

MBFSt-Kennziffer 3610:
**Erhöhung der physikalischen und chemischen Stabilität von
Emulsionen durch Einsatz ferulasäurereicher Zuckerrübenpektine
als Hydrokolloid-Emulgatoren**

*Dr.-Ing. Ulrike S. van der Schaaf, Karlsruher Institut für Technologie/Institut für Bio- und
Lebensmitteltechnik, Teilinstitut I: Lebensmittelverfahrenstechnik, Karlsruhe*

Abstract

Im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens wurde der Einfluss von Ferulagruppen in Pektinen auf die physikalische und chemische Stabilität von Emulsionen untersucht. Dazu wurden Zuckerrübenpektine mit unterschiedlichem Ferulasäuregehalt als Emulgatoren eingesetzt. Die Tropfengrößenverteilungen der pektinstabilisierten Emulsionen sprechen tendenziell für eine Beteiligung der Ferulagruppen an der Emulgierwirkung von Pektinen. Zusätzlich wurde eine Verbesserung der Langzeitstabilität von Emulsionen durch enzymatische Vernetzung der Pektine über Ferulagruppen untersucht. Bei den angewandten Versuchsbedingungen konnte eine Verbesserung jedoch nicht nachgewiesen werden.

Einleitung

Im Bereich der Lebensmittel sind sehr viele der eingesetzten Emulgatoren polymerbasiert. Aufgrund ihrer natürlichen Herkunft sind Biopolymere geeignet, um bei der stetig steigenden Nachfrage nach Produkten mit ausschließlich natürlichen Rohstoffen zum Einsatz zu kommen. Beliebte Polymere, die in der Lebensmittelindustrie ihre Anwendung finden, sind Pektine unterschiedlichen Ursprungs. Zuckerrübenpektine (SBP) sind pflanzliche Polysaccharide, die in verschiedenen emulsionsbasierten Lebensmitteln bereits als Stabilisator und Emulgator eingesetzt werden. Die grenzflächenaktive Wirkung beruht dabei hauptsächlich auf dem kovalent gebundenen Proteinanteil, der bei SBP mit ca. 5 % im Vergleich zu Pektinen anderen Ursprungs wie Apfel- oder Citruspektine (ca. 1 % bzw. 3 %) deutlich höher ist (Schmidt et al. 2015). Darüber hinaus besitzt SBP weitere funktionelle Gruppen, wobei die Ferulagruppen im Fokus dieses Projektes standen. In der Literatur ist beschrieben, dass Pektine mit hohem Ferulasäuregehalt vermehrt an die Phasengrenzfläche adsorbieren (Siew und Williams 2008). Der Einfluss von Ferulagruppen auf die emulsionsstabilisierenden Eigenschaften von SBP wurde bisher jedoch nicht genauer betrachtet.

Zeeb et al. konnten zudem zeigen, dass eine enzymatische Vernetzung dieser funktionellen Gruppen zwischen einzelnen Pektinmolekülen genutzt werden kann, um die Emulsionsstabilität zu erhöhen. Dabei wurde jedoch ein zweiter Emulgator benötigt und ein

sehr geringer Dispersphasenanteil zur Emulsionsherstellung eingesetzt (Zeeb et al. 2012). Ziel dieses Projektes war es daher, höher konzentrierte Emulsionen ausschließlich mit Zuckerrübenpektin zu stabilisieren, wobei die Emulsionsstabilität durch eine enzymatische Vernetzung, der an der Öltropfengrenzfläche adsorbierten Pektinmoleküle, erhöht werden sollte. Der Einfluss von Ferulagruppen auf die emulgierenden und emulsionsstabilisierenden Eigenschaften wurde zudem durch den Vergleich von SBPs mit unterschiedlichem Ferulasäuregehalt untersucht. Zusätzlich könnten Ferulagruppen als Radikalfänger für reaktive Radikale dienen. Dadurch könnte die Fettoxidation verlangsamt und der Abbau sensitiver, öllöslicher Substanzen wie z.B. Vitamine reduziert werden (Katsuda et al. 2008). Neben der physikalischen Stabilität wurde daher zusätzlich die chemische Stabilität der Emulsionen betrachtet.

Ergebnisse und Diskussion

Um den Einfluss von Ferulagruppen auf die emulgierenden und emulsionsstabilisierenden Eigenschaften zu untersuchen, wurde das SBP zunächst enzymatisch mittels *Feruloyl Esterase* behandelt. So konnte in den Versuchen ein Referenzpektin eingesetzt werden, das sich ausschließlich im Ferulasäuregehalt und dem entsprechend verringerten Molekulargewicht vom Ursprungspektin unterscheidet. Die Abnahme des Ferulasäuregehalts konnte mittels NMR-Spektroskopie und UV/VIS-Spektroskopie nachgewiesen werden.

Um die Emulgierwirkung von SBP vor und nach der Abspaltung von Ferulagruppen zu untersuchen, wurden Emulsionen mit gleichem SBP-Anteil unter identischen Prozessbedingungen (0,5 % w/w SBP, 10 % bzw. 30 % Rapsöl, 400 bar im *Microfluidizer*®) hergestellt und die Tropfengrößenverteilungen (TGV) verglichen.

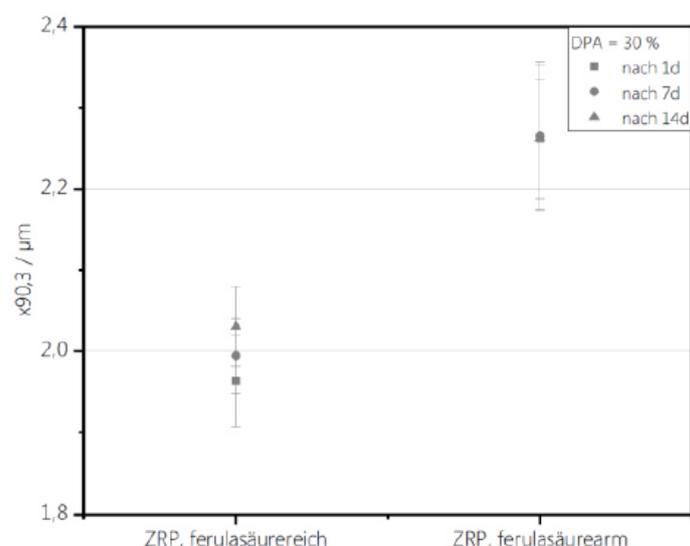


Abbildung 1: Charakteristische Tropfengröße $x_{90,3}$ von Emulsionen mit 30 % Dispersphasenanteil (DPA) nach 1, 7 und 14 Tagen. Als Emulgator wurde 0,5 % w/w Zuckerrübenpektin vor (ZRP, ferulasäurereich) und nach Abspaltung von Ferulagruppen (ZRP, ferulasäurearm) eingesetzt. Zur Herstellung wurde eine Microfluidizer bei einem Druck von 400 bar eingesetzt.

Abbildung 1 zeigt die charakteristische Tropfengröße $x_{90,3}$ der Emulsionen, die mit dem Pektin vor der Abspaltung (ferulasäurereich) und dem Pektin nach der Abspaltung von Ferulagruppen (ferulasäurearm) hergestellt wurden.

Der geringere $x_{90,3}$ des ferulasäurereichen Pektins deutet darauf hin, dass die Ferulasäuren an der verbesserten Emulgierwirkung beteiligt sind. Da ferulasäurearmes Pektin aufgrund seines geringeren Molekulargewichts während des Emulgierprozesses schneller an die Phasengrenzfläche gelangt und daher kleinere Tropfen stabilisieren müsste (Schmidt et al. 2017) verdeutlicht den Einfluss der Ferulagruppen auf die Tropfengrößenverteilung.

Durch Zugabe von *Laccase C* in die Pektinlösungen konnten die SBPs über Ferulagruppen miteinander vernetzt werden. Dies zeigen die Ergebnisse der rheologischen und spektrophotometrischen Messungen in *Abbildung 2*.

Nach Enzymzugabe kommt es zu einer starken Erhöhung des Speichermoduls G' . Nach ca. 10 Minuten übertrifft er den Verlustmodul G'' , was auf eine Zunahme der elastischen Eigenschaften zurückzuführen ist. Ohne Enzymzugabe hingegen kommt es zu keiner Änderung der Module über die Zeit. Dies könnte auf die Verknüpfung der Pektine durch Zugabe der Enzyme hinweisen.

Mittels UV/VIS-Spektroskopie wurde der zeitliche Verlauf der Absorption der Pektinlösung bei einer Wellenlänge von 325 nm aufgenommen. Bei 325 nm besitzen Ferulagruppen ihr Absorptionsmaximum, welches durch die enzymatische Vernetzung nach der Zugabe des Enzyms sinkt. Die Abnahme der Extinktion wird mit zunehmender Zeit geringer. Die Verknüpfung der Pektine findet demnach überwiegend in den ersten Minuten nach der Enzymzugabe statt.

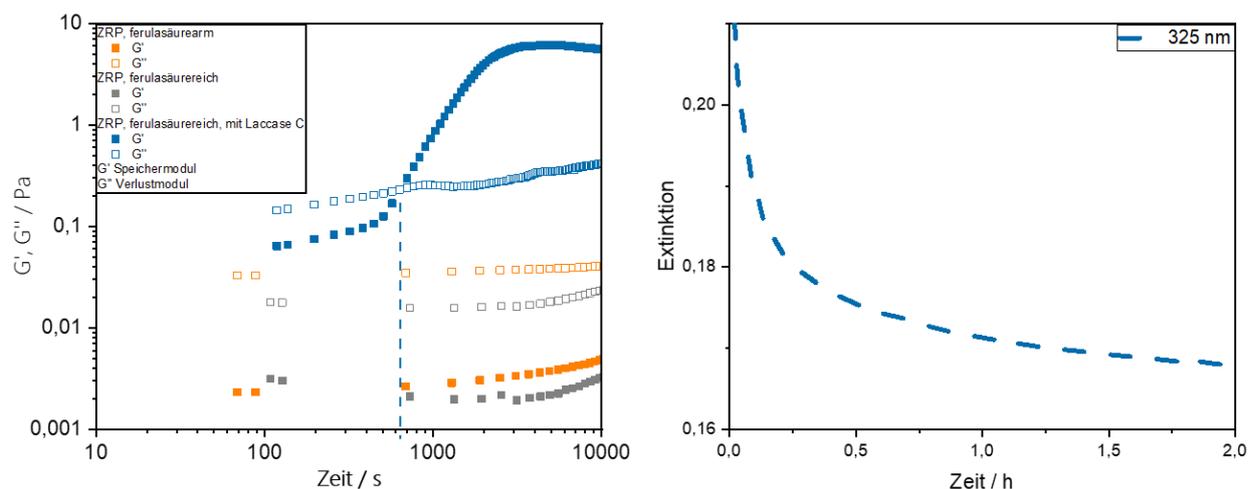


Abbildung 2: Hinweise der enzymatischen Vernetzung von SBP mittels *Laccase* via Ferulagruppen. Die Untersuchung erfolgte nach *Laccase*-Zugabe durch rheologische Messungen von Speicher- und Verlustmodul (links) sowie spektrophotometrischer Analysen des zeitlichen Extinktionsverlaufs bei 325 nm (rechts).

Um einen möglichen Einfluss der Vernetzung auf die Langzeitstabilität der Emulsionen zu untersuchen, wurden Emulsionen (1 % w/w SBP, 10 % Rapsöl, 400 bar) mit und ohne

Enzymzusatz (8 mg Laccase/g SBP) zur kontinuierlichen Phase hergestellt. *Abbildung 3* zeigt die charakteristische Tropfengröße $x_{90,3}$ der Emulsionen nach 1, 9 und 15 Tagen. Die geringere Tropfengröße der Emulsionen mit Enzymzugabe deuten auf eine Verbesserung der Langzeitstabilität durch Vernetzung der SBPs hin. Dies kann auf eine erhöhte Grenzflächenelastizität zurückgeführt werden, die der Koaleszenz entgegenwirkt und so die physikalische Stabilität erhöht.

Es wurde zudem untersucht, ob es durch geschickte Prozessführung mit der SHM (Simultanes Homogenisieren und Mischen)-Technologie, durch Zudosierung einer Enzymlösung in die Mikromischereinheit während des Homogenisationsprozesses möglich ist, eine Interaktion der Öltröpfchen bei der Ferulasäurevernetzung zu vermeiden, sodass eine Gelbildung nur an der Grenzfläche und nur nach Tropfenaufbruch stattfindet. Es wurde eine signifikante Reduktion der Tropfengröße $x_{90,3}$ sowohl nach der Herstellung als auch nach mehreren Tagen und damit eine verbesserte Kurz- und Langzeitstabilität erwartet; die so hergestellten Emulsionen zeigten nach Enzymzugabe zwar eine geringfügige Reduktion des $x_{90,3}$, eine signifikante Verbesserung der Langzeitstabilität (nach 15 Tagen) gegenüber den hergestellten Emulsionen ohne Laccase-Einsatz konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

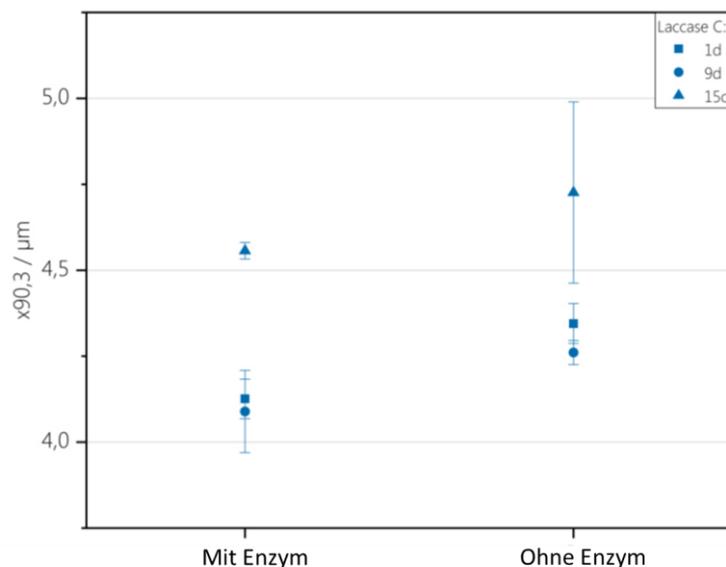


Abbildung 3: Charakteristische Tropfengröße $x_{90,3}$ von Emulsionen mit 1 % w/w SBP und 10 % Rapsöl nach 1, 9 und 15 Tagen. Die kontinuierlichen Phasen wurden mit (links) und ohne (rechts) Laccase-Zusatz (8 mg/g SBP) hergestellt. Der Emulgierprozess erfolgte mit einer Maximatorpumpe bei 400 bar.

Die chemische Stabilität von emulgiertem Fischöl nach 5 Wochen Lagerzeit wurde mittels Festphasenmikroextraktion und Gaschromatographie (SPME-GC) untersucht. Als Marker für den oxidativen Verderb wurde das sekundäre Oxidationsprodukt Hexanal herangezogen. Die bestimmten Konzentrationen waren jedoch zu gering für eine Quantifizierung. D.h., unabhängig von der Vernetzung und dem Ferulasäuregehalt konnte mit dieser Methode kein Fettverderb in SBP stabilisierten Fischölemulsionen nachgewiesen werden. Dies sollte in

Zukunft durch die Untersuchung weiterer Fettverderbsmarker, wie dem Propanalgehalt, der Anisidin- oder der Peroxidzahl bestimmt werden.

Literaturverzeichnis

Katsuda, Marly S.; McClements, D. J.; Miglioranza, Lucia H. S.; Decker, Eric A. (2008): Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with beta-lactoglobulin and pectin. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 56 (14), S. 5926–5931. DOI: 10.1021/jf800574s.

Schmidt, U. S.; Schmidt, K.; Kurz, T.; Endreß, H.-U.; Schuchmann, H. P. (2015): Pectins of different origin and their performance in forming and stabilizing oil-in-water-emulsions. In: *Food Hydrocolloids* 46, S. 59–66. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.012.

Schmidt, U. S.; Schütz, L.; Schuchmann, H. P. (2017): Interfacial and emulsifying properties of citrus pectin: Interaction of pH, ionic strength and degree of esterification. In: *Food Hydrocolloids* 62, S. 288–298. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.016.

Siew, Chee Kiong; Williams, Peter A. (2008): Role of protein and ferulic acid in the emulsification properties of sugar beet pectin. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 56 (11), S. 4164–4171. DOI: 10.1021/jf073358o.

Zeeb, Benjamin; Gibis, Monika; Fischer, Lutz; Weiss, Jochen (2012): Crosslinking of interfacial layers in multilayered oil-in-water emulsions using laccase. Characterization and pH-stability. In: *Food Hydrocolloids* 27 (1), S. 126–136. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.08.005.