wybielania i dezodoryzacji), w celu usunięcia pozostałości mydeł, zneutralizowanego katalizatora, wolnych KT, kwasu cytrynowego czy wody [Rousseau i wsp. 2017].

1.1.3.2. Alternatywne metody strukturyzowania lipidów

Przeestryfikowanie enzymatyczne to proces, w którym stosowane są lipazy w roli katalizatora reakcji. W modyfikacji tej, w przeciwieństwie do przeestryfikowania chemicznego, straty technologiczne są ograniczone. Ponadto otrzymywane lipidy mogą charakteryzować się większą stabilnością oksydacyjną ze względu na duże pozostałości przeciwutleniaczy takich jak tokoferole i tokotrienole. Jednakże w ciągłym procesie przeestryfikowania enzymatycznego istnieje zwiększone ryzyko zanieczyszczeń krzyżowych spowodowanych dużą zmiennością surowców [Gibon 2012]. Aby zapewnić aktywność lipolityczną biokatalizatora, konieczna jest minimalna ilość wody, należy jednak nie dopuszczać do hydrolizy. Zastosowanie lipaz nieselektywnych skutkuje losowym rozmieszczeniem KT w cząsteczkach TAG. W reakcji katalizowanej przez lipazę sn-1,3-regioselektywną wyłącznie grupy acylowe w pozycjach zewnętrznych TAG podlegają wymianie, zaś KT w pozycji wewnętrznej pozostają niezmienione. Z kolei lipazy typoselektywne wykazują selektywność względem danego typu KT [De Clercq i wsp. 2012].

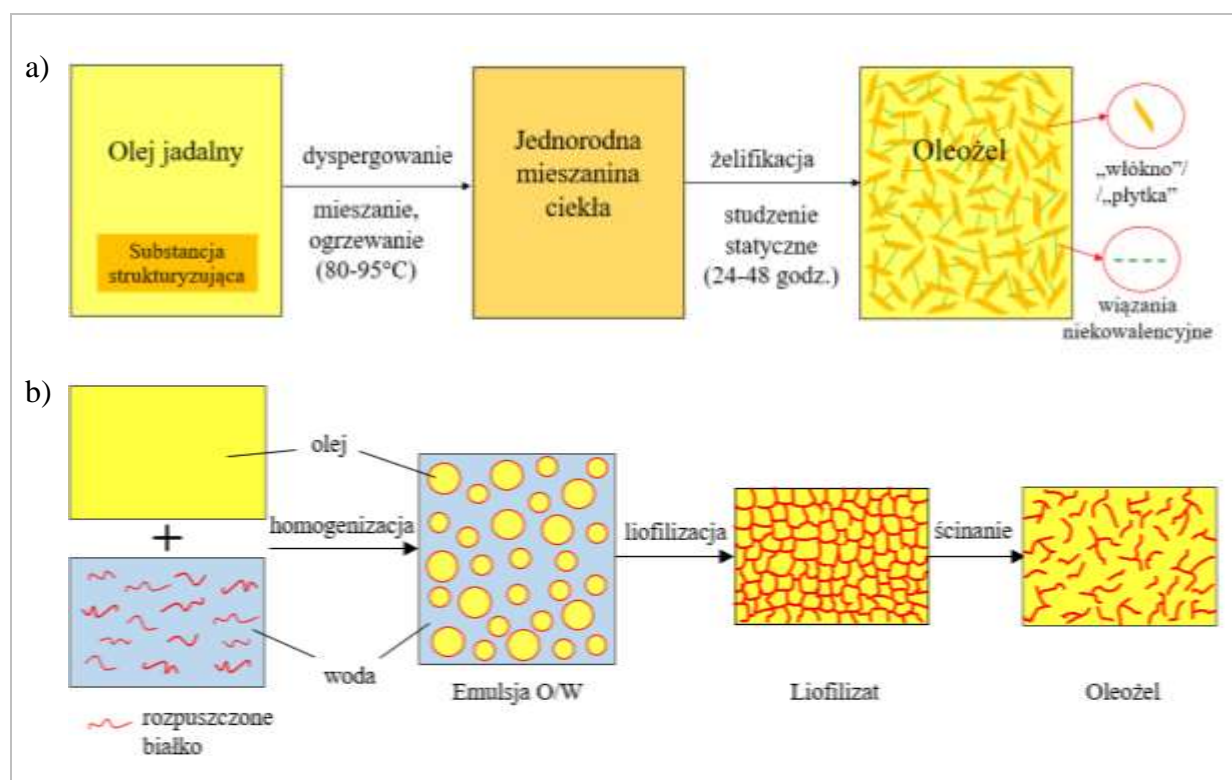
Niespecyficzne przeestryfikowanie enzymatyczne najczęściej jest stosowane do wytwarzania tłuszczów o zmodyfikowanych właściwościach fizycznych (np. punkcie topnienia, plastyczności). Z kolei specyficzne przeestryfikowanie enzymatyczne może być wykorzystywane do wytwarzania produktów „szytych na miarę”, takich jak ekwiwalenty masła kakaowego [De Clercq i wsp. 2012] czy substytuty tłuszczu mleka kobiecego [Kowalska i Żbikowska 2011].

Przeestryfikowanie enzymatyczne jest prowadzone w łagodnych warunkach temperatury i ciśnienia, dostosowanych do aktywności stosowanych lipaz. Optymalna temperatura reakcji często wynosi od 30°C do 50°C, przy czym lipazy mikrobiologiczne wykazują wyższą stabilność termiczną niż lipazy pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego. Chociaż reakcje te mogą być przeprowadzane częściowo (przerywane na zaplanowanym etapie), to ich czas jest znacznie dłuższy (nawet 30 godzin) niż w przypadku przeestryfikowania chemicznego (zazwyczaj nie dłużej niż 30 min) [Soumanou i wsp. 2013] oraz mogą generować wysokie koszty produkcji ze względu na zastosowanie enzymów [Kowalska i Żbikowska 2011].

Oleożelacja jest definiowana jako metoda strukturyzowania niepolarnych płynów o niskiej lepkości za pomocą różnych czynników strukturyzujących [Okuro i wsp. 2020]. Umożliwia otrzymywanie układów o półstałej lub stałej konsystencji w temperaturze pokojowej ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), przy niewielkim udziale masowym (do kilku %) substancji strukturyzującej (oleożelatora). Proces ten nie powoduje zmian w składzie chemicznym czy rozmieszczeniu KT w strukturze TAG [Jang i wsp. 2015].

Oleożele mogą być otrzymywane w sposób bezpośredni albo pośredni. Pierwszy z nich obejmuje wykorzystanie substancji hydrofobowych, do których należą przede wszystkim związki o niskiej masie cząsteczkowej, takie jak KT, sterole, monoacyloglicerole, woski roślinne (np. karnauba, kandelila, słonecznikowy, ryżowy), woski zwierzęce (pszczeli, szelak) [Barroso i wsp. 2020, Thakur i wsp. 2022], ale także niektóre polisacharydy (np. etyloceluloza) [Scharfe i Flöter 2020]. Olej zostaje „uwięziony” w strukturze trójwymiarowej, utworzonej z sieci krystalicznej, stabilizowanej wiązaniami niekowalencyjnymi (wodorowymi, jonowymi, oddziaływaniami hydrofobowymi lub elektrostatycznymi) [Martins i wsp. 2019]. Jest to efekt samoorganizacji rozpuszczonych w oleju cząsteczek, po osiągnięciu temperatury poniżej granicy ich rozpuszczalności. Sieć krystaliczna i właściwości strukturalne oleożeli zależą od rodzaju zastosowanej substancji strukturyzującej. W przypadku wosków to właśnie długołańcuchowe estry alkilowe, kwasy/alkohole tłuszczowe czy

n-alkany, które zestalają się podczas studzenia mieszaniny, tworzą na poziomie mikroskopowym kryształy w postaci igieł, włókien lub płytek łączących się w sieć formującą trójwymiarową strukturę wewnętrzną (rys. 4a) [Avendaño-Vásquez i wsp. 2020]. Pośredni proces otrzymywania oleożeli wymaga stosowania substancji rozpuszczalnych w układach polarnych (polipeptydów, polisacharydów) – rys. 4b. Oleożelacja pośrednia jest znacznie bardziej złożona. W pierwszej kolejności następuje zemulgowanie oleju z roztworem wodnym substancji strukturyzującej, następnie liofilizacja, a na końcu ścinanie liofilizatu (z ang.: HIPE – High Internal Phase Emulsion), co umożliwiła otrzymanie właściwej struktury oleożelowej [Feichtinger i Scholten 2020]. Wadą tej metody są wysokie koszty procesu liofilizacji [Cieurzyńska i Lenart 2011].



Rys. 4. Schemat otrzymywania oleożeli (a) w sposób bezpośredni na przykładzie wosku oraz (b) sposobem pośrednim na przykładzie białka

Źródło: opracowanie własne na podstawie [Feichtinger i Scholten 2020].

Substancje strukturyzujące różnią się składem chemicznym i właściwościami fizycznymi, w zależności od źródła i sposobu pozyskiwania, czynników genetycznych czy środowiskowych (tab. 1) [Tinto i wsp. 2017]. Rodzaj i stężenie substancji strukturyzującej, rodzaj oleju bazowego oraz warunki oleożelacji istotnie wpływają na morfologię kryształów i tworzoną strukturę przestrzenną, a w konsekwencji na

właściwości reologiczne i stabilność lipidów strukturyzowanych [Puścaś i wsp. 2020, Scharfe i Flöter 2020]. Doan i wsp. [2015] uzyskali dłuższe kryształy lipidowe w oleożelu (na bazie oleju z otrębów ryżowych) otrzymanym przy użyciu wosku słonecznikowego, w porównaniu do oleożeli z udziałem wosku pszczelego, jagodowego lub kandelila (5% m/m wosku). Zauważyli również, że kształt niektórych kryształów różnił się od najczęściej spotykanych igieł lub włókien. W oleożelu z woskiem jagodowym występowały również kryształy sferolityczne, zaś w oleożelu z woskiem karnauba – kryształy dendrytyczne. Autorzy stwierdzili, że obecność kryształów o takich kształtach nie sprzyja stabilności oleożeli. Z kolei Blake i wsp. [2014] wykazali, że minimalne stężenie niezbędne do zżelowania (stężenie krytyczne) oleju rzepakowego wynosi: 1% dla wosku ryżowego i wosku słonecznikowego, 2% dla wosku kandelila oraz 4% dla wosku karnauba. Według Singh i wsp. [2020] stężenie krytyczne w przypadku żelowania oleju z otrębów ryżowych lub oleju lnianego za pomocą wosku pszczelego wynosi 2%. W licznych badaniach zauważono tendencję do zwiększania się temperatury topnienia oleożeli wraz ze zwiększeniem stężenia substancji strukturyzującej [Oğütçü and Yılmaz 2015, Doan i wsp. 2018, Singh i wsp. 2020]. Według Barroso i wsp. [2020] jednym ze sposobów na zminimalizowanie udziału wosku o wysokiej temperaturze topnienia (mogącego powodować woskowy posmak w ustach) jest łączenie mniejszej ilości wosku z innymi substancjami o niższej temperaturze topnienia (np. pochodnymi KT), przy zachowaniu wysokiej stabilności struktury. Największą zdolność wiązania oleju lnianego tłoczonego na zimno w temperaturze 5°C (100%) i 25°C (około 95%) uzyskano zarówno przy użyciu 6% stężenia mieszaniny monostearynianu glicerolu i wosku słonecznikowego w proporcji 1:1, jak i wosku jagodowego zastosowanego samodzielnie. Z kolei Frolova i wsp. [2022] wykazali, że oleożele z 6% m/m udziałem wosku pszczelego, otrzymane na bazie olejów (np. tłoczonego na zimno oleju lnianego) zawierających dużo substancji towarzyszących, mogą charakteryzować się stosunkowo niską zdolnością wiązania oleju (< 70%), dlatego zasugerowano stosowanie olejów oczyszczonych.

Chopin-Doroteo i wsp. [2011] wykazali podobieństwa strukturalne pomiędzy kwasem palmitynowym a alifatycznym łańcuchem hentriakontanu (C31), czyli głównym *n*-alkanem obecnym w wosku kandelila. Onacik-Gür i wsp. [2017] stwierdziły podobieństwo w morfologii kryształów oleju palmowego i oleożelu na bazie wysokooleinowego oleju słonecznikowego z 3% m/m wosku kandelila. Ponadto według Toro-Vazquez i wsp. [2007] szybkość chłodzenia oleożeli wpływa na morfologię

kryształów. Powolne chłodzenie oleożeli pozwala na uzyskanie wyższego poziomu organizacji molekularnej cząsteczek wosku kandelila w układzie. Zbyt szybkie chłodzenie może doprowadzić do pęknięcia łańcuchów kwasu hydroksystearynowego podczas krystalizacji, powstawania krótszych rozgałęzionych „płytek”, a w konsekwencji do uzyskania mniej elastycznego oleożelu.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych wosków naturalnych

| Rodzaj wosku | Karnauba | Kandelila | Ryżowy | Słonecznikowy | Pszczeli |
|--------------------------------------|---|---|---------------------------------------|--|---|
| Źródło | Liście palmy (<i>Copernicia cerifera</i>) | Liście i łodygi wilczomlecza (<i>Euphrobia antisyphilitica</i>) | Otręby ryżowe (<i>Oryza sativa</i>) | Nasiona słonecznika (<i>Helianthus annuus</i>) | Gruczoły woskowe pszczoł miodnych (<i>Apis mellifera</i>) |
| Barwa | żółty do szarego/czarnego | ciemnobrązowy do jasnożółtego | jasnożółty | jasnożółty | biały do ciemnobrązowego |
| Temperatura topnienia [°C] | 82,5-83 | 68,5-72,5 | 71-82 | 72-77 | 62-65 |
| Liczba kwasowa [mg KOH/g] | 2-4 | 12-22 | 12-14 | 4-6 | 17-24 |
| Estry woskowe | 84-85% C56-C60 | 27-35% C39, C41 | 92-97% C44-C64 | 97-100% C38-C54 | 50-72% C34-C54 |
| Węglowodory (<i>n</i>-alkany) | 1,5-3% C32 | 50-65% C26-C33 | śladowe | śladowe | 13-18% C22-C33 |
| Wolne alkohole tłuszczowe | 2-3% C28-C32 | 10-15% | śladowe | śladowe | 0-1% C28-C35 |
| Wolne kwasy tłuszczowe | 3-3,5% C24-C30 | 7-10% C30 | 0-2% C22, C30 | 0-1% C20, C22 | 10-15% C24-C32 |
| Żywiec i inne | 6,5-10% | śladowe | 3-8% | 0-3% | 5-6% |

Źródło: opracowanie własne na podstawie [Blake i wsp. 2014, Fratini i wsp. 2016, Tinto i wsp. 2017, Aranda-Ledesma i wsp. 2022].

Trawienie oleożeli

Projektowanie nowych układów lipidowych, które miałyby stać się składnikami żywności, wymaga zrozumienia mechanizmów ich trawienia w przewodzie pokarmowym człowieka [Golding i Wooster 2010]. Wraz z pomysłem zastosowania oleożeli w żywności zrodziły się liczne pytania dotyczące trawienia substancji strukturyzujących w organizmie ludzkim. Uzyskanie odpowiedzi wymaga wielokierunkowego podejścia głównie ze względu na heterogeniczny skład chemiczny wosków. Zgodnie z literaturą przedmiotu estry woskowe podczas trawienia pozostają

praktycznie nienaruszone i są wydalane głównie z kałem, gdyż w organizmie ludzkim brakuje soli żółciowych (występujących u ryb i ptaków), które mogłyby je hydrolizować [Hargrove i wsp. 2004]. Badania *in vivo* wykazały, że metabolizm i wchłanianie alkanów (węglowodorów) następuje u mniej niż 25% szczurów, przy czym powstałe z nich kwaśne związki są wydalane z moczem. Z kolei przyswajalność wolnych alkoholi i KT zmniejsza się w miarę zwiększania długości łańcuchów węglowodorowych [Limpimwong i wsp. 2017].

Wykazano, że podczas trawienia olej jest uwalniany ze struktury oleożelowej i w postaci miceli rozprzestrzenia się w środowisku fizjologicznym [Puścaś i wsp. 2020]. Niemniej jednak lipazy mają mniejszy dostęp do cząsteczek lipidów zamkniętych w strukturze utworzonej z czynnika strukturyzującego. W związku z tym ich strawność może być ograniczona i/lub opóźniona, w porównaniu do oleju niepoddanego strukturyzacji [Martins i wsp. 2020]. Dodatkowo zwiększenie masy cząsteczkowej substancji strukturyzującej i twardości oleożelu może doprowadzić do mniejszego stopnia rozpadu lipidów w układzie pokarmowym [Okuro i wsp. 2020]. Stwierdzono, że spowolnienie lipolizy w jelitach może być pomocne w walce z otyłością [Puścaś i wsp. 2020]. Guo i wsp. [2019] wykazali, że trawienie strukturyzowanego oleju sojowego ($\leq 1\%$ m/m wosku z otrębów ryżowych), stanowiącego fazę rozproszoną emulsji O/W, przebiegało znacznie wolniej, w porównaniu do niestrukturyzowanego oleju sojowego. Krople oleju zostały unieruchomione, co przełożyło się na większą stabilność fizyczną emulsji. Jednakże zwiększenie stężenia wosku do 4% m/m przyczyniło się do powstania większych kryształów, które zwiększyły podatność emulsji na koalescencję, przyspieszając destabilizację. Efektem tego była większa intensywność lipolizy.

Opóźnienie procesu trawienia lipidów wykorzystywane jest głównie do kontrolowanego uwalniania związków bioaktywnych bądź substancji leczniczych w farmakologii [Scharfe i Flöter 2020]. W związku z tym pojawiły się badania nad biodostępnością składników biologicznie czynnych z oleożeli – karotenu [Martins i wsp. 2017], steroli [Dong i wsp. 2020], oryzanolu [Matheson i wsp. 2018] czy kurkuminy [Rafiee i wsp. 2019]. Oleożelacja przyczyniła się do ich zwiększonego uwalniania podczas trawienia jelitowego w warunkach *in vitro* [Okuro i wsp. 2020]. Pomimo tego potencjał wykorzystania jadalnych oleożeli lub układów na bazie oleożeli, w celu dostarczenia substancji bioaktywnych, pozostaje w większości niezbadany.

Stabilność oksydacyjna oleożeli

Innym ważnym obszarem badań jest wpływ strukturyzowania olejów na ich przemiany oksydacyjne. Liu i wsp. [2020] wykazali, że strukturyzowanie oleju rybiego woskiem z sorgo (2-10% m/m) przyczyniło się do ograniczenia utleniania oleju przetrzymywanego w temperaturze 50°C. Największą stabilnością oksydacyjną charakteryzował się oleożel o największej twardości (tj. z największym udziałem wosku), w którym dyfuzja tlenu w głąb matrycy została w największym stopniu ograniczona. Hwang i wsp. [2018] badali zmiany oksydacyjne oleju rybiego strukturyzowanego za pomocą różnych wosków (pszczego, słonecznikowego, ryżowego, kandelila) na poziomie 3% m/m. Najlepszy efekt ochronny uzyskano w przypadku oleożelu z woskiem kandelila. Najmniej skuteczną ochroną oleju rybiego przed utlenianiem w temperaturze 50°C było zastosowanie wosku pszczoego jako substancji strukturyzującej. Ponadto na przykładzie oleożelu z różnym stężeniem wosku słonecznikowego wykazano, że zbyt duży udział wosku może powodować przeciwne rezultaty, wykazując właściwości proutleniające. Dlatego konieczna jest optymalizacja stężenia konkretnego wosku stosowanego do żelowania olejów. Z kolei Öğütçü i Yilmaz [2014] nie wykazali istotnych zmian w pierwotnym stopniu utlenienia oleożeli, na bazie oleju z orzechów laskowych z woskiem słonecznikowym lub woskiem karnauba w ilości 3%, 7%, 10% m/m, przechowywanych w temperaturze 20°C przez 30 dni. Według autorów było to spowodowane głównie wysoką zawartością kwasu oleinowego w oleju z orzechów laskowych. Barroso i wsp. [2020] wykazali, że strukturyzowanie oleju Inianego tłoczonego na zimno, za pomocą 10% m/m wosku jagodowego, wosku słonecznikowego lub monoacylogliceroli, nie było wystarczające do ochrony wiązań nienasyconych przed utlenianiem w czasie przechowywania w temperaturze 25°C przez 30 dni.

Według Mert i Demirkesen [2016] oraz Zetzl i Marangoni [2014] oleożele mogą zastępować tłuszcze stałe o wysokiej zawartości SFA (np. olej palmowy, tłuszcz kokosowy, tłuszcze zwierzęce) i/lub TFA (np. tłuszcze częściowo uwodornione). Oleożele to układy wciąż poznawane przez środowisko naukowo-badawcze, szczególnie pod kątem ich zastosowania w produkcji żywności. W związku z tym pojawia się coraz więcej dowodów na korzyści technologiczne wynikające ze stosowania oleożeli w projektowaniu produktów spożywczych, m.in. produktów piekarskich i cukierniczych [Demirkesen i Mert 2020], tłuszczów do smarowania [Palla i wsp. 2017, da Silva i wsp. 2018], lodów [Moriani i Alamprese 2017], wyrobów czekoladowych [Patel i wsp. 2014] czy produktów mięsnych [Zetzl i wsp. 2012, Gómez-Estaca i wsp. 2019].

1.2. Emulsje typu olej w wodzie

Lipidy stanowią ważny składnik emulsji spożywczych. Emulsje to doskonałe matryce zarówno w badaniach laboratoryjnych, jak i w projektowaniu żywności. Emulsje typu O/W są definiowane jako układy dwóch niemieszających się cieczy, powstające w wyniku zdyspergowania fazy hydrofobowej (lipidowej) w fazie hydrofilowej (wodnej), w obecności emulgatora [Leal-Calderon 2012]. Z termodynamicznego punktu widzenia emulsje O/W są układami nietrwałymi z powodu niekompatybilności na styku faz hydrofobowej i hydrofilowej [McClements 2015]. Układ dąży do uzyskania równowagi poprzez obniżenie napięcia międzyfazowego, dlatego dwie niemieszające się fazy całkowicie się rozdzielają. Możliwe jest jednak otrzymanie emulsji kinetycznie stabilnej (metastabilnej) [Meybodi i wsp. 2014]. Podstawowym sposobem na obniżenie napięcia międzyfazowego (bez złamania emulsji) jest zastosowanie odpowiedniego rodzaju i stężenia emulgatora. W przypadku emulsji O/W stosuje się emulgatory o wysokiej wartości współczynnika równowagi hydrofilowo-lipofilowej (HLB). Często są to związki występujące naturalnie, do których należą biopolimery (np. białka), fosfolipidy (np. lecytyny), biosurfaktanty (np. saponiny) oraz cząstki koloidalne (np. polisacharydy). Dobry emulgator powinien spełniać wymagania stawiane mu zarówno w zakresie tworzenia emulsji (szybka adsorpcja, obniżenie napięcia międzyfazowego i ułatwienie redukcji rozmiarów cząstek lipidowych), jak i jej stabilizowania (generowanie silnych sił odpychania, oporność na tworzenie warstwy pomiędzy otoczkami cząstek lipidowych i zapobieganie agregacji cząstek) [McClements i Gumus 2016].

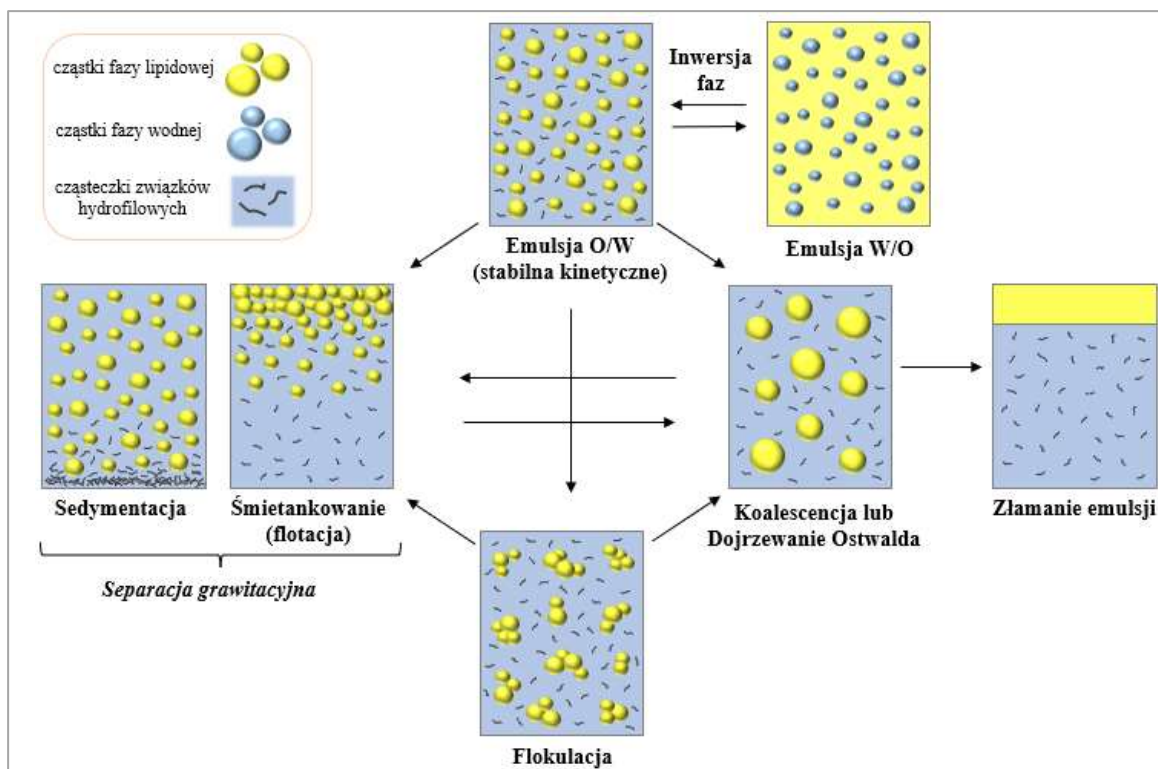
1.2.1. Mechanizmy destabilizacji emulsji typu O/W

Trwałość emulsji zależy od rodzaju i stężenia emulgatora, obecności stabilizatorów, rodzaju i udziału fazy lipidowej, metody i parametrów homogenizacji czy warunków przechowywania. Czynniki te decydują o wielkości i rozkładzie wielkości cząstek rozproszonych, lepkości, występowaniu i szybkości mechanizmów destabilizacji (rys. 5) [Zychowski i wsp. 2018]. Ze względu na charakter zachodzących zjawisk fizykochemicznych można wyróżnić dwa typy destabilizacji emulsji: odwracalne (śmietankowanie, sedymentacja) oraz nieodwracalne (flokulacja, koalescencja, dojrzewanie Ostwalda, inwersja faz) [Dickinson 2012]. Zazwyczaj dokładne wymieszanie emulsji, w której postępowały wyłącznie sedymentacja i/lub śmietankowanie, pozwala na przywrócenie stanu przed destabilizacją [Kowalska

i Żbikowska 2013]. W praktyce różne zjawiska (odwracalne i nieodwracalne) destabilizacji emulsji występują jednocześnie [Saad i wsp. 2019].

Sedymentacja i śmietankowanie (flotacja) to mechanizmy separacji grawitacyjnej, spowodowanej różnicą gęstości pomiędzy cząstkami fazy wodnej i cząstkami fazy lipidowej. Sedymentacja polega na opadaniu cząstek o większej gęstości, zaś śmietankowanie (flotacja) na unoszeniu cząstek o mniejszej gęstości. Mechanizmy te opierają się na migracji cząstek w układzie dyspersyjnym, nie powodując zmian w ich wielkości [Saad i wsp. 2019]. Flokulacja polega na łączeniu się cząstek lipidowych w agregaty (zwane „kłaczkami”) bez przzerwania ciągłości warstwy międzyfazowej. Zachodzi pod wpływem siły grawitacji, siły odśrodkowej, ruchów Browna, a także gdy energia odpychania cząsteczek jest mniejsza niż energia oddziaływań sił van der Waalsa. Flokulacja sprzyja koalescencji, czyli zjawisku łączenia dwóch lub więcej cząstek lipidowych w większe cząstki pod wpływem ruchów Browna. Ponadto śmietankowanie i/lub sedymentacja przebiegają znacznie szybciej, gdy cząstki rozproszone emulsji uległy koalescencji [Maphosa i Jideani 2018]. Podatność cząstek rozproszonych na koalescencję zależy od charakteru wzajemnych oddziaływań (tj. grawitacyjnych, koloidalnych, hydrodynamicznych i mechanicznych) oraz oporności warstwy międzyfazowej na pęknięcie. Koalescencja całkowita to łączenie wszystkich cząstek lipidowych w jedną warstwę. Dojrzewanie Ostwalda również polega na tworzeniu większych cząstek lipidowych z cząstek mniejszych, lecz wynika z różnic w rozpuszczalności fazy rozproszonej w fazie ciągłej (różnicy ciśnienia wewnątrz mniejszych i większych cząstek). W emulsji zawierającej fazę lipidową o bardzo niskiej rozpuszczalności w fazie wodnej, dojrzewanie Ostwalda praktycznie nie występuje. W przypadku stosunkowo dużej rozpuszczalności cząstek lipidowych w fazie wodnej, np. niektórych aromatów czy olejków eterycznych, emulsja jest niestabilna (intensywne Dojrzewanie Ostwalda) [Piorkowski i McClements 2014, Costa i wsp. 2019].

Ponadto koalescencja sprzyja inwersji (odwróceniu faz), czyli przekształceniu emulsji O/W w emulsję W/O lub odwrotnie. Może nastąpić w wyniku zmian składu emulsji (np. odparowanie wody, dodatek emulgatora i/lub elektrolitu), a także zmian temperatury czy intensywnego mieszania. Typowym przykładem jest mechaniczne ubijanie schłodzonej śmietanki (emulsji O/W), w celu otrzymania masła (emulsji W/O) [Panchal i wsp. 2021]. Hayati i wsp. [2009] wykazali, że inwersję faz w emulsji O/W (70/30 m/m) może spowodować wielokrotne powtarzanie cyklu chłodzenie-ogrzewanie.



Rys. 5. Mechanizmy destabilizacji emulsji O/W

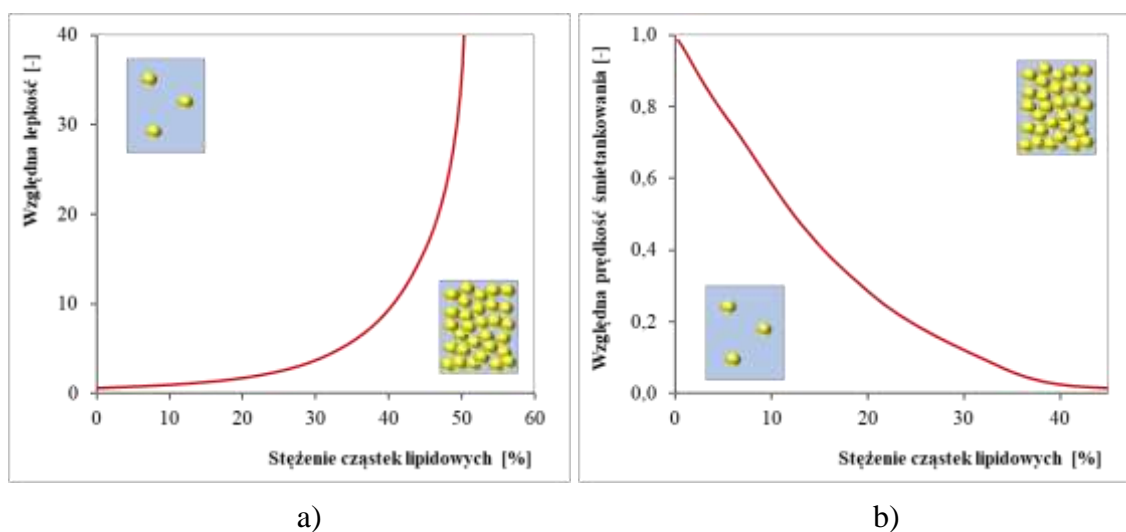
Źródło: opracowanie własne na podstawie [Piorkowski i McClements 2014, Costa i wsp. 2019, Saad i wsp. 2019].

1.2.2. Determinanty stabilności fizycznej emulsji typu O/W

Stabilność fizyczna emulsji jest uwarunkowana jej składem ilościowym i jakościowym, m.in. udziałem objętościowym fazy lipidowej [Chung i wsp. 2016], składem chemicznym lipidów [Hayati i wsp. 2009, Leal-Calderon 2012], rodzajem i stężeniem emulgatora [McClements 2015] oraz substancjami zagęszczającymi [Kowalska i wsp. 2020]. Ponadto stopień i szybkość destabilizacji emulsji determinują warunki ich otrzymywania [Zychowski i wsp. 2018], przetwarzania i przechowywania [Munk i Andersen 2015, McClements i Gumus 2016].

Właściwości fizykochemiczne i organoleptyczne produktów żywnościowych, będących emulsjami O/W (np. majonezy, dressingi, sosy, mleko, śmietany/ki, jogurty, napoje, desery), w dużej mierze zależą od charakterystyki lipidów, które wchodzą w ich skład [Leal-Calderon 2012]. Właściwości cząstek lipidowych (np. wielkość, stężenie, ładunek, właściwości międzyfazowe oraz interakcje) determinują stabilność fizyczną produktów i percepcję sensoryczną związaną z ich spożywaniem. Wraz ze zwiększaniem udziału fazy lipidowej w emulsji następuje zwiększenie jej lepkości względnej (rys. 6a), zaś zwykle po przekroczeniu stężenia 50-60% emulsja zachowuje się jak lepko-sprężyste

lub plastyczne ciało stałe [Chung i wsp. 2016]. Szybkość destabilizacji emulsji O/W, poprzez śmietankowanie, zwiększa się wraz ze zmniejszeniem zawartości tłuszczu (rys. 6b), co może wynikać z osłabienia interakcji cząstka—cząstka, które zwykle ograniczają ruch cząstek lipidowych w układach skoncentrowanych [McClements 2015]. W celu poprawy stabilności fizycznej emulsji (spowolnienia śmietankowania) o obniżonej zawartości tłuszczu stosuje się dodatek środków zagęszczających lub żelujących do fazy wodnej, redukcję wielkości cząstek zdyspergowanych, inicjowanie tworzenia agregatów cząstek lipidowych w trójwymiarową sieć obejmującą cały układ, a także zmniejszenie różnicy lepkości pomiędzy fazą hydrofilową i fazą hydrofobową, np. przez użycie częściowo skryształizowanych lipidów [Chung i wsp. 2016]. Według Qiu i wsp. [2015] oraz Kowalskiej i wsp. [2020] możliwe jest zastosowanie hydrokoloidów jako stabilizatorów powoduje zwiększenie lepkości emulsji i ograniczenie zjawisk niestabilności. Scott i wsp. [2003] wykazali, że na te zjawiska wpływa również temperatura topnienia lipidów. Emulsja ze średniopliwą frakcją tłuszczu mlecznego miała znacząco większą lepkość i trwałość w czasie przechowywania niż emulsja z frakcją niskotopliwą.



Rys. 6. Zmiany względnej lepkości (a) oraz względnej prędkości śmietankowania (b) w funkcji stężenia cząstek lipidowych w emulsji O/W

Objaśnienia: względna lepkość – stosunek lepkości emulsji typu O/W do lepkości cieczy wzorcowej (wody) [-], względna prędkość śmietankowania – stosunek prędkości śmietankowania w emulsji typu O/W do prędkości śmietankowania w cieczy wzorcowej (wodzie) [-];

Źródło: opracowanie własne na podstawie McClements [2015] i Chung i wsp. [2016].

Zmienne warunki temperaturowe wywierają wpływ na zawartość fazy stałej w lipidach, a tym samym na stabilność fizyczną emulsji tłuszczowych. Im większa

zawartość kryształów tłuszczowych w cząstkach rozproszonych (szczególnie na granicy faz lipidowej i wodnej), tym większa skłonność układu do częściowej koalescencji (łączenia mniejszych cząstek lipidowych w większe). Jednakże jednocześnie zwiększa się zdolność układu do tworzenia sieci wewnątrz cząstek rozproszonych, które stabilizują poszczególne kształty połączonych cząstek, zapobiegając całkowitej koalescencji (wydzieleniu fazy lipidowej z emulsji) [Munk i Andersen 2015]. Według Hayati i wsp. [2009] częściowe zastąpienie oleju sojowego oleiną z ziaren palmowych w emulsjach O/W (70/30), stabilizowanych żółtkiem jaja kurzego, może zwiększyć stabilność fizyczną świeżego układu. Jednakże faza rozproszona emulsji z oleiną palmową zawiera więcej nasyconych KT, w porównaniu do emulsji na bazie oleju sojowego. Dlatego w czasie przechowywania emulsji na bazie oleiny w warunkach chłodniczych powstają kryształy o nieregularnym kształcie (szczególnie na powierzchni cząstek zdyspergowanych) i następuje częściowa koalescencja. Ponowne ogrzanie układu powoduje topnienie sieci krystalicznej i łączenie kropli, prowadząc do całkowitej koalescencji.

Na uzyskanie możliwie największej stabilności emulsji, bez niepożądanych zmian w ich składzie chemicznym, znaczący wpływ ma optymalizacja parametrów procesu homogenizacji [Kaltsa i wsp. 2014]. Wielkość i rozkład wielkości cząstek lipidowych rozproszonych w emulsji zależy od metody i warunków homogenizacji. Redukcję wielkości cząstek lipidów można uzyskać stosując metody: mechaniczną, wysokociśnieniową, membranową i ultradźwiękową [Zychowski i wsp. 2018]. Zwiększa się zainteresowanie przemysłu spożywczego technologią ultradźwiękową, uznawaną za technikę przyjazną środowisku. Za redukcję rozmiarów cząstek fazy rozproszonej podczas homogenizacji ultradźwiękowej (sonikacji) odpowiedzialne jest zjawisko kawitacji. Polega ono na lokalnych, gwałtownych zwiększeniach i zmniejszeniach wartości ciśnienia, związanych z turbulentnymi implozjami pęcherzyków, które generują intensywne siły ścinające i „rozrywanie” cząstek lipidowych. Sonikacja o dużej mocy i niskiej częstotliwości pozwala uzyskać lepsze efekty homogenizacji w przygotowaniu emulsji O/W, w porównaniu do tradycyjnej metody mechanicznej. Wskazuje się liczne zalety homogenizatorów ultradźwiękowych, takie jak: niskie koszty eksploatacji i konserwacji, łatwość czyszczenia, przydatność do niekonwencjonalnego utrwalania produktów [Abdullah i wsp. 2018]. Zdaniem Al-Hilphy i wsp. [2016] stosowanie technologii ultradźwiękowej w zakładach przemysłu spożywczego (np. w mleczarstwie)

może przyczynić się do istotnego zmniejszenia zużycia energii i generować korzyści ekonomiczne.

Średnia wielkość cząstek lipidowych zazwyczaj zmniejsza się wraz ze zwiększaniem ciśnienia homogenizacji, jednak na parametr ten w dużej mierze wpływa również rodzaj i stężenie emulgatora [McClements 2015]. Jeżeli emulgator występuje w nadmiarze, średnia wielkość cząstek zdyspergowanych maleje logarytmicznie w funkcji rosnącego ciśnienia homogenizacji, do momentu osiągnięcia najmniejszych możliwych rozmiarów cząstek. W emulsjach typu O/W zdolność do zmniejszania rozmiarów cząstek rozproszonych zwiększa się wraz ze zmniejszeniem napięcia międzyfazowego i stosunku lepkości fazy rozproszonej do lepkości fazy ciągłej [McClements i Gumus 2016]. W przypadku gdy emulgator występuje w ograniczonej ilości, rozmiary cząstek zmniejszają się wraz ze zwiększaniem ciśnienia podczas homogenizacji do całkowitego wykorzystania emulgatora. Dalsze „rozrywanie” cząstek lipidowych pod wpływem ciśnienia jest możliwe, lecz szybko łączą się one ze sobą, gdyż brakuje emulgatora, który utworzyłby warstwę wokół każdej cząstki lipidowej [Tcholakova i wsp. 2006]. Ponadto niektóre naturalne emulgatory (np. białka, polisacharydy) mogą być wrażliwe na tzw. nadmierne przetwarzanie. Kontynuowanie homogenizacji po osiągnięciu możliwie najmniejszych rozmiarów cząstek lipidowych może generować znaczne zwiększenie temperatury, prowadzącej do depolimeryzacji lub rozwinięcia łańcuchów biopolimerowych czy odwodnienia części hydrofilowej emulgatora (np. niektórych białek i polisacharydów). Konsekwencją tych zmian jest zmniejszenie stężenia emulgatora i łączenie cząstek lipidowych (koalescencja). Dlatego konieczne jest dostosowanie warunków homogenizacji do rodzaju stosowanego emulgatora [Jafari i wsp. 2008, McClements i Gumus 2016].

1.2.3. Determinanty stabilności oksydacyjnej emulsji typu O/W

Meybodi i wsp. [2014] podkreślają, że na stabilność emulsji składają się zarówno zmiany fizyczne, jak i chemiczne. Wysoki stopień oksydacji lipidów w emulsji może zmniejszać jej oporność fizyczną na destabilizację, z kolei mała stabilność fizyczna emulsji może obniżyć stabilność oksydacyjną jej fazy lipidowej. Utlenianie lipidów zdyspergowanych w fazie wodnej różni się od utleniania samych lipidów. Ze względu na różne czynniki proutleniające, które mogą występować w fazie ciągłej (w większej ilości niż w powietrzu), przemiany oksydacyjne fazy lipidowej przeważnie przebiegają szybciej [Lee i Choi 2020]. Na procesy te wpływają również właściwości emulsji, m.in. rodzaj

i stężenie emulgatora, rozkład i wielkość cząstek fazy wewnętrznej (lipidowej), lepkość makroskopowa emulsji. Przykładowo, większa lepkość emulsji opóźnia dyfuzję tlenu i innych prooksydantów do fazy rozproszonej [Ye i wsp. 2013].

Przebieg utleniania lipidów różni się w zależności od formy ich występowania, np. w formie zemulgowanej (układzie niejednorodnym) i niezemulgowanej (układzie jednorodnym). Stabilność oksydacyjna emulsji typu O/W jest wypadkową charakterystyki trzech obszarów układu: fazy lipidowej (wewnątrz cząstek rozproszonych), warstwy międzyfazowej (powierzchni pomiędzy fazą lipidową i fazą wodną) i fazy wodnej (otaczającej cząstki lipidowe). Różne substancje rozpuszczone w fazie lipidowej bądź w fazie wodnej mogą działać proutleniająco lub przeciwutleniająco [Sun i wsp. 2011]. Skład i właściwości warstwy międzyfazowej są złożone i dynamiczne, dlatego mogą mieć duży wpływ na utlenianie lipidów. Przemiany oksydacyjne zależą od ładunku elektrycznego na powierzchni rozproszonych cząstek lipidowych, co z kolei jest uwarunkowane rodzajem zastosowanego emulgatora (kationowego, anionowego lub obojętnego). Wykazano, że anionowy charakter emulgatora sprzyja adsorpcji kationów metali znajdujących się w fazie wodnej, co zwiększa intensywność samoutleniania lipidów. Białka zmieniają ładunek elektryczny pod wpływem pH – przy pH powyżej punktu izoelektrycznego (pI) na anionowy, a przy pH poniżej pI na kationowy. W związku z tym poziom utlenienia lipidów w emulsji stabilizowanej białkiem przy pH równym 3,0 może być niższy niż w przypadku cząstek lipidów w emulsji stabilizowanej białkami przy pH równym 7,0 [Genot i wsp. 2013, Miyashita i Hosokawa 2013]. Ładunek elektryczny na powierzchni cząstek rozproszonych ma również wpływ na aktywność i lokalizację przeciwutleniaczy, poprzez ich przyciąganie bądź odpychanie elektrostatyczne. Przeciwutleniacze o ładunku ujemnym będą elektrostatycznie przyciągane przez cząstki lipidowe naładowane dodatnio oraz w dużej ilości adsorbowane na powierzchni cząstek rozproszonych, zwiększając ochronę lipidów przed utlenianiem. Ponadto szybkość utleniania i intensywność interakcji pomiędzy nadtlenkami w fazie lipidowej i metalami w fazie wodnej może zostać zredukowana w przypadku grubszej warstwy międzyfazowej („efekt bariery”). Kolejnym czynnikiem determinującym stabilność oksydacyjną lipidów jest przepuszczalność warstwy międzyfazowej. Emulgatory mogą tworzyć porowatą warstwę międzyfazową, przez którą z łatwością dyfundują rodniki, tlen czy prooksydanty. Sposobem na ograniczenie tego zjawiska jest uszczelnienie powierzchni na granicy styku faza wodna–faza lipidowa [Sun i wsp. 2011, Chen i wsp. 2013]. Cząsteczki białka (jako

emulgatora) adsorbują na powierzchni cząstek rozproszonych do momentu nasycenia, zaś ich nadmiar pozostaje w fazie wodnej emulsji. Anionowy charakter molekuł białka, w pH wyższym od pI, sprzyja wiązaniu kationów metali, co sprawia, że białka te mogą wykazywać właściwości przeciwutleniające. Białka serwatkowe, sojowe, kazeina czy β -laktoglobulina mogą hamować utlenianie lipidów w emulsjach O/W za pomocą różnych mechanizmów [Elias i wsp. 2008]. Obecność chelatorów metali/zmiataaczy rodników w fazie wodnej i/lub w warstwie międzyfazowej skutecznie opóźnia autooksydację lipidów. W wyniku zmniejszenia wielkości cząstek rozproszonych następuje zwiększenie całkowitej powierzchni międzyfazowej, co sprzyja adsorpcji większej ilości prooksydantów [Genot i wsp. 2013].

Zauważono, że sam proces homogenizacji może mieć istotne znaczenie dla reakcji utleniania lipidów w wytwarzanych emulsjach, ponieważ jego przebieg wpływa na stopień zredukowania rozmiarów cząstek lipidowych i konsystencję układu [Genot i wsp. 2013]. Według Pernin i wsp. [2019] lepkość fazy wodnej istotnie wpływa na utlenianie oleju rybiego w emulsji O/W (30/70). Autorzy wykazali, że emulsje z dodatkiem gumy guar wykazywały zarówno większą lepkość pozorną, jak i mniejsze stężenie wodoronadtlenków i aldehydów, w porównaniu do emulsji kontrolnej (bez zagęstnika). W próbce kontrolnej następowała szybsza dyfuzja tlenu w głąb układu z przestrzeni nad emulsją i jego zużycie (zmniejszenie ciśnienia cząstkowego nad emulsją z około 21% do około 5% w ciągu 2 dni).

1.3. Żywność wegańska

1.3.1. Rozwój diety wegańskiej

Produkcja żywności pochodzenia zwierzęcego wywiera duży wpływ na środowisko. Nawet najbardziej nieefektywna produkcja żywności pochodzenia roślinnego (np. owoców, warzyw, roślin strączkowych, zbóż) zazwyczaj wywołuje mniejszy wpływ środowiskowy niż produkcja żywności odzwierzęcej (niezależnie od jej wydajności) [Aschemann-Witzel i wsp. 2021]. Negatywny wpływ na środowisko przejawia się w globalnym ociepleniu, obniżeniu jakości wody i powietrza czy utracie bioróżnorodności. Wśród głównych przyczyn dużej emisji gazów cieplarnianych wymienia się produkcję paszy, metabolizm przeżuwaczy oraz zagospodarowanie obornika [Heller i Keoleian 2015]. Chów zwierząt rzeźnych jest związany z ogromnym zapotrzebowaniem na wysokiej jakości paszę. Oszacowano, że stosunek liczbowy kalorii dostarczanych przez paszę stosowaną w karmieniu zwierząt do kalorii pochodzących ze

spożycia mięsa zwierząt, karmionych wspomnianą paszą, wynosi 36:1 dla wołowiny, 11:1 dla wieprzowiny, 9:1 dla drobiu oraz 6:1 dla jaj i nabiału [Eshel i wsp. 2014].

W ostatnich latach wzrosły również obawy konsumentów związane z nadmiernym obciążeniem środowiska [Aschemann-Witzel i wsp. 2021]. Ponadto zwiększająca się populacja ludności na świecie wymaga intensyfikacji produkcji żywności, a zasoby naturalne są ograniczone. Według FAO [2021] zaledwie w ciągu 2020 r. (w dobie pandemii COVID-19) wskaźnik częstości występowania głodu na świecie wzrósł z 8,4% do 9,9% (po pięciu latach względnie stałego poziomu). W odpowiedzi na globalne problemy zrodziła się koncepcja zrównoważonego rozwoju, której nadrzędnym celem jest uzyskanie równowagi pomiędzy rozwojem gospodarki, oczekiwaniami społecznymi i wymaganiami ochrony środowiska. Według Caron i wsp. [2018] konieczna jest kompleksowa transformacja systemów żywnościowych, które powinny m.in. zapewniać konsumentom dostęp do żywności o wysokiej wartości żywieniowej i zdrowotnej, odzwierciedlać zrównoważoną produkcję rolną, przetwórstwo, dystrybucję i marketing oraz łagodzić zmiany klimatu.

W krajach rozwiniętych i rozwijających się niemalejącym problemem (wśród dzieci i dorosłych) jest otyłość, która sprzyja rozwojowi tzw. chorób cywilizacyjnych, takich jak: cukrzyca typu II, choroby układu krążenia, choroby autoimmunologiczne, osteoporoza, a nawet nowotwory. Do wspomnianych chorób prowadzi przede wszystkim brak zbilansowanej diety, co ma związek z niską świadomością żywieniową, szybkim tempem życia, niskimi dochodami czy ograniczonym dostępem do korzystnych żywieniowo produktów [Pabich i Materska 2019]. Problemy zdrowotne konsumentów mogły znacząco przyczynić się do obserwowanych zmian nawyków żywieniowych. W ciągu ostatnich 50 lat zwiększył się odsetek osób stosujących dietę wegetariańską. Wyróżnia się następujące rodzaje wegetarianizmu [Brytek-Matera 2021]:

- frutarianizm – obejmuje świeże i suszone owoce, ewentualnie orzechy, nasiona i niektóre warzywa, zaś wyklucza wszystkie produkty odzwierzęce;
- lakto-owo-wegetarianizm – obejmuje produkty mleczne i jaja (pochodzące z chowu w warunkach tzw. wolnego wybiegu), zaś wyklucza produkty mięsne;
- lakto-wegetarianizm – obejmuje produkty mleczne, zaś wyklucza produkty mięsne oraz jaja i produkty pochodne;
- owo-wegetarianizm – obejmuje jaja i produkty pochodne, zaś wyklucza produkty mleczne i produkty mięsne;

- peska-wegetarianizm – obejmuje ryby (i inne owoce morza), dopuszcza produkty mleczne, jaja i produkty pochodne, zaś wyklucza produkty mięsne;
- weganizm – wyklucza wszelką żywność pochodzenia zwierzęcego (produkty mięsne, mleczne, jaja, miód itd.).

Wykazano ścisłą zależność pomiędzy dietą i składem mikrobioty jelitowej. Weganie posiadają wyraźnie odmienną mikroflorę jelitową, w porównaniu do mikroflory jelitowej osób stosujących dietę tradycyjną. Badania wykazały, że profil jelitowy wegan może być bardziej korzystny, m.in. ze względu na zmniejszoną liczebność bakterii prozapalnych (w tym z rodziny *Enterobacteriaceae*), zwiększoną liczebność szczepów ochronnych (np. z gatunku *Faecalibacterium prausnitzii*) czy brak mikroflory przekształcającej L-karnitynę w tlenek N-trietyloaminy o działaniu promiażdżycowym [Glick-Bauer i Yeh 2014]. Przeprowadzona przez Dinu i wsp. [2017] metaanaliza wyników badań klinicznych wykazała, że stosowanie diety wegańskiej zmniejsza ryzyko zachorowalności na raka o około 15%. Według Marrone i wsp. [2021] osoby stosujące dietę wegańską mają zwykle niższy wskaźnik masy ciała (BMI), obniżony poziom cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL (lipoprotein o niskiej gęstości), trójglicerydów i glukozy we krwi, w porównaniu do osób na diecie tradycyjnej. Dieta wegańska dostarcza duże ilości węglowodanów, KT ω -6, błonnika pokarmowego, karotenoidów, kwasu foliowego, witaminy C, E oraz magnezu. Jednakże głównym problemem żywieniowym związanym z jej stosowaniem jest ryzyko niedoborów: białek, KT ω -3, witaminy B₁₂ i D, żelaza, cynku, jodu i wapnia. Dlatego taka dieta powinna być dobrze zaplanowana i nadzorowana. Jeżeli stosowana dieta wegańska jest uboga w surowce o dużej zawartości KT ω -3 (np. siemię lniane/olej lniany), to kwasy te powinny być suplementowane [Burns-Whitmore i wsp. 2021]. Craig [2009] stwierdził, że skuteczną strategią w zapewnieniu odpowiedniego poziomu KT ω -3 w diecie jest spożywanie produktów wzbogaconych, takich jak napój sojowy czy batony zbożowe.

W związku z powyższym dużym wyzwaniem dla producentów żywności i naukowców jest poszukiwanie alternatywnych źródeł składników pokarmowych i ochrona środowiska naturalnego. W centrum zainteresowań znalazły się głównie składniki pochodzenia roślinnego, w tym białka [Bueschke i wsp. 2017]. Szerokie zastosowanie w branży spożywczej znajdują białka pozyskiwane z roślin strączkowych (m.in. grochu, łubinu, soi, fasoli, ciecierzycy), zbóż (m.in. kukurydzy, owsa) i roślin oleistych (m.in. rzepaku, słonecznika, konopii siewnej). Najwyższym współczynnikiem strawności charakteryzuje białko pozyskiwane z soi (0,9-1,0) i rzepaku (1,0). Dla

porównania wskaźnik ten dla białka kukurydzy, słonecznika i konopi wynosi odpowiednio 0,42, 0,6 i 0,66 [Schweigert-Weisz i wsp. 2020].

1.3.2. Roślinne alternatywy dla produktów mlecznych

Zwiększenie zapotrzebowania na produkty alternatywne dla produktów mlecznych podyktowany jest rosnącą skalą problemów zdrowotnych, związanych z alergiami, nietolerancjami pokarmowymi na składniki mleka (jak białka czy laktozę), podażą cholesterolu w diecie oraz z kwestiami środowiskowymi [Haas i wsp. 2019]. Zaobserwowano sukcesywny rozwój światowego rynku analogów mleka i jego produktów. Najbardziej znanymi produktami tego typu są analogi: sera, mleka fermentowanego, masła czy deserów mlecznych [Sołowiej i Nastaj 2015]. Rynek roślinnych napojów mlekopodobnych (głównie na bazie soi, migdałów, owsa, ryżu, kokosa lub orzechów) był jeszcze niedawno rynkiem niszowym [Paul i wsp. 2020]. Obecnie roślinne analogi mleka są najczęściej spożywanymi roślinnymi zamiennikami produktów odzwierzęcych (w Stanach Zjednoczonych stanowią ponad 40% ich sprzedaży rynkowej) [McClements i Grossmann 2021].

Napoje roślinne zawierają mniej białka niż mleko krowie, z wyjątkiem napoju sojowego. W celu zrekompensowania niedoborów składników mineralnych w diecie roślinnej mogą być one wzbogacane w żelazo, wapń [Muthukrishnan 2021], witaminę D czy B₁₂. Analogi mleka krowiego mogą być otrzymywane na dwa sposoby: poprzez obróbkę hydrotermiczną i mechaniczną (opcjonalnie enzymatyczną) materiału roślinnego bądź poprzez homogenizację oleju i wody, w obecności emulgatora (najczęściej białek soi, grochu, fasoli, skrobi modyfikowanej, lecytyny sojowej lub słonecznikowej, saponin) i substancji zagęszczających (najczęściej polisacharydów, takich jak: pektyna, mączka chleba świętojańskiego, guma gellan, skrobia, metyloceluloza, karagen lub alginiany) [McClements 2020].

Pomimo zwiększającej się różnorodności asortymentu w tym segmencie, wciąż dominują produkty na bazie soi [Zhu i wsp. 2020, Grossmann i McClements 2021, Kamath i wsp. 2022]. Mlekopodobny napój sojowy zawiera białko na poziomie 3-4% masowych, czyli porównywalnie do mleka krowiego, lecz z niewielkimi różnicami w jego strawności i profilu aminokwasów [Ikya i wsp. 2013]. Mlekopodobny napój sojowy może zawierać izoflawony (głównie daidzeinę i genisteinę) o właściwościach przeciwutleniających [Muthukrishnan 2021]. Białka sojowe wykazują bardzo dobre właściwości emulgujące, co zawdzięczają nie tylko swojej hydrofobowości, ale również

elastyczności konformacyjnej [Tang 2017]. Właściwości emulgujące białka sojowego zostały potwierdzone w badaniach nad otrzymywaniem m.in. majonezu niskocholesterolowego i niskotłuszczowego [Nikzade i wsp. 2012], emulsji żelowych stabilizowanych transglutaminazą [Yang i wsp. 2013], nanoemulsji zawierających substancję bioaktywną w fazie olejowej [Liu i wsp. 2019], błonotwórczych emulsji O/W na bazie glicerolu [Hopkins i wsp. 2015], oleożeli na bazie emulsji stabilizowanych κ -karagenem [Tavernier i wsp. 2017] czy emulsji Pickeringa stabilizowanych nanowłóknami celulozy [Zhang i wsp. 2020].

Produkcja napoju sojowego obejmuje proces ekstrakcji wodnej nasion soi, polegający głównie na moczeniu nasion, mieleniu mechanicznym, oddzieleniu frakcji nierozpuszczalnej i pasteryzacji otrzymanego roztworu wodnego. Frakcja nierozpuszczalna jest produktem ubocznym (znanym jako „okara”), który po odwodnieniu (np. suszeniu konwencjonalnym, sublimacyjnym lub próżniowym) i zmieleniu może być stosowany jako pasza dla zwierząt (owiec, bydła, ryb), składnik żywności (np. mąki bezglutenowej, chleba, ciast, herbatników, makaronów, kiełbas, hamburgerów, past warzywnych lub orzechowych) albo w procesach przemysłowego wytwarzania bioetanolu, kwasu cytrynowego, środków owadobójczych, synbiotycznych nutraceutyków (zawierających prebiotyki i probiotyki) [Davy i Vuong 2020].

2. Cel i zakres pracy

Na podstawie przeglądu literatury oraz badań wstępnych sformułowano następujące **hipotezy badawcze:**

1. Strukturyzowanie olejów roślinnych metodą oleożelacji umożliwia otrzymanie układów lipidowych o wysokiej wartości żywieniowej oraz charakterystyce fizycznej co najmniej zbliżonej do charakterystyki powszechnie stosowanych lipidów konwencjonalnych.
2. Oleożele mogą stanowić zamiennik konwencjonalnych lipidów w produkcji stabilnych emulsji spożywczych typu O/W o zwiększonej wartości żywieniowej.
3. Możliwe jest otrzymanie wegańskich produktów alternatywnych dla śmietanki, stabilizowanej karagenem, na bazie emulsji z oleożelami.

Cel pracy:

Analiza możliwości zastępowania, w produkcji wegańskich analogów śmietanki, konwencjonalnych lipidów stałych lipidami strukturyzowanymi na bazie olejów roślinnych.

Zakres pracy:

Etap I: Analiza wpływu stężenia substancji strukturyzującej na właściwości lipidów strukturyzowanych (oleożeli).

Celem etapu I była analiza właściwości oleożeli, różniących się stężeniem wosku kandelila (substancji strukturyzującej), porównanie ich z olejem palmowym, a także wykluczenie układów wykazujących najmniej korzystne cechy, determinujące przydatność oleożeli w produkcji emulsji O/W typu śmietanka.

Zakres etapu I obejmował:

- dobór optymalnych parametrów procesu strukturyzacji lipidów,
- oszacowanie wartości żywieniowej oraz stabilności oksydacyjnej oleożeli i ich bazy olejowej, a także oleju palmowego, na podstawie składu kwasów tłuszczowych i wartości liczb tłuszczowych,
- mikroskopową analizę morfologii kryształów oleożeli i oleju palmowego oraz ich barwy (w oparciu o podstawowe parametry i wyliczone wskaźniki barwy),
- analizę zmian właściwości mikroreologicznych lipidów podczas ich zestalania/żelowania,

- ocenę cech reologicznych i teksturalnych oleożeli i oleju palmowego,
- analizę stabilności fizycznej oleożeli i oleju palmowego,
- analizę statystyczną uzyskanych wyników (jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA; test korelacji Pearsona, analiza składowych głównych z klasyfikacją – PCA).

Etap II: Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości emulsji typu śmietanka.

Celem etapu II była ocena właściwości fizycznych emulsji typu śmietanka, różniących się fazą lipidową (oleozele lub olej palmowy), oraz porównanie ich z właściwościami śmietanki wyprodukowanej w warunkach przemysłowych i stabilizowanej karagenem.

Zakres etapu II obejmował:

- dobór optymalnych warunków homogenizacji ultradźwiękowej,
- ocenę barwy emulsji typu śmietanka i ich fazy wodnej (napoju sojowego),
- określenie właściwości reologicznych i mikroreologicznych oraz stabilności fizycznej emulsji typu śmietanka,
- analizę morfologii zdyspergowanych cząstek lipidowych w skali mikroskopowej,
- analizę zmian właściwości emulsji typu śmietanka poddanych działaniu stresu środowiskowego (zmian pH, siły jonowej, temperatury),
- analizę statystyczną uzyskanych wyników (jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA; test korelacji Pearsona, analiza PCA).

Etap III: Określenie zmian jakości emulsji typu śmietanka i wydzielonych z nich lipidów w czasie przechowywania.

Celem etapu III była ocena wpływu czasu przechowywania na właściwości emulsji typu śmietanka i przemiany oksydacyjne zachodzące w ich frakcjach lipidowych oraz porównanie ich z jakością śmietanki wyprodukowanej w warunkach przemysłowych i stabilizowanej karagenem.

Zakres etapu III obejmował:

- kontrolę barwy i pH emulsji w czasie przechowywania,
- określenie zmian właściwości reologicznych i mikroreologicznych oraz stabilności fizycznej emulsji w teście przechowalniczym,
- analiza zmian pierwotnego i wtórnego stopnia utlenienia frakcji lipidowych wydzielanych z emulsji w czasie przechowywania,

- analizę statystyczną uzyskanych wyników (jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA; test korelacji Pearsona, analiza PCA).

Po przeprowadzeniu wszystkich badań i interpretacji wyników uzyskanych w ramach etapów I, II i III przygotowano podsumowującą analizę statystyczną (analizę PCA oraz hierarchiczną analizę skupień – HCA).

3. Materiał i metodyka pracy

3.1. Surowce i materiał do badań

Do badań wykorzystano następujące surowce: rafinowany olej rzepakowy „Kujawski” (ZT Kruszwica, Polska), rafinowany olej lniany (Goccia D’oro, Włochy), rafinowany olej palmowy (ZT Kruszwica, Polska), wosk kandelila (Koster Keunen, Holandia), organiczny napój sojowy UHT (goBio, UE) – 2,2% tłuszczu, 3,8% białka, śmietankę „Łaciata” UHT (Mlepol, Polska) – 30% tłuszczu, 2,2% białka, stabilizator – karagen, masło klarowane (dalej nazywane tłuszczem mlecznym) – 99,8% tłuszczu, 0,1% białka (SM Mlekovita, Polska), mleko odtłuszczone „Łaciate” – 0% tłuszczu, 3,3% białka (Mlepol, Polska), a także dodatek substancji konserwującej – benzoesanu sodu (Chempur, Polska).

Materiał do badań stanowiły

w etapie pierwszym:

- oleożele otrzymane na bazie mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego w stosunku 1:1 (OR-OL), z 3%, 4%, 5%, 6%, 7% lub 8% m/m stężeniem wosku kandelila (odpowiednio K3, K4, K5, K6, K7 i K8) – próbki doświadczalne,
- olej palmowy (OP), tłuszcz mleczny (TM) – próbki porównawcze.

w etapie drugim:

- emulsje O/W (30/70 m/m) typu śmietanka na bazie oleożeli z 3%, 4%, 5%, 6% lub 7% m/m stężeniem wosku kandelila (odpowiednio EK3, EK4, EK5, EK6 i EK7) – próbki doświadczalne,
- emulsje na bazie oleju palmowego (EP) i śmietanka (ŚM) – próbki porównawcze.

w etapie trzecim:

- emulsje O/W (30/70 m/m) typu śmietanka na bazie oleożeli z 3%, 4%, 5%, 6% lub 7% m/m stężeniem wosku kandelila (odpowiednio EK3, EK4, EK5, EK6 i EK7) – próbki doświadczalne,
- emulsje na bazie oleju palmowego (EP) i śmietanka (ŚM) – próbki porównawcze,
- emulsja na bazie mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego w stosunku 1:1 (ERL) – próbka kontrolna w analizie przemian oksydacyjnych zemulgowanych lipidów w teście przechowalniczym,
- oleożele z 3%, 4%, 5%, 6% lub 7% stężeniem wosku kandelila (odpowiednio K3, K4, K5, K6, K7), olej palmowy (OP) oraz mieszanina olejów rzepakowego i lnianego

w stosunku 1:1 (OR-OL) – próbki porównawcze w analizie przemian oksydacyjnych niezemulgowanych lipidów w czasie przechowywania.

3.2. Otrzymywanie lipidów strukturyzowanych (oleożeli)

Sporządzano mieszaninę rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego w stosunku 1:1, w której zdyspergowano wosk kandelila (3-8% m/m), stosując ogrzewanie w łaźni wodnej (AJL Elektroniczne, Polska) w temperaturze $80 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 10 min (mieszając bagietką co 2 min), następnie sonikację przez 10 s (26 kHz, 72 W, puls 100%, amplituda 100%, zanurzenie sonotrody 15 mm od menisku próbki) za pomocą homogenizatora ultradźwiękowego UP200St (Hielscher Ultrasonics GmbH, Niemcy), wyposażonego w sonotrodę tytanową S26d7. Klarowną, jednorodną mieszaninę studzono statycznie w szafie termostatowej w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ (ST 2/2+, POL-EKO APARATURA, Polska) przez 24 h do uformowania struktury. Proces wytwarzania poszczególnych oleożeli wykonano w trzech powtórzeniach.

3.3. Otrzymywanie emulsji O/W typu śmietanka

Emulsje otrzymywano stosując technologię na „gorąco”. Zarówno napój sojowy (faza wodna), jak i oleożele/olej palmowy/mieszaninę olejów, czyli fazę lipidową, podgrzano przed emulsyfikacją. Niezwłocznie po osiągnięciu przez obie fazy temperatury $55 \pm 1^\circ\text{C}$ (powyżej temperatury topnienia lipidów, zaś poniżej temperatury topnienia wosku kandelila) rozpoczynano homogenizację, dozując cienkim strumieniem fazę lipidową do fazy wodnej. Zastosowano homogenizator ultradźwiękowy Hielscher UP200St o częstotliwości ultradźwięków 26 kHz i mocy maksymalnej 200 W (Hielscher Ultrasonics GmbH, Niemcy), wyposażony w tytanową sonotrodę S26d7 (średnica 7 mm). Na podstawie danych literaturowych [Kaltsa i wsp 2014, Abdullah i wsp. 2018] i badań wstępnych zastosowano następujące parametry sonikacji: puls – 100% (utrzymanie ciągłości procesu), amplitudę – 80% (obniżoną ze względu na ryzyko przegrzania układu i częściową stratę emulgatora – białka sojowego), zanurzenie sonotrody w centralnej części zlewki na głębokość 15 mm od menisku próbki (ze względu na ryzyko spienienia próbki), pojemność zlewki – 200 cm^3 , masę próbki – 100 g. Czas homogenizacji, wynoszący 2,5 min, ustalono na podstawie wyników prób technologicznych i badań wstępnych, przy uwzględnieniu zwiększania się temperatury próbek podczas sonikacji.

Na podstawie wartości parametrów procesu wyznaczono gęstość energii [J/g] (stosunek iloczynu energii dostarczonej i czasu sonikacji do masy próbki) według równania [Taha i wsp. 2018]:

$$G_E = \frac{E * \tau}{m}$$

gdzie: G_E – gęstość energii [J/g], E – energia dostarczona [W], τ – czas sonikacji [s], m – masa próbki [g].

Skład śmietanki oraz emulsji otrzymanych z udziałem oleju palmowego lub oleożeli przedstawiono w tabeli 2.

Bezpieczeństwo mikrobiologiczne emulsji w teście przechowalniczym zapewniono przez użycie 0,15% benzoesu sodu (w przeliczeniu na 100 g fazy wodnej), czyli w ilości dozwolonej dla emulsji o zawartości tłuszczu poniżej 60% [Rozporządzenie 2010]. Benzoesan sodu wprowadzano do układów na etapie przygotowania fazy wodnej (w przypadku śmietanki – bezpośrednio przed testem przechowalniczym). Wytworzone emulsje pozostawiano w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na 24 h, celem stabilizacji mikrostrukturalnej. Poszczególne emulsje wytworzono w trzech powtórzeniach.

Tabela 2. Skład badanych emulsji O/W (30/70 m/m) typu śmietanka

| Rodzaj próbki | Zawartość [g/100 g emulsji] | | | Emulgator | Stabilizator | Konserwant |
|---------------|-----------------------------|--------|------|---------------|--------------|--------------------------|
| | Lipidy | Białko | Wosk | | | |
| ŚM* | 30,0 | 2,2 | - | Białka mleka | Karagen | <i>Benzoesan sodu***</i> |
| EP | 31,5** | 2,6 | - | Białka sojowe | - | |
| EK3 | | | 0,9 | | | |
| EK4 | | | 1,2 | | | |
| EK5 | | | 1,5 | | | |
| EK6 | | | 1,8 | | | |
| EK7 | | | 2,1 | | | |

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeli z 3-7% m/m wosku kandelila (WK); * skład (lipidy, białko, stabilizator) na podstawie deklaracji producenta, ** suma masy lipidów zawartych w fazie rozproszonej i w fazie ciągłej (napoju sojowym); *** dodatek 0,15% m/m, w przeliczeniu na 100 g fazy wodnej

3.4. Wydzielanie frakcji lipidowej z emulsji

Do wydzielenia frakcji lipidowej z emulsji zastosowano następujące odczynniki: Triton X-100, tj. 2-[4-(2,4,4-trimetylopentan-2-yl)fenoksy]etanol (Chempur, Polska), heksametafosforan sodu (czystość 60-70% P_2O_5 ; Lach-ner, Czechy) oraz metanol (czystość min. 99,8%; Chempur, Polska).

Frację lipidową wydzielano z emulsji metodą BDI (z ang. Bureau of Dairy Industries) [Zmarlicki 1981, Evers i wsp. 2000], z pewnymi modyfikacjami. W tym celu zastosowano odczynnik BDI, w którego skład wchodzi niejonowy środek powierzchniowo-czynny Triton X-100 oraz heksametafosforan sodu. Pierwszy z nich rozszczepia kompleksy lipoproteinowe, zaś drugi ułatwia rozpuszczanie białek. Odczynnik BDI przygotowano w następujący sposób: do cylindra miarowego na 1 dm³ odważono 30 g Tritonu X-100, 70 g heksametafosforanu, uzupełniono wodą destylowaną do kreski i mieszano do całkowitego rozpuszczenia substancji.

Do butyrometrów van Gulika odmierzano 14 cm³ emulsji (6-krotnie rozcieńczonej wodą destylowaną do uzyskania zawartości tłuszczu $\leq 6\%$) i 4 cm³ odczynnika BDI, następnie mieszano. Butyrometry wstawiano do lekko wrzącej łaźni wodnej na 5 min (bez górnych korków), następnie zakładano górne korki i wytrząsano ręcznie (trzymając przez ściereczkę). Ponownie wstawiano do lekko wrzącej łaźni wodnej na 5 min (bez górnych korków), następnie mieszano i wirowano w wirówce F-Gerber Nova Safety (Funke Gerber, Niemcy) przez 5 min przy 1350 obr/min (maksymalna temperatura w komorze: $65 \pm 1^\circ\text{C}$). Powtarzano cykl ogrzewanie – mieszanie – wirowanie, następnie do butyrometrów (przez górny otwór) dodawano taką ilość 50% roztworu metanolu, żeby słupek lipidów znalazł się powyżej skalowanej części szyjki. Tłuszczomierze z zawartością wirowano przez 3 min. Wydzieloną w butyrometrze frakcję lipidową pobierano za pomocą strzykawki z igłą przez górny otwór, przenoszono do zakręcanych fiolek z brązowego szkła (na 4 cm³) i przechowywano w temperaturze $-60 \pm 1^\circ\text{C}$ w zamrażarce szafowej Nordic XLT U250 (Nordic Lab, Dania).

3.5. Metody badań

3.5.1. Metody badań lipidów

3.5.1.1. Określenie składu kwasów tłuszczowych i wartości żywieniowej lipidów

Skład KT lipidów oznaczano za pomocą chromatografu gazowego GC-FID (TRACE 1300, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), wyposażonego w kolumnę kapilarną BPX 70 (60 m x 0,22 mm ID x 0,25 μm). Estry metylowe KT (FAME) zostały przygotowane i przeanalizowane zgodnie z normą PN-EN ISO 12966-1:2015-01, z pewnymi modyfikacjami. Około 0,1 g lipidów przenoszono do szklanych probówek o pojemności 10 cm³, dodawano 2 cm³ n-heksanu (czystość 99% GC; Chempur, Polska), a następnie mieszano za pomocą wytrząsarki Vortex (lab dancer, VWR International

Sp. z o.o., Polska) przez 30 s i pozostawiano w łaźni wodnej (AJL Elektroniczne, Polska) w temperaturze $65 \pm 1^\circ\text{C}$ na około 10 s, aż do całkowitego rozpuszczenia. Po wytrząsaniu do próbek dodawano 1 cm^3 0,5 M roztworu KOH w metanolu (Chempur, Polska) i mieszano przez 30 s za pomocą wytrząsarki Vortex. Do próbek wlewano 4 cm^3 wody destylowanej, energicznie mieszano i pozostawiano na 40 min. Następnie 500 mm^3 sklarowanej warstwy górnej i 500 mm^3 n-heksanu przenoszono do fiolek GC i umieszczano w autosamplerze chromatografu. Zadano następujące parametry analizy: temperatura wlotu – 240°C ; objętość wtrysku – $0,8 \text{ mm}^3$; stosunek podziału – 120:1; gaz nośny – hel; przepływ ciśnienia – $0,75 \text{ cm}^3/\text{min}$; temperatura pieca – 80°C przez 2 min, zwiększająca się do 230°C z szybkością $2,5^\circ\text{C}/\text{min}$ i utrzymywanie próbek w tej temperaturze przez 6 min; temperatura detektora – 280°C ; przepływ gazów detektorowych: wodór – $40 \text{ cm}^3/\text{min}$, powietrze – $450 \text{ cm}^3/\text{min}$, hel – $30 \text{ cm}^3/\text{min}$. Do identyfikacji kwasów tłuszczowych zastosowano standardy zewnętrzne (Food Industry FAME Mix, RESTEK, USA). Analizę przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

W celu określenia wartości żywieniowej lipidów, na podstawie składu KT wyznaczano wskaźniki aterogenny (WA) i trombogenny (WT), zgodnie z równaniami [Peña-Serna i wsp. 2019]:

$$WA = \frac{C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0}{MUFA + PUFA}$$

$$WT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0,5 \times MUFA + 0,5 \times PUFA \omega - 6 + (3 \times PUFA \omega - 3) + \left(\frac{PUFA \omega - 3}{PUFA \omega - 6}\right)}$$

gdzie: C12:0 – kwas laurynowy, C14:0 – kwas mirystynowy, C16:0 – kwas palmitynowy, C18:0 – kwas stearynowy.

3.5.1.2. Ocena parametrów barwy lipidów metodą odbiciową

Barwę oleożeli i oleju palmowego określano metodą odbiciową za pomocą kolorymetru stacjonarnego CR-5 (Konica Minolta, Japan) w systemie CIE ($L^*a^*b^*$), stosując iluminant D65 i obserwatora 10° . Zastosowano metodę Specular Component Excluded (SCE), wykluczającą odbicie lustrzane naczyń, w którym umieszczano próbki. Przed każdym cyklem pomiarowym aparat zerowano i kalibrowano wobec wzorca bieli. Probki lipidów przenoszono i równomiernie rozprowadzano szpatułką na szalce Petriego z przezroczystego tworzywa sztucznego (średnica – 5 cm, wysokość – 2 cm). Pomiarów parametrów L^* , a^* , b^* dokonano łącznie 15 – po pięć dla każdego z trzech powtórzeń ($22 \pm 1^\circ\text{C}$).

Parametr L^* określa jasność (0-100), parametr a^* – udział barwy zielonej (< 0) i czerwonej (> 0), zaś parametr b^* – udział barwy niebieskiej (< 0) i żółtej (> 0). Obliczano bezwzględną różnicę barwy (ΔE) według równania [Pathare i wsp. 2013]:

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_1 - L^*_0)^2 + (a^*_1 - a^*_0)^2 + (b^*_1 - b^*_0)^2}$$

gdzie: L^*_0, a^*_0, b^*_0 – parametry barwy próbki porównawczej, L^*_1, a^*_1, b^*_1 – parametry barwy próbki właściwej (doświadczalnej).

Indeks zażółcenia (YI) próbek wyznaczano zgodnie z równaniem [Wasnik i wsp. 2017]:

$$YI = 142,86 \cdot \frac{b^*}{L^*}$$

Ponadto wyznaczano współczynnik nieprzeźroczystości (z ang. opacity) lipidów – Wnp [%], stosując ten sam kolorymetr (D65, 10°, SCE) i wybierając opcję wyznaczenia tego parametru w przestrzeni barw CIE Yxy (Y – całkowita luminancja/jasność barwy). Przed pomiarami urządzenie zerowano (w czerni) i kalibrowano wobec wzorca bieli. Parametr Wnp jest opisywany jako zależność między nieprzeźroczystością próbki na czarnym wzorcu (Y_c), a nieprzeźroczystością próbki na białym wzorcu (Y_b) [Martins i wsp. 2019].

3.5.1.3. Ocena mikroskopowa kryształów lipidowych w świetle spolaryzowanym

Kryształy oleju palmowego i oleożeli zobrazowano za pomocą mikroskopu optycznego (Delta Optical 100 TP, Mińsk Mazowiecki, Polska), wyposażonego w kamerę Delta Optical DLT CAM PRO, Mińsk Mazowiecki, Polska). Około 50 g upłynnionych, klarownych oleożeli (bezpośrednio po wytworzeniu) i olej palmowy po podgrzaniu do temperatury $80 \pm 1^\circ\text{C}$, w celu rozpuszczenia wszystkich kryształów, pozostawiano do zestalenia w szafie termostatowej na 24 h w $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Po tym czasie, niewielką ilość zestalonej próbki umieszczano na szkiełku podstawowym, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i obserwowano w ciemnym polu (polaryzacja liniowa), w powiększeniu 400-krotnym. Dla wszystkich rodzajów układu lipidowego wykonywano po dwadzieścia zdjęć dla każdego z trzech powtórzeń i wybierano po pięć zdjęć reprezentatywnych. Za pomocą oprogramowania DLT-Cam Viewer na każdym zdjęciu mierzono długość około 100 kryształów (uzyskując po 500 pomiarów), obliczano średnią długość kryształów oraz wyznaczano wartości minimalne i maksymalne [μm] [Szymańska i wsp. 2022].

3.5.1.4. Analiza tekstury lipidów

Próbki przeanalizowano w teście penetracji, przy użyciu urządzenia TX.AT plus (Micro Stable Systems, Wielka Brytania). Jako element roboczy zastosowano końcówkę cylindryczną płasko-ściętą (P/0,5R) o średnicy 10 mm. Podczas analizy końcówka ta penetrowała próbkę (około 30 g lipidu w szklanej zlewce o pojemności 50 cm³) z prędkością 1 mm/s na głębokość 5 mm. Maksymalna zmierzona siła (siła penetracji) została zdefiniowana jako twardość [N], a minimalna siła jako kleistość (przylepność) [N] [Jakubczyk i wsp. 2014]. Test penetracji powtarzano trzykrotnie dla wszystkich próbek w trzech powtórzeniach (łącznie po 9 pomiarów) w 23 ± 1°C.

Ponadto lipidy poddawano testowi smarowności, przy użyciu tego samego urządzenia TX.AT plus oraz elementu roboczego TTC Spreadability Rig (uchwyt HDP/SR), który składa się z męskiej sondy stożkowej 90° i precyzyjnie dopasowanych żeńskich uchwytów naczynka w kształcie stożka ze szkła akrylowego. Naczynko napełniano próbką przy pomocy szpatułki, a następnie wyrównywano powierzchnię, usuwając nadmiar lipidu. Próbki penetrowano za pomocą ruchomego stożka z prędkością 3 mm/s na głębokość 23 mm, który następnie powracał do pierwotnego położenia z prędkością 10 mm/s. Za smarowność przyjęto pracę ścinania – pole pod krzywą czas–siła [N·mm] w zakresie wartości dodatnich, a za adhezyjność pracę adhezji – pole pod krzywą czas–siła [N·mm] w zakresie wartości ujemnych [Jakubczyk i wsp. 2014]. Test smarowności przeprowadzono trzykrotnie dla wszystkich próbek w trzech powtórzeniach (łącznie po 9 pomiarów) w temperaturze w 23 ± 1°C. Zastosowano oprogramowanie Exponent, kompatybilne z teksturometrem (Micro Stable Systems, Wielka Brytania).

3.5.1.5. Wyznaczenie temperatury (punktu) topnienia lipidów

Temperaturę topnienia lipidów oznaczano metodą otwartej kapilary zgodnie z normą PN-EN ISO 6321:2004. Jest to temperatura, w której tłuszcz, umieszczony w znormalizowanej kapilarze z obu stron otwartej i ogrzewany w ściśle określonych warunkach, zmięknie na tyle, że ulegnie przesunięciu ku górze [Żbikowska i wsp. 2012]. Za wynik końcowy przyjmowano średnią z pięciu równoległych oznaczeń dla próbek w trzech powtórzeniach (łącznie po 15 pomiarów).

3.5.1.6. Określenie współczynnika odzysku lepkości lipidów

Zdolność lipidów do odzyskiwania lepkości po ścinaniu określano metodą zaproponowaną przez Doan i wsp. [2015], z pewnymi modyfikacjami. W tym celu

zastosowano wiskozymetr rotacyjny Brookfield model DV3THA (Brookfield Engineering Laboratories., Inc., Middleboro, USA).

Około 40 g próbek lipidów (oleożele bezpośrednio po wytworzeniu, olej palmowy – po podgrzaniu do $80 \pm 1^\circ\text{C}$) przelewano do szklanych zlewek o pojemności 50 cm^3 (średnica 40 mm), następnie pozostawiano je do zestalenia w szafie termostatowej, w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na 24 h. Po tym czasie próbki poddawano 3-etapowemu ścinaniu: 1 etap – 0,1 obr/min przez 10 min, 2 etap – 10 obr/min przez 1 min, 3 etap – 0,1 obr/min przez 10 min. Zastosowano wrzeciono V-74, dla którego zakres pomiaru lepkości przy 10 obr/min wynosi od $108,6 \times 10^3$ do $108,6 \times 10^4 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, natomiast przy 0,1 obr/min od $108,6 \times 10^5$ do $108,6 \times 10^6 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Współczynnik odzysku lepkości [%] obliczano według równania:

$$Wod = \left(\frac{\eta_1 - \eta_3}{\eta_1} \right) \times 100\%$$

gdzie: *Wod* – współczynnik odzysku lepkości [%], η_1 – lepkość po 1 etapie ścinania [$\text{mPa}\cdot\text{s}$], η_3 – lepkość po 3 etapie ścinania [$\text{mPa}\cdot\text{s}$].

Test przeprowadzono trzykrotnie dla wszystkich próbek w trzech powtórzeniach (łącznie po 9 pomiarów).

3.5.1.7. Określenie właściwości mikroreologicznych lipidów

Charakterystykę mikroreologiczną układów tłuszczowych analizowano za pomocą aparatu Rheolaser Master (Formulation, L'Union, Francja), wykorzystującego technikę wielokrotnego, dynamicznego rozpraszania światła (metoda MS-DWS) w bliskiej podczerwieni (spójna wiązka laserowa o długości fali 650 nm) [Szymańska i wsp. 2022]. Detektorem interferujących fal wstecznie rozproszonych była kamera CCD, a wyniki pomiaru rejestrowano i przeliczano za pomocą oprogramowania Rheotest.

Upłynnione, klarowne próbki przelewano do fiolek o pojemności 20 cm^3 , do których uprzednio naważono około 0,02 g cząstek (o średnicy około $1,0 \mu\text{m}$) żywicy melaminowej (Microparticles, GmbH, Niemcy), niezbędnej do detekcji ruchu cząstek lipidowych w stanie ciekłym. W celu równomiernego rozproszenia cząstek żywicy w próbkach lipidów, całość poddawano sonikacji przez 10 s (amplituda 100%, puls 100%, moc 72 W), przy użyciu homogenizatora ultradźwiękowego Hielscher UP200St z sonotrodą tytanową S26d7 (Hielscher Ultrasonics GmbH, Niemcy). Następnie fiołki z próbkami wstawiano do komory pomiarowej aparatu, którą ogrzewano do temperatury $90 \pm 1^\circ\text{C}$.

Zastosowano następujące parametry testu: zadana temperatura – $20 \pm 1^\circ\text{C}$, całkowity czas trwania analizy – 24 h, czas dekorelacji – max. 300 s, pauza – 30 s. Układy tłuszczowe studzono od 90°C do 20°C przez 24 h, otrzymując profile zmian krzywych *MSD* (średniego przesunięcia kwadratowego) w funkcji czasu dekorelacji, na podstawie których wyznaczano temperaturę oraz czas całkowitej krystalizacji oleożeli lub oleju palmowego. Ponadto obliczano parametry mikroreologiczne charakteryzujące próbki zestalone: indeks sprężystości – *EI* [nm^{-2}] (odwrotność wartości *MSD* na płaskowyżu krzywej w średnim czasie dekorelacji), współczynnik równowagi ciec-ciało stałe – *SLB* [nm^2] (wartość *MSD* w średnim czasie dekorelacji), indeks lepkości makroskopowej – *MVI* [nm^{-2}] (odwrotność wartości *MSD* w długim czasie dekorelacji). Pomiary dokonano trzykrotnie dla wszystkich próbek w trzech powtórzeniach (łącznie po 9 pomiarów).

Wartości ww. parametrów mikroreologicznych są proporcjonalne do wartości parametrów lepko-sprężystych mierzonych przy użyciu reometru oscylacyjnego, w szerokim zakresie częstotliwości. *EI* jest wprost proporcjonalny do modułu sprężystości G' wyrażonego w [Pa], natomiast *SLB* koresponduje z bezwymiarowym stosunkiem modułu utraty lepkości i modułu sprężystości – G''/G' [-] [Larsen i Furst 2008, Rohart i wsp. 2016]. Z kolei *MVI* odpowiada pozornej lepkości przy zerowym ścinaniu w [mPa·s] [Pasqua i wsp. 2014].

3.5.1.8. Określenie stabilności grawitacyjnej lipidów metodą sączkową

Zdolność wiązania i utrzymywania ciekłej frakcji lipidowej w strukturze (stabilność grawitacyjną) oleożeli i oleju palmowego określano stosując metodę Blake i wsp. [2014], z niewielkimi modyfikacjami. Około 25 g próbki przenoszono na lejek umieszczony w kolbie stożkowej i wyłożony bibułą do badań ilościowych (bezpopyłową, wykonaną w 95% z α -celulozy) – typ Munktell #3 (średnica sączka 150 mm). Niezwiązana frakcja lipidowa wyciekała przez bibułę na lejku do kolby, pod wpływem siły grawitacji. Wielkość porów bibuły (poniżej 2 μm) pozwoliła uniknąć zafałszowania spowodowanego zwiększaniem masy lipidu w kolbie na skutek przedostania się małych kryształów do kolby. Całość umieszczano w dwóch komorach termostatowych – w temperaturach 20°C i 30°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). W odstępach czasu 0,25 h, 0,5 h, 0,75 h, 1 h, 1,5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 24 h i 72 h dokonywano pomiaru masy wycieku na wadze analitycznej, z dokładnością do 0,0001 g. Wyniki przedstawiono na wykresie zależności ubytku frakcji ciekłej [%] w funkcji czasu. Oznaczenie wykonano trzykrotnie w trzech powtórzeniach (łącznie po 9 pomiarów każdego rodzaju próbki).

3.5.1.9. Określenie stabilności wirówkowej lipidów metodą tradycyjną

Oporność lipidów na działanie siły odśrodkowej (stabilność wirówkową) wyznaczano przy użyciu wirówki MPW-352 (MPW Med. Instruments, Polska). Do szklanych probówek o pojemności 10 cm³ odważano po około 3 g próbki, przy użyciu wagi technicznej (z dokładnością do 0,01 g). Próbkę poddawano wirowaniu przy 4000 obr/min przez 15 min. Po odwirowaniu probówki odwracano dnem do góry i pozostawiano na bibule na 5 min, w celu usunięcia uwolnionej frakcji ciekłej. Następnie ważono probówki wraz z pozostałością frakcji stałej lipidów. Wskaźnik stabilności wirówkowej lipidów obliczano według równania [Öğütçü i Yılmaz 2014, Onacik-Gür i wsp. 2017].

$$S_w = \frac{m_a - m_t}{m_b - m_t} \cdot 100\%$$

gdzie: S_w – wskaźnik stabilności wirówkowej [%], m_a – masa lipidu i probówki po odwirowaniu i oddzieleniu frakcji ciekłej [g], m_b – masa lipidu i probówki przed odwirowaniem [g], m_t – masa probówki [g].

Test przeprowadzono trzykrotnie w każdym z trzech powtórzeń (łącznie po 9 pomiarów dla każdego wariantu).

3.5.1.10. Określenie stabilności wirówkowej lipidów metodą wielokrotnego rozpraszania światła

Stabilność lipidów (zdolność do utrzymywania frakcji ciekłej) wyznaczano również za pomocą analizatora dyspersji LUMiSizer (LUM GmbH, Niemcy), wykorzystując technologię STEP-Technology[®], w oparciu o przestrzenne i czasowe profile ekstynkcji. W badaniu tym możliwe jest natychmiastowe wykrycie zmian w intensywności transmisji lub wstecznego rozproszenia światła na całej wysokości próbki. Metodę określa się jako przyspieszoną analizę stabilności odśrodkowej (z ang. Centrifugal Stability Analysis – CSA), przy czym aparat jest wyposażony w wielofalowe źródło światła, kamerę CCD-line jako detektor, a wyniki są rejestrowane i przeliczane za pomocą oprogramowania SepView.

Próbki lipidów w postaci płynnej wprowadzano do specjalnych fiolek za pomocą strzykawki z igłą i pozostawiano do zestalenia na 24 h w temperaturze 20 ± 1°C. Zastosowano następujące parametry analizy: objętość próbki – 0,5 cm³, długość fali – 870 nm, współczynnik światła – 1,0, siła odśrodkowa – 4000 obr/min, temperatura – 20 lub 30°C (± 1°C), czas rejestracji profili transmisji – co 10 s, całkowity czas trwania analizy – 50 min [Onacik-Gür i wsp. 2017]. Na podstawie profili transmisji światła przez

próbki wyznaczano indeksy niestabilności (*In*). Wartości indeksów niestabilności przedstawiono w postaci wykładniczej „ $\times 10^{2n}$ ”, celem ułatwienia ich zestawienia i porównania z innymi wskaźnikami stabilności oraz interpretacji uzyskanych wyników. Analizę przeprowadzono trzykrotnie w każdym z trzech powtórzeń (łącznie po 9 pomiarów dla każdego wariantu).

3.5.1.11. Oznaczenie liczby nadtlenkowej lipidów

Liczbę nadtlenkową lipidów niezemulgowanych (samodzielnych układów) i lipidów zemulgowanych (wydzielonych z emulsji) wyznaczano zgodnie z zaleceniami normy PN-EN ISO 3960:2017-03.

Do kolby stożkowej ze szlifem odważano około 2 g lipidu ($\pm 0,01$ g) – próbki właściwej – i postępowano zgodnie z procedurą. Zastosowano następujące odczynniki: mieszaninę kwasu octowego z chloroformem (3:2), przesycony roztwór jodku potasu, 10% roztwór skrobi, 0,002 N roztwór tiosiarczanu sodu (Chempur, Polska). Wykonano również próbę ślepa – odczynnikową (bez lipidu). Liczbę nadtlenkową (*LN*), wyrażaną w milirównoważnikach aktywnego tlenu na kg lipidu [milirówn. O_2 /kg], obliczano według równania:

$$LN = \frac{V_1 - V_0}{m} * 0,002 * 1000$$

gdzie: V_1 – objętość tiosiarczanu sodu zużyta na miareczkowanie próbki właściwej [cm^3],
 V_0 – objętość tiosiarczanu sodu zużyta na miareczkowanie próbki ślepej [cm^3],
 m – naważka lipidu [g], 0,002 – stężenie normalne roztworu tiosiarczanu sodu.

Wynik końcowy stanowiła średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń.

3.5.1.12. Oznaczenie liczby anizydynowej lipidów

Liczbę anizydynową lipidów niezemulgowanych (samodzielnych układów) i lipidów zemulgowanych (wydzielonych z emulsji) wyznaczano zgodnie z normą PN-EN ISO 6885:2016-04. Przygotowywano odczynnik *p*-anizydyny, poprzez odważenie do kolby miarowej (na 25 cm^3) 0,0625 g *p*-anizydyny (Sigma-Aldrich, Polska) i uzupełnienie kwasem octowym lodowatym (Chempur, Polska) do kreski. Całość mieszano i odstawiano do ciemności. Następnie do drugiej kolby miarowej na 25 cm^3 odważano około 2 g lipidu ($\pm 0,001$ g), uzupełniano izooktanem (Chempur, Polska) do kreski i mieszano. Do pierwszego cylindra na 10 cm^3 przenoszono 5 cm^3 przygotowanej próbki, dodawano 1 cm^3 kwasu octowego lodowatego. Do drugiego cylindra przenoszono 5 cm^3 próbki i 1 cm^3 odczynnika *p*-anizydyny, a do trzeciego cylindra 5 cm^3 izooktanu

i 1 cm³ odczynnika *p*-anizydyny. Tak przygotowane roztwory mieszano za pomocą wytrząsarki Vortex (lab dancer, VWR International Sp. z oo, Polska), następnie odstawiano do ciemności na 8 min. Po tym czasie mierzono absorbancje roztworów (wobec izooktanu), przy długości fali 350 nm, za pomocą spektrofotometru UV/VIS GENESYS 180 (Thermo Fisher Scientific, Stany Zjednoczone). Liczbę anizydynową (LA) obliczano według równania:

$$LA = \frac{100 * Q * V}{m} * [1,2 * (A_1 - A_2) - A_0]$$

gdzie: *V* – objętość roztworu próbki (*V* = 25) [cm³], *m* – naważka próbki lipidu [g], *Q* – zawartość próbki w zmierzonym roztworze, na której podstawie wyrażana jest liczba anizydynowa: (*Q* = 0,01) [g/cm³], *A*₀ – absorbancja nieprzereagowanego roztworu (roztwór próbki + kwas octowy), *A*₁ – absorbancja przereagowanego roztworu (roztwór próbki + odczynnik *p*-anizydyny), *A*₂ – absorbancja próby ślepej (izooktan + odczynnik *p*-anizydyny). Wynik stanowiła średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń.

Na podstawie wartości liczb nadtlenkowej i anizydynowej wyznaczono wskaźnik ogólnego utlenienia lipidu *TOTOX* = (2 × *LN* + *LA*) [Chen i wsp. 2022].

3.5.2. Metody badań emulsji

3.5.2.1. Pomiar pH emulsji

Kwasowość czynną (pH) świeżo przygotowanych emulsji mierzono za pomocą stacjonarnego pH-metru FiveEasy PLUS FP20 (Mettler-Toledo, Polska), wyposażonego w kompozytową elektrodę szklano-kalomelową. Przed pomiarami pH-metr kalibrowano wobec standardowych roztworów buforowych o pH równym 5 i 7. Wartość pH wyznaczano w temperaturze pokojowej (21 ± 2°C). Wynik stanowiła średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń.

3.5.2.2. Ocena parametrów barwy emulsji metodą odbiciową

Barwę emulsji określano analogicznie jak w przypadku lipidów (podpunkt 3.5.1.2). Obliczono bezwzględną różnicę barwy (ΔE) emulsji, w porównaniu do próbki porównawczej, według równania:

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_1 - L^*_0)^2 + (a^*_1 - a^*_0)^2 + (b^*_1 - b^*_0)^2}$$

gdzie: *L*^{*}₀, *a*^{*}₀, *b*^{*}₀ – parametry barwy próbki porównawczej (emulsji na bazie oleju palmowego, śmietanki), *L*^{*}₁, *a*^{*}₁, *b*^{*}₁ – parametry barwy próbki doświadczalnej.

Uzyskane wyniki interpretowano następująco [Chudy i wsp. 2016]:

- 0 < ΔE ≤ 1 – niewidoczna różnica barwy,

- $1 < \Delta E \leq 2$ – niewielka różnica, rozpoznawalna jedynie przez osobę doświadczoną,
- $2 < \Delta E \leq 3,5$ – różnica rozpoznawalna nawet przez niedoświadczonego obserwatora,
- $3,5 < \Delta E \leq 5$ – wyraźna różnica barwy,
- $5 > \Delta E$ – obserwator odnosi wrażenie dwóch różnych barw.

Ponadto wyznaczano indeks bieli (WI), świadczący o podobieństwie bieli próbek (0-100) do idealnej bieli wzorca (100), zgodnie z równaniem [Rodriguez-Aguilera i wsp. 2011]:

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

Objaśnienia oznaczeń L^* , a^* , b^* podano w podpunkcie 3.5.1.2. Pomiary dokonano, w temperaturze $22 \pm 1^\circ\text{C}$, pięciokrotnie dla każdego z trzech powtórzeń (łącznie po 15 pomiarów dla każdego wariantu).

3.5.2.3. Wyznaczenie średniej wielkości cząstek lipidowych emulsji metodą wielokrotnego rozpraszania światła

Średnią wielkość cząstek zdyspergowanych wyznaczano metodą statycznego, wielokrotnego rozpraszania światła – SMLS (z ang. Static Multiple Light Scattering), za pomocą aparatu Turbiscan Lab (Formulation, Francja). Metoda SMLS opiera się na pomiarze natężenia światła (w bliskiej podczerwieni – długość fali 880 nm) przepuszczanego i rozpraszanego wstecznie przez badaną próbkę. Średnią wielkość cząstek wyznaczono na podstawie intensywności światła wstecznie rozproszonego – RW [%] (na wysokości próbki 1-40 mm) oraz parametrów optycznych emulsji [Bru i wsp. 2004, Kowalska i wsp. 2020], takich jak udział objętościowy fazy rozproszonej [%], transmitancja fazy ciągłej [%], współczynniki załamania światła fazy ciągłej oraz fazy rozproszonej (tab. 3). Udział objętościowy fazy rozproszonej wyznaczono na podstawie udziału masowego fazy lipidowej i fazy wodnej (30/70 m/m) oraz ich gęstości [g/cm^3], wyznaczonej metodą wagową (iloraz masy i objętości zestalonego lipidu w $20 \pm 1^\circ\text{C}$). Transmitancję fazy ciągłej (napoju sojowego, mleka odtłuszczonego) wyznaczono za pomocą aparatu Turbiscan Lab. Współczynniki załamania światła fazy ciągłej oraz fazy rozproszonej (oleożeli z 3%, 4%, 5%, 6% i 7% m/m WK, oleju palmowego, tłuszczu mlecznego) wyznaczono za pomocą refraktometru Abbego PZO RL1 (PZO, Polska) w temperaturze $21 \pm 2^\circ\text{C}$. Pomiary przeprowadzono w trzech powtórzeniach ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Obliczenia wykonano w programie TurbiSoft 2.3.

Tabela 3. Parametry optyczne próbek

| Próbka | Współczynnik załamania światła [-] | Gęstość [g/cm ³] | Udział objętościowy frakcji [%] |
|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Tłuszcz mleczny | 1,461 | 0,884 | 33,300 |
| Olej palmowy | 1,464 | 0,892 | 33,107 |
| Oleożele (3-8% m/m wosku kandelila) | 1,471 | 0,920 | 32,418 |
| Mleko odtłuszczone | 1,348 | 1,031 | - |
| Napój sojowy | 1,339 | 1,030 | - |

3.5.2.4. Wyznaczenie średniej wielkości i rozkładu wielkości cząstek lipidowych emulsji metodą mikroskopii optycznej

Cząstki lipidowe emulsji analizowano przy użyciu mikroskopu optycznego (Delta Optical 100 TP, Mińsk Mazowiecki, Polska). Kroplę emulsji umieszczano na szkiełku podstawowym, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i obserwowano zdyspergowane cząstki lipidowe, w jasnym polu, przy powiększeniu 600-krotnym. Rozmiary cząstek lipidowych mierzono na obrazach mikroskopowych (wykonanych kamerą DLT-Cam PRO 2MP) przy użyciu kompatybilnego oprogramowania DLT-Cam Viewer. Wykonano kilkanaście zdjęć każdej próbki emulsji, następnie wybrano trzy zdjęcia reprezentatywne. Zmierzono wielkość około 1000 cząstek rozproszonych. Procedurę wykonano trzykrotnie dla każdego powtórzenia (łącznie po około 3000 pomiarów na jeden wariant emulsji).

Wykresy rozkładu wielkości cząstek lipidowych, przedstawiające względny (krzywą dyferencyjną) i skumulowany (krzywą kumulacji) rozkład częstości, czyli liczebności cząstek rozproszonych o określonej wielkości, sporządzono przy użyciu programu MS Excel. Współczynniki dyspersyjności (Wd) obliczano według równania [Kowalska i wsp. 2014, Szymańska i wsp. 2020b]:

$$Wd = \frac{K_{90\%} - K_{10\%}}{K_{50\%}}$$

gdzie: $K_{90\%}$, $K_{50\%}$, $K_{10\%}$ – średnice cząstek lipidowych [μm] odczytane z krzywej rozkładu skumulowanego (odpowiednio 90%, 50%, 10% cząstek ma średnice nie większe od tych wartości).

3.5.2.5. Analiza właściwości reologicznych emulsji poddanych ścinaniu

Test lepkości przeprowadzono przy rosnącej prędkości ścinania (co 10 obr/min, od 10 obr/min do 250 obr/min), stosując wiskozymetr rotacyjny Brookfield DV3T

(Brookfield Engineering Laboratories., Inc., Middleboro, USA). Próbki badano w kontrolowanych warunkach przy użyciu adaptera cylindrycznego, umieszczonego w płaszczu wodnym połączonym z łaźnią wodną ($20 \pm 1^\circ\text{C}$), i wrzeciona DIN-86 [Żbikowska i wsp. 2020]. Wyznaczano krzywe lepkości (zmiany lepkości pozornej w funkcji szybkości ścinania) oraz krzywe płynięcia (zmiany naprężenia stycznego w funkcji szybkości ścinania). Krzywe opisano uniwersalnym modelem matematycznym Ostwalda-de Waele'a:

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

gdzie: τ – naprężenie styczne [Pa], K – współczynnik konsystencji [mPa·s], $\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania [1/s], n – wykładnik płynięcia [-]. Test przeprowadzono trzykrotnie dla każdego z trzech powtórzeń (łącznie po 9 pomiarów w wariancie).

3.5.2.6. Analiza właściwości mikroreologicznych emulsji

Właściwości mikroreologiczne emulsji określano przy użyciu metody MS-DWS (podpunkt 3.5.1.7). Próbki emulsji, po 24 h od wytworzenia, przenoszono do fiolek pomiarowych o pojemności 20 cm^3 . Badanie prowadzono przy użyciu testu „szybkiej charakteryzacji”, trwającego 5 min, w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Wyniki pomiarów rejestrowano i przeliczano za pomocą oprogramowania Rheotest. Wyznaczano parametry EI [nm^{-2}] oraz MVI [nm^{-2}] [Szymańska i wsp. 2020a, Szymańska i wsp. 2021]. Analizę emulsji przeprowadzono trzykrotnie dla każdego trzech powtórzeń.

3.5.2.7. Określenie stabilności wirówkowej emulsji

Stabilność fizyczną emulsji, poddanych działaniu siły odśrodkowej, określano metodą wielokrotnego rozpraszania światła za pomocą analizatora dyspersji LUMiSizer (LUM GmbH, Niemcy), wykorzystującego technologię STEP (podpunkt 3.5.1.10).

Próbki emulsji, po 24 h od wytworzenia, w ilości około $0,5 \text{ cm}^3$ wprowadzano do fiolek. Zastosowano następujące parametry analizy: prędkość wirowania – 4000 obr/min, temperatura – $20 \pm 1^\circ\text{C}$, czas rejestracji profili transmisji – co 10 s, całkowity czas trwania analizy – 50 min [Szymańska i wsp. 2020a-b]. Wyznaczano całkowite indeksy niestabilności – In [-], średnie prędkości cząstek w polu wirowania [$\mu\text{m/s}$], a także analizowano kinetykę zmian indeksu niestabilności w funkcji czasu wirowania. Analizę przeprowadzono trzykrotnie dla każdego z trzech powtórzeń poszczególnych emulsji.

3.5.2.8. Analiza zmian stabilności emulsji poddanych stresowi środowiskowemu

Fiolki szklane z płaskim dnem o pojemności 20 cm³ napełniano świeżo przygotowanymi emulsjami (24 h od wytworzenia), do wysokości 40 mm. Próbki poddawano działaniu różnych czynników środowiskowych, uwzględniających:

- wysoką temperaturę – próbki ogrzewano w temperaturze $90 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 30 min w łaźni wodnej (AJL Elektroniczne, Polska), następnie odstawiano do szafy termostatowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) na około 3 h do wystudzenia [Taha i wsp. 2018];
- cykl zamrażanie-rozmrażanie – próbki umieszczano w zamrażarce ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$) na 24 h, następnie przenoszono do szafy termostatowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) na około 3 h, w celu rozmrożenia [Zang i wsp. 2019].
- zmiany siły jonowej – próbki dyspergowano w uprzednio przygotowanych roztworach NaCl (0,05 M, 0,10 M oraz 0,15 M) lub z wodą destylowaną (0 M) w stosunku 1:1, przy użyciu pomocą mieszadła magnetycznego (600 obr/min, 10 min), następnie odstawiano do szafy termostatowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) na 24 h [Mao i wsp. 2014];
- zmiany pH – próbki dyspergowano w roztworach buforowych o pH równym 5, 7 lub 9 w stosunku 1:1, przy użyciu mieszadła magnetycznego (600 obr/min, 10 min), następnie odstawiano do szafy termostatowej ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) na 24 h [Taha i wsp. 2018, Zhang i wsp. 2022].

Następnie wyznaczano średnią wielkość cząstek lipidowych w emulsjach za pomocą aparatu Turbiscan Lab (Formulation, Francja) oraz indeksy niestabilności emulsji przy wykorzystaniu analizatora dyspersji LUMiSizer (LUM GmbH, Niemcy), zgodnie z metodyką opisaną odpowiednio w podpunktach 3.5.2.3 i 3.5.2.7. Przed przystąpieniem do pomiarów każdą próbkę ostrożnie mieszano za pomocą bagietki. Analizy przeprowadzono trzykrotnie dla każdej emulsji w trzech powtórzeniach.

3.5.2.9. Analiza zmian właściwości emulsji w czasie przechowywania

Emulsje przechowywano w szafie termostatowej bez dostępu światła w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 28 dni. W 1, 7, 14, 21 i 28 dniu testu analizowano właściwości fizyczne emulsji: pH (pH-metr Mettler Toledo), parametry barwy metodą odbiciową (kolorymetr CR-5), średnią wielkość i rozkład wielkości cząstek lipidowych metodą mikroskopową (mikroskop optyczny Delta Optical), średnią wielkość cząstek lipidowych i stabilność grawitacyjną metodą wielokrotnego rozpraszania światła (Turbiscan Lab), właściwości

reologiczne próbek poddanych ścinaniu (Brookfield DV3T), właściwości mikroreologiczne (Rheolaser Master), stabilność wirówkową (LUMiSizer). Powyższe pomiary przeprowadzono zgodnie z metodyką wcześniej opisaną w podpunktach 3.5.2.1-3.5.2.8.

Ponadto analizowano stabilność oksydacyjną frakcji lipidowych wydzielonych z emulsji (punkt 3.4). Wydobyte frakcje, podobnie jak przechowywane w tych samych warunkach lipidy będące samodzielnymi układami (niezemulgowanymi), poddawano badaniom zmierzającym do określenia przemian oksydacyjnych w funkcji czasu (podpunkty 3.5.1.11 i 3.5.1.12).

3.5.3. Metody statystycznej analizy wyników

Analizy statystyczne wyników przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Statistica 13.1 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, USA). Przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$ (istotna różnica między wartościami średnimi: p-value < 0,05).

3.5.3.1. Analiza wariancji

W celu porównania średnich wartości parametrów (zmiennych zależnych) co najmniej 3 grup porównawczych, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji – test ANOVA (zmienna grupująca – rodzaj lipidu/frakcji lipidowej emulsji lub rodzaj emulsji, lub czas przechowywania).

Wyniki pomiarów tych samych próbek (pochodzące z analiz nieniszczących), uzyskanych w teście przechowalniczym, poddawano analizie wariancji ANOVA z powtarzanymi pomiarami (zmienna grupująca – czas przechowywania). Do weryfikacji hipotez zastosowano następujące testy: Shapiro-Wilka (rozkład normalny), Levene'a i Brown-Forsythe'a (równość średnich), parametryzacji z sigma-ograniczeniami (równość wariancji). Grupy jednorodne wyznaczano przy użyciu testu posthoc – (HSD) Tukey'a. Ponadto, gdy dysponowano wynikami dla wyłącznie 2 grup porównawczych, zastosowano test t-Studenta (zmienna grupująca – temperatura) [Rabiej 2012].

3.5.3.2. Test korelacji Pearsona

Siłę korelacji pomiędzy zmiennymi określano za pomocą testu korelacji Pearsona. Wyznaczano współczynniki korelacji (ρ), współczynniki determinacji (R^2), wartość t i p-value. Przyjęto następujące kryterium oceny korelacji: bardzo silna ($|\rho| = 1,0$), silna ($0,8 \leq |\rho| < 1,0$), średnia ($0,5 \leq |\rho| < 0,8$), słaba ($0,1 \leq |\rho| < 0,5$), bardzo słaba ($0,01 \leq |\rho| < 0,10$). Ujemna wartość współczynnika korelacji oznaczała odwrotnie

proporcjonalną zależność pomiędzy zmiennymi (korelacja ujemna), zaś wartość dodatnia – zależność wprost proporcjonalną (korelacja dodatnia) [Granato i Masson 2010].

3.5.3.3. Analiza składowych głównych z klasyfikacją (PCA)

Przeprowadzono analizę głównych składowych z klasyfikacją (PCA, z ang. Principal Component Analysis), w celu zróżnicowania badanych układów lipidowych oraz ustalenia zależności pomiędzy wyznaczonymi parametrami (n zmiennych) na podstawie korelacji (wariancje jako $SS/(n-1)$). Kryteria wyboru pierwszych składowych głównych stanowiła wartość własna $> 1,0$, następnie skumulowany % wariancji $> 70\%$, co przedstawiono na wykresach osypiska. Czynniki (składowe główne) skorelowano ze zmiennymi, a za znaczącą korelację uznano, gdy $|\rho| \geq 0,7$ [Granato i wsp. 2018]. Wyniki zobrazowano za pomocą projekcji zmiennych lub przypadków na płaszczyznę czynników.

3.5.3.4. Hierarchiczna analiza skupień (HCA)

Przeprowadzono hierarchiczną analizę skupień (HCA, z ang. Hierarchical Cluster Analysis), która polegała na klasyfikacji badanych próbek (obiektów) według średnich wartości wyznaczonych parametrów (zmiennych). W tym celu wykorzystano metodę aglomeracji (metoda klasyfikacji obiektów), odległość euklidesową (odległość między obiektami), metodę Warda (zasada wiązania skupień/obiektów), wskaźnik Bakera i Huberta (liczba skupień) [Granato i wsp. 2018]. Ze względu na duże zróżnicowanie jednostek i wielkości porównywanych zmiennych, dane surowe poddano standaryzacji przed właściwą analizą (w programie Statistica):

$$\text{Dane standaryzowane} = \frac{(\text{dana surowa} - \text{średnia})}{\text{odchylenie standardowe}}$$

Zbadano przynależność obiektów do skupień, dla których wyznaczono średnie wartości zmiennych oraz obliczono współczynniki zmienności według równania [Jalilibal i wsp. 2021]:

$$Wz = \frac{s}{\bar{x}} * 100$$

gdzie: Wz – współczynnik zmienności parametru w danej grupie obiektów [%], \bar{x} – średnia z wartości parametru obiektów w danej grupie (skupieniu), s – odchylenie standardowe z wartości parametru obiektów w danej grupie (skupieniu).

4. Omówienie i dyskusja wyników

4.1. Etap I: Analiza wpływu stężenia substancji strukturyzującej na właściwości lipidów strukturyzowanych (oleożeli)

4.1.1. Ocena składu kwasów tłuszczowych i wskaźników żywieniowych lipidów

W celu określenia jakości żywieniowej lipidów wyznaczono skład KT i wskaźniki żywieniowe dla oleju palmowego (OP), mieszanki olejów rzepakowego i lnianego w stosunku 1:1 (OR-OL) – bazy do otrzymywania lipidów strukturyzowanych, a także tłuszczu mlecznego (TM), stanowiącego odniesienie dla fazy rozproszonej śmietanki, tj. próbki porównawczej w etapie II niniejszej pracy.

Skład kwasów tłuszczowych TM, OP i OR-OL przedstawiono w tabeli 4. Tłuszcz mleczny charakteryzował się najwyższą zawartością SFA – około 67,3%, w tym około 54,1% KT długołańcuchowych (> 12 atomów węgla). OP i mieszanka olejów (OR-OL) zawierały odpowiednio około 49,5% i 8,8% SFA. Zarówno w OP, jak i w TM dominującym SFA był kwas palmitynowy (odpowiednio około 43,6% i 33,1%). Wykazali to również Dorni i wsp. [2018], którzy stwierdzili w tłuszczu mlecznym około 39,1% kwasu palmitynowego, a w oleinie palmowej zawartość tego KT na poziomie około 39,7%.

W badanych olejach roślinnych wykryto śladowe ilości TFA. W TM izomery te stanowiły około 1,7% całkowitej puli KT (tab. 4). Zgodnie z Bendsen i wsp. [2011] spożycie TFA, pochodzących od przeżuwaczy, na poziomie 0,5-1,9 g dziennie nie ma istotnego wpływu na ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej. Mieszanka OR-OL nie różniła się istotnie statystycznie od oleju palmowego pod względem zawartości MUFA – około 40,5%. Jednakże charakteryzowała się ona znacznie większą zawartością PUFA, w porównaniu do OP i TM (odpowiednio ponad 5- i 15-krotnie). W OR-OL dominowały PUFA ω -3 (około 32,4%), szczególnie kwas α -linolenowy (ALA) charakterystyczny dla oleju lnianego. Badane przez Kostik i wsp. [2013] oleje lniane i rzepakowe zawierały odpowiednio około 68,0% i 30,7% PUFA. Według Orsavova i wsp. [2015] niska wartość ω -6/ ω -3 w diecie jest kluczowym czynnikiem zrównoważonej syntezy eikozanoidów. Stosunek PUFA ω -6 do ω -3 był najniższy dla OR-OL (około 0,5), zaś najwyższy w przypadku OP (około 37,0). Pomimo bardzo małej zawartości PUFA (około 3,0%), tłuszcz mleczny wykazywał stosunkowo korzystny stosunek ω -6/ ω -3 (około 1,5) – tab. 4.

Tabela 4. Skład kwasów tłuszczowych i wskaźniki żywieniowe tłuszczu mlecznego (TM), oleju palmowego (OP) oraz mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) – OR-OL

| Kwas tłuszczowy / wskaźnik | Udział kwasu tłuszczowego (%) | | |
|---|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | TM | OP | OR-OL |
| C 4:0 | 3,95 ± 0,16 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 6:0 | 2,27 ± 0,13 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 8:0 | 1,08 ± 0,04 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 10:0 | 2,56 ± 0,04 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 12:0 | 3,37 ± 0,10 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 14:0 | 10,35 ± 0,52 | 0,92 ± 0,05 | < 0,05 |
| C 14:1 (<i>cis</i> -9) | 2,23 ± 0,03 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 16:0 | 33,08 ± 0,04 | 43,62 ± 0,42 | 5,17 ± 0,14 |
| C 16:1 (<i>trans</i> -9) | 0,27 ± 0,02 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 16:1 (<i>cis</i> -9) | 1,71 ± 0,05 | < 0,05 | 0,13 ± 0,01 |
| C 17:0 | 0,60 ± 0,06 | < 0,05 | 0,08 ± 0,01 |
| C 17:1 (<i>cis</i> -10) | 0,13 ± 0,01 | < 0,05 | 0,06 ± 0,01 |
| C 18:0 | 10,09 ± 0,16 | 4,50 ± 0,08 | 2,81 ± 0,03 |
| C 18:1 (<i>trans</i> -9) | 1,32 ± 0,07 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 18:1 (<i>cis</i> -9) | 23,32 ± 1,08 | 40,4 ± 0,41 | 39,53 ± 0,57 |
| C 18:2 (<i>trans</i> -9,12) | 0,11 ± 0,01 | < 0,05 | 0,06 ± 0,01 |
| C 18:2 (<i>cis</i> -9,12) | 1,82 ± 0,04 | 9,61 ± 0,23 | 17,59 ± 0,18 |
| C 18:3 (<i>cis</i> -6,9,12; <i>cis</i> -9,12,15) | 1,21 ± 0,04 | 0,26 ± 0,01 | 32,42 ± 0,42 |
| C 20:0 | < 0,05 | 0,36 ± 0,01 | 0,37 ± 0,02 |
| C 20:1 (<i>cis</i> -11) | < 0,05 | 0,10 ± 0,01 | 0,74 ± 0,02 |
| C 20:2 (<i>cis</i> -11,14) | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 22:0 | < 0,05 | 0,09 ± 0,01 | 0,24 ± 0,01 |
| C 22:1 (<i>cis</i> -13) | < 0,05 | < 0,05 | 0,13 ± 0,01 |
| C 22:2 (<i>cis</i> -13,16) | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| C 24:0 | < 0,05 | < 0,05 | 0,12 ± 0,01 |
| C 24:1 (<i>cis</i> -15) | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| ∑ω-6 | 1,82 ^a ± 0,42 | 9,61 ^b ± 0,23 | 17,59 ^c ± 0,03 |
| ∑ω-3 | 1,21 ^b ± 0,06 | 0,26 ^a ± 0,07 | 32,40 ^c ± 0,06 |
| ∑ SFA | 67,34 ^c ± 0,83 | 49,47 ^b ± 0,52 | 8,78 ^a ± 0,34 |
| ∑ MUFA | 27,39 ^a ± 1,05 | 40,50 ^b ± 0,45 | 40,58 ^b ± 0,96 |
| ∑ PUFA | 3,03 ^a ± 0,37 | 9,87 ^b ± 0,29 | 50,01 ^c ± 1,02 |
| ∑ TFA | 1,70 ^b ± 0,13 | < 0,05 ^a | 0,06 ^a ± 0,01 |
| ω-6/ ω-3 | 1,50 ^b ± 0,04 | 36,96 ^c ± 0,06 | 0,54 ^a ± 0,03 |
| WA | 2,56 ^c ± 0,07 | 0,94 ^b ± 0,03 | 0,06 ^a ± 0,01 |
| WT | 2,83 ^c ± 0,05 | 1,90 ^b ± 0,05 | 0,06 ^a ± 0,01 |

Objaśnienia: WA – wskaźnik aterogenny, WT – wskaźnik trombogenny; a-c - różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2021].

Na podstawie składu kwasów tłuszczowych TM, OP i OR-OL wyznaczono wskaźniki aterogenny (WA) i trombogenny (WT) – tab. 4, które informują o ryzyku zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe [Hashempour-Baltork i wsp. 2018]. Wskaźnik aterogenny, zwany również wskaźnikiem miażdżycowym, był najwyższy

w przypadku TM (około 2,6), co wynikało z większej zawartości długołańcuchowych SFA i mniejszej zawartości nienasyconych KT, w porównaniu do OP i OR-OL. Nieco wyższe wartości *WA* uzyskali Peña-Serna i wsp. [2019] dla tłuszczu z mleka krowiego (około 2,8) i tłuszczu z mleka bawolego (około 3,0). Mimo że olej palmowy wykazywał prawie 3-krotnie niższą wartość *WA* od tłuszczu mlecznego około (2,56), to był wciąż ponad 15-krotnie wyższy od wartości *WA* cechującej OR-OL (około 0,06). Taką samą tendencję zaobserwowano w ramach porównania wartości *WT* obliczonych dla tych trzech lipidów. W tym przypadku zanotowano mniejszą różnicę (około 1,5-krotną) pomiędzy TM i OP, natomiast wartość *WT* dla OR-OL była już ponad 30-krotnie niższa od pozostałych (tab. 4). W badaniach Hashempour-Baltork i wsp. [2018] wartości *WT* dla olejów lnianego, sezamowego i oliwy z oliwek wynosiły odpowiednio około 0,04, 0,26 i 0,38. Z kolei mieszanina tych olejów w proporcji 15:30:55 charakteryzowała się wartością tego parametru na poziomie około 0,20.

4.1.2. Ocena parametrów barwy lipidów

Na podstawie analizy barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ stwierdzono, że oleożele wykazywały niższe wartości parametru L^* i wyższe wartości parametrów a^* i b^* , w porównaniu do OP (tab. 5). Zwiększenie stężenia wosku kandelila wpłynęło na barwę próbek (rys. 7) i powodowało zwiększenie wartości parametru L^* , lecz nie doprowadziło do istotnej zmiany parametrów a^* i b^* . W odniesieniu do OP, oleożel z najniższym stężeniem WK wykazywał o około 39% mniejszą wartość parametru L^* , a oleożel z jego największym udziałem – o około 19%. Oleożele nie różniły się pod względem wartości parametrów a^* i b^* . Z kolei Öğütçü i Yılmaz [2015] wykazali większe zróżnicowanie barwy oleożeli na bazie oleju z orzechów laskowych. Zwiększenie stężenia wosku karnauba z 3% do 7% m/m przyczyniło się nie tylko do zwiększenia wartości L^* (od 42,9 do 56,4), ale również do znaczącego zmniejszenia wartości parametru a^* (od -3,8 do -4,9) i zwiększenia wartości parametru b^* (od 4,5 do 11,0).

Barwa oleożeli znacznie różniła się od OP, co potwierdzają wysokie wartości całkowitej różnicy barwy – ΔE ($> 18,0$) – tab. 5. W literaturze przyjęto, że $\Delta E > 5,0$ świadczy o różnicy w barwie, która jest zauważalna nawet dla niedoświadczonego obserwatora [Mokrzycki i Tatol 2011]. Parametr ten przyjął wartość niższą od 5,0, w przypadku porównania barwy oleożelu z 4% stężeniem WK do barwy oleożelu z najniższym udziałem wosku (3%). Dalszy wzrost stężenia WK spowodował zwiększenie wartości ΔE (do około 17,1 dla K8) (tab. 5). Próbkę z większym stężeniem

wosku różniły się wyraźnie od oleożelu K3. Podobnie w badaniach Onacik-Gür i wsp. [2017] oleożel na bazie wysokooleinowego oleju słonecznikowego z 3% stężeniem wosku kandelila i olej palmowy znacznie różniły się pod względem parametrów barwy (ΔE około 38,1).



Rys. 7. Zdjęcia próbek lipidów

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3, 4, 5, 6, 7 lub 8% udziałem wosku kandelila.

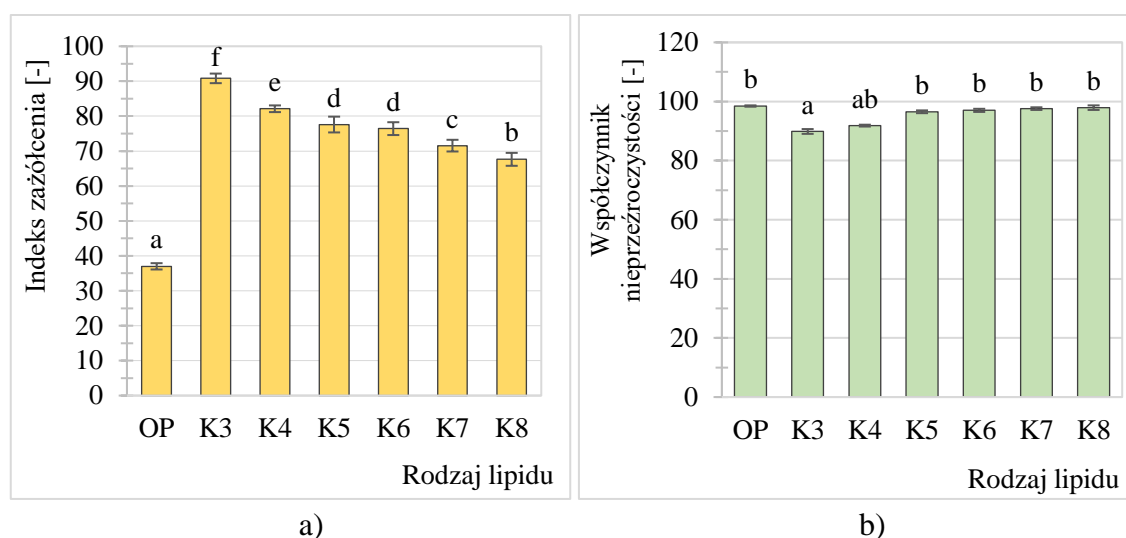
Tabela 5. Średnie wartości parametrów barwy lipidów

| Rodzaj lipidu | Parametr L^* [-] | Parametr a^* [-] | Parametr b^* [-] | Parametr ΔE_{OP} [-] | Parametr ΔE_{K3} [-] |
|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|
| OP | 83,07 ^g ± 0,46 | -2,62 ^a ± 0,09 | 21,52 ^a ± 0,46 | - | - |
| K3 | 50,83 ^a ± 0,24 | -1,74 ^b ± 0,13 | 32,31 ^b ± 0,50 | 34,1 ± 0,26 | - |
| K4 | 54,87 ^b ± 0,31 | -1,89 ^b ± 0,06 | 31,54 ^b ± 0,46 | 30,0 ± 0,22 | 4,3 ± 0,27 |
| K5 | 58,65 ^c ± 0,47 | -1,95 ^b ± 0,08 | 31,85 ^b ± 0,68 | 26,7 ± 0,70 | 8,1 ± 0,47 |
| K6 | 61,45 ^d ± 0,49 | -1,92 ^b ± 0,07 | 32,87 ^b ± 0,53 | 24,6 ± 0,68 | 10,9 ± 0,43 |
| K7 | 64,44 ^e ± 0,55 | -1,88 ^b ± 0,10 | 32,27 ^b ± 0,61 | 21,7 ± 0,68 | 13,8 ± 0,43 |
| K8 | 67,66 ^f ± 0,59 | -1,76 ^b ± 0,12 | 32,03 ^b ± 0,62 | 18,9 ± 0,93 | 17,1 ± 1,37 |

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; ΔE_{OP} – współczynnik całkowitej różnicy barwy oleożeli, w porównaniu do OP; ΔE_{K3} – współczynnik całkowitej różnicy barwy oleożeli, w porównaniu do K3; a-g – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Na podstawie wartości parametrów L^* , a^* i b^* wyznaczono indeksy zażółcenia oraz współczynniki nieprzeźroczystości oleju palmowego i oleożeli (rys. 8). Wykazano, że OP charakteryzował się około 2,5-krotnie niższą wartością indeksu zażółcenia, w porównaniu do oleożelu z najmniejszym stężeniem wosku kandelila – K3 (około 90,8). Wartość tego parametru zmniejszała się wraz ze zwiększaniem stężenia wosku w oleożelach – K8 (około 67,6) – rys. 8a. Zdaniem Mor i wsp. [2018] wysokie wartości indeksu zażółcenia są charakterystyczne dla tłuszczu z mleka krowiego (średnio 71,1-88,0).

Ponadto wyłącznie oleożel z 3% udziałem WK wykazywał mniejszą nieprzeźroczystość od OP i oleożeli z 5-8% stężeniem tej substancji strukturyzującej (rys. 8b). Taką zależność zauważyli również Martins i wsp. [2019], którzy strukturyzowali olej słonecznikowy wysokooleinowy za pomocą mieszanki fitosteroli i γ -oryzanolu (1:1). Zwiększenie udziału substancji strukturyzującej z 6% do 8% spowodowało znaczące statystycznie zwiększenie wartości współczynnika nieprzeźroczystości oleożeli (rys. 8b).



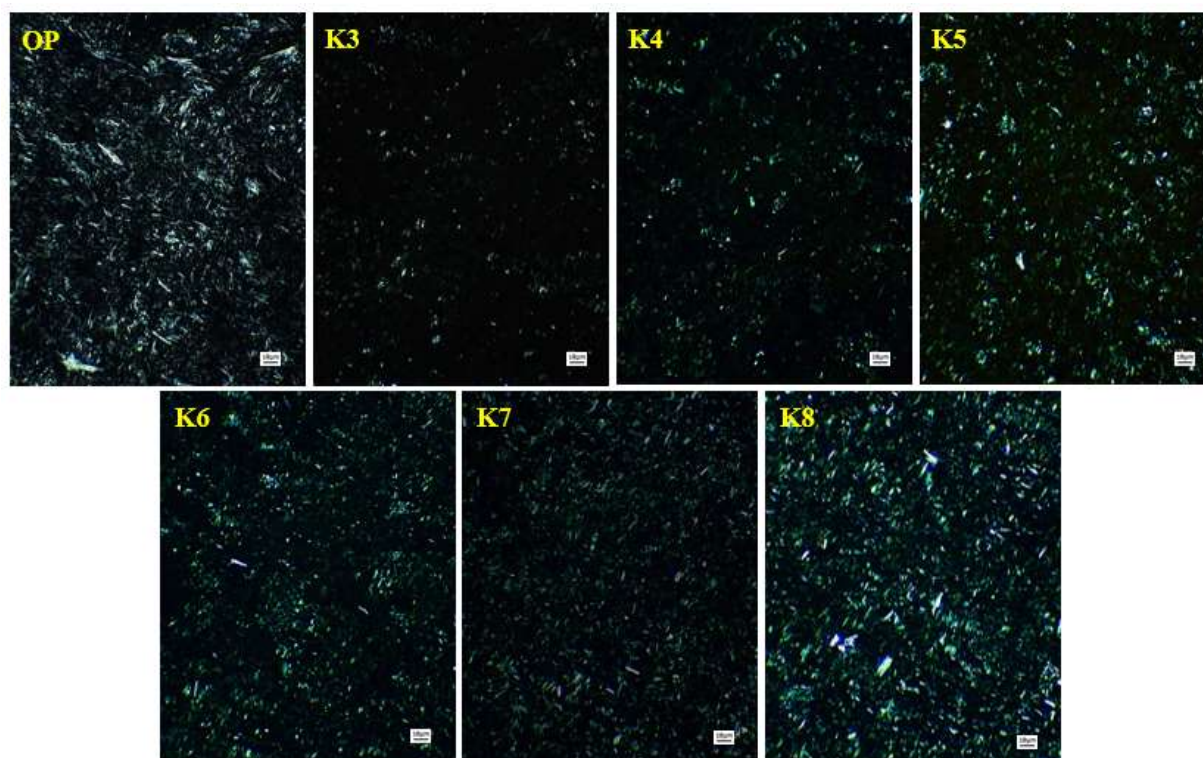
Rys. 8. Średnie wartości indeksu zażółcenia (a) oraz współczynnika nieprzeźroczystości (b) lipidów.

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-f – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

4.1.3. Ocena mikroskopowa kryształów lipidowych w świetle spolaryzowanym

Kryształy lipidowe w OP i oleożelach przyjęły kształt płytek lub włókien/igieł (rys. 9). Zdaniem Toro-Vazquez i wsp. [2007] oraz Doan i wsp. [2015] stanowią one podstawowe jednostki strukturalne trójwymiarowej sieci krystalicznej, odpowiedzialnej za stałą lub półstałą konsystencję w skali makroskopowej. Średnia długość kryształów w OP (około 14,27 μm) była znacznie większa niż w oleożelach (8,84-9,98 μm). Mimo iż średnie minimalne długości kryształów były podobne, to w OP średnia maksymalna długość kryształów była o około 10 μm większa, w porównaniu do oleożeli (15,33-15,99 μm). Zgodnie z Sato i wsp. [2013] powolne, statyczne chłodzenie oleju palmowego sprzyja powstawaniu dużych kryształów tłuszczowych. W przypadku badanych oleożeli (K3-K8) zwiększenie stężenia WK nie miało istotnego wpływu na średnią długość kryształów (tab. 6). Natomiast zaobserwowano zwiększenie liczebności

i zagęszczenia kryształów w układzie. Dlatego też struktura oleożelu z 3% stężeniem wosku w najmniejszym stopniu przypominała typową strukturę krystaliczną (rys. 9).



Rys. 9. Obrazy mikroskopowe lipidów w świetle spolaryzowanym (pow. 600-krotne)
 Objasnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila;
 Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Tabela 6. Średnia, maksymalna i minimalna długość kryształów badanych lipidów

| Rodzaj lipidu | Średnia długość kryształów [μm] | Maksymalna długość kryształów [μm] | Minimalna długość kryształów [μm] |
|---------------|--|---|--|
| OP | 14,27 ^b \pm 2,88 | 25,49 ^b \pm 1,26 | 4,94 ^a \pm 0,27 |
| K3 | 8,84 ^a \pm 1,53 | 15,33 ^a \pm 1,61 | 4,06 ^a \pm 0,66 |
| K4 | 8,87 ^a \pm 1,19 | 15,57 ^a \pm 1,29 | 4,25 ^a \pm 1,39 |
| K5 | 9,26 ^a \pm 1,15 | 15,86 ^a \pm 1,68 | 5,33 ^a \pm 1,14 |
| K6 | 9,43 ^a \pm 1,09 | 15,77 ^a \pm 1,61 | 4,64 ^a \pm 0,54 |
| K7 | 9,75 ^a \pm 1,18 | 15,68 ^a \pm 1,26 | 4,56 ^a \pm 1,33 |
| K8 | 9,98 ^a \pm 1,24 | 15,99 ^a \pm 1,17 | 5,38 ^a \pm 0,69 |

Objasnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-b – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie $p < 0,05$; Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

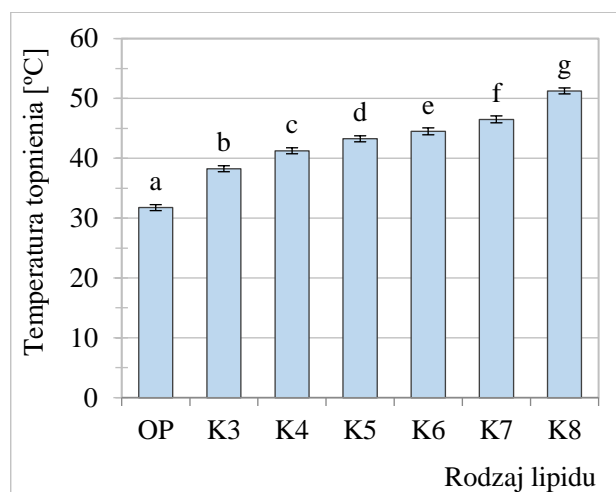
Większa zawartość wosku w oleożelu mogła przyczynić się do powstania silniejszej struktury przestrzennej. Toro-Vazquez i wsp. [2007] wykazali, że osiągnięciu wysokiego poziomu organizacji molekularnej cząsteczek estrów woskowych i *n*-alkanów w układzie sprzyja powolne chłodzenie mieszaniny. Zbyt duża szybkość tego procesu może

powodować pękanie łańcuchów cząsteczek substancji strukturyzującej, a w efekcie prowadzić do otrzymania oleożelu o mniejszej sprężystości.

Według Chopin-Doroteo i wsp. [2011] występują podobieństwa strukturalne pomiędzy kwasem palmitynowym i głównym *n*-alkanem w wosku kandelila – hentriakontanem (C31). Zdaniem Onacik-Gür i wsp. [2017] strukturyzowanie oleju roślinnego za pomocą WK umożliwia otrzymanie lipidu o mikrostrukturze krystalicznej przypominającej mikrostrukturę oleju palmowego.

4.1.4. Analiza cech teksturalnych i właściwości reologicznych lipidów

Wszystkie oleożele wykazały wyższą temperaturę topnienia od OP (około 31,8°C). Wraz ze zwiększaniem stężenia WK następowało istotne statystycznie zwiększenie temperatury topnienia lipidów strukturyzowanych, przekraczającej 50°C w przypadku oleożelu z największym udziałem tej substancji (8%) (rys. 10, tab. A1 w aneksie). Wosk kandelila charakteryzuje temperatura topnienia powyżej 70°C, dlatego nawet jego najmniejszy udział (3%) w bazie olejowej skutkuje uzyskaniem lipidu o charakterystyce topnienia zbliżonej do częściowo uwodornionego oleju rzepakowego (około 38,5°C) [Żbikowska i wsp. 2012].



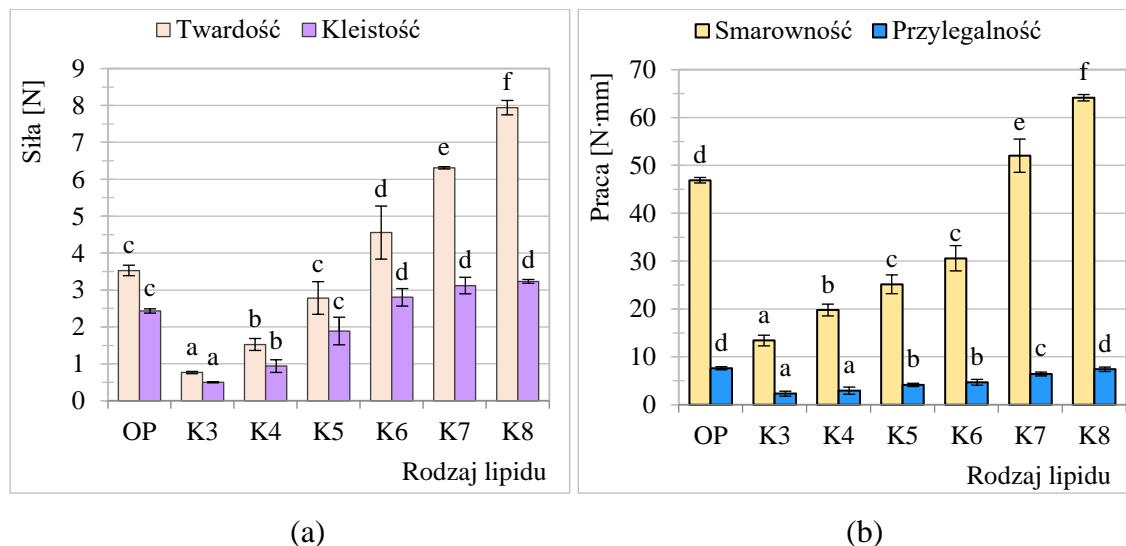
Rys. 10. Średnie wartości temperatury topnienia lipidów

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-g – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Rodriguez-Velazquez [2022] podkreślił istotę temperatury topnienia lipidów stosowanych w produkcji żywności. Z jednej strony zbyt wysoka wartość tego parametru może powodować nieprzyjemne odczucia smakowe, zaś z drugiej strony zbyt niska temperatura topnienia może utrudniać ich przetwarzanie, szczególnie w zetknięciu

z wysoką temperaturą otoczenia. Autor uznał, że temperatura topnienia w zakresie 40-45°C zapewnia kompromis pomiędzy smakowitością i łatwością przetwarzania lipidów.

Zwiększenie zawartości WK przyczyniło się również do zwiększenia wartości siły penetracji, interpretowanej jako twardość lipidów. Nastąpił także zwiększenie wartości siły adhezji, informującej o kleistości próbek [Jakubczyk i wsp. 2014], lecz nie była to zależność wprost proporcjonalna. Oleożele K6, K7 i K8 nie różniły się istotnie statystycznie pod względem średniej wartości siły adhezji. Stwierdzono jednak podobieństwo twardości i kleistości OP oraz oleożelu z 5% stężeniem WK (rys. 11a, tab. A1 w aneksie). Ponadto OP charakteryzował się niższą wartością pracy ścinania (około 46,90 N·mm), świadczącej o smarowności układu [Jakubczyk i wsp. 2014], wyłącznie od oleożeli z 7% lub 8% udziałem wosku. Im większa praca ścinania, tym mniejsza podatność układu na rozsmarowywanie. W związku z tym, pozostałe oleożele (K3-K6) wykazywały lepszą smarowność. Z kolei praca adhezji, świadcząca o przylegalności próbki do powierzchni materiału [Jakubczyk i wsp. 2014], przyjmowała znacznie niższe wartości (< 8 N·mm), przy czym najwyższe odnotowano w przypadku OP i K8 (rys. 11b, tab. A1 w aneksie).

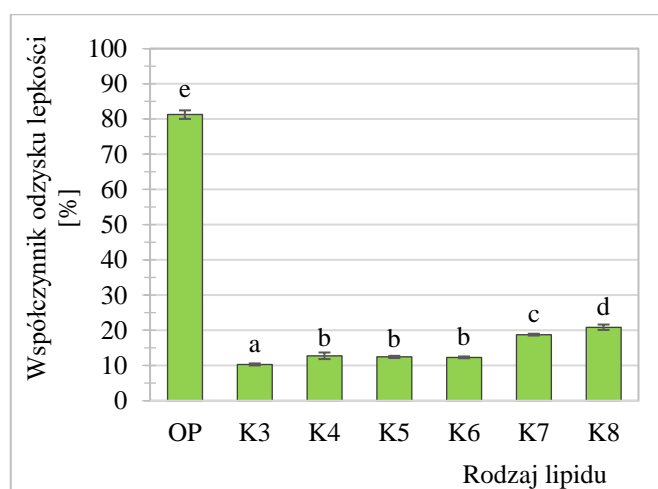


Rys. 11. Średnie wartości parametrów tekstury lipidów: twardości i kleistości (a) wyznaczonych w teście penetracji oraz smarowności i przylegalności (b) wyznaczonych w teście smarowności

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-f – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru ($p < 0,05$).

Należy zwrócić uwagę, że pomiar siły penetracji (twardości) i pomiar pracy ścinania (smarowności) przeprowadzany jest na próbkach oleożeli o nienaruszonej strukturze, po czym natychmiastowo następuje odpowiednio pomiar siły adhezji (kleistości) i pomiar pracy adhezji (przylegalności) struktury uprzednio naruszonej. Zgodnie z Alvarez-Mitre i wsp. [2012] oleożele otrzymane z udziałem wosku kandelila są wrażliwe na działanie czynników mechanicznych. W tak krótkim czasie naruszona struktura oleożelu nie jest w stanie się odbudować.

Innym bardzo ważnym aspektem w badaniach właściwości reologicznych lipidów jest wpływ sił ścinających na ich zachowanie tiksotropowe. Według Yılmaz i Öğütçü [2014] tiksotropia jest jedną z najistotniejszych właściwości reologicznych przydatnych w określeniu możliwości zastosowania oleożeli w przemyśle spożywczym. Parametrem, który określa stopień odbudowy struktury lipidów po ustaniu ścinania (przez określony czas, w stałej temperaturze) jest współczynnik odzysku lepkości [Doan i wsp. 2015]. Oleożele charakteryzowały się znacząco niższą wartością tego współczynnika (w temperaturze 20°C), w porównaniu do oleju palmowego (81,26%), który wykazuje wysoki poziom tzw. regeneracji tiksotropowej. Różnica ta zmniejszała się w miarę zwiększania stężenia WK w oleożelach, bowiem była niemalże 8-krotna w przypadku K3, zaś około 4-krotna w przypadku K8. Podobny pod względem statystycznym poziom odzysku lepkości (12,33-12,77%) wykazywały oleożele z 4%, 5% lub 6 % udziałem wosku (rys. 12, tab. A2 w aneksie). W badaniach Doan i wsp. [2015] oleożel na bazie oleju z otrębów ryżowych z 5% m/m udziałem wosku kandelila cechował się około 21,8% odzyskiem lepkości po ścinaniu w temperaturze 5°C.



Rys. 12. Średnie wartości współczynnika odzysku lepkości lipidów

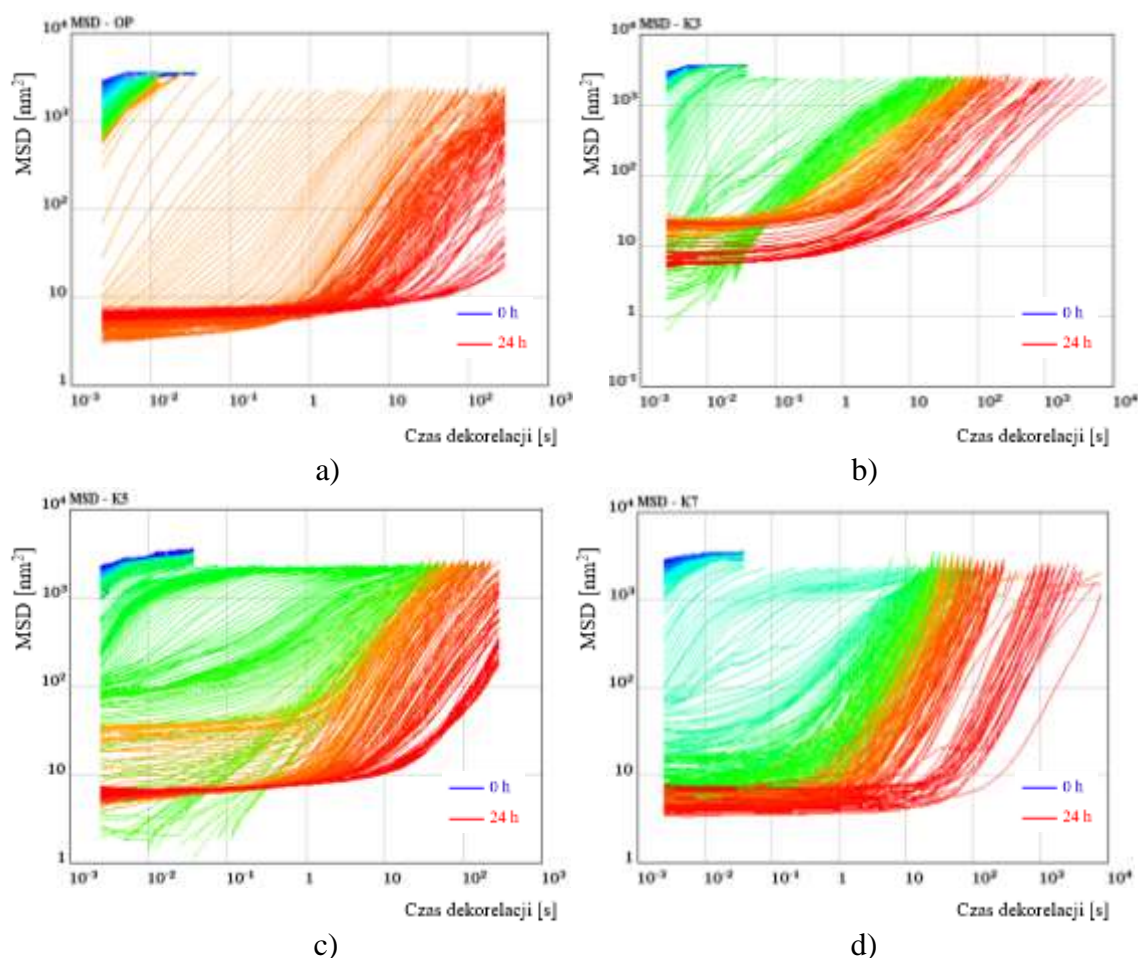
Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-e – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

4.1.5. Ocena właściwości mikroreologicznych lipidów

Przebieg krzywych średniego kwadratu przesunięcia (*MSD*) w czasie dekorelacji obrazuje zmiany właściwości mikroreologicznych układów lipidowych podczas ich zestalania, w kontrolowanej temperaturze (od 90°C do 20°C). Na rys. 13 przedstawiono przykładowe wykresy uzyskane w pracy. Zmiany wartości *MSD* w czasie dekorelacji (jedna krzywa), wyznaczane przy użyciu analizatora Rheolaser Master, są proporcjonalne do własności lepko-sprężystych wyznaczanych za pomocą reometru oscylacyjnego przy wielu częstotliwościach [Larsen i Furst 2008]. Krzywe *MSD* w lewej, górnej części wykresu (niebieskie) otrzymano w czasie działania wysokiej temperatury (rys. 13). Prostoliniowy przebieg krzywych *MSD* świadczy o tym, że próbki były płynne, wykazujące zachowanie newtonowskie. Wraz z upływem czasu i spadkiem temperatury następowało obniżenie położenia i nachylenia krzywej *MSD*. Nieprostoliniowy przebieg krzywych wystąpił w momencie przejścia z płynu w żół, uzyskując po pewnym czasie, w wyniku przejścia z żółu w żel, charakterystyczny dla ciał lepko-sprężystych „płaskowyz” w środkowym czasie dekorelacji (krzywe czerwone). Zaobserwowano stosunkowo równomierne zmniejszenie *MSD* podczas krystalizacji OP (rys. 13a). W przypadku oleożeli zanotowano „cofnięcie” krzywej *MSD*, szczególnie wyraźne np. na rys. 13b, co może świadczyć o ich dwuetapowym zestalaniu. Podobnych obserwacji dokonali Palla i wsp. [2017] podczas chłodzenia oleożeli, w których zastosowali mieszaninę acylogliceroli do strukturyzowania wysokooleinowego oleju słonecznikowego. Stwierdzili oni, że przebieg krzywych jest charakterystyczny dla substancji strukturyzującej o złożonym składzie chemicznym. W wosku kandelila dominują dwa różne czynniki strukturyzujące, tj. estry woskowe (27-25%) i *n*-alkany (50-65%) [Blake i wsp. 2014, Tinto i wsp. 2017].

Przeprowadzenie analizy właściwości mikroreologicznych lipidów w funkcji temperatury (od 90°C do 20°C) i czasu (przez 24 h) umożliwiło uzyskanie pełnych profili składających się z kolejnych krzywych *MSD*, a co za tym idzie – informacji o przejściu fazowym z układu płynnego, przez półpłynny, do stałego. Wyznaczono temperaturę i czas krystalizacji lipidów – tzw. punkt krystalizacji (rys. 14, tab. A2 w aneksie). OP uległ krystalizacji w najniższej temperaturze (około 29,4°C) i w najdłuższym czasie (około 500 min) spośród wszystkich badanych lipidów. Każdorazowe zwiększenie udziału WK w oleożelu powodowało istotne statystycznie zwiększenie temperatury krystalizacji i skrócenie czasu trwania tego procesu. Czas krystalizacji oleożelu z 8%

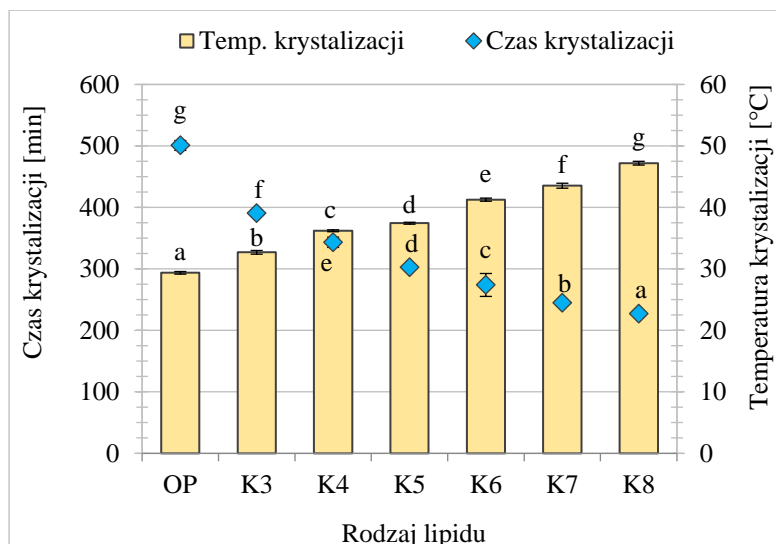
stężeniem wosku był o około 41% krótszy, zaś temperatura krystalizacji o około 14,5°C wyższa, w porównaniu do oleożelu z 3% udziałem tej substancji.



Rys. 13. Przebieg krzywych MSD (średniego kwadratu przesunięcia) wybranych lipidów – a) OP, b) K3, c) K5, d) K7 w funkcji czasu (od 0 h do 24 h) i temperatury (od 90°C do 20°C)

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Wykazano silną ujemną korelację pomiędzy temperaturą a czasem krystalizacji badanych próbek ($\rho = -0,97$, $R^2 = 0,94$, $p \ll 0,05$) – rys. A1 w aneksie. Wijarnprecha i wsp. [2018] również wykazali, że większy udział wosku w układzie powoduje znaczący wzrost temperatury i skrócenie czasu krystalizacji oleożeli na bazie oleju z otrębów ryżowych. Oleożel z 3% udziałem wosku z otrębów ryżowych krystalizował w temperaturze 56°C, a z 10% stężeniem wosku już w 70°C.



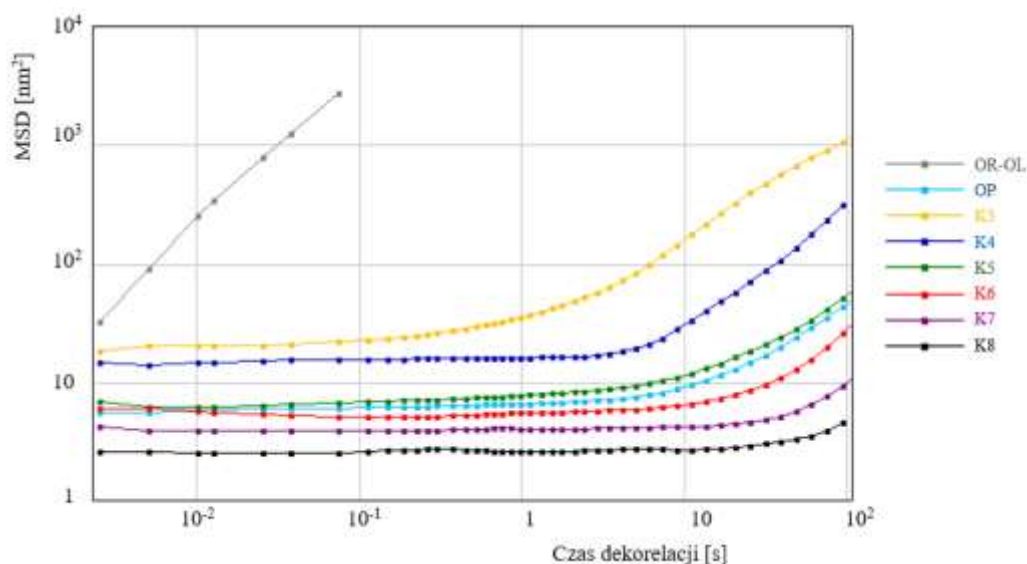
Rys. 14. Średnie wartości temperatury (a) i czasu (b) krystalizacji lipidów

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3- 8% udziałem wosku kandelila; a-g – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Przedstawione na rys. 15 krzywe *MSD* zestalonych lipidów (oleożeli i OP) oraz płynnej mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) – OR-OL – wyraźnie pokazują stopień zmian właściwości mikroreologicznych mieszaniny OR-OL, sformułowanej za pomocą 3-8% m/m WK, po 24 h studzenia statycznego z 90°C do 20°C. Na podstawie krzywych *MSD* zestalonych lipidów wyznaczono następujące parametry mikroreologiczne: indeks sprężystości – *EI* (odwrotność wartości *MSD* w środkowym czasie dekorelacji, tj. w zakresie od 10 1/s do 10 s), współczynnik równowagi ciec-ciało stałe – *SLB* (wartość *MSD* w środkowym czasie dekorelacji), indeks lepkości makroskopowej – *MVI* (odwrotność wartości *MSD* w długim czasie dekorelacji, tj. powyżej 10 s).

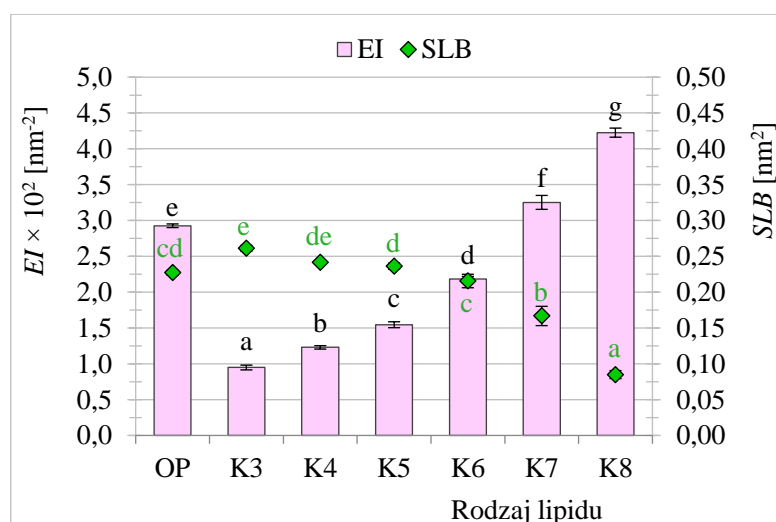
Im większe stężenie wosku zastosowano, tym niższa była średnia wartość *MSD* oleożeli, w stanie równowagi lepko-sprężystej, co rzutowało na zwiększenie wartości *EI* i zmniejszenie wartości *SLB* (rys. 16, tab. A2 w aneksie). Zarówno OP, jak i oleożele charakteryzowały się wartością *SLB* < 0,5, co oznacza, że dominowało zachowanie reologiczne ciała stałego. Z kolei w badaniach Doan i wsp. [2018] takim wskaźnikiem był stosunek wartości modułu utraty lepkości (G'') do wartości modułu sprężystości (G'). Niska wartość tego parametru pozwoliła stwierdzić, że oleożele na bazie oleju z otrębów ryżowych, z 1-5% m/m udziałem wosku słonecznikowego lub wosku jagodowego, wykazywały charakter ciał stałych. Zgodnie z Malkin i Isayev [2017] właściwości próbek lepko-sprężystych ułatwiają klasyfikację na silne żele, słabe żele i lepkie zole. Uznano,

że „silne żele” powinny charakteryzować się $G''/G' < 0,1$. Takie kryterium spełnia wyłącznie oleożel z 8% stężeniem wosku kandelila, dla którego wartość SLB wyniosła około $0,08 \text{ nm}^2$ (rys. 16). Ten sam lipid charakteryzował się najwyższą wartością MVI ($37,24 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-2}$) – rys. 17. Oleożele K3, K4 i K5 nie różniły się pod względem średniej wartości tego parametru mikroreologicznego. Z kolei oprócz K8, lipid K7 wykazywał się wyższą wartością MVI od OP (około $11,45 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-2}$).



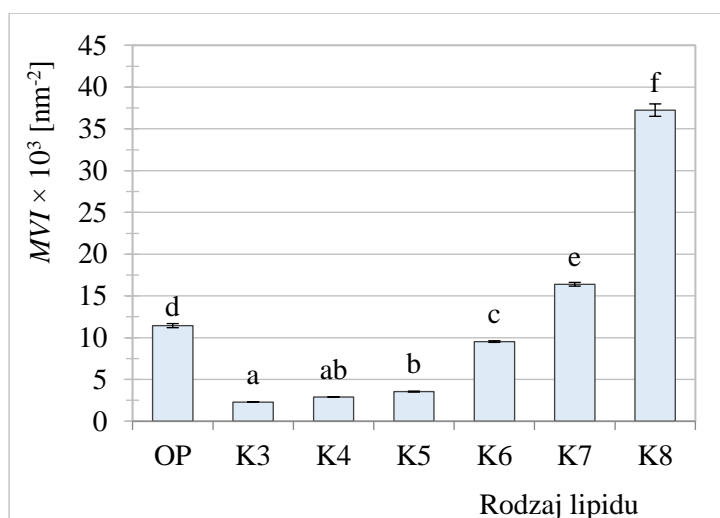
Rys. 15. Krzywe MSD lipidów po 24 h (20°C)

Objaśnienia: OR-OL – mieszanina olejów rafinowanych rzepakowego i lnianego w stosunku 1:1, OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem WK; Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].



Rys. 16. Średnie wartości indeksu sprężystości (EI) oraz współczynnika równowagi ciecz-ciało stałe (SLB) zestalonych lipidów

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-g – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].



Rys. 17. Średnie wartości indeksu lepkości makroskopowej (*MVI*) zestalonych lipidów
 Objasnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-f – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$); Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

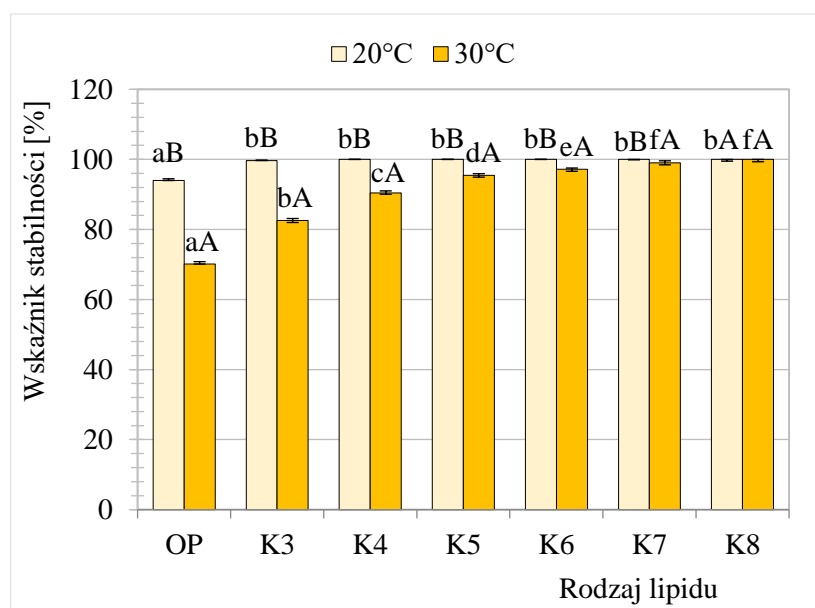
Stwierdzono silne ujemne korelacje pomiędzy parametrami *MVI* a *SLB* ($\rho = -0,98$, $R^2 = 0,96$, $p \ll 0,05$) – rys. A2 w aneksie, a także silną dodatnią korelację pomiędzy *EI* a *MVI* ($\rho = 0,93$, $R^2 = 0,86$, $p \ll 0,05$) lipidów – rys. A3 w aneksie. Ponadto zaobserwowano, że oleożele o wyższej temperaturze topnienia (rys. 10, tab. A1 w aneksie) charakteryzowały się większą sprężystością (rys. 16, tab. A2 w aneksie). Podobne spostrzeżenia mieli Holey i wsp. [2021]. Z kolei Barroso i wsp. [2020] zauważyli, że oleożele, które wykazywały mniejszą zdolność wiązania oleju, cechowały się niższymi wartościami parametrów reologicznych (G' , G''), co wynikało z mniejszej stabilności strukturalnej.

4.1.6. Analiza stabilności fizycznej lipidów

Najczęściej pojawiającą się w literaturze przedmiotu metodą określania stabilności fizycznej oleożeli jest tradycyjna metoda wirówkowa, w ramach której oceniany jest jedynie efekt końcowy pomiaru, tj. stosunek masy oleożelu po wirowaniu (po usunięciu wycieku) i masy oleożelu przed wirowaniem [Öğütçü and Yılmaz 2014, Mohanan i wsp. 2020, Yang i wsp. 2020, Barroso i wsp. 2020]. Ponadto porównując uzyskane wyniki stabilności do tłuszczu konwencjonalnego, w literaturze zazwyczaj nie uwzględniano migracji frakcji ciekłej w samym lipidzie, lecz zakładano, że brak wycieku świadczy o 100% stabilności próbek. Takie pomiary były bowiem ukierunkowane na określenie zdolności wiązania oleju w oleożelu [Co i Marangoni 2012, Öğütçü i Yılmaz 2015, Onacik-Gür i wsp. 2017]. Dlatego zarówno oleożele, jak i OP zbadano w tradycyjnym teście wirówkowym. Istotnej destabilizacji podczas wirowania lipidów w temperaturze

20°C uległ OP. Olej został uwolniony w niewielkiej ilości (wskaźnik stabilności około 99,7%) wyłącznie z oleożelu z 3% stężeniem WK (rys. 18, tab. A3 w aneksie). Podobny wynik uzyskali Öğütçü i Yılmaz [2014] dla oleożelu na bazie oliwy virgin z 10% udziałem monoacylogliceroli (MAG). Wówczas 3% stężenie MAG skutkowało stabilnością na poziomie około 62,3%. Z kolei Onacik-Gür i wsp. [2017] badały stabilność oleożeli na bazie wysokooleinowego oleju słonecznikowego otrzymanych z udziałem różnych substancji strukturyzujących w ilości 3%. Wykazały, że oleożele z WK i oleożel z MAG charakteryzowały się stabilnością na poziomie odpowiednio 100% i 69% w temperaturze 20°C.

Zwiększenie temperatury od 20°C do 30°C spowodowało wyciek oleju również z pozostałych oleożeli (K4-K7), z wyjątkiem K8, który wykazywał 100% stabilność (rys. 18). Wartość wskaźnika stabilności OP zmniejszyła się z około 94% do około 70%. Wraz ze wzrostem stężenia WK wzrosła oporność oleożeli na działanie siły odśrodkowej w temperaturze 30°C (rys. 18, tab. A3 w aneksie). Wykazano silną korelację dodatnią pomiędzy średnimi wartościami wskaźników stabilności lipidów w temperaturze 30°C a temperatur ich topnienia ($\rho = 0,96$; $R^2 \geq 0,91$, $p \ll 0,05$) – rys. A4 w aneksie.



Rys. 18. Średnie wartości wskaźnika stabilności lipidów w temperaturze 20°C (a) lub 30°C (b), wyznaczonego tradycyjną metodą wirówkową

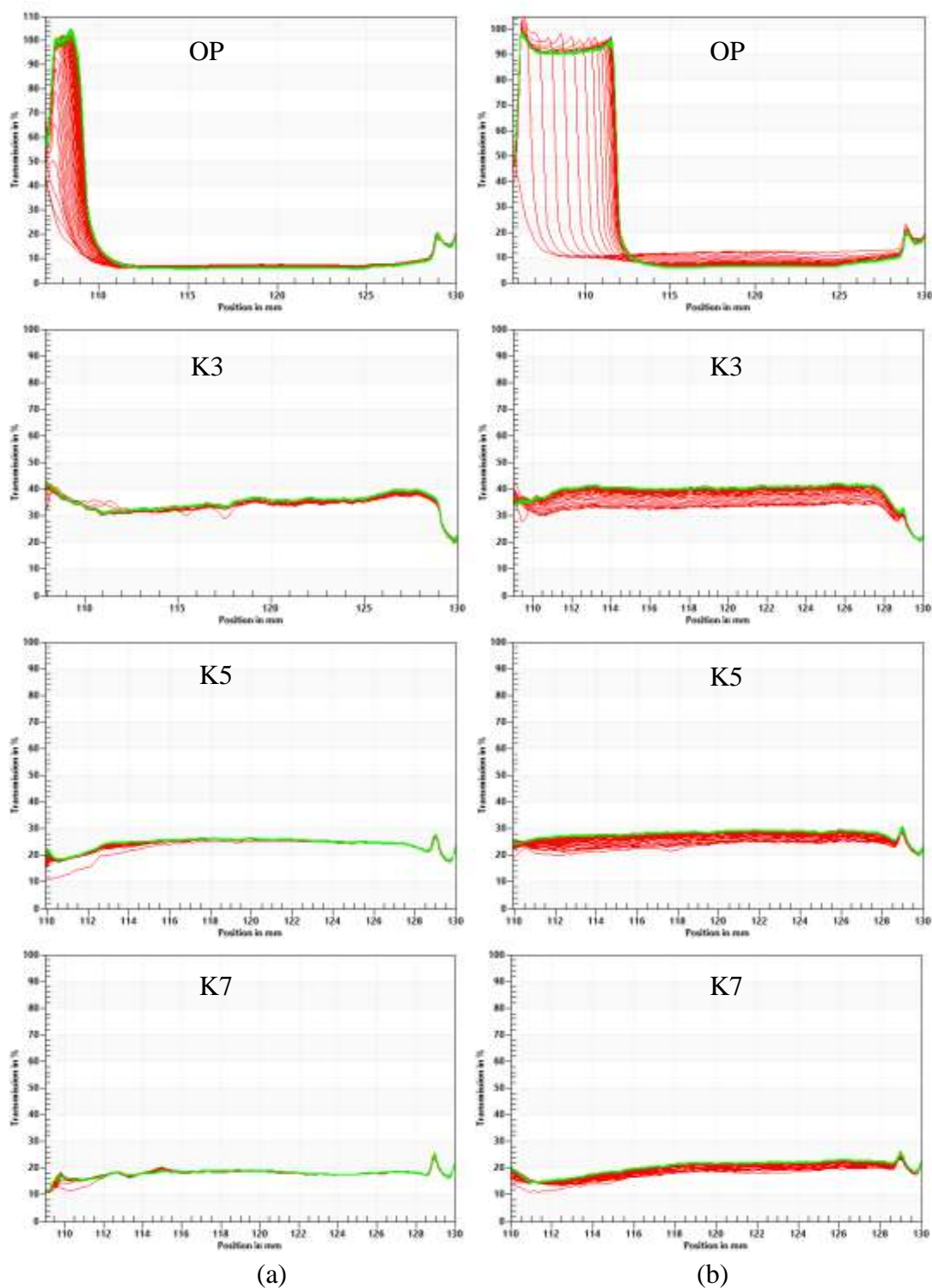
Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-f – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj lipidu), $p < 0,05$; A-B – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: temperatura), $p < 0,05$.

Stabilność fizyczną lipidów zbadano również metodą, która opiera się na pomiarze intensywności światła przechodzącego przez próbkę poddaną wirowaniu. Określana jest jako metoda przyspieszonej analizy stabilności wirówkowej. Wykorzystuje tzw. technologię STEP (z ang. Space- and Time-resolved Extinction Profiles) pozwalającą na cykliczny pomiar transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbki (analyzer LUMiSizer). Umożliwia wczesne wykrycie i śledzenie zmian zachodzących w strukturze badanego materiału, w tym lipidów jadalnych [Onacik-Gür i wsp. 2017, Szymańska i wsp. 2020a].

Na podstawie przebiegu krzywych transmisji światła w funkcji czasu (rys. 19) stwierdzono, że w OP następowała migracja cząstek frakcji ciekłej i ich łączenie w klarowną warstwę na powierzchni (widoczną jako wysoki pik z lewej strony wykresu). Zmiany poziomu transmisji światła przez próbki oleżeli w temperaturze 20°C były niewielkie, dlatego nie zaobserwowano wyraźnych zmian kształtu profili. Większa średnia intensywność transmisji światła przez próbki oleżeli (w 20°C) mogła być związana z niższymi wartościami współczynników nieprzeźroczystości tych lipidów (rys. 8b). Poziom transmisji światła przez próbkę K3 przed destabilizacją sięgał około 37%, zaś w przypadku K7 i OP – odpowiednio około 20% i 8% (rys. 19a).

W wyniku zadania wyższej temperatury podczas analizy (30°C), nastąpiło przyspieszenie procesu destabilizacji lipidów (rys. 19b). Zaobserwowano ogólne zwiększenie transmisji światła (przesunięcie krzywych w górną część wykresu), co może być związane ze stopieniem się części kryształów lipidowych. Jednakże brak klarownej warstwy na powierzchni oleżeli sugeruje, że nie utraciły one zdolności do utrzymywania oleju w swojej strukturze. Przebieg profili transmisji był tym mniej intensywny, im większa zawartość wosku w układzie. W przypadku OP odnotowano znacznie większą ilość wydzielonej frakcji ciekłej w temperaturze 30°C (ponad dwukrotnie szerszy pik na wykresie), w porównaniu do próbki wirowanej w temperaturze 20°C (rys. 19b).

Wskaźnikami stopnia oporności lipidów na działanie siły odśrodkowej mogą być również indeksy niestabilności, wyznaczone na podstawie profili transmisji światła przez wirowane próbki [Onacik-Gur i wsp. 2017, Szymańska i wsp. 2020a, Szymańska i wsp. 2022]. Wartość tego parametru dla wszystkich badanych lipidów wzrosła wraz ze zwiększeniem temperatury analizy z 20°C do 30°C (rys. 20, tab. A3 w aneksie).

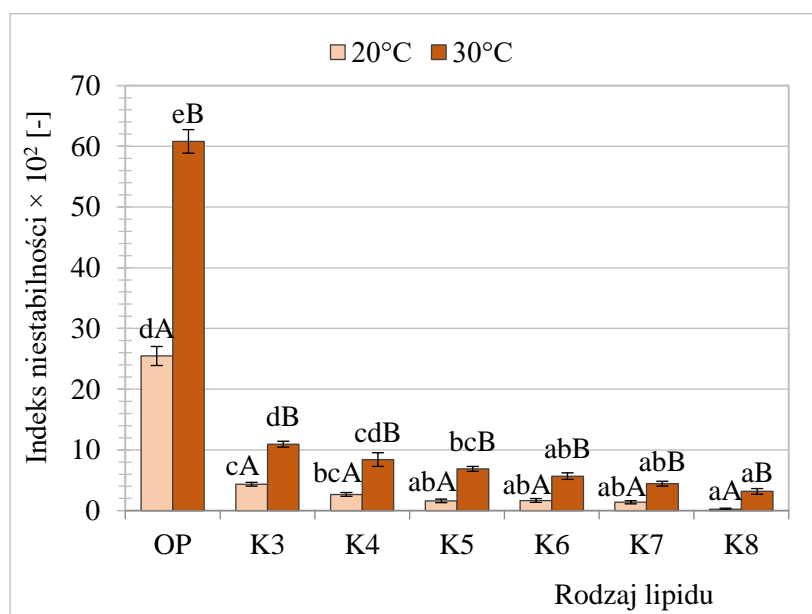


Rys. 19. Profile transmisji światła przez próbki wybranych lipidów w funkcji czasu wirowania w temperaturze 20°C (a) lub 30°C (b)

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Stężenie wosku w oleożelu miało wpływ na jego stabilność fizyczną. Jego udział na poziomie 3% lub 4% skutkowało istotnie wyższymi wartościami indeksu niestabilności ($p < 0,05$), w porównaniu do pozostałych oleożeli. Pomimo tego K3 i K4 były średnio

ponad 7-krotnie bardziej stabilne od oleju palmowego w temperaturze 20°C (wartość indeksu niestabilności – $25,5 \times 10^{-2}$). W temperaturze 30°C nastąpiło około 2,5-krotne zwiększenie wartości indeksu niestabilności OP. Zaobserwowano, że zróżnicowanie w stabilności pomiędzy oleożelami zmalało w wyższej temperaturze analizy (30°C). Przykładowo, średnia wartość indeksu niestabilności dla K8 w temperaturze 20°C była około 17-krotnie niższa od wartości dla K3, a w temperaturze 30°C już tylko około 3,5-krotnie.



Rys. 20. Średnie wartości indeksu niestabilności lipidów, wyznaczonego metodą wielokrotnego rozpraszania światła, w temperaturze 20°C lub 30°C

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; a-e – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj lipidu), $p < 0,05$; A-B – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: temperatura), $p < 0,05$; Źródło: [Szymańska i wsp. 2022].

Okuro i wsp. [2018] wykazali istotny wpływ rodzaju i stężenia substancji strukturyzującej na zdolność wiązania oleju w strukturze, wyrażaną przez współczynnik stabilności wirówkowej (w %). Według Jang i wsp. [2015] w celu uzyskania stabilnych struktur oleożelowych wymagane jest zastosowanie 3-6% stężenia wosku kandelila. W badaniach Borriello i wsp. [2021] zwiększanie stężenia wosku pszczelego (z 4% do 8%), zastosowanego do strukturyzowania oleju z pestek dyni, rzutowało na zwiększanie stabilności wirówkowej otrzymanych oleożeli (lipidów strukturyzowanych) z 61,91% do 95,85%.

W pracy przeanalizowano również stabilność fizyczną lipidów poddanych jedynie oddziaływaniu sił grawitacji. Miarą stabilności lipidów była ilość wycieku [%] w czasie 72 h. W temperaturze 20°C zaobserwowano wyciek z OP i K3 (po 24 h), natomiast pozostałe lipidy były w pełni stabilne przez 72 h (rys. 21a, tab. A3 w aneksie).

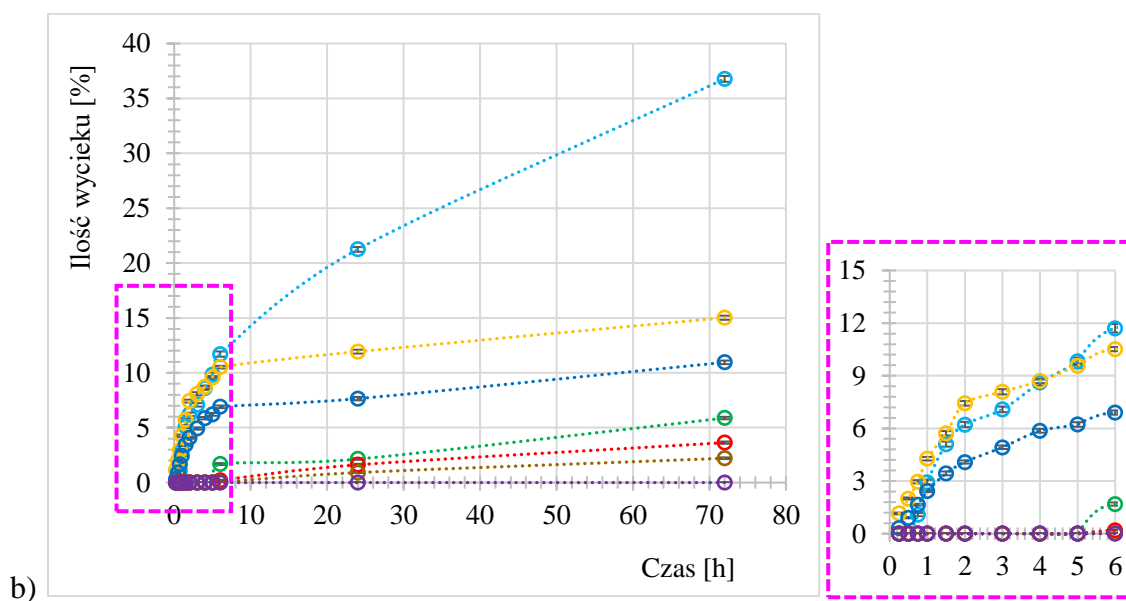
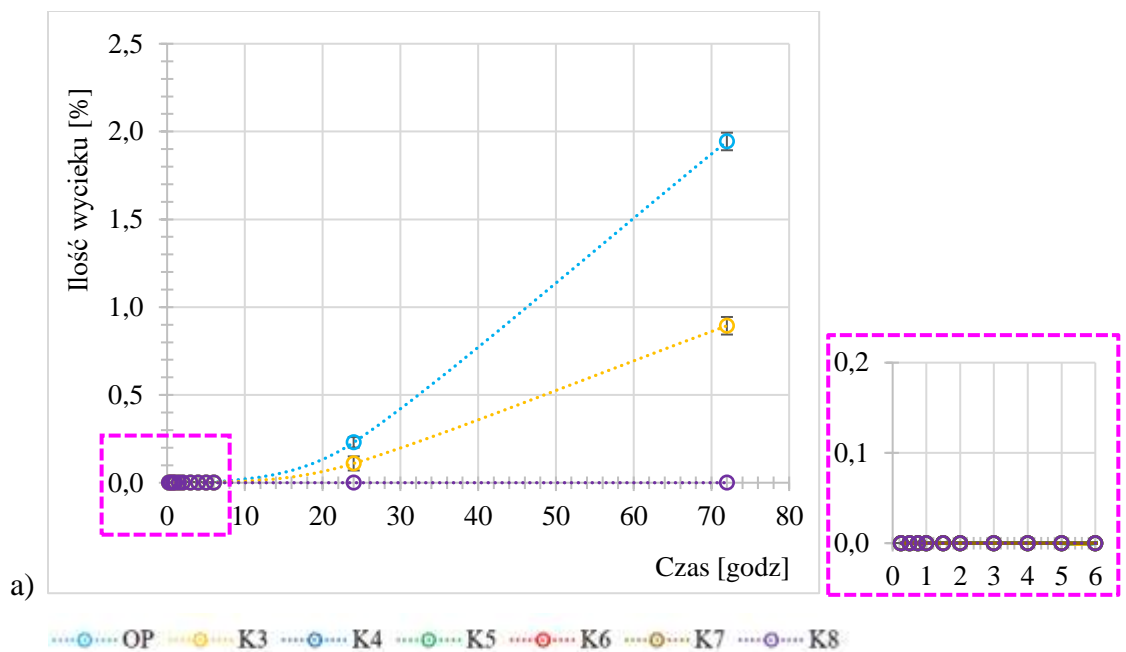
W temperaturze 30°C struktura pozostała nienaruszona wyłącznie w przypadku K8. Podobnie jak w testach wirówkowych, najmniej stabilny był olej palmowy (rys. 21b). Po 72 h w temperaturze 30°C maksymalny wyciek frakcji ciekłej OP wynosił powyżej 36%, czyli prawie 19-krotnie więcej niż w temperaturze 20°C. Z kolei ilość wycieku dla lipidu K3 wyniosła około 15%, natomiast w przypadku K5 nie przekroczyła 6% (rys. 21b). Stwierdzono, że zastosowanie WK umożliwia otrzymanie lipidów strukturyzowanych o większej stabilności fizycznej w temperaturach 20°C i 30°C, w porównaniu do OP. Z kolei Blake i wsp. [2014] wykazali, że oleożel na bazie oleju rzepakowego z 2% stężeniem WK charakteryzował się istotnie mniejszym wyciekami maksymalnymi (około 11,1%) w temperaturze 40°C przez 24 h, w porównaniu do oleożelu z 4% stężeniem wosku karnauba (około 31,4%), co również potwierdza, że WK jest wysoce skutecznym czynnikiem strukturyzującym oleje roślinne.

Stwierdzono silne dodatnie korelacje pomiędzy wartościami indeksu niestabilności a ilością wycieku zarówno w temperaturze 20°C, jak i w 30°C ($\rho \geq 0,94$; $R^2 \geq 0,88$, $p \ll 0,05$) – rys. A5 w aneksie.

Na podstawie ilości wycieku w teście grawitacyjnym obliczono wskaźniki szybkości zmian stabilności lipidów w czasie 72 h (tab. 7). Pierwsze ubytki masy z OP w temperaturze 30°C odnotowano po 0,75 h, natomiast z K3 i K4 – już po 0,25 h. Wraz ze wzrostem stężenia wosku, destabilizacja oleożeli przebiegała znacznie wolniej i z mniejszą intensywnością. Szybkość wycieku (S_w) z OP i K3 w temperaturze 30°C była odpowiednio około 17- i 21-krotnie większa niż w temperaturze 20°C. Ponadto równania linii trendu krzywych wskazują na liniowy wzrost ilości wycieku z OP i K3 w temperaturze 20°C oraz K5, K6 i K7 w temperaturze 30°C. Z kolei destabilizacja OP, K3 i K4 w temperaturze 30°C miała przebieg logarytmiczny (tab. 7).

Według Blake i wsp. [2014] oraz Blake i wsp. [2018] wiązanie oleju w strukturze oleożelowej można rozpatrywać w dwóch perspektywach. Mianowicie część oleju, który stosunkowo szybko wydostaje się z układu, to frakcja fizycznie uwięziona, lecz niezwiązana z powierzchnią sieci krystalicznej. Natomiast część oleju, który nie wydostaje się ze struktury bądź jest uwalniany w długim czasie, to frakcja związana lub zaadsorbowana na powierzchni kryształów. W związku z powyższym można stwierdzić,

że bardziej intensywny wyciek z OP, K3 i K4 w temperaturze 30°C mógł być spowodowany nie tylko uwalnianiem frakcji uwięzionej, lecz niezwiązanej, ale również zaadsorbowanej lub związanej z kryształami tworzącymi sieć krystaliczną.



Rys. 21. Średnia ilość wycieku frakcji ciekłej lipidów w temperaturze 20°C (a) lub 30°C (b) w czasie 72 h

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila;

Tabela 7. Parametry stabilności grawitacyjnej lipidów w temperaturze 20°C lub 30°C w czasie 72 h

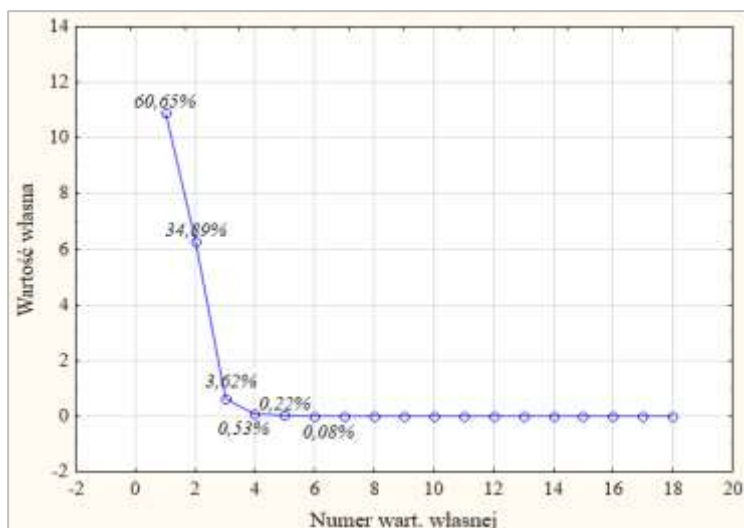
| Rodzaj lipidu | Parametry | | | | | |
|---------------|------------------|----------------|-----------|-------------|-----------------------------|-------|
| | Temperatura [°C] | W_{\max} [%] | C_w [h] | S_w [1/h] | Równanie linii trendu | R^2 |
| OP | 20 | 1,94 | 24 | 0,03 | $y = 0,0266x - 0,0847$ | 0,96 |
| | 30 | 36,78 | 0,75 | 0,51 | $y = 6,2225\ln(x) + 2,9559$ | 0,90 |
| K3 | 20 | 0,89 | 24 | 0,01 | $y = 0,0122x - 0,0387$ | 0,96 |
| | 30 | 15,02 | 0,25 | 0,21 | $y = 2,582\ln(x) + 4,6814$ | 0,97 |
| K4 | 20 | 0 | - | - | - | - |
| | 30 | 10,95 | 0,25 | 0,15 | $y = 1,9098\ln(x) + 2,6909$ | 0,97 |
| K5 | 20 | 0 | - | - | - | - |
| | 30 | 5,88 | 6 | 0,08 | $y = 0,0833x - 0,0238$ | 0,95 |
| K6 | 20 | 0 | - | - | - | - |
| | 30 | 3,64 | 6 | 0,05 | $y = 0,0532x - 0,0769$ | 0,98 |
| K7 | 20 | 0 | - | - | - | - |
| | 30 | 2,22 | 6 | 0,03 | $y = 0,0323x - 0,059$ | 0,98 |
| K8 | 20 | 0 | - | - | - | - |
| | 30 | 0 | - | - | - | - |

Objaśnienia: OP – olej palmowy, K3-8 – oleożel z 3-8% udziałem wosku kandelila; W_{\max} – wyciek maksymalny [%]; C_w – czas pojawienia się pierwszego wycieku [h]; S_w – szybkość wycieku w przeliczeniu na 1 godzinę [1/h]; Znak „-” oznacza brak wycieku (próbka w pełni stabilna);

4.1.7. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu I

W celu podsumowania etapu I, uzyskane wyniki badań poddano wielowymiarowej analizie statystycznej – składowych głównych z klasyfikacją (PCA). Analizie poddano 18 wybranych parametrów, które w największym stopniu opisywały wpływ stężenia WK na właściwości lipidów.

Analiza PCA pozwoliła na wyróżnienie dwóch czynników głównych (składowych), które wyjaśniały 60,65% (czynnik 1) i 34,89% (czynnik 2) wariancji – sumarycznie 95,54% (rys. 22). Pierwszą składową w największym stopniu opisują następujące zmienne: średnia długość kryształów, temperatura topnienia, temperatura i czas krystalizacji, współczynnik odzysku lepkości, wskaźniki stabilności wirówkowej, indeksy niestabilności i ilość wycieku w temperaturze 20°C i 30°C. Z kolei na drugą składową największy wpływ mają parametry: barwy (wskaźnik nieprzezroczystości i indeks zażółcenia), tekstury (twardość i kleistość) i mikroreologiczne (EI , MVI , SLB) (tab. 8).



Rys. 22. Wykres osypiska

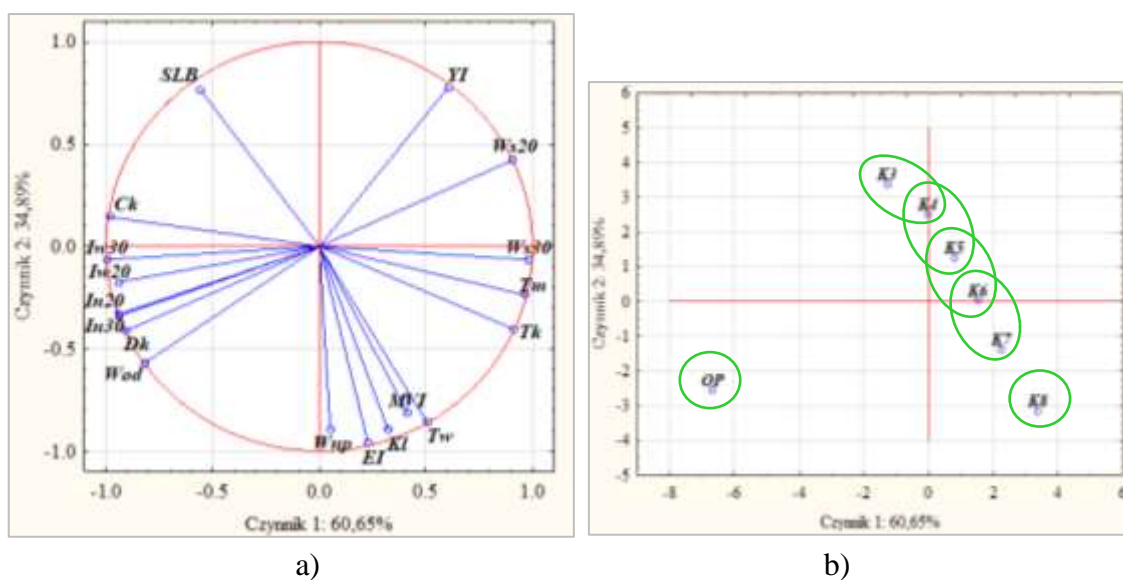
Tabela 8. Współczynniki korelacji pomiędzy czynnikami a zmiennymi

| Zmienna | Współczynnik korelacji (ρ) | |
|-------------|-----------------------------------|-----------|
| | Czynnik 1 | Czynnik 2 |
| <i>Wnp</i> | 0,05 | -0,89 |
| <i>YI</i> | 0,61 | 0,78 |
| <i>Dk</i> | -0,91 | -0,41 |
| <i>Tm</i> | 0,97 | -0,24 |
| <i>Tk</i> | 0,91 | -0,40 |
| <i>Ck</i> | -0,98 | 0,14 |
| <i>Tw</i> | 0,50 | -0,86 |
| <i>Kl</i> | 0,32 | -0,89 |
| <i>Wod</i> | -0,82 | -0,57 |
| <i>EI</i> | 0,23 | -0,96 |
| <i>MVI</i> | 0,41 | -0,81 |
| <i>SLB</i> | -0,56 | 0,77 |
| <i>Ws20</i> | 0,91 | 0,42 |
| <i>Ws30</i> | 0,98 | -0,06 |
| <i>In20</i> | -0,94 | -0,33 |
| <i>In30</i> | -0,94 | -0,34 |
| <i>Iw20</i> | -0,94 | -0,17 |
| <i>Iw30</i> | -0,99 | -0,06 |

Objaśnienia: *Wnp* – współczynnik nieprzeźroczystości [-], indeks zażółcenia [-], *Dk* – średnia długość kryształów [μm], *Tm* – temperatura topnienia [$^{\circ}\text{C}$], *Tk* – temperatura krystalizacji [$^{\circ}\text{C}$], *Ck* – czas krystalizacji [min], *Tw* – twardość [N], *Kl* – kleistość [N], *Wod* – wskaźnik odzysku lepkości [%], *EI* – indeks sprężystości [nm^2], *MVI* – indeks lepkości makroskopowej [nm^2], *SLB* – współczynnik równowagi cieciz-ciało stałe [nm^2], *Ws20* – wskaźnik stabilności wirówkowej w temp. 20 $^{\circ}\text{C}$ [%], *Ws30* – wskaźnik stabilności wirówkowej w temp. 30 $^{\circ}\text{C}$ [%], *In20* – indeks niestabilności w temp. 20 $^{\circ}\text{C}$ [-], *In30* – indeks niestabilności w temp. 30 $^{\circ}\text{C}$ [-], *Iw20* – ilość wycieku w temp. 20 $^{\circ}\text{C}$ [%], *Iw30* – ilość wycieku w temp. 30 $^{\circ}\text{C}$ [%].

W układzie dwóch składowych głównych zostały przedstawione wektory badanych własności oleożeli i OP (rys. 23a). Znacząca długość wszystkich wektorów (sięgających okręgu) wskazuje, że udział każdej zmiennej w kształtowaniu dwóch pierwszych składowych jest bardzo duży. Im mniejszy kąt pomiędzy wektorami, tym większa korelacja dodatnia pomiędzy zmiennymi, które reprezentują. Z kolei im kąt bliższy 180°, tym silniejsza korelacja ujemna.

Zaobserwowano silne korelacje dodatnie pomiędzy indeksami niestabilności i ilością wycieku (*In20/30* i *Iw20/30*) czy pomiędzy parametrami mikroreologicznymi (*EI* i *MVI*) i teksturalnymi (*Tw* i *KI*). Z kolei silne korelacje ujemne wystąpiły m.in. pomiędzy wartościami *Tm* i *Ck*, *SLB* i *Tw* czy *In20* i *Ws20*. Natomiast dla przykładu wektory *Dk* i *MVI* bądź *Wod* i *SLB* tworzą kąt prosty, co świadczy o braku korelacji pomiędzy tymi parametrami. Występujące korelacje potwierdzają wykresy rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie, współczynniki korelacji (ρ) i współczynniki determinacji (R^2) (Rys. A1). Rys. 23b pokazuje zróżnicowanie przypadków (układów lipidowych) pod względem badanych właściwości. Im punkty położone bliżej siebie, tym większe podobieństwo pomiędzy lipidami. Największe różnice występują pomiędzy OP i oleożelami z najmniejszą (K3) i największą zawartością wosku kandelila (K8).



Rys. 23. Projektcja zmiennych (a) oraz projektcja przypadków (b) na płaszczyznę czynników

Objaśnienia jak pod tab. 7 i tab. 8; Próbki w zielonym obramowaniu wykazywały podobieństwo.

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w etapie I wykazano, że strukturyzowanie mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego (1:1) za pomocą wosku kandelila w ilości 3-8% m/m umożliwia otrzymanie lipidów o większej stabilności fizycznej od oleju palmowego.

Oleożel z najwyższym stężeniem wosku kandelila (8% m/m) wyeliminowano z dalszych badań, ze względu na wysoką temperaturę topnienia (powyżej 50°C), najwyższą twardość i związane z tym utrudnienia technologiczne w przygotowywaniu emulsji oraz minimalizację zawartości wosku w produkcie końcowym. Pozostałe lipidy zostały wykorzystane w etapie II do otrzymywania emulsji O/W (30/70 m/m) typu śmietanka.

4.2. Etap II: Ocena wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości emulsji typu śmietanka

4.2.1. Dobór czasu sonikacji emulsji

Bardzo ważnym etapem w projektowaniu emulsji jest ustalenie odpowiednich parametrów procesu. Właściwe warunki homogenizacji zależą od składu recepturowego emulsji, w tym od charakterystyki oleju, emulgatora czy stabilizatorów rozpuszczalnych w wodzie. W procesie tym następuje redukcja wielkości cząstek rozproszonych i w efekcie zwiększenie stabilności emulsji, jednak jego nieumiejętne przeprowadzenie może przynieść skutek odwrotny do zamierzonego [Kaltsa i wsp. 2014, Taha i wsp. 2018, Belgheisi i wsp. 2021].

W badaniach zmierzających do ustalenia właściwego czasu sonikacji wykorzystano emulsje na bazie oleju palmowego (EP) i oleożelu z najmniejszym stężeniem wosku (EK3). Celem było uzyskanie stabilnych układów z minimalnym niezbędnym stężeniem WK, przy możliwie łagodnych warunkach przetwarzania. Czas sonikacji istotnie wpłynął na badane parametry (gęstość energii, temperaturę, średnią wielkość cząstek lipidowych, współczynnik dyspersyjności, indeks lepkości makroskopowej i indeks niestabilności emulsji). Każdorazowe wydłużenie czasu sonikacji o 1 min powodowało zwiększenie gęstości energii i temperatury układu odpowiednio o około 27,5 J/g i około 1,6°C (tab. 9). Dłuższy czas homogenizacji powodował uzyskanie mniejszych rozmiarów cząstek lipidowych, niższego współczynnika dyspersyjności, indeksu niestabilności i większej lepkości makroskopowej (rys. 24a-d, tab. A4 w aneksie). Jednak po 4 min sonikacji, przy dalszym zwiększeniu lepkości emulsji (rys. 24c), nastąpiło zmniejszenie ich stabilności

(rys. 24d). Zbyt długa homogenizacja może prowadzić do częściowej denaturacji białka i większej podatności układu na destabilizację.

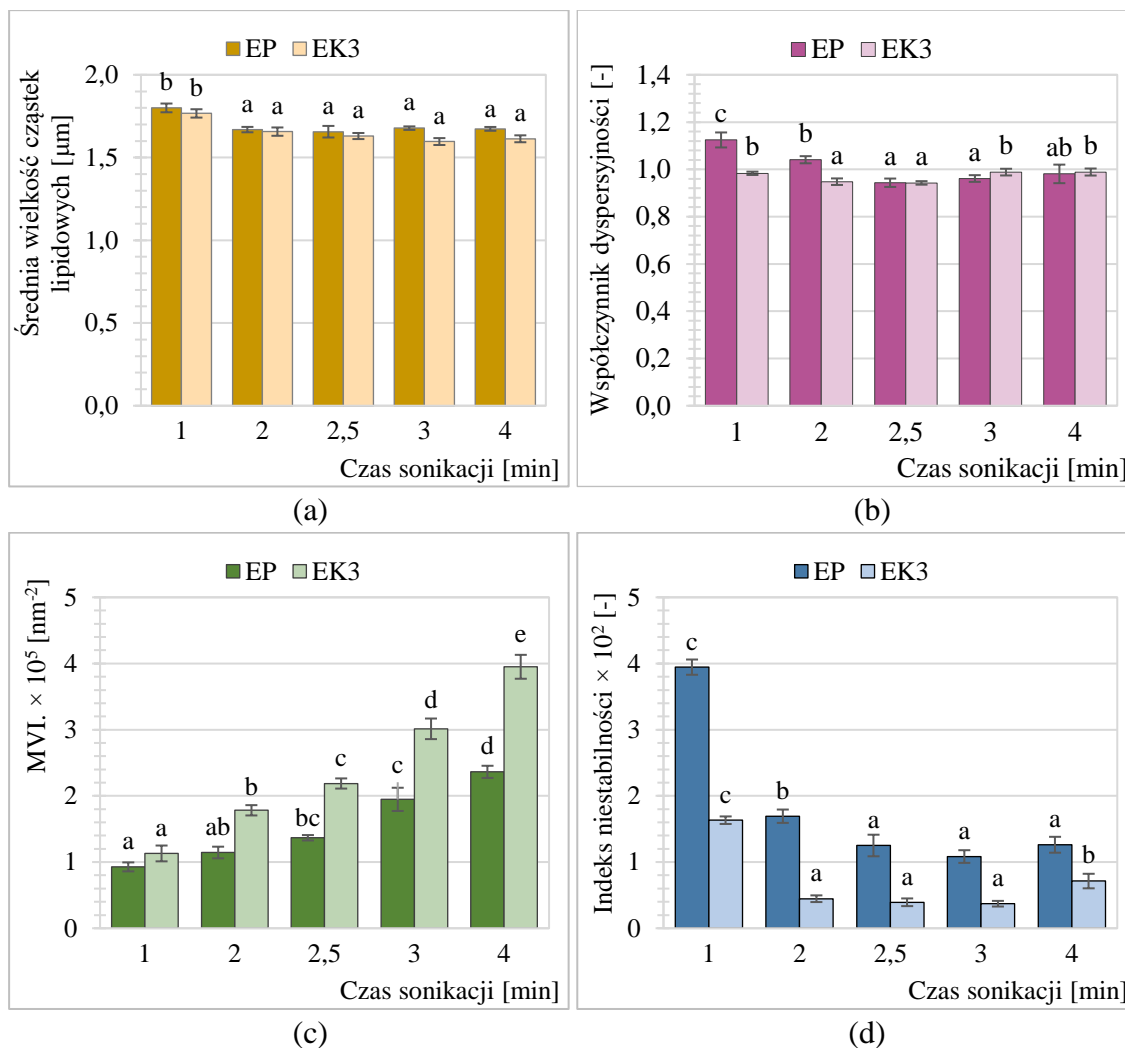
Tabela 9. Parametry homogenizacji ultradźwiękowej (sonikacji)

| Czas sonikacji [min] | Energia dostarczona [W]* | Gęstość energii [J/g] | Maksymalna temperatura [°C] |
|-----------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 46 ± 2 | 27,6 ± 0,3 | 58,6 ± 0,3 |
| 2 | | 55,3 ± 0,3 | 60,2 ± 0,2 |
| 3 | | 82,7 ± 0,4 | 61,9 ± 0,3 |
| 4 | | 110,2 ± 0,4 | 63,5 ± 0,3 |

Objaśnienia: * odczyt w czasie pracy urządzenia

Według Taha i wsp. [2018] homogenizacja ultradźwiękowa może korzystnie wpływać na strukturę białek sojowych, prowadząc do szybszej i bardziej efektywnej adsorpcji białka na granicy styku olej-woda, a zarazem utworzenia grubszej i silniejszej błony na powierzchni zdyspergowanych cząstek lipidowych. W porównaniu z tradycyjną homogenizacją mechaniczną, sonikacja może generować mniejsze rozmiary cząstek lipidowych, a zarazem większą stabilność emulsji. Z kolei Chandrapala i wsp. [2011] czy Kaltsa i wsp. [2014] zwrócili uwagę na ryzyko przegrzania układu i zmniejszenia aktywności emulgującej (hydrofobowości powierzchni) białek w wyniku nadmiernej ekspozycji na ultradźwięki, generujące ciepło. W związku z tym celowe jest stosowanie jak najkrótszej sonikacji.

Największą stabilność obu emulsji uzyskano po 3 min sonikacji (rys. 24d). Skrócenie tego procesu emulsyfikacji do 2,5 min wykazało, że jest to czas wystarczający, aby otrzymać równie wysoką stabilność fizyczną emulsji, przy mniejszym przyroście lepkości, a tym samym w niższej temperaturze i przy mniejszym zużyciu energii (tab. 9, rys. 24c-d, tab. A4 w aneksie). W związku z tym w badaniach właściwych zastosowano czas sonikacji, wynoszący 2,5 min (gęstość energii – 69,1 ± 0,4 J/g, maksymalna temperatura – 61,0 ± 0,3°C).



Rys. 24. Średnie wielkości cząstek lipidowych (a), wartości współczynnika dyspersyjności (b), indeksu lepkości makroskopowej (c) i indeksu niestabilności (d) emulsji typu śmietanka na bazie oleju palmowego – EP lub oleożelu z 3% stężeniem wosku kandelila – EK3.

a-e – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi dla danego wariantu (zmienna grupująca: czas sonikacji), $p < 0,05$.

4.2.2. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na parametry barwy emulsji

W etapie II modelowe emulsje wegańskie typu śmietanka (próbki doświadczalne), otrzymane z udziałem oleju palmowego (EP) lub lipidów strukturyzowanych (EK3-7), zbadano pod kątem właściwości fizycznych, w tym parametrów barwy. Porównano ich właściwości z wyprodukowaną w warunkach przemysłowych i stabilizowaną karagenem śmietanką (ŚM) – odzwierzęcym odpowiednikiem wegańskich analogów śmietanki. Zbadano również barwę napoju sojowego (NS), ze względu na duży wpływ rodzaju fazy ciągłej na cechy otrzymanej emulsji.

Zaobserwowano podobieństwo emulsji ŚM i EK3 pod względem wartości parametru L^* , świadczącego o jasności próbek. Z kolei napój sojowy, który stanowił fazę wodną emulsji typu śmietanka, znacząco różnił się od ww. emulsji, wykazując m.in. o około 10% niższą wartość parametru L^* . W śmietance wykazano istotnie statystycznie niższą średnią wartość parametru a^* (większy udział barwy zielonej) i wyższą średnią wartość parametru b^* (większy udział barwy żółtej), w porównaniu do pozostałych emulsji. Stwierdzono, że zarówno rodzaj fazy lipidowej, jak i rodzaj fazy wodnej może mieć znaczący wpływ na barwę emulsji. Podobnie Woźniak i wsp. [2021] wykazali wpływ stężenia substancji zagęszczającej i składu fazy lipidowej na zróżnicowanie barwy emulsji. Wraz ze zwiększaniem stężenia polisacharydów i udziału oleju z nasion konopi w fazie lipidowej emulsji zwiększała się wartość parametru b^* , świadcząc o większym udziale barwy żółtej tych układów. Z kolei w badaniach Granato i Masson [2010] największą wartością parametru b^* charakteryzowała się emulsja z największym udziałem białka sojowego (3% m/m) w składzie.

W oparciu o średnie wartości ΔE , mieszczące się w zakresie 5,43-6,07, stwierdzono wyraźne różnice w barwie pomiędzy ŚM i emulsjami na bazie OP lub oleożeli (rys. 25, tab. 10). Zgodnie z Chudy i wsp. [2016], przy $\Delta E > 5,0$ obserwator może odnieść wrażenie dwóch różnych barw. Z kolei przy $\Delta E < 1,0$ różnice w barwie mogą być niezauważalne nawet dla doświadczonego obserwatora, co znalazło odzwierciedlenie w porównaniu emulsji na bazie oleożeli do emulsji na bazie oleju palmowego (ΔE : 0,27-0,70) bądź emulsji na bazie oleożeli do emulsji z najmniejszym udziałem wosku w fazie lipidowej (ΔE : 0,36-0,54).



Rys. 25. Zdjęcia próbek emulsji O/W typu śmietanka

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeli z 3%, 4%, 5%, 6% lub 7% udziałem wosku kandelila

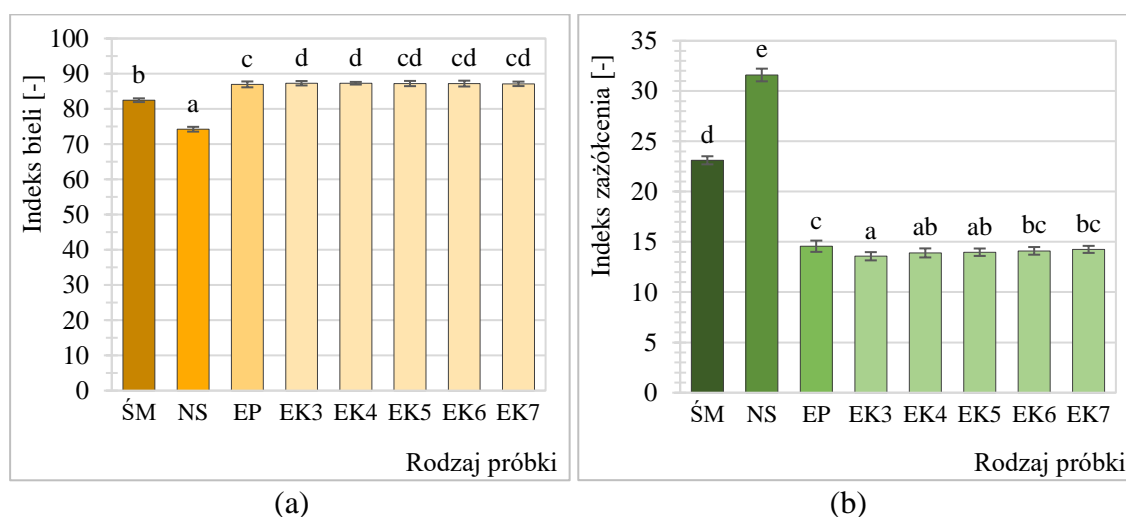
Na podstawie podstawowych składowych barwy L^* , a^* i b^* wyznaczono indeksy bieli (WI) i indeksy żółtawy (YI). Emulsje na bazie OP i emulsje na bazie oleożeli

(EK3-EK7) charakteryzowały się wyższą wartością indeksu bieli (o około 5%) i niższą wartością indeksu zażółcenia (o około 39%), w porównaniu do śmietanki wyprodukowanej w warunkach przemysłowych i stabilizowanej karagenem (ŚM). Nie zaobserwowano jednak istotnych statystycznie różnic pomiędzy EP a EK6 i EK7 (rys. 26). Solah i wsp. [2007] wykazali, że zarówno tłuszcz, jak i białka kształtują barwę mleka. Dowiedli oni, że zwiększenie udziału tłuszczu mlecznego zwiększa stopień zażółcenia mleka, a zwiększenie zawartości białka w mleku powoduje zwiększenie wartości wskaźnika bieli.

Tabela 10. Średnie wartości parametrów barwy badanych emulsji i napoju sojowego

| Rodzaj próbki | L* [-] | a* [-] | b* [-] | $\Delta E_{\text{ŚM}}$ [-] | ΔE_{EP} [-] | ΔE_{EK3} [-] |
|---------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| ŚM | 90,44 ^b ± 0,27 | -1,28 ^a ± 0,08 | 14,63 ^d ± 0,25 | - | - | - |
| NS | 81,62 ^a ± 0,26 | -0,02 ^c ± 0,01 | 18,05 ^e ± 0,05 | - | - | - |
| EP | 90,86 ^c ± 0,07 | -0,66 ^b ± 0,07 | 9,26 ^c ± 0,06 | 5,43 ± 0,30 | - | - |
| EK3 | 90,68 ^{bc} ± 0,18 | -0,57 ^b ± 0,05 | 8,61 ^a ± 0,07 | 6,07 ± 0,37 | 0,70 ± 0,13 | - |
| EK4 | 90,90 ^c ± 0,12 | -0,60 ^b ± 0,07 | 8,84 ^{ab} ± 0,17 | 5,85 ± 0,29 | 0,43 ± 0,10 | 0,39 ± 0,15 |
| EK5 | 90,81 ^c ± 0,07 | -0,58 ^b ± 0,07 | 8,88 ^{ab} ± 0,10 | 5,81 ± 0,23 | 0,40 ± 0,15 | 0,36 ± 0,17 |
| EK6 | 90,88 ^c ± 0,07 | -0,61 ^b ± 0,04 | 8,97 ^{bc} ± 0,16 | 5,72 ± 0,30 | 0,32 ± 0,16 | 0,44 ± 0,14 |
| EK7 | 90,87 ^c ± 0,14 | -0,61 ^b ± 0,06 | 9,07 ^{bc} ± 0,15 | 5,63 ± 0,22 | 0,27 ± 0,16 | 0,54 ± 0,25 |

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, NS – napój sojowy, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila, $\Delta E_{\text{ŚM}}$ – całkowita różnica w barwie w porównaniu do śmietanki, ΔE_{NS} – całkowita różnica w barwie w porównaniu do napoju sojowego, ΔE_{EP} – całkowita różnica w barwie w porównaniu do emulsji na bazie oleju palmowego; a-d – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$);

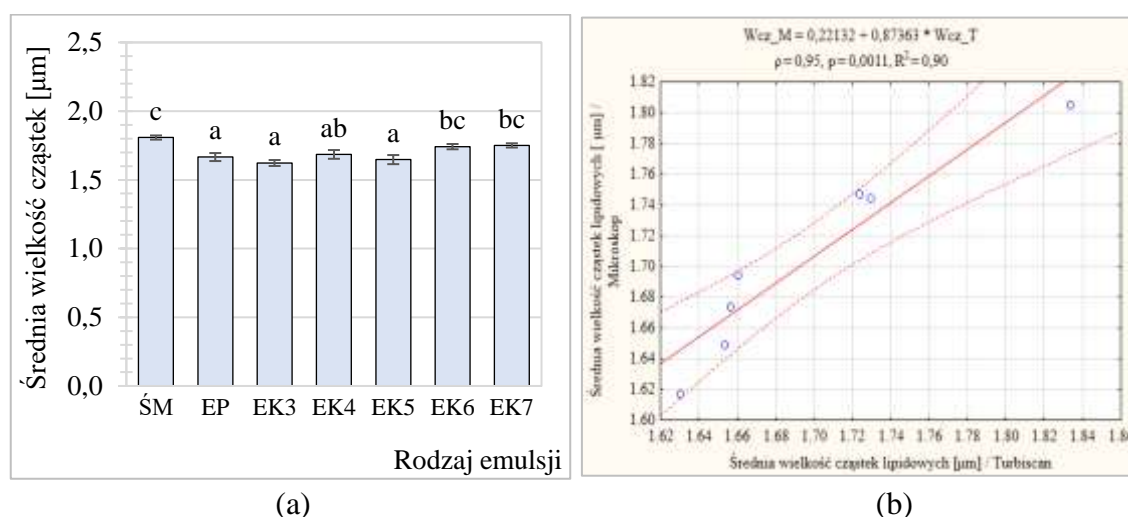


Rys. 26. Średnie wartości indeksu bieli (a) i indeksu zażółcenia (b) emulsji

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, NS – napój sojowy, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-d – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

4.2.3. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na rozkład i średnią wielkość cząstek lipidowych emulsji

Przedstawione na rys. 27a średnie wielkości cząstek lipidowych badanych emulsji wyznaczono metodą mikroskopii optycznej (rys. A6 w aneksie). Największe wartości tego parametru stwierdzono w ŚM (około 1,81 μm), jednak nie różniły się one istotnie statystycznie od emulsji na bazie oleożeli z 6 lub 7% stężeniem WK. Najmniejszymi średnimi wielkościami cząstek zdyspergowanych charakteryzowały się emulsje na bazie oleożeli z 3%, 4% lub 5% stężeniem wosku i EP (tab. A5 w aneksie). Woźniak i wsp. [2021] podkreślili, że zredukowanie rozmiarów cząstek fazy wewnętrznej (rozproszonej) obniża prawdopodobieństwo wczesnej destabilizacji emulsji. Średnie wielkości cząstek fazy rozproszonej wyznaczone metodą mikroskopową były silnie dodatnio skorelowane z wynikami otrzymanymi przy użyciu metody statycznego, wielokrotnego rozpraszania światła ($\rho = 0,95$; $R^2 = 0,90$; $p = 0,0011$) – rys. 27b – potwierdzając przydatność metody mikroskopowej do określenia wielkości cząstek lipidowych, stanowiących fazę wewnętrzną emulsji typu śmietanka. Według Denkova i wsp. [2004] i Kaltsa i wsp. [2013] mikroskopia optyczna jest prawdopodobnie najbardziej dokładną spośród istniejących ogólnych metod określania wielkości cząstek lipidowych emulsji. Pomimo iż jest czasochłonna, wykorzystuje się ją w badaniach naukowych, w których wymagane są bardzo dokładne wyniki pomiarów.



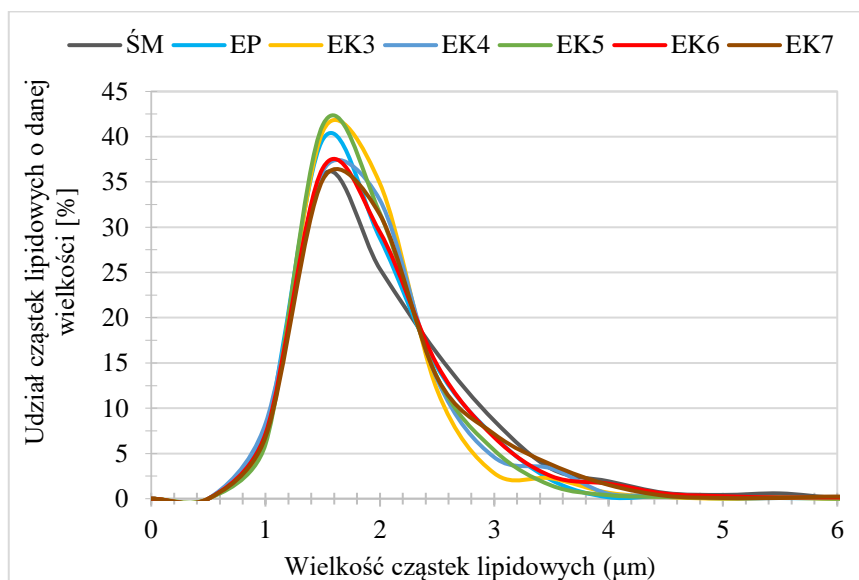
Rys. 27. Średnie wielkości cząstek lipidowych (a) oraz korelacje średnich wielkości cząstek lipidowych emulsji wyznaczonych metodą mikroskopii optycznej i metodą statycznego wielokrotnego rozpraszania światła (b)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeli z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

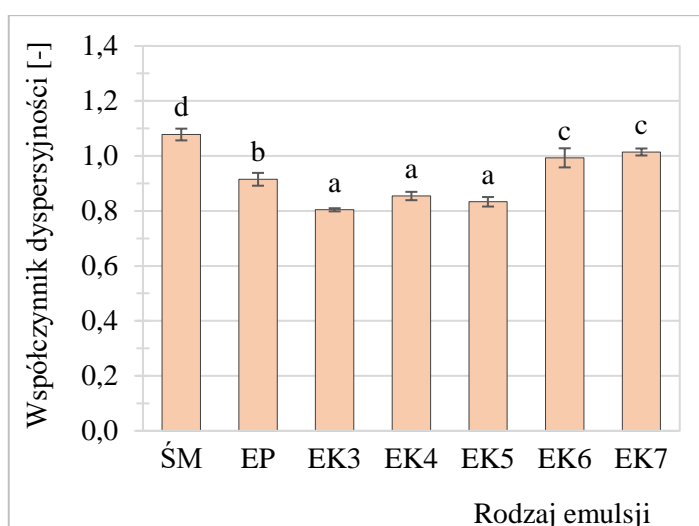
Średnia wielkość cząstek to jednak parametr zbyt ogólny, żeby szczegółowo wnioskować o stabilności emulsji. W związku z tym wyznaczono rozkłady wielkości cząstek lipidowych, na podstawie których określono liczbę dominujących frakcji cząstek o danej wielkości (rys. 28) i obliczono współczynniki dyspersyjności (rys. 29). Im węższy rozkład wielkości cząstek, mniejsza liczba frakcji i niższa wartość współczynnika dyspersyjności, tym większe podobieństwo emulsji do układu monodispersyjnego, czyli wykazującego większą stabilność fizyczną [Kowalska i Żbikowska 2013, McClements 2015, Cabrera-Trujillo i wsp. 2018, Maphosa i Jideani 2018].

Na podstawie krzywych dyferencyjnych (rys. 28) stwierdzono, że wszystkie emulsje charakteryzowały się jednofrakcyjnym (unimodalnym) rozkładem wielkości cząstek lipidowych. Najniższe wartości współczynnika dyspersyjności (0,80-0,85) uzyskano dla emulsji z oleożelami z 3%, 4% i 5% zawartością wosku (EK3-EK5). Z kolei emulsje na bazie pozostałych lipidów strukturyzowanych (K6 i K7) wykazywały istotnie statystycznie wyższe wartości tego parametru, w odniesieniu do EP (0,92). Śmietanka charakteryzowała się największym współczynnikiem dyspersyjności wśród badanych próbek, a zarazem o około 30% wyższą jego wartością, w porównaniu do EK3 (rys. 29, tab. A5 w aneksie). W związku z tym, emulsje na bazie oleożeli lub OP mogły wykazywać się większą stabilnością fizyczną niż ŚM, stabilizowana karagenem. Prawdopodobnie było to efektem wysokiej skuteczności homogenizacji ultradźwiękowej, zastosowanej do sporządzenia emulsji doświadczalnych. Natomiast ich zróżnicowanie mikrostrukturalne wynikało głównie ze składu i zjawiska rekrystalizacji lipidów podczas statycznego studzenia. Obecność licznych, dużych kryształów lipidowych w emulsji sprzyja łączeniu się cząstek lipidowych w większe agregaty [McClements 2015, Munk i Andersen 2015]. Olej palmowy charakteryzował się największymi kryształami lipidowymi spośród badanych lipidów (tab. 6). Wyższe wartości współczynnika dyspersyjności EK6 i EK7 mogły wynikać z większej liczebności kryształów, w porównaniu do pozostałych oleożeli (rys. 9). W związku z powyższym można stwierdzić, że stężenie WK w fazie lipidowej emulsji na poziomie $\geq 6\%$ m/m, może utrudniać dyspergowanie lipidów strukturyzowanych w fazie wodnej. Munk i wsp. [2019] udowodnili, że po emulsyfikacji oleożeli z fazą wodną, w temperaturze powyżej temperatury topnienia tych lipidów, nie następuje odbudowanie pierwotnej struktury oleożeli, lecz zachodzi migracja większości cząsteczek substancji strukturyzującej do granicy faz lipid–woda, gdzie tworzą otoczkę wokół cząstek lipidowych.

Zhang i wsp. [2020] wykazali, że obecność wosku może sprzyjać otrzymywaniu emulsji Pickeringa typu O/W, o mniejszych wielkościach i węższym rozkładzie wielkości cząstek lipidowych. Wosk zwiększa hydrofobowość powierzchni cząstek rozproszonych, a tym samym ich odpychanie elektrostatyczne, wpływając na zwiększenie stabilności fizycznej emulsji (w tym oporności na śmietankowanie).



Rys. 28. Rozkłady wielkości (krzywe dyferencyjne) cząstek lipidowych emulsji
 Objasnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;



Rys. 29. Średnie wartości współczynnika dyspersyjności emulsji
 Objasnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-d – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

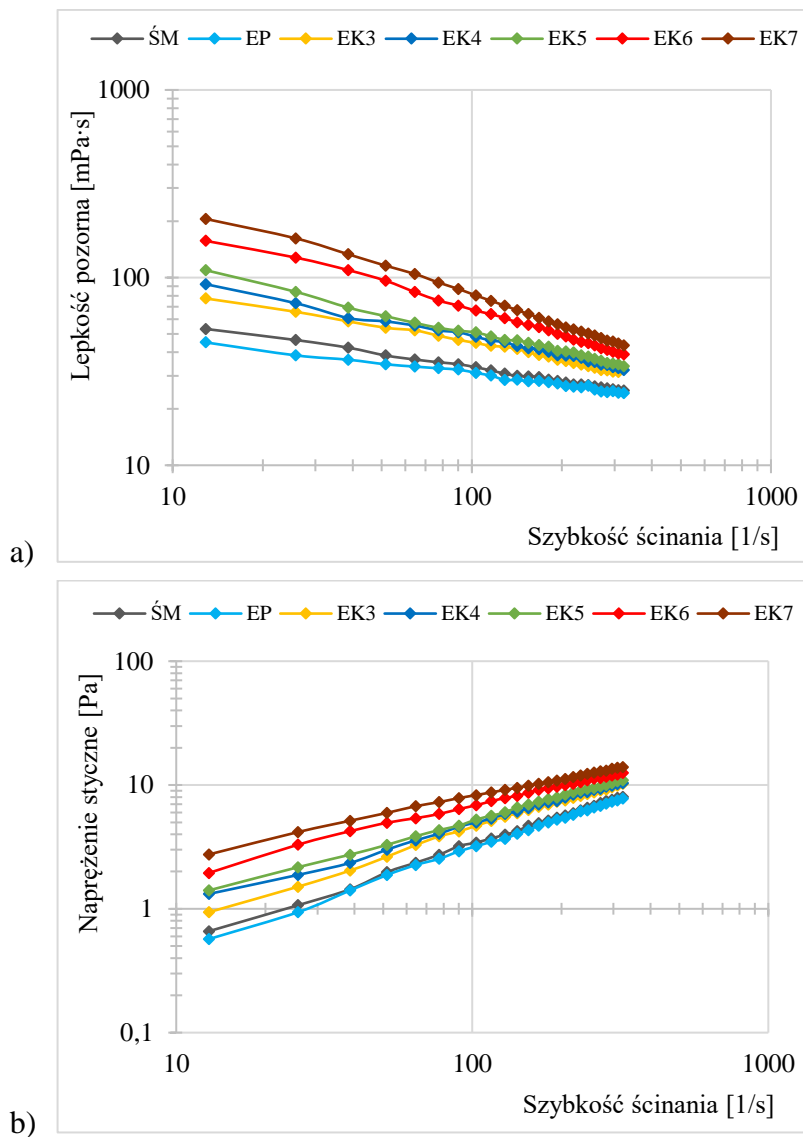
4.2.4. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości reologiczne emulsji poddanych ścinaniu

Analizując właściwości reologiczne emulsji stwierdzono, że wraz ze zwiększającą się szybkością ścinania następowało logarytmiczne zmniejszenie lepkości i zwiększenie naprężenia stycznego, co przedstawiają krzywe lepkości (rys. 30a) i krzywe płynięcia (rys. 30b). Krzywe opisano modelem matematycznym Ostwalda'e-Wale'a, uzyskując stopień dopasowania modelu na poziomie co najmniej 95% (tab. 11). Wraz ze zwiększaniem stężenia WK w fazie lipidowej zwiększała się wartość współczynnika konsystencji (K) i zmniejszała wartość wykładnika płynięcia (n) emulsji na bazie oleożeli. Śmietanka i EP charakteryzowały się mniejszą lepkością i większą zdolnością do płynięcia. Wszystkie emulsje charakteryzowały się wartością wykładnika płynięcia $n < 1,0$ (tab. 11). Stwierdzono, że ŚM i wegańskie emulsje typu śmietanka wykazywały cechy płynów nienewtonowskich rozrzedzanych ścinaniem, bez granicy płynięcia. Do podobnych wniosków doszli Anihouvi i wsp. [2013], którzy badali modelowe emulsje typu O/W otrzymane z 30% m/m udziałem różnych lipidów laurynowych. Na podstawie średnich wartości wykładnika płynięcia emulsji (tab. 11) stwierdzono, że ŚM i EP należą do emulsji o niskiej pseudoplastyczności (0,77-0,80), natomiast EK6 i EK7 do emulsji o wysokiej pseudoplastyczności (0,56-0,59) [Goyal i wsp. 2015]. Badane przez Goyal i wsp. [2015] emulsje O/W z olejem lnianym (12,5% m/m), stabilizowane koncentratem białek serwatkowych (w stężeniu 5,0-12,5% m/m), charakteryzowały się bardzo wysoką pseudoplastycznością, a zarazem wartością parametru n w zakresie od 0,206 do 0,591.

Wysokie współczynniki zmienności lepkości – $W_z (> 20\%)$ wskazywały na znaczącą wrażliwość układu na działanie sił ścinających. Wartość tego parametru rosła wraz ze zwiększającą się lepkością pozorną układu, zatem dla EK7 była około 2-krotnie wyższa, w porównaniu z EK3 (tab. 11). Zauważyli to również Quintana-Martinez i wsp. [2018], którzy analizowali właściwości reologiczne emulsji O/W z różną zawartością gumy guar i lecytyny. Większe stężenie zagęstnika przyczyniło się nie tylko do zwiększenia lepkości pozornej emulsji, ale również stopnia jej rozrzedzenia ścinaniem. Według Pal [2000] duży wpływ na lepkość emulsji rozrzedzanych ścinaniem ma wielkość cząstek lipidowych. Przy ich redukowaniu może następować znaczne zwiększenie lepkości, zaś wraz ze zmniejszeniem rozmiarów cząstek zdyspergowanych zwiększa się stopień rozrzedzenia emulsji poddanych ścinaniu.

Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy średnimi wartościami K emulsji i temperatury topnienia lipidów, stanowiących fazę lipidową emulsji ($\rho = 0,98$; $R^2 = 0,96$;

$p = 0,00016$) (rys. A7). Anihouvi i wsp. [2013] oraz Kupongsak i Sathitvorapojjana [2017] potwierdzili występowanie zależności pomiędzy topliwością lipidów i właściwościami reologicznymi emulsji, otrzymanych z ich udziałem. Scott i wsp. [2003], którzy przeprowadzili badania nad reformulacją śmietanki, emulgując różne frakcje bezwodnego tłuszczu mlecznego (20% m/m) z mlekiem odtłuszczonym, wykazali, że emulsje zawierające frakcję średniotopliwą (26°C) cechowały się większą lepkością pozorną od śmietanki naturalnej z frakcją niskotopliwą (18°C).



Rys. 30. Krzywe lepkości (a) i krzywe płynięcia (b) emulsji

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;

Tabela 11. Średnie wartości parametrów reologicznych modelu matematycznego Ostwalde'a-Wale'a opisujące krzywe lepkości i krzywe płynięcia emulsji

| Rodzaj próbki | K [mPa·s] | n [-] | R^2 | Wz [%] |
|---------------|----------------------------|--------------------------|-------|---------------------------|
| ŚM | 81,61 ^a ± 4,03 | 0,80 ^d ± 0,02 | 0,97 | 22,10 ^a ± 0,73 |
| EP | 90,81 ^b ± 4,64 | 0,77 ^d ± 0,01 | 0,96 | 23,57 ^b ± 1,07 |
| EK3 | 172,77 ^c ± 4,90 | 0,72 ^c ± 0,01 | 0,98 | 27,04 ^c ± 0,73 |
| EK4 | 221,40 ^d ± 3,92 | 0,67 ^b ± 0,01 | 0,97 | 30,51 ^d ± 1,50 |
| EK5 | 254,16 ^e ± 4,66 | 0,65 ^b ± 0,01 | 0,95 | 35,37 ^e ± 1,03 |
| EK6 | 293,87 ^f ± 3,92 | 0,59 ^a ± 0,01 | 0,95 | 46,21 ^f ± 0,91 |
| EK7 | 304,83 ^f ± 5,23 | 0,56 ^a ± 0,01 | 0,96 | 52,50 ^g ± 0,87 |

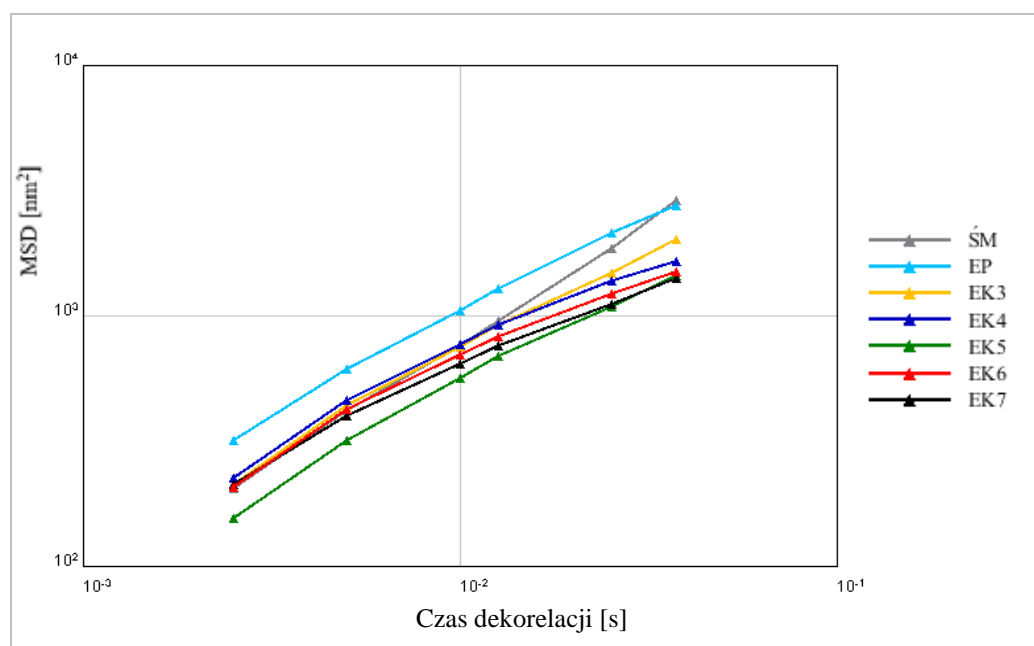
Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; K – współczynnik konsystencji, n – wykładnik płynięcia, R^2 – współczynnik determinacji (stopień dopasowania modelu); Wz – współczynnik zmienności lepkości; a-g – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

4.2.5. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na właściwości mikroreologiczne emulsji

Emulsje poddano analizie właściwości mikroreologicznych nieinwazyjną metodą spektroskopii fal dyfuzyjnych, która opiera się na migracji cząstek pod wpływem ruchów Browna [Pasqua i wsp. 2014]. Wyznaczono krzywe średniego przesunięcia kwadratowego cząstek (MSD) w funkcji czasu dekorelacji, które pozwalają na scharakteryzowanie właściwości lepkich i lepko-sprężystych próbek. Liniowe zwiększenie wartości MSD w czasie dekorelacji informuje o swobodnym ruchu cząstek, co jest charakterystyczne dla układu „czysto lepkiego” [Moschakis i wsp. 2013, Xu i wsp. 2017]. Na rys. 31 przedstawiono reprezentatywne krzywe MSD dla każdej badanej emulsji. Ich przebieg jest zbliżony do linii prostej. Stwierdzono, że wszystkie emulsje wykazywały charakter cieczy. Do podobnych wniosków doszli Xu i wsp. [2017], analizując właściwości mikroreologiczne emulsji z β -karotenem, stabilizowanych izolatami białek serwatkowych z dodatkiem 0,1%, 0,2% lub 0,3% m/m lub bez dodatku tzw. gumy lnianej (hydrokoloidu z nasion lnu).

Śmietanka wyprodukowana w warunkach przemysłowych i stabilizowana karagenem nie różniła się istotnie statystycznie zarówno od EP, jak i od EK3, pod względem wartości indeksu sprężystości (EI). Pozostałe próbki na bazie oleożelu wykazywały wyższe wartości EI od ww. emulsji. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy stężeniem WK w fazie lipidowej a indeksem sprężystości emulsji. Próbki EK4, EK6 i EK7 cechowały podobne wartości EI , w porównaniu z EK4. Najwyższe wartości indeksu sprężystości (około 2-krotnie wyższe od EP) określono dla EK5 (rys. 32).

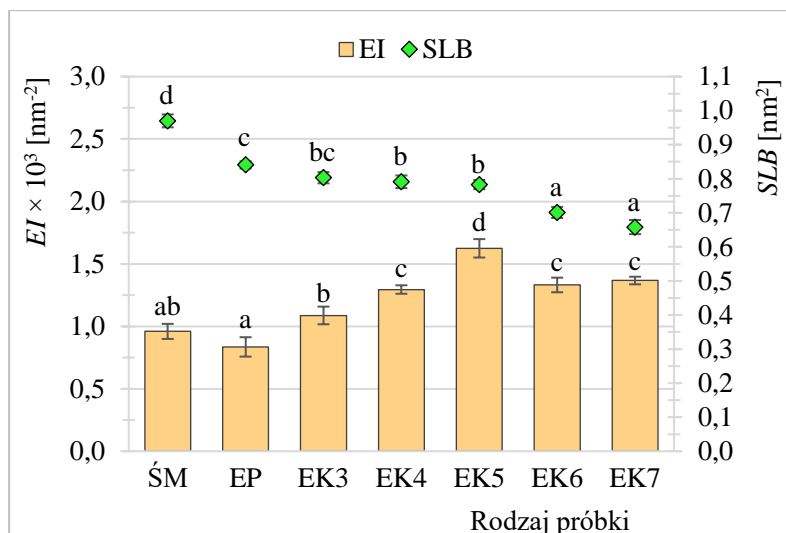
Stwierdzono, że emulsja na bazie oleożelu z 5% stężeniem wosku kandelila (EK5) mogła charakteryzować się największym stopniem upakowania cząsteczek w strukturze wewnętrznej, a zarazem większą stabilnością fizyczną. Zdaniem Degrand i wsp. [2016] oraz Medronho i wsp. [2018] zwiększenie sprężystości układu może być związane ze zmniejszeniem wielkości cząstek lipidowych, a zarazem zwiększeniem ich liczebności, ograniczającej swobodne przemieszczanie się w układzie.



Rys. 31. Krzywe *MSD* emulsji w funkcji czasu dekorrelacji

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;

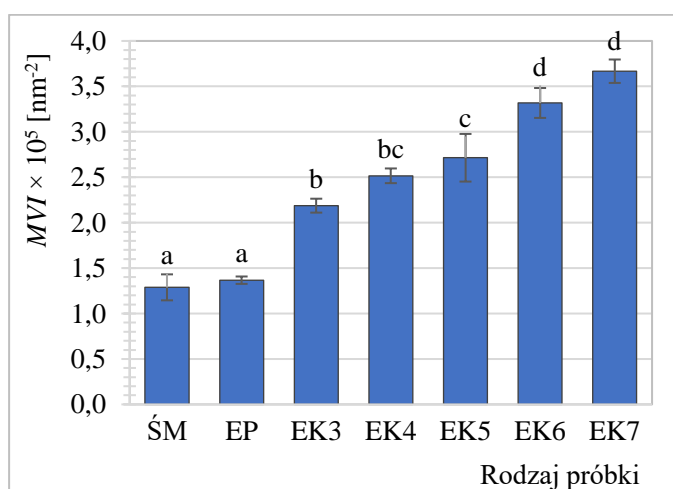
Średnie wartości współczynnika równowagi ciecz-ciało stałe (*SLB*) badanych emulsji wynosiły $> 0,5$ (rys. 32), co potwierdza, że w tych próbkach dominowało zachowanie zbliżone do cieczy [Pasqua i wsp. 2014]. Emulsje doświadczalne miały znacznie niższe wartości *SLB* niż śmietanka. Najniższe wartości tego parametru (o około 30% niższe, w porównaniu do ŚM) odnotowano dla EK6 i EK7 (rys. 32). Stwierdzono, że stężenie WK w fazie lipidowej emulsji miało istotny wpływ na jej właściwości mikroreologiczne. Wykazano silną korelację dodatnią pomiędzy średnimi wartościami *SLB* i wykładnika płynięcia n ($\rho = 0,90$; $R^2 = 0,80$; $p = 0,0064$) – rys. A8 w aneksie. Można zatem stwierdzić, że im wyższa wartość *SLB*, tym większa zdolność emulsji do płynięcia. Według Wang i wsp. [2018] wysoka wartość *SLB*, świadcząca o dużej ruchliwości cząstek rozproszonych w emulsji, może być związana z sedymentacją cząstek i separacją faz emulsji.



Rys. 32. Średnie wartości indeksu sprężystości (*EI*) i współczynnika równowagi ciecz-ciało-stałe (*SLB*) emulsji

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-d – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi dla danego parametru ($p < 0,05$).

Śmietanka i emulsja na bazie OP wykazywały podobieństwo ($p > 0,05$) pod względem średniej wartości indeksu lepkości makroskopowej (*MVI*) – rys. 33. Jednak już emulsja na bazie oleożelu z najmniejszym udziałem WK (3% m/m) cechowała się około 1,5-krotnie wyższą wartością *MVI* ($2,19 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-2}$), w porównaniu do ŚM i EP. Zwiększenie stężenia wosku w fazie lipidowej emulsji przyczynił się do zwiększenia lepkości emulsji. W przypadku EK7 średnia wartość *MVI* była o około 67% wyższa w porównaniu do EK3.



Rys. 33. Średnie wartości indeksu lepkości makroskopowej (*MVI*) emulsji

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-d – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy średnimi wartościami współczynnika konsystencji (K) i indeksu lepkości makroskopowej (MVT) emulsji ($\rho = 0,99$; $R^2 = 0,98$; $p = 0,00001$) – rys. A9 w aneksie.

4.2.6. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na stabilność fizyczną emulsji

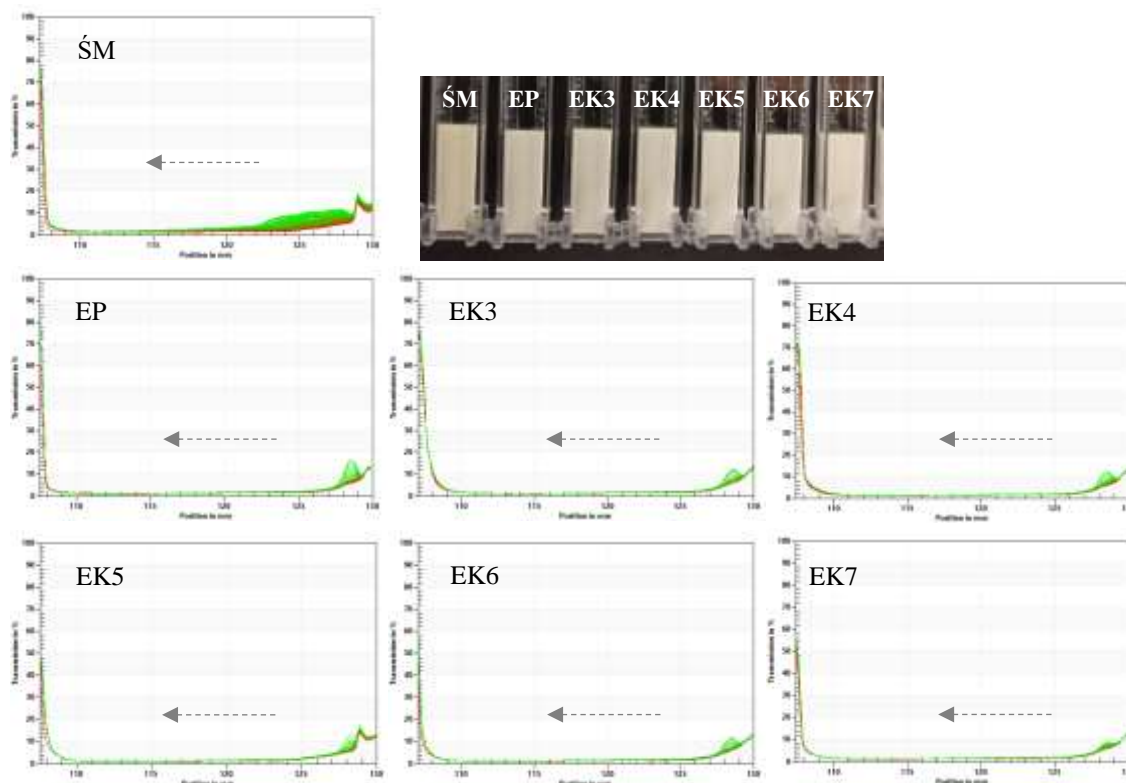
Przeanalizowano stabilność fizyczną wegańskich emulsji typu śmietanka (próbek doświadczalnych) i śmietanki stabilizowanej karagenem (próbki porównawczej), poddanych działaniu siły odśrodkowej (4000 obr/min przez 50 min) w temperaturze 20°C, przy jednoczesnym pomiarze intensywności światła transmitowanego przez całą objętość próbki. Na podstawie wyznaczonych profili transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek (tzw. odcisków palca, z ang. fingerprints) można zidentyfikować typy mechanizmów destabilizacji zachodzących w próbkach w czasie badania [Dammak i Sobral 2018, Wang i wsp. 2018].

We wszystkich emulsjach zaobserwowano zapoczątkowanie flotacji cząstek lipidowych, czyli tzw. śmietankowanie, przejawiające się zmniejszeniem koncentracji cząstek (zwiększeniem transmisji) w dolnej części układu (prawa strona wykresu) – rys. 34. Obecność wyższego i szerszego pików na wykresie oznacza większe zmiany, które zaszły w emulsji podczas wirowania. Dlatego w oparciu o sam wygląd profili transmisji można stwierdzić, że ŚM była mniej stabilna, w porównaniu do pozostałych emulsji.

Na podstawie uzyskanych profili transmisji wyznaczono indeksy niestabilności emulsji (rys. 35a) i średnie prędkości cząstek w polu wirowania (rys. 35b). Całkowity indeks niestabilności informuje o końcowym efekcie destabilizacji. Z kolei krzywa przedstawiająca zmiany wartości tego parametru w czasie trwania analizy (rys. 36) odzwierciedla dynamikę tego procesu. Drugi parametr pozwala na rozróżnienie próbek o podobnej stabilności na podstawie ruchliwości cząstek podczas pomiaru [Lerche i Sobisch 2011, Primožic i wsp. 2018]. W badaniach uzyskano ujemne wartości średniej prędkości cząstek w polu wirowania dla wszystkich próbek. Znak „-” przy wartości średniej świadczy o migracji cząstek w górną część układu [Lerche i Sobisch 2011]. Wyniki te przedstawiono jako wielkości dodatnie, w celu ułatwienia ich interpretacji (rys. 35b).

Emulsje na bazie lipidów strukturyzowanych nie różniły się pod względem wartości obu ww. parametrów ($p < 0,05$). Emulsja na bazie oleju palmowego (EP) cechowała się około 2-krotnie wyższą wartością całkowitego indeksu niestabilności i około 10-krotnie większą prędkością cząstek, w porównaniu do emulsji na bazie oleożeli. Z kolei ŚM

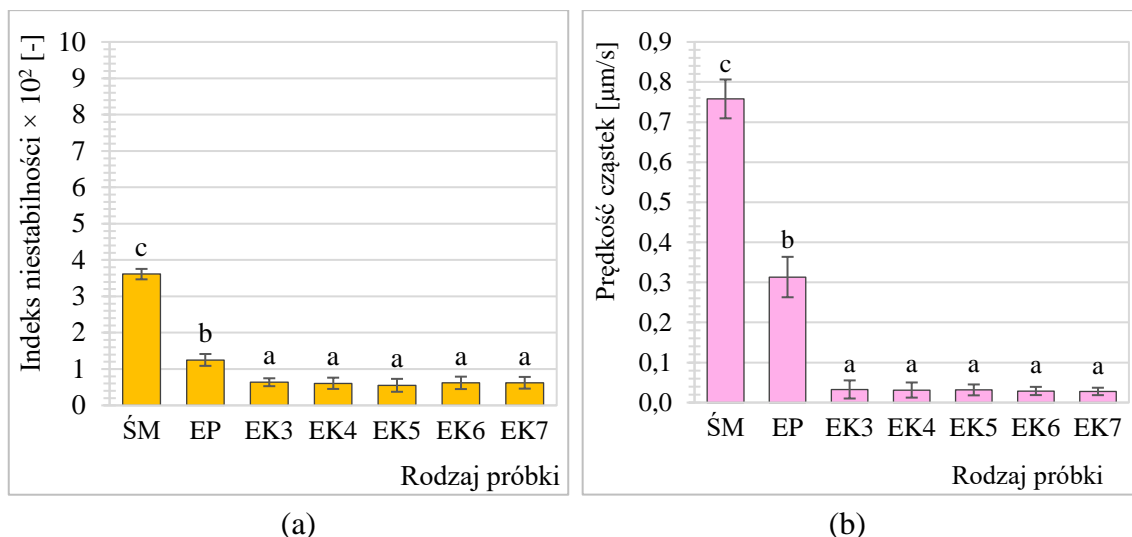
charakteryzowała się około 2-krotnie niższą stabilnością od EP (rys. 35a-b, rys. 36, tab. A6 w aneksie). Najniższa oporność ŚM na działanie siły odśrodkowej mogła być związana z najniższą wartością współczynnika konsystencji (większą zdolnością do płynięcia) – tab. 11, najwyższymi wartościami średniej wielkości cząstek lipidowych (rys. 27) i współczynnika dyspersyjności (rys. 29), które świadczą o większej podatności emulsji na destabilizację.



Rys. 34. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji, po 24 h w temperaturze 20°C (LUMiSizer)

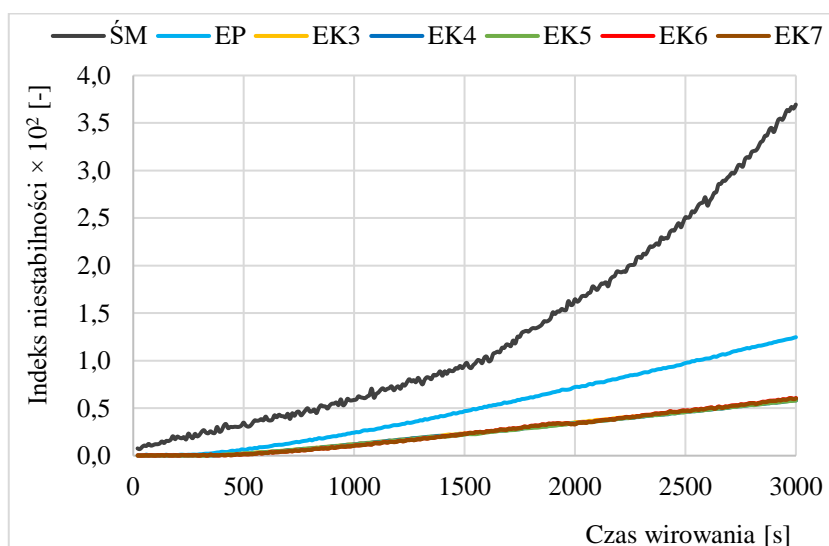
Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;

Wykazano, że rodzaj fazy lipidowej wywiera istotny wpływ na stabilność fizyczną emulsji O/W typu śmietanka. Większa stabilność emulsji na bazie lipidów strukturyzowanych mogła wynikać ze struktury zdyspergowanych cząstek lipidowych. Można przypuszczać, że dochodzi do migracji cząsteczek WK do przestrzeni międzyfazowej i utworzenie dodatkowej warstwy od strony hydrofobowej. Takie zjawisko zaobserwowali Munk i wsp. [2019] w emulsjach O/W na bazie oleożeli stabilizowanych etylocelulozą, które otrzymano w wyniku homogenizacji w temperaturze powyżej temperatury topnienia oleożeli.



Rys. 35. Średnie wartości indeksu niestabilności (a) i prędkości cząstek w polu wirowania (b) emulsji (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeluz z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).



Rys. 36. Zmiany wartości indeksów niestabilności podczas wirowania emulsji (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeluz z 3-7% udziałem wosku kandelila.

Ponadto należy zwrócić uwagę, że emulsje typu śmietanka zostały sporządzone w temperaturze około 61°C , czyli niższej od temperatury topnienia WK ($> 70^\circ\text{C}$), zatem jego cząsteczki mogły zostać zredukowane do mniejszych rozmiarów pod wpływem sonikacji, determinując jednocześnie większą stabilność emulsji. W takich warunkach temperaturowych olej palmowy był płynny i klarowny (bez kryształów), zaś po emulsyfikacji nastąpiła jego rekrytalizacja w fazie wewnętrznej emulsji. Zgodnie z Sato

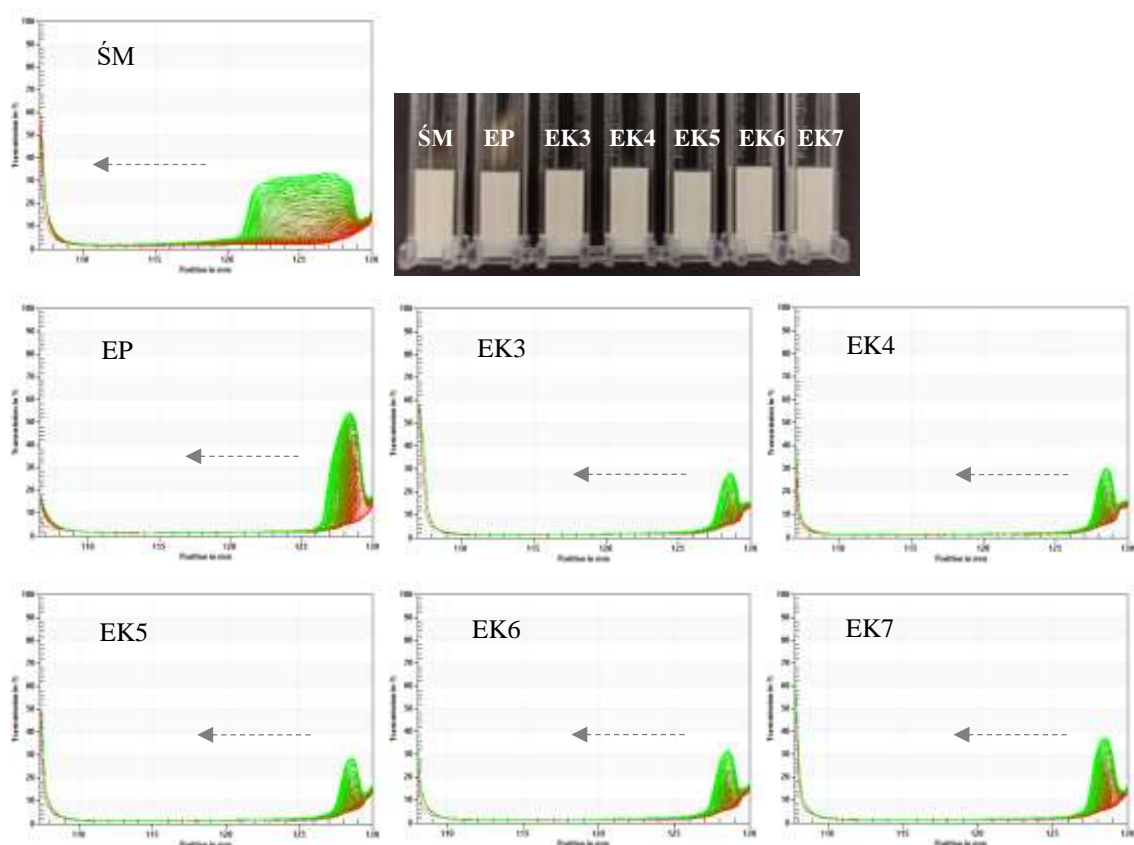
i wsp. [2013] powolna krystalizacja OP w temperaturze 20°C sprzyja powstawaniu dużych kryształów lipidowych, które według McClements [2015] mogą przenikać do innych cząstek rozproszonych (powodując ich agregację) i sprzyjać destabilizacji emulsji.

4.2.7. Analiza wpływu rodzaju fazy lipidowej na stabilność emulsji poddanych działaniu stresu środowiskowego

Otrzymane emulsje postanowiono rozpatrywać jako potencjalne wegańskie analogi słodkiej śmietanki do zup lub sosów. Produkty takie charakteryzują się zróżnicowanym pH, siłą jonową i przed spożyciem mogą być poddawane obróbce cieplnej. W związku z praktycznym aspektem pracy przeanalizowano stabilność emulsji po poddaniu ich działaniu stresu środowiskowego. Zastosowano: wysoką temperaturę (ogrzewanie w temperaturze $90 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 30 min, następnie studzenie statyczne w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 3 h), cykl zamrażanie-rozmrażanie (zamrażanie w temperaturze $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ na 24 h, następnie rozmrażanie w $20 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 3 h), zmianę pH (emulsje zdyspergowano w roztworach o pH 5, 7 lub 9 w stosunku 1:1 obj./obj., następnie pozostawiono w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na 24 h), zmianę siły jonowej (emulsje zdyspergowano w roztworach NaCl o stężeniu: 0 M, 0,05 M, 0,10 M lub 0,15 M w stosunku 1:1 obj./obj., następnie pozostawiono w temperaturze $20 \pm 1^\circ\text{C}$ na 24 h). Stabilność próbek określono przy użyciu analizatora LUMiSizer, a średnią wielkość cząstek lipidowych oznaczono w aparacie Turbiscan Lab.

Stabilność emulsji poddanych działaniu wysokiej temperatury

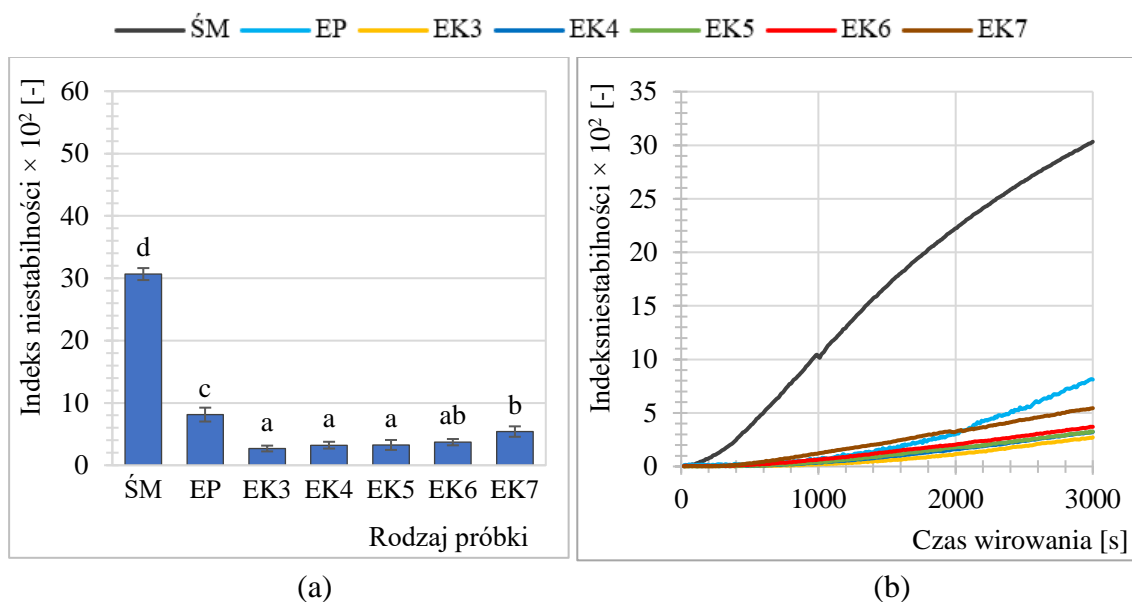
Na rys. 37 przedstawiono profile transmisji emulsji ogrzewanych w temperaturze 90°C przez 30 min. Zaobserwowano podobieństwo kształtu uzyskanych profili do profili emulsji „świeżych” (rys. 34), co świadczy o występowaniu podobnych mechanizmów destabilizacji. Jednak wyższy poziom transmisji światła w przypadku emulsji ogrzewanych sugeruje większą niestabilność próbek, co potwierdził wzrost wartości indeksu niestabilności wszystkich układów. W temperaturze 90°C nastąpiło stopienie wszystkich kryształów lipidowych występujących w emulsjach, co zwiększyło mobilność cząsteczek. Układy na bazie lipidów strukturyzowanych wykazały większą stabilność termiczną od ŚM i EP. Mogło to mieć związek z wyższą temperaturą topnienia oleozeli, co zauważyli również Zhang i wsp. [2022]. Ponadto połączenia białkowo-lipidowe na granicy faz mogły zwiększyć oporność emulsji na działanie wysokiej temperatury.



Rys. 37. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji po cyklu ogrzewania w temperaturze 90°C przez 30 min (LUMiSizer)
 Objasnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożeli z 3-7% udziałem wosku kandelila.

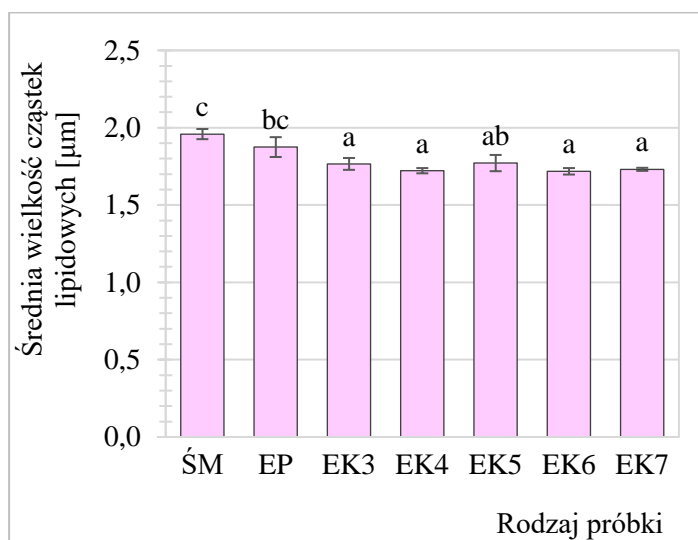
Stężenie WK w fazie lipidowej emulsji ogrzewanych nie miało istotnego statystycznie wpływu na stabilność wirówkową układów na bazie oleożeli (rys. 38, tab. A7 w aneksie). Zaobserwowano, że średnie wielkości cząstek lipidowych w emulsjach po ogrzewaniu były większe w przypadku ŚM, EP i EK3 (rys. 39, tab. A7 w aneksie), w porównaniu do ich „świeżych” odpowiedników (rys. 27). Oprócz zjawiska flotacji cząstek lipidowych (śmietankowania) mogła nastąpić ich częściowa agregacja.

Do zmian stabilności emulsji mogą przyczyniać się modyfikacje właściwości białek. Zdaniem Keerati-u-rai i Corredig [2009] ogrzewanie indukuje ich denaturację i tworzenie dużych agregatów białkowych na powierzchni cząstek zdyspergowanych. Według Dapuetto i wsp. [2019] wielkość cząstek lipidowych emulsji O/W (30/70) wzrasta wraz ze zwiększeniem stopnia denaturacji białka w wyniku obróbki termicznej.



Rys. 38. Średnie wartości indeksu niestabilności (a) oraz zmiany indeksu niestabilności (b) emulsji po ogrzewaniu w temperaturze 90°C przez 30 min (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).



Rys. 39. Średnie wielkości cząstek lipidowych emulsji po ogrzewaniu w temperaturze 90°C przez 30 min (Turbiscan Lab)

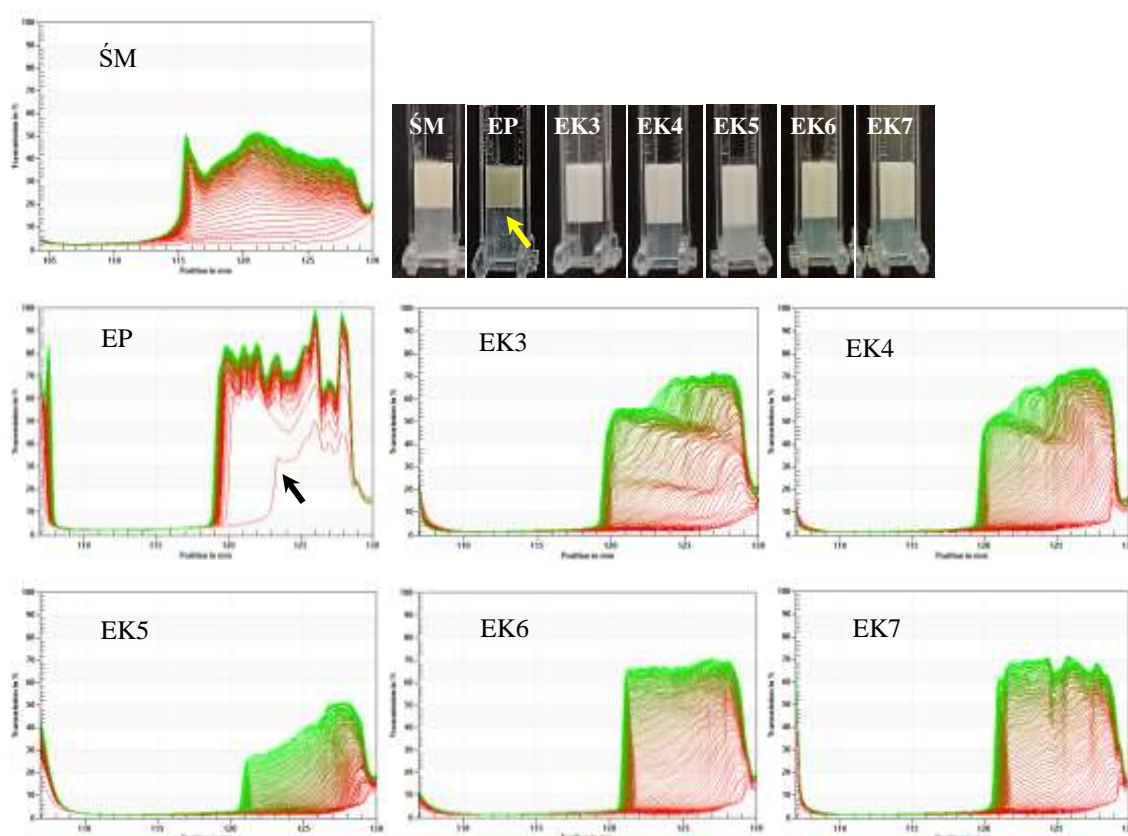
Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Stabilność emulsji poddanych cyklowi zamrażanie-rozmrażanie

Na rys. 40 przedstawiono profile transmisji światła przez próbki wcześniej zamrożone i rozmrożone. Podczas wirowania nastąpiło znaczne zwiększenie natężenia transmisji światła, zatem emulsje wykazywały stosunkowo wysoką niestabilność. Nierównomierny przebieg krzywych profili (rys. 40) wskazuje na zróżnicowaną szybkość

migracji cząstek (większe migrują szybciej niż mniejsze), co może wynikać z rozkładu polidispersyjnego. Do podobnych wniosków doszli Dammak i Sobral [2018].

Największą niestabilnością charakteryzowała się emulsja na bazie oleju palmowego (EP), bowiem już pierwsza krzywa (oznaczona czarną strzałką na rys. 40) wskazywała na wysoki poziom transmisji. Makroskopowy wygląd EP po rozmrożeniu przypominał skrzep (widoczny na ściankach probówki – żółta strzałka na rys. 40), co oznacza, że sam cykl zamrażania i rozmrażania spowodował istotne zmniejszenie jej stabilności (na skutek koagulacji).



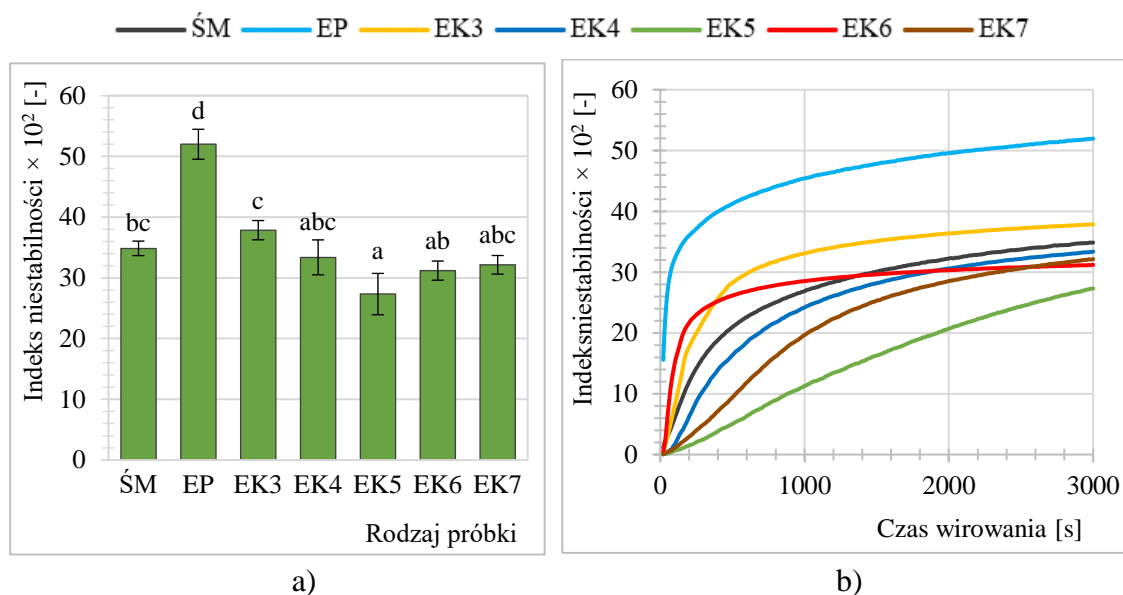
Rys. 40. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila.

W efekcie odnotowano zwiększenie indeksu niestabilności do wartości powyżej 50 (rys. 41) i średniej wielkości cząstek lipidowych do około 19,2 μm (rys. 42). Mogło to wynikać z obecności bardzo dużych kryształów lipidowych w fazie rozproszonej emulsji, które „wystają” poza warstwę międzyfazową cząstek lipidowych, zwiększając ryzyko ich łączenia w większe skupiska. Faza lipidowa o wysokiej temperaturze topnienia podlega

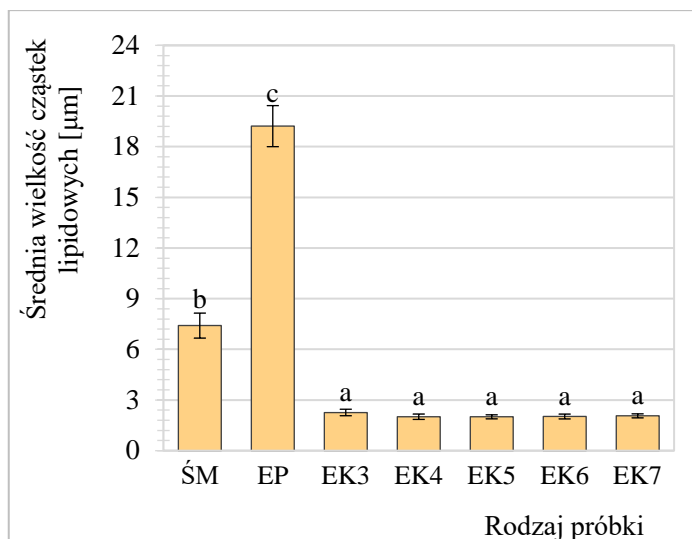
krystalizacji szybciej niż faza wodna podczas zamrażania, co również sprzyja agregacji cząstek rozproszonych [Chizawa i wsp. 2019]. Zaobserwowano, że zastosowanie lipidów wysokotopliwych do otrzymania emulsji pozwoliło zapobiec zjawisku całkowitej koalescencji („załamania emulsji”) po rozmrożeniu – nawet w przypadku najmniej stabilnej próbki.

Stabilność ŚM była większa od EP i jednocześnie zbliżona do emulsji na bazie oleożeli (rys. 41, tab. A7 w aneksie). Z kolei emulsje na bazie oleożeli nie różniły się średnimi wielkościami cząstek lipidowych (około 2,0-2,2 μm), a w ŚM parametr ten wzrósł od wartości około 1,83 μm (rys. 27) do około 7,4 μm (rys. 42, tab. A7 w aneksie). Cząsteczki WK mogły wzmocnić warstwę międzyfazową i przyczynić się do większej adsorpcji białka sojowego. Badania naukowe potwierdzają, że kompleksy białek z niektórymi substancjami (np. fosfolipidami, polisacharydami) zwiększają stabilność emulsji, w porównaniu do układów zawierających wyłącznie białka [Degner i wsp. 2014, Wang i wsp. 2017]. Najmniejszy spadek stabilności nastąpił w emulsji na bazie oleożelu z 5% stężeniem wosku kandelila (EK5) – wartość indeksu niestabilności nie przekroczyła 30 (rys. 41). Stosunkowo wysoka stabilność ŚM mogła wynikać z obecności karagenu, stabilizującego układ.



Rys. 41. Średnie wartości indeksu niestabilności (a) oraz zmiany indeksu niestabilności (b) emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-d – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).



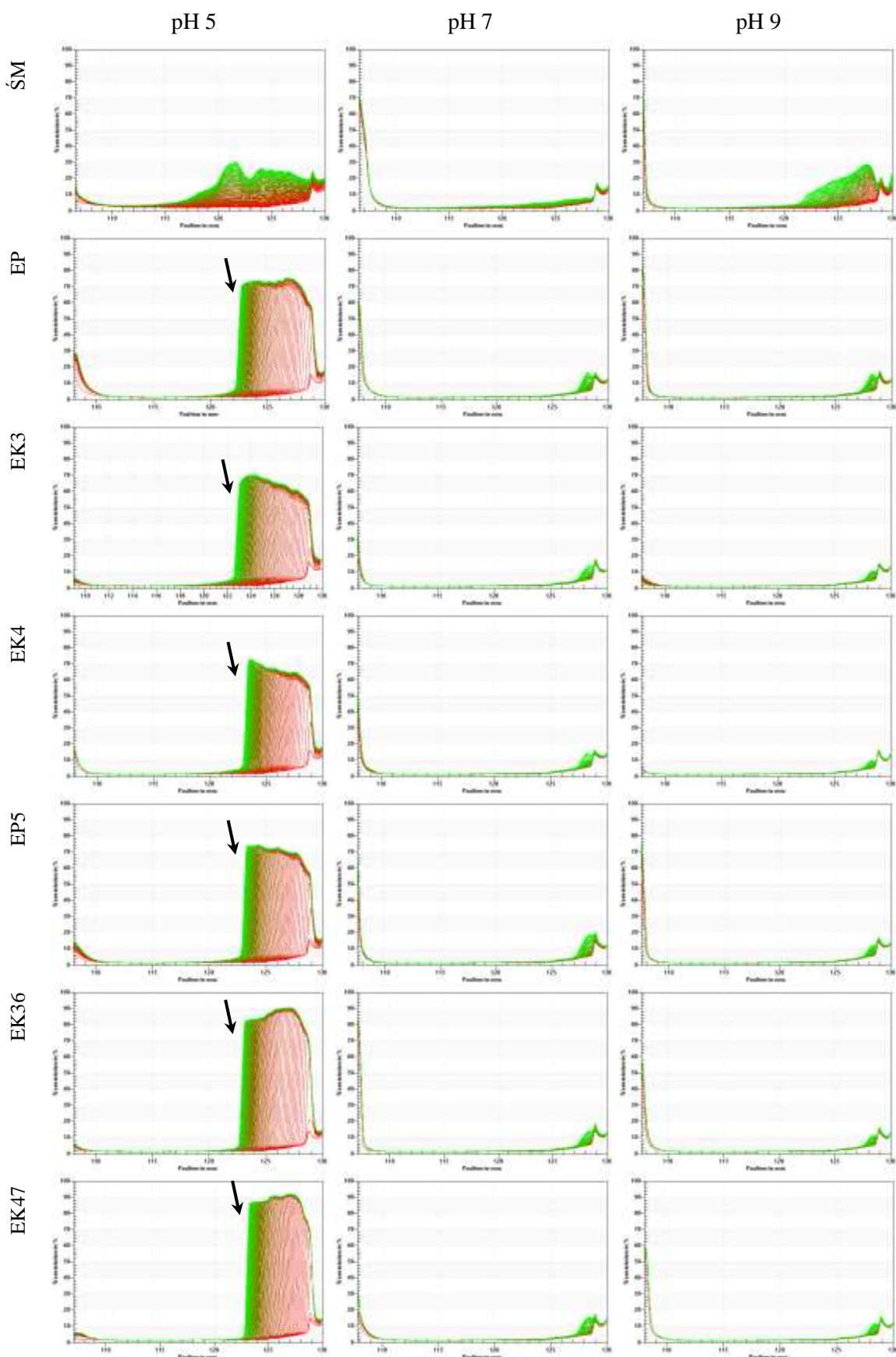
Rys. 42. Średnie wielkości cząstek lipidowych emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie (Turbiscan Lab)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Stabilność emulsji w różnym pH środowiska

Stabilność emulsji poddanych wirowaniu różniła się w zależności od pH. Największą niestabilnością cechowały się próbki zdyspergowane w środowisku o pH równym 5, czyli w pobliżu punktu izoelektrycznego (pI) białek mleka i białek sojowych. Nastąpiło zmniejszenie rozpuszczalności białek i przyspieszenie zjawiska śmietankowania, które wystąpiło z większą intensywnością w emulsjach doświadczalnych (z napojem sojowym) niż w śmietance mlecznej (rys. 43-44). Jednak kształt profili transmisji (regularny przebieg krzywych, podobny poziom zwiększającej się transmisji oraz „ostre czoło” profilu – zaznaczone na wykresach za pomocą czarnej strzałki) pozwala przypuszczać, że emulsje EK3-7 i EP zachowały unimodalny rozkład wielkości cząstek.

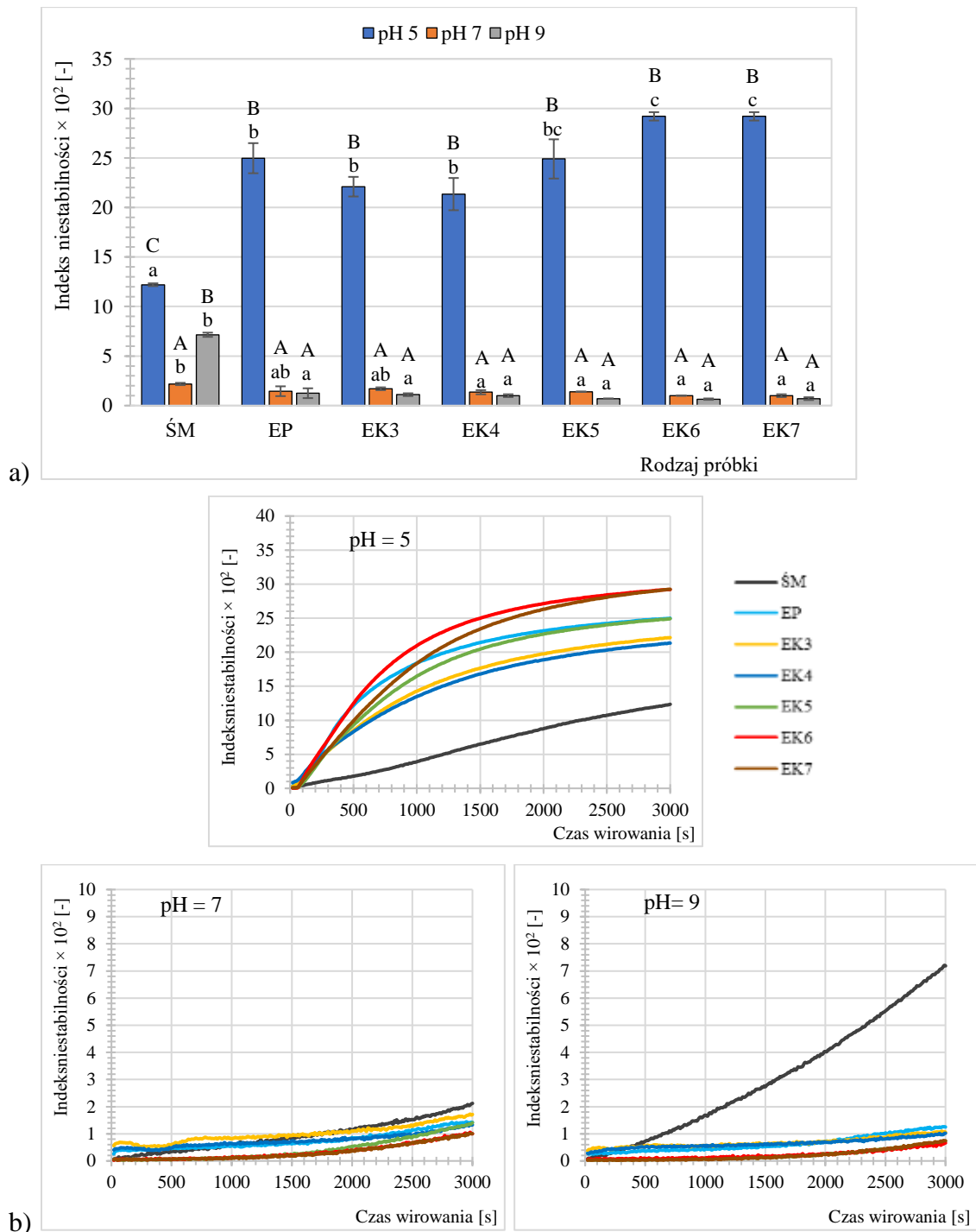
Emulsje doświadczalne były stosunkowo stabilne w środowisku o pH równym 7 i 9 (rys. 43-44) oraz nie wykazywały istotnych statystycznie różnic w średnich wielkościach cząstek lipidowych (rys. 45). Zhang i wsp. [2020] potwierdzili wysoką stabilność białek sojowych w $pH > 6$. Z kolei Mao i wsp. [2014] uzyskali najwyższą stabilność emulsji O/W na bazie strukturyzowanego MAG oleju sojowego, w pH równym 7 i 9 (zakres pH: od 3 do 11).



Rys. 43. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji zdyspergowanych w roztworach o pH równym 5, 7, 9, w stosunku obj. 1:1 (LUMiSizer)
 Objasnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;

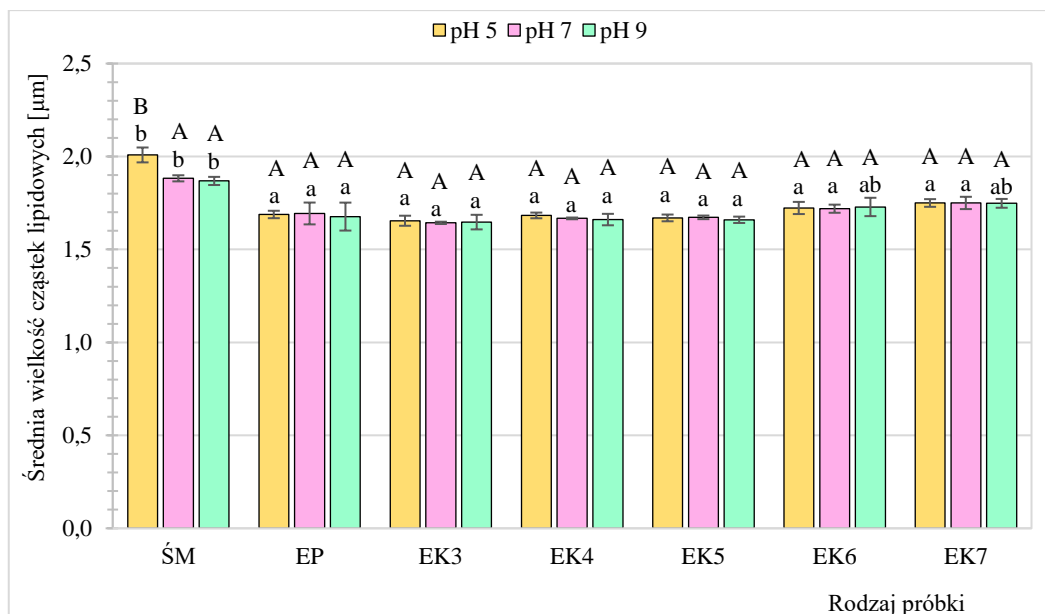
Pomimo niższej wartości indeksu niestabilności ŚM od pozostałych emulsji, kształt profilu transmisji światła (nieregularne, „poszarpane” krzywe, zróżnicowany poziom transmisji) wskazuje na agregację cząstek lipidowych (rys. 43-44), co potwierdziło zwiększenie średniej wielkości tych cząstek (rys. 45, tab. A8 w aneksie). Podobne spostrzeżenia mieli Wu i wsp. [2017], uzyskując znacznie większe średnie wielkości cząstek rozproszonych emulsji stabilizowanych białkami serwatkowymi przy pH w zakresie 4,0-5,5 (dostosowanym za pomocą roztworów NaOH lub HCl), w porównaniu z emulsjami stabilizowanymi lecytyną, niejonowym surfaktantem (Polisorbat 80) lub gumą arabską.

Mimo że zaobserwowano znaczące zwiększenie niestabilności śmietanki po zdyspergowaniu w środowisku o pH równym 9, to nie odnotowano różnic w średniej wielkości cząstek lipidowych, w porównaniu do pozostałych próbek (rys. 43-45, tab. A8 w aneksie). W ŚM występują dwa rodzaje białek: serwatkowe i kazeinowe, które mogą wykazywać zróżnicowaną oporność na zwiększenie wartości pH środowiska. Według Sinaga i wsp. [2017] w pH powyżej 8,5 micelle kazeinowe mogą ulegać dezintegracji strukturalnej. Proces ten prawdopodobnie przyczynia się do przyspieszenia śmietankowania (flotacji) lub sedymentacji cząstek lipidowych. W związku z powyższym emulsje typu O/W (30/70 obj./obj.), otrzymane z udziałem białek sojowych zamiast białek mleka, mogą wykazywać większą oporność na destabilizację w środowisku zasadowym.



Rys. 44. Średnie wartości indeksu niestabilności (a) oraz zmiany indeksu niestabilności podczas wirowania (b) emulsji zdyspergowanych w roztworach o pH równym 5, 7, 9, w stosunku obj. 1:1 (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-C – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: wartość pH), $p < 0,05$.



Rys. 45. Średnia wielkości cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworach o pH równym 5, 7, 9, w stosunku obj. 1:1 (Turbican Lab)

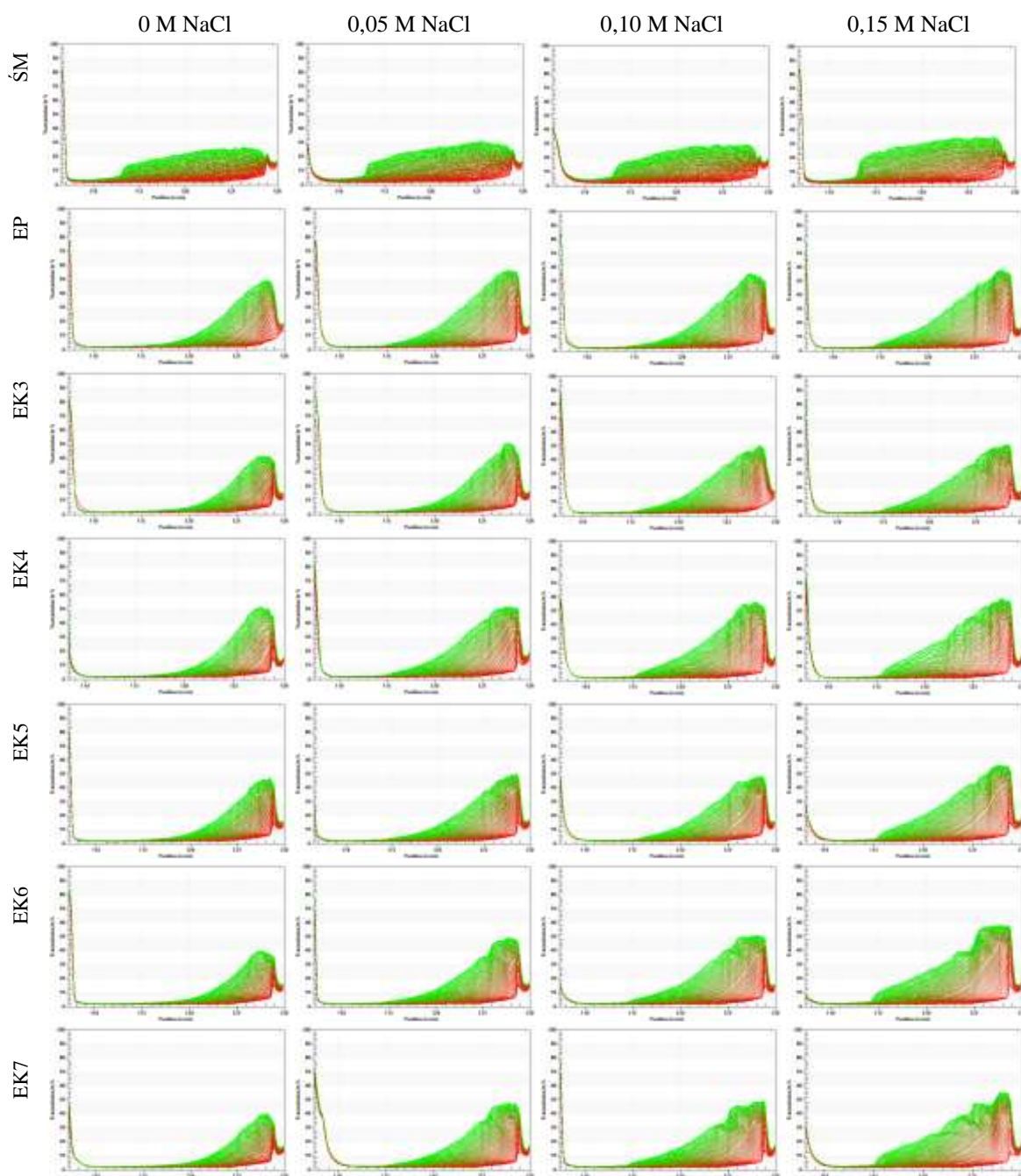
Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-b – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-B – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: wartość pH), $p < 0,05$.

Stabilność emulsji pod wpływem zmian siły jonowej środowiska

Emulsje poddano również oddziaływaniu różnych sił jonowych, a następnie przeanalizowano ich stabilność fizyczną. W tym celu emulsje zdyspergowano w roztworach NaCl o stężeniach 0 M, 0,05 M, 0,10 M lub 0,15 M w stosunku objętościowym 1:1, i pozostawiono w temperaturze 20°C na 24 h przed badaniami.

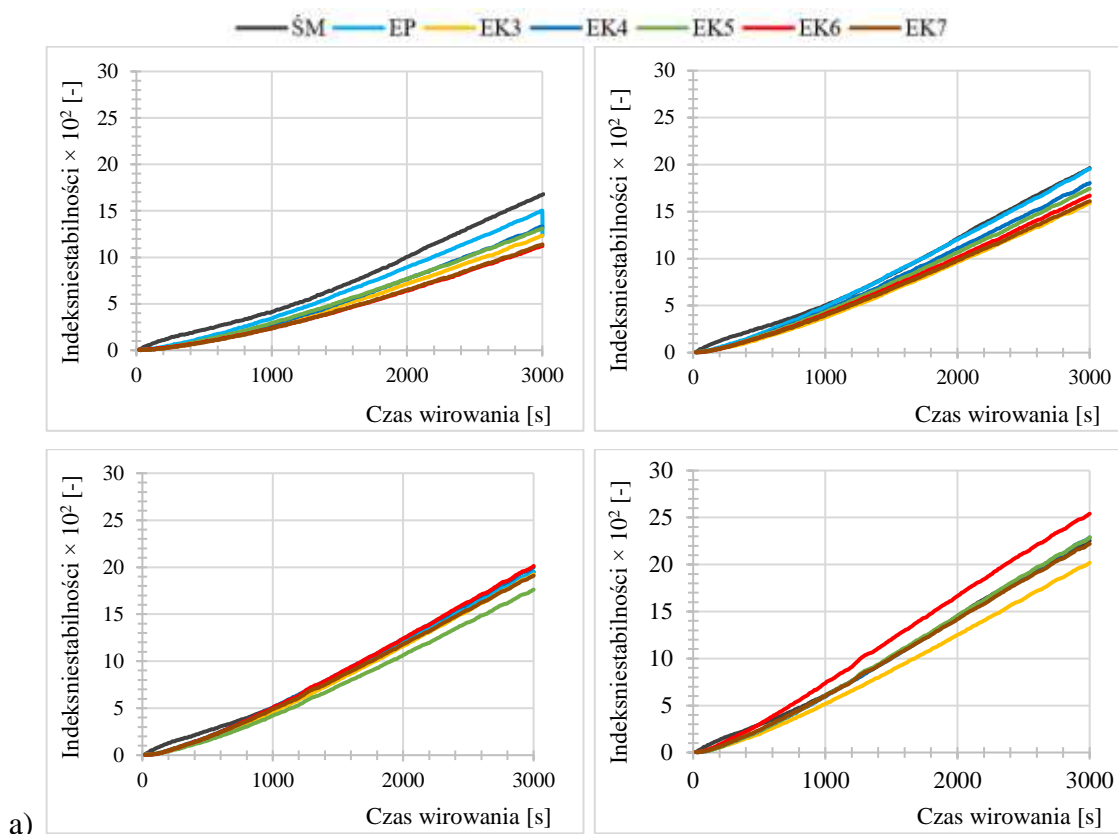
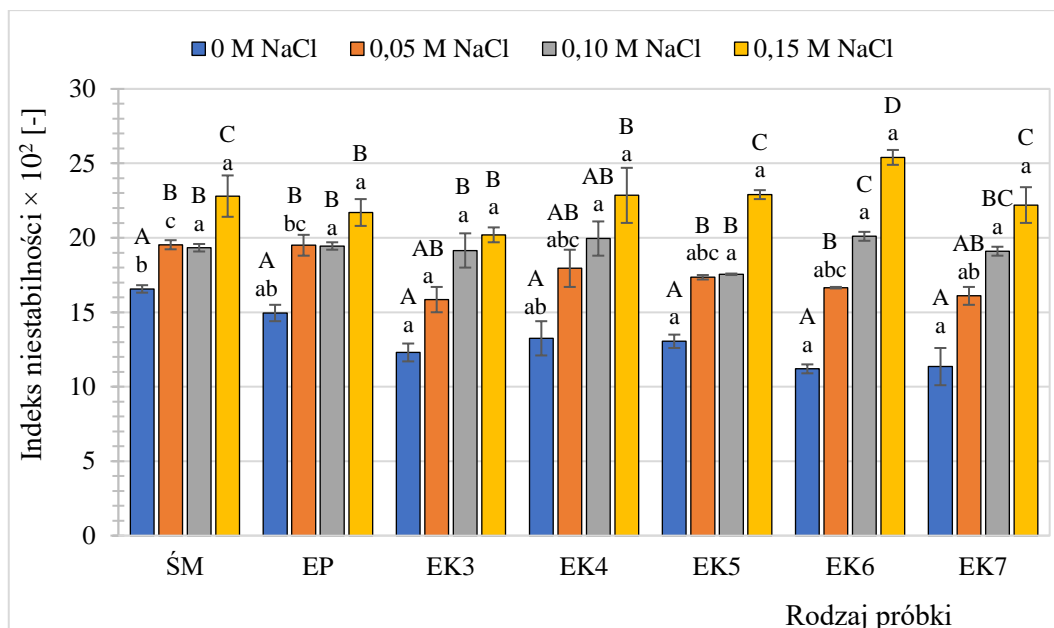
Na podstawie uzyskanych profili transmisji (rys. 46) stwierdzono, że we wszystkich badanych emulsjach stosunkowo intensywnie postępowało zjawisko flotacji cząstek lipidowych (śmietankowania). Niezależnie od zastosowanego stężenia roztworu NaCl, uzyskano profile „fingerprints” o kształcie charakterystycznym dla układów z rozkładem polidispersyjnym (rys. 46). Zarówno profile transmisji (rys. 46), jak i wartości indeksu niestabilności (rys. 47) wskazują na zmniejszenie oporności emulsji na działanie siły odśrodkowej pod wpływem zwiększenia siły jonowej środowiska (stężenia chlorku sodu). Natomiast nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami indeksu niestabilności emulsji, zdyspergowanych w roztworze o tym samym stężeniu NaCl. Jednakże odnotowano różnice pomiędzy próbkami tej samej emulsji, poddanej działaniu różnych sił jonowych. Emulsje na bazie oleożeli z 6% lub 7% stężeniem wosku, przy 0,15 M NaCl, charakteryzowały się największym przyrostem

(około 2-krotnym) wartości indeksu niestabilności, w porównaniu do emulsji zdyspergowanej w środowisku o 0 M stężeniu NaCl. W przypadku ŚM i EP różnice te były około 1,5-krotne mniejsze (rys. 47, tab. A9 w aneksie). Znaczący wpływ zwiększenia stężenia NaCl na przyspieszenie destabilizacji emulsji, otrzymanych z udziałem lipidu strukturyzowanego, wykazali również Mao i wsp. [2014].



Rys. 46. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji zdyspergowanych w roztworach NaCl o stężeniu 0 M, 0,05 M, 0,10 M lub 0,15 M, w stosunku obj. 1:1 (LUMiSizer)

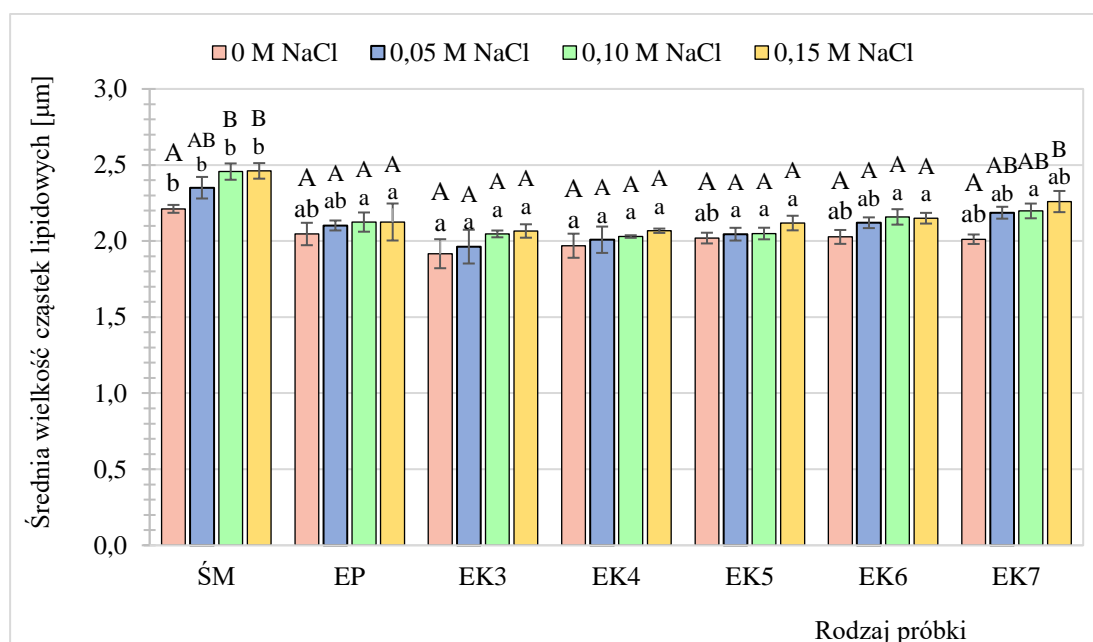
Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila;



Rys. 47. Średnie wartości indeksu niestabilności (a) oraz zmiany indeksu niestabilności podczas wirowania (b) emulsji zdyspergowanych w roztworach NaCl o stężeniu 0 M, 0,05 M, 0,10 M lub 0,15 M, w stosunku obj. 1:1 (LUMiSizer)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-c – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-D – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: stężenie NaCl), $p < 0,05$.

Zmiany siły jonowej środowiska spowodowały zwiększenie średniej wielkości cząstek lipidowych wszystkich emulsji, jednak nie przekraczały one rozmiarów 2,5 μm . Największe wartości tego parametru, przy 0,15 M NaCl, wykazano dla ŚM (około 2,46 μm) i EK7 (około 2,26 μm) – rys. 48, tab. A9 w aneksie. Przy zadanej sile jonowej środowiska (do 0,15 M NaCl) odpychanie elektrostatyczne cząstek lipidowych emulsji było wystarczająco silne, aby zapobiec procesowi deemulgacji układów. Zastosowanie stężenia roztworu NaCl powyżej 0,15 M mogłoby doprowadzić do intensywnej flokulacji cząstek rozproszonych, tak jak w badaniach Taha i wsp. [2018]. Przypuszcza się, że kryształy lipidowe obecne w fazie wewnętrznej emulsji mogą zmniejszać wrażliwość układów na wysokie stężenie chlorku sodu. Ponadto znaczne zwiększenie średniej wielkości cząstek rozproszonych emulsji, pod wpływem zwiększania siły jonowej środowiska, jest częstym zjawiskiem w przypadku emulsji otrzymanych z udziałem olejów nieskrystalizowanych [Zhang i wsp. 2022]. Według Munk i Andersen [2015] substancje strukturyzujące układy hydrofobowe (np. monoacyloglicerole), które są obecne w fazie lipidowej emulsji, mogą tworzyć sieć krystaliczną, która unieruchamia krople oleju i jednocześnie zapobiega separacji oleju z emulsji.

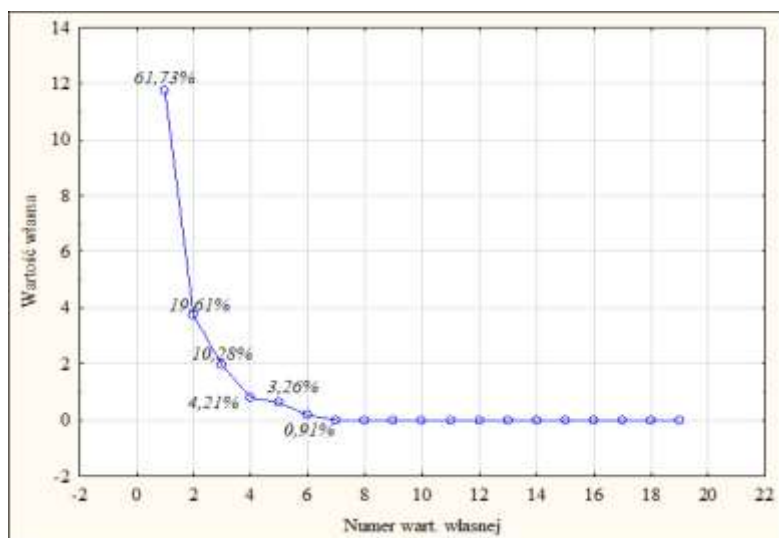


Rys. 48. Średnia wielkość cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworach NaCl o stężeniu 0 M, 0,05 M, 0,10 M lub 0,15 M, w stosunku obj. 1:1 (Turbiscan Lab)
 Objasnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila; a-b – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-B – różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: stężenie NaCl), $p < 0,05$.

4.2.8. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu II

Wyniki uzyskane w etapie II poddano wielowymiarowej analizie statystycznej – analizie składowych głównych z klasyfikacją (PCA). Analizie poddano 19 wybranych parametrów, które w największym stopniu opisywały wpływ rodzaju fazy lipidowej na właściwości emulsji typu śmietanka.

Wyodrębniono dwie składowe główne (czynniki), które wyjaśniały 81,34% wariacji: czynnik 1 – 61,73%, czynnik 2 – 19,61% (rys. 49).



Rys. 49. Wykres osypiska

Wykazano, że na pierwszą składową największy wpływ mają zmienne: indeksy bieli, parametry reologiczne i mikroreologiczne (współczynniki konsystencji, wykładniki płynięcia, indeksy lepkości makroskopowej, indeksy sprężystości, współczynniki równowagi ciec-ciało stałe) oraz indeksy niestabilności emulsji „świeżych”, ogrzewanych w temperaturze 90°C, zdyspergowanych w roztworach o różnym pH (5, 7 lub 9) lub w roztworach o najniższej sile jonowej, tj. 0 M lub 0,05 M stężeniu NaCl (1:1). Z kolei drugą składową najlepiej opisują zmienne: średnie wielkości cząstek lipidowych, współczynniki dyspersyjności oraz indeksy niestabilności emulsji zdyspergowanych w roztworze o najwyższej sile jonowej, tj. 0,15 M stężeniu NaCl (1:1). Wykazano mniej znaczącą korelację pomiędzy czynnikiem 2 i indeksem niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie. Jedynie indeks niestabilności emulsji zdyspergowanej w roztworze o 0,10 M stężeniu NaCl (1:1) nie miał istotnego wpływu na kształtowanie obu składowych głównych (tab. 12).

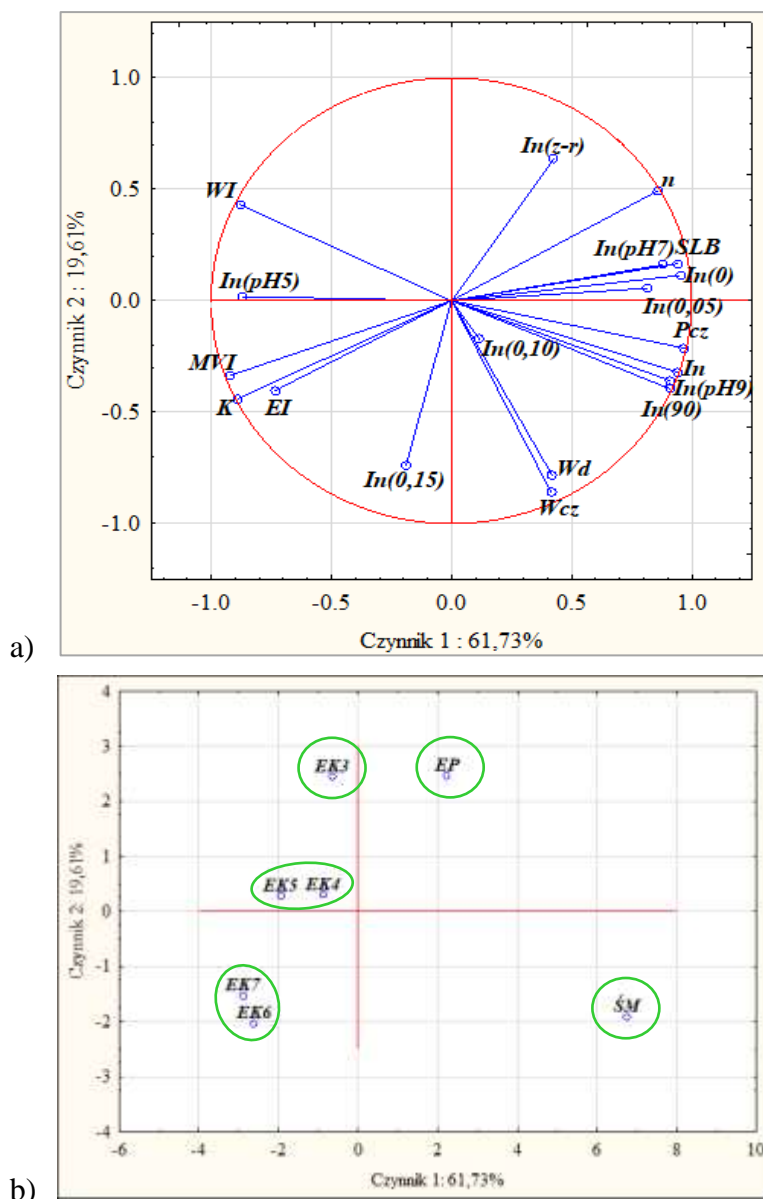
Tabela 12. Współczynniki korelacji pomiędzy czynnikami a zmiennymi

| Zmienna | Współczynnik korelacji (ρ) | |
|-----------------|-----------------------------------|-----------|
| | Czynnik 1 | Czynnik 2 |
| <i>WII</i> | -0,88 | 0,43 |
| <i>WczI</i> | 0,41 | -0,86 |
| <i>WdI</i> | 0,42 | -0,78 |
| <i>KI</i> | -0,89 | -0,44 |
| <i>nI</i> | 0,86 | 0,49 |
| <i>MVII</i> | -0,92 | -0,34 |
| <i>EII</i> | -0,73 | -0,40 |
| <i>SLBI</i> | 0,94 | 0,17 |
| <i>InI</i> | 0,94 | -0,32 |
| <i>PczI</i> | 0,97 | -0,21 |
| <i>In(z-r)</i> | 0,43 | 0,64 |
| <i>In(90)</i> | 0,91 | -0,39 |
| <i>In(pH5)</i> | -0,87 | 0,02 |
| <i>In(pH7)</i> | 0,88 | 0,16 |
| <i>In(pH9)</i> | 0,91 | -0,36 |
| <i>In(0)</i> | 0,95 | 0,11 |
| <i>In(0,05)</i> | 0,82 | 0,06 |
| <i>In(0,1)</i> | 0,12 | -0,17 |
| <i>In(0,15)</i> | -0,19 | -0,74 |

Objaśnienia: *WII* – indeks bieli [-], *WczI* – średnia wielkość cząstek lipidowych [μm], *WdI* – współczynnik dyspersyjności [-], *KI* – współczynnik konsystencji [$\text{mPa}\cdot\text{s}$], *nI* – wykładnik pływnięcia [-], *MVII* – indeks lepkości makroskopowej [nm^2], *EII* – indeks sprężystości [nm^2], *SLBI* – współczynnik równowagi ciec-ciało stałe [nm^2], *InI* – indeks niestabilności emulsji świeżych [-], *PczI* – prędkość cząstek emulsji świeżych w polu wirowania [$\mu\text{m/s}$], *In(z-r)* – indeks niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie [-], *In(90)* – indeks niestabilności emulsji po ogrzewaniu w temp. 90°C przez 30 min [-], *In(pH5/7/9)* – indeks niestabilności emulsji zdyspergowanych w roztworach o pH 5/7/9 w stosunku obj. 1:1 [-], *In(0/0,05/0,10/0,15)* – indeks niestabilności emulsji zdyspergowanych w roztworach o 0/0,05/0,10/0,15 M stężeniu NaCl w stosunku obj. 1:1 [-].

Na rys. 50 przedstawiono wektory badanych własności emulsji typu śmietanka w układzie dwóch wyodrębnionych składowych głównych. Zmienne o najkrótszych wektorach mają najmniejszy wpływ na kształtowanie dwóch pierwszych składowych i należą do nich: indeks niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie czy po zdyspergowaniu emulsji w roztworach o 0,05 M lub 0,15 M stężeniu chlorku sodu. Na podstawie wielkości kątów pomiędzy wektorami zmiennych zaobserwowano silne dodatnie korelacje między: indeksami niestabilności emulsji „świeżych” a indeksami niestabilności po ogrzewaniu w temperaturze 90°C (*InI-In(90)*), współczynnikami równowagi ciec-ciało stałe a indeksami niestabilności emulsji po zdyspergowaniu w roztworze o pH równym 7 w stosunku 1:1 (*SLBI-In(pH7)*), indeksami sprężystości

a współczynnikami konsystencji ($EII-KI$), średnimi wielkościami cząstek lipidowych a współczynnikami dyspersyjności ($WczI-WdI$). Z kolei silne ujemne korelacje stwierdzono pomiędzy: indeksami bieli a indeksami niestabilności emulsji po ogrzewaniu w temperaturze 90°C ($WII-In(90)$), indeksami lepkości makroskopowej a wykładnikami płynięcia ($MVII-nI$). Kąt prosty pomiędzy wektorami, m.in. $WczI$ i KI albo WdI i nI oznacza, że zmienne nie są ze sobą skorelowane (rys. 50a). Rozmieszczenie przypadków (obiektów) na płaszczyźnie czynników pozwala stwierdzić istotne podobieństwo pomiędzy emulsjami EK4 i EK5 oraz EK6 i EK7 (rys. 50b).



Rys. 50. Projekcja zmiennych (a) oraz projekcja przypadków (b) na płaszczyznę czynników

Objaśnienia jak pod rys. 48 i tab. 12; Próbkę w zielonym obramowaniu wykazywały podobieństwo.

Podsumowując wyniki badań przeprowadzonych w etapie II stwierdzono, że zastosowanie lipidów strukturyzowanych (z udziałem wosku kandelila), otrzymanych na bazie mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1), umożliwia otrzymanie emulsji O/W o podobnej barwie, lecz większej stabilności kinetycznej (w temperaturze 20°C), w porównaniu do emulsji na bazie oleju palmowego bądź śmietanki stabilizowanej karagenem. Najlepsze efekty uzyskano w przypadku emulsji na bazie oleożeli z 3%, 4% lub 5% stężeniem wosku kandelila (EK3, EK4, EK5). Jednak badania przeprowadzone wyłącznie na próbkach niepoddanych przechowywaniu nie umożliwiają jednoznacznego wskazania najlepszego wariantu. Dlatego w etapie III emulsje poddano testowi przechowalniczemu.

4.3. Etap III: Określenie jakości emulsji i wydzielonych z nich lipidów w czasie przechowywania

4.3.1. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany pH i barwy emulsji

Wyznaczano wartość pH emulsji na bazie oleju palmowego i oleożeli (z różnym stężeniem WK) oraz śmietanki, przechowywanych przez 28 dni w temperaturze 20°C. Zgodnie z literaturą zmiany pH emulsji wpływają na zmiany ładunku elektrycznego białek. W środowisku kwasowym, np. przy pH około 3,0, białka mają charakter kationowy, co uniemożliwia przyłączanie protleniających kationów metali, natomiast pozwala na wiązanie przeciwutleniaczy z ładunkiem ujemnym i opóźnianie przemian oksydacyjnych lipidów [Genot i wsp. 2013, Sun i wsp. 2011]. Z kolei przy pH bliskim punktowi izoelektrycznemu określonych białek, ich rozpuszczalność zmniejsza się, a zwiększa się podatność emulsji na destabilizację [McClements 2015, Wu i wsp. 2017]. Ponadto należy podkreślić, że stabilności fizyczna i oksydacyjna emulsji są często wzajemnie zależne. Wysoki stopień utlenienia lipidów może zmniejszyć oporność emulsji na działanie czynników fizycznych, natomiast niska stabilność fizyczna emulsji może sprzyjać przemianom oksydacyjnym fazy lipidowej [Sun i wsp. 2011, Meybodi i wsp. 2014].

ŚM charakteryzowała się średnio o około 3% niższym pH od wegańskich emulsji na bazie napoju sojowego. Emulsje doświadczalne nie wykazywały różnic w kwasowości czynnej, wyrażonej w wartościach pH. Uzyskane wyniki (tab. 13) mieściły się w zakresie wartości przewidzianych dla świeżego mleka krowiego lub napoju sojowego. Według Abou-Dobara i wsp. [2016] wartość pH tego typu produktów („świeżych”) nie powinna być mniejsza od 6,6, co świadczy o ich dobrej jakości. Nie zaobserwowano istotnych

statystycznie zmian pH emulsji w czasie 28 dni przechowywania. Na tej podstawie można wykluczyć wpływ pH badanych emulsji na stabilność oksydacyjną i fizyczną w czasie przechowywania.

Tabela 13. Średnie wartości pH emulsji przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

| Rodzaj emulsji | Czas przechowywania [dni] | | | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| ŚM | 6,68 ^{aA} ± 0,03 | 6,67 ^{aA} ± 0,02 | 6,65 ^{aA} ± 0,03 | 6,64 ^{aA} ± 0,04 | 6,63 ^{aA} ± 0,05 |
| EP | 6,91 ^{aB} ± 0,02 | 6,89 ^{aB} ± 0,03 | 6,86 ^{aB} ± 0,04 | 6,85 ^{aB} ± 0,03 | 6,85 ^{aB} ± 0,04 |
| EK3 | 6,90 ^{aB} ± 0,02 | 6,91 ^{aB} ± 0,02 | 6,90 ^{aB} ± 0,03 | 6,88 ^{aB} ± 0,03 | 6,85 ^{aB} ± 0,04 |
| EK4 | 6,92 ^{aB} ± 0,03 | 6,90 ^{aB} ± 0,03 | 6,88 ^{aB} ± 0,04 | 6,87 ^{aB} ± 0,05 | 6,86 ^{aB} ± 0,04 |
| EK5 | 6,91 ^{aB} ± 0,02 | 6,88 ^{aB} ± 0,04 | 6,87 ^{aB} ± 0,03 | 6,86 ^{aB} ± 0,04 | 6,85 ^{aB} ± 0,05 |
| EK6 | 6,91 ^{aB} ± 0,03 | 6,88 ^{aB} ± 0,03 | 6,86 ^{aB} ± 0,03 | 6,85 ^{aB} ± 0,04 | 6,84 ^{aB} ± 0,05 |
| EK7 | 6,90 ^{aB} ± 0,03 | 6,89 ^{aB} ± 0,02 | 6,87 ^{aB} ± 0,04 | 6,86 ^{aB} ± 0,03 | 6,84 ^{aB} ± 0,04 |

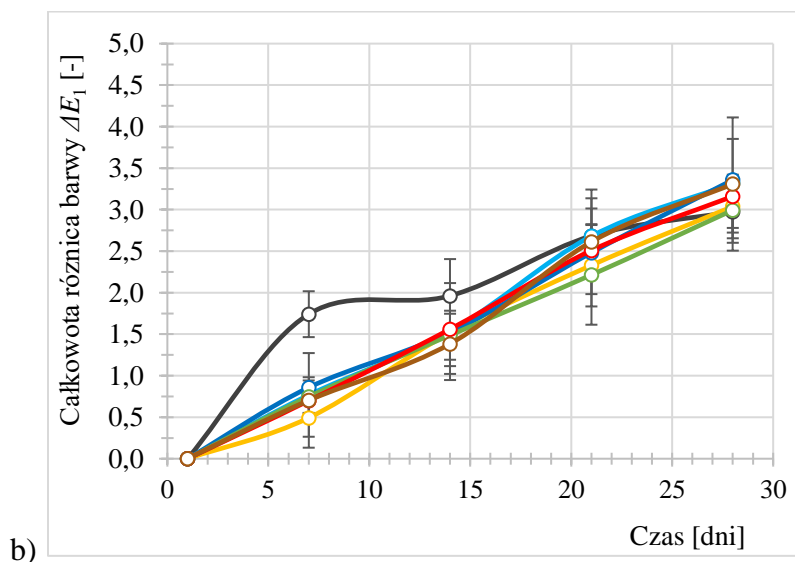
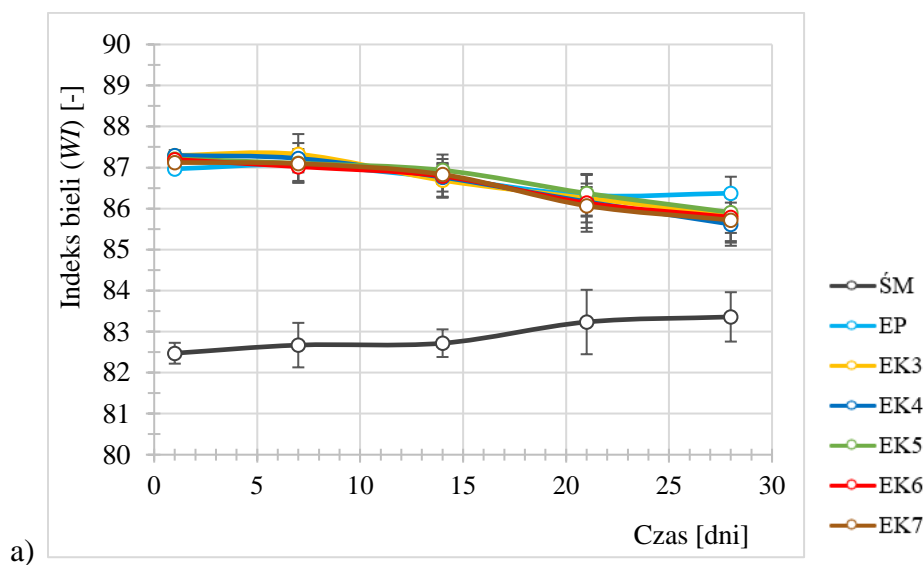
Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3%, 4%, 5%, 6% lub 7% m/m wosku kandelila; a-b – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-B – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Przeanalizowano wpływ czasu przechowywania emulsji na parametry barwy L^* , a^* , b^* (tab. A10 w aneksie), indeksy bieli (WI) oraz całkowite różnice barwy (ΔE_1), w odniesieniu do 1 dnia testu – rys. 51.

Śmietanka i EP nie wykazywały istotnych statystycznie różnic w średniej wartości WI przez cały okres przechowywania. Pozostałe emulsje charakteryzowały się istotnym zmniejszeniem wartości WI w 21 dniu testu przechowalniczego. Jednak zmienność wartości tego parametru w czasie przechowywania nie przekraczała 2%, w porównaniu z emulsjami „świeżymi” w 1 dniu testu (rys. 51a, tab. A10 w aneksie). Nieznaczne zmiany wartości indeksu bieli emulsji mogły wynikać z minimalnych zmian strukturalnych (na poziomie mikroskopowym), zwłaszcza rozmiarów cząstek rozproszonych. Duże cząstki rozpraszają światło w mniejszym stopniu niż małe cząstki, zatem w miarę zwiększania rozmiarów cząstek lipidowych (w wyniku koalescencji) emulsje mogą wykazywać mniejsze zmętnienie i większą intensywność zabarwienia [McClements 2015]. Salvia-Trujillo i wsp. [2015] zauważyli, że niestabilne emulsje O/W charakteryzują się znacznie niższą wartością WI , w porównaniu do emulsji stabilnych.

Wraz z upływem czasu przechowywania następowało zwiększenie wartości całkowitej różnicy barwy (ΔE_1) emulsji, obliczanej w odniesieniu do parametrów próbki w 1 dniu testu (rys. 51b). Po 7 dniach przechowywania odnotowano znaczące

zwiększenie wartości tego parametru ($\Delta E_1 > 1,0$) w przypadku ŚM (tab. A10 w aneksie), co oznacza, że po tym czasie różnice w barwie mogły być widoczne dla obserwatora wyłącznie między tymi próbkami. Po 14 dniach wartość ΔE_1 nie przekroczyła 2,0 we wszystkich badanych układach, zatem różnice w barwie były niewielkie, możliwe do zauważenia jedynie przez doświadczonego obserwatora. W ostatnim dniu testu przechowalniczego emulsje wciąż charakteryzowały się $2,0 < \Delta E \leq 3,5$, co świadczy o tym, że różnice barwy emulsji mogły być widoczne nawet dla niedoświadczonego obserwatora [Chudy i wsp. 2016].



Rys. 51. Średnie wartości indeksów bieli WI (a) i całkowitej różnicy barwy ΔE_1 (b) emulsji przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

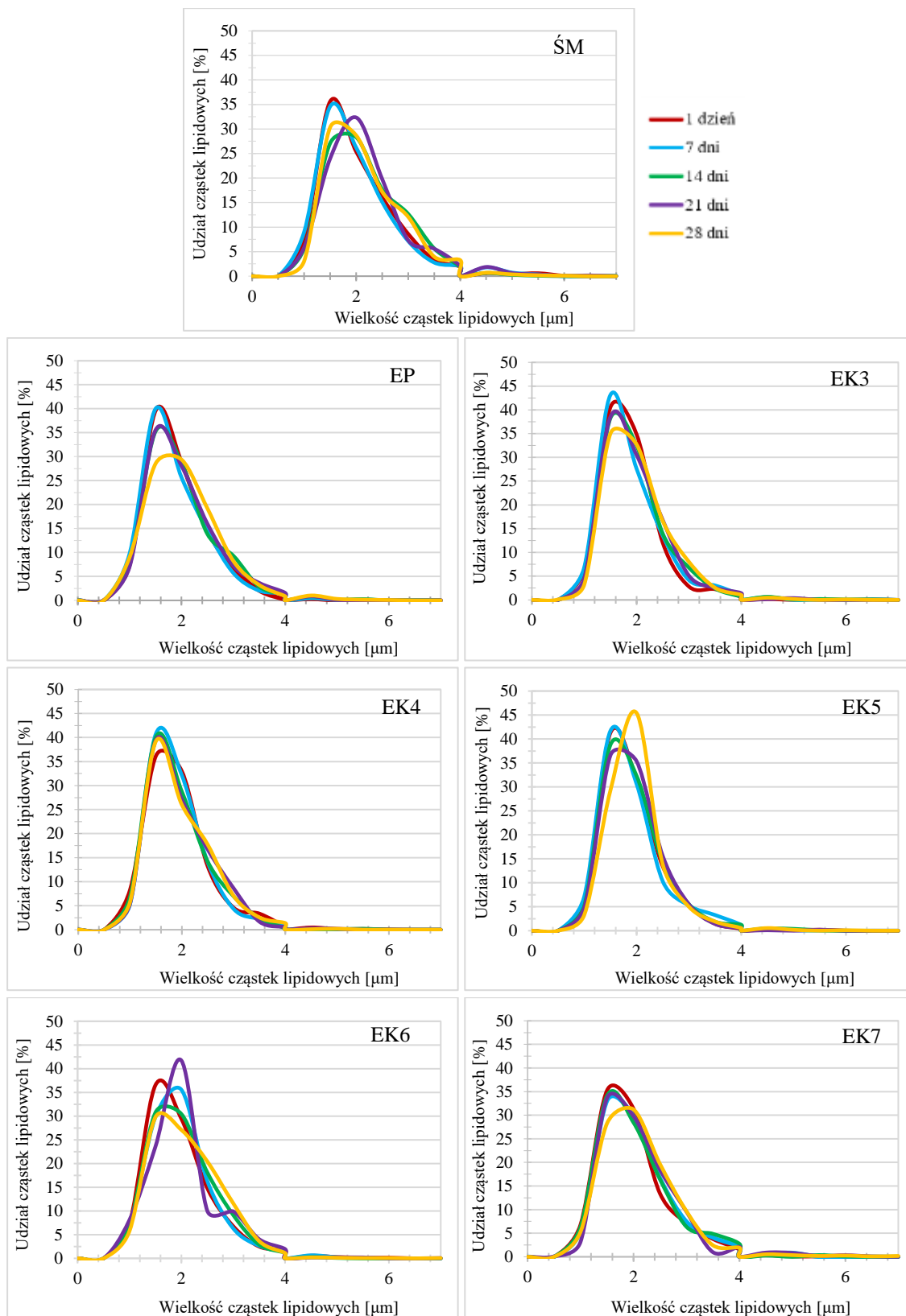
Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3-7% m/m wosku kandelila.

Wykazane zmiany barwy nie mogą być jednak bezwzględnym wskaźnikiem postępującej destabilizacji emulsji. Do podobnego wniosku doszły Kowalska i wsp. [2020], które badały właściwości emulsji O/W, zawierających przeestryfikowane chemicznie mieszanki oleju z pestek dyni z łożem cielęcym.

4.3.2. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany średniej wielkości i rozkładu wielkości cząstek lipidowych emulsji

Na rys. 52 przedstawiono krzywe rozkładu wielkości cząstek lipidowych emulsji przechowywanych przez 28 dni w temperaturze 20°C. Przebieg rozkładów wielkości cząstek lipidowych badanych próbek w czasie cechował się przesunięciem i/lub rozszerzeniem podstawy krzywych, informującym o zwiększeniu zróżnicowania rozmiarów cząstek w emulsji. Większość emulsji (EP, EK3-5) zachowało rozkład unimodalny w całym okresie przechowywania (pojedyncza frakcja cząstek lipidowych o danej wielkości). W drugiej połowie okresu przechowywania (po 21 dniach) śmietanka i emulsje z 6% lub 7% stężeniem WK (EK6, EK7) stawały się układami o rozkładzie bimodalnym. Odnotowano bowiem pojawienie się dodatkowej frakcji w zakresie większych rozmiarów cząstek lipidowych, tj. 3,0-4,0 μm . Mogło to wynikać z zapoczątkowania częściowej koalescencji tych cząstek [Zhang i wsp. 2020]. Wyraźniejsze rozkłady wielkości cząstek rozproszonych w ŚM zaobserwowano już w 14 dniu przechowywania, zaś w EP w 28 dniu testu. Z kolei najwęższe krzywe rozkładu po 28 dniach stwierdzono w przypadku EK3, EK4 i EK5.

Na podstawie rozkładów wielkości cząstek lipidowych emulsji obliczono wartości współczynnika dyspersyjności. Zmiany średnich wartości tego parametru w funkcji czasu można określić jako zmienność sinusoidalną. Jednakże w przypadku wszystkich wariantów zmienność ta nie przekraczała 10%. Układ EK5 cechował się istotnie statystycznie niższą wartością współczynnika dyspersyjności po 28 dniach przechowywania, w porównaniu z pozostałymi próbkami (rys. 53a, tab. A11 w aneksie). Emulsja ta charakteryzowała się zatem największą jednorodnością, która mogła znacząco zwiększać stabilność w czasie przechowywania. Również zdaniem Goh i wsp. [2021] emulsje o niskiej wartości współczynnika dyspersyjności często mają mniejsze cząstki lipidowe i wykazują zwiększoną oporność na separację grawitacyjną.



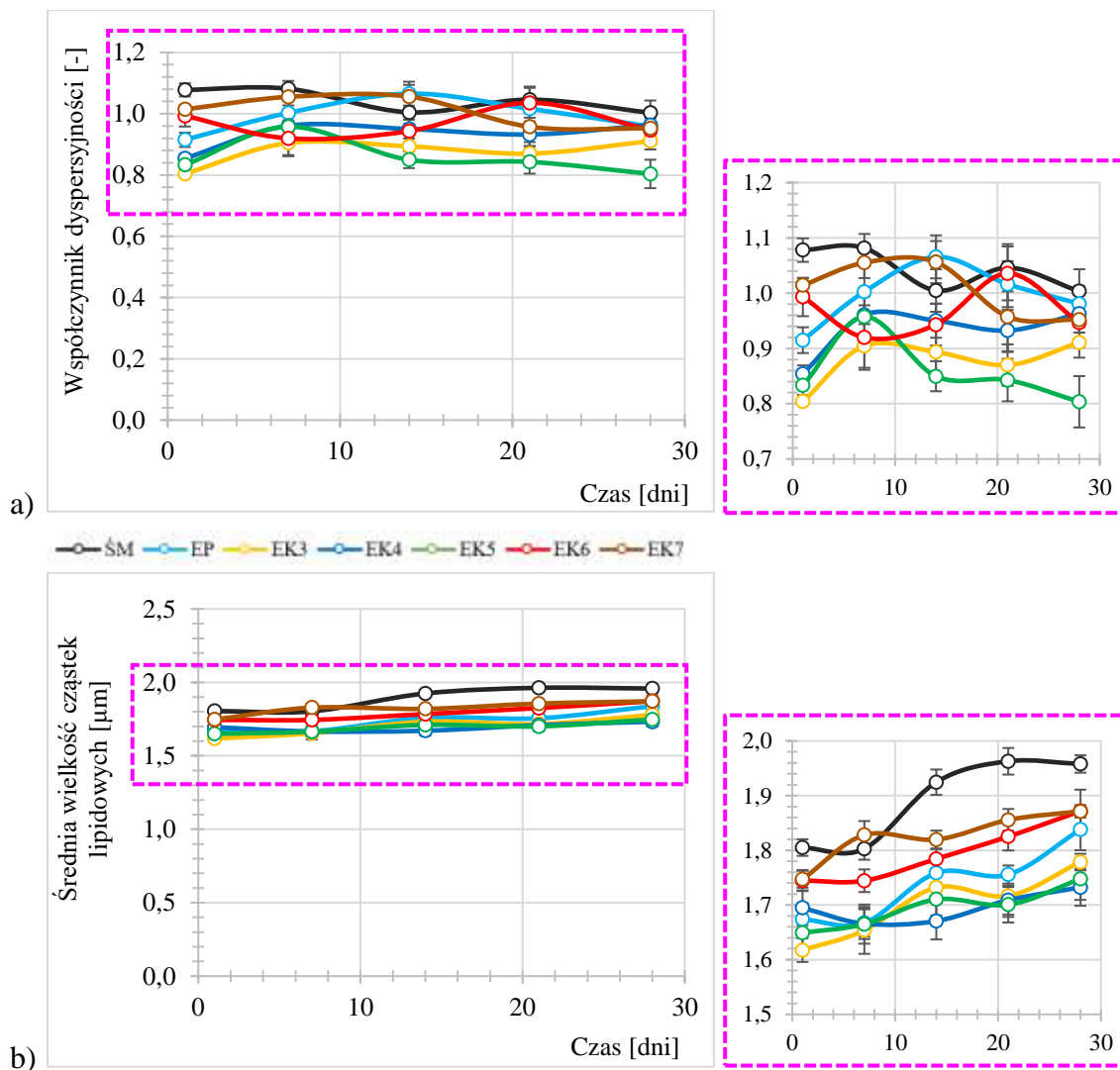
Rys. 52. Rozkład wielkości cząstek lipidowych emulsji (krzywe dyferencyjne) przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleozelem z 3-7% m/m wosku kandelila.

Ponadto zaobserwowano niewielkie zwiększenie średniej wielkości cząstek lipidowych emulsji w funkcji czasu (rys. A6). Najwyższą wartość tego parametru stwierdzono w ŚM po 28 dniach (około 1,97 μm). Pomimo że średnia wielkość cząstek EP była istotnie niższa po tym samym czasie (około 1,84 μm), to przyrost tej wartości był największy spośród wszystkich badanych układów i wyniósł około 10,4%, w porównaniu z 1 dniem testu przechowalniczego (rys. 53b, tab. A12 w aneksie). Mogło to wynikać z przekształceń form polimorficznych kryształów lipidowych w fazie rozproszonej emulsji. Olej palmowy i tłuszcz mleczny wykazują wysoką podatność na formowanie dużych, stabilnych kryształów (forma β) w stałej temperaturze $\geq 20^\circ\text{C}$ [Normah i wsp. 2013, Zaliha i wsp. 2015]. Takie modyfikacje struktury krystalicznej w EP i ŚM mogły przyczynić się do zwiększenia napięcia międzyfazowego, a w efekcie przyspieszyć agregację i flotację cząstek lipidowych.

Emulsje na bazie lipidów strukturyzowanych z 4% lub 5% stężeniem WK charakteryzowały się najmniejszymi średnimi wielkościami cząstek lipidowych, utrzymującymi się na względnie stałym poziomie w całym okresie przechowywania (rys. 53b, tab. A12 w aneksie). Zafeiri i wsp. [2017] również wykazali największą stabilność (w funkcji czasu) emulsji o najmniejszych rozmiarach cząstek lipidowych (uzyskanych za pomocą sonikacji).

W związku z powyższym wykazano, że zarówno czas przechowywania, jak i rodzaj fazy lipidowej miały wpływ na zmiany rozkładu i średniej wielkości cząstek fazy wewnętrznej emulsji. Ponadto duży udział w kształtowaniu struktury wewnętrznej emulsji, otrzymanych z udziałem lipidów strukturyzowanych (EK), miało stężenie WK w fazie lipidowej. Zbyt wysokie stężenie substancji strukturyzującej (w tym przypadku $\geq 6\%$ m/m wosku) może obniżyć stabilność emulsji O/W w funkcji czasu (w stałej temperaturze) – rys. 53, tab. A11-12 w aneksie. Można przypuszczać, że WK w fazie rozproszonej emulsji na poziomie 3-5% m/m współdziałał z białkami sojowymi w stabilizowaniu cząstek lipidowych podczas przechowywania. Podobne spostrzeżenia mieli Okuro i wsp. [2020], którzy wykazali, że emulsje O/W (90/10 m/m), zawierające na granicy faz białko serwatkowe (1% m/m) i wosk owocowy (7% m/m), charakteryzowały się mniejszymi średnimi wielkościami (około 1,66 μm) i węższym rozkładem wielkości cząstek lipidowych (zakres od około 0,5 μm do około 9,0 μm) po 7 dniach przechowywania w temperaturze 25°C , w porównaniu do emulsji otrzymanych z udziałem izolatu białek serwatkowych lub wosku i lecytyny.



Rys. 53. Współczynniki dyspersyjności (a) i średnie wielkości cząstek lipidowych (b) emulsji przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleżem z 3-7% m/m wosku kandelila.

4.3.3. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany właściwości mikroreologicznych i reologicznych emulsji

Właściwości reologiczne ŚM i wegańskich emulsji typu śmietanka w czasie przechowywania przebadano wykorzystując metodę nieinwazyjną – spektroskopię fal dyfuzyjnych (reometr optyczny Rheolaser Master) oraz metodę inwazyjną – ścinanie rotacyjne ze zmienną prędkością obrotową (wiskozyometr rotacyjny Brookfield).

Przystępując do interpretacji wyników pomiaru właściwości mikroreologicznych emulsji w czasie, należy pamiętać, że wiązka laserowa źródła światła jest skierowana prostopadle do ścianek fiolki, na wysokości 24 mm od jej dna. Zatem wyznaczane

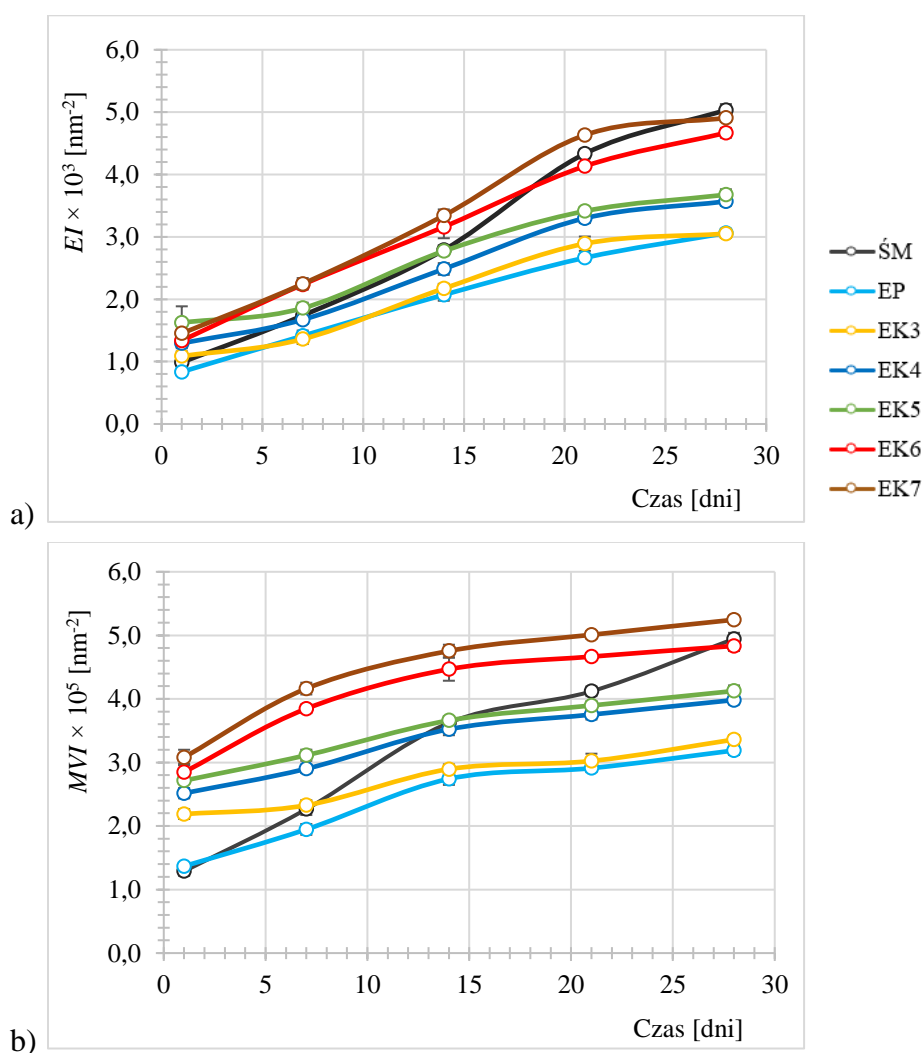
parametry mikroreologiczne obrazują zmiany strukturalne, zachodzące w tym obszarze próbki [Degrand i wsp. 2016, Rohart i wsp. 2016].

Wszystkie badane emulsje charakteryzowały się zwiększeniem średnich wartości indeksu sprężystości (*EI*) i indeksu lepkości makroskopowej (*MVI*) w czasie przechowywania. Zaobserwowano istotne statystycznie różnice, które wynikały ze stopnia i dynamiki tych zmian (tab. A13-14 w aneksie). Z największą szybkością zmiany zachodziły w ŚM, skutkując odpowiednio około 5- i 4-krotnym zwiększeniem średnich wartości *EI* i *MVI* przez 28 dni przechowywania. Z kolei najmniejszą zmiennością mierzonych parametrów cechowała się emulsja na bazie oleożelu z 5% m/m WK (EK5) (rys. 54), co może świadczyć o największej stabilności tej próbki w teście przechowalniczym. Taha i wsp. [2019] potwierdzili, że zmiany wartości parametrów mikroreologicznych obrazują migrację i interakcję cząstek zdyspergowanych w emulsji, pozwalając na śledzenie zmian jej stabilności.

Na rys. 55 przedstawiono przebieg krzywych lepkości emulsji podczas 28-dniowego testu przechowalniczego (20°C). We wszystkich układach zaobserwowano zmniejszenie lepkości pozornej wraz ze zwiększającą się szybkością ścinania, na każdym etapie przechowywania. Emulsje zachowały zatem charakter cieczy rozrzedzanych ścinaniem (bez granicy płynięcia). Uzyskane krzywe opisano modelem matematycznym Ostwalda de Waele'a i wyliczono parametry reologiczne, takie jak współczynniki konsystencji – *K* i wykładniki płynięcia – *n*. Współczynniki determinacji (R^2) wyniosły $> 0,9$, co wskazuje, że model ten dobrze opisał zachowanie reologiczne badanych emulsji. Średnie wartości wykładnika płynięcia były niższe od 1,0, co potwierdza pseudoplastyczny przepływ emulsji poddanych ścinaniu (tab. 14). Zaobserwowano również, że mniejszą zdolność do płynięcia miały układy na bazie oleożeli z większym udziałem WK (rys. 55). Podobne właściwości reologiczne wykazywały emulsje O/W (20/80 m/m) na bazie oleju kukurydzianego, stabilizowane niejonowym surfaktantem (Polisorbat 80), z dodatkiem śluzu z nasion chia w różnych stężeniach (0,25-1,00%), będące przedmiotem badań Capitani i wsp. [2016].

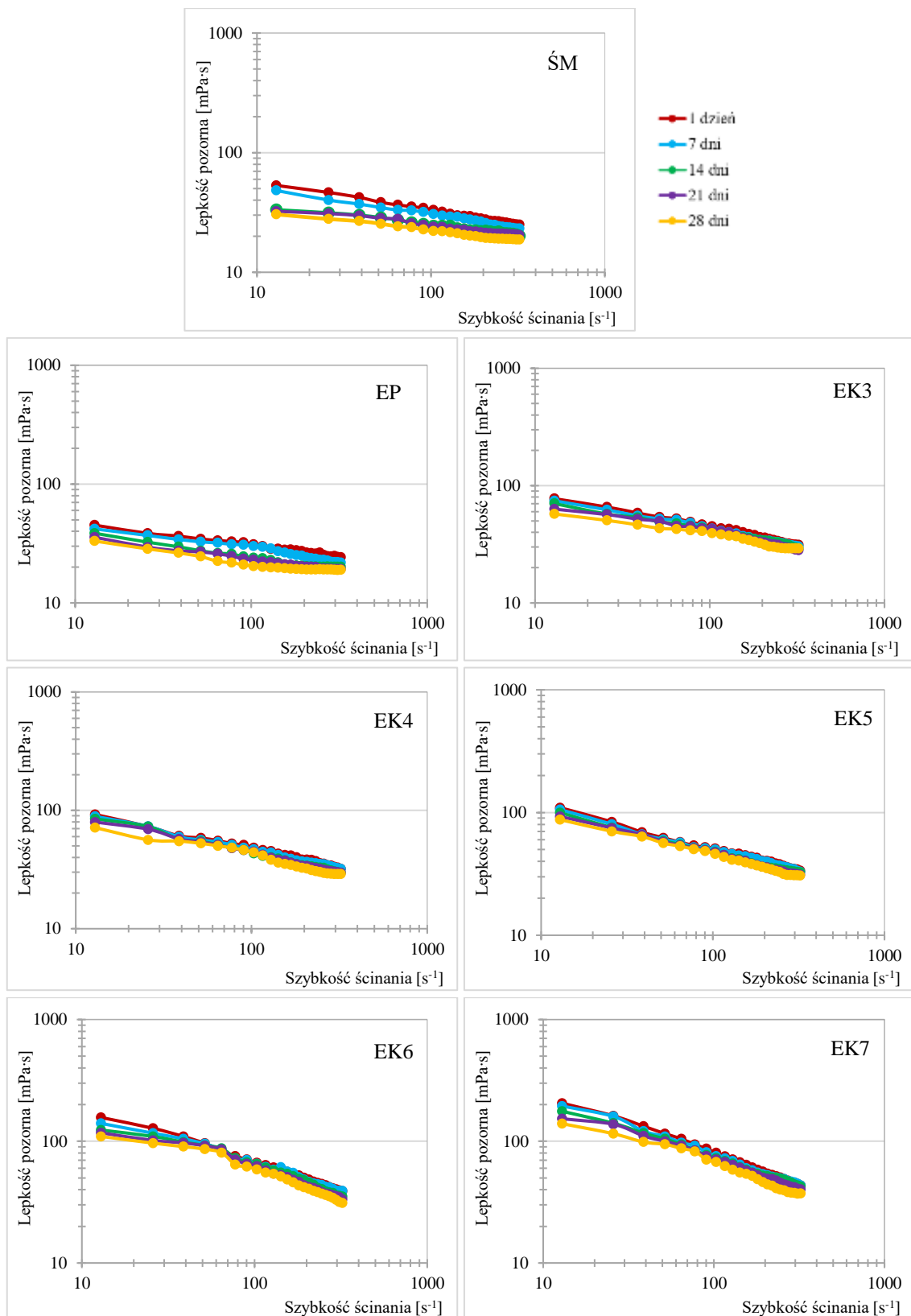
Ponadto zaobserwowano obniżenie położenia krzywych lepkości, obrazujących kolejne dni badania (rys. 55), co świadczy o zmniejszaniu się lepkości emulsji w czasie przechowywania. Podobną tendencję zauważyli Kupongsak i Sathitvorapojjana [2017] w majonezach otrzymanych na bazie oleju z otrębów ryżowych (72% m/m), przechowywanych przez 28 dni w temperaturze 30°C.

Wykazano istotne statystycznie zmniejszenie średnich wartości współczynnika konsystencji (K) w funkcji czasu (tab. 14). W ostatnim dniu testu współczynniki konsystencji ŚM i EP miały o około 30% niższą wartość, w porównaniu z 1 dniem przechowywania. W przypadku emulsji na bazie oleożeli z 3-6% m/m WK różnica ta nie przekroczyła 20%. Na zwiększenie płynności próbek, poza zmniejszeniem wartości współczynnika konsystencji (K), wskazywało również zwiększenie wartości wykładnika płynięcia (n). Stwierdzono większą stabilność konsystencji emulsji z oleoželami w czasie przechowywania, w porównaniu do emulsji na bazie OP oraz śmietanki wyprodukowanej w warunkach przemysłowych i stabilizowanej karagenem.



Rys. 54. Indeksy sprężystości – EI (a) i indeksy lepkości makroskopowej – MVI (b) emulsji przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% udziałem wosku kandelila.



Rys. 55. Krzywe lepkości śmietanki i otrzymanych emulsji typu śmietanka przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego, EK3-7 – emulsja na bazie olejozolu z 3-7% udziałem wosku kandelila.

Tabela 14. Parametry reologiczne emulsji przechowywanych przez 28 dni w temp. 20°C

| Rodzaj emulsji | Parametr | Czas przechowywania [dni] | | | | |
|----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| ŚM | <i>K</i> | 81,61 ^{dA} ± 4,03 | 73,00 ^{cA} ± 1,13 | 64,47 ^{bB} ± 0,95 | 58,96 ^{abB} ± 1,14 | 54,03 ^{aA} ± 0,99 |
| | <i>n</i> | 0,80 ^{aD} ± 0,02 | 0,85 ^{bF} ± 0,02 | 0,86 ^{bF} ± 0,01 | 0,88 ^{bCF} ± 0,01 | 0,91 ^{cE} ± 0,01 |
| | <i>R</i> ² | 0,90 ± 0,01 | 0,94 ± 0,01 | 0,91 ± 0,01 | 0,93 ± 0,01 | 0,92 ± 0,01 |
| EP | <i>K</i> | 72,73 ^{cA} ± 3,59 | 66,92 ^{bA} ± 1,50 | 55,03 ^{aA} ± 1,59 | 54,16 ^{aA} ± 1,18 | 51,44 ^{aA} ± 0,55 |
| | <i>n</i> | 0,81 ^{aD} ± 0,02 | 0,87 ^{bF} ± 0,01 | 0,89 ^{bG} ± 0,01 | 0,92 ^{cG} ± 0,00 | 0,93 ^{cE} ± 0,01 |
| | <i>R</i> ² | 0,92 ± 0,01 | 0,93 ± 0,01 | 0,92 ± 0,01 | 0,95 ± 0,01 | 0,94 ± 0,01 |
| EK3 | <i>K</i> | 172,77 ^{dB} ± 4,90 | 164,32 ^{cB} ± 0,98 | 157,14 ^{bC} ± 1,12 | 156,50 ^{bC} ± 1,05 | 147,90 ^{aB} ± 1,36 |
| | <i>n</i> | 0,72 ^{aC} ± 0,01 | 0,75 ^{bE} ± 0,01 | 0,77 ^{bE} ± 0,00 | 0,79 ^{cE} ± 0,01 | 0,81 ^{cD} ± 0,01 |
| | <i>R</i> ² | 0,93 ± 0,01 | 0,93 ± 0,02 | 0,90 ± 0,01 | 0,95 ± 0,01 | 0,91 ± 0,01 |
| EK4 | <i>K</i> | 221,40 ^{cC} ± 3,92 | 214,39 ^{cC} ± 2,71 | 198,52 ^{bD} ± 3,12 | 198,94 ^{bD} ± 1,06 | 190,10 ^{aC} ± 1,41 |
| | <i>n</i> | 0,67 ^{aB} ± 0,01 | 0,70 ^{bD} ± 0,01 | 0,72 ^{bC} ± 0,01 | 0,74 ^{cD} ± 0,01 | 0,76 ^{dC} ± 0,02 |
| | <i>R</i> ² | 0,94 ± 0,02 | 0,92 ± 0,01 | 0,90 ± 0,01 | 0,96 ± 0,02 | 0,93 ± 0,03 |
| EK5 | <i>K</i> | 254,16 ^{dD} ± 4,66 | 229,53 ^{cD} ± 3,00 | 215,17 ^{bE} ± 2,09 | 214,25 ^{bE} ± 1,53 | 205,75 ^{aD} ± 1,35 |
| | <i>n</i> | 0,65 ^{aB} ± 0,01 | 0,67 ^{aC} ± 0,01 | 0,69 ^{bC} ± 0,02 | 0,71 ^{bC} ± 0,01 | 0,73 ^{cB} ± 0,00 |
| | <i>R</i> ² | 0,92 ± 0,02 | 0,93 ± 0,01 | 0,95 ± 0,02 | 0,94 ± 0,03 | 0,92 ± 0,01 |
| EK6 | <i>K</i> | 293,87 ^{eE} ± 2,92 | 283,56 ^{dE} ± 2,86 | 268,50 ^{cF} ± 2,22 | 257,66 ^{bF} ± 1,49 | 243,81 ^{aE} ± 1,28 |
| | <i>n</i> | 0,59 ^{aA} ± 0,01 | 0,64 ^{bB} ± 0,01 | 0,66 ^{bB} ± 0,01 | 0,69 ^{cB} ± 0,01 | 0,71 ^{dB} ± 0,01 |
| | <i>R</i> ² | 0,92 ± 0,02 | 0,93 ± 0,02 | 0,95 ± 0,02 | 0,93 ± 0,01 | 0,96 ± 0,03 |
| EK7 | <i>K</i> | 304,83 ^{eE} ± 5,23 | 293,62 ^{dF} ± 2,46 | 276,00 ^{cG} ± 1,45 | 264,45 ^{bG} ± 1,35 | 240,90 ^{aF} ± 1,69 |
| | <i>n</i> | 0,56 ^{aA} ± 0,01 | 0,59 ^{bA} ± 0,01 | 0,61 ^{bA} ± 0,01 | 0,63 ^{cA} ± 0,01 | 0,66 ^{dA} ± 0,01 |
| | <i>R</i> ² | 0,94 ± 0,02 | 0,90 ± 0,01 | 0,92 ± 0,02 | 0,94 ± 0,03 | 0,91 ± 0,02 |

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleozelem z 3-7% m/m wosku kandelila; *K* – współczynnik konsystencji, *n* – wykładnik płynięcia, *R*² – współczynnik determinacji (stopień dopasowania modelu); a-e – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru (zmienna grupująca: czas przechowywania), *p* < 0,05; A-F – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), *p* < 0,05.

4.3.4. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany stabilności fizycznej emulsji

Analizę zmian stabilności emulsji w czasie przechowywania przeprowadzono przy zastosowaniu metody grawitacyjnej (Turbiscan Lab) i metody wirówkowej (LUMiSizer).

Na rys. 56 przedstawiono zmiany natężenia światła wstecznie rozproszonego (*ΔRW*) przez przechowywane próbki, w odniesieniu do 1 dnia testu (niebieska linia). Lewa strona profilu przedstawia dolną część próbki, której menisk znajduje się na wysokości około 41 mm. Pojawienie się pików pod niebieską linią oznacza spadek intensywności rozproszenia wstecznego – wzrost transmisji, związany ze zmniejszeniem koncentracji

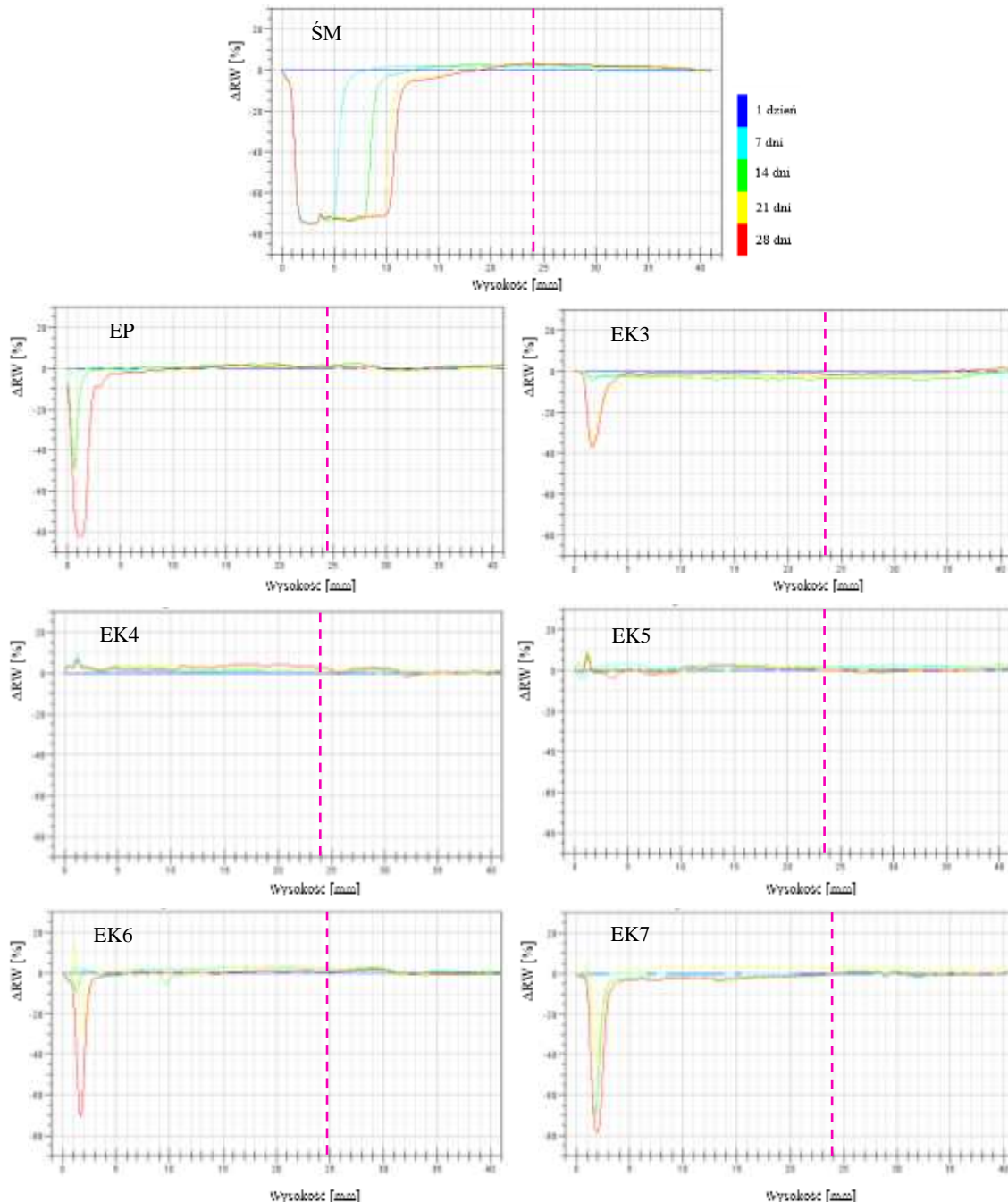
cząstek (klarowaniem próbki). Obecność coraz większych pików z lewej strony wykresu i ich rozszerzanie się w prawo informuje o migracji cząstek w górną część próbki (najbardziej widoczne w przypadku ŚM). Na tej podstawie można stwierdzić, że w czasie badania postępowało zjawisko separacji grawitacyjnej emulsji – śmietankowanie. Z kolei brak wyraźnej zmiany w przebiegu krzywych (wartości ΔRW) z prawej strony wykresu, informuje o tym, że nie nastąpiły znaczące zmiany rozmiarów cząstek lipidowych emulsji. Podobne profile ΔRW uzyskały Kowalska i wsp. [2017] dla emulsji O/W (35/65 m/m), otrzymanych z udziałem oleju sezamowego, karboksymetylocelulozy i lecytyny, przechowywanych przez 15 tygodni w temperaturze 23°C. Autorki wykazały, że w układach tych rozpoczął się proces śmietankowania (zmniejszenie natężenia światła wstecznie rozproszonego w dolnej części próbki) i nie nastąpiło istotne zwiększenie wielkości cząstek rozproszonych (brak znacznego zmniejszenia RW na całej wysokości próbki). Również Matos i wsp. [2018] uzyskali podobne wyniki (wyłącznie flotacja cząstek lipidowych, bez zmian ich rozmiarów) w przypadku emulsji Pickeringa O/W (30/70 m/m), stabilizowanych modyfikowaną skrobią z nasion komosy ryżowej, przechowywanych przez 30 dni w temperaturze 30°C.

Podsumowując analizę profili ΔRW (rys. 56) stwierdzono, że najmniejszą stabilnością w teście przechowalniczym Turbiscan charakteryzowała się ŚM, natomiast największą stabilnością emulsje na bazie oleożeli z 4% lub 5% m/m wosku kandelila.

W oparciu o profile wstecznego rozproszenia światła wyznaczono indeksy stabilności Turbiscan (TSI) dla emulsji na każdym etapie testu przechowalniczego. Na rys 57 przedstawiono zmiany średniej wartości TSI podczas 28 dni przechowywania. Zaobserwowano istotne zwiększenie TSI wszystkich badanych emulsji w funkcji czasu (tab. A15 w aneksie). Przebieg krzywych dowodzi, że przyrost wartości TSI w czasie był coraz mniejszy (rys. 57), zatem następowało spowolnienie procesów destabilizacji układów. Zdaniem Sęk i Głębały [2011] zachowanie rozproszonych cząstek lipidowych podczas deemulgacji układu przypomina procesy zachodzące w ruchu drogowym, gdyż migrują one z pewną prędkością początkową, następnie zwalniają (ruch opóźniony) napotykając inne cząstki – podobnie jak pojazdy w tzw. korku ulicznym.

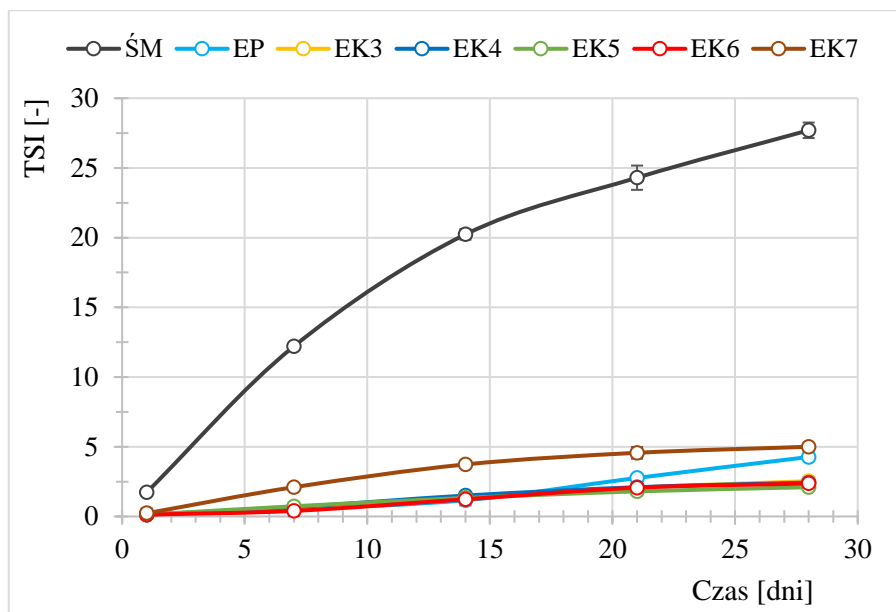
W ostatnim dniu testu przechowalniczego ŚM osiągnęła TSI około 27,7. W przypadku pozostałych emulsji wartość tego parametru mieściła się w zakresie 2,1-5,0 (rys. 57). Dapuetto i wsp. [2019] uzyskali podobne wartości indeksu stabilności Turbiscan (do 5,0) po 20 dniach przechowywania (5°C) emulsji O/W z 20% lub 30% udziałem oleju słonecznikowego, stabilizowanych białkami serwatkowymi. Porównywalne wyniki

otrzymano również w pracy Woźniak i wsp. [2021] dla emulsji O/W (30/70 m/m) na bazie modyfikowanej enzymatycznie mieszaniny łożu baraniego i oleju z nasion konopi. Niemalże wszystkie badane w tej pracy próbki (14 z 15) cechowały się $TSI < 4,0$ po 30 dniach ich przechowywania w warunkach chłodniczych (2-7°C).



Rys. 56. Profile zmian natężenia światła wstecznie rozproszonego (ΔIRW) przez próbki emulsji w czasie przechowywania w temp. 20°C (Turbiscan Lab)

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleżem z 3-7% m/m wosku kandelila; — punkt pomiaru Rheolaser

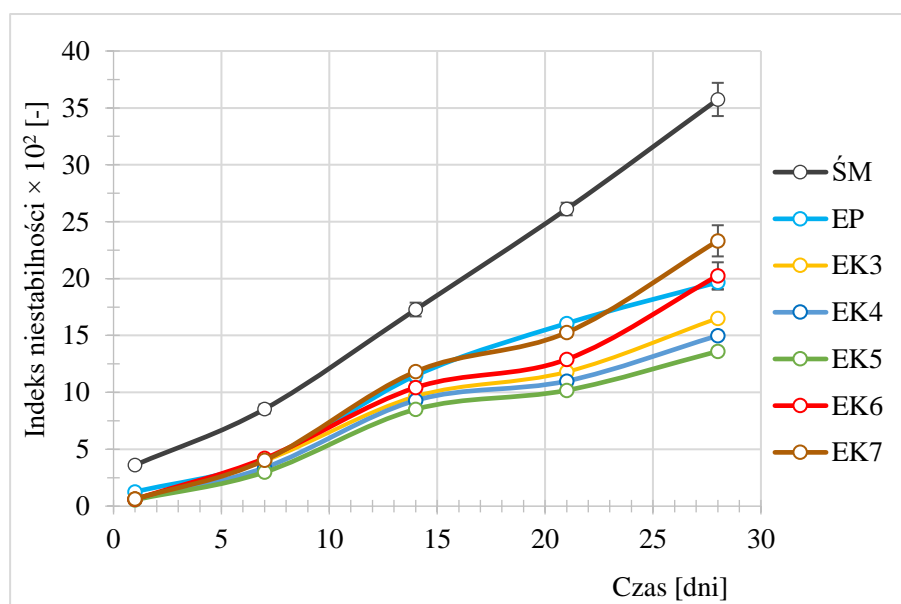


Rys. 57. Zmiany indeksu stabilności Turbiscan (*TSI*) emulsji przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3-7% m/m wosku kandelila;

Czas przechowywania emulsji spowodował również zmniejszenie ich oporności na działanie siły odśrodkowej w teście LUMiSizer (4000 obr/min, 50 min, 20°C), co jest widoczne na profilach zmian natężenia światła przechodzącego przez wirowane próbki (rys. A10 w aneksie). Przebieg krzywych transmisji światła, uzyskanych w całym okresie przechowywania, sugeruje, że emulsje doświadczalne (z napojem sojowym) zachowały charakterystykę porównywalną z układem monodispersyjnym, wykazującym wysoki poziom jednorodności (jednofrakcyjny rozkład wielkości cząstek lipidowych). Ponadto zaobserwowano, że w całym okresie przechowywania destabilizacja emulsji doświadczalnych opierała się głównie na zjawisku separacji grawitacyjnej – śmietankowaniu. Odmienny charakter miały mechanizmy zachodzące w próbce porównawczej – ŚM. Przebieg profili transmisji ŚM przedstawia zwiększenie niejednorodności układu w czasie (wielofrakcyjny rozkład wielkości cząstek lipidowych). Stwierdzono, że najniższa stabilność ŚM mogła wynikać nie tylko ze zwiększonej intensywności flotacji, ale również flokulacji cząstek lipidowych. Podobnie małą stabilność (w teście LUMiSizer) uzyskali Primožic i wsp. [2018] w przypadku nanoemulsji typu O/W (5% m/m oleju rzepakowego), stabilizowanych 1,5% m/m izolatu białka z soczewicy, po 28 dniach przechowywania w temperaturze 4°C.

Liczbowym wskaźnikiem zmian stabilności emulsji w teście LUMiSizer jest bezwymiarowy indeks niestabilności. W przypadku ŚM zwiększenie średniej wartości tego parametru w czasie przechowywania miało charakter bardzo bliski liniowemu – rys. 58. Szybkość zmian stabilności wegańskich emulsji, na bazie napoju sojowego, była zróżnicowana. Destabilizacja tych układów przebiegała najszybciej w drugim i czwartym tygodniu przechowywania. Zauważono, że im dłuższy czas przechowywania, tym większe były różnice w wartościach indeksu niestabilności pomiędzy poszczególnymi wariantami (rys. 58). Dla przykładu, EK3 i EK7 nie różniły się pod względem wartości indeksu niestabilności w pierwszej połowie okresu przechowywania (przez 14 dni), a po tym czasie odnotowano różnice istotne statystycznie (tab. A16 w aneksie). W związku z powyższym stwierdzono, że determinantem stabilności fizycznej badanych emulsji typu śmietanka, przechowywanych przez > 14 dni, był również rodzaj fazy lipidowej, w tym stężenie WK. Stwierdzono to również w badaniach przechowalniczych (28 dni, 20°C) emulsji O/W (30/70 m/m), otrzymanych z udziałem oleożeli etylocelulozowych, stabilizowanych lecytyną i gumą guar [Szymańska i wsp. 2020a].

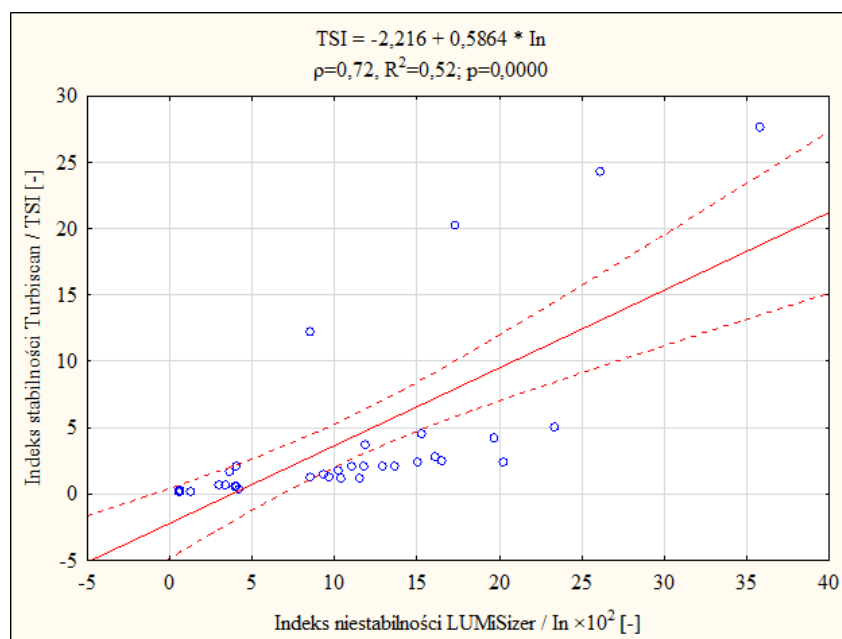


Rys. 58. Zmiany indeksu niestabilności (LUMiSizer) emulsji przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

Objaśnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3-7% m/m wosku kandelila;

Wykazano dodatnią korelację między średnimi wartościami indeksu niestabilności (LUMiSizer) i indeksu stabilności Turbiscan na poziomie $\rho = 0,72$ ($R^2 = 0,52$; $p = 0,0000$) – rys. 59. Obie metody są wykorzystywane w obrazowaniu zmian stabilności emulsji

w czasie przechowywania, lecz nie należy ich stosować zamiennie, gdyż wykorzystują działanie różnych sił (Turbiscan – grawitacji, LUMiSizer – odśrodkowej). Dostarczają nieco odmiennych, lecz równie ważnych w ocenie stabilności układów dyspersyjnych informacji.



Rys. 59. Korelacje średnich wartości indeksu niestabilności (LUMiSizer) i indeksu stabilności Turbiscan (TSI) emulsji przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

4.3.5. Analiza wpływu czasu przechowywania na zmiany stabilności oksydacyjnej frakcji lipidowej emulsji

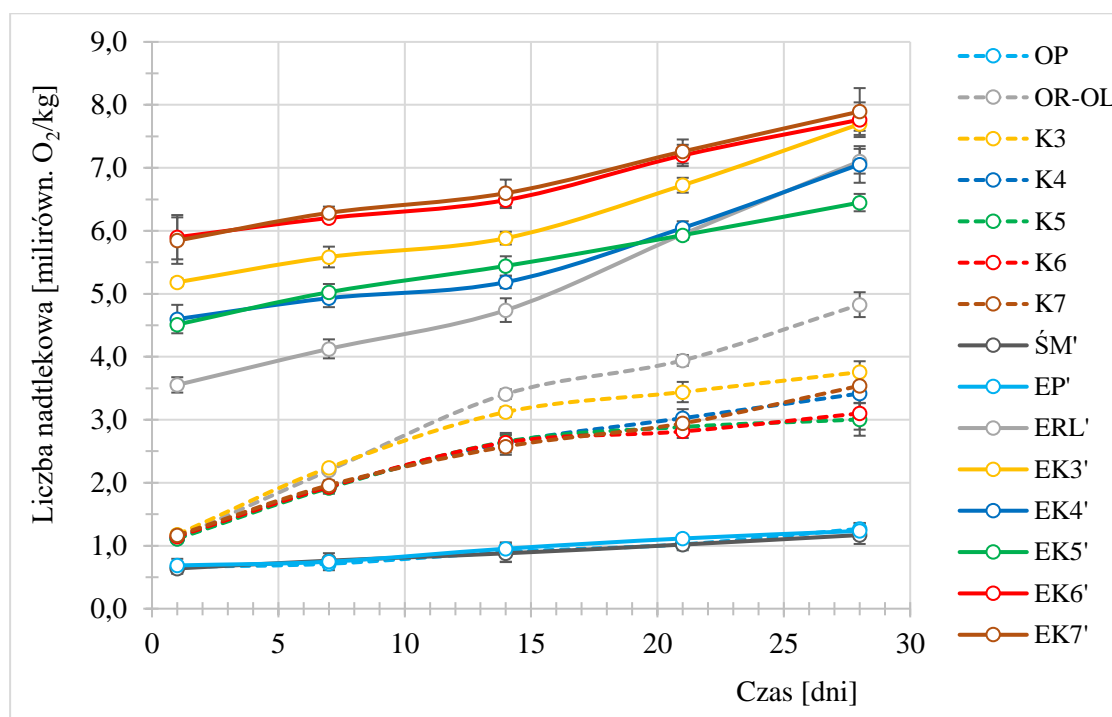
W celu oceny zmian jakości frakcji lipidowej przechowywanych próbek, ŚM i otrzymane emulsje przetrzymywano bez dostępu światła, przez 28 dni w temperaturze 20°C i oznaczano liczbę nadtlenkową (*LN*) oraz anizydynową (*LA*). Aby zobrazować stopień zmian zachodzących we frakcji oleożelowej, analizom stabilności oksydacyjnej lipidów poddano również emulsję kontrolną – na bazie niestrukturyzowanej mieszaniny oleju rzepakowego z olejem lnianym (1:1). W celu oceny wpływu emulsyfikacji na jakość lipidów, równoległe przeprowadzono test przechowalniczy (w takich samym warunkach) lipidów niezemulgowanych.

Na podstawie uzyskanych wyników sporządzono wykresy zmian wartości *LN* (rys. 60) i *LA* (rys. 61) w czasie oraz analizowano dynamikę tych zmian (tab. 15-16).

Fracje lipidowe wydzielone z emulsji, na bazie mieszaniny olejów (OR-OL) lub lipidów strukturyzowanych (oleożeli), charakteryzowały znacznie wyższe wartości *LN* (tab. A17 w aneksie), w porównaniu do lipidów niepoddanych emulsyfikacji (tab. A18

w aneksie). Utlenianie lipidów bogatych w PUFA mogą przyspieszać warunki ich przetwarzania [Saga i wsp. 2012], np. podwyższona temperatura, obecność pęcherzyków powietrza. Według Lee i Choi [2020] przemiany oksydacyjne w lipidach, stanowiących fazę rozproszoną emulsji, zazwyczaj zachodzą szybciej niż w lipidach w formie niezemulgowanej, co zgodnie z Chen i wsp. [2022] jest indukowane głównie interakcjami na granicy faz, w szczególności, gdy powierzchnia międzyfazowa jest bardzo duża (małe rozmiary cząstek zdyspergowanych).

Najniższym stopniem pierwotnego utlenienia, na każdym etapie testu przechowalniczego, cechowały się próbki oleju palmowego niezemulgowanego (OP) oraz emulgowanego (EP') i frakcji lipidowej wydzielonej ze śmietanki (ŚM') – rys. 60. Można przypuszczać, że wynikało to głównie z różnic w składzie KT (tab. 4), bowiem OP i TM zawierają znacznie mniej PUFA i więcej SFA niż OR-OL (a zarazem oleożele na bazie tej mieszaniny), co zmniejsza ich podatność na utlenianie.



Rys. 60. Zmiany wartości liczby nadtlenkowej (LN) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

Objaśnienia: OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleożele z 3-7% m/m stężeniem wosku kandelila, ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7.

Początkowe wartości *LN* były najwyższe w przypadku frakcji oleożelowych (EK3'-7'), jednakże współczynniki kierunkowe równań linii trendu (tab. 15) pokazują, że pierwotne utlenianie w całym teście zachodziło najszybciej we frakcji mieszaniny olejów ERL' (współczynnik kierunkowy linii trendu: $a_1 = 0,1316$). Pomimo tego nie wykazywała ona najwyższego stopnia utlenienia po 28 dniach przechowywania. Największe *LN* stwierdzono w przypadku niezemulgowanej mieszaniny olejów OR-OL, pomimo że w 1 dniu testu wartość ta nie różniła się istotnie statystycznie od *LN* oleożeli (tab. A18 w aneksie).

Wolniejsze tempo pierwotnego utleniania frakcji lipidowych emulsji z oleożelami (EK3'-7'), w porównaniu do frakcji lipidowej ERL', mogło mieć związek z właściwościami wosku kandelila. Wysokotopliwe cząsteczki WK mogły usztywnić strukturę cząstek lipidowych i ograniczyć dyfuzję tlenu do „uwięzionego w strukturze” oleju, spowalniając jego autooksydację [Liu i wsp. 2020]. Schröder i wsp. [2019] wykazali, że modyfikacja warstwy międzyfazowej emulsji typu O/W, za pomocą cząstek pochodzenia lipidowego, może korzystnie wpływać na stabilność oksydacyjną fazy rozproszonej. Należy jednak zwrócić uwagę, że stężenie wosku miało zróżnicowany wpływ na stopień utlenienia lipidów. W 28 dniu przechowywania wyłącznie frakcja lipidowa wydzielona z EK5 (EK5') charakteryzowała się istotnie statystycznie niższą wartością *LN* od ERL' (tab. A17 w aneksie). Według Hwang i wsp. [2018] autooksydacja lipidów strukturyzowanych zależy od rodzaju i stężenia zastosowanego czynnika strukturyzującego. Autorzy uzyskali najlepszy efekt ochronny oleju rybiego przed oksydacją za pomocą wosku kandelila (3% m/m). Na przykładzie wosku słonecznikowego dowiedli, że zbyt duży udział wosku w układzie może powodować działanie proutleniające. Ponadto Guo i wsp. [2019] wykazali, że zbyt wysokie stężenie wosku w fazie wewnętrznej emulsji może prowadzić do tworzenia większych kryształów lipidowych, które niszczą warstwę międzyfazową na styku faza lipidowa—faza wodna, przyspieszając fizyczną i chemiczną destabilizację układu.

Średnie wartości *LN* lipidów niezemulgowanych i frakcji lipidowych emulsji typu śmietanka, w całym okresie przechowywania, nie przekroczyły 10 milirówn. O₂/kg (rys. 60), co zgodnie ze standardem Codex Alimentarius [2015] świadczy o ich wysokiej jakości. Z kolei *LN* frakcji lipidowej wydzielonej ze śmietanki była wyższa niż 0,6 milirówn. O₂/kg, czyli limitu określonego w standardzie Codex Alimentarius [2006]. W badaniach Barroso i wsp. [2020] oleożele na bazie oleju lnianego tłoczonego na zimno, otrzymane z udziałem 10% m/m monoacylogliceroli i wosku jagodowego/

słonecznikowego, cechowały się *LN* przekraczającą 10 milirówn. O₂/kg po 30 dniach przechowywania w temperaturze 25°C. Wyznaczone przez Zhuang i wsp. [2021] wartości *LN* fazy lipidowej emulsji, na bazie oleju rzepakowego strukturyzowanego stearynowym KT i lecytyną, nie przekraczały 5 milirówn. O₂/kg podczas 30 dni testu w temperaturze 20°C, a dla emulsji na bazie niestrukturyzowanego oleju rzepakowego, w tym samym czasie, wyniosły około 20 milirówn. O₂/kg.

Tabela 15. Dynamika zmian pierwotnego stopnia utlenienia (*LN*) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

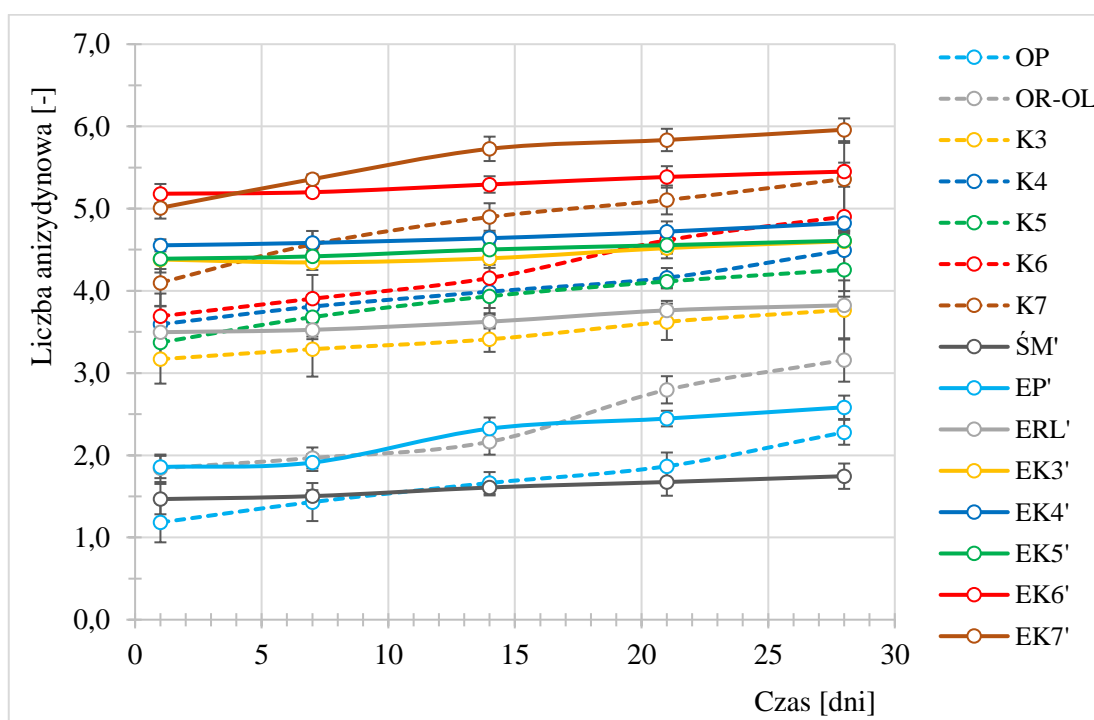
| Rodzaj próbki | Równanie | R ² | Przyrost <i>LN</i> /dzień | Przyrost <i>LN</i> /tydzień |
|---------------------------------|------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------------|
| <i>Frakcje lipidowe emulsji</i> | | | | |
| ŚM' | $y = 0,0194x + 0,6186$ | 1,00 | 0,02 | 0,13 |
| EP' | $y = 0,0216x + 0,6404$ | 0,98 | 0,02 | 0,14 |
| ERL' | $y = 0,1316x + 3,2248$ | 0,98 | 0,13 | 0,89 |
| EK3' | $y = 0,0910x + 4,9217$ | 0,95 | 0,09 | 0,63 |
| EK4' | $y = 0,0890x + 4,2985$ | 0,93 | 0,09 | 0,61 |
| EK5' | $y = 0,0702x + 4,4751$ | 1,00 | 0,07 | 0,48 |
| EK6' | $y = 0,0697x + 5,7206$ | 0,97 | 0,07 | 0,47 |
| EK7' | $y = 0,0747x + 5,7151$ | 0,98 | 0,07 | 0,51 |
| <i>Lipidy niezemulgowane</i> | | | | |
| OP | $y = 0,0217x + 0,6097$ | 0,96 | 0,02 | 0,15 |
| OR-OL | $y = 0,1308x + 1,2687$ | 0,98 | 0,13 | 0,93 |
| K3 | $y = 0,0908x + 1,4753$ | 0,93 | 0,09 | 0,64 |
| K4 | $y = 0,0813x + 1,2871$ | 0,97 | 0,08 | 0,57 |
| K5 | $y = 0,0680x + 1,3624$ | 0,90 | 0,07 | 0,47 |
| K6 | $y = 0,0685x + 1,3670$ | 0,92 | 0,07 | 0,49 |
| K7 | $y = 0,0819x + 1,2890$ | 0,98 | 0,08 | 0,59 |

Objaśnienia: OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleożele z 3-7% m/m stężeniem wosku kandelila, ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7; *LN* – liczba nadtlenkowa [milirówn. O₂/kg], R² – współczynnik determinacji; Równanie linii trendu: $y = a_1x + b$, gdzie a₁ – współczynnik kierunkowy, b – wyraz wolny.

Wraz z upływem czasu przechowywania następowało zwiększenie wartości liczby anizydynowej (*LA*) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych (rys. 61).

Wykazano silną korelację dodatnią pomiędzy średnimi wartościami *LA* i *LN* frakcji lipidowych wydzielonych z emulsji ($\rho = 0,94$; $R^2 = 0,88$; $p = 0,0000$) – rys. A11 w aneksie.

Najniższy stopień wtórnego utlenienia lipidów odnotowano we frakcji wydzielonej ze śmietanki ($LA \sim 1,47-1,75$) – rys. 61, która charakteryzowała się największą zawartością SFA (tab. 4). Chen i wsp. [2022] potwierdzili istotną korelację pomiędzy zawartością PUFA w lipidach i ich utlenianiem w fazie wewnętrznej emulsji. Autorzy stwierdzili, że frakcja lipidowa emulsji O/W (75/25 m/m), na bazie oleju lnianego, wykazała ponad 5-krotnie większe wartości *LA*, w porównaniu do frakcji lipidowej emulsji z wysokooleinowym olejem słonecznikowym.



Rys. 61. Zmiany wartości liczby anizydynowej (*LA*) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych przechowywanych przez 28 dni, w temperaturze 20°C

Objaśnienia: OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleożele z 3-7% m/m stężeniem wosku kandelila, ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7.

Współczynniki kierunkowe równań linii trendu wskazują, że reakcje wtórnego utleniania frakcji lipidowych emulsji (tab. 16) postępowały znacznie wolniej niż reakcje ich pierwotnego utleniania (tab. 15). Pomimo iż wszystkie lipidy niezemulgowane wykazywały wartości *LA* niższe od *LA* frakcji lipidowych emulsji w całym okresie przechowywania, to przemiany wtórnego utleniania w tych próbkach zachodziły szybciej

(tab. 16). Największą szybkością wtórnych przemian oksydacyjnych, wśród frakcji lipidowych emulsji, charakteryzowała się frakcja z 7% stężeniem wosku – EK7' (współczynnik kierunkowy linii trendu: $a_1 = 0,0339$). Z kolei frakcja lipidowa emulsji z mieszaniny olejów (ERL') wykazywała niższe wartości LA (3,50-3,82), w porównaniu do frakcji oleożelowych wszystkich emulsji (4,38-5,96), w całym okresie badania (rys. 61, tab. 16). Różnice w dynamice akumulacji pierwotnych i wtórnych produktów utleniania oleożeli i emulsji na bazie oleożeli były prawdopodobnie związane z obecnością lotnych związków organicznych w WK, co mogło zawyżyć wartość liczby anizydynowej. Ye i wsp. [2020] wykazali, że aromatyzowany olej rybi charakteryzował się kilkukrotnie wyższą wartością LA, w porównaniu do niearomatyzowanego oleju rybiego, w czasie przechowywania przez 20 dni, w temperaturze 40°C.

Tabela 16. Dynamika zmian wtórnego stopnia utlenienia (LA) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych, przechowywanych przez 28 dni, w temperaturze 20°C

| Rodzaj próbki | Równanie | R^2 | Przyrost LA/dzień | Przyrost LA/tydzień |
|---------------------------------|------------------------|-------|-------------------|---------------------|
| <i>Frakcje lipidowe emulsji</i> | | | | |
| ŚM' | $y = 0,0104x + 1,4540$ | 0,98 | 0,01 | 0,07 |
| EP' | $y = 0,0284x + 1,8269$ | 0,94 | 0,03 | 0,18 |
| ERL' | $y = 0,0127x + 3,4687$ | 0,96 | 0,01 | 0,08 |
| EK3' | $y = 0,0086x + 4,3304$ | 0,82 | 0,01 | 0,06 |
| EK4' | $y = 0,0099x + 4,5268$ | 0,95 | 0,01 | 0,07 |
| EK5' | $y = 0,0082x + 4,3800$ | 0,98 | 0,01 | 0,05 |
| EK6' | $y = 0,0104x + 5,1566$ | 0,97 | 0,01 | 0,07 |
| EK7' | $y = 0,0339x + 5,1026$ | 0,93 | 0,03 | 0,24 |
| <i>Lipidy niezemulgowane</i> | | | | |
| OP | $y = 0,0375x + 1,1589$ | 0,98 | 0,04 | 0,27 |
| OR-OL | $y = 0,0495x + 1,6929$ | 0,93 | 0,05 | 0,33 |
| K3 | $y = 0,0219x + 3,1460$ | 0,99 | 0,02 | 0,15 |
| K4 | $y = 0,0307x + 3,5786$ | 0,98 | 0,03 | 0,23 |
| K5 | $y = 0,0315x + 3,4304$ | 0,98 | 0,03 | 0,22 |
| K6 | $y = 0,0448x + 3,6271$ | 0,98 | 0,04 | 0,30 |
| K7 | $y = 0,0437x + 4,1928$ | 0,97 | 0,05 | 0,32 |

Objaśnienia: OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleożele z 3-7% m/m stężeniem wosku kandelila, ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7; LA – liczba anizydynowa [-], R^2 – współczynnik determinacji; Równanie linii trendu: $y = a_1x + b$, gdzie a_1 – współczynnik kierunkowy, b – wyraz wolny.

Wartości liczby anizydynowej dla wszystkich próbek, po 28 dniach przechowywania w temperaturze 20°C, nie przekroczyły 8 jednostek, tak więc badane próbki spełniały wymagania stawiane w tym zakresie wysokiej jakości olejom rafinowanym [PN-A-86908]. Podobne wyniki uzyskali Capcanari i wsp. [2015] w przypadku majonezów z 25% zawartością oleju z orzechów włoskich extra virgin, po 120 dniach przechowywania, w temperaturze 4°C.

Analogicznie do zmian wartości *LN* i *LA*, zaobserwowano istotne zwiększenie wartości wskaźnika *TOTOX* badanych lipidów w czasie przechowywania (28 dni, 20°C) – tab. 17. Frakcje lipidowe emulsji na bazie oleożeli wykazywały około 1,3-krotne wyższe wartości *TOTOX*, w odniesieniu do 1 dnia testu. W przypadku frakcji ERL' odnotowano największą (około 1,7-krotne) zwiększenie wartości tego wskaźnika. Również Hadad i Goli [2019] analizowali stabilność oksydacyjną frakcji lipidowych emulsji. Były to układy typu O/W (10, 20 lub 40% m/m oleju) z olejem lnianym tłoczonym na zimno, stabilizowane nanowłóknami ze śluzu z nasion lnu. Autorzy wykazali około 2-krotne zwiększenie wartości *TOTOX* (do około 160) po 9 dniach przechowywania, w temperaturze 25°C.

Średnie wartości *TOTOX* były wyższe dla lipidów wydzielonych z emulsji niż dla lipidów niezemulgowanych, na każdym etapie przechowywania (tab. 17). Podobne zależności uzyskali Hyatt i wsp. [2022] w badaniach nad stabilnością oksydacyjną oleju z alg morskich, strukturyzowanego za pomocą monolaurynianu (ML) w stężeniu 8%, 10% lub 12% m/m. Po 14 dniach przechowywania (30°C), frakcja lipidowa emulsji na bazie oleożelu z 12% ML (EML12') wykazywała o około 25% wyższy wskaźnik *TOTOX* niż oleożel niezemulgowany (około 202). Ponadto w próbce EML12' stwierdzono o około 15% niższą wartość *TOTOX*, w porównaniu do frakcji lipidowej emulsji, otrzymanej z niestrukturyzowanego oleju z alg morskich.

Najwyższą stabilnością oksydacyjną w czasie przechowywania charakteryzowała się frakcja lipidowa ŚM' (*TOTOX* < 4,1). Spośród emulsji na bazie oleożeli, najmniejszy stopień przemian oksydacyjnych odnotowano we frakcji lipidowej EK5'. Oleożel z 5% stężeniem WK (K5) i frakcja lipidowa EK5' wykazywały istotnie statystycznie niższe wartości wskaźnika całkowitego stopnia utlenienia po 28 dniach przechowywania, w porównaniu do, odpowiednio, mieszaniny olejów bazowych (OR-OL) i frakcji lipidowej emulsji na bazie OR-OL (ERL'). Z kolei frakcje lipidowe EK6' i EK7' uzyskiwały najwyższe wartości *TOTOX* > 20 (tab. 17).

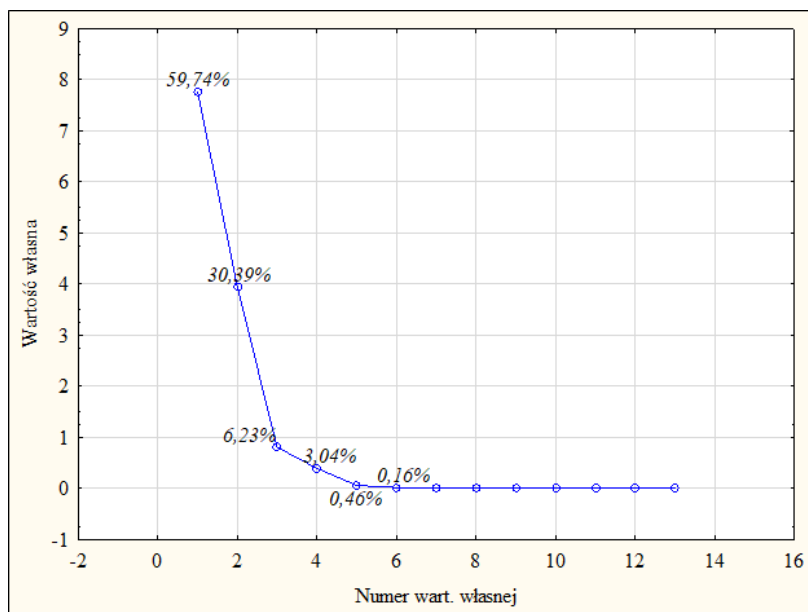
Tabela 17. Zmiany wartości wskaźnika całkowitego utlenienia (*TOTOX*) frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych przechowywanych przez 28 dni, w temperaturze 20°C

| Rodzaj próbki | Czas przechowywania [dni] | | | | |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| <i>Frakcje lipidowe emulsji</i> | | | | | |
| ŚM' | 2,74 ^{aA} ± 0,35 | 3,03 ^{abA} ± 0,14 | 3,37 ^{abcA} ± 0,37 | 3,71 ^{bcA} ± 0,11 | 4,08 ^{cA} ± 0,31 |
| EP' | 3,23 ^{aA} ± 0,33 | 3,40 ^{aA} ± 0,26 | 4,23 ^{bA} ± 0,14 | 4,68 ^{bcB} ± 0,10 | 5,05 ^{cA} ± 0,39 |
| ERL' | 10,60 ^{aB} ± 0,20 | 11,78 ^{bB} ± 0,21 | 13,11 ^{cB} ± 0,36 | 15,65 ^{dC} ± 0,21 | 18,03 ^{eBC} ± 0,39 |
| EK3' | 14,75 ^{aD} ± 0,15 | 15,53 ^{abD} ± 0,38 | 16,16 ^{bD} ± 0,31 | 17,97 ^c ± 0,36 | 19,99 ^{dDE} ± 0,22 |
| EK4' | 13,75 ^{aCD} ± 0,49 | 14,44 ^{abC} ± 0,38 | 15,01 ^{bC} ± 0,14 | 16,81 ^{cD} ± 0,31 | 18,93 ^{dCD} ± 0,54 |
| EK5' | 13,41 ^{aC} ± 0,27 | 14,47 ^{bC} ± 0,29 | 15,39 ^{bCD} ± 0,35 | 16,42 ^{cCD} ± 0,25 | 17,51 ^{dB} ± 0,34 |
| EK6' | 16,98 ^{aE} ± 0,58 | 17,61 ^{aE} ± 0,13 | 18,27 ^{bE} ± 0,31 | 19,78 ^{bE} ± 0,33 | 20,98 ^{cE} ± 0,44 |
| EK7' | 16,70 ^{aE} ± 0,78 | 17,93 ^{abE} ± 0,18 | 18,92 ^{bcE} ± 0,57 | 20,35 ^{cE} ± 0,51 | 21,75 ^{cE} ± 0,88 |
| <i>Lipidy niezemulgowane</i> | | | | | |
| OP | 2,51 ^{aA} ± 0,18 | 2,86 ^{abA} ± 0,18 | 3,46 ^{bcA} ± 0,44 | 3,91 ^{aA} ± 0,28 | 4,82 ^{dA} ± 0,04 |
| OR-OL | 4,09 ^{aB} ± 0,05 | 6,36 ^{bB} ± 0,05 | 8,98 ^{cB} ± 0,31 | 10,68 ^{dCD} ± 0,10 | 12,81 ^{eD} ± 0,64 |
| K3 | 5,52 ^{aC} ± 0,19 | 7,77 ^{bCD} ± 0,32 | 9,66 ^{cBC} ± 0,15 | 10,50 ^{dCD} ± 0,22 | 11,28 ^{eD} ± 0,26 |
| K4 | 5,83 ^{aCD} ± 0,29 | 7,67 ^{bCD} ± 0,26 | 9,26 ^{cBC} ± 0,51 | 10,21 ^{cdBC} ± 0,34 | 11,33 ^{dBCD} ± 0,88 |
| K5 | 5,59 ^{aC} ± 0,19 | 7,51 ^{bC} ± 0,38 | 9,24 ^{cBC} ± 0,20 | 9,88 ^{cdB} ± 0,19 | 10,26 ^{dB} ± 0,26 |
| K6 | 5,98 ^{aCD} ± 0,24 | 7,77 ^{bCD} ± 0,38 | 9,44 ^{cBC} ± 0,32 | 10,24 ^{cdBC} ± 0,12 | 11,10 ^{dBC} ± 0,86 |
| K7 | 6,43 ^{aD} ± 0,37 | 8,48 ^{bD} ± 0,31 | 10,05 ^{cC} ± 0,41 | 10,99 ^{cD} ± 0,08 | 12,44 ^{dCD} ± 0,66 |

Objaśnienia: OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleożele z 3-7% m/m stężeniem wosku kandelila, ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7; a-e – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), p < 0,05; A-E – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj lipidu/frakcji lipidowej), p < 0,05 – osobno dla frakcji lipidowych emulsji i lipidów niezemulgowanych.

4.3.6. Analiza statystyczna i podsumowanie etapu III

Analizie statystycznej (PCA) poddano 13 wybranych parametrów, które opisywały w największym stopniu zmiany właściwości emulsji typu śmietanka, przechowywanych przez 28 dni (w temperaturze 20°C). W ramach analizy wydzielono dwie składowe główne: czynnik 1 – 59,74%, czynnik 2 – 30,39%, które sumarycznie wyjaśniały 90,13% wariancji.



Rys. 62. Wykres osypiska

Na pierwszą składową składają się: parametry barwy (indeksy bieli – $WI28$ i indeksy żółżenia – $YI28$), parametry reologiczne (współczynniki konsystencji – $K28$, wykładniki płynięcia – $n28$), średnie wielkości cząstek lipidowych ($Wcz28$) i współczynniki dyspersyjności ($Wd28$), indeksy niestabilności ($In28$), indeksy stabilności Turbiscan ($TSI28$) oraz podstawowe wskaźniki stopnia utlenienia frakcji lipidowych emulsji (liczby nadtlenkowe – $LN28$, liczby anizydynowe – $LA28$, wskaźniki całkowitego utlenienia $TOTOX$ – $TX28$). Największy wpływ na kształtowanie drugiej składowej miały parametry mikroreologiczne – indeksy sprężystości ($EI28$) i indeksy lepkości makroskopowej ($MVI28$) – rys. 62, tab. 18.

Na rys. 63 przedstawiono wektory zmiennych, charakteryzujących właściwości emulsji typu śmietanka (po 28 dniach przechowywania w 20°C), w układzie dwóch składowych głównych. Im dłuższe wektory (większe odległości skrajnego punktu wektora od środka okręgu), tym zmienne w większym stopniu opisują dwie pierwsze składowe. Niemalże wszystkie zmienne miały bardzo duży udział w kształtowaniu obu czynników. Wyjątek stanowił współczynnik dyspersyjności ($Wd28$) opisujący czynnik 1. Nieznaczne wielkości kątów pomiędzy wektorami zmiennych świadczą o ich silnej dodatniej korelacji, którą wykazano pomiędzy: indeksami niestabilności i indeksami żółżenia emulsji ($In28$ - $YI28$), wskaźnikami pierwotnego i wtórnego stopnia utlenienia frakcji lipidowych emulsji ($LN28$ - $LA28$). Wektory tworzące kąt 180° wskazują na silne ujemne korelacje pomiędzy zmiennymi, np. indeksami bieli i średnimi wielkościami

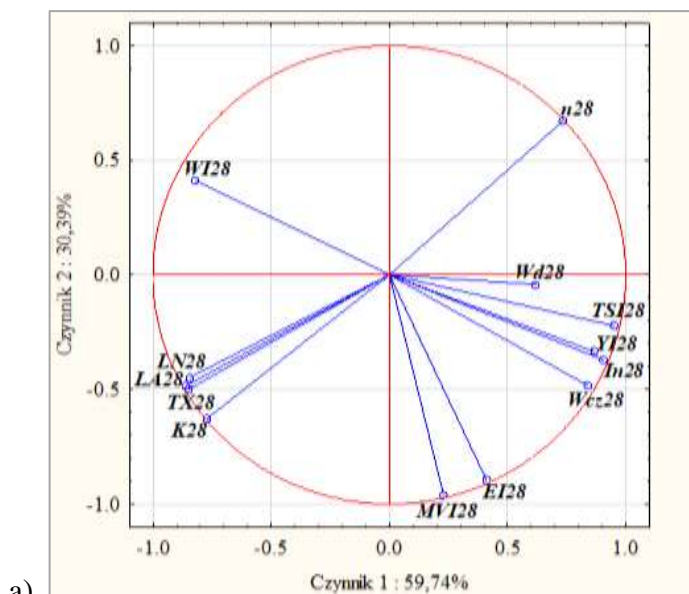
cząstek lipidowych emulsji (*WI28-Wcz28*). Ponadto kąt 90° pomiędzy wektorami zmiennych świadczy o braku istotnej korelacji ($p > 0,05$). Taką zależność zauważono w relacji wskaźników stopnia utlenienia frakcji lipidowych emulsji (*LN28, LA28*) i indeksów sprężystości emulsji (*EI28*) (rys. 63a).

Na rys. 63b przedstawiono rzut przypadków (obiektów) na płaszczyznę czynników, umożliwiającą wskazanie wariantów emulsji typu śmietanka, które są najbardziej podobne/różne pod względem analizowanych zmiennych. Stwierdzono najmniejsze różnice pomiędzy emulsjami EK4 i EK5 oraz EK6 i EK7.

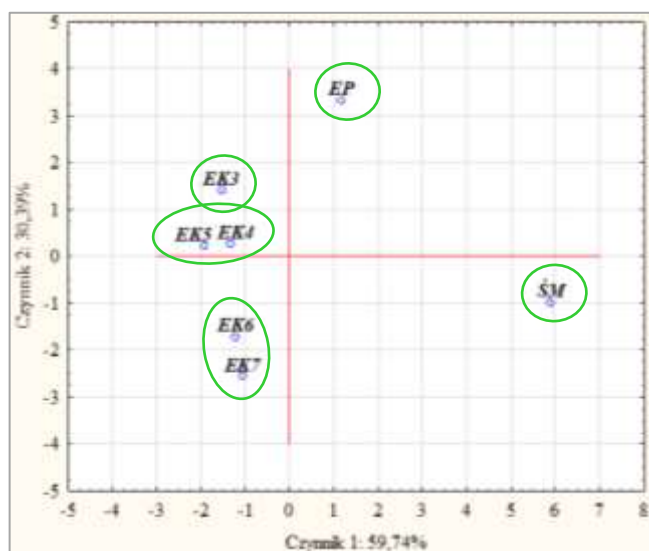
Tabela 18. Współczynniki korelacji pomiędzy czynnikami a zmiennymi

| Zmienna | Współczynnik korelacji (ρ) | |
|--------------|-----------------------------------|-----------|
| | Czynnik 1 | Czynnik 2 |
| <i>WI28</i> | -0,82 | 0,41 |
| <i>YI28</i> | 0,87 | -0,34 |
| <i>Wcz28</i> | 0,84 | -0,48 |
| <i>Wd28</i> | 0,62 | -0,04 |
| <i>K28</i> | -0,77 | -0,63 |
| <i>n28</i> | 0,73 | 0,67 |
| <i>MVI28</i> | 0,23 | -0,96 |
| <i>EI28</i> | 0,41 | -0,89 |
| <i>TSI28</i> | 0,95 | -0,22 |
| <i>In28</i> | 0,90 | -0,37 |
| <i>LN28</i> | -0,84 | -0,45 |
| <i>LA28</i> | -0,86 | -0,48 |
| <i>TX28</i> | -0,85 | -0,50 |

Objaśnienia: *WI28* – indeks bieli [-], *YI28* – indeks zażółcenia [-], *Wcz28* – średnia wielkość cząstek lipidowych [μm], *Wd28* – współczynnik dyspersyjności [-], *K28* – współczynnik konsystencji [$\text{mPa}\cdot\text{s}$], *n28* – wykładnik płynięcia [-], *MVI28* – indeks lepkości makroskopowej [nm^{-2}], *EI28* – indeks sprężystości [nm^{-2}], *TSI28* – indeks stabilności Turbiscan [-], *In28* – indeks niestabilności [-], *LN28* – liczba nadtlenkowa frakcji lipidowej emulsji [milirówn. O_2/kg], *LA28* – liczba anizydynowa frakcji lipidowej emulsji [-], *TX28* – wskaźnik całkowitego utlenienia (*TOTOX*) frakcji lipidowych emulsji [-] (w 28 dniu przechowywania).



a)



b)

Rys. 63. Projektcja zmiennych (a) oraz projektcja przypadków (b) na płaszczyznę czynników

Objaśnienia jak pod tab. 18; Objasnienia: ŚM – śmietanka (próbka porównawcza), EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3-7% m/m wosku kandelila; Próbkki w zielonym obramowaniu wykazywały podobieństwo.

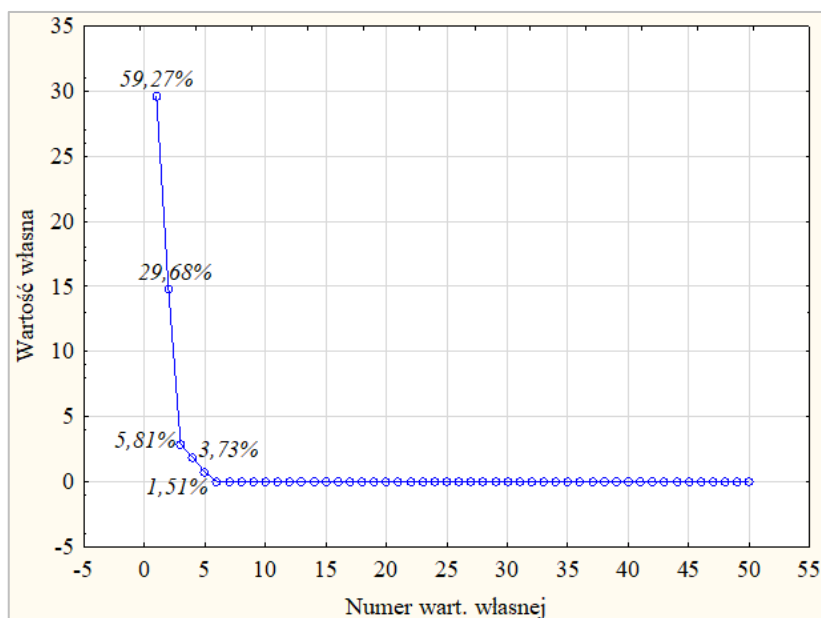
Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w etapie III stwierdzono, że czas przechowywania istotnie wpłynął na stopień utlenienia frakcji lipidowych i właściwości fizyczne emulsji typu śmietanka. Emulsje na bazie lipidów strukturyzowanych (oleożeli) cechowały się zróżnicowanymi właściwościami fizycznymi w zależności od stężenia WK w fazie lipidowej. Emulsje na bazie oleożeli z 3%, 4% lub 5% stężeniem wosku wykazywały większą stabilność fizyczną (grawitacyjną i wirówkową) w czasie przechowywania przez 28 dni (20°C), w porównaniu do pozostałych układów.

Ponadto frakcje lipidowe wydzielone z badanych emulsji podlegały zmianom oksydacyjnym w różnym tempie i stopniu. Pomimo najwyższych początkowych wartości liczby nadtlenkowej frakcji oleożelowych, pierwotne utlenianie zachodziło najszybciej we frakcji mieszaniny olejów wydzielonej z ERL. Ponadto reakcje wtórnego utleniania frakcji lipidowych emulsji postępowały znacznie wolniej niż reakcje pierwotnego utleniania. Frakcja lipidowa emulsji na bazie oleożelu z 5% stężeniem wosku charakteryzowała się najniższym stopniem całkowitego utlenienia (*TOTOX*) spośród frakcji lipidowych wszystkich emulsji na bazie oleożeli. Wykazano, że stężenie WK powyżej 6% m/m w fazie lipidowej emulsji może przyspieszyć autooksydację lipidów. Najbardziej stabilne oksydacyjnie w całym okresie przechowywania była frakcja lipidowa śmietanki wyprodukowanej warunkach przemysłowych i stabilizowanej karagenem (tłuszcz mleczny), a następnie frakcja lipidowa emulsji na bazie oleju palmowego.

5. Analiza statystyczna podsumowująca wszystkie etapy pracy

W celu wyodrębnienia układów wykazujących podobieństwo pod względem wybranych 50 parametrów, wyznaczonych w etapach I, II i III, przeprowadzono analizę składowych głównych (PCA) i hierarchiczną analizę skupień (HCA). Wybrane parametry w największym stopniu opisywały zmiany właściwości lipidów i otrzymanych z nich emulsji podczas badań. Nadrzędnym celem pracy było określenie możliwości zastąpienia oleju palmowego przez lipidy strukturyzowane (oleożele) w wytwarzaniu wegańskich emulsji O/W. Dlatego analizom PCA i HCA poddano próbki doświadczalne, tj. emulsje typu śmietanka, na bazie napoju sojowego, otrzymane z udziałem oleju palmowego (EP) lub oleożeli (EK3-7). Śmietanka wyprodukowana w warunkach przemysłowych i stabilizowana karagenem stanowiła próbkę porównawczą dla emulsji doświadczalnych w etapie II i III. Nie badano właściwości fizycznych i zmian oksydacyjnych tłuszczu mlecznego, zatem nie uwzględniono jej w podsumowaniu statystycznym, obejmującym wszystkie etapy pracy.

W ramach analizy PCA wydzielono dwie główne składowe: czynnik 1 – 59,27%, czynnik 2 – 29,68%, które sumarycznie wyjaśniały 88,95% wariancji (rys. 64).



Rys. 64. Wykres osypiska

Na pierwszą składową składają się: wskaźniki stabilności fizycznej lipidów (indeksy niestabilności lipidów – $In_{20/30}$, wskaźniki stabilności lipidów – $Ws_{20/30}$, ilość wycieku – $Iw_{20/30}$), długości kryształów lipidowych (Dk), temperatura topnienia lipidów (Tm),

czas i temperatura krystalizacji lipidów (Ck i Tk), współczynniki odzysku lepkości lipidów (Wod), parametry reologiczne emulsji „świeżych” (KI , nI) i mikroreologiczne emulsji „świeżych” ($MVII$, EII , $SLBI$), indeksy niestabilności emulsji „świeżych” (InI), prędkości cząstek w polu wirowania emulsji „świeżych” ($PczI$), indeksy niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie ($In(z-r)$), zdyspergowaniu w środowisku zasadowym ($In(pH9)$) lub o 0/0,05 M stężeniu NaCl ($In(0/0,05)$), parametry barwy ($WI28$, $YI28$), reologiczne ($K28$, $n28$) i mikroreologiczne ($MVI28$, $EI28$) emulsji w 28 dniu przechowywania, a także wskaźniki stopnia utlenienia frakcji lipidowych emulsji w 28 dniu przechowywania ($LN28$, $LA28$, $TX28$) – tab. 19. Wykazano, że największy wpływ na drugą składową miały następujące czynniki: współczynniki nieprzeźroczystości lipidów (Wnp), parametry tekstury lipidów (twardość – Tw , kleistość – KI), parametry mikroreologiczne lipidów (MVI , EI , SLB), indeksy bieli emulsji „świeżych” (WII), średnie wielkości cząstek lipidowych ($WczI$) i współczynniki dyspersyjności (WdI) emulsji „świeżych”, indeksy niestabilności emulsji po ogrzewaniu w temperaturze 90°C ($In(90)$), zdyspergowaniu w roztworze o pH równym 5 ($In(pH5)$) i pH równym 7 ($In(pH7)$), średnie wielkości cząstek lipidowych ($Wcz28$) i wskaźniki stabilności emulsji w 28 dniu przechowywania ($TSI28$, $In28$). Zarówno indeksy niestabilności emulsji po zdyspergowaniu w roztworach o 0,1 M lub 0,15 M stężeniu NaCl ($In(0,1/0,15)$), jak i współczynniki dyspersyjności emulsji w 28 dniu przechowywania ($Wd28$) nie opisują znacząco obu składowych głównych ($|\rho| < 0,7$) [Granato i wsp. 2018] – tab. 19.

Na rys. 65a przedstawiono rzut zmiennych na płaszczyznę czynników, obrazujący nie tylko korelacje pomiędzy zmiennymi i czynnikami, ale również korelacje pomiędzy poszczególnymi zmiennymi. Zaobserwowano silną dodatnią korelację między: twardością lipidów a współczynnikami dyspersyjności otrzymanych z nich emulsji świeżych ($Tw-WdI$), indeksami lepkości makroskopowej emulsji świeżych i liczbą anizydnową frakcji lipidowych emulsji po 28 dniach przechowywania ($MVII-LA28$), czasem krystalizacji lipidów i wykładnikami płynięcia otrzymanych z nich emulsji po 28 dniach przechowywania ($Ck-n28$) bądź indeksami niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie i indeksami bieli emulsji po 28 dniach przechowywania ($In(z-r)-WI28$). Z kolei silne korelacje ujemne występowały pomiędzy: ilością wycieku frakcji ciekłej lipidów w temperaturze 20°C i indeksami sprężystości emulsji „świeżych” ($Iw20-EII$), czasem krystalizacji lipidów i współczynnikiem konsystencji emulsji „świeżych” ($Ck-KI$) bądź współczynnikiem równowagi ciecz-ciało stałe emulsji

świeżych i indeksami lepkości makroskopowej emulsji po 28 dniach przechowywania (*SLB1-MVI28*). Nie stwierdzono istotnych korelacji pomiędzy indeksami sprężystości lipidów i indeksami lepkości makroskopowej emulsji „świeżych” (*EI-MVII*) czy współczynnikami odzysku lepkości lipidów i indeksami niestabilności emulsji zdyspergowanych w środowisku o pH równym 5 (*Wod-In(pH5)*) (rys. 65a).

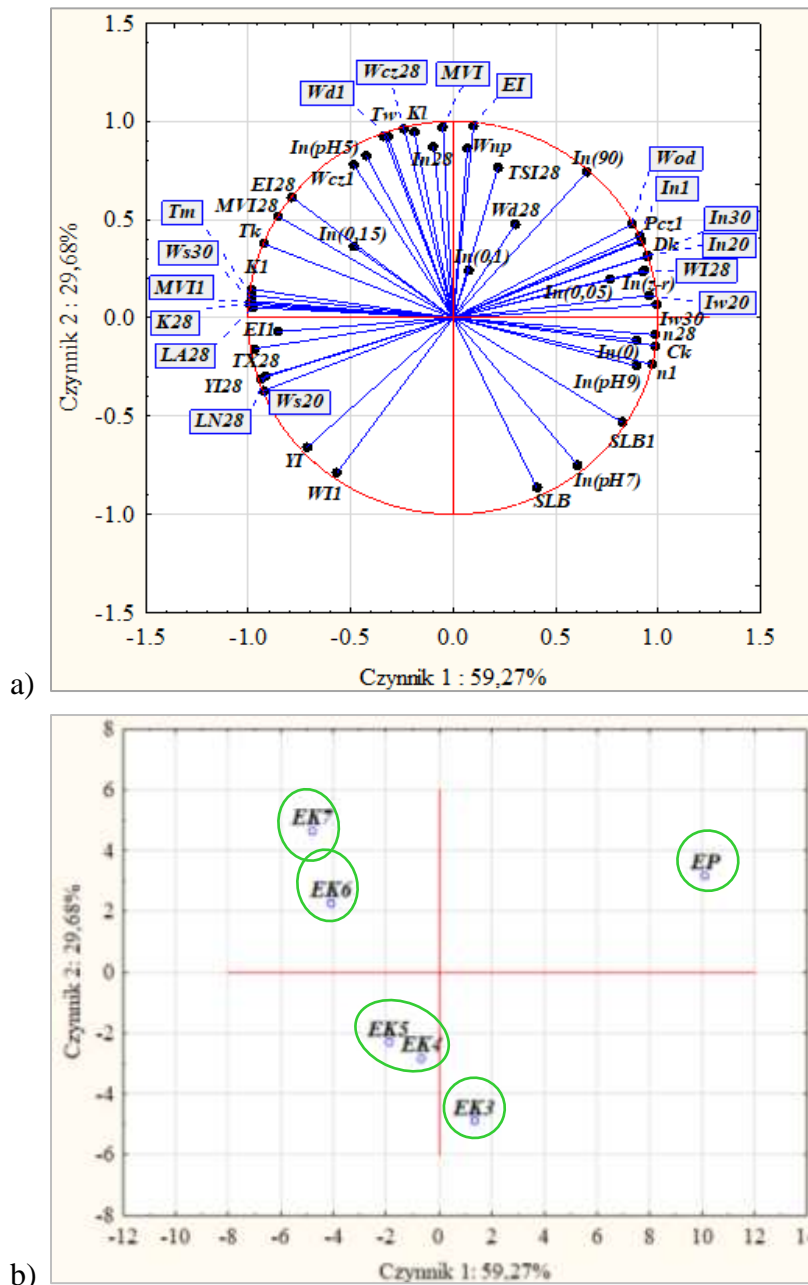
Tabela 19. Współczynniki korelacji pomiędzy czynnikami a zmiennymi

| Zmienna | Wsp. korelacji (ρ) | | Zmienna | Wsp. korelacji (ρ) | |
|-------------|---------------------------|-----------|-----------------|---------------------------|-----------|
| | Czynnik 1 | Czynnik 2 | | Czynnik 1 | Czynnik 2 |
| <i>Wnp</i> | 0,07 | 0,86 | <i>SLB1</i> | 0,82 | -0,53 |
| <i>YI</i> | -0,71 | -0,66 | <i>In1</i> | 0,91 | 0,41 |
| <i>Dk</i> | 0,91 | 0,39 | <i>Pcz1</i> | 0,92 | 0,39 |
| <i>Tm</i> | -0,99 | 0,12 | <i>In(z-r)</i> | 0,93 | 0,24 |
| <i>Tk</i> | -0,92 | 0,38 | <i>In(90)</i> | 0,65 | 0,74 |
| <i>Ck</i> | 0,99 | -0,14 | <i>In(pH5)</i> | -0,43 | 0,83 |
| <i>St</i> | -0,34 | 0,93 | <i>In(pH7)</i> | 0,61 | -0,75 |
| <i>Sk</i> | -0,19 | 0,94 | <i>In(pH9)</i> | 0,89 | -0,25 |
| <i>Wod</i> | 0,87 | 0,48 | <i>In(0)</i> | 0,89 | -0,11 |
| <i>EI</i> | 0,10 | 0,98 | <i>In(0,05)</i> | 0,76 | 0,19 |
| <i>MVI</i> | -0,05 | 0,97 | <i>In(0,1)</i> | 0,08 | 0,25 |
| <i>SLB</i> | 0,41 | -0,86 | <i>In(0,15)</i> | -0,48 | 0,36 |
| <i>Ws20</i> | -0,93 | -0,37 | <i>WI28</i> | 0,92 | 0,23 |
| <i>Ws30</i> | -0,98 | 0,09 | <i>YI28</i> | -0,94 | -0,31 |
| <i>In20</i> | 0,95 | 0,32 | <i>Wcz28</i> | -0,24 | 0,96 |
| <i>In30</i> | 0,95 | 0,31 | <i>Wd28</i> | 0,30 | 0,48 |
| <i>Iw20</i> | 0,95 | 0,11 | <i>K28</i> | -0,99 | 0,06 |
| <i>Iw30</i> | 1,00 | 0,07 | <i>n28</i> | 0,99 | -0,09 |
| <i>WII</i> | -0,57 | -0,79 | <i>MVI28</i> | -0,85 | 0,52 |
| <i>Wcz1</i> | -0,48 | 0,78 | <i>EI28</i> | -0,79 | 0,61 |
| <i>Wd1</i> | -0,32 | 0,92 | <i>TSI28</i> | 0,22 | 0,77 |
| <i>KI</i> | -0,99 | 0,15 | <i>In28</i> | -0,10 | 0,87 |
| <i>n1</i> | 0,97 | -0,24 | <i>LN28</i> | -0,91 | -0,30 |
| <i>MVII</i> | -0,99 | 0,08 | <i>LA28</i> | -0,97 | 0,05 |
| <i>EII</i> | -0,86 | -0,07 | <i>TX28</i> | -0,97 | -0,16 |

Objaśnienia: jak pod tab. 8, tab. 12 i tab. 18.

Projekcja przypadków (emulsji) na płaszczyznę czynników (rys. 65b) pozwala oszacować stopień zróżnicowania charakterystyki emulsji doświadczalnych (w oparciu o 50 zmiennych), na podstawie odległości pomiędzy punktami przypisanymi

przypadkom na wykresie. Największe podobieństwo zaobserwowano pomiędzy emulsjami na bazie oleożeli z 4% i 5% stężeniem wosku (EK4 i EK5). Ponadto wykazano, że emulsja na bazie oleju palmowego (EP) bardzo różni się od pozostałych układów (rys. 65b).



Rys. 65. Projektacja zmiennych (a) i przypadków (b) na płaszczyznę czynników
 Objasnienia: jak pod tab. 8, tab. 12 i tab. 18; EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleozelem z 3-7% m/m wosku kandelila; Próbkki w zielonym obramowaniu wykazywały podobieństwo.

W celu uzupełnienia analizy PCA, ten sam zbiór danych poddano hierarchicznej analizie skupień (HCA), umożliwiającej klasyfikację przypadków (obiektów – emulsji)

we względnie jednorodne grupy (metoda Warda oparta na analizie wariancji) [Granato i wsp. 2018].

Wyodrębniono 3 grupy emulsji (odległość wiązania: $y = 6,1441$) (rys. 66). Skupienie 1 tworzy emulsja na bazie oleju palmowego (EP), co potwierdza bardzo dużą odmienność tego układu od pozostałych (tak jak w analizie PCA). Skupienie 2 obejmuje emulsje na bazie oleożeli z 6% lub 7% stężeniem wosku (EK6 i EK7), natomiast skupienie 3 – emulsje na bazie oleożeli z 3%, 4% lub 5% stężeniem wosku (EK3, EK4 i EK5) (rys. 66). Poszczególne skupienia, do których zaklasyfikowano emulsje, scharakteryzowano pod względem średnich wartości analizowanych parametrów.

Skupienie 1 (EP) charakteryzuje m.in.:

- najmniejsza stabilność lipidu stanowiącego fazę rozproszoną emulsji – najwyższe średnie wartości indeksu niestabilności i ilości wycieku frakcji ciekłej w temperaturach 20°C i 30°C (odpowiednio 25,53% i 60,81% oraz 1,94% i 36,78%); najniższe średnie wartości wskaźników stabilności wirówkowej lipidu, w temperaturach 20°C i 30°C (odpowiednio 93,97% i 70,13%);
- najmniejsza stabilność emulsji „świeżych” – najwyższe średnie wartości indeksu niestabilności (1,25), prędkości cząstek w polu wirowania (0,31 $\mu\text{m/s}$), wykładnika płynięcia (0,81); najniższe średnie wartości współczynnika konsystencji (72,73 $\text{mPa}\cdot\text{s}$), indeksu lepkości makroskopowej ($1,37 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-2}$);
- najmniejsza stabilność emulsji poddanych stresowi środowiskowemu – najwyższe średnie wartości indeksu niestabilności po cyklu zamrażanie-rozmrażanie (52,0), ogrzewaniu w temperaturze 90°C (8,13), zdyspergowaniu w środowisku o pH równym 9 (1,25) lub niskiej sile jonowej, tj. 0 lub 0,05 M stężeniu NaCl (odpowiednio 14,95 i 19,50);
- najmniejsza stabilność grawitacyjna emulsji, po 28 dniach przechowywania – najwyższe średnie wartości indeksu stabilności Turbiscan (4,27), współczynnika dyspersyjności (0,98), wykładnika płynięcia (0,93);
- najmniejszy stopień utlenienia frakcji lipidowej emulsji, po 28 dniach przechowywania – najniższe średnie wartości liczby nadtlenkowej (1,23 milirówn. O_2/kg), liczby anizydynowej (2,58) oraz wskaźnika *TOTOX* (5,05).

Skupienie 2 (EK6, EK7) charakteryzują m.in.:

- najwyższe średnie wartości parametrów, opisujących właściwości reologiczne i teksturę lipidu stanowiącego fazę rozproszoną emulsji, takich jak: temperatura

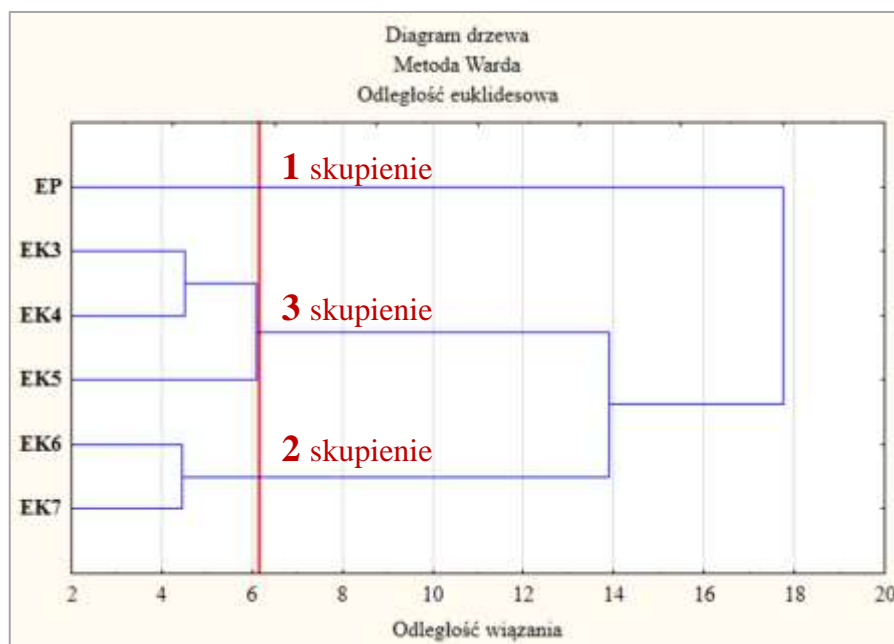
- topnienia i krystalizacji (odpowiednio 45,5°C i 42,2°C), twardość i kleistość (odpowiednio 5,43 N i 2,96 N), indeks lepkości makroskopowej ($12,97 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-2}$);
- największa stabilność wirówkowa i grawitacyjna lipidu stanowiącego fazę rozproszoną zdyspergowaną emulsji – najniższe średnie wartości indeksu niestabilności w temperaturach 20°C i 30°C (odpowiednio 1,52 oraz 5,06), ilości wycieku frakcji ciekłej w temperaturach 20°C i 30°C (odpowiednio 0,00 i 2,93);
 - największe średnie wielkości cząstek lipidowych (1,75 μm), wartości współczynnika dyspersyjności (1,0), współczynnika konsystencji (299,35 mPa·s), indeksu lepkości makroskopowej ($2,96 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-2}$), indeksu sprężystości ($1,39 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-2}$) emulsji „świeżych”, a także największe średnie wartości indeksu niestabilności po zdyspergowaniu w roztworze o pH równym 5 lub 0,1 M stężeniu NaCl (odpowiednio 29,2 i 19,6);
 - największa stabilność emulsji poddanych stresowi środowiskowemu, takiemu jak: cykl zamrażanie-rozmrażanie, zdyspergowanie w roztworze o pH równym 7 lub 9, w roztworze o 0 M lub 0,05 M stężeniu NaCl – najniższe średnie wartości indeksu niestabilności (odpowiednio 31,67, 1,0, 0,68, 11,28 i 16,38);
 - najmniejsza stabilność wirówkowa emulsji po 28 dniach przechowywania – najwyższe średnie wartości indeksu niestabilności (21,76), wielkości cząstek lipidowych (1,84 μm);
 - największy stopień utlenienia frakcji lipidowej emulsji po 28 dniach przechowywania – najwyższe średnie wartości *LN* (7,83 milirówn. O₂/kg), *LA* (5,70), wskaźnika *TOTOX* (21,36).

Skupienie 3 (EK3, EK4, EK5) cechuje:

- najmniejsze średnie wartości parametrów teksturalnych i mikroreologicznych lipidów stanowiących fazę rozproszoną emulsji – długość kryształów (9,80 μm), twardość i kleistość (odpowiednio 1,69 N i 1,11 N), współczynnik odzysku lepkości (11,84%), indeks sprężystości ($1,24 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-2}$), indeks lepkości makroskopowej ($2,92 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-2}$);
- największa stabilność emulsji „świeżych” – najniższe średnie wartości współczynnika dyspersyjności (0,83), wielkości cząstek lipidowych (1,65 μm), indeksu niestabilności (0,60), prędkości cząstek w polu wirowania (0,03 $\mu\text{m/s}$);
- największa stabilność emulsji poddanych działaniu stresu środowiskowego, takiemu jak: ogrzewanie w 90°C, zdyspergowanie w roztworze o pH równym 5 lub 0,1 M

stężeniu NaCl – najniższe wartości indeksów niestabilności (odpowiednio 3,06, 22,78 i 18,88);

- największa stabilność fizyczna emulsji po 28 dniach przechowywania – najmniejsze średnie rozmiary cząstek lipidowych (1,75 μm), średnie wartości współczynnika dyspersyjności (0,89), indeksu stabilności Turbiscan (2,36) i indeksu niestabilności (15,04).



Rys. 66. Diagram drzewa wyznaczony w ramach hierarchicznej analizy skupień (HCA) metodą Warda

Objaśnienia: EP – emulsja z olejem palmowym, EK3-7 – emulsja z oleożelem z 3-7% m/m wosku kandelila.

W oparciu o wartości współczynnika zmienności (W_z) określono stopień jednorodności każdego skupienia (grupy) emulsji pod względem określonego parametru – tab. A21. Im wyższa wartość W_z (od 0% do 100%), tym obiekty w skupieniu bardziej zróżnicowane (niejednorodne) pod względem wartości danego parametru [Szymańska i wsp. 2020a]. Skupienie 2 (EK6 i EK7) charakteryzuje najmniejsza jednorodność pod względem następujących parametrów: indeksu stabilności Turbiscan emulsji po 28 dniach przechowywania (51%) oraz indeksu lepkości makroskopowej (37%), ilości wycieku frakcji ciekłej w temperaturze 30°C (34%), współczynników odzysku lepkości (29%), indeksu sprężystości (28%) i twardości lipidów (23%), stanowiących fazę rozproszoną tych emulsji. Z kolei skupienie 3 (EK3, EK4, EK5) było najbardziej

niejednorodne w zakresie kleistości (64%), twardości (60%), ilości wycieku frakcji ciekłej w 20°C/30°C (173%/ 43%) i indeksów niestabilności lipidów w temperaturach 20°C i 30°C (odpowiednio 48% i 24%), a także indeksu niestabilności emulsji, wytworzonych z udziałem tych lipidów, po zdyspergowaniu w roztworze o pH równym 9 (22%).

6. Stwierdzenia i wnioski

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w **etapie I** stwierdzono, że:

1. Wosk kandelila charakteryzował się wysoką skutecznością w strukturyzowaniu mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego (1:1).
2. Stężenie wosku kandelila miało znaczący wpływ na właściwości otrzymanych lipidów strukturyzowanych (oleożeli). Zwiększenie udziału substancji strukturotwórczej w układach spowodowało zwiększenie stabilności oleożeli, zarówno w kontekście integralności struktury, jak i oporności lipidów na działanie różnych czynników zewnętrznych, takich jak podwyższona temperatura oraz siły ścinająca, grawitacyjna oraz odśrodkowa.
3. Lipidy strukturyzowane woskiem kandelila różniły się od oleju palmowego pod względem wielu badanych parametrów (w tym mikrostruktury, właściwości reologicznych, parametrów barwy, tekstury oraz stabilności fizycznej). Już przy najmniejszym udziale tego dodatku (3%) otrzymany oleożel charakteryzował się większą temperaturą topnienia niż olej palmowy.
4. Użycie 3-8% m/m wosku kandelila do strukturyzowania mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego (1:1) umożliwiło otrzymanie lipidów o większej stabilności fizycznej od oleju palmowego.

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w **etapie II** stwierdzono, że:

1. Homogenizacja ultradźwiękowa umożliwiła efektywne wytwarzanie stabilnych emulsji typu O/W (30/70 m/m), na bazie napoju sojowego, bez dodatku stabilizatorów, z udziałem oleju palmowego lub lipidów strukturyzowanych.
2. Rodzaj zastosowanej fazy lipidowej miał wpływ na kształtowanie stabilności fizycznej emulsji typu O/W. Najlepszą stabilnością cechowały się układy otrzymane z udziałem oleożeli. Mogło to być spowodowane utworzeniem przez wosk kandelila dodatkowej warstwy w przestrzeni międzyfazowej, co zwiększyło stabilność strukturalną cząstek fazy rozproszonej emulsji.
3. Stężenie wosku kandelila było istotnym czynnikiem determinującym właściwości fizyczne emulsji, otrzymanych z udziałem lipidów strukturyzowanych poprzez oleożelację. Zawartości wosku powyżej 6% m/m mogły prowadzić do destabilizacji układów emulsyjnych, spowodowanej powstawaniem dużych kryształów lipidowych w fazie rozproszonej emulsji.

4. Wegańskie emulsje z oleożelami charakteryzowały się znaczną opornością na destabilizację, w warunkach zmiany temperatury środowiska. Emulsja z 5% udziałem wosku w fazie wewnętrznej była szczególnie stabilna po procesach zamrażania i rozmrażania.

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w **etapie III** stwierdzono, że:

1. Czas przechowywania istotnie wpłynął na stabilność fizyczną śmietanki i wegańskich emulsji typu śmietanka, a także stabilność oksydacyjną ich frakcji lipidowych.
2. Stężenie wosku kandelila w lipidach strukturyzowanych determinowało szybkość przemian fizycznych i oksydacyjnych, zachodzących w emulsjach typu O/W.
3. Emulsje na bazie oleożeli z 3%, 4%, 5% stężeniem wosku kandelila charakteryzowały się wyższą stabilnością fizyczną w funkcji czasu, w porównaniu do emulsji z większym udziałem substancji strukturotwórczej w fazie lipidowej (6-7% m/m), a także emulsji z olejem palmowym i śmietanki stabilizowanej karagenem.
4. Frakcje lipidowe wydzielone z emulsji miały mniejszą stabilność oksydacyjną w czasie przechowywania (w temperaturze 20°C), w porównaniu do lipidów niepoddanych emulsyfikacji.
5. Frakcję lipidową emulsji z oleożelem z 5% stężeniem wosku kandelila charakteryzowały mniejsze wartości liczby nadtlenkowej (*LN*) po 28 dniach przechowywania (w temperaturze 20°C), w porównaniu do *LN* frakcji lipidowej emulsji na bazie mieszaniny rafinowanych olejów rzepakowego i lnianego (1:1). Może to sugerować, że proces oleożelacji przyczynia się do zmniejszenia szybkości degradacji tłuszczu w emulsjach, przy odpowiednio dobranym poziomie substancji strukturotwórczej.
6. Najbardziej stabilna oksydacyjnie (wykazująca najniższy pierwotny i wtórny stopień utlenienia) w całym okresie przechowywania była frakcja lipidowa śmietanki (tłuszcz mleczny), następnie frakcja lipidowa emulsji na bazie oleju palmowego. Pomimo różnic strukturalnych, podatność lipidów na utlenianie była uwarunkowana głównie ich składem kwasów tłuszczowych.

Wyniki badań, otrzymane w etapach I, II i III, pozwoliły potwierdzić w pełni hipotezy 2 i 3 oraz częściowo hipotezę 1 postawione w niniejszej pracy. Otrzymane lipidy strukturyzowane charakteryzowały się większą wartością żywieniową niż lipidy

konwencjonalne (takie jak olej palmowy), a także wykazywały istotnie różne właściwości fizyczne.

Sformułowano następujące **wnioski końcowe**:

1. Lipidy na bazie oleju lnianego i rzepakowego, strukturyzowane woskiem kandelila, o wskaźnikach żywieniowych świadczących o niskim ryzyku wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, mogą stanowić korzystną żywieniowo alternatywę dla konwencjonalnych tłuszczów stałych lub półstałych, powszechnie stosowanych w produkcji żywności.
2. Oleożele mogą zastąpić olej palmowy w produkcji stabilnych emulsji typu O/W, o zwiększonej wartości żywieniowej frakcji lipidowej.
3. Emulsje typu śmietanka, otrzymane z udziałem lipidów strukturyzowanych w procesie oleożelacji, wykazują duży potencjał jako wegańskie analogi śmietanki stabilizowanej karagenem.

7. Spis piśmiennictwa

- [1] Abdullah Z., Taip F.S., Kamal S.M.M., Rahman R.Z.A. 2018: Effect of sodium caseinate concentration and sonication amplitude on the stability and physical characteristics of homogenized coconut milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13773
- [2] Abou-Dobara M.I., Ismail M.M., Refaat N.M. 2016: Chemical composition, sensory evaluation and starter activity in cow, soy, peanut and rice milk. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 5, 634–640
- [3] Afaneh I., Abbadi J., Al-Rimawi F., Al-Dabbas G., Sawalha S. 2017: Effect of frying temperature and duration on the formation of *trans* fatty acids in selected fats and oils. *American Journal of Food Technology*, 5, 245–248
- [4] Ahmed M., Pickova J., Ahmad T., Liaquat M., Farid A., Jahangir M. 2016: Oxidation of lipids in foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, 32, 230–238
- [5] Al-Hilphy A.R.S., Verma D.K., Niamah A.K., Billoria S., Srivastav P.P. 2016: Principles of ultrasonic technology for treatment of milk and milk products. In: *Food Process Engineering: Emerging Trends in Research and Their Applications* (eds N.S. Billoria, P.P. Srivastav), CRC Press, 178–199
- [6] Alvarez-Mitre F.M., Morales-Rueda J.A., Dibildox-Alvarado E., Charó-Alonso M.A., Toro-Vazquez J.F. 2012: Shearing as a variable to engineer the rheology of candelilla wax organogels. *International Food Research Journal*, 49, 580–587
- [7] Anihouvi P.P., Danthine S., Kegelaers Y., Dombree A., Blecker C. 2013: Comparison of the physicochemical behavior of model oil-in-water emulsions based on different lauric vegetal fats. *International Food Research Journal*, 53, 156–163
- [8] Aranda-Ledesma N.E., Bautista-Hernandez I., Rojas R., Aguilar-Zarate P., Del Pilar Medina-Herrera N., Castro-Lopez C., Martínez-Avila G.C.G. 2022: Candelilla wax: Prospective suitable applications within the food field. *LWT – Food Science and Technology*, 159, 113170
- [9] Aschemann-Witzel J., Gantriis R.F., Fraga P., Perez-Cueto F.J.A. 2021: Plant-based food and protein trend from a business perspective: markets, consumers, and the challenges and opportunities in the future. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 3119
- [10] Asif M. 2011: Process advantages and product benefits of interesterification in oils and fats. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 1, 134–138
- [11] Avendaño-Vásquez G., De la Peña-Gil A., Charó-Alvarado M.E., Charó-Alonso M.A., Toro-Vazquez J.F. 2020: Self-assembly of symmetrical and asymmetrical alkyl esters in the neat state and in oleogels. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 132–153
- [12] Barroso N.G., Okuro P.K., Ribeiro A.P.B., Cunha R.L.C. 2020: Tailoring properties of mixed-component oleogels: wax and monoglyceride interactions towards flaxseed oil structuring. *Gels*, 6, 1–25

- [13] Belgheisi S., Motamedzadegan A., Milani J.M., Rashidi L., Rafe A. 2021: Impact of ultrasound processing parameters on physical characteristics of lycopene emulsion. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 484–493
- [14] Bendtsen N.T., Christensen R., Bartels E.M., Astrup A. 2011: Consumption of industrial and ruminant *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65, 773–783
- [15] Berg J.M.; Tymoczko J.L.; Stryer L. 2002: Fatty acids are key constituents of lipids. In: *Biochemistry*, 5th Edition (eds J.M. Berg; J.L. Tymoczko; L. Stryer), W.H. Freeman Publisher, New York, 490–492
- [16] Billingsley H.E., Carbone S., Lavie C.J. 2018: Dietary fats and chronic noncommunicable diseases. *Nutrients*, 10, 1385
- [17] Blake A.I., Co E.D., Marangoni A.G. 2014: Structure and physical properties of plant wax crystal networks and their relationship to oil binding capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 885–903
- [18] Blake A.I., Toro-Vazquez J.F., Hwang H.S. 2018: Wax oleogels. In: *Edible Oleogels. Structure and Health Implications*, 2nd Edition (eds A. Marangoni, N. Garti), Elsevier, 133–171
- [19] Borriello A., Masi P., Cavella S. 2021: Novel pumpkin seed oil-based oleogels: development and physical characterization. *LWT – Food Science and Technology*, 152, 112165
- [20] Briggs M.A., Petersen K.S., Kris-Etherton P.M. 2017: Saturated fatty acids and cardiovascular disease: replacements for saturated fat to reduce cardiovascular risk. *Healthcare*, 5, 1–29
- [21] Bru P., Brunel L., Buron H., Cayré I., Ducarre X., Fraux A., Mengual O., Meunier G., de Sainte Marie A., Snabre P. 2004: Particle size and rapid stability analyses of concentrated dispersions: Use of multiple light scattering technique. In: *Particle Sizing and Characterization* (eds T. Provder, J. Texter), ACS Symposium Series, Washington, 45–60
- [22] Brytek-Matera A. 2021: Vegetarian diet and orthorexia nervosa: a review of the literature. *Eating and Weight Disorders – Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, 26, 1–11
- [23] Bueschke M., Kulczyński B., Gramza-Michałowska A., Kubiak T. 2017: Alternatywne źródła białka w żywieniu człowieka. *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Problemy Rolnictwa Światowego*, 17, 49–59.
- [24] Burns-Whitmore B., Froyen E., Heskey C., Parker T., San Pablo G. 2021. Alpha-linolenic and linoleic fatty acids in the vegan diet: do they require dietary reference intake/adequate intake special consideration? *Nutrients*, 11, 2365–2390
- [25] Cabrera-Trujilloa M.A., Filomena-Ambrosio A., Quintanilla-Carvajal M.X., Sotelo-Díaz L.I. 2018: Stability of low-fat oil in water emulsions obtained by ultra turrax, rotorstator and ultrasound homogenization methods. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 13, 58–64

- [26] Calliauw G., Frederick E., Gibon V., De Greyt W., Wouters J., Foubert I., Dewettinck K. 2010. On the fractional crystallization of palm olein: solid solutions and eutectic solidification. *Food Research International*, 43, 972–981
- [27] Capcanari T., Istrati D., Dima F., Vizireanu C. 2015: Prospect of using the mixtures of sunflower and walnut oils for production of functional mayonnaise emulsions. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 21, 296–301
- [28] Capitani M.I., Nolasco S.M., Tomás M.C. 2016: Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Food Hydrocolloids*, 61, 537–546
- [29] Caron P., Ferrero y de Loma-Osorio G., Nabarro D., Hainzelin E., Guillou M., Andersen I., Arnold T., Astralaga M., Beukeboom M., Bickersteth S., Bwalya M., Caballero P., Campbell B.M., Divine N., Fan S., Frick M., Friis A., Gallagher M., Halkin J.P., Hanson C., Lasbennes F., Ribera T., Rockstrom J., Schuepbach M., Steer A., Tutwiler A., Verburg G. 2018: Food systems for sustainable development: proposals for a profound four-part transformation. *Agronomy for Sustainable Development*, 38, 41
- [30] Chandrapala J., Zisu B., Palmer M., Kentish S., Ashokkumar M. 2011: Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 951–957
- [31] Chaves K.F., Barrera-Arellano D., Ribeiro A.P.B. 2018. Potential application of lipid organogels for food industry. *Food Research International*, 105, 863–872
- [32] Chen W., Li X., Rahman R.T., Al-Hajj N.Q.M., Dey K.C., Raqib S.M. 2013. Review: Emulsification properties of soybean protein. *Nusantara Bioscience*, 6, 196–202
- [33] Chen X.W., Hu Q.H., Li X.X., Ma C.G. 2022: Systematic comparison of structural and lipid oxidation in oil-in-water and water-in-oil biphasic emulgels: effect of emulsion type, oil-phase composition, and oil fraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102, 4200–4209
- [34] Chizawa Y., Miyagawa Y., Yoshida M., Adachi S. 2019: Effect of crystallization of oil phase on the destabilization of O/W emulsions containing vegetable oils with low melting points. *Colloids and Surfaces A*, 582, 123824
- [35] Choi H., Lee E., Lee K.G. 2014: Quality evaluation of noble mixed oil blended with palm and canola oil. *Journal of Oleo Science*, 63, 653–660
- [36] Chopin-Doroteo M., Morales-Rueda J.A., Dibildox-Alvarado E., Charó-Alonso M.A., De la Peña-Gil A., Toro-Vazquez J.F. 2011: The effect of shearing in the thermo-mechanical properties of candelilla wax and candelilla wax–tripalmitin organogels. *Food Biophysics*, 6, 359–376
- [37] Chudy S., Gierałtowska U., Krzywdzińska-Bartkowiak M., Piątek M. 2016: Pomiar barwy produktów mleczarskich. W: *Współczesne trendy w kształtowaniu jakości żywności* (red. D. Piasecka-Kwiatkowska, R. Cegielska-Radziejewska), Wydawnictwo PTTŻ, Poznań, 85–95
- [38] Chung C, Smith G., Degner B., McClements D.J. 2016: Reduced fat food emulsions: physicochemical, sensory, and biological aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 650–685

- [39] Cichosz G., Czeczot H. 2011. Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 44, 50–60
- [40] Ciurzyńska A., Lenart A. 2011: Freeze-drying – application in food processing and biotechnology – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61, 165–171
- [41] Co E.D., Marangoni A.G. 2012: Organogels: an alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 749–780
- [42] Codex Alimentarius 2006: Standard for dairy fat spreads. Codex Stan 253. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- [43] Codex Alimentarius 2015: Codex Standard for Named Vegetable Oils. CX-STAN 210-8, 18
- [44] Costa C., Medronho B., Filipe A., Mira I., Lindman B., Edlund H., Norgren M. 2019: Emulsion formation and stabilization by biomolecules: the leading role of cellulose. *Polymers*, 11, 1570–1588
- [45] Craig W.J. 2009: Health effects of vegan diets. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 1627S–1633S
- [46] Da Silva T.L.T., Chaves K.F., Fernandes G.D., Rodrigues J.B., Bolini H.M.A., Arellano D.B. 2018: Sensory and technological evaluation of margarines with reduced saturated fatty acid contents using oleogel technology. *Journal of American Oil and Chemists' Society*, 95, 673–685
- [47] Dąbrowska M., Zielińska A., Nowak I. 2015: Produkty utleniania lipidów jako potencjalny problem zdrowotny oraz analityczny. *Chemik*, 69, 89–94
- [48] Dammak I., Sobral P.J.A. 2018: Investigation into the physicochemical stability and rheological properties of rutin emulsions stabilized by chitosan and lecithin. *Journal of Food Engineering*, 229, 12–20
- [49] Dapuelto N., Troncoso E., Mella C., Zúñiga R.N. 2019: The effect of denaturation degree of protein on the microstructure, rheology and physical stability of oil-in-water (O/W) emulsions stabilized by whey protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 263, 253–261
- [50] Davy P., Vuong Q.V. 2020: Soy milk by-product: its composition and utilisation. *Food Reviews International*, 38, 1–23
- [51] De Clercq N., Danthine S., Nguyen M.T., Gibon V., Dewettinck K. 2012. Enzymatic interesterification of palm oil and fractions: monitoring the degree of interesterification using different methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 219–229
- [52] Degner B.M., Chung C., Schlegel V., Hutkins R., McClements D.J. 2014: Factors influencing the freeze-thaw stability of emulsion-based foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 98–113
- [53] 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 Hydrocolloids*, 52, 848–856
- [54] Demirkesen I., Mert B. 2020: Recent developments of oleogel utilizations in bakery products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 2460–2479

- [55] Denkova P.S., Tcholakova S., Denkov N.D., Danov K.D., Campbell B., Shawl C., Kim D. 2004: Evaluation of the precision of drop-size determination in oil/water emulsions by low-resolution. *NMR Spectroscopy. Langmuir*, 20, 11402–11413
- [56] Devi A., Khatkar B.S. 2017: Thermo-Physical Properties of Fats and Oils. *International Journal of Engineering and Technical Research*, 7, 45–50
- [57] Dhaka V., Gulia N., Ahlawat K.S., Khatkar B.S. 2011: *Trans* fats-sources, health risks and alternative approach – A review. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 534–541
- [58] Dian N.L.H.M., Hamid R.A., Kanagaratnam S., Isa W.R.A., Hassim N.A.M., Ismail N.H., Omar Z., Sahri M.M. 2017: Palm oil and palm kernel oil: versatile ingredients for food applications. *Journal of Oil Palm Research*, 29, 487–511
- [59] Dickinson E. 2012: Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, 28, 224–241
- [60] Dijkstra, A.J. 2012: Kinetics and mechanism of the hydrogenation process – the state of the art. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114, 985–998
- [61] Dinu M., Abbate R., Gensini G.F., Casini A., Sofi F. 2017: Vegetarian, vegan diets and multiple health outcomes: a systematic review with meta-analysis of observational studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 3640–3649
- [62] Doan C.D. Tavernier I., Okuro P.K., Dewettinck K. 2018: Internal and external factors affecting the crystallization, gelation and applicability of wax-based oleogels in food industry. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 42–52
- [63] Doan C.D., Davy V.D.W., Patel A.R., Dewettinck K. 2015: Evaluating the oil–Gelling properties of natural waxes in rice bran oil: Rheological, thermal, and microstructural study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 801–811
- [64] Domingues M.A.F., Ribeiro A.P.B., Kieckbusch T.G., Gioielli L.A., Grimaldi R., Cardoso L.P., Gonçalves L.A.G. 2015: Advances in Lipids Crystallization Technology. In: *Advanced Topics in Crystallization* (ed. Y. Mastai), IntechOpen, London, 105–132
- [65] Domínguez R., Pateiro M., Gagaoua M., Barba F.J., Zhang W., Lorenzo J.M. 2019: A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8, 429–460
- [66] Dong L., Lv M., Gao X., Zhang L., Rogers M., Cao Y., Lan Y. 2020: In vitro gastrointestinal digestibility of phytosterol oleogels: influence of self-assembled microstructures on emulsification efficiency and lipase activity. *Food & Function*, 11, 9503–9513
- [67] Dorni C., Sharma P., Saikia G., Longvah T. 2018: Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. *Food Chemistry*, 238, 9–15
- [68] EFO 2021: Breaking down fats and oil. A catalyst to transform the global edible fats and oils system. EFO (Edible Fats and Oils Collaboration), 11–12

- [69] EFSA 2017: Dietary reference values for nutrients: Summary report. EFSA (European Food Safety Authority) supporting publication, e15121
- [70] El-Anany A.M., Ali R.F.M. 2012: Studies on hypolipidemic effects of Coconut oil when blended with Tiger nut oil and fed to albino rats. *Grasas Aceites*, 63, 303–312
- [71] Elias R.J., Kellerby S.S., Decker E.A. 2008: Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 430–441
- [72] Eshel G., Shepon A., Makov T., Milo R. 2014: Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 11996–12001
- [73] Evers J.M., Luckman M.S., Palfreyman K.R. 2000: The BDI method – Part I: Determination of free fatty acids in cream and whole milk powder. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 55, 33–36.
- [74] FAO 2010: Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome
- [75] FAO 2021: Transforming food systems for food security, improved nutrition and affordable healthy diets for all. The state of food security and nutrition in the world, Rome
- [76] FAOSTAT 2021: World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021, Rome
- [77] Fauzi S.H., Rashid N.A., Omar Z. 2013: Effects of chemical interesterification on the physicochemical, microstructural and thermal properties of palm stearin, palm kernel oil and soybean oil blends. *Food Chemistry*, 15, 8–17
- [78] Feichtinger A., Scholten E. 2020: Preparation of protein oleogels: effect on structure and functionality. *Foods*, 9, 174–205
- [79] Fratini F., Cilia G., Turchi B., Felicioli A. 2016: Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9, 839–843.
- [80] Fredrick E., Van de Walle D., Walstra P., Zijtveld J.H., Fischer S., Van der Meeren P., Dewettinck K. 2011: Isothermal crystallization behaviour of milk fat in bulk and emulsified state. *International Dairy Journal*, 21, 685–695
- [81] Frolova Y., Sarkisyan V., Sobolev R., Makarenko M., Semin M., Kochetkova A. 2022: The influence of edible oils' composition on the properties of beeswax-based oleogels. *Gels*, 8, 48–65
- [82] Genot C., Berton-Carabin C.C., Ropers M.H. 2013: The role of the interfacial layer and emulsifying proteins in the oxidation in oil-in-water emulsions. In: *Lipid oxidation: challenges in food systems* (eds A. Logan, U. Nienaber, X. Pan), AOCS Press, 177–210
- [83] Ghazani S.M., Marangoni A.G. 2013: Minor components in canola oil and effects of refining on these constituents: a review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 923–932

- [84] Gibon V. 2012: Palm oil and palm kernel oil refining and fractionation technology. In: Palm Oil, Production, Processing, Characterization, and Uses (ed. O.M. Lai, C.P. Tan, C.C. Akoh), AOCS Press, 329–375
- [85] Glick-Bauer M., Yeh M.C. 2014: The health advantage of a vegan diet: exploring the gut microbiota connection. *Nutrients*, 4, 4822
- [86] Goh K.M., Hong X.Y., Nyam K.L. 2021: Influence of homogenization cycle on the thermal and storage stability of kenaf seed oil (KSO) emulsion. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 3307
- [87] Golding M., Wooster T.J. 2010: The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15, 90–101
- [88] Gómez-Estaca J., Herrero A.M., Herranz B., Álvarez M.D., Jiménez-Colmenero F., Cofrades S. 2019: Characterization of ethyl cellulose and beeswax oleogels and their suitability as fat replacers in healthier lipid pâtés development. *Food Hydrocolloids*, 87, 960–969
- [89] Goyal A., Sharma V., Upadhyay N., Singh A.K., Arora S., Lal D., Sabikhi L. 2015: Development of stable flaxseed oil emulsions as a potential delivery system of ω -3 fatty acids. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4256–4265
- [90] Grajzer M., Wiatrak B., Gębarowski T., Matkowski A., Grajeta H., Rój E., Kulma A., Prescha A. 2020: Chemistry, oxidative stability and bioactivity of oil extracted from *Rosa Rugosa* (Thunb.) seeds by supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry*, 335, 127649
- [91] Granato D., Masson M.C. 2010: Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, 1090
- [92] Granato D., Santos J.S., Escher G.B., Ferreira B.L., Maggio R.M. 2018: Use of Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: a critical perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 83–90
- [93] Grossmann L., McClements D.J. 2021: The science of plant-based foods: approaches to create nutritious and sustainable plant-based cheese analogs. *Trends in Food Science and Technology*, 118, 207–229
- [94] Guo S., Song M., He X., Yang F., Cao Y., Rogers M., Lan Y. 2019: Water-induced self-assembly of mixed gelator system (ceramide and lecithin) for edible oil structuring. *Food & Function*, 10, 3923–3933
- [95] Gurr M., Harwood J., Frayn K., Murphy D., Mitchell R. 2016: *Lipids: Biochemistry, Biotechnology and Health*. 6th Edition, Wiley-Blackwell, 13–20
- [96] Haas R., Schnepfs A., Pichler A., Meixner O. 2019: Cow milk versus plant-based milk substitutes: a comparison of product image and motivational structure of consumption. *Sustainability*, 11, 5046–5071
- [97] Hadad S., Goli S.A.H. 2019: Improving oxidative stability of flaxseed oil by encapsulation in electrospun flaxseed mucilage nanofiber. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 829–838

- [98] Hargrove J.L., Greenspan P., Hartle D.K. 2004: Nutritional significance and metabolism of very long chain fatty alcohols and acids from dietary waxes. *Experimental Biology and Medicine*, 229, 215–226
- [99] Hartel R.W., Von Elbe J.H., Hofberger R. 2018: Fats, oils and emulsifiers. In: *Confectionery science and technology* (eds R.W. Hartel, J.H. von Elbe, R. Hofberger), Springer, 85–86, 99
- [100] Harun M. 2019: Fatty acid composition of sunflower in 31 Inbreed and 28 Hybrid. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 16, 12032–12038
- [101] Hashempour-Baltork F, Torbati M, Azadmard-Damirchi S, Savage G.P. 2018: Chemical, rheological and nutritional characteristics of sesame and olive oils blended with linseed oil. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 8, 107–113
- [102] Hashempour-Baltork F., Torbati M., Azadmard-Damirchi S., Savage G.P. 2016: Vegetable oil blending: A review of physicochemical, nutritional and health effects. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 52–58
- [103] Hayati I.N., Che Man I.B., Tan C.P., Aini I.N. 2009: Thermal behavior of concentrated oil-in-water emulsions based on soybean oil and palm kernel olein blends. *Food Research International*, 42, 1223–1232
- [104] Heller M.C, Keoleian G.A. 2015: Greenhouse gas emission estimates of us dietary choices and food loss. *Journal of Industrial Ecology*, 19, 391–401
- [105] Holey S.A., Sekhar K.P.C., Mishra S.S., Kanjilal S., Nayak R.R. 2021: Effect of oil unsaturation and wax composition on stability, properties and food applicability of oleogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 98, 1189–1203
- [106] Hondoh H., Ueno S. 2016: Polymorphism of edible fat crystals. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 62, 398–399
- [107] Hopkins E.J., Chang C., Lam R.S.H., Nickerson M.T. 2015: Effects of flaxseed oil concentration on the performance of a soy protein isolate-based emulsion-type film. *Food Research International* 67, 418–425
- [108] Hwang H.S., Fhaner M., Winkler-Moser J.K., Liu S.X. 2018: Oxidation of fish oil oleogels formed by natural waxes in comparison with bulk oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120, 1700378–1700388
- [109] Hyatt JR., Zhang S., Akoh C. 2022: Characterization and comparison of oleogels and emulgels prepared from Schizochytrium algal oil using monolaurin and MAG/DAG as gelators. *Authorea Preprints*, 1–10
- [110] Ikya J.K., Gernah D.I., Ojobo H.E., Oni O.K. 2013: Effect of cooking temperature on some quality characteristics of soy milk. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5, 543–546
- [111] Jafari S.M., Assadpoor E., He Y., Bhandari B. 2008: Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22, 1191–120
- [112] Jakubczyk E., Gondek E. Samborska K. 2014: Charakterystyka tekstury wybranych miksów tłuszczowych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 579, 17–26

- [113] Jalilibal Z., Amiri A., Castagliola P., Khoo M.B.C. 2021: Monitoring the coefficient of variation: A literature review. *Computers & Industrial Engineering*, 161, 107600–107604
- [114] Jang A., Bae W., Hwang H.S., Lee H.G., Lee S. 2015: Evaluation of canola oil oleogels with candelilla wax as an alternative to shortening in baked goods. *Food Chemistry*, 187, 525–529
- [115] Kadhum A.A.H., Shamma M.N. 2017: Edible lipids modification processes: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 48–58
- [116] Kaltsa O., Gatsi I., Yanniotis S., Mandala I. 2014: Influence of ultrasonication parameters on physical characteristics of olive oil model emulsions containing xanthan. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2038–2049
- [117] Kamath R., Basak S., Gokhale J. 2022: Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues-a review. *LWT – Food Science and Technology*, 155, 112991–112998
- [118] Keerati-u-rai M., Corredig M. 2009: Heat-induced changes in oil-in-water emulsions stabilized with soy protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 23, 2141–2148
- [119] Kellens M., Calliauw G. 2013: Oil Modification Processes. In: *Edible oil processing* (eds W. Hamm, R.J. Hamilton, G. Calliauw), Wiley Blackwell, 171–191
- [120] Kiralan M., Ulas M.A., Özyayın A.G., Özdemir N., Özkan G., Bayrak A., Ramadan M.F. 2016: Changes in hexanal, thymoquinone and tocopherols levels in blends from sunflower and black cumin oils as affected by storage at room temperature. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 93, 229–236
- [121] Kong F., Singh R.P. 2016: Chemical deterioration and physical instability of foods and beverages. In: *The stability and shelf life of food*. 2nd Edition (eds L.H. Skibsted, J. Risbo, M.L. Andersen), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 43–76
- [122] Kostik V., Memeti S., Bauer B. 2013: Fatty acid composition of edible oils and fats. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4, 112–116.
- [123] Kowalska M., Paździor M., Żbikowska A. 2017: Influence of storage temperature and quantities of sesame oil on the stability of the model emulsion. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 2, 144–153
- [124] Kowalska M., Woźniak M., Żbikowska A., Kozłowska M. 2020: Physicochemical characterization and evaluation of emulsions containing chemically modified fats and different hydrocolloids. *Biomolecules*, 10, 115–132
- [125] Kowalska M., Żbikowska A. 2011: Wykorzystanie biokatalizatorów w procesie przeestryfikowania enzymatycznego. *Postępy Techniki Przemysłu Spożywczego*, 1, 66–70
- [126] Kowalska M., Żbikowska A. 2013: Sposoby określania wielkości cząstek ze szczególnym uwzględnieniem wykorzystania metody rozpraszania światła laserowego w układach emulsyjnych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1, 100–105
- [127] Kowalska M., Żbikowska A., Śmiechowski K., Marciniak-Łukasiak K. 2014: Wpływ ilości lecytyny słonecznikowej i czasu homogenizacji na stabilność

- emulsji spożywczej zawierającej olej z orzechów włoskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 92, 78–91
- [128] Kuhnt K., Baehr M., Rohrer C., Jahreis, G. 2011: *Trans* fatty acid isomers and the *trans-9/trans-11* index in fat containing foods. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 1281–1292
- [129] Kupongsak S., Sathitvorapojjana S. 2017: Properties and storage stability of o/w emulsion replaced with medium-chain fatty acid oil. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67, 107–115
- [130] Larsen T.H., Furst E.M. 2008: Microrheology of the liquid-solid transition during gelation. *Physical Review Letters*, 100, 146001
- [131] Leal-Calderon F. 2012: Emulsified lipids: formulation and control of end-use properties. *Oilseeds & Fats Crops and Lipids*, 19, 111–119
- [132] Lee J., Choi S.J. 2020: Influence of blending of non-ionic emulsifiers having various hydrophilic head sizes on lipid oxidation: investigation of antioxidant polarity-interfacial characteristics relationship. *Antioxidants*, 10, 886–901
- [133] Lee M.C., Tan C., Abbaspourrad A. 2019: Combination of internal structuring and external coating in an oleogel-based delivery system for fish oil stabilization. *Food Chemistry*, 277, 213–221
- [134] Lee Y.L., Ristic R.I., DeMatos L.L., Martin C.M. 2010: Crystallisation pathways of polymorphic triacylglycerols induced by mechanical energy. In: *Journal of Physics: Conference Series*, “XIV International Conference on Small-Angle Scattering (SAS09)”, vol. 247, Oxford, 13–18
- [135] Lerche D., Sobisch T. 2011: Direct and accelerated characterization of formulation stability. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 32, 1799–1811
- [136] Li C., Zhang Y., Li S., Wang G., Xu C., Deng Y., Wang S. 2013: Mechanism of formation of *trans* fatty acids under heating conditions in triolein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10392–10397
- [137] Limpimwong W., Kumrungsee T., Kato N., Yanaka N., Thongngam M. 2017: Rice bran wax oleogel: A potential margarine replacement and its digestibility effect in rats fed a high-fat diet. *Journal of Functional Foods*, 39, 250–256
- [138] Lindmark Månsson H. 2008: Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*, 52, 1–3
- [139] Liu L., Ramirez I.S.A., Yang J., Ciftci O.N. 2020: Evaluation of oil-gelling properties and crystallization behavior of sorghum wax in fish oil. *Food Chemistry*, 309, 125567–125575
- [140] Liu Q., Huang H., Chen H., Lin J., Wang Q. 2019: Food-grade nanoemulsions: preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds. *Molecules*, 24, 4242
- [141] Malkin A., Isayev A. 2017: Applications of rheology. In: *Rheology Concepts, Methods, and Applications*, 3rd Edition, ChemTec Publishing, 377–432
- [142] Manzocco L., Romano G., Calligaris S., Nicoli M.C. 2020: modeling the effect of the oxidation status of the ingredient oil on stability and shelf life of low-moisture bakery products: the case study of crackers. *Foods*, 9, 749–763

- [143] Mao L., Calligaris S., Barba L., Miao S. 2014: Monoglyceride self-assembled structure in O/W emulsion: formation, characterization and its effect on emulsion properties. *Food Research International*, 58, 81–88
- [144] Maphosa Y., Jideani V.A. 2018: Factors affecting the stability of emulsions stabilised by biopolymers. In: *Science and technology behind nanoemulsions* (ed. S. Karakuş), IntechOpen, London, 65–81
- [145] Marangoni A.G., Wesdorp L.H. 2012: Viscoelastic Properties of Fats. In: *Structure and Properties of Fat Crystal Networks*, 2nd Edition, CRC Press
- [146] Marrone G., Guerriero C., Palazzetti D., Lido P., Marolla A., Di Daniele F., Noce A. 2021: Vegan diet health benefits in metabolic syndrome. *Nutrients*, 13, 817–840
- [147] Martins A.J., Cerqueira M.A., Fasolin L.H., Cunha R.L., Vicente A.A. 2017: Fortified beeswax oleogels: effect of β -carotene on the gel structure and oxidative stability. *Food Research International*, 84, 170–179
- [148] Martins A.J., Cerqueira M.A., Pastrana L.M., Cunha R.L., Vicente A.A. 2019: Sterol-based oleogels' characterization envisioning food applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 3318–3325
- [149] Martins A.J., Vicente A.A., Pastrana L.M., Cerqueira M.A. 2020: Oleogels for development of health-promoting food products. *Food Science and Human Wellness*, 9, 31–39
- [150] Matheson A.B., Dalkas G., Clegg P., Euston S.R. 2018: Phytosterol based edible oleogels: A novel way of replacing saturated fat in food. *Nutrition Bulletin*, 43, 189–194
- [151] Matos M., Laca A., Rea F., Iglesias O., Rayner M., Gutiérrez G. 2018: O/W emulsions stabilized by OSA-modified starch granules versus non-ionic surfactant: Stability, rheological behaviour and resveratrol encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 222, 207–217
- [152] Mazzanti G., Marangoni A.G., Idziak S.H.J. 2005: Modeling phase transitions during the crystallization of a multicomponent fat under shear. *Physical Review E*, 71, 041607–041619
- [153] McClements D.J. 2015: *Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques*, 3rd Edition, CRC Press, Boca Raton
- [154] McClements D.J. 2020: Development of next-generation nutritionally fortified plant-based milk substitutes: structural design principles. *Foods*, 9, 421–447
- [155] McClements D.J., Grossmann L. 2021: The science of plant-based foods: constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 1–52
- [156] McClements D.J., Gumus C.E. 2016: Natural emulsifiers - biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science*, 234, 3–26
- [157] Medronho B., Filipe A., Costa C., Romano A., Lindman B., Edlund H., Norgren M. 2018: Microrheology of novel cellulose stabilized oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 531, 225–232

- [158] Mert B., Demirkesen I. 2016: Reducing saturated fat with oleogel/shortening blends in a baked product. *Food Chemistry*, 199, 809–816
- [159] Meybodi N.M., Mohammadifar M.A., Naseri A.R. 2014: Effective factors on the stability of oil-in-water emulsion-based beverage: a review. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 1, 67–71
- [160] Miyashita K., Hosokawa M. 2013: Substrate and droplet size: important factors for understanding aqueous lipid oxidation. In: *Lipid Oxidation* (ed. A. Logan, U. Nienaber, X. Pan), AOCS Press, 155–176
- [161] Mohanan A., Tang Y.R., Nickerson M.T., Ghosh S. 2020: Oleogelation using pulse protein-stabilized foams and their potential as a baking ingredient. *RSC Advances*, 10, 14892–14905
- [162] Mokrzycki W.S., Tatol M. 2011: Colour difference ΔE – a survey. *Machine Graphic & Vision*, 20, 383–411.
- [163] Montoya C., Cochard B., Flori A., Cros D., Lopes R., Cuellar T., Espeout S., Syaputra I., Villeneuve P., Pina M., Ritter M., Leroy T., Billotte N. 2014: genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Compared to its wild relative *E. oleifera* (H.B.K) Cortés. *PLOS One*, 9, e95412
- [164] Mor S., Sharma V., Minz P.S., Nain N. 2018: Effect of season, heat clarification temperature and ripening of cream on color parameters of ghee. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 30–43
- [165] Moriano M.E., Alamprese C. 2017: Organogels as novel ingredients for low saturated fat ice creams. *LWT – Food Science and Technology*, 86, 371–376
- [166] Moschakis T. 2013: Microrheology and particle tracking in food gels and emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 18, 311–323
- [167] Munk M.B., Andersen M.L. 2015. Partial coalescence in emulsions: The impact of solid fat content and fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 1627–1635
- [168] Munk M.B., Utoft A., Larsen F.H., Needham D., Risbo J. 2019: Oleogelating properties of ethylcellulose in oil-in-water emulsions: The impact of emulsification methods studied by ^{13}C MAS NMR, surface tension and micropipette manipulation studies. *Food Hydrocolloids*, 89, 700–706
- [169] Muthukrishnan G. 2021: Current trends in dairy analogues: functional food. *Food and Agriculture Spectrum Journal*, 2, 97–104
- [170] Nguemeni C., Delplanque B., Rovère C., Simon-Rousseau N., Gandin C., Agnani G., Nahon J.L., Heurteaux C., Blondeau, N. 2010: Dietary supplementation of alpha-linolenic acid in an enriched rapeseed oil diet protects from stroke. *Pharmacological Research*, 61, 226–233
- [171] Nikzade V., Tehrani M.M., Saadatmand-Tarzjan M. 2012: Optimization of low-cholesterol–low-fat mayonnaise formulation: effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Food Hydrocolloids*, 28, 344–352
- [172] Normah I., Cheow C.S., Chong C.L. 2013: crystal habit during crystallization of palm oil: effect of time and temperature. *International Food Research Journal*, 20, 417–422.

- [173] Ögütçü M. Yılmaz E. 2014: Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. *Grasas Aceites*, 65, e040
- [174] Ögütçü M. Yılmaz E. 2015: Characterization of hazelnut oil oleogels prepared with sunflower and carnauba waxes. *International Journal of Food Properties*, 18, 1741–1755
- [175] Okuro P.K., Martins A.J., Vicente A.A., Cunha R.L. 2020: Perspective on oleogelator mixtures, structure design and behaviour towards digestibility of oleogels. *Current Opinion in Food Science*, 35, 1–9
- [176] Okuro P.K., Tavernier I., Bin Sintang M.D., Skirtach A., Vicente A.A., Dewettinck K., Cunha R.L. 2018: Synergistic interactions between lecithin and fruit wax in oleogel formation. *Food & Function*, 9, 1755–1767
- [177] Onacik-Gür S., Żbikowska A., Przybysz M., Kowalska M. 2017: Assessment of physical properties of structured oils and palm fat. *Materiale Plastice*, 54, 800–805.
- [178] Orsavova J., Misurcova L., Ambrozova J.V., Vicha R., Mlcek J. 2015: Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 12871–12890
- [179] Pabich M., Materska M. 2019. Biological effect of soy isoflavones in the prevention of civilization diseases. *Nutrients*, 11, 1660
- [180] Pal R. 2000: Shear viscosity behavior of emulsions of two immiscible liquids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 225, 359–366
- [181] Palla C., Giacomozzi A., Genovese D.B., Carrin M.E. 2017: Multi-objective optimization of high oleic sunflower oil and monoglycerides oleogels: Searching for rheological and textural properties similar to margarine. *Food Structure*, 12, 1–14
- [182] Panchal B., Truong T., Prakash S., Bansal N., Bhandari B. 2021: influence of emulsifiers and dairy ingredients on manufacturing, microstructure, and physical properties of butter. *Foods*, 10, 1140
- [183] Panth N., Abbott K.A., Dias C.B., Wynne K., Garg, M.L. 2018: Differential effects of medium- and long-chain saturated fatty acids on blood lipid profile: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108, 675–687
- [184] Pasqua A., Fleury M., Brun A., Cristiano M.C., Cosco D., 2014: Potential application of microrheology Rheolaser Lab® in food sciences. In: *Advanced Technologies in Food Science I – Innovative techniques for food analysis, characterization and quality control* (ed. A.J.S. Coats). Biomed Research International, 6, 60–69
- [185] Patel A.R., Cludts N., Bin Sintang M.D., Lewille B., Lesaffer A., Dewettinck K. 2014: Polysaccharide-based oleogels prepared with an emulsion-templated approach. *Chemphyschem*, 15, 3435–3439
- [186] Pathare P.B., Opara U.L., Al-Said F. 2013: Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food Bioprocess Technology*, 6, 36–60

- [187] Paul A.A., Kumar S., Kumar V., Sharma R. 2020: Milk Analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 3005–3023
- [188] Peña-Serna C., Gómez-Ramirez B., Zapata-López N. 2019: nutritional aspects of ghee based on lipid composition. *Pakistan Journal of Nutrition*, 18, 1107–1114.
- [189] Pernin A., Bosc V., Soto P., Le Roux E., Maillard M.N. 2019: Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions Rich in Omega-3: Effect of Aqueous Phase Viscosity, Emulsifiers, and Antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 1800462
- [190] Piorkowski D.T., McClements D.J. 2014: Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, 42, 5–41
- [191] PN-A-86908. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Rafinowane oleje roślinne
- [192] PN-EN ISO 12966-1:2015-01: Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych – Część 1: Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metylowych kwasów tłuszczowych
- [193] PN-EN ISO 3960:2017-03: Oleje roślinne i zwierzęce oraz tłuszcze – Oznaczanie liczby nadtlenkowej – Jodometryczne (wizualne) określenie punktu końcowego
- [194] PN-EN ISO 6321:2004: Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia)
- [195] PN-EN ISO 6885:2016-04: Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie liczby anizydynowej
- [196] Primožic M., Duchek A., Nickerson M., Gosh S. 2018: Formation, stability and in vitro digestibility of nanoemulsions stabilized by high pressure homogenized lentil proteins isolate. *Food Hydrocolloids*, 77, 126–141
- [197] Pușcaș A., Muresan V., Socaciu C., Muste S. 2020: Oleogels in Food: A Review of Current and Potential Applications. *Foods*, 9, 70
- [198] 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 Chemistry*, 175, 249–257
- [199] Quintana-Martinez S., Morales-Cano A., García-Zapateiro L. 2018: Rheological behaviour in the interaction of lecithin and guar gum for oil-in-water emulsions. *Czech Journal of Food Sciences*, 36, 73–80
- [200] Rabej D., Pawłowicz R., Szydłowska-Czerniak A. 2016: Badanie szybkości krystalizacji masła kakaowego i tłuszczów alternatywnych metodą Żukowa. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego*, 71, 15–29
- [201] Rabej M. 2012. *Statystyka z programem Statistica*. Wydawnictwo Helion, Gliwice
- [202] Rachana C.R., Nath B.S. 2008: Crystallization of milk fat and its importance in the texture of dairy products-A review. *Indian Journal of Dairy Science*, 61, 408–422

- [203] Rafiee Z., Nejatian M., Daeihamed M., Jafari S.M. 2019: Application of different nanocarriers for encapsulation of curcumin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 3468–3497
- [204] Redondo-Cuevas L., Castellano G., Torrens F., Raikos V. 2018: Revealing the relationship between vegetable oil composition and oxidative stability: A multifactorial approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 221–229
- [205] Ribeiro A.P.B., Basso R.C., Grimaldi R., Gioielli L.A., dos Santos A.O., Cardoso L.P., Gonçalves L.A.G. 2009: Influence of chemical interesterification on thermal behavior, microstructure, polymorphism and crystallization properties of canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. *Food Research International*, 42, 1153–1162
- [206] Ribeiro A.P.B., Masuchi M.H., Miyasaki E.K., Domingues M.A., Stroppa V.L., de Oliveira G.M., Kieckbusch T.G. 2015: Crystallization modifiers in lipid systems. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 3925–3946
- [207] Rodriguez-Aguilera R., Oliveira J.C., Montanez J.C., Mahajan P.V. 2011: Effect of modified atmosphere packaging on quality factors and shelf-life of surface mould ripened cheese: Part I constant temperature. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 330–336
- [208] Rodriguez-Velazquez S. 2022: Fat. In: *Chemistry of cooking*. LibreTexts, 93120–93123
- [209] Rohart A., Michon C., Confiaç J, Bosc V. 2016: Evaluation of ready-to-use SMLS and DWS devices to study acid-induced milk gel changes and syneresis. *Dairy Science and Technology*, 96, 459–475
- [210] Roiaini M., Ardiannie T., Norhayati H. 2015: Physicochemical properties of canola oil, olive oil and palm olein blends. *International Food Research Journal*, 22, 1228–1234
- [211] Rousseau D., Ghazani S.M., Marangoni A.G. 2017: Chemical interesterification of food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology. In: *Food Lipids*, 4th Edition (ed. Akoh C.C.), CRC Press, Boca Raton, 149–184
- [212] Rozporządzenie 2010: Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz.U. L 232)
- [213] Rozporządzenie 2019/649: Rozporządzenie Komisji (UE) nr 2019/649 z dnia 24 kwietnia 2019 r. zmieniające załącznik III do rozporządzenia (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do izomerów *trans* kwasów tłuszczowych, innych niż izomery *trans* kwasów tłuszczowych naturalnie występujące w tłuszczu pochodzenia zwierzęcego (Dz.U. L 110)
- [214] Saad M.A., Kamil M., Abdurahman N.H., Yunus R.M., Awad O.I. 2019: An overview of recent advances in state-of-the-art techniques in the demulsification of crude oil emulsions. *Processes*, 7, 470
- [215] Sabolová M., Zeman V., Lebedová G., Doležal M., Soukup J., Réblová Z. 2020: Relationship between the fat and oil composition and their initial oxidation rate during storage at slightly elevated temperature. *Czech Journal of Food Sciences*, 38, 404–409

- [216] Saga L.C., Kristinova V., Kirkhus B., Jacobsen C., Skaret J., Liland K.H., Rukke E.O. 2012: characterization of oxidative stability of fish oil- and plant oil-enriched skimmed milk. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 113–122
- [217] Saldaña M.D.A., Martínez-Montegudo S.I. 2013: Oxidative stability of fats and oils measured by differential scanning calorimetry for food and industrial applications. In: *Applications of calorimetry in a wide context – differential scanning calorimetry, isothermal titration calorimetry and microcalorimetry* (ed. A.A. Elkordy), IntechOpen, London, 445–474
- [218] Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. 2015: Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, 547–556
- [219] Sato K., Bayés-García L., Calvet T., Cuevas-Diarte M.A., Ueno S. 2013: External factors affecting polymorphic crystallization of lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115, 1224–1238
- [220] Scharfe M., Flöter E. 2020: oleogelation: from scientific feasibility to applicability in food products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122, 2000213
- [221] Schröder A., Sprakel J., Boerkamp W., Schroën K., Berton-Carabin C.C. 2019: Can we prevent lipid oxidation in emulsions by using fat-based Pickering particles? *Food Research International*, 120, 352–363
- [222] Schweiggert-Weisz U., Eisner, Bader-Mittermaier S., Osen R. 2020: Food proteins from plants and fungi. *Current Opinion in Food Science*, 32, 156–162
- [223] Scott L.L., Duncan S.E., Sumner S.S., Waterman K.M. 2003: physical properties of cream reformulated with fractionated milk fat and milk-derived components. *Journal of Dairy Science*, 86, 3395–3404
- [224] Sęk J., Głabala D. 2011: Wykorzystanie teorii ruchu falowego w badaniach nad procesami rozwarstwiania się emulsji spożywczych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 50, 39–40
- [225] Shahidi F., Ambigaipalan P. 2018: Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 345–381
- [226] Shahidi F., Zhong Y. 2010: Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39, 4067–4079
- [227] Shanmugam A., Ashokkumar M. 2014: Ultrasonic preparation of stable flaxseed oil emulsions in dairy systems – Physicochemical characterization. *Food Hydrocolloids*, 39, 151–162
- [228] Shi Y., Liang B., Hartel R.W. 2005: Crystal morphology, microstructure, and textural properties of model lipid systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 399–408
- [229] Sinaga H., Bansal N., Bhandari B. 2017: Effects of milk pH alteration on casein micelle size and gelation properties of milk. *International Journal of Food Properties*, 20, 179–197

- [230] Singh S., Kumar V., Kumar A., Singh A.K. 2020: Development of rice bran oil and flaxseed oil based oleogels using beeswax for food application. In: Proceedings of International Conference on Recent Trends in Agriculture, Food Science, Forestry, Horticulture, Aquaculture, Animal Sciences, Biodiversity and Climate Change (AFHABC- 2019), 19–22e
- [231] Sodano V., Rivero R., Scafuto F. 2018: investigating the intention to reduce palm oil consumption. *Quality – Access to Success*, 19, 500–505
- [232] Solah V.A., Staines V., Honda S., Limley H.A. 2007: measurement of milk color and composition: effect of dietary intervention on western australian holstein-friesian cow's milk quality. *Journal of Food Science*, 72, 560-566
- [233] Sołowiej B., Nastaj M. 2015: Relevance and production of dairy analogues and restructured dairy products. In: Reference module in food sciences (ed. G. Smithers), Elsevier, 1–6
- [234] Soumanou M.M., Pérignon M., Villeneuve P. 2013: Lipase-catalyzed interesterification reactions for human milk fat substitutes production: a review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115, 270–285
- [235] Sun Y.E., Wang W.D, Chen H.W., Li C. 2011: Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 453–466
- [236] Swanson D., Block R., Mousa S.A. 2012: Ω -3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *American Society for Nutrition*, 3, 1–7.
- [237] Szymańska I., Żbikowska A., Onacik-Gür S. 2022: Candelilla wax-based oleogels *versus* palm oil: evaluation of physical properties of innovative and conventional lipids using optical techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102, 2309–2320
- [238] Szymańska I., Żbikowska A., Kowalska M. 2020a: Physical stability of model emulsions based on ethyl cellulose oleogels. *International Agrophysics*, 34, 289–300
- [239] Szymańska I., Żbikowska A., Kowalska M., Golec K. 2021: Application of Oleogel and Conventional Fats for Ultrasound-assisted Obtaining of Vegan Creams. *Journal of Oleo Science*, 70, 1495–1507
- [240] Szymańska I., Żbikowska A., Marciniak-Łukasiak K. 2020b: Effect of addition of a marine algae (*Chlorella protothecoides*) protein preparation on stability of model emulsion systems. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41, 699–707
- [241] Taha A., Ahmed E., Hu T., Xu X., Pan S., Hu H. 2019: Effects of different ionic strengths on the physicochemical properties of plant and animal proteins-stabilized emulsions fabricated using ultrasound emulsification. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104627
- [242] Taha A., Hu T., Zhang Z., Bakry A.M., Khalifa I., Pan S. 2018: Effect of different oils and ultrasound emulsification conditions on the physicochemical properties of emulsions stabilized by soy protein isolate. *Ultrasonics Sonochemistry* 49, 283–293
- [243] Talbot G. 2016: The stability and shelf life of fats and oils. In: The stability and shelf life of food. 2nd Edition (eds P. Subramaniam, P. Wareing), Woodhead

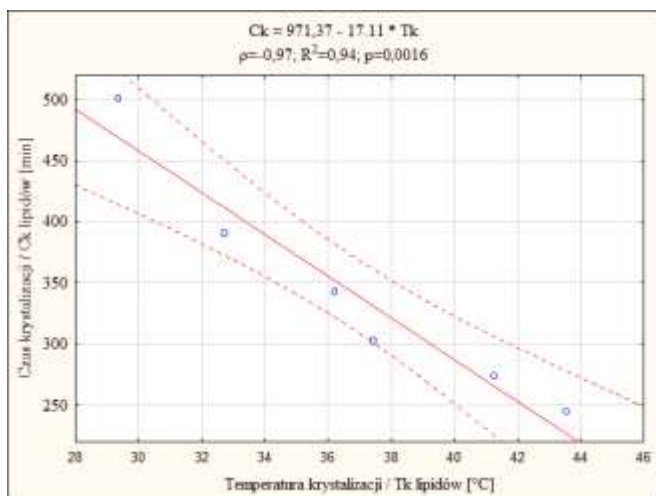
- Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Cambridge, 461–503
- [244] Tam Y.D., Lim J.S. 2019: Feasibility of palm oil mill effluent elimination towards sustainable Malaysian palm oil industry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 111, 507–522
- [245] Tang C.H. 2017: Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 2636–2679
- [246] Tavernier I., Patel A.R., Van der Meeren P., Dewettinck K. 2017: Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein: κ -carrageenan complexes. *Food Hydrocolloids*, 65, 107–120
- [247] Tcholakova S., Denkov N.D., Ivanov I.B., Campbell B. 2006: Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins. *Advances in Colloid and Interface Science*, 123–126, 259–293
- [248] Temkov M, Mureşan V. 2021: Tailoring the structure of lipids, oleogels and fat replacers by different approaches for solving the *trans*-fat issue – a review. *Foods*, 10, 1376
- [249] Thakur D., Singh A., Prabhakar P.K., Meghwal M., Upadhyay A. 2022: Optimization and characterization of soybean oil-carnauba wax oleogel. *LWT – Food Science and Technology*, 157, 113108
- [250] Tinto W.F., Elufioye T.O., Roach J. 2017: Waxes. In: *Pharmacognosy Fundamentals, Applications and Strategies* (eds S. Badal, R. Delgoda), Elsevier, 443–455
- [251] Tong S.C., Tang T.K., Lee Y.Y. 2021: A review on the fundamentals of palm oil fractionation: processing conditions and seeding agents. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123, 2100132
- [252] Toro-Vazquez J.F., Morales-Rueda J.A., Dibildox-Alvarado E., Charo'-Alonso M., Alonzo-Macias M., Gonzalez-Chavez, M.M. 2007: thermal and textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 989–1000
- [253] Van den Brecht K., Van Hoed V., Mullendorff K., Arnaut F. 2012: Balancing functional and nutritional quality of oils and fats: current requirements and future trends. *Oilseeds & Fats Crops and Lipids*, 19, 83–88
- [254] Vieira S., Zhang G., Decker E.A. 2017: biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 339–351
- [255] Wang J., Shi A., Agyei D., Wang Q. 2017: Formulation of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsions containing *trans*-resveratrol. *RSC Advances*, 7, 35917–35927
- [256] Wang X., Li X., Xu D., Liu G., Xiao J., Cao Y., Sun B. 2018: Influence of unadsorbed emulsifiers on the rheological properties and structure of heteroaggregate of whey protein isolate (WPI) coated droplets and flaxseed gum (FG) coated droplets. *Food Hydrocolloids*, 80, 42–52
- [257] Wasnik P.G., Menon R.R., Surendra Nath B., Balasubramanyam B.V., Manjunatha M., Sivaram M. 2017: Application of particle analysis and colour

- parameters for detection of adulteration of cow *ghee* with vanaspati derived from image analysis. *Indian Journal of Dairy Science*, 70, 200–208.
- [258] Waśowicz E., Gramza A., Heś M., Jeleń H.H., Korczak J., Małecka M., Mildner-Szkudlarz S., Rudzińska M., Samotyja U., Zawirska-Wojtasiak R. 2004: Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13/54, 87–100
- [259] Wijarnprecha K., Aryusuk K., Santiwattana P., Sonwai S., Rousseau D. 2018: Structure and rheology of oleogels made from rice bran wax and rice bran oil. *Food Research International*, 112, 199–208
- [260] Woźniak M., Kowalska M., Tavernier S., Żbikowska A. 2021: Enzymatically modified fats applied in emulsions stabilized with polysaccharides. *Biomolecules*, 11, 49
- [261] Wu M.H., Yan H.H., Chen Z.Q., He M. 2017: Effects of emulsifier type and environmental stress on the stability of curcumin emulsion. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38, 13755–1380
- [262] Xu D., Qi Y., Wang X., Li X., Wang S., Cao Y., Wang C., Sun B., Decker E.A., Panya A. 2017: The influence of flaxseed gum on the microrheological properties and physicochemical stability of whey protein stabilized β -carotene emulsions. *Food & Function*, 8, 415–423
- [263] Yang M., Liu F., Tang C.H. 2013: Properties and microstructure of transglutaminase-set soy protein-stabilized emulsion gels. *Food Research International*, 52, 409–418
- [264] Yang S., Yang G., Chen X., Chen J., Liu W. 2020: Interaction of monopalmitate and carnauba wax on the properties and crystallization behavior of soybean oleogel. *Grain & Oil Science and Technology*, 3, 49–56
- [265] Ye A., Cui J., Zhu X., Singh H. 2013: Effect of calcium on the kinetics of free fatty acid release during in vitro lipid digestion in model emulsions. *Food Chemistry*, 139, 681–688.
- [266] Ye L., Harris E., Ritter J., Budge S., Ritter J.S. 2020: Flavors' decreasing contribution to p-anisidine value over shelf life may invalidate the current recommended protocol for flavored fish oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97, 1335–1341
- [267] Yılmaz E., Öğütçü M. 2014: Properties and Stability of Hazelnut Oil Organogels with Beeswax and Monoglyceride. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1007–1017
- [268] Zafeiri I., Smith P., Norton I.T., Spyropoulos F. 2017: Fabrication, characterisation and stability of oil-in-water emulsions stabilised by solid lipid particles: The role of particle characteristics and emulsion microstructure upon Pickering functionality. *Food & Function*, 8, 2583–2591
- [269] Zaliha O., Hishamuddin E., Sahri M.M., Fauzi S.H.M., Dian N.L.H.M., Ramli M.R., Rashid N.A. 2015. Palm oil crystallization: a review. *Journal of Oil Palm Research*, 27, 97–106

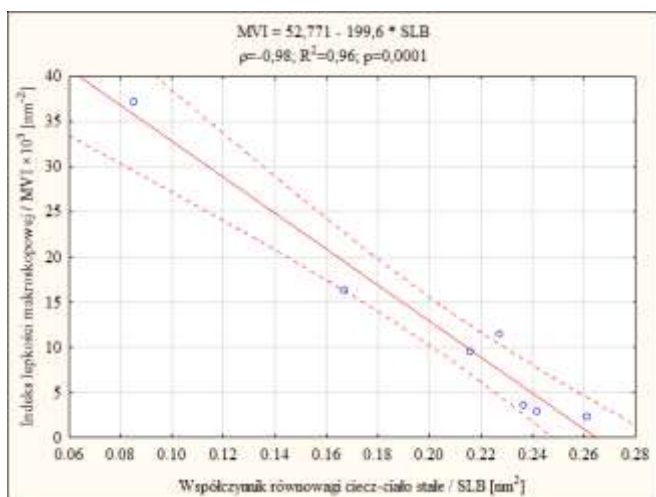
- [270] Zang X., Liu P., Chen Y., Wang J., Yu G., Xu H. 2019. Improved freeze-thaw stability of o/w emulsions prepared with soybean protein isolate modified by papain and transglutaminase. *LWT – Food Science Technology*, 104, 195–201
- [271] Zetzl A.K., Marangoni A.G. 2014: structured emulsions and edible oleogels as solutions to *trans*-fat. In: *Trans Fats Replacement Solutions* (ed. D.R. Kodali), AOCS Press, 215–243
- [272] Zetzl A.K., Marangoni A.G., Barbut S. 2012: Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food & Function*, 3, 327–337
- [273] Zhang R., Ciu M., Ye J., Yuan D., Mao L. 2022: Physicochemical stability of oleogel-in-water emulsions loaded with β -carotene against environmental stresses. *LWT – Food Science and Technology*, 155, 112965
- [274] Zhang X., Luo X., Wang Y., Li Y., Li B., Liu S. 2020: Concentrated O/W Pickering emulsions stabilized by soy protein/cellulose nanofibrils: Influence of pH on the emulsification performance. *Food Hydrocolloids*, 108, 106025
- [275] Zhu Y.Y., Thakur K., Feng J.Y., Cai J.S., Zhang J.G., Hu F., Wei Z.J. 2020: B-vitamin enriched fermented soymilk: A novel strategy for soy-based functional foods development. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 43–55
- [276] Zhuang X., Guadino N., Clark S., Acevedo N.C. 2021: Novel lecithin-based oleogels and oleogel emulsions delay lipid oxidation and extend probiotic bacteria survival. *LWT – Food Science and Technology*, 136, 110353
- [277] Ziełńska M., Rutkowska J., Antoniewska A. 2017: Produkty utleniania lipidów – konsekwencje żywieniowe i zdrowotne. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 98, 203–211
- [278] Zmarlicki S. 1981: Ćwiczenia z analizy mleka i produktów mlecznych: opracowanie zbiorowe. Wydanie II nie zmienione. Skrypty Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego Akademii Rolniczej w Warszawie, 177–178
- [279] Zychowski L.M., Mettu S., Dagastine R.R., Kelly A.L., O'Mahony J.A., Auty M.A.E. 2018: Physical and interfacial characterization of phytosterols in oil-in-water triacylglycerol-based emulsions. *Food Structure*, 19, 100101
- [280] Żbikowska A. 2010: Formation and properties of *trans* fatty acids – a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60, 107–114
- [281] Żbikowska A. 2014: Olej – niezbędny składnik w diecie człowieka. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 62, nr 8, 46–47
- [282] Żbikowska A., Kowalska M. 2012: Możliwości ograniczania ilości izomerów *trans* w procesie uwodornienia. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 1, 78–82.
- [283] Żbikowska A., Kowalska M., Rutkowska J. 2012: Zawartość fazy stałej a jakość i przydatność technologiczna szorteningów do produkcji ciast kruchych. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 2 (81), 173–185.
- [284] Żbikowska A., Szymańska I., Kowalska M. 2020: Impact of inulin addition on properties of natural yogurt. *Applied Sciences*, 10, 4317

8. Aneks

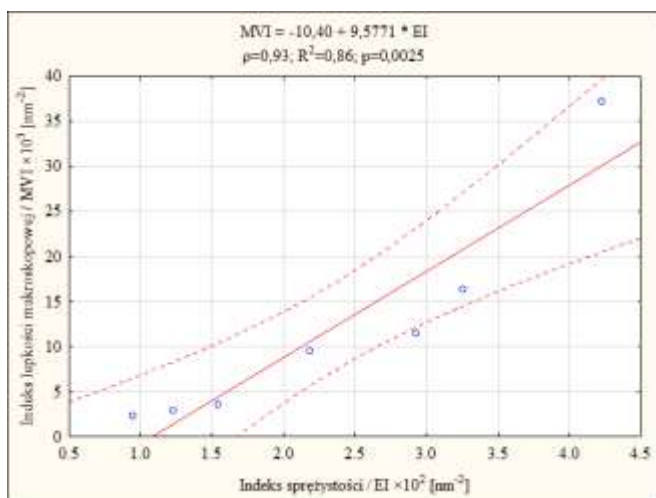
8.1. Rysunki



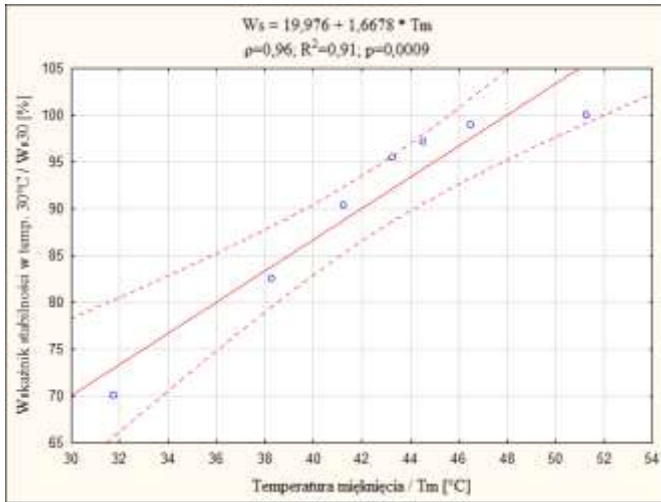
Rys. A1. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy temperaturą krystalizacji (T_k) i czasem krystalizacji (C_k) lipidów



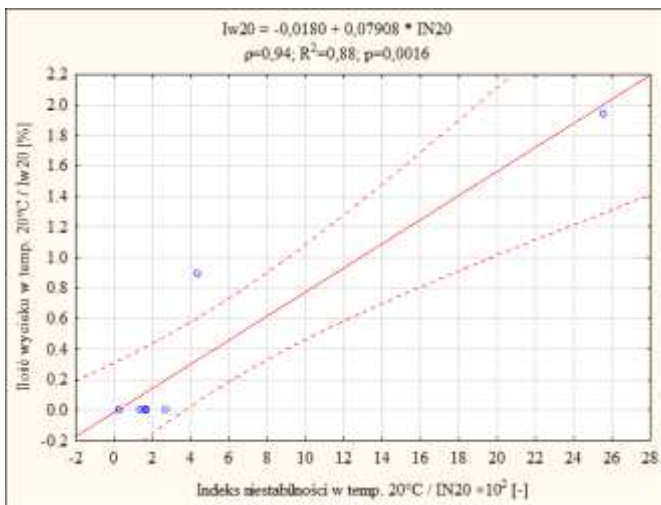
Rys. A2. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy indeksem lepkości makroskopowej (MVI) i współczynnikiem równowagi ciec-ciało stałe (SLB) lipidów



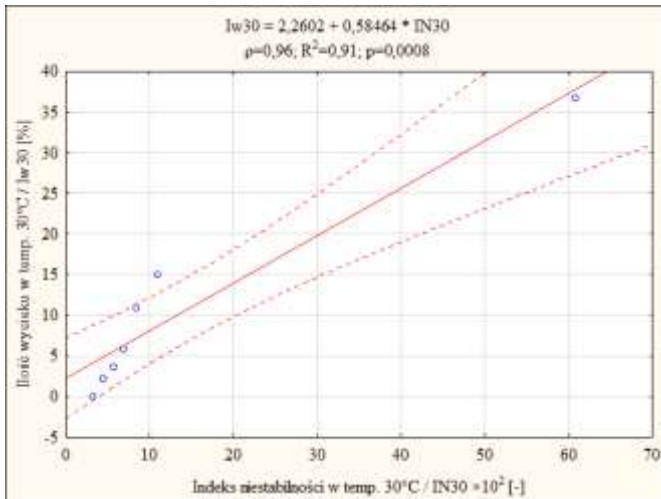
Rys. A3. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy indeksem sprężystości (EI) i indeksem lepkości makroskopowej (MVI) lipidów

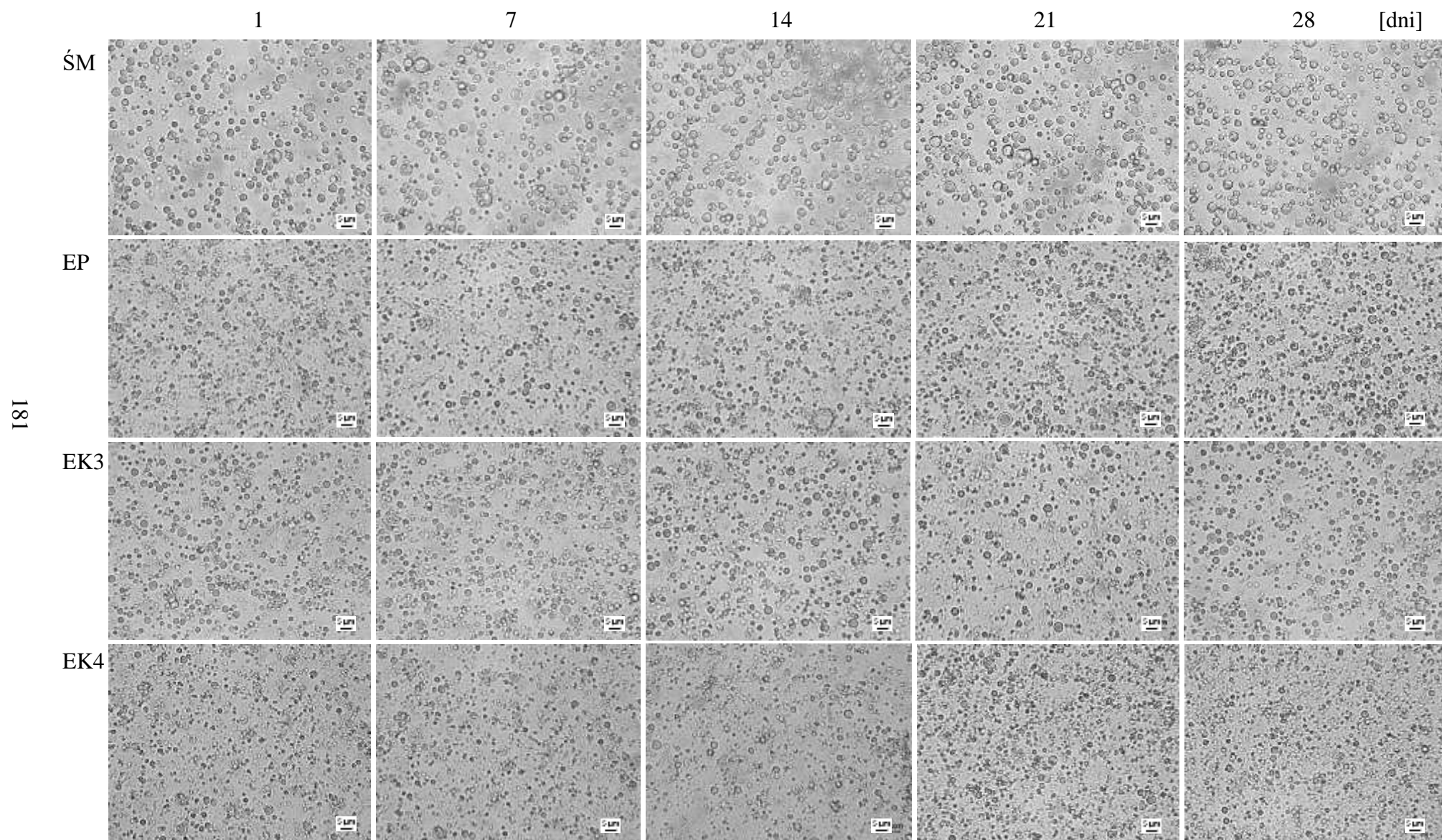


Rys. A4. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy wskaźnikiem stabilności w temp. 30°C (W_{s30}) i temperaturą topnienia (T_m) lipidów

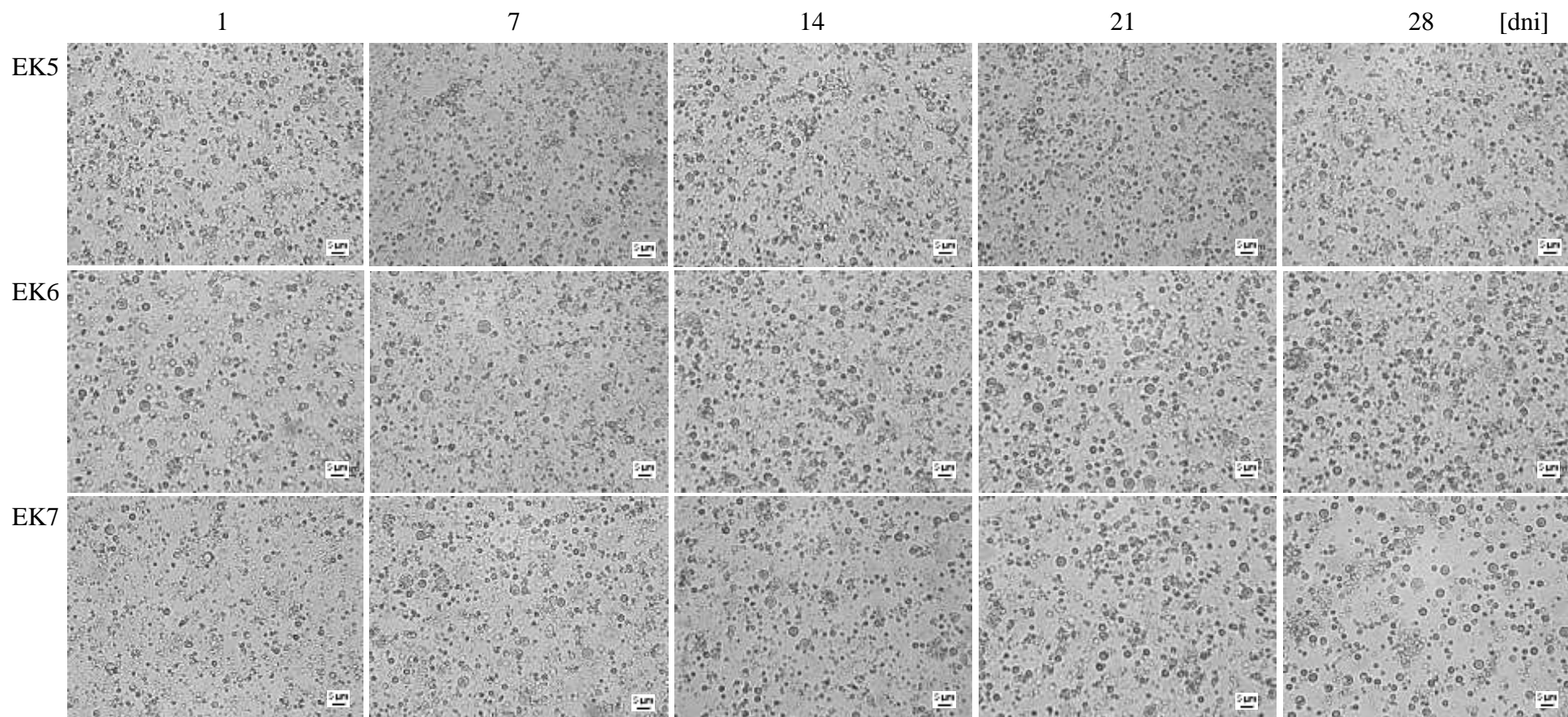


Rys. A5. Wykresy rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy indeksem niestabilności ($IN_{20/30}$) i ilością wycieku ($I_{w20/30}$) w temp. 20°C lub 30°C

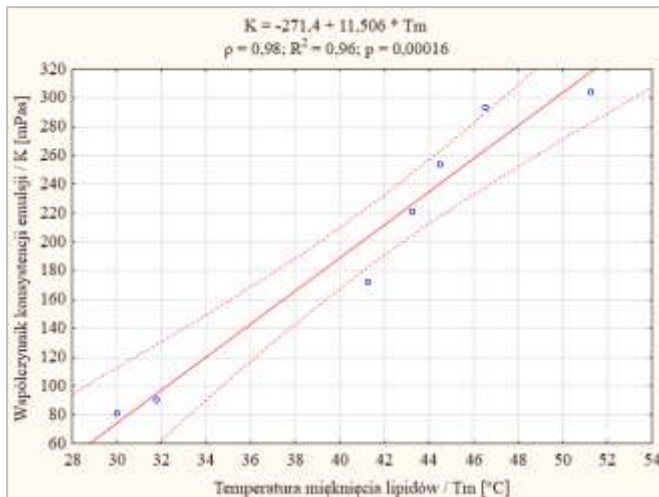




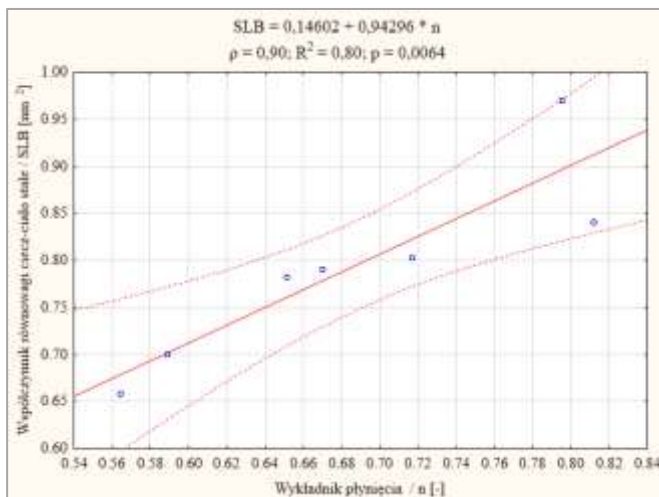
Rys. A6. Zdjęcia mikroskopowe emulsji (w jasnym polu) w czasie przechowywania w temp. 20°C (powiększenie 600-krotne)



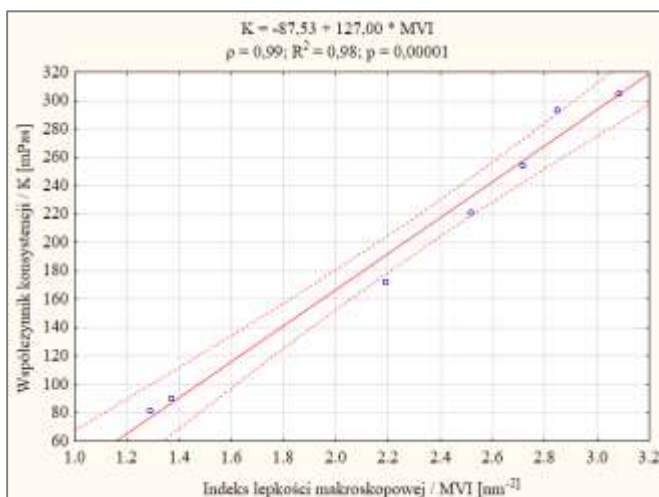
Rys. A6. Zdjęcia mikroskopowe emulsji (w jasnym polu) w czasie przechowywania w temp. 20°C (powiększenie 600-krotne) – ciąg dalszy



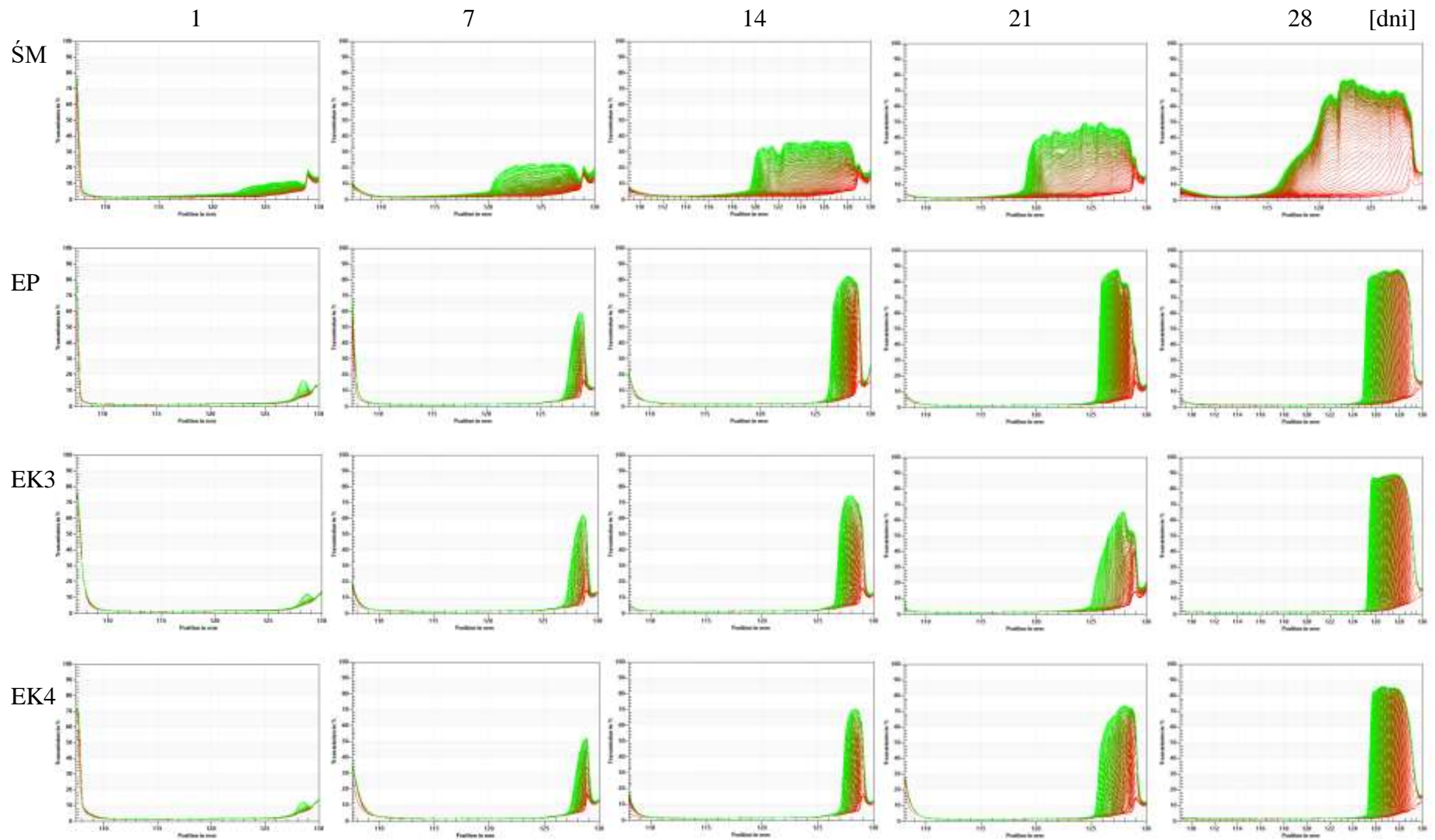
Rys. A7. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy współczynnikami konsystencji emulsji świeżych (K) i temperaturą topnienia lipidów (T_m)



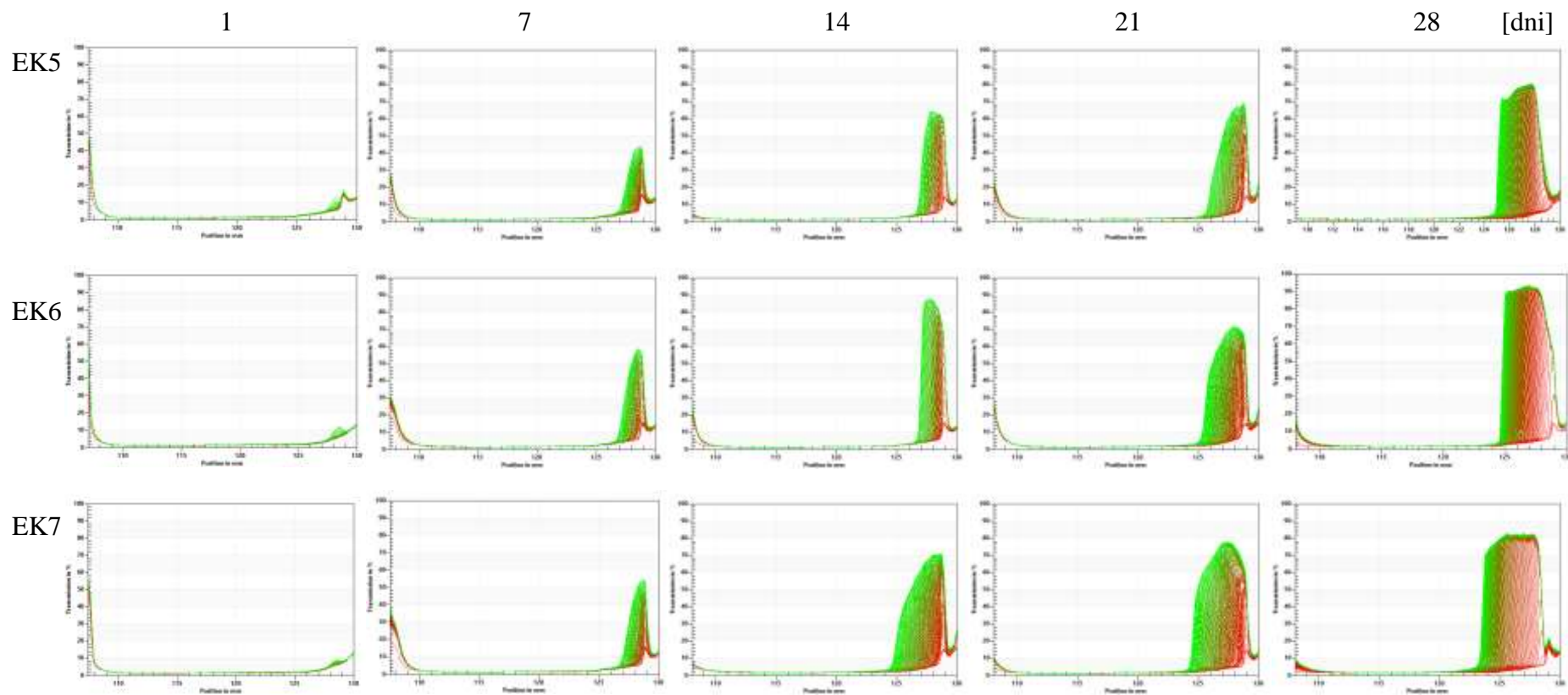
Rys. A8. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy współczynnikami równowaga cieczi-ciało stałe (SLB) i wykładnikami płynięcia (n) emulsji „świeżych”



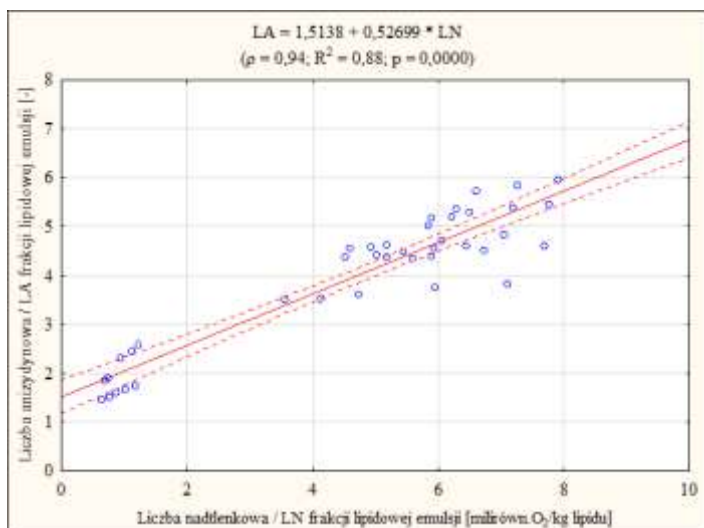
Rys. A9. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy współczynnikami konsystencji (K) i indeksami lepkości makroskopowej (MVI) emulsji „świeżych”



Rys. A10. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji w czasie przechowywania w temp. 20°C (test LUMiSizer)



Rys. A10. Profile transmisji światła w funkcji czasu i położenia próbek emulsji w czasie przechowywania w temp. 20°C (test LUMiSizer) – ciąg dalszy



Rys. A11. Wykres rozrzutu zmiennych na płaszczyźnie na podstawie korelacji pomiędzy liczbą nadtlenkową (LN) i liczbą anizydynową (LA) frakcji lipidowych emulsji, przechowywanych przez 28 dni, w temp. 20°C

8.2. Tabele

Tabela A1. Wartości parametrów tekstury lipidów

| Rodzaj lipidu | Temp. topnienia [$^{\circ}\text{C}$] | | Twardość [N] | | Kleistość [N] | | Smarowność [$\text{N}\cdot\text{mm}$] | | Przylegalność [$\text{N}\cdot\text{mm}$] | |
|---------------|--|-----|-------------------|------|-------------------|------|---|------|--|------|
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| OP | 31,8 ^a | 0,5 | 3,53 ^c | 0,14 | 2,43 ^c | 0,06 | 46,90 ^d | 0,58 | 7,62 ^d | 0,32 |
| K3 | 38,3 ^b | 0,5 | 0,76 ^a | 0,03 | 0,50 ^a | 0,02 | 13,41 ^a | 1,12 | 2,31 ^a | 0,52 |
| K4 | 41,3 ^c | 0,5 | 1,52 ^b | 0,16 | 0,94 ^b | 0,17 | 19,78 ^b | 1,24 | 2,94 ^a | 0,76 |
| K5 | 43,3 ^d | 0,5 | 2,78 ^c | 0,44 | 1,89 ^c | 0,37 | 25,16 ^c | 1,96 | 4,14 ^b | 0,34 |
| K6 | 44,5 ^e | 0,6 | 4,56 ^d | 0,72 | 2,80 ^d | 0,24 | 30,59 ^c | 2,65 | 4,69 ^b | 0,61 |
| K7 | 46,5 ^f | 0,6 | 6,31 ^e | 0,03 | 3,12 ^d | 0,22 | 52,02 ^e | 3,47 | 6,42 ^c | 0,41 |
| K8 | 51,3 ^g | 0,5 | 7,94 ^f | 0,20 | 3,23 ^d | 0,05 | 64,13 ^f | 0,67 | 7,40 ^d | 0,47 |

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń, s – odchylenie standardowe od wartości \bar{x} ; OP – olej palmowy, K3-8 – oleolez z 3-8% m/m stężeniem WK; a-g – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystyczne ($p < 0,05$).

Tabela A2. Wartości parametrów reologicznych i mikroreologicznych lipidów

| Rodzaj lipidu | Wod [%] | | Ck [min] | | Tk [$^{\circ}\text{C}$] | | $EI \times 10^{-3}$ [nm^{-2}] | | $MVI \times 10^{-5}$ [nm^{-2}] | | SLB [nm^2] | |
|---------------|--------------------|------|---------------------|------|---------------------------|------|--|------|---|------|-----------------------|------|
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| OP | 81,26 ^e | 1,22 | 500,82 ^g | 8,08 | 29,37 ^a | 0,21 | 2,93 ^e | 0,03 | 11,45 ^d | 0,25 | 0,23 ^{cd} | 0,00 |
| K3 | 10,31 ^a | 0,28 | 390,60 ^f | 4,85 | 32,70 ^b | 0,30 | 0,95 ^a | 0,03 | 2,30 ^a | 0,04 | 0,26 ^e | 0,00 |
| K4 | 12,77 ^b | 0,94 | 343,29 ^e | 8,37 | 36,20 ^c | 0,15 | 1,23 ^b | 0,02 | 2,91 ^{ab} | 0,01 | 0,24 ^{de} | 0,00 |
| K5 | 12,44 ^b | 0,31 | 302,55 ^d | 2,36 | 37,43 ^d | 0,15 | 1,54 ^c | 0,04 | 3,55 ^b | 0,05 | 0,24 ^d | 0,00 |
| K6 | 12,33 ^b | 0,25 | 273,91 ^c | 5,48 | 41,27 ^e | 0,25 | 2,18 ^d | 0,04 | 9,54 ^c | 0,10 | 0,22 ^c | 0,01 |
| K7 | 18,78 ^c | 0,25 | 245,03 ^b | 3,36 | 43,53 ^f | 0,40 | 3,25 ^f | 0,10 | 16,40 ^e | 0,22 | 0,17 ^b | 0,01 |
| K8 | 20,88 ^d | 0,76 | 227,33 ^a | 4,48 | 47,20 ^g | 0,30 | 4,23 ^g | 0,06 | 37,24 ^f | 0,74 | 0,08 ^a | 0,01 |

Objaśnienia jak pod tab. A1; Wod – współczynnik odzysku lepkości, Ck – czas krystalizacji, Tk – temperatura krystalizacji, EI – indeks sprężystości, MVI – indeks lepkości makroskopowej, SLB – współczynnik równowagi cieczy stałe; a-g – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystyczne ($p < 0,05$).

Tabela A3. Wartości parametrów stabilności fizycznej lipidów w temp. 20°C lub 30°C

| Rodzaj lipidu | Ws20 [%] | | Ws30 [%] | | In20 × 10 ² [-] | | In30 × 10 ² [-] | | Iw20 [%] | | Iw30 [%] | |
|---------------|---------------------|----------|---------------------|----------|----------------------------|----------|----------------------------|----------|-------------------|----------|--------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| OP | 93,97 ^a | 0,49 | 70,13 ^a | 0,67 | 25,53 ^d | 1,57 | 60,81 ^e | 1,94 | 1,94 ^c | 0,05 | 36,78 ^e | 0,27 |
| K3 | 99,68 ^b | 0,11 | 82,56 ^b | 0,57 | 4,37 ^c | 0,31 | 10,95 ^d | 0,48 | 0,89 ^b | 0,05 | 15,02 ^f | 0,19 |
| K4 | 100,00 ^b | 0,00 | 90,40 ^c | 0,60 | 2,69 ^{bc} | 0,31 | 8,41 ^{cd} | 1,12 | 0,00 ^a | 0,00 | 10,95 ^e | 0,17 |
| K5 | 100,00 ^b | 0,00 | 95,43 ^d | 0,49 | 1,59 ^{ab} | 0,30 | 6,87 ^{bc} | 0,40 | 0,00 ^a | 0,00 | 5,88 ^d | 0,11 |
| K6 | 100,00 ^b | 0,00 | 97,21 ^e | 0,34 | 1,68 ^{ab} | 0,31 | 5,68 ^{ab} | 0,54 | 0,00 ^a | 0,00 | 3,64 ^c | 0,10 |
| K7 | 100,00 ^b | 0,00 | 99,02 ^f | 0,57 | 1,37 ^{ab} | 0,26 | 4,44 ^{ab} | 0,39 | 0,00 ^a | 0,00 | 2,22 ^b | 0,08 |
| K8 | 100,00 ^b | 0,00 | 100,00 ^f | 0,00 | 0,25 ^a | 0,15 | 3,17 ^a | 0,46 | 0,00 ^a | 0,00 | 0,00 ^a | 0,00 |

Objaśnienia jak pod tab. A1; Ws20/30 – wskaźnik stabilności lipidów w temp. 20°C/30°C (test wirówkowy), In20/30 – indeksy niestabilności lipidów w temp. 20°C/30°C (test LUMiSizer), Iw20/30 – ilość wycieku frakcji ciekłej lipidów po 72 h w temp. 20°C/30°C (test grawitacyjny); a-g – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystyczne ($p < 0,05$)

Tabela A4. Średnie wartości parametrów emulsji w badaniach wstępnych

| Rodzaj emulsji | Wielkość cząstek lipidowych [μm] | | Współczynnik dyspersyjności [-] | | Indeks lepkości makroskopowej × 10 ⁻⁵ [nm ⁻²] | | Indeks niestabilności × 10 ² [-] | |
|----------------|----------------------------------|----------|---------------------------------|----------|--|----------|---|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| EP1 | 1,80 ^b | 0,03 | 1,12 ^c | 0,03 | 0,93 ^a | 0,07 | 3,95 ^c | 0,12 |
| EP2 | 1,67 ^a | 0,02 | 1,04 ^b | 0,02 | 1,14 ^{ab} | 0,09 | 1,69 ^b | 0,10 |
| EP2,5 | 1,66 ^a | 0,03 | 0,94 ^a | 0,02 | 1,37 ^{bc} | 0,04 | 1,25 ^a | 0,16 |
| EP3 | 1,68 ^a | 0,01 | 0,96 ^a | 0,01 | 1,95 ^c | 0,18 | 1,08 ^a | 0,10 |
| EP4 | 1,67 ^a | 0,01 | 0,98 ^{ab} | 0,04 | 2,36 ^d | 0,09 | 1,26 ^a | 0,12 |
| EK3-1 | 1,77 ^b | 0,04 | 0,98 ^b | 0,01 | 1,13 ^a | 0,12 | 1,63 ^c | 0,06 |
| EK3-2 | 1,66 ^a | 0,02 | 0,95 ^a | 0,01 | 1,78 ^b | 0,08 | 0,45 ^a | 0,05 |
| EK3-2,5 | 1,63 ^a | 0,03 | 0,94 ^a | 0,01 | 2,19 ^c | 0,08 | 0,39 ^a | 0,06 |
| EK3-3 | 1,60 ^a | 0,03 | 0,99 ^b | 0,01 | 3,01 ^d | 0,16 | 0,37 ^a | 0,04 |
| EK3-4 | 1,61 ^a | 0,03 | 0,99 ^b | 0,01 | 3,95 ^c | 0,18 | 0,71 ^b | 0,11 |

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń, *s* – odchylenie standardowe od wartości \bar{x} ; EP1/2/2,5/3/4 – emulsja na bazie oleju palmowego, po sonikacji przez 1/2/2,5/3/4 min; EK3-1/2/2,5/3/4 – emulsja na bazie oleożelu z 3% stężeniem WK, po sonikacji przez 1/2/2,5/3/4 min; a-d – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystyczne – osobno dla EP i EK ($p < 0,05$).

Tabela A5. Średnie wielkości cząstek lipidowych i współczynniki dyspersyjności emulsji

| Rodzaj emulsji | Średnia wielkość cząstek lipidowych [μm] | | Współczynnik dyspersyjności [-] | |
|----------------|--|----------|---------------------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 1,81 ^c | 0,02 | 1,08 ^d | 0,02 |
| EP | 1,67 ^a | 0,03 | 0,92 ^b | 0,02 |
| EK3 | 1,62 ^a | 0,02 | 0,80 ^a | 0,01 |
| EK4 | 1,69 ^{ab} | 0,03 | 0,85 ^a | 0,02 |
| EK5 | 1,65 ^a | 0,03 | 0,83 ^a | 0,02 |
| EK6 | 1,74 ^{bc} | 0,02 | 0,99 ^c | 0,03 |
| EK7 | 1,75 ^{bc} | 0,02 | 1,01 ^c | 0,01 |

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń, *s* – odchylenie standardowe od wartości \bar{x} ; ŚM – śmietanka, EP – emulsja na bazie oleju palmowego; EK3-7 – emulsja na bazie oleożelu z 3-7% m/m WK; a-d – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela A6. Indeksy niestabilności i prędkości cząstek emulsji „świeżych” (24 h od wytworzenia)

| Rodzaj emulsji | Indeks niestabilności $\times 10^2$ [-] | | Prędkość cząstek [$\mu\text{m/s}$] | |
|----------------|--|----------|---|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 3,61 ^c | 0,14 | 0,76 ^c | 0,05 |
| EP | 1,25 ^b | 0,16 | 0,31 ^b | 0,05 |
| EK3 | 0,64 ^a | 0,11 | 0,03 ^a | 0,02 |
| EK4 | 0,61 ^a | 0,15 | 0,03 ^a | 0,02 |
| EK5 | 0,55 ^a | 0,18 | 0,03 ^a | 0,01 |
| EK6 | 0,62 ^a | 0,17 | 0,03 ^a | 0,01 |
| EK7 | 0,62 ^a | 0,16 | 0,03 ^a | 0,01 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-c – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela A7. Indeksy niestabilności i wielkości cząstek lipidowych emulsji poddanych ogrzewaniu (90°C) lub zamrażaniu-rozmrażaniu

| Rodzaj emulsji | $In(90) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(90)$ [μm] | | $In(z-r) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(z-r)$ [μm] | |
|----------------|--------------------------|----------|-----------------------------|----------|---------------------------|----------|------------------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 30,67 ^d | 0,96 | 1,96 ^c | 0,03 | 34,85 ^{bc} | 1,20 | 7,41 ^b | 0,74 |
| EP | 8,13 ^c | 1,11 | 1,87 ^{bc} | 0,06 | 52,00 ^d | 2,46 | 19,22 ^c | 1,21 |
| EK3 | 2,69 ^a | 0,46 | 1,77 ^a | 0,04 | 37,85 ^c | 1,59 | 2,26 ^a | 0,19 |
| EK4 | 3,22 ^a | 0,54 | 1,72 ^a | 0,02 | 33,37 ^{abc} | 2,87 | 2,01 ^a | 0,11 |
| EK5 | 3,26 ^a | 0,80 | 1,77 ^{ab} | 0,05 | 27,33 ^a | 3,41 | 2,00 ^a | 0,10 |
| EK6 | 3,71 ^{ab} | 0,51 | 1,72 ^a | 0,02 | 31,19 ^{ab} | 1,58 | 2,02 ^a | 0,08 |
| EK7 | 5,40 ^b | 0,84 | 1,73 ^a | 0,01 | 32,14 ^{abc} | 1,53 | 2,06 ^a | 0,02 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; $In(90)$ – indeks niestabilności emulsji po ogrzewaniu w 90°C przez 30 min, $Wcz(90)$ – średnia wielkość cząstek lipidowych emulsji po ogrzewaniu w 90°C przez 30 min, $In(z-r)$ – indeks niestabilności emulsji po cyklu zamrażanie-rozmrażanie, $Wcz(z-r)$ – średnia wielkość cząstek lipidowych po cyklu zamrażanie-rozmrażanie; a-c – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela A8. Indeksy niestabilności i wielkości cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworach o pH równym 5, 7, lub 9 (1:1)

| Rodzaj emulsji | $In(pH5) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(pH5)$ [μm] | | $In(pH7) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(pH7)$ [μm] | | $In(pH9) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(pH9)$ [μm] | |
|----------------|---------------------------|------|------------------------------|------|---------------------------|------|------------------------------|------|---------------------------|------|------------------------------|------|
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| ŚM | 12,20 ^{aC} | 0,14 | 2,01 ^{bB} | 0,04 | 2,18 ^{bA} | 0,11 | 1,88 ^{bA} | 0,02 | 7,15 ^{bB} | 0,21 | 1,87 ^{bA} | 0,02 |
| EP | 24,98 ^{bcB} | 1,52 | 1,69 ^{aA} | 0,02 | 1,45 ^{abA} | 0,49 | 1,69 ^{aA} | 0,06 | 1,25 ^{aA} | 0,49 | 1,68 ^{aA} | 0,08 |
| EK3 | 22,10 ^{bB} | 0,99 | 1,65 ^{aA} | 0,03 | 1,70 ^{abA} | 0,14 | 1,64 ^{aA} | 0,01 | 1,10 ^{aA} | 0,14 | 1,65 ^{aA} | 0,04 |
| EK4 | 21,35 ^{bB} | 1,63 | 1,68 ^{aA} | 0,02 | 1,35 ^{abA} | 0,21 | 1,67 ^{aA} | 0,00 | 1,00 ^{aA} | 0,14 | 1,66 ^{aA} | 0,03 |
| EK5 | 24,90 ^{bcB} | 1,98 | 1,67 ^{aA} | 0,02 | 1,40 ^{abA} | 0,00 | 1,67 ^{aA} | 0,01 | 0,70 ^{aA} | 0,00 | 1,66 ^{aA} | 0,02 |
| EK6 | 29,20 ^{cB} | 0,42 | 1,72 ^{aA} | 0,03 | 1,00 ^{abA} | 0,00 | 1,72 ^{aA} | 0,02 | 0,65 ^{aA} | 0,07 | 1,73 ^{abA} | 0,05 |
| EK7 | 29,20 ^{cB} | 0,42 | 1,75 ^{aA} | 0,02 | 1,00 ^{aA} | 0,14 | 1,75 ^{aA} | 0,03 | 0,70 ^{aA} | 0,14 | 1,75 ^{aA} | 0,02 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; $In(pH5/7/9)$ – indeks niestabilności emulsji zdyspergowanych w roztworze o pH równym 5, 7 lub 9, w stosunku 1:1; $Wcz(pH 5/7/9)$ – średnia wielkość cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworze o pH równym 5/7/9, w stosunku 1:1; a-c – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-B – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: wartość pH), $p < 0,05$.

Tabela A9. Indeksy niestabilności i wielkości cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworach o 0/0,05/0,1/0,15 M stężeniu NaCl (1:1)

| Rodzaj emulsji | $In(0) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(0)$ [μm] | | $In(0,05) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(0,05)$ [μm] | | $In(0,1) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(0,1)$ [μm] | | $In(0,15) \times 10^2$ [-] | | $Wcz(0,15)$ [μm] | |
|----------------|-------------------------|------|----------------------------|------|----------------------------|------|-------------------------------|------|---------------------------|------|------------------------------|------|----------------------------|------|-------------------------------|------|
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| ŚM | 16,57 ^{bA} | 0,25 | 2,21 ^{bA} | 0,03 | 19,53 ^{cB} | 0,31 | 2,35 ^{bAB} | 0,07 | 19,33 ^{aB} | 0,25 | 2,46 ^{bB} | 0,05 | 22,80 ^{aC} | 1,39 | 2,46 ^{bB} | 0,05 |
| EP | 14,95 ^{abA} | 0,55 | 2,05 ^{abA} | 0,07 | 19,50 ^{bcB} | 0,70 | 2,10 ^{abA} | 0,03 | 19,45 ^{aB} | 0,25 | 2,12 ^{aA} | 0,06 | 21,70 ^{aB} | 0,90 | 2,13 ^{aA} | 0,12 |
| EK3 | 12,30 ^{aA} | 0,60 | 1,92 ^{aA} | 0,10 | 15,85 ^{aAB} | 0,85 | 1,96 ^{aA} | 0,11 | 19,15 ^{aB} | 1,15 | 2,05 ^{aA} | 0,02 | 20,20 ^{aB} | 0,50 | 2,07 ^{aA} | 0,04 |
| EK4 | 13,25 ^{abA} | 1,15 | 1,97 ^{aA} | 0,08 | 17,95 ^{abcAB} | 1,25 | 2,01 ^{aA} | 0,09 | 19,95 ^{aAB} | 1,15 | 2,03 ^{aA} | 0,01 | 22,85 ^{aB} | 1,85 | 2,07 ^{aA} | 0,01 |
| EK5 | 13,05 ^{aA} | 0,45 | 2,02 ^{abA} | 0,04 | 17,35 ^{abcB} | 0,15 | 2,05 ^{aA} | 0,04 | 17,55 ^{aB} | 0,05 | 2,05 ^{aA} | 0,04 | 22,90 ^{aC} | 0,30 | 2,12 ^{aA} | 0,05 |
| EK6 | 11,20 ^{aA} | 0,30 | 2,03 ^{abA} | 0,05 | 16,65 ^{abcB} | 0,05 | 2,12 ^{abA} | 0,04 | 20,10 ^{aC} | 0,30 | 2,16 ^{aA} | 0,05 | 25,40 ^{aD} | 0,50 | 2,15 ^{aA} | 0,04 |
| EK7 | 11,35 ^{aA} | 1,25 | 2,01 ^{abA} | 0,03 | 16,10 ^{abAB} | 0,60 | 2,19 ^{abAB} | 0,04 | 19,10 ^{aBC} | 0,30 | 2,20 ^{aAB} | 0,05 | 22,20 ^{aC} | 1,20 | 2,26 ^{abB} | 0,07 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; $In(0/0,05/0,1/0,15)$ – indeks niestabilności emulsji zdyspergowanych w roztworze o 0/0,05/0,1/0,15 M stężeniu NaCl, w stosunku 1:1; $Wcz(0/0,05/0,1/0,15)$ – średnia wielkość cząstek lipidowych emulsji zdyspergowanych w roztworze o 0/0,05/0,1/0,15 M stężeniu NaCl, w stosunku 1:1; a-c – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$; A-D – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: stężenie NaCl), $p < 0,05$.

Tabela A10. Parametry barwy emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | Parametr barwy [-] | Czas przechowywania [dni] | | | | |
|----------------|--------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | | 1 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| ŚM | L^* | 90,44 ^{ba} ± 0,27 | 89,57 ^{abA} ± 0,41 | 89,40 ^{aA} ± 0,46 | 89,27 ^{aA} ± 0,67 | 89,12 ^{aA} ± 0,57 |
| | a^* | -1,28 ^{aA} ± 0,08 | -1,19 ^{aA} ± 0,09 | -1,13 ^{aA} ± 0,12 | -1,13 ^{aA} ± 0,11 | -1,17 ^{aB} ± 0,20 |
| | b^* | 14,63 ^{dD} ± 0,25 | 13,79 ^{cB} ± 0,43 | 13,60 ^{bcB} ± 0,34 | 12,83 ^{abB} ± 0,61 | 12,53 ^{aC} ± 0,46 |
| | WI | 82,47 ^{aA} ± 0,25 | 82,67 ^{aA} ± 0,54 | 82,72 ^{aA} ± 0,34 | 83,23 ^{aA} ± 0,79 | 83,36 ^{aA} ± 0,60 |
| | ΔE_1 | - | 1,74 ± 0,28 | 1,96 ± 0,44 | 2,68 ± 0,45 | 2,98 ± 0,38 |
| EP | L^* | 90,86 ^{bB} ± 0,07 | 90,45 ^{dB} ± 0,36 | 89,77 ^{abA} ± 0,72 | 89,01 ^{aA} ± 0,72 | 88,78 ^{aA} ± 0,69 |
| | a^* | -0,66 ^{cB} ± 0,07 | -0,63 ^{bB} ± 0,27 | -1,20 ^{bA} ± 0,22 | -1,97 ^{aA} ± 0,46 | -2,43 ^{aA} ± 0,22 |
| | b^* | 9,26 ^{dC} ± 0,06 | 8,70 ^{cA} ± 0,25 | 8,33 ^{cA} ± 0,19 | 7,88 ^{bA} ± 0,19 | 7,31 ^{aA} ± 0,28 |
| | WI | 86,97 ^{aB} ± 0,06 | 87,06 ^{aB} ± 0,39 | 86,75 ^{aB} ± 0,46 | 86,32 ^{aB} ± 0,49 | 86,37 ^{aB} ± 0,40 |
| | ΔE_1 | - | 0,77 ± 0,22 | 1,53 ± 0,58 | 2,68 ± 0,33 | 3,32 ± 0,54 |
| EK3 | L^* | 90,68 ^{cAB} ± 0,12 | 90,42 ^{cAB} ± 0,32 | 89,54 ^{bA} ± 0,50 | 89,03 ^{abA} ± 0,67 | 88,56 ^{aA} ± 0,42 |
| | a^* | -0,57 ^{dB} ± 0,07 | -0,80 ^{dB} ± 0,13 | -1,42 ^{cA} ± 0,25 | -2,01 ^{bA} ± 0,53 | -2,63 ^{aA} ± 0,26 |
| | b^* | 8,61 ^{bA} ± 0,17 | 8,30 ^{abA} ± 0,23 | 8,20 ^{aA} ± 0,30 | 8,02 ^{aA} ± 0,18 | 7,90 ^{aAB} ± 0,18 |
| | WI | 87,30 ^{cC} ± 0,13 | 87,32 ^{cB} ± 0,27 | 86,69 ^{bcB} ± 0,40 | 86,25 ^{abB} ± 0,59 | 85,85 ^{aB} ± 0,44 |
| | ΔE_1 | - | 0,49 ± 0,23 | 1,52 ± 0,40 | 2,33 ± 0,50 | 3,04 ± 0,38 |
| EK4 | L^* | 90,90 ^{dB} ± 0,07 | 90,44 ^{cdB} ± 0,58 | 89,76 ^{bcA} ± 0,49 | 89,00 ^{abA} ± 0,44 | 88,39 ^{aA} ± 0,62 |
| | a^* | -0,60 ^{dB} ± 0,07 | -0,84 ^{cdB} ± 0,08 | -1,28 ^{cA} ± 0,26 | -1,96 ^{bA} ± 0,50 | -2,65 ^{aA} ± 0,25 |
| | b^* | 8,84 ^{bAB} ± 0,10 | 8,40 ^{abA} ± 0,30 | 8,27 ^{aA} ± 0,39 | 8,16 ^{aA} ± 0,23 | 8,06 ^{aB} ± 0,24 |
| | WI | 87,29 ^{cC} ± 0,08 | 87,22 ^{cB} ± 0,60 | 86,76 ^{bcB} ± 0,35 | 86,17 ^{abB} ± 0,36 | 85,62 ^{aB} ± 0,53 |
| | ΔE_1 | - | 0,86 ± 0,34 | 1,52 ± 0,48 | 2,48 ± 0,53 | 3,36 ± 0,44 |
| EK5 | L^* | 90,81 ^{dB} ± 0,05 | 90,33 ^{cdAB} ± 0,31 | 89,87 ^{bcA} ± 0,38 | 89,31 ^{abA} ± 0,49 | 88,76 ^{aA} ± 0,38 |
| | a^* | -0,58 ^{dB} ± 0,04 | -0,75 ^{cdB} ± 0,19 | -1,30 ^{cA} ± 0,24 | -1,93 ^{bA} ± 0,55 | -2,50 ^{aA} ± 0,33 |
| | b^* | 8,88 ^{bAB} ± 0,10 | 8,50 ^{abA} ± 0,11 | 8,14 ^{aA} ± 0,14 | 8,21 ^{aA} ± 0,19 | 8,12 ^{aB} ± 0,37 |
| | WI | 87,21 ^{bBC} ± 0,07 | 87,10 ^{bB} ± 0,25 | 86,93 ^{bB} ± 0,34 | 86,37 ^{aB} ± 0,39 | 85,91 ^{aB} ± 0,26 |
| | ΔE_1 | - | 0,75 ± 0,20 | 1,49 ± 0,30 | 2,21 ± 0,60 | 2,99 ± 0,27 |
| EK6 | L^* | 90,88 ^{dB} ± 0,07 | 90,37 ^{cdAB} ± 0,48 | 89,73 ^{bcA} ± 0,60 | 88,97 ^{abA} ± 0,83 | 88,54 ^{aA} ± 0,55 |
| | a^* | -0,61 ^{bB} ± 0,04 | -0,78 ^{bB} ± 0,15 | -1,23 ^{bA} ± 0,28 | -1,94 ^{aA} ± 0,60 | -2,54 ^{aA} ± 0,30 |
| | b^* | 8,97 ^{bBC} ± 0,16 | 8,66 ^{bA} ± 0,30 | 8,21 ^{aA} ± 0,12 | 8,14 ^{aA} ± 0,20 | 8,01 ^{aB} ± 0,24 |
| | WI | 87,19 ^{cBC} ± 0,13 | 87,02 ^{bcB} ± 0,38 | 86,79 ^{bcB} ± 0,53 | 86,13 ^{abB} ± 0,70 | 85,79 ^{aB} ± 0,58 |
| | ΔE_1 | - | 0,70 ± 0,41 | 1,56 ± 0,38 | 2,51 ± 0,75 | 3,16 ± 0,42 |
| EK7 | L^* | 90,87 ^{dB} ± 0,14 | 90,54 ^{cdB} ± 0,47 | 89,90 ^{cA} ± 0,35 | 88,86 ^{bA} ± 0,49 | 88,53 ^{aA} ± 0,84 |
| | a^* | -0,61 ^{cB} ± 0,06 | -0,83 ^{cB} ± 0,13 | -1,17 ^{cA} ± 0,25 | -1,89 ^{bA} ± 0,64 | -2,64 ^{aA} ± 0,28 |
| | b^* | 9,07 ^{cBC} ± 0,15 | 8,72 ^{bcA} ± 0,53 | 8,36 ^{abA} ± 0,18 | 8,13 ^{abA} ± 0,14 | 8,06 ^{aB} ± 0,41 |
| | WI | 87,12 ^{cBC} ± 0,20 | 87,09 ^{cB} ± 0,21 | 86,83 ^{bcB} ± 0,23 | 86,07 ^{abB} ± 0,54 | 85,72 ^{aB} ± 0,55 |
| | ΔE_1 | - | 0,70 ± 0,57 | 1,38 ± 0,36 | 2,61 ± 0,63 | 3,31 ± 0,80 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; WI – indeks bieli; ΔE_1 – całkowita różnica barwy próbki, w odniesieniu do 1 dnia testu; a-c – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-C – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami średnimi danego parametru (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$;

Tabela A11. Współczynniki dyspersyjności [-] emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|--------------------|----------|-----------------------|----------|---------------------|----------|----------------------|----------|---------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 1,08 ^{aD} | 0,02 | 1,08 ^{aC} | 0,03 | 1,00 ^{aBC} | 0,04 | 1,05 ^{aB} | 0,04 | 1,00 ^{aB} | 0,04 |
| EP | 0,92 ^{aB} | 0,02 | 1,00 ^{abABC} | 0,05 | 1,07 ^{bC} | 0,04 | 1,02 ^{abB} | 0,04 | 0,96 ^{abB} | 0,04 |
| EK3 | 0,80 ^{aA} | 0,01 | 0,90 ^{bA} | 0,04 | 0,89 ^{bA} | 0,04 | 0,87 ^{abA} | 0,04 | 0,91 ^{bAB} | 0,03 |
| EK4 | 0,85 ^{aA} | 0,02 | 0,96 ^{bAB} | 0,04 | 0,95 ^{bAB} | 0,03 | 0,93 ^{abAB} | 0,04 | 0,96 ^{bB} | 0,03 |
| EK5 | 0,83 ^{aA} | 0,02 | 0,96 ^{aAB} | 0,04 | 0,85 ^{aA} | 0,03 | 0,84 ^{aA} | 0,04 | 0,80 ^{aA} | 0,05 |
| EK6 | 0,99 ^{aC} | 0,03 | 0,92 ^{aA} | 0,06 | 0,94 ^{aAB} | 0,04 | 1,04 ^{aB} | 0,05 | 0,95 ^{aB} | 0,04 |
| EK7 | 1,01 ^{aC} | 0,01 | 1,06 ^{aBC} | 0,03 | 1,06 ^{aC} | 0,04 | 0,96 ^{aAB} | 0,06 | 0,95 ^{aB} | 0,05 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-b – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-D – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A12. Średnie wielkości cząstek lipidowych [μm] emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|---------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|----------|---------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 1,81 ^{aC} | 0,02 | 1,82 ^{aC} | 0,02 | 1,92 ^{bD} | 0,02 | 1,96 ^{bD} | 0,02 | 1,97 ^{bD} | 0,02 |
| EP | 1,67 ^{aA} | 0,03 | 1,67 ^{aAB} | 0,03 | 1,76 ^{bBC} | 0,03 | 1,76 ^{bAB} | 0,02 | 1,84 ^{cBC} | 0,04 |
| EK3 | 1,62 ^{aA} | 0,02 | 1,65 ^{abA} | 0,04 | 1,73 ^{bcAB} | 0,02 | 1,72 ^{cA} | 0,04 | 1,78 ^{cAB} | 0,02 |
| EK4 | 1,69 ^{aAB} | 0,03 | 1,67 ^{aAB} | 0,03 | 1,67 ^{aA} | 0,03 | 1,71 ^{aA} | 0,03 | 1,73 ^{aA} | 0,03 |
| EK5 | 1,65 ^{aA} | 0,03 | 1,67 ^{abAB} | 0,04 | 1,71 ^{abAB} | 0,03 | 1,70 ^{abA} | 0,03 | 1,75 ^{bA} | 0,04 |
| EK6 | 1,74 ^{aBC} | 0,02 | 1,74 ^{aB} | 0,02 | 1,78 ^{abBC} | 0,02 | 1,83 ^{bcBC} | 0,03 | 1,87 ^{cBC} | 0,04 |
| EK7 | 1,75 ^{aBC} | 0,02 | 1,83 ^{bC} | 0,03 | 1,82 ^{bcC} | 0,02 | 1,86 ^{bcC} | 0,02 | 1,87 ^{cC} | 0,01 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-c – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-D – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A13. Indeksy sprężystości ($EI \times 10^{-3}$ [nm^{-2}]) emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|---------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 0,99 ^{aAB} | 0,02 | 1,74 ^{bB} | 0,12 | 2,79 ^{cC} | 0,07 | 4,33 ^{dE} | 0,08 | 5,03 ^{eD} | 0,06 |
| EP | 0,84 ^{aAB} | 0,08 | 1,41 ^{bA} | 0,05 | 2,07 ^{cA} | 0,05 | 2,66 ^{dA} | 0,03 | 3,06 ^{eA} | 0,10 |
| EK3 | 1,09 ^{aB} | 0,07 | 1,36 ^{bA} | 0,03 | 2,17 ^{cA} | 0,05 | 2,89 ^{dB} | 0,03 | 3,05 ^{eA} | 0,08 |
| EK4 | 1,29 ^{aC} | 0,03 | 1,67 ^{bB} | 0,09 | 2,49 ^{cB} | 0,08 | 3,30 ^{dC} | 0,03 | 3,57 ^{eB} | 0,07 |
| EK5 | 1,62 ^{aD} | 0,07 | 1,86 ^{bD} | 0,03 | 2,77 ^{cC} | 0,07 | 3,41 ^{dC} | 0,04 | 3,68 ^{eB} | 0,06 |
| EK6 | 1,34 ^{aC} | 0,05 | 2,24 ^{bC} | 0,08 | 3,16 ^{cD} | 0,03 | 4,13 ^{dD} | 0,04 | 4,67 ^{eC} | 0,06 |
| EK7 | 1,45 ^{aC} | 0,05 | 2,25 ^{bC} | 0,08 | 3,34 ^{cE} | 0,03 | 4,63 ^{dF} | 0,06 | 4,91 ^{eD} | 0,07 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-f – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-F – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A14. Indeksy lepkości makroskopowej ($MVI \times 10^{-5}$ [nm^{-2}]) emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|---------------------|----------|---------------------|----------|--------------------|----------|---------------------|----------|--------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 1,29 ^{aA} | 0,07 | 2,27 ^{bAB} | 0,09 | 3,62 ^{cB} | 0,08 | 4,12 ^{cB} | 0,08 | 4,94 ^{dC} | 0,09 |
| EP | 1,37 ^{aA} | 0,04 | 1,95 ^{bA} | 0,09 | 2,74 ^{cA} | 0,09 | 2,91 ^{cA} | 0,06 | 3,19 ^{dA} | 0,07 |
| EK3 | 2,19 ^{aB} | 0,08 | 2,33 ^{aB} | 0,08 | 2,89 ^{bA} | 0,07 | 3,02 ^{bA} | 0,11 | 3,36 ^{cA} | 0,07 |
| EK4 | 2,52 ^{aBC} | 0,08 | 2,90 ^{bC} | 0,07 | 3,52 ^{cB} | 0,09 | 3,75 ^{dB} | 0,08 | 3,98 ^{eB} | 0,07 |
| EK5 | 2,71 ^{aC} | 0,26 | 3,11 ^{bC} | 0,09 | 3,66 ^{cB} | 0,07 | 3,90 ^{cdB} | 0,07 | 4,12 ^{dB} | 0,09 |
| EK6 | 2,85 ^{aCD} | 0,11 | 3,85 ^{bD} | 0,07 | 4,47 ^{cC} | 0,18 | 4,67 ^{cdC} | 0,06 | 4,83 ^{dC} | 0,08 |
| EK7 | 3,08 ^{aD} | 0,12 | 4,16 ^{bE} | 0,09 | 4,75 ^{cC} | 0,10 | 5,01 ^{dC} | 0,06 | 5,25 ^{dD} | 0,07 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-e – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-E – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A15. Indeksy stabilności Turbiscan (*TSI*) [-] emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|--------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 1,73 ^{aB} | 0,15 | 12,20 ^{bC} | 0,17 | 20,23 ^{cC} | 0,38 | 24,30 ^{dC} | 0,87 | 27,70 ^{eC} | 0,56 |
| EP | 0,13 ^{aA} | 0,06 | 0,53 ^{aA} | 0,06 | 1,17 ^{aB} | 0,15 | 2,77 ^{cA} | 0,42 | 4,27 ^{dB} | 0,15 |
| EK3 | 0,13 ^{aA} | 0,06 | 0,60 ^{bA} | 0,10 | 1,30 ^{cA} | 0,20 | 2,07 ^{dA} | 0,15 | 2,53 ^{eA} | 0,15 |
| EK4 | 0,13 ^{aA} | 0,06 | 0,67 ^{bA} | 0,06 | 1,50 ^{cA} | 0,10 | 2,10 ^{dA} | 0,10 | 2,43 ^{eA} | 0,21 |
| EK5 | 0,13 ^{aA} | 0,06 | 0,73 ^{bA} | 0,06 | 1,33 ^{cA} | 0,06 | 1,80 ^{dA} | 0,10 | 2,10 ^{eA} | 0,20 |
| EK6 | 0,13 ^{aA} | 0,06 | 0,40 ^{aA} | 0,10 | 1,23 ^{bA} | 0,12 | 2,07 ^{cA} | 0,21 | 2,37 ^{cA} | 0,31 |
| EK7 | 0,23 ^{aA} | 0,06 | 2,10 ^{bb} | 0,10 | 3,73 ^{cB} | 0,06 | 4,57 ^{dB} | 0,06 | 5,00 ^{eB} | 0,10 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-e – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-C – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A16. Indeksy niestabilności [-] emulsji w czasie przechowywania (LUMiSizer)

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|--------------------|----------|--------------------|----------|---------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM | 3,61 ^{aC} | 0,14 | 8,53 ^{bC} | 0,40 | 17,28 ^{cE} | 0,61 | 26,12 ^{dE} | 0,55 | 35,74 ^{eE} | 1,46 |
| EP | 1,25 ^{aB} | 0,16 | 4,05 ^{bb} | 0,17 | 11,48 ^{cd} | 0,48 | 16,06 ^{dd} | 0,31 | 19,68 ^{ec} | 0,65 |
| EK3 | 0,64 ^{aA} | 0,11 | 3,98 ^{bb} | 0,06 | 9,65 ^{cBC} | 0,30 | 11,80 ^{dB} | 0,13 | 16,52 ^{eB} | 0,17 |
| EK4 | 0,61 ^{aA} | 0,15 | 3,38 ^{bA} | 0,08 | 9,29 ^{cAB} | 0,16 | 10,99 ^{dAB} | 0,11 | 14,99 ^{eAB} | 0,30 |
| EK5 | 0,55 ^{aA} | 0,18 | 2,99 ^{bA} | 0,03 | 8,51 ^{cA} | 0,41 | 10,18 ^{dA} | 0,22 | 13,61 ^{eA} | 0,13 |
| EK6 | 0,62 ^{aA} | 0,17 | 4,20 ^{bb} | 0,06 | 10,42 ^{cC} | 0,09 | 12,90 ^{dC} | 0,06 | 20,26 ^{eC} | 1,17 |
| EK7 | 0,62 ^{aA} | 0,16 | 4,03 ^{bb} | 0,09 | 11,83 ^{cd} | 0,17 | 15,26 ^{dd} | 0,39 | 23,32 ^{eD} | 1,37 |

Objaśnienia jak pod tab. A5; a-e – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-E – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A17. Wartości liczby nadtlenkowej (*LN*) [milorówn. O₂/kg lipidu] frakcji lipidowych wydzielonych z emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|---------------------|----------|---------------------|----------|----------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM' | 0,64 ^{aA} | 0,09 | 0,76 ^{abA} | 0,06 | 0,88 ^{abcA} | 0,14 | 1,02 ^{bcA} | 0,09 | 1,17 ^{cA} | 0,14 |
| EP' | 0,69 ^{aA} | 0,10 | 0,75 ^{aA} | 0,14 | 0,95 ^{abA} | 0,08 | 1,11 ^{bcA} | 0,04 | 1,23 ^{cA} | 0,12 |
| ERL' | 3,55 ^{aB} | 0,12 | 4,13 ^{bb} | 0,15 | 4,74 ^{cb} | 0,19 | 5,95 ^{dB} | 0,05 | 7,10 ^{eCD} | 0,20 |
| EK3' | 5,18 ^{aD} | 0,06 | 5,58 ^{bd} | 0,16 | 5,88 ^{bd} | 0,10 | 6,72 ^{cC} | 0,12 | 7,70 ^{dDE} | 0,11 |
| EK4' | 4,60 ^{aCD} | 0,23 | 4,93 ^{abc} | 0,14 | 5,19 ^{bc} | 0,10 | 6,04 ^{cb} | 0,11 | 7,05 ^{dB} | 0,29 |
| EK5' | 4,51 ^{aCD} | 0,08 | 5,03 ^{abc} | 0,13 | 5,44 ^{bc} | 0,15 | 5,93 ^{cb} | 0,07 | 6,45 ^{dB} | 0,14 |
| EK6' | 5,90 ^{aC} | 0,35 | 6,20 ^{bc} | 0,06 | 6,49 ^{cC} | 0,13 | 7,20 ^{dB} | 0,17 | 7,76 ^{eB} | 0,28 |
| EK7' | 5,84 ^{aE} | 0,37 | 6,28 ^{abE} | 0,10 | 6,60 ^{bcE} | 0,22 | 7,26 ^{cdD} | 0,19 | 7,89 ^{dE} | 0,37 |

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń, *s* – odchylenie standardowe od wartości \bar{x} ; ŚM' – frakcja tłuszczu mlecznego ze śmietanki, EP' – frakcja oleju palmowego z EP, ERL' – frakcja mieszaniny olejów rzepakowego i lnianego (1:1) z ERL (emulsji na bazie mieszaniny OR-OL), K3'-7' – frakcja oleożelowa z EK3-7; a-d – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), $p < 0,05$; A-E – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj emulsji), $p < 0,05$.

Tabela A18. Wartości liczby nadtlenkowej (*LN*) [miliirówn. O₂/kg lipidu] niezemulgowanych lipidów w czasie przechowywania

| Rodzaj lipidu | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|---------------|--------------------|----------|--------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| OP | 0,66 ^{aA} | 0,06 | 0,71 ^{aA} | 0,05 | 0,90 ^{abA} | 0,15 | 1,02 ^{bA} | 0,06 | 1,27 ^{cA} | 0,09 |
| OR-OL | 1,12 ^{aB} | 0,06 | 2,20 ^{bC} | 0,04 | 3,41 ^{cC} | 0,08 | 3,94 ^{dD} | 0,09 | 4,83 ^{eD} | 0,20 |
| K3 | 1,18 ^{aB} | 0,06 | 2,24 ^{bC} | 0,05 | 3,12 ^{cC} | 0,07 | 3,44 ^{dC} | 0,16 | 3,76 ^{eC} | 0,17 |
| K4 | 1,12 ^{aB} | 0,04 | 1,93 ^{bB} | 0,09 | 2,64 ^{cB} | 0,16 | 3,02 ^{cdB} | 0,14 | 3,42 ^{dB} | 0,33 |
| K5 | 1,11 ^{aB} | 0,03 | 1,92 ^{bB} | 0,09 | 2,65 ^{cB} | 0,12 | 2,89 ^{cB} | 0,08 | 3,00 ^{cB} | 0,26 |
| K6 | 1,14 ^{aB} | 0,05 | 1,93 ^{bB} | 0,07 | 2,64 ^{cB} | 0,11 | 2,82 ^{cdB} | 0,10 | 3,10 ^{bBC} | 0,26 |
| K7 | 1,16 ^{aB} | 0,05 | 1,96 ^{bB} | 0,08 | 2,57 ^{cB} | 0,13 | 2,94 ^{cB} | 0,07 | 3,54 ^{dB} | 0,27 |

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń, *s* – odchylenie standardowe od wartości \bar{x} ; OP – olej palmowy, OR-OL – mieszanina oleju rzepakowego i oleju lnianego (1:1), K3-7 – oleozele z 3-7% m/m stężeniem WK; a-d – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), *p* < 0,05; A-D – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj lipidu), *p* < 0,05.

Tabela A19. Wartości liczby anizydynowej (*LA*) [-] frakcji lipidowych wydzielonych z emulsji w czasie przechowywania

| Rodzaj frakcji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|--------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|----------|--------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| ŚM' | 1,47 ^{aA} | 0,18 | 1,50 ^{aA} | 0,07 | 1,61 ^{aA} | 0,10 | 1,67 ^{aA} | 0,17 | 1,75 ^{aA} | 0,15 |
| EP' | 1,86 ^{aA} | 0,14 | 1,91 ^{aB} | 0,10 | 2,32 ^{bB} | 0,14 | 2,45 ^{bB} | 0,10 | 2,58 ^{bB} | 0,14 |
| ERL' | 3,50 ^{aB} | 0,15 | 3,53 ^{abC} | 0,11 | 3,62 ^{abC} | 0,08 | 3,76 ^{abC} | 0,12 | 3,82 ^{bC} | 0,10 |
| EK3' | 4,38 ^{aC} | 0,16 | 4,36 ^{aD} | 0,09 | 4,40 ^{aD} | 0,12 | 4,52 ^{aD} | 0,12 | 4,60 ^{aD} | 0,11 |
| EK4' | 4,55 ^{aC} | 0,07 | 4,58 ^{aD} | 0,14 | 4,64 ^{aD} | 0,07 | 4,72 ^{aD} | 0,12 | 4,83 ^{aD} | 0,09 |
| EK5' | 4,39 ^{aC} | 0,12 | 4,42 ^{aD} | 0,07 | 4,50 ^{aD} | 0,06 | 4,56 ^{aD} | 0,10 | 4,61 ^{aD} | 0,08 |
| EK6' | 5,18 ^{aD} | 0,12 | 5,20 ^{aE} | 0,05 | 5,29 ^{aE} | 0,10 | 5,39 ^{aE} | 0,13 | 5,45 ^{aE} | 0,11 |
| EK7' | 5,01 ^{aD} | 0,13 | 5,36 ^{bE} | 0,06 | 5,73 ^{cF} | 0,15 | 5,84 ^{cF} | 0,14 | 5,96 ^{cF} | 0,14 |

Objaśnienia jak pod tab. A17; a-c – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), *p* < 0,05; A-F – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj frakcji lipidowej), *p* < 0,05.

Tabela A20. Wartości liczby anizydynowej (*LA*) [-] niezemulgowanych lipidów w czasie przechowywania

| Rodzaj emulsji | 1 dzień | | 7 dni | | 14 dni | | 21 dni | | 28 dni | |
|----------------|---------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|----------|---------------------|----------|----------------------|----------|
| | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> | \bar{x} | <i>s</i> |
| OP | 1,18 ^{aAB} | 0,24 | 1,43 ^{abAB} | 0,23 | 1,66 ^{abA} | 0,13 | 1,87 ^{bcA} | 0,17 | 2,28 ^{cA} | 0,15 |
| OR-OL | 1,84 ^{aB} | 0,17 | 1,97 ^{aB} | 0,13 | 2,16 ^{aB} | 0,16 | 2,80 ^{bB} | 0,17 | 3,16 ^{bB} | 0,26 |
| K3 | 3,17 ^{aC} | 0,30 | 3,29 ^{aC} | 0,33 | 3,41 ^{aC} | 0,15 | 3,62 ^{aC} | 0,22 | 3,77 ^{aBC} | 0,36 |
| K4 | 3,59 ^{aCD} | 0,22 | 3,81 ^{abC} | 0,14 | 3,99 ^{abCD} | 0,20 | 4,16 ^{bcD} | 0,12 | 4,49 ^{cCD} | 0,24 |
| K5 | 3,37 ^{aC} | 0,17 | 3,68 ^{abC} | 0,24 | 3,93 ^{bcD} | 0,21 | 4,11 ^{bcD} | 0,08 | 4,26 ^{cCD} | 0,26 |
| K6 | 3,69 ^{aCD} | 0,28 | 3,90 ^{aC} | 0,29 | 4,16 ^{abD} | 0,16 | 4,61 ^{bcE} | 0,11 | 4,90 ^{bcDE} | 0,36 |
| K7 | 4,10 ^{aD} | 0,29 | 4,56 ^{abD} | 0,16 | 4,90 ^{bcE} | 0,17 | 5,11 ^{bcF} | 0,18 | 5,36 ^{cE} | 0,44 |

Objaśnienia jak pod tab. A18; a-c – różne litery w wierszu oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: czas przechowywania), *p* < 0,05; A-E – różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie (zmienna grupująca: rodzaj lipidu), *p* < 0,05.

Tabela A21. Charakterystyka skupień wyznaczonych w ramach analizy skupień (HCA)

| Parametr (zmienna) | Skupienie 1 | | Skupienie 2 | | Skupienie 3 | |
|---|-------------|-------|-------------|-------|----------------|-------|
| | EP | | EK6 i EK7 | | EK3, EK4 i EK5 | |
| | \bar{x} | W_z | \bar{x} | W_z | \bar{x} | W_z |
| <i>Wnp</i> [%] | 98,4 | - | 97,30 | 0% | 92,74 | 4% |
| <i>YI</i> [-] | 37,0 | - | 73,99 | 5% | 83,51 | 8% |
| <i>Dk</i> [μm] | 14,28 | - | 9,82 | 1% | 9,80 | 2% |
| <i>Tm</i> [$^{\circ}\text{C}$] | 31,75 | - | 45,50 | 3% | 40,92 | 6% |
| <i>Tk</i> [$^{\circ}\text{C}$] | 29,37 | - | 42,40 | 4% | 35,44 | 7% |
| <i>Ck</i> [min] | 500,82 | - | 259,47 | 8% | 345,48 | 13% |
| <i>Tw</i> [N] | 3,53 | - | 5,43 | 23% | 1,69 | 60% |
| <i>KI</i> [N] | 2,43 | - | 2,96 | 8% | 1,11 | 64% |
| <i>Wod</i> [%] | 81,26 | - | 15,55 | 29% | 11,84 | 11% |
| <i>EI</i> $\times 10^2$ [nm^2] | 2,93 | - | 2,72 | 28% | 1,24 | 24% |
| <i>MVI</i> $\times 10^3$ [nm^2] | 11,45 | - | 12,97 | 37% | 2,92 | 21% |
| <i>SLB</i> [nm^2] | 0,23 | - | 0,19 | 18% | 0,25 | 5% |
| <i>Ws20</i> [%] | 93,97 | - | 100,00 | 0% | 99,89 | 0% |
| <i>Ws30</i> [%] | 70,13 | - | 98,11 | 1% | 89,46 | 7% |
| <i>In20</i> $\times 10^2$ [-] | 25,53 | - | 1,52 | 14% | 2,88 | 48% |
| <i>In30</i> $\times 10^2$ [-] | 60,81 | - | 5,06 | 17% | 8,74 | 24% |
| <i>Iw20</i> [%] | 1,94 | - | 0,00 | 0% | 0,30 | 173% |
| <i>Iw30</i> [%] | 36,78 | - | 2,93 | 34% | 10,62 | 43% |
| <i>WII</i> [-] | 86,97 | - | 87,16 | 0% | 87,27 | 0% |
| <i>WczI</i> [μm] | 1,67 | - | 1,75 | 0% | 1,65 | 2% |
| <i>WdI</i> [-] | 0,92 | - | 1,00 | 2% | 0,83 | 3% |
| <i>KI</i> [mPa·s] | 72,73 | - | 299,35 | 3% | 216,11 | 19% |
| <i>nI</i> [-] | 0,81 | - | 0,58 | 3% | 0,68 | 5% |
| <i>EII</i> $\times 10^3$ [nm^2] | 0,84 | - | 1,39 | 6% | 1,34 | 20% |
| <i>MVII</i> $\times 10^5$ [nm^2] | 1,37 | - | 2,96 | 6% | 2,47 | 11% |
| <i>SLBI</i> [nm^2] | 0,84 | - | 0,68 | 4% | 0,79 | 1% |
| <i>InI</i> $\times 10^2$ [-] | 1,25 | - | 0,62 | 0% | 0,60 | 7% |
| <i>PczI</i> [$\mu\text{m/s}$] | 0,31 | - | 0,03 | 3% | 0,03 | 2% |
| <i>In(90)</i> $\times 10^2$ [-] | 8,13 | - | 4,55 | 26% | 3,06 | 10% |
| <i>In(z-r)</i> $\times 10^2$ [-] | 52,0 | - | 31,67 | 2% | 32,85 | 16% |
| <i>In(pH5)</i> $\times 10^2$ [-] | 25,0 | - | 29,20 | 0% | 22,78 | 8% |
| <i>In(pH7)</i> $\times 10^2$ [-] | 1,45 | - | 1,00 | 0% | 1,48 | 13% |
| <i>In(pH9)</i> $\times 10^2$ [-] | 1,25 | - | 0,68 | 5% | 0,93 | 22% |
| <i>In(0)</i> $\times 10^2$ [-] | 14,95 | - | 11,28 | 1% | 12,87 | 4% |
| <i>In(0,05)</i> $\times 10^2$ [-] | 19,50 | - | 16,38 | 2% | 17,05 | 6% |
| <i>In(0,1)</i> $\times 10^2$ [-] | 19,45 | - | 19,60 | 4% | 18,88 | 6% |
| <i>In(0,15)</i> $\times 10^2$ [-] | 21,70 | - | 23,80 | 10% | 21,98 | 7% |
| <i>WI28</i> [-] | 86,37 | - | 85,75 | 0% | 85,83 | 0% |
| <i>YI28</i> [-] | 11,76 | - | 12,96 | 0% | 12,94 | 1% |
| <i>Wcz28</i> [μm] | 1,80 | - | 1,84 | 1% | 1,75 | 1% |
| <i>Wd28</i> [-] | 0,98 | - | 0,95 | 0% | 0,89 | 9% |
| <i>K28</i> [mPa·s] | 51,44 | - | 242,35 | 1% | 181,25 | 17% |
| <i>n28</i> [-] | 0,93 | - | 0,69 | 6% | 0,76 | 5% |
| <i>EI28</i> $\times 10^3$ [nm^2] | 3,06 | - | 4,79 | 4% | 3,43 | 10% |
| <i>MVI28</i> $\times 10^5$ [nm^2] | 3,19 | - | 5,04 | 6% | 3,82 | 11% |
| <i>In28</i> $\times 10^2$ [-] | 19,68 | - | 21,79 | 10% | 15,04 | 10% |
| <i>TSI28</i> [-] | 4,27 | - | 3,68 | 51% | 2,36 | 10% |
| <i>LN28</i> [milorówn. O ₂ /kg] | 1,23 | - | 7,83 | 1% | 7,07 | 9% |
| <i>LA28</i> [-] | 2,58 | - | 5,70 | 6% | 4,68 | 3% |
| <i>TX28</i> [-] | 5,05 | - | 21,35 | 3% | 18,16 | 4% |

Objaśnienia: jak pod tab. 8, tab. 12 i tab. 18; W_z – współczynnik zmienności parametru [%].

Wyrażam zgodę na udostępnianie mojej pracy w czytelniach Biblioteki SGGW.

.....

(czytelny podpis autora pracy