

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **2020 530**
(22) Paraiškos padavimo data: **2020-06-19**
(41) Paraiškos paskelbimo data: **2022-01-10**

(71) Pareiškėjas:
KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS, K.
Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas, LT
LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS, A.
Mickevičiaus g. 9, LT-44307 Kaunas, LT

(72) Išradėjas:
Daiva LESKAUSKAITĖ, LT
Petras Rimantas VENSKUTONIS, LT
Milda KERŠIENĖ, LT
Ina JASUTIENĖ, LT
Viktorija EISINAITĖ, LT
Vita LESAUSKAITĖ, LT
Gytė DAMULEVIČIENĖ, LT
Jurgita KNAŠIENĖ, LT

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Otilija KLIMAITIENĖ, 35, AAA Law, A. Goštauto g.
40B, Verslo centras „Dvyniai“, LT-03163 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Maistinė emulsija su klampia lengvai ryjama tekstūra ir bioaktyviomis medžiagomis

(57) Referatas:

Šis išradimas atskleidžia maistinėmis medžiagomis įsotintą emulsiją pagyvenusių žmonių su rijimo sutrikimais (disfagija) poreikiams bei apimančią pagrindinius maisto komponentus, kurios klampumas yra nuo 1000 iki 1500 mPas (matuojant 50 per sekundę šlyties greičiu 25 °C temperatūroje), ir leidžiančią kontroliuojamą įsodrintų maistinių medžiagų išsiskyrimą plonojoje žarnoje. Šiame išradime, pagrindiniai mitybos komponentai (baltymai, nesočiųjų lipidų, polifenolių, vitaminų A, D, C, B9 ir B12, Zn, Se) yra gaunami, juos įterpus į skirtingas VAV emulsijos fazes (VAV: vanduo-aliejus-vanduo, angl. WOW: water-oil-water). Naudojant šią maistinę emulsiją, ir gaminant maistą pacientams su rijimo sutrikimais, gaunami keli privalumai: apsaugomos įsodrintos maistinės medžiagos nuo skilimo technologinio proceso metu, aprūpinama baltymais ir nesočiais riebalais, padidinamas preparato klampumas bei įsodrintų maistinių medžiagų kontroliuojamas atpalaidavimas plonojoje žarnoje virškinimo metu.

MAISTINĖ EMULSIJA SU KLAMPIA LENGVAI RYJAMA TEKSTŪRA IR BIOAKTYVIOMIS MEDŽIAGOMIS

IŠRADIMO SRITIS

Išradimas priklauso maisto technologijų sričiai. Konkrečiau, tai maistinė dviguba emulsija, pasižyminti klampia lengvai ryjama tekstūra, paskirstytai prisotinta subalansuotomis maistinėmis bei bio-veikliosiomis medžiagomis, ir pritaikyta kokybiškai maitinti vyresnio amžiaus bei rijimo sutrikimus turinčius žmones.

TECHNIKOS LYGIS

Tam tikroms žmonių grupėms (vyresnio amžiaus žmonėms, rijimo sutrikimus turintiems ligoniams) reikalingas pakankamai maistinių medžiagų suteikiantis racionas/dieta, norint patenkinti jų mitybos poreikius, kartu išlaikant ir tinkamą su maistu gaunamos energijos balansą. Žinomi keli tokio maitinimo/maitinimosi būdai: daug maistinių medžiagų turintis maistas (supermaistas, angl. *nutrient-dense foods*), maistas su sustiprintomis maistinėmis savybėmis (angl. *fortified food*), bei maisto papildai (angl. *dietary supplements*). Maistas gali būti sustiprinamas, į jį pridėjus papildomų maistinių medžiagų arba bioaktyvių medžiagų. Toks maistas gali būti sėkmingai naudojamas pilnavertei ir subalansuotai minėtų žmonių grupių mitybai.

Maisto papildymas bioaktyviais priedais (vitaminais, fenoliniais antioksidantais) turi keletą apribojimų, nes bioaktyvūs junginiai gali suskilti ir/arba nepageidaujamai pasikeisti maisto perdirbimo ir laikymo metu, dėl jų didelio jautrumo šilumai, deguoniui, rūgštingumui (pH) ir kitoms aplinkos sąlygoms. Kita problema įtraukiant minėtus bioaktyvius junginius į maisto produktus yra netolygus jų pasiskirstymas visame produkte, nes paprastai pridedamų junginių kiekis yra labai mažas. Šiuo metu kapsulė (įkapsuliacija) yra pripažinta geriausia strategija bioaktyviųjų junginių įtraukimui į sustiprintus maisto produktus [1]. „Vanduo-aliejus-vanduo“ (V1/A/V2) struktūros dviguba emulsija (DE) yra viena patraukliausių bioaktyviųjų junginių kapsuliavimo sistemų. Šios DE pranašumas yra jos unikali morfologija, nes tai yra bendras daugiafunkcis nešiklis, leidžiantis kapsuliuoti skirtingas hidrofilines ir lipofilines molekules toje pačioje dalelėje [2]. Dar vienas pranašumas yra DE didelis klampumas. Remiantis Nacionalinėje Disfagijos mityboje (*National Dysphagia Diet*) pateikiama disfagijos skysčių klasifikacija, DE klampumas atitinka III lygį (medus), todėl DE gali būti sėkmingai naudojama maistui senyvo amžiaus žmonėms, turintiems disfagiją ir rijimo sutrikimus [3], [4].

Pastaraisiais metais DE tyrinėtos, kaip bioaktyvių junginių nešėjos. Gharehbeglou et al. [5] kapsuliavo oleuropeiną dvigubose nanoemulsijose, stabilizuotose pektino-išrūgų baltymų koncentrato kompleksu. Dvigubos emulsijos su resveratolio etanolio/vandens tirpalu, įterptu į vidinę vandens fazę, pasižymėjo dideliu kapsuliavimo efektyvumu, geru stabilumu ir tinkamomis reologinėmis savybėmis [6]. Be to, Aditya et al. [7] sukūrė V1/A/V2 emulsiją, kad tuo pačiu metu kapsuliuotų hidrofilinį katechiną ir hidrofobinį kurkuminą. Taip pat, pranešta, kad DE yra geros matricos vitaminams C [8] ir B12 [9]. Kitame tyrime [10], naudojant pieno baltymus ir poliglicerolio policinoleatą, buvo paruošta stabili DE su kapsuliuotomis burokėlių sultimis, pasižyminti dideliu kapsuliavimo efektyvumu (>98%).

Ieškant tinkamų kapsuliavimo priemonių, svarbiausias sistemos parametras yra kapsuliuoto bioaktyvaus junginio apsauga, kol jis pasiekia tikslines fiziologines vietas. Esama nedaug tyrimų, kuriuose nurodoma, kad DE suteikia veiksmingą vitaminų apsaugą virškinimo trakte. Vitamino B12 įkapsuliavimas į dvigubas emulsijas parodė didesnę nei 96% efektyvumą ir užkirto kelią vitaminų praradimui virškinimo skrandyje *in vitro* metu [11]. Kitame tyrime, Andrade et al. [12] įterpė hidrofobines vitamino D3 ir hidrofilines vitamino B12 molekules į DE ir įrodė, kad fizinės vidinės DE fazės savybės turėjo įtakos lipidų virškinimui ir vitaminų atpalaidavimo kinetikai virškinimo *in vitro* metu.

Be to, DE su ekstraktais, kuriuose gausu polifenolių, *in vitro* virškinimo tyrimai rodo, kad kapsuliuotų junginių išsiskyrimas priklauso nuo DE sudėties, dvigubos emulsijos paruošimo metodo ir kapsuliuotų junginių pobūdžio. Huangas ir Zhou [13] nustatė, kad dviguba emulsija gali lėtinti antocianinų atpalaidavimą iš emulsijos su juodųjų ryžių ekstraktu skrandyje, o žarnyne antocianinai atsipalaiduoja per pirmąsias 20 minučių. Dviguba emulsija su burokėlių ekstraktu, aprašyta Kaimainen et al. [14], parodė laipsnišką bioaktyvių junginių išsiskyrimą virškinimo skrandyje metu.

Remiantis patentinės literatūros šaltiniais, emulsifikacija ir mikrokapsuliacija yra gana seniai žinoma skirtingose pramonės srityse (maisto, agrochemijos, dažymo ir kt.). Maisto pramonėje mikrokapsuliacija naudojama pagerinti biologiškai aktyvių ingredientų stabilumą, pailginti tinkamumo laiką. Maisto produktų emulsifikacija gali būti naudojama pagerinti skonio savybes, kramtymo ir rijimo patogumą. Be to, emulsijoje į jos mikrostruktūrą yra įterpiami (įkapsuliuojami) maistiniai komponentai, kurie reikalingi pagal maistinės emulsijos panaudojimo paskirtį. Dar viena žinoma emulsijų savybė: skirtingus produktus, kurių maišymasis ir sąveika nepageidaujami, apjungti į vieną emulsinį mišinį, kurio skirtingose fazėse šie produktai išlieka atskiri.

Pasaulinėje patento paraiškoje WO2005058476A1 (prioriteto data 2003.12.18) ir kituose šios šeimos patentuose (Europos patente EP1702675B1, JAV patente US8168225B2) paskelbtas išradimas, susijęs su mikrokapsulėmis ir nenutrūkstamu mikrokapsuliavimo vandens-aliejuje-vandenyje „*in situ*“ procesu, bei emulsijos paviršinės polimerizacijos būdu. Preparatą sudaro ištisinė vandens fazė, turinti mikrokapsulių, kaip aliejaus lašų, dispersiją, o kiekvieno aliejinės fazės lašo viduje (pasirinktinai aliejuje tirpios medžiagos) yra vandens dispersija, vandeninis ekstraktas arba vandenyje disperguojama medžiaga arba vandenyje tirpi medžiaga. Aliejaus lašai yra kapsuliuoti natūralios kilmės polimerizuojamomis medžiagomis, kaip išoriniu apvalkalu. Tokios mikrokapsulės yra tinkamos purškimo būdu jas išdžiovinti, ir naudoti sausų miltelių, liofilizuotų, savaime emulsinių miltelių, gelio, grietinėlės ir bet kokio skysčio pavidalu. Į mikrokapsules įtraukti aktyvūs junginiai yra naudingi sveikatai ir kitiems biologiniams tikslams. Tokios kompozicijos yra tinkamos naudoti bet kokio tipo maisto produktuose, ypač gaminant maistinius vaistus, taip pat kosmetikos gaminius (tokius kaip atjauninamieji kremai, kremai nuo raukšlių, geliai, vonios ir dušo reikmenys bei puršikliai). Preparatai yra pakankami, kad stabilizuoti junginius, pridedamus prie maisto, mikrobų auginimo terpėms ir maistiniams vaistams, ypač lengvai skaidomiems ar oksiduojamiems.

Vandens-Aliejaus-Vandens (VAV) struktūros emulsifikacija ir ingredientų įkapsuliacija joje yra žinoma dar seniau. Pavyzdžiui, JAV patente US4254105A (prioriteto data 1975.10.11, galiojimas pasibaigęs 1998 metais) aprašomi daugianarė emulsija, turinti vandens/aliejaus/vandens fazių disperguojančią formą, ir jos paruošimo būdas, bei tokios emulsijos pagrindu sukurta kosmetika, kurioje pagrindinė forma naudojama minėta emulsija, o emulsiją sudaro disperguota fazė ir dispersinė terpė, iš kurios dispersinė fazė yra „vanduo-aliejuje“ emulsija. Taip pat, rašoma, jog VAV emulsija yra veiksminga pagrindinė cheminių produktų, tokių kaip maistas, gėrimai, vaistai, bei pagrindinė kosmetikos, pavyzdžiui, kremų ir losjonų, forma.

Pagal išradimo tikslinę paskirtį, artimiausi šiam išradimui patentai yra 2017.06.22 prioriteto datos Korėjos patentas KR102020586B1 ir 2010.06.04 prioriteto datos pasaulinė paraiška WO2011152706A1, išplėsta įvairiose šalyse (Europoje: EP2575830B1, JAV: US20140024581A1, Rusijoje: RU2564913C2, Kinijoje: CN103037874B ir kitose). Šiuose patentuose rašoma apie specializuotas maistinius kompleksus, skirtus žmonėms su rijimo sutrikimais (disfagija, *angl. dysphagia*), kur šių maistinių kompleksų reikalingos savybės yra padidintas klampumas, rijimo palengvinimas, geras skonis bei subalansuotas maistinių elementų kompleksas.

Paraiškoje WO2011152706A1 aprašytas išradimas atskleidžia skystą enterinę (vartojamą per virškinamąjį traktą) mitybos kompoziciją, kurios energijos tankis yra nuo 1,0 iki 4,0 kcal/ml, klampumas nuo 150 iki 1800mPas, matuojant esant 50°/sek. šlyties greičiui 20°C temperatūroje, ir sudarytą iš virškinamų angliavandenių ir riebalų, kur kompozicija taip pat apima mažiausiai vieną iš (a1) ir (a2), kur:

(a1) 8-20g baltymų 100 mililitrų minėtos kompozicijos, kuriuose micelinis kazeinas sudaro ne mažiau kaip 50% masės viso baltymų, esančių kompozicijoje, kiekio;

(a2) 16–45% baltymų, kuriuose micelinis kazeinas sudaro ne mažiau kaip 50% baltymų kaloringumo;

ir taip pat, minėta kompozicija toliau apima:

(b) anijoninius pluoštus, galinčius atskirti kalcį, ir

(c) karageniną, kurio masė yra 0,015–0,25 g 100 ml kompozicijos, ir jo panaudojimą disfagijos prevencijai/gydymui ir (arba) nepakankamo ar nepakankamo maitinimo, susijusio su disfagija, gydymui/prevencijai.

Patente KR102020586B1 rašoma apie pagyvenusiems žmonėms subalansuotą maistą su gyvūninių ir augalų kompleksiniu ekstraktu, ir jų gaminimo būdą. Konkrečiau, šis išradimas susijęs su maistingų ir bioaktyvių medžiagų išgavimo iš augalinės ar augalinės medžiagos būdu, neutralizuojančiu specifinį antienos aromatą bei skonį. Taip pat susijęs su senyvame amžiuje labiau tinkamu maistu, kurio sudėtyje yra gyvūninių ir augalinių kompleksų ekstrakto, galinčio pagerinti su valgymo sutrikimais siejamas bendrąsias pagyvenusio vartotojo fizines savybes, ir jo gamybos būdą. Remiantis šiuo išradimu, pagrindiniai mitybos komponentai (baltymai, vitaminai, mineralai ir kiti) gaunami iš antienos ir moliūgų, pašalinus specifinius antienos kvapą ir skonį, pridedami funkciniai ingredientai (saponinai, polifenoliai ir kiti). Toks maistas padeda palaikyti visuomenės sveikatą, pateikiant vyresnio amžiaus žmonėms subalansuotus maisto produktus su geresnėmis kramtymo ir rijimo savybėmis, su ženšenio ir kitais bioaktyviais ekstraktais, darančiais teigiamą įtaką senstant. Šį maistą gaminti naudojami ūkiuose auginami produktai, o tuo prisidedama ir prie vietinės ekonomikos bei stabilios darbo jėgos palaikymo.

Tačiau šiuose šaltiniuose neatskleidžiama arba nepakankamai atskleidžiama, kaip efektyviai minėti maistiniai kompleksai yra virškinami ir pasisavinami organizme. Maisto virškinimo ir pasisavinimo procesas yra sudėtingas, kuriame dalyvauja skirtingi fermentai, o skirtingi maisto komponentai, tokie kaip baltymai, riebalai ir angliavandeniai

virškinami skirtingose fazėse, o suvirškintą maistą organizmas tinkamai pasisavina, kol jis plonojoje žarnoje.

Apžvelgus artimiausius šiam išradimui šaltinius, matyti, kad esama emulsifikuotų ir mikrokapsuliuotų (pavyzdžiui, V1/A/V2 mikrokapsulėmis) produktų, kurie pasižymi ilgesniu įkapsuliuoto produkto išsaugojimu, pagerintu skoniu (WO2005058476A1). Tačiau yra svarbu, pavyzdžiui, vyresnio amžiaus žmonėms ar pacientams, kad mityba būtų pilnavertė ir subalansuota - tai yra, apimtų baltymus, riebalus, angliavandenius, vitaminus, mikroelementus – tačiau tokio subalansuoto komplekso emulsinėje ar mikrokapsuliacijos formoje nėra atskleista. Kituose šaltiniuose (WO2011152706A1, KR102020586B1) rašoma apie vyresnio amžiaus žmonių ir rijimo sutrikimų turinčių pacientų optimalius mitybai subalansuotus maistinius kompleksus – mišinius, skystus preparatus, kurių maistinė sudėtis yra subalansuota, o tirštumas/klampumas padidintas, kad juos galima būtų lengviau nuryti (pavyzdžiui, baltymų pagalba sutirštinta iki grietinės tirštumo), ir tai leidžia ženkliai pagerinti šios grupės žmonių racioną bei valgymo procesą. Tačiau šiuose mišiniuose maistiniai komponentai nėra struktūrizuoti, kad būtų optimaliai virškinami ir pasisavinami atskiromis fazėmis natūralioje virškinimo bei pasisavinimo proceso eigoje.

Todėl šiame išradime yra akcentuojamas trūkumas maistinio produkto ir/arba produktų grupės, kurie:

- apimtų subalansuotą maistinių medžiagų racioną, tinkamą žmonių mitybai, o ypač vyresnio amžiaus ir pacientų, kuriems pilnavertis subalansuotas racionas itin svarbus;
- jų maistiniai komponentai būtų struktūrizuoti pagal virškinimo ir pasisavinimo organizme fazes. Tai pat, tarpusavyje nederantys produktai (pavyzdžiui, baltymai ir uogų ekstraktai) būtų struktūriškai atskirti, kad nesudarytų nepageidaujamų ar nevirškinamų junginių;
- produktas būtų lengvai ryjamas ir turėtų klampą, kuri būtų optimali maitinti vyresnio amžiaus žmones bei pacientus, turinčius lengvesnių ar sunkesnių rijimo sutrikimų (disfagiją);
- produktas būtų pakankamai ilgo galiojimo, išlaikytų sudėtyje esančias bioaktyvias medžiagas (vitaminus, mikroelementus), galėtų būti naudojamas kaip maisto sudedamoji dalis ar pagardas prie kitų patiekalų (pavyzdžiui, košių, baltyminių kokteilių ir panašių), bei neprarastų savo struktūros ir klampos/konsistencijos savybių prie aukštesnės temperatūros ar įvairiose

maistinėse terpėse (gaminant, pateikiant šį produktą, kaip priedą, su įvairiais patiekalais).

IŠRADIMO ESMĖ

Šiuo išradimu sukurta daugianarė „vanduo-aliejus-vanduo“ (VAV, *angl. WOW: water-oil-water*) struktūros emulsija, kurios struktūra ir joje esantys maistiniai komponentai užtikrina klampią, lengvai ryjamą tekstūrą, veikliųjų medžiagų stabilumą gamybos ir laikymo metu, bei kontroliuojamai laipsnišką jų atpalaidavimą virškinimo metu.

Emulsijos VAV struktūra užpildyta maistinių komponentų kompleksu, kurio maistinė bei energinė vertė labiau pritaikyta arba optimizuota senyvo amžiaus žmonėms, atsižvelgiant į jų apetito, skonio suvokimo, rijimo, maistinių medžiagų poreikių pokyčius, ir siekiant išvengti nepakankamos mitybos. Nors, šį produktą galima naudoti ir kitiems žmonėms, kurių amžius ir sveikatos būklė nėra kritiniai, kad šį produktą jau būtų rekomenduojama naudoti.

Šio išradimo naujumas yra emulsijos lengvai ryjama tekstūra bei stabili trijų nesimaišančių fazių struktūra, sudaryta iš vyresnio amžiaus žmonėms reikalingų makro ir mikro komponentų, kuri leidžia kontroliuoti maisto medžiagų atpalaidavimą vartotojo organizme. Makro ir mikro komponentų specialus paskirstymas emulsijos trijose fazėse papildomai pagerina klampumo, rijimo bei maistinių, ypač bioaktyvių, komponentų išsaugojimo ilgą laiką savybes. Išorinėje vandens (V2) fazėje paskirsčius baltymus, tarpinėje aliejaus (A) fazėje sukongravavus riebalus bei lipofilinius vitaminus, o vidinėje vandens (V1) fazėje įterpus angliavandenius, hidrofilinius vitaminus, mikroelementus ir kitus bioaktyvius elementus – gaunamas toks sinerginis efektas, kad VAV emulsija subalansuoja maistinių elementų kompleksą, pasisavinimo fazes su kontroliuojamai palaipsniui maistingų medžiagų atpalaidavimu virškinimo trakte, yra klampesnė ir lengviau ryjama, todėl tinkama rijimo sutrikimų turintiems vartotojams, bei gali būti valgoma kaip subalansuotas maistinis priedas su kitais patiekalais. Pagyvenusiems žmonėms skirtos DE skirtingose fazėse įkapsuliuoti pagrindiniai jiems reikalingi bioaktyvieji komponentai. Vidinę vandens fazę (V1) užpildo hidrofilinis vitaminas B6, vitaminas B12, vitaminas C ir antocianinų turtingas juodųjų aronijų išspaudų ekstraktas (BCPE). Aliejaus fazė (A) papildoma lipofiliniu vitaminu A ir vitaminu D3. Pieno baltymai ir poliglicerolio policinoleatas buvo naudojami atitinkamai kaip hidrofiliniai ir lipofiliniai emulsikliai, išorinėje vandens fazėje (V2). Bendras mikroelementais užpildytos emulsijos stabilumas nusakomas, laikant ją 30 dienų.

Emulsijos pasisavinimo organizme procesas ir efektyvumas, bioaktyvių junginių atpalaidavimo kinetika buvo ištirti emulsijos *in vitro* suardymo metu. Imituotas virškinimo trakto veiklos procesas naudojamas daugelyje maisto ir mitybos mokslų sričių, nes bandymai su žmonėmis dažnai brangūs, reikalauja daug išteklių bei etiškai ginčytini. Kuriant maisto produktus vyresnio amžiaus vartotojams, biocheminių medžiagų, išsiskiriančių iš pakrautų dvigubų emulsijų, skaidymo *in vitro* apibūdinimas yra esminiai svarbus, leidžiantis įvertinti produkto savybes iki pat jo pasisavinimo organizme galutinės fazės.

Šiuo išradimu sprendžiamos problemos ir gaunami efektai:

- Maisto papildymas mikrokomponentais priklauso nuo produkto sudėties, savybių, technologinių parametrų. Žinomų mikroelementų įdėjimo į maistą būdų esminis trūkumas – sunku užtikrinti vienodą pasiskirstymą visoje maisto produkto partijoje bei gaunami dideli mikrokomponentų nuostoliai technologinio proceso metu. Problemos sprendimo būdas – mikrokomponentų įkapsuliavimas į VAV emulsijas.
- Kita problema kuriant mikrokomponentais papildytus produktus – trūkumas duomenų apie mikrokomponentų pasisavinimą iš produkto. Todėl mažai žinoma mikrokomponentais papildytų maisto produktų, kurių poveikis sveikatai įrodytas moksliniais tyrimais, nors mokslo žinių apie atskirų mikrokomponentų savybes bei teigiamą įtaką sveikatai pakanka.
- Nors yra žinoma mikrokomponentais papildytų maisto produktų, tačiau jie nepakankamai klampūs, kad tiktų saugiai vartoti ženklesnę disfagiją (rijimo sutrikimą) turintiems pacientams. Minėta maisto produktų klampa koreguojama, pridedant tirštinančių medžiagų. Vyresniems žmonėms skirtuose produktuose makro ir mikro komponentų sudėtis kontroliuojama parenkant žaliavas bei pridedant reikalingą kiekį bioaktyvių medžiagų, įvertinant jų nuostolius gamybos bei saugojimo metu.
- Fiziologiniai su senėjimu susiję pokyčiai, pakitę skonio ir uoslės pojūčiai, sumažėjęs apetitas ir pasunkėjęs rijimas dažnai lemia mažesnį maisto produktų vartojimą senų žmonių tarpe. Senyvų žmonių grupėse dažnos ir kitos problemos – depresija, vienišumas, skurdas, socialinė atskirtis bei pažinimo funkcijų sutrikimai, ir tai sąlygoja nepakankamą mitybą. Sukurta emulsija padeda išvengti senyvo amžiaus žmonių nepakankamos mitybos, nes ją kuriant atsižvelgta į apetito, skonio suvokimo, rijimo, maistinių medžiagų poreikių pokyčius senyvame amžiuje.

- Mikrokomponentai (vitaminai ir mineralai) yra būtini organizmo medžiagų apykaitai bei gyvybinei veiklai, o senėjant jų trūkumas neigiamai veikia fizines ir psichines organizmo funkcijas. Šioje emulsijoje esančių mikrokomponentų kiekis leidžia užtikrinti, kad valgant maisto produktus su šia emulsija, medžiagų paros poreikis būtų patenkinamas, todėl nebereikia vartoti vitaminų ir mineralinių medžiagų preparatų bei maisto papildų.

BRĖŽINIŲ APRAŠYMAS

Kai kurie svarbesni išradimo aspektai paaiškinti brėžiniuose ir grafikuose. Brėžiniai ir grafikai yra aprašymo sudedamoji dalis ir pateikiami kaip nuoroda į galimą išradimo įgyvendinimą ar vizualų paaiškinimą, bet neturi riboti išradimo apimtį.

1 pav. DE be maistinių komponentų (A), maistiniais komponentais užpildytos DE (B) dalelių pasiskirstymas pagal dydį, ir užpildytos DE (C) mikrostruktūra, pagal laiko funkciją, skrandyje (G) bei žarnyne (D), virškinant *in vitro*:

- (0) - prieš virškinimą;
- (G120) - skrandžio fazė po 120 minučių virškinimo,
- (D5) - dvylikapirštės žarnos fazė 5-ąją minutę,
- (D120) - dvylikapirštės žarnos fazė po 120 minučių virškinimo.

2 pav. Vitaminų ir antocianinų atpalaidavimas iš DE, kaip laiko funkcija, skrandžio fazės (G) ir žarnyno fazės (D) virškinimo *in vitro* metu:

- (G120) - skrandžio fazė po 120 minučių virškinimo,
- (D5) - dvylikapirštės žarnos fazė 5-tąją minutę,
- (D120) dvylikapirštės žarnos fazė po 120 minučių virškinimo

Grafike vertės pateikiamos kaip vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis; mažosios raidės rodo reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus tarp skirtingų virškinimo *in vitro* etapų.

DETALUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

Toliau detalai aprašoma sukurtos DE struktūra, jos sudėtiniai komponentai, gamybos aspektai, bei gautos DE savybių tyrimo rezultatai.

Tinkamiausias variantas. Emulsijos vanduo-aliejus-vanduo (V1/A/V2) sudėtis ir struktūra:

- V1 fazėje yra aronijų išspaudų ekstrakto, vitamino C, vitamino B9, vitamino B12, cinko, seleno;
- A fazėje yra rapsų aliejaus, vitamino A, vitamino D3;

- V2 fazėje yra pieno baltymų.

Bendra maistinė sudėtis:

- Pieno baltymų – 12g/100g;
- Riebalų – 33g/100g;
- Aronijų išspaudų ekstrakto – 2g/100g;
- Vitaminų ir mikroelementų:
 - A – 400µg/100g,
 - D3 – 40 µg/100g,
 - C- 40 mg/100g,
 - B12 - 2000 µg/100g,
 - B9 - 1600 µg/100g;
 - cinko – 28 mg/100g;
 - seleno – 120 µg/100g.

Sukurtos DE išskirtinumas iš rinkoje esančių panašios paskirties produktų – natūralus skonis, lengvai virškinami baltymai, reikiami mikronutrientai - mineralai, vitaminai ir polifenoliai, bei reikiama klampa.

Emulsijų komponentai. Žemiau pateikiami komponentai ir jų kiekiai yra vienas galimas produkto įgyvendinimo variantas, sukurtas ir testuotas laboratorijoje. Tačiau šie komponentai ir kiekiai nėra ribojantys šį išradimą, tiek pagal medžiagų turinį, tiek pagal sudėties proporcijas:

- Distiliuotas vanduo;
- Pieno baltymų koncentratas, kuriame yra 80,0% baltymų, 1,5% riebalų ir 5,0% angliavandenių, naudojamas kaip vandenyje tirpus emulsiklis;
- Poliglicerolio policinoleatas (PGPR), naudojamas kaip lipofilinis emulsiklis;
- Aliejaus fazei naudotas rafinuotas rapsų aliejus;
- Natrio chloridas (> 99,7%);
- Sacharozė.

Šviežios juodųjų aronijų išspaudos po spaudimo užšaldytos, sumaltos ir nuriebalintos. Juodųjų aronijų išspaudų ekstraktas (*angl. BCPE - Black chokeberry pomace extract*) išgautas ekstrahuojant etanoliumi (EtOH), suslėgtu iki 10,3 MPa.

Emulsijos užpildymui naudoti vitaminai: vitamino A palmitato 1 MIU/g aliejuje, vitamino D3 1 MIU/g aliejuje, 99,9% grynumo folio rūgšties miltelių ir 0,1% vitamino B12 miltelių, vitamino C milteliai, kurių grynumas 99,9%, seleno ir cinko druskos.

Emulsijos paruošimas: Paruoštos dviejų tipų dvigubos emulsijos (DE):

- Neužpildyta DE pagaminta be uogų išspaudų ekstrakto ir vitaminų bei mikroelementų;
- Užpildyta DE pagaminta su uogų išspaudų ekstraktu, mikroelementų druskomis bei vandenyje tirpiaais vitaminais vidinėje vandens fazėje (V1) ir riebaluose tirpiaais vitaminais aliejaus fazėje (A).

Tuo tikslu, buvo pagamintos dviejų tipų vidinės vandens fazės (V1):

- 0,5 g/100g natrio chlorido ištirpinta distiliuotame vandenyje (neužpildytai DE);
- 0,5 g/100g natrio chlorido, 35 g/100g BCPE, 27 mg/100g folio rūgšties, 16650 mg/100g vitamino B12, ir 2670 mg/100g vitamino C buvo ištirpinta distiliuotame vandenyje (užpildytai DE).

Aliejaus fazei (A), 3g/100g PGPR buvo paskirstyta rapsų aliejuje (neužpildytoje DE). Užpildytai emulsijai be PGPR buvo pridėta riebaluose tirpių vitaminų (7 mg / 100 g vitamino D ir 12 mg / 100 g vitamino A). Aliejinė fazė (A) kaitinta, maišant 30 minučių 50°C temperatūroje, po to atvėsinta iki kambario temperatūros.

Išorinei vandens fazei (V2) buvo naudojamas 14g/100g pieno baltymų tirpalas. Pirminei emulsijai paruošti, vidinė vandens fazė (V1) buvo sumaišyta su aliejeine faze (A) santykiu 20:80 pagal masę ir 8 minutes homogenizuota 15 000 aps./min greičiu. Vėliau gauta pirminė emulsija sumaišyta su išorine vandens faze (V2) santykiu 30:70 pagal masę ir homogenizuota 5 minutes mažesniu greičiu - 11 000 aps/min.

Abi paruoštos emulsijos (neužpildyta DE ir užpildyta DE) savo sudėtyje turėjo 10,0% baltymų ir 24,0% riebalų. Šios šviežiai paruoštos DE toliau naudotos paruošti padidinto baltymų kiekio jogurto tipo produktą.

Paruoštų DE ištirtos šios **charakteristikos**:

Gravitacinio stabilumo nustatymas. DE supilta į 25 ml stiklinius mėgintuvėlius ir laikyta 30 parų 4°C temperatūroje, stebint fazių atsiskyrimą.

Lašelių dydis ir pasiskirstymas. Vidutinis aliejaus lašelių dydis ir pasiskirstymas nustatytas lazeriniu difrakciniu spektrofotometru, naudojant šiuos parametrus: 1,45 - lašelių lūžio rodiklis; 1,33 - vandens lūžio rodiklis; 0,01 - absorbcija. Rezultatai išreikšti vidutiniu rutuliuko skersmeniu pagal tūrį ($d [4,3]$). Visi matavimai pakartoti mažiausiai tris kartus.

Reologinės charakteristikos išmatuotos 25 °C temperatūroje naudojant reometrą su plokštės-plokštės sistema (skersmuo 20 mm, tarpas 1 mm). Poslinkio greitis didintas nuo 0,1 iki 500 s⁻¹. Duomenys analizuoti naudojant Herschel-Bulkley modelį, apskaičiuotas klampos koeficientas (K), ribinis poslinkio įtempis (τ_0) ir takumo indeksas (n).

Kapsuliavimo efektyvumas ir stabilumas. Kapsuliavimo efektyvumas (angl. *Encapsulation Efficiency, EE*) apskaičiuotas kaip santykis tam tikro junginio (Cy-3-galaktozido ar vandenyje tirpių vitaminų), įterpto į vidinę vandens fazę (V1), kiekio su jo įdėtu į emulsiją kiekiu. Kapsuliavimo stabilumas (angl. *Encapsulation Stability, ES*) apskaičiuotas kaip santykis tam tikro junginio kiekio, likusio uždaryto vidinėje vandens fazėje (V1), o su jo iš pradžių įdėtu kiekiu. Emulsijai suardyti į centrifuginį mėgintuvėlį buvo pasverta, 9g emulsijos ir 36 g NaCl tirpalo (5,84 g/l), centrifuguojama 30 minučių esant 3000 aps./min. Atsiskyrusi apatinė vandeninė fazė surinkta ir nufiltruota. EE ir ES apskaičiuoti naudojant šias lygtis:

$$EE = \frac{(C_{in} - C_{fday0})}{C_{in}} \times 100\% \quad (1)$$

$$ES = \frac{(C_{in} - C_{fdayx})}{C_{in}} \times 100\% \quad (2)$$

kur C_{in} yra konkretaus junginio, iš pradžių pridėto į emulsiją, kiekis, C_{fday0} yra konkretaus junginio kiekis, rastas supernatante, C_{fdayx} yra konkretaus junginio kiekis, rastas supernatante po laikymo 4°C temperatūroje šaldytuve x parų.

Aliejuje tirpių vitaminų kiekis išmatuotas atlikus pilną fermentinę DE hidrolizę. Tuo tikslu 5g DE sumaišyti su 5ml 0,004% pepsino tirpalo vandenyje, 200μL 6M HCl, 10ml vandens, pH sureguliuotas iki 2,7 ir 2 valandas laikyta 37°C temperatūroje vandens vonioje. Tada pridėta 15 ml lipazės (0,82g 30 ml) ir pankreatino tirpalo (0,3g 30 ml), pH pakoreguotas iki 6,6 naudojant 800 μL 2N NaOH, ir mėginiai 3 valandas laikyti 37 ° C temperatūroje vandenyje vonioje.

Aliejuje tirpių vitaminų EE ir ES apskaičiuoti pagal šias lygtis:

$$EE = \frac{C_{fday0}}{C_{in}} \times 100\% \quad (3)$$

$$ES = \frac{C_{fdayx}}{C_{in}} \times 100\% \quad (4)$$

kur C_{in} yra konkretaus junginio, iš pradžių pridėto į emulsiją, kiekis, C_{fday0} yra konkretaus junginio kiekis, nustatytas aliejinėje fazėje po paruošimo, C_{fdayx} yra konkretaus junginio, nustatyto aliejinėje fazėje, kiekis po laikymo 4°C temperatūroje šaldytuve x parų.

Emulsijos virškinimo imitavimas. Su paruoštomis DE atliktas imitacinis *in vitro* virškinimas, siekiant įvertinti emulsijos struktūros suardymą ir bioveikliųjų komponentų atpalaidavimą. Tyrimas atliktas pagal statinio *in vitro* virškinimo protokolą „Infogest“. Virškinimo profiliui gauti buvo naudojami septyni mėgintuvėliai ir juose virškinimo procesas buvo sustabdytas atitinkamai po 5, 60 ir 120 minučių skrandžio fazėje (G5, G60 ir G120) bei 125, 180, 210 ir 240 minučių žarnyno fazėje (D5, D60, D90 ir D120). Skrandžio fazės mėginiai buvo neutralizuoti iki pH 7,0±0,1, o žarnyno fazės mėginių

virškinimo procesas buvo sustabdytas atšaldant lediniame vandenyje iki 0–4 °C. Po to, kai reakcija buvo sustabdyta, mėginiai buvo nucentrifuguoti esant 4000 aps./min. +4 °C temperatūroje ir filtruoti. Tirpioji virškinimo frakcija buvo surinkta, užšaldyta ir iki analizės laikoma -18 °C temperatūroje. Mėginių morfologiniai pokyčiai įvertinti naudojant poliarizuotos šviesos mikroskopiją. Taip pat nustatytas dalelių dydis, proteolizės bei lipolizės laipsnis, antocianinų, vitaminų A, D, B12, B9 ir C kiekis.

Rezultatai. Sukurtos DE apibūdintos keliais esminiais aspektais: kapsuliavimo stabilumu ir efektyvumu, fizikiniais cheminiais pokyčiais laikymo metu, DE struktūros suardymu *in vitro* virškinimo imitavimo metu, bio-aktyvių atpalaidavimo kinetika.

DE struktūra yra labai sudėtinga ir lengvai suardoma gamybos ir laikymo metu. Sėkmingai stabilizuoti bioaktyvius junginius galima tik esant stabiliai DE. Gravitacinio stabilumo, lašelių dydžio ir pasiskirstymo, reologinių charakteristikų tyrimai parodė, kad neužpildyta ir užpildyta DE buvo stabilios 30 dienų. Duomenys pateikti 1 lentelėje. Abiejų emulsijų pirmieji nestabilumo požymiai buvo pastebėti praėjus 30 dienų po jų paruošimo - užpildytos emulsijos atveju gravitacinis stabilumas buvo 96,0%, o neužpildytos DE - 99,2%. Laikymo metu nustatytas nedidelis neužpildytos DE lašelių dydžio padidėjimas ir užpildytos DE sumažėjimas. Įtakos tam gali turėti ryškūs DE klampos skirtumai.

Herschelio – Bulkley lygtis pritaikyta atsižvelgiant į tiriamų DE reologinį elgesį. Didžiausias klampos koeficientas ir didžiausias poslinkio įtempis buvo apskaičiuoti neužpildytai DE iškart po paruošimo, ši emulsija rodo mažiausias K ir τ_0 reikšmes ir didžiausias n reikšmes, kas parodo mažesnę pseudoplastiškumą. Tokie skirtumai gali būti susiję su dideliu pektino kiekiu uogų išspaudų ekstrakto, esančiu emulsijos vidinėje vandens fazėje. Laikymo metu abiejų emulsijų klampos koeficientai ir ribinio poslinkio įtempiai reikšmingai ($p > 0,05$) sumažėjo. Ištirpusių molekulių ir vandens migracija iš vidinės vandens fazės į išorinę per aliejaus fazę gali būti to priežastimi. Taip pat nulemti lašelių dydžio pokyčius laikymo metu. Nors klampa laikymo metu mažėjo, nebuvo stebimas vandens ar aliejaus išsiskyrimas.

Lentelė 1. DE fizinės savybės saugojimo laikotarpiu (iki 30 dienų).

	Saugojimo laikas, dienomis				
Mėginys	1	3	7	14	30
	Gravitacinis stabilumas, %				
Neužpildyta DE	100±0.00aB	100±0.00aB	100±0.00aB	100±0.00aB	99.2±0.03 bA

Užpildyta DE	100±0.00aB	100±0.00aB	100±0.00aB	100±0.00aB	96.0±0.05 aA
	$\kappa, Pa s^n$				
Neužpildyta DE	3.04±0.21a D	2.21±0.15a C	1.83±0.48a C	1.17±0.00a B	0.45±0.01a A
Užpildyta DE	12.70±0.55 bB	13.92±0.14 bB	16.21±0.74 bC	10.53±0.73 bA	10.12±1.07 bA
	n				
Neužpildyta DE	0.58±0.09a A	0.61±0.01b A	0.59±0.01b A	0.62±0.07b A	0.76±0.01b B
Užpildyta DE	0.50±0.05a BC	0.53±0.03a C	0.47±0.01a BC	0.48±0.00a BC	0.41±0.02a A
	τ_0, Pa				
Neužpildyta DE	4.25±0.12a E	1.54±0.18a D	0.86±0.06a C	0.33±0.04a B	0.01±0.00a A
Užpildyta DE	52.09±2.11 bD	40.95±3.56 bC	21.45±2.54 bB	8.41±0.32b A	6.06±0.0 bA
	R^2				
Neužpildyta DE	0.993	0.999	0.999	0.999	0.998
Užpildyta DE	0.939	0.958	0.988	0.999	0.981
	$Tariamoji klampa, kai poslinkio greitis 50 s^{-1}, Pa \cdot s$				
Neužpildyta DE	0.629±0.01 3aD	0.585±0.00 2aC	0.527±0.00 9aD	0.333±0.00 1aB	0.120±0.00 2aA
Užpildyta DE	3.350±0.15 6bE	2.875±0.06 4bD	2.655±0.03 5bC	1.615±0.10 6bB	1.160±0.00 0bA
	$Lašelių dydis (d_{43}), \mu m$				
Neužpildyta DE	61.66±0.93 bAB	65.80±2.31 bB	62.10±1.94 bAB	64.11±2.16 bAB	-
Užpildyta DE	37.65±0.77 aC	31.02±1.03 aA	31.34±1.03 aA	32.53±0.59 aB	-
	$Span$				
Neužpildyta DE	2.588	2.575	2.909	3.827	-
Užpildyta DE	4.650	4.046	3.674	4.565	-

Vertės pateikiamos kaip vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis; Mažosios raidės rodo reikšmingus ($p < 0,05$) neužpildytų ir užpildytų DE charakteristikų skirtumus, o didžiosios raidės rodo reikšmingus ($p < 0,05$) DE charakteristikų skirtumus laikymo metu.

Norint gauti terapinės naudos iš bioaktyviais junginiais užpildytos DE, šie junginiai turi būti stabiliai įsitvirtinę. Šiame tyrime pradinis kapsuliavimo efektyvumas (EE) ir kapsuliavimo stabilumas (ES) po 14 ir 30 dienų laikymo 4 °C temperatūroje buvo naudojami kaip emulsijos stabilumo ir efektyvumo rodikliai (2 lentelė). Naujai paruoštoje DE antocianinų, vitaminų A ir D kapsuliavimo efektyvumas buvo daugiau nei 90 %, vandenyje tirpiems vitaminams EE buvo mažesnis. Tyrimo laikotarpio metu antocianinų kapsuliavimo stabilumas išliko 95,98%, tai rodo, kad DE yra perspektyvi sistema, leidžianti kapsuliuoti antocianinus. Nors pradinės vandenyje tirpių vitaminų EE vertės buvo gana panašios, tarp 76 ir 84%, ES tendencijos laikymo metu skyrėsi. Vitamino C ES kito mažiausiai, B12 taip pat sumažėjo nežymiai, o kapsuliuoto vitamino B9 koncentracija pastebimai sumažėjo po 14 dienų DE laikymo - nuo 75 iki 50%, o po 30 dienų - iki 45%. Vitaminų A ir D3 įtraukimas į DE aliejinę fazę apsaugojo juos laikymo metu. Emulsiklis PGPR gali sąveikauti su vitaminu D ir tokiu būdu padidinti emulsijos įkapsuliavimo efektyvumą. Vitamino A stabilumą galėjo lemti polifenolinių antioksidantų iš uogų išspaudų ekstrakto, taip pat vitamino C buvimas DE vidinėje vandens fazėje. Aronijų išspaudų ekstraktas, įterptas į vidinę DE vandens fazę slopina lipidų oksidaciją, tai paaiškina vitamino A stabilumą laikymo metu.

Lentelė 2. Kapsuliavimo efektyvumas (EE) ir kapsuliavimo stabilumas (ES) užpildytoje DE.

Elementas	Kapsuliavimo efektyvumas (EE), %	Kapsuliavimo stabilumas (ES), %	
		Po 14 dienų saugojimo	Po 30 dienų saugojimo
Antocianinai (pagal cy-3-galaktozidą)	96.56 $\pm$ 0.04a	96.22 $\pm$ 0.14b	95.98 $\pm$ 0.41b
Vitaminas C	76.63 $\pm$ 0.79a	75.63 $\pm$ 0.83ab	74.00 $\pm$ 0.81b
Vitaminas B9	75.00 $\pm$ 0.88a	50.00 $\pm$ 0.85b	45.00 $\pm$ 0.87c
Vitaminas B12	84.00 $\pm$ 2.12a	83.60 $\pm$ 1.98a	78.00 $\pm$ 2.08b
Vitaminas A	99.37 $\pm$ 5.93a	93.75 $\pm$ 6.19a	90.00 $\pm$ 7.32a
Vitaminas D3	98.52 $\pm$ 10.43a	69.57 $\pm$ 12.30b	78.26 $\pm$ 11.90b

Reikšmės yra trijų nepriklausomų mėginių vidurkis $\pm$ SD, mažosios raidės rodo reikšmingus ($p<0,05$) DE charakteristikų skirtumus laikymo metu.

DE skilimas virškinimo *in vitro* metu. Neužpildytų ir užpildytų DE lašelių dydžio pasiskirstymas ir mikrostruktūra skirtinguose virškinimo etapuose pateikta 1 pav. Neužpildytos ir užpildytos DE parodė tą patį dalelių dydžio pasiskirstymą virškinimo imitavimo taškuose. Lyginant skrandžio fazės mėginius, tarp neužpildytų ir užpildytų DE vidutinio aliejaus lašelių dydžio (d_{43}) reikšmingų skirtumų neužfiksuota. Pačioje dvylikapirštės žarnos virškinimo fazės pradžioje buvo pastebėti DE dalelių dydžio pasiskirstymo pokyčiai (D5). Įpilant dvylikapirštės žarnos skysčių, turinčių paviršiaus aktyviųjų medžiagų, tokių kaip lipazė, fosfolipidai ir tulžies druskos, atsirado didesnis lašelių pasiskirstymas. Dvylikapirštės žarnos fazės pabaigoje lašelių dydis dar labiau padidėjo ir neužpildytos emulsijos vidutinis dydis (d_{43}) buvo $146,77\pm 51,51 \mu\text{m}$, o užpildytos - $154,86\pm 19,74 \mu\text{m}$.

Paveiksle 1c pav. pateiktas užpildytos DE mikroskopinis vaizdas atskiruose virškinimo taškuose. Pradiniame taške matosi vandens lašeliai apsupti aliejaus faze, kuri pasiskirsčiusi išorinėje vandens fazėje. Skrandžio fazės pabaigoje (G120) vis dar galima matyti DE lašelius. Pavieniai aliejaus lašai su didesniais vidiniais vandens lašeliais buvo matomi iki dvylikapirštės žarnos virškinimo fazės pabaigos (D120).

Buvo atliktas baltymų ir lipidų hidrolizės tyrimas virškinimo *in vitro* metu, siekiant išsiaiškinti DE skilimo proceso poveikį hidrofilinių ir hidrofobinių bioaktyvių junginių išsiskyrimui iš skirtingų DE fazių. Rezultatai pateikti 3 lentelėje.

Lentelė 3. Baltymų ir riebalų hidrolizė *in-vitro* virškinimo skrandžio (G) ir žarnyno (D) fazėse.

Virškinimo fazė	Baltymų skilimo laipsnis (%)		Riebalų skilimo laipsnis (%)	
	Neužpildyta DE	Užpildyta DE	Neužpildyta DE	Užpildyta DE
G5	10.61 $\pm$ 1.39a	10.99 $\pm$ 0.74a	-	-
G60	12.80 $\pm$ 1.89a	15.16 $\pm$ 1.85a	-	-
G120	21.14 $\pm$ 1.47a	19.72 $\pm$ 1.01a	-	-
D5	52.21 $\pm$ 1.40b	49.99 $\pm$ 1.75b	9.0 $\pm$ 3.25a	7.2 $\pm$ 2.25a
D60	-	-	15.0 $\pm$ 4.86a	12.8 $\pm$ 2.98a
D90	-	-	46.0 $\pm$ 5.48a	41.2 $\pm$ 4.86a
D120	52.21 $\pm$ 1.68b	49.68 $\pm$ 1.45b	79.0 $\pm$ 6.54a	65.0 $\pm$ 5.24b

Vertės pateikiamos kaip vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis; mažosios raidės rodo reikšmingus ($p<0,05$) neužpildytų ir užpildytų DE charakteristikų skirtumus

Kaip ir tiriant DE fizikinių savybių pokyčius virškinimo metu, reikšmingų skirtumų tarp neužpildytų ir užpildytų DE proteolizės laipsnio nenustatyta. Baltymų hidrolizė prasidėjo iškart po to, kai į DE buvo įpilti skrandžio skysčiai (G5), ir palaipsniui didėjo iki 120 min. Žarnyno fazės (D5) pradžioje baltymų skaidymasis reikšmingai padidėjo, tačiau tolesnis inkubavimas su žarnyno skysčiais nebeturėjo įtakos proteolizės laipsniui. Neužpildytos ir užpildytos DE lipidų hidrolizės profiliai per pirmąsias dvylikapirštės žarnos fazės 60 minučių buvo panašūs. Tačiau tolesnis inkubavimas žarnyno sąlygomis parodė reikšmingus ($p < 0,05$) lipidų virškinimo skirtumus: užpildytos DE lipolizės laipsnis buvo mažesnis, kas rodo lėtesnę aliejaus lipolizę. Tai galima paaiškinti klamos skirtumu, nes esant klampesnei DE, lipazės prieiga prie aliejaus lašelių paviršiaus gali būti slopinama, todėl sulėtėja lipidų virškinimas.

Taip pat išmatuota bioaktyviųjų junginių, įterptų į skirtingas DE fazes, išsiskyrimo kinetika. Šie duomenys pateikti 2 paveiksle kaip atskiro bioaktyvaus junginio kiekio, rasto skystoje virškinimo fazėje, santykis su junginio kiekiu įterptu į DE. Dvylikapirštės žarnos fazės pabaigoje maždaug 100% vitaminų buvo atpalaiduoti. Tačiau skirtingų vitaminų išsiskyrimo kinetika virškinimo trakte skiriasi. Vitaminas C išsiskyrė labai greitai skrandžio sąlygomis; G120 taške buvo atpalaiduota 71,75% pridėto vitamino C. Žarnyno fazės pradžioje atpalaiduoto vitamino C kiekis buvo apie 98%. Vitaminų B9 ir B12 atpalaidavimas skrandžio stadijos pabaigoje buvo žymiai mažesnis: atitinkamai 37,5% ir 20%. Dvylikapirštės žarnos stadijos pradžioje, buvo atpalaiduota 75–80% šių vitaminų ir jų išsiskyrimas toliau didėjo. Vitaminų, įterptų į DE aliejinę fazę, virškinimo skrandyje metu atpalaiduota apie 70% vitamino D3 ir apie 50% vitamino A. Žarnyno fazėje šių vitaminų atpalaidavimas toliau didėjo. Galima pastebėti ryšį tarp struktūrinių DE pokyčių ir vitaminų išsiskyrimo imituojamo virškinimo proceso metu. Rezultatai rodo, kad DE struktūros skilimas buvo ribotas skrandžio fazėje ir sustiprėjo pridėjant dvylikapirštės žarnos skysčių. Cy-3-galaktozidas buvo pasirinktas kaip vyraujantis antocianinas aronijų išspaudų ekstrakto, todėl antocianinų išsiskyrimas buvo vertintas pagal šį junginį. Po 120 minučių inkubacijos su skrandžio skysčiais iš DE išsiskyrė 26,38% cy-3-galaktozido, pridėjus žarnyno skysčių iš vidinės DE vandens fazės išsiskyrė 46,95%. Tolesnis DE inkubavimas su dvylikapirštės žarnos skysčiais padėjo papildomai išlaisvinti cy-3-galaktozidą, tačiau visiškas cy-3-galaktozido išsiskyrimas iš DE po 120 minučių nebuvo pasiektas. Moksliniai tyrimai rodo, kad dvylikapirštės žarnos skysčiuose antocianinai skaidosi ilgiau dėl jų sąveikos su baltymais ir polifenoliais.

Rezultatai rodo, kad sukurta DE gali apriboti vitamino B9, vitamino B12 ir antocianinų išsiskyrimą skrandžio virškinimo stadijoje ir užtikrinti bendrą vitaminų

išsiskyrimą bei saikingą antocianinų išsiskyrimą dvylikapirštės žarnos virškinimo stadijoje.

Išvados. Šeši pagrindiniai pagyvenusiems žmonėms skirti bioaktyvieji junginiai įkapsuliuoti į skirtingas dvigubos emulsijos fazes: vidinėje vandens fazėje (V1) pridėta vitaminų B6, B12 ir C bei antocianinų turinčių juodųjų aronijų išspaudų ekstrakto, aliejinėje fazėje (A) - vitaminų A ir D3. Gravitacinio stabilumo, lašelių dydžio ir dvigubos emulsijos klampos tyrimai, bioaktyviųjų medžiagų kapsuliavimo efektyvumas ir kapsuliavimo stabilumas rodo gerą emulsijų stabilumą ir sėkmingą bioaktyviųjų junginių apsaugą nuo aplinkos veiksnių. Be to, užpildytos emulsijos virškinimas *in vitro* parodė ribotą struktūrinį skilimą skrandžio stadijoje ir intensyvesnį skaidymą, pridėjus dvylikapirštės žarnos skysčių. Tai paaiškina ribotą bioaktyviųjų medžiagų išsiskyrimą skrandžio fazėje ir beveik visišką išsiskyrimą dvylikapirštės žarnos fazės pabaigoje. Antocianinų atpalaidavimo kinetika išsiskyrė iš kitų bioaktyviųjų medžiagų. Dvylikapirštės žarnos fazės pabaigoje išsiskyrė tik 46,95% pridėto ekstrakto. Tokios dvigubų emulsijų, užpildytų pagyvenusiems žmonėms svarbiais bioaktyviais junginiais, savybės daro jas tinkamas naudoti senyvo amžiaus žmonėms.

DE išbandyta KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje ir LSMU Geriatrijos klinikoje, laboratorinėmis sąlygomis *in vitro*. Apibendrinti rezultatai:

- 1) DE pasižymėjo geru stabilumu (ne mažiau 93%), išorinėje vandens fazėje pasiskirsčiusiais aliejaus lašeliais, kurių dydis nuo 5 iki 300µm, didesne kaip 1750 mPas klampa (IV klasė pagal Nacionalinės Disfagijos Mitybos rekomendacijas), geru veikliųjų medžiagų įkapsuliavimo efektyvumu (ne mažiau kaip 97%) ir nereikšmingu šių rodiklių pokyčiu per 60 dienų laikymo periodą;
- 2) nustatytas sukurtos daugianarės emulsijos struktūros suirimas ir veikliųjų medžiagų atpalaidavimas į virškinamojo trakto sultis, imituojant sąlygas žmogaus virškinamajame trakte;
- 3) pavartojus sukurtos daugianarės emulsijos prototipą 10 d. senyvo amžiaus pacientų mitybos būklė pagerėjo – padidėjo žasto apimtis, pagreitėjo eisena, padidėjo vitamino B₁₂ koncentracija, vitamino D koncentracija turėjo tendenciją didėti.

Emulsijos vartojimas su kitais produktais. DE vienas vartojimo būdų yra vartoti sumaišius su kitais produktais. Pavyzdžiui, jogurtu, košėmis. Buvo išbandytas variantas, kai DE vartojama sumaišyta su padidinto baltymų kiekio jogurtu.

Produktų vartojimo patogumas buvo tiriamas geriatrinių pacientų tikslinėje grupėje. Grupė sudaryta iš Kauno klinikinės ligoninės Geriatrijos skyriaus pacientų. Atrankos kriterijai buvo: pažengusi disfagija, kuriai reikia enterinės mitybos, pažengusi demencija ar vėžys, inkstų, širdies, plaučių ar kepenų nepakankamumas. Geriatriniai pacientai įvertino padidinto baltymų kiekio jogurto tipo produktą. Daugumą pacientų tenkino sukurto produkto rijimo patogumas, tekstūra ir skonis. Visi pacientai valgydami jautėsi patogiai ir beveik visi liko patenkinti ryjamo kėsio formavimu. Tik vienas pacientas valgydamas patyrė skausmą. Vartotojai nemanė, kad produktas yra lipnus, tvirtas ar riebus. Jų manymu, maisto skonis nebuvo ypač aštrus. Pavartojus sukurtą maisto produktą 10 d. senyvo amžiaus pacientų mitybos būklė pagerėjo – padidėjo žasto apimtis, pagreitėjo eisena, padidėjo vitamino B₁₂ koncentracija, vitamino D koncentracija turėjo tendenciją didėti. Žasto apimtys pokytis buvo didesnis nei vartojant komercinį produktą. Visi tiriamieji puikiai toleravo produktą.

Bioaktyviomis medžiagomis užpildytos DE įmaišymas į padidinto baltymų kiekio jogurtą yra tinkama strategija gaminti senyvo amžiaus žmonėms maistinėmis medžiagomis pastiprintus maisto produktus. Toks produktas prisideda prie vyresnio amžiaus žmonių baltymų ir vitaminų poreikio patenkinimo, o jo sudėtyje nėra šiai vartotojų grupei ribojamų maistinių medžiagų pertekliaus. Geriatriniai pacientai apibūdino sukurtą produktą kaip „patogų“ dėl gero rijimo ir drėkinimo bei geros produkto tekstūros savybių. Įkapsuliuotų vitaminų stabilumas technologinio proceso metu ir 20 dienų laikymo metu rodo sėkmingą vitaminų apsaugą nuo aplinkos veiksnių. Virškinimo *in vitro* metu dvylikapirštės žarnos fazės pabaigoje užfiksuotas visiškas vitaminų išsiskyrimas (maždaug 100%), o visiškas polifenolių išsiskyrimas nebuvo pasiektas ir sudarė tik 13,96% viso antocianinų kiekio produktuose su užpildyta dviguba emulsija. Rezultatai parodė, kad bioaktyviosiomis medžiagomis užpildyta DE, yra tinkama priemonė stiprinti jogurto tipo produktus su dideliu baltymų kiekiu vitaminais, o uogų išspaudų ekstraktą geriau dėti neemulsuotoje formoje.

Gaminant emulsiją, jos sudėtis gali būti sudaroma bei koreguojama priklausomai ir nuo tuo metu priimtų mitybos normų, tai yra, maistinė sudėtis, mikroelementai ir jų kiekiai įtraukiami remiantis tų mikroelementų rekomenduojamomis dienos normomis (RDN).

NEPATENTINĖS LITERATŪROS SĄRAŠAS

- [1] M. Kheynoor, S.M.H. Hosseini, G.H. Yousefi, H.H. Gahruie, G.R. Mesbahi, Encapsulation of vitamin C in rebaudioside-sweetened model beverage using water in oil in water double emulsions, *LWT Food Sci. Technol.*, 2018, **96**, 419 – 425.
- [2] Ding, C.A. Serra, T.F. Vandamme, W. Yu, N. Anton, Double emulsions prepared by two-step emulsification: History, state-of-the-art and perspective, *J. Control Release.*, 2019, **295**, 31 – 49.
- [3] American Dietetic Association, National Dysphagia Diet -Standardization for optimal care, *NDDTF*, 2002, 47.
- [4] L. Sura, A. Madhavan, G. Carnaby, M.A. Crary, Dysphagia in the elderly: management and nutritional considerations, *Clin. Interv. Aging*, 2012, **7**, 287 – 298.
- [5] P. Gharehbegloua, S.M. Jafaria, A. Homayounib, H. Hamishekarc, H. Mirzaeia, Fabrication of double W1/O/W2 nano-emulsions loaded with oleuropein in the internal phase (W1) and evaluation of their release rate, *Food Hydrocoll.*, 2019, **89**, 44 – 55.
- [6] M. Matos, G. Gutiérrez, L. Martínez-Rey, O. Iglesias, C. Pazos, Encapsulation of resveratrol using food-grade concentrated double emulsions: Emulsion characterization and rheological behaviour, *J. Food Eng.*, 2018, **226**, 73 – 81.
- [7] N.P. Aditya , S. Aditya , H. Yang , H.W. Kim , S.O. Park , S. Ko, Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion, *Food Chem.*, 2015, **173**, 7 – 13.
- [8] H. Carrillo-Navas, J. Cruz-Olivares, V. Varela-Guerrero, L. Alamilla-Beltrán, E.J. Vernon- Carter, C. Pérez-Alonso, Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer-protein blends, *Carbohydr. Polym.*, 2012, **87**, 1231 – 1235.
- [9] M. Matos, G. Gutiérrez, O. Iglesias, J. Coca, C. Pazos, Enhancing encapsulation efficiency of food-grade double emulsions containing resveratrol or vitamin B12 by membrane emulsification, *J. Food Eng.*, 2015, **166**, 212 – 220.
- [10] V. Eisinaite, D. Juraite, K. Schroën, D. Leskauskaite, Preparation of stable food-grade double emulsions with a hybrid premix membrane emulsification system, *Food Chem.*, 2016, **206**, 59 – 66.

- [11] H.J. Giroux, S. Constantineau, P. Fustier, C.P. Champagne, D. St-Gelais, M. Lacroix, M. Britten, Cheese fortification using water-in-oil-in-water double emulsions as carrier for water soluble nutrients, *Int. Dairy, J.*, 2013, **29**, 107 – 114.
- [12] J. Andrade, M. Corredig, Vitamin D3 and phytosterols affect the properties of polyglycerol poliricinoleate (PGPR) and protein interfaces, *Food Hydrocoll.*, 2016, **54**, 278 – 283.
- [13] Y. Huang, W. Zhou, Microencapsulation of anthocyanins through two-step emulsification and release characteristics during in vitro digestion, *Food Chem.*, 2019, **278**, 357 – 363.
- [14] M. Kaimainen, S. Marze, E. Järvenpää, M. Anton, R. Huopalahti, Encapsulation of betalain into w/o/w double emulsion and release during in vitro intestinal lipid digestion, *LWT – Food Sci. Technol.*, 2015, 60, 899 – 904.

APIBRĖŽTIS

1. Maistinė emulsija su tekstūra, kurios klampumas nuo 1000 iki 1500 mPas, matuojant 50 per sekundę šlyties greičiu 25 °C temperatūroje, prisotinta maistinėmis ir bioaktyviomis medžiagomis, susidedanti mažiausiai iš:

- „vanduo-aliejus-vanduo“ (VAV) struktūros emulsinio pagrindo, sudaryto iš vidinės vandens fazės (V1), aliejaus fazės (A) bei išorinės vandens fazės (V2), ir

- į šį emulsinį pagrindą įterptų maistinių ir bioaktyvių medžiagų komponentų,

b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėto VAV emulsinio pagrindo

išorinė vandens (V2) fazė užpildyta baltyminiais komponentais,

aliejaus fazė (A) užpildyta lipofiliniais komponentais,

vidinė vandens (V1) fazė užpildyta angliavandeniais ir bio-aktyviomis medžiagomis.

2. Emulsija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad išorinės vandens fazės (V2) baltymai yra pieno baltymai.

3. Emulsija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad aliejaus (A) fazėje maistinės medžiagos yra nesotieji lipidai, lipofiliniai vitaminai D ir A.

4. Emulsija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad vidinės vandens (V1) fazės medžiagos apima polifenolius, vitaminus C, B9 ir B12, Zn, Se, uogų ekstraktus.

5. Emulsija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad vidinė vandens (V1) fazė apima mažiausiai šiuos angliavandenius: sacharozę, pieno angliavandenius.

6. Emulsija pagal punktus 1-5, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad tinkamiausiame jos variante yra:

V1 fazėje - aronijų išspaudų ekstrakto, vitamino C, vitamino B9, vitamino B12; Zn, Se;

A fazėje - rapsų aliejaus, vitamino A, vitamino D3;

V2 fazėje - pieno baltymų, o maistinė sudėtis:

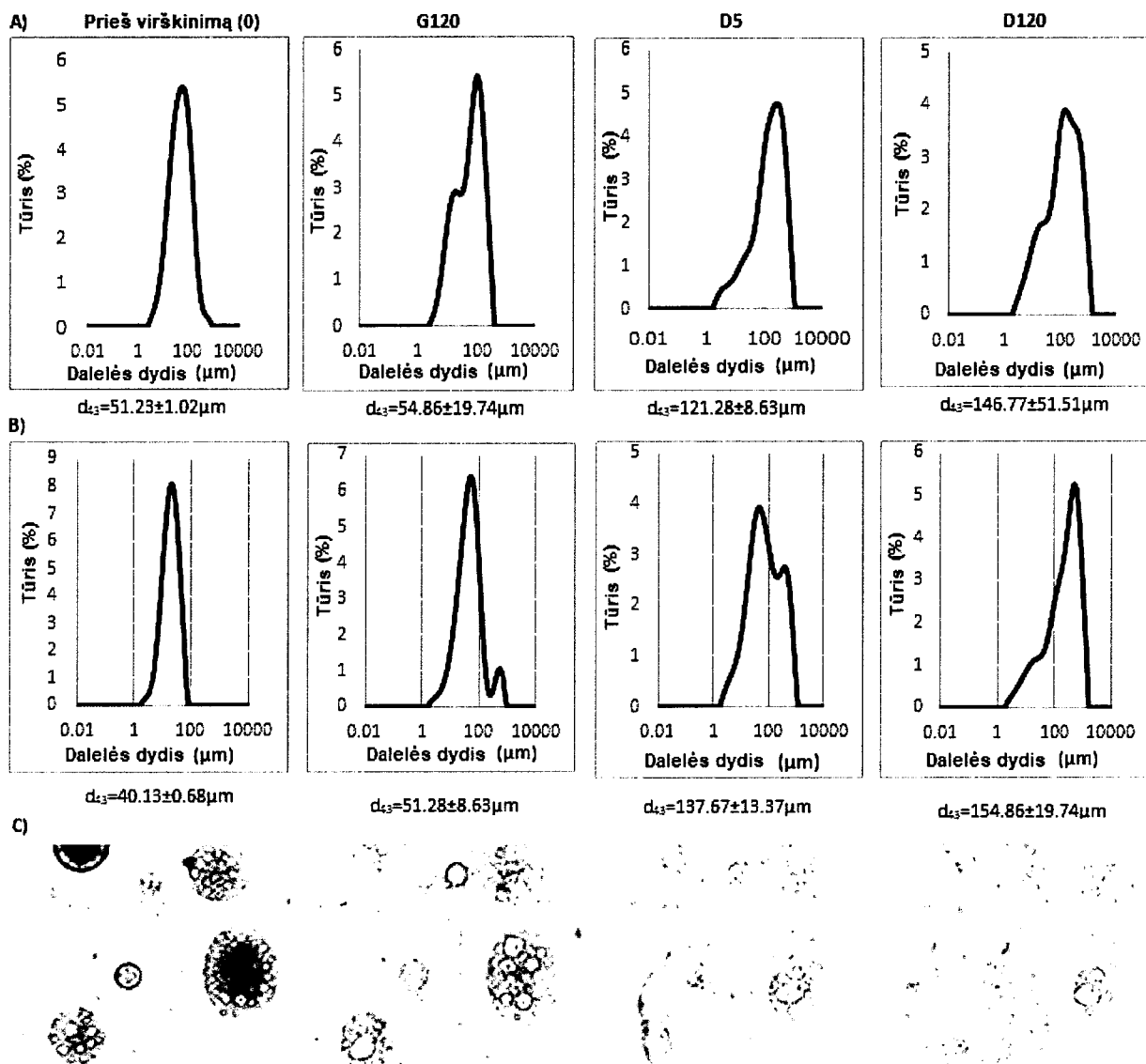
pieno baltymų – 12g/100g;

riebalų – 33g/100g;

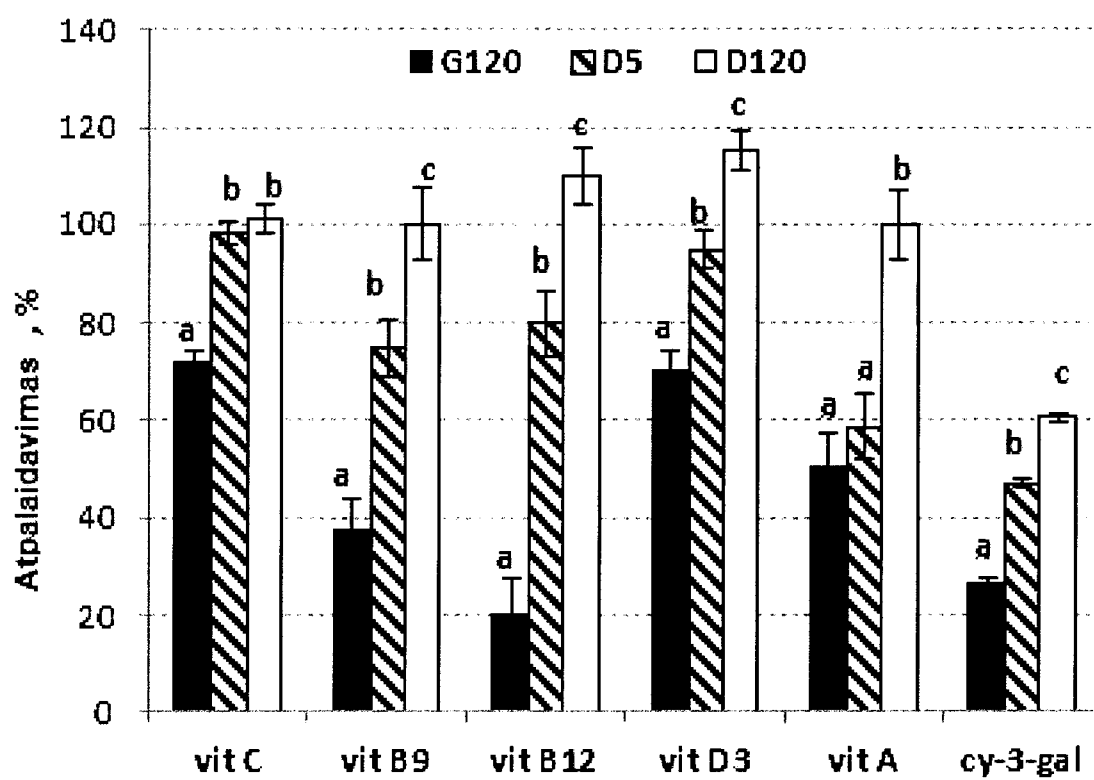
aronijų išspaudų ekstrakto – 2g/100g;

vitaminų ir mikroelementų: A – 400µg/100g, D3 – 40µg/100g, C - 40mg/100g, B12 - 2000 µg/100g, B9 - 1600 µg/100g, cinko - 28mg/100g, seleno - 120µg/100g.

7. Emulsija pagal punktus 1-6, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad palaiko kontroliuojamai laipsnišką joje esančių maistinių ir bioaktyvių medžiagų atpalaidavimą, nustatytą virškinimo imitavimo metodu, atliekamu *in vitro* sąlygomis.
8. Emulsija pagal punktus 1-7, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad vartojama sumaišyta su padidinto baltymų kiekio jogurtu, sumaišius 25 masės dalis emulsijos su 75 masės dalimis padidinto baltymų kiekio jogurto.
9. Emulsija pagal punktus 1-7, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad vartojama kaip sudėtinė dalis karštuose ir šaltuose patiekaluose, tokiuose kaip košės, įmaišius nuo 1 iki 2 masės dalių emulsijos į 20 masės dalių pagrindinio patiekalo.
10. Emulsija pagal punktus 1-7, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad maistinė sudėtis, klampumas ir struktūra subalansuoti vyresnio amžiaus žmonėms ir ryjimo sutrikimų turintiems pacientams.



1 pav.



2 pav.