

Afslutningsrapport

Mælkephospholipiders ernæringsmæssige betydning

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 2003-54

Juni 2003



mejeriforeningen

danish dairy board

Mælkephospholipiders ernæringsmæssige betydning

Maj 2000 – Marts 2003

Afslutningsrapport

Projektdeltagere:

Professor, lic. tech. Carl-Erik Høy, BioCentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU

Civilingeniør Pia Lund, BioCentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU

Professor Brittmarie Sandström, Institut for Human Ernæring, KVL

Lektor, Ph.D. Tine Tholstrup, Institut for Human Ernæring, KVL

Finansiering:

FØTEK 3, Direktoratet for FødevareErhverv

Mejeribrugets ForskningsFond

Sammendrag

Mælkephospholipider er en lille, men vigtig fraktion af mælkefedt, som antages at have positive ernæringsmæssige egenskaber, f.eks. ved at ændre emulsionsdannelsen i tarmen og herved mindske optagelsen af kolesterol. For at undersøge dette blev der udført et rotteforsøg samt et human måltidsforsøg.

Tre fraktioner af mælkephospholipider blev isoleret fra et vallefedt produkt. Fordelingen af phospholipidklasser i de tre fraktioner var forskellige og dermed også fedtsyresammensætningen.

Formålet med dyreforsøgene var at undersøge effekten af de isolerede mælkephospholipid fraktioner på absorptionen af kolesterol og indflydelsen på fedtsyresammensætningen i forskellige organer.

I fodringsforsøget fik rotterne 3% phospholipid i foderet, og som reference blev der fodret med soja lecithin.

Fodring med mælkephospholipider medførte ingen ændring i kolesterol og triglycerid niveau i plasma. Phospholipid niveauet i plasma hos de rotter, der blev fodret med meget phosphatidylethanolamin var højere sammenlignet med de øvrige grupper. Fedtsyresammensætningen i phospholipiderne udviste kun små forskelle, dog var der et øget indhold af fedtsyren C23:0 i sphingomyelin i plasma hos de grupper, der havde fået mælkephospholipid i foderet.

Der blev kun fundet mindre forskelle i fedtsyresammensætningen i enterocytter og i lever.

Et planlagt lymfefsøg, hvor absorptionen af ^{13}C -mærket kolesterol efter indgivelse af mælkephospholipid skulle måles blev desværre kun delvist gennemført. Sammensætning af emulsioner til forsøget, mængde af ^{13}C -mærket kolesterol samt analysemetoder blev optimeret.

Formålet med human forsøget var at undersøge virkningen af mælkephospholipid på risikomarkører for udvikling af hjertekarsygdomme i den postprandiale fase, med særligt fokus på absorption af kolesterol fra kosten og omsætning af lipoproteiner (deres sammensætning af triglycerid, kolesterol, phospholipid), samt indflydelse på menneskers appetit og mæthed.

Design: Studiet var et enkelt blindet randomiseret måltidsforsøg med overkrydsning, der deltog 18 forsøgspersoner. Alle deltog i måling af appetit og 12 fik desuden taget blodprøver. Disse 12 forsøgspersoner indtog 2 testmåltider tilsat 45 mg ^{13}C -mærket kolesterol, et med og et uden phospholipider. På 1. interventionsdag blev der taget blodprøver før testmåltidet og postprandialt til tiderne 30, 60, 120, 240, 360 og 480 min, på 2. dag en fastprøve og en postprandial blodprøve til tiden 240 min. Koncentrationen af triglycerid, kolesterol og phospholipid i plasma og i lipoproteinerne blev bestemt. Desuden blev indholdet af insulin, glukose, FVII-bt, størrelsesfordelingen af chylomicroner og mængden af absorberet ^{13}C -kolesterol bestemt i plasma.

Resultater: Indtagelse af mælkephospholipid resulterede i en lavere triglycerid koncentration i plasma, i chylomikron-, VLDL-, LDL- og i HDL-fraktionen ($P < 0.02$). Yderligere resulterede phospholipid i en lavere kolesterol koncentration ($P = 0.03$) og phospholipid koncentration ($P < 0.01$) i chylomikronfraktionen i forhold til kontrolmåltidet. Med hensyn til de andre parametre fandt vi, at phospholipid resulterede i et lavere FVII-koagulationsaktivitets respons ($P < 0.02$), i en mindre partikel-størrelse samt i en nedsat kolesterolabsorption efter 24 og 28 timer i forhold til kontrolmåltid. Vi fandt ingen virkning på glukose- og insulinresponsen efter indtagelse af phospholipid. Der var ingen forskel mellem måltiderne på forsøgspersonernes appetit.

Konklusion: Ud fra vores resultater konkluderer vi, at koncentrationen af den tilsatte mængde mælkephospholipid påvirker postprandial blodlipid gunstigt. Dog må vi konkludere, at flere undersøgelser angående dets indtagelse samt anvendelse som sundhedsfremmede produkt er nødvendigt før en endelig anbefaling kan foreligge.

Der blev givet en ekstrabevilling til undersøgelse af mælkephospholipiders funktionelle egenskaber. Resultaterne er beskrevet i en separat rapport, der er vedlagt som bilag.

Professor, lic. tech. Carl-Erik Høy, BioCentrum-DTU, Biokemi og Ernæring, DTU og Professor Brittmarie Sandström, Institut for Human Ernæring, KVL har deltaget i projektets planlægning og gennemførelse. Begge er desværre afgået ved døden under projektets gennemførelse.

Resumé

Phospholipids are a small but important fraction in milk, and it is assumed that it has positive nutritional effect by lowering the absorption of cholesterol. To verify the nutritional value of milk phospholipids a rat and a human feeding experiment was performed.

Three fractions of milk phospholipids were isolated from a whey fat product. The distribution of phospholipid classes in the fractions and thereby the fatty acid composition was different.

The objective of the animal experiments was to investigate the effect of the isolated fraction of milk phospholipids on the absorption of cholesterol and the influence on the fatty acid composition of different organs.

The rats were fed 3 % phospholipid and as reference soy lecithin was used. No influence of feeding milk phospholipids was observed on the level of cholesterol and triglyceride in rat plasma. After feeding milk phospholipid with high content of phosphatidylethanolamine a higher level of phospholipid in the plasma was observed compared to the other groups. A higher content of C23:0 in plasma sphingomyelin after feeding milk phospholipids were found. Only minor changes in the fatty acid composition of plasma, enterocytes and liver were observed.

A planned lymph experiment to determine the absorption of ^{13}C -cholesterol was unfortunately only partly accomplished. Analytical and composition of emulsions were optimised.

The objective was to investigate the effect of oral milk phospholipid intake and its effect on risk factors of atherosclerosis in the postprandial phase with a special focus on the absorption of cholesterol from the diet, metabolism of lipoproteins (their composition of triglyceride, cholesterol, phospholipids), and their effects on the human appetite.

Design: The study was a randomised cross-over study with 18 healthy young men. Twelve of the subjects participated with blood samples and they got two meals contained 45 mg ^{13}C -cholesterol, one meal with dietary phospholipids and one meal without. On day 1 a blood sample was taken before the meal, followed by 6 postprandial blood samples at the time points 30, 60, 120, 240, 360 and 480 minutes after the test meal. The day after the treatment, day 2, the subjects came in the morning and blood samples were taken before breakfast was served, followed by one blood sample at the time +240 minutes. The blood samples were analysed for the concentration of triglyceride, cholesterol, phospholipid (both in plasma and lipoproteins), insulin, glucose, FVII-bt, particle size of chylomicrons, polydispersion and absorbed ^{13}C -cholesterol.

Results: Dietary phospholipid decreased the concentration of triglycerides in plasma chylomicron-, VLDL-, LDL- and in HDL fractions ($P < 0.02$). Dietary phospholipids also decreased the concentration of cholesterol in the fractions of chylomicrons ($P = 0.03$), and the response to factor VIIbt ($P < 0.02$), resulted in smaller particle sizes of chylomicrons, in decreased cholesterol absorption after 24 and 28 hours. But no effect in glucose- or insulin concentration after dietary phospholipid was found. The phospholipids had no effect on the VAS-scores.

Conclusion: From the results we conclude that the high concentration of milk phospholipids, play an important part in the positive effects that we observed in the blood samples. However, more studies have to be performed before supplementation in regard milk phospholipids can be recommended.

In parallel with the present project MFF has financed experiments investigating the functional properties of milk phospholipids. The results are published in a separate report that is enclosed as appendix.

Professor, lic. tech. Carl-Erik Høy, BioCentrum-DTU, Biochemistry and Nutrition Group, DTU and Professor Brittmarie Sandström, Department of Human Nutrition, KVL also participated in planning and implementation of the project. Both have unfortunately passed away before the end of the project.

Baggrund

Phospholipider er en gruppe af fedtstoffer, der findes i alle membraner. Mælk er opbygget af partikler, omgivet af en membran bestående af phospholipid. Mælkephospholipider antages at have positive ernæringsmæssige egenskaber, f.eks. ved at ændre emulsionsdannelsen i tarmen og herved mindske optagelsen af kolesterol.

I levnedsmiddelindustrien kan phospholipider anvendes som emulgatorer. I dag anvendes typisk phospholipid fra soja; men da det fremover kan være vanskeligt at sikre at soja phospholipid ikke er genmodificeret, vil der måske være et marked for mælkephospholipider. Hvis det yderligere kan dokumenteres, at mælkephospholipider har positive ernæringsmæssige og gode funktionelle egenskaber vil dette bidrage til at skabe grundlag for et marked for anvendelse af ingredienser med øget indhold af mælkephospholipider.

Formål

Projektet havde til formål at identificere og dokumentere positive ernæringsmæssige effekter af mælkephospholipider. For at undersøge dette blev der udført et rotteforsøg samt et human måltids forsøg.

Resultater

Isolering af mælkephospholipider

Mælkefedt indeholder kun meget lidt phospholipid ca. 0,5 vægt %. Hovedparten af mælkephospholipiderne udgøres af phosphatidylcholin (PC), phosphatidylethanolamin (PE) og sphingomyelin (SPH), derudover forekommer små mængder af phosphatidylserin (PS) og phosphatidylinositol (PI). Fedtsyrefordelingen i de enkelte phospholipidklasser er forskellig, sphingomyelin (SPH) indeholder næsten udelukkende mættede fedtsyrer; mens phosphatidylethanolamin (PE) indeholder flere umættede fedtsyrer, dog stadig et relativt lavt indhold sammenlignet med mange vegetabiliske olier.

Da større mængder mælkephospholipid ikke var tilgængelige var det nødvendigt først at isolere mælkephospholipiderne fra et udgangsprodukt med et relativt stort indhold af mælkephospholipider. Som udgangsprodukt blev anvendt et vallefedt produkt.

Ved ekstraktion har et tysk firma (Paninkret GmbH, D-25364 Westerhorn) isoleret tre mælkephospholipid fraktioner fra vallefedt produktet. Desværre var de ikke særlig meddelsomme omkring proceduren.

Fordelingen af de enkelte phospholipidklasser i de tre mælkephospholipid fraktioner var forskellig. Fraktion 1 indeholdt meget sphingomyelin og lige dele phosphatidylethanolamin og phosphatidylcholin, mens fraktion 2 indeholdt meget phosphatidylethanolamin og lige dele sphingomyelin, phosphatidylcholin og phosphatidylinositol. Fraktion 3, der vægtmæssigt var den mindste fraktion, indeholdt lige dele sphingomyelin og phosphatidylethanolamin og lidt mindre phosphatidylcholin. Fedtsyresammensætningen af de enkelte fraktioner afspejler forskellen i fordelingen af phospholipidklasser, idet fraktion 1 har et stort indhold af mættede fedtsyrer; mens fraktion 2 og 3 har et lavere indhold af mættede fedtsyrer og et tilsvarende højere indhold af mono- og polyumættede fedtsyrer. Sammensætningen af fraktionerne er angivet i Figur 1.

Resultater fra dyreforsøg

Formålet med rottefodringsforsøget var at undersøge effekten af de isolerede mælkephospholipid fraktioner på absorptionen af kolesterol og indflydelsen på fedtsyresammensætningen i forskellige organer. Forsøget omfattede fem grupper rotter: tre grupper, der fik de tre forskellige mælkephospholipid fraktioner, en gruppe, der fik en blanding af de tre (svarende til sammensætningen af total mælkephospholipid) og en reference gruppe fik tilsvarende mængde soja lecithin. Alle rotter fik 3% phospholipid i foderet.

Der blev ikke fundet forskel i kolesterol og triglycerid niveauet i plasma efter fodring med mælkephospholipid og niveauet var som efter fodring med soja lecithin. Fodring med fraktion 2 resulterede i et øget indhold af phospholipid i plasma (Figur 2).

Fedtsyresammensætningen i plasma phospholipid udviste kun små forskelle. Der var ikke forskel i mængden af SPH i plasma hos de fem grupper; men fedtsyresammensætningen afspejlede kostens fedtsyresammensætning. Fedtsyren C23:0 som er karakteristisk for mælke sphingomyelin optages og afspejles i sammensætningen af plasma SPH (Tabel 1).

Enterocytter (tarmceller) fra rotterne blev isoleret for at se, om der skete en ændring i fedtsyresammensætningen efter fodring med mælkephospholipid, der kunne påvirke absorptionen af kolesterol. Fedtsyresammensætningen i enterocytterne udviste små forskelle efter fodring med mælkephospholipid. Foderets sammensætning afspejledes i nogen grad. Således var der et øget indhold af oliesyre (18:1n-9) og linolsyre (18:2 n-6) i phospholipid fra gruppe 3, der havde fået lige dele SPH, PC og PE, som dog ikke umiddelbart er forklarligt. Selv om der er tale om små mængder ses en tydelig forskel i indholdet af 23:0 (Figur 3).

Der blev fundet et øget indhold af phospholipid i lever fra de to grupper, der blev fodret med fraktion 1 og 2. Fedtsyresammensætningen i lever phospholipid viste, at indholdet af oliesyre og linolsyre var størst i gruppe 3; mens indholdet af arachidonsyre (20:4 n-6) var lavere her. Gruppe 1 og 2 havde samme niveau af disse fedtsyrer, som soja lecithin gruppen (Figur 4). Fedtsyresammensætningen i triglyceriderne afspejlede i højere grad foderets fedtsyresammensætning.

Lymfeforsøg

For at undersøge om mælkephospholipid inhiberer absorptionen af kolesterol blev et rotte lymfeforsøg planlagt; men desværre kun delvist gennemført. Årsagen hertil var dels, at rottemodellen ikke fungerede optimalt, og dels har der ikke været arbejdskraft til at udføre og optimere operationerne, grundet at vores dyrlæge fratrådte sin stilling. En optimal sammensætning af emulsionen bestående af olie, mælkephospholipid, kolesterol og ¹³C-kolesterol blev fundet. De foreløbige resultater viser, at det er muligt at bestemme mængden af absorberet ¹³C-kolesterol over tid.

Resultater fra human forsøg

Formålet med human forsøget var at undersøge virkningen af mælkephospholipid på risikomarkører for udvikling af hjertekarsygdomme i den postprandiale fase, med særligt fokus på absorption af kolesterol fra kosten og omsætning af lipoproteiner (deres sammensætning af triglycerid, kolesterol, phospholipid), samt indflydelse på menneskers appetit og mæthed.

Design: Studiet var et enkelt blindet randomiseret måltidsforsøg med overkrydsning. Forsøgspersoner (n=18) var unge, normalvægtige, ikke rygende mænd med aktivitetsniveau på ca. 4 timer/uge og uden konstaterede medicinske sygdomme. Alle deltog i måling af appetit og 12 fik taget blodprøver. Disse 12 forsøgspersoner indtog 2 testmåltider tilsat 45 mg ¹³C-mærket kolesterol, et med og et uden phospholipider med en *wash-out* periode på minimum 14 dage. Testmåltidet indeholdt 20 g mælkephospholipid, som var en blanding af lige dele fraktion 1 og 2 af de ovennævnte isolerede mælkephospholipider. Tre dage før testdagen udfyldte forsøgspersonerne et skema med egen kostregistrering i 2 dage og aktivitetsniveau, og dagen før interventionen skulle

forsøgspersonerne indtage en standardiseret kost. På interventionsdagen mødte forsøgspersonerne op fastende. På 1. interventionsdag blev der taget blodprøver før testmåltidet og postprandialt til tiderne 30, 60, 120, 240, 360 og 480 min. Blodprøverne blev analyseret for koncentration af triglycerid, kolesterol, phospholipid i plasma og i lipoproteinerne (chylomikroner, VLDL, LDL, HDL), for insulin, glukose, FVII-bt, partikelstørrelse af chylomicroner. Mængden af absorberet ¹³C-kolesterol blev bestemt i plasma. På interventionsdag nr. 2 fik forsøgspersoner taget en fasteprøve og en postprandial blodprøve til tiden 240 min. Appetit blev målt ved VAS-skemaer, som blev udfyldt efter fastebloodprøven og postprandialt til tiderne 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 og 480 min. De 6 forsøgspersoner, som ikke fik taget blodprøver, ankom alle på samme interventionsdag og fulgte samme procedurer som de andre med hensyn til udfyldning af VAS-skemaer.

Effekt på plasma triglycerider og kolesterol: Sammenlignet med kontrolmåltidet resulterede mælkephospholipiderne i en lavere koncentration over tid i total plasma triglycerider (TG) og i TG i chylomikron, VLDL-, LDL-, samt i HDL-fraktionen. Mælkephospholipider resulterede i lavere kolesterolkoncentration i chylomicronfraktionen end kontrol (P=0.03) (Figur 5). Der var ingen forskelle af forsøgskosten på kolesterolniveau i de øvrige lipoproteinfraktioner.

Effekt på plasma phospholipider: Sammenlignet med forsøgskosten resulterede mælkephospholipiderne i lavere phospholipidkoncentration i chylomicronfraktionen (P<0.05) (Figur 6), hvorimod der ikke var forskel i total plasma phospholipider.

Effekt på plasma glukose og insulin: Med hensyn til glukose og insulin blev der ikke fundet nogen signifikant forskel mellem de to testmåltider på det efterfølgende glukose- og insulin respons.

Effekt på plasma FVII koaguleringsaktivitet (FVII bovint thrombin): I tråd med et lavere TG respons resulterede mælkephospholipiderne sammenlignet med kontrolmåltidet i et lavere faktor VII koaguleringsaktivitet, målt som FVII-bt (P<0.05) (Figur 7).

Cholesterol absorption: En signifikant forskel på mængden af absorberet ¹³C-kolesterol efter både 24 og 28 timer blev observeret. Koncentrationen af ¹³C-kolesterol i plasma var lavest efter indtagelsen af test måltidet med mælkephospholipider (P<0.001) (Figur 8).

Partikel størrelse: Chylomicronstørrelsen var mindre efter indtagelse af måltidet med mælkephospholipider end kontrolmåltidet (P<0.05).

Effekt på appetitfølelse: Spørgsmål til forsøgspersoner angående appetitmålingerne og vurdering af måltiderne viste endvidere ingen signifikant forskel mellem de to måltider.

MCT-projekt (uafhængigt delprojekt)

Delprojekt indskudt grundet forsinkelse i levering af mælkephospholipider med det formål at sammenligne effekten af to – for mælkefedt relevante – fedttyper (MCT; caprylsyre C8:0 og caprinsyre C10:0 versus oliesyre C18:1) på risikomarkører for hjertekarsygdomme samt basic metabolic rate (BMR) i den fastende fase.

Resultater

MCT fedt resulterede i 12% højere værdier for LDL kolesterol efter MCT (P<0,0001) samt 22% højere plasma triglycerider (P =0.01) end højoliesyreholdigt fedt (kontrol). MCT fedt gav ikke forøget energimetabolisme sammenlignet med oliesyre. Der var ingen gunstig effekt på energiforbrug med MCT fedt.

Konklusion

Dyreforsøg

Der blev fundet mindre forskelle i fedtsyresammensætningen i plasma, enterocytter og lever, øget mængde phospholipid i plasma og lever, men ingen forskel i kolesterol og triglycerid niveau i plasma. Sammenfattende havde den relativ lave mængde mælkephospholipid i foderet ikke så stor effekt.

Human forsøg

Måltid med tilsætning af den store mængde mælkephospholipider resulterede i et gunstigt lavere triglycerid-respons i blodet og sammenfaldende en gunstigt mindre stigning i faktor VII koaguleringsaktiviteten. Dette sidste kan fortolkes som en mindre risiko for blodpropdannelse. Endelig resulterede mælkephospholipiderne i en lavere absorption af kostens kolesterol.

For uafhængigt delprojekt (MCT)

MCT fedt havde en svagt kolesterol hævede virkning og hævede triglyceridindholdet i blodet. Der var ingen gunstig effekt på energiforbrug med MCT fedt.

Funktionelle egenskaber

Undersøgelserne viste, at mælkephospholipider generelt har gode funktionelle/emulgerende egenskaber. De kan anvendes som emulgatorer i simple olie-i-vand emulsioner, i mayonnaise (sammen mælkeprotein), i is, i mælkedrik og i kage. (Undersøgelserne er beskrevet i en rapport af Charlotte Jacobsen, som er vedlagt som bilag)

Publikationer

Artikler og rapporter

Manuskript: Tine Tholstrup, Christian Ehnholm, Martin Petersen, Carl-Erik Høy, Pia Lund and Brittmarie Sandström: Effect of Medium Chain Triacylglycerol (MCT) versus Oleic Acid on Blood Lipids, lipoproteins, Glucose, Insulin, an Lipid Transfer submitted to Am. J. Clin. Nutr. (under revision)

Rapport: Charlotte Jacobsen: "Mælkephospholipiders funktionelle egenskaber" Danmarks Fiskeriundersøgelser, Maj 2002.

Specialerapport: Karin Basse: "Mælkephospholipiders virkning på postprandial lipidprofil, faktor VII koagulationsaktivitet og appetitfølelse.", IHE, KVL 2002.

Indlæg ved faglige kongresser, symposier o.l.

Poster: Pia Lund og Carl-Erik Høy: "The Nutritional Value of milk Phospholipids" LMC kongres, Lyngby, Januar 2002.

Poster: Tine Tholstrup, Martin Petersen, Carl-Erik Høy and Brittmarie Sandström: "Effect of Medium Chain Triglycerides (MCT) versus a Fat High in Long Chain Fatty Acids on Risk Markers of Coronary Heart Disease in Healthy Young Men" LMC kongres, Lyngby, Januar 2002.

Poster: Tine Tholstrup, Martin Petersen, Carl-Erik Høy and Brittmarie Sandström: "Effect of Medium Chain Triglycerides (MCT) versus a Fat High in Long Chain Fatty Acids on Risk Markers of Coronary Heart Disease in Healthy Young Men" 6th International Symposium on Global Risk of Coronary Heart Disease and Stroke, Florence, June 12-15, 2002.

Samarbejdsrelationer

I forbindelse med fremskaffelse og isolering af mælkephospholipid blev der etableret samarbejde med Hans Henrik Holst, Arla Foods Ingredients, Nr. Vium, Xuebing Xu, BioCentrum-DTU og Paninkret, D-25364 Westerhorn. Der blev samarbejdet med Professor Christian Ehnholm, National Public Health Institute, Dept of Biochemistry, Helsinki i forbindelse med analysering CETP og PLTP aktivitet i plasma.

Videnskabelig betydning af projektet

Projektet har belyst effekten af mælkephospholipider på kolesterol absorptionen hos dyr og mennesker. Det er vist, at 20 g mælkephospholipid i et testmåltid (human) nedsatte absorptionen af kolesterol og påvirkede det postprandiale blodlipidmønster gunstigt. De lavere mængder i rotteforsøget havde ikke så stor effekt; men ingen negative effekter blev observeret.

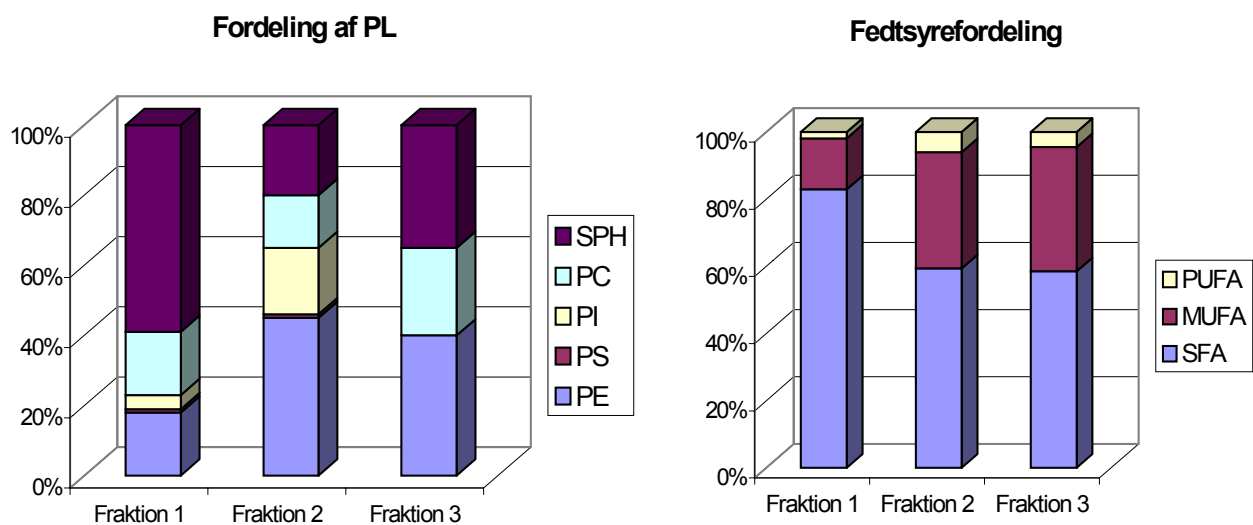
En supplerende undersøgelse viste, at mælkephospholipider generelt har gode funktionelle/emulgerende egenskaber.

Tabel 1 Fedtsyresammensætningen i phospholipid og sphingomyelin fra rotte plasma

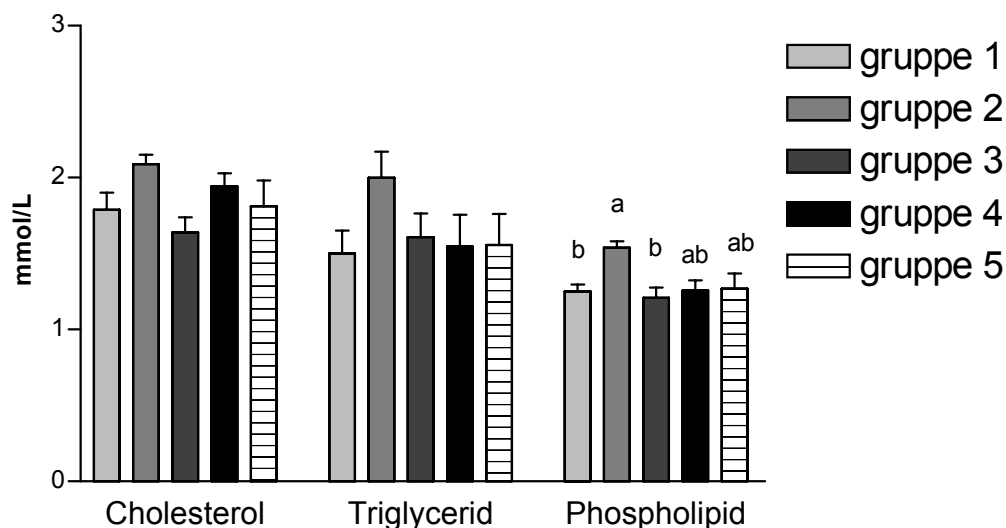
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5
PL					
16:0	19,8 ± 1,4 ^b	20,8 ± 1,2 ^{ab}	22,0 ± 1,4 ^a	20,5 ± 0,6 ^{ab}	21,3 ± 0,9 ^{ab}
18:0	25,6 ± 1,0 ^a	24,4 ± 1,1 ^a	23,2 ± 1,6 ^b	24,7 ± 1,0 ^a	25,4 ± 1,0 ^a
18:1n-9	3,2 ± 0,2	3,4 ± 0,3	3,7 ± 0,3	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2
18:2n-6	13,6 ± 1,1 ^b	13,9 ± 1,3 ^a	15,9 ± 2,1 ^a	13,5 ± 0,6 ^b	13,5 ± 1,0 ^b
20:4n-6	27,7 ± 1,7 ^a	27,1 ± 1,2 ^{ab}	25,2 ± 1,8 ^b	28,0 ± 0,5 ^a	27,4 ± 0,9 ^a
Mættet	45,8 ± 1,1	45,7 ± 1,1	45,6 ± 1,3	45,6 ± 0,8	47,0 ± 1,3
Monoumættet	5,5 ± 0,3 ^b	6,2 ± 0,5 ^a	6,3 ± 0,3 ^a	5,6 ± 0,3 ^b	5,1 ± 0,5 ^c
Polyumættet	47,2 ± 1,2	46,6 ± 1,2	46,6 ± 1,2	47,3 ± 0,4	46,7 ± 1,2
SPH					
16:0	25,5 ± 3,0	26,2 ± 4,5	25,0 ± 3,9	23,6 ± 2,3	23,4 ± 3,7
18:0	9,8 ± 2,2 ^{ab}	8,7 ± 1,7 ^{ab}	10,7 ± 1,6 ^{ab}	8,4 ± 1,2 ^b	12,2 ± 2,8 ^a
22:0 + 20:3 n-6	9,9 ± 1,2	9,6 ± 0,9	8,6 ± 1,7	9,7 ± 0,7	9,9 ± 1,0
23:0	25,9 ± 3,5 ^a	21,9 ± 2,3 ^b	20,1 ± 4,0 ^b	25,2 ± 1,4 ^a	9,6 ± 1,3 ^c
iso 24:0	2,5 ± 0,6	3,2 ± 0,7	3,1 ± 1,1	2,5 ± 0,5	3,6 ± 0,4
24:0	22,0 ± 2,4	24,4 ± 2,3	20,7 ± 5,3	22,1 ± 1,6	24,0 ± 2,5
Mættet	96,7 ± 3,2 ^a	96,2 ± 2,8 ^a	89,2 ± 8,2 ^b	92,7 ± 4,0 ^a	83,8 ± 2,2 ^b
Monoumættet	2,5 ± 2,5 ^a	2,5 ± 2,6 ^a	8,1 ± 6,8 ^b	6,3 ± 4,0 ^{ab}	13,8 ± 1,8 ^b
Polyumættet	0,8 ± 0,8	1,2 ± 0,4	2,6 ± 2,1	0,8 ± 0,6	2,5 ± 1,1

Data repræsenterer gennemsnit standard afvigelse af 8 bestemmelser. Værdier mærket med forskellige bogstaver i samme række er signifikant forskellige

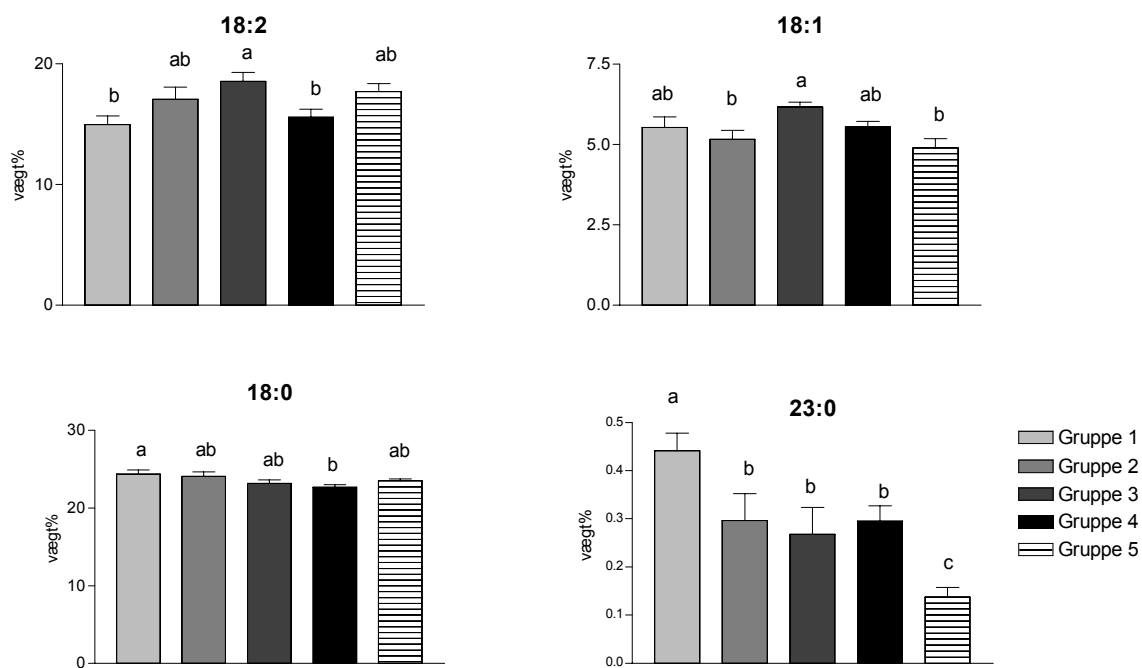
Gruppe 1, 2 og 3 er fodret med henholdsvis fraktion 1, 2 og 3, gruppe 4 har fået en blanding af lidele fraktion 1, 2 og 3, og gruppe 5 er fodret med soja lecithin



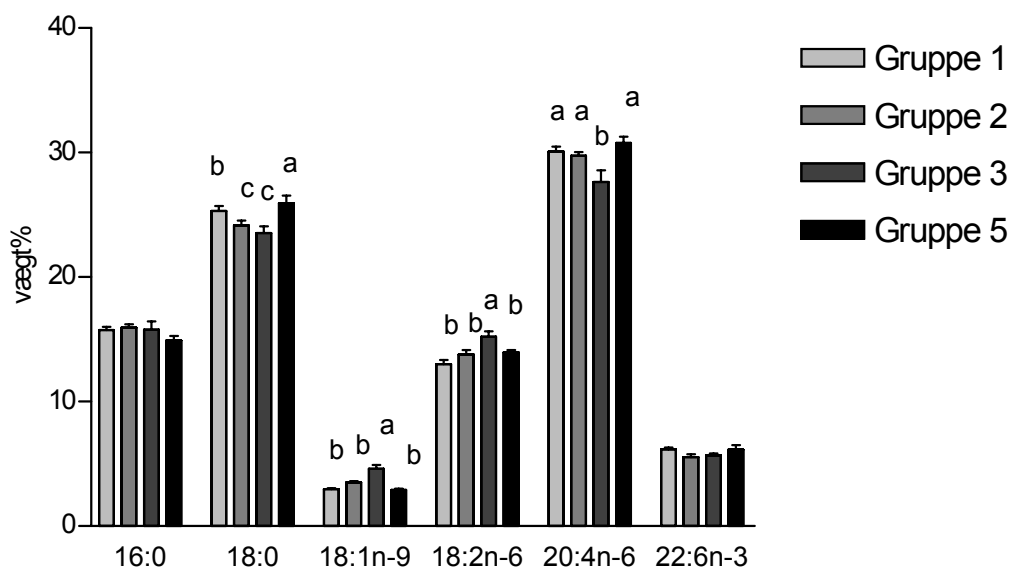
Figur 1. Fordeling af phospholipidklasser og fedtsyrer i de isolerede mælkephospholipid fraktioner. SFA - summen af mættede fedtsyrer, MUFA - summen af monoumættede fedtsyrer, PUFA - summen af flerumættede fedtsyrer.



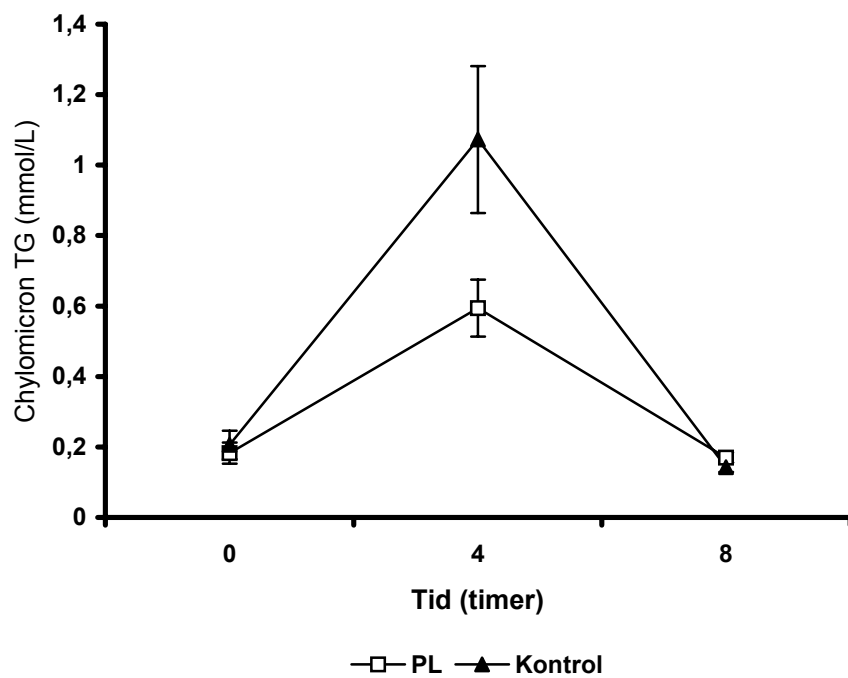
Figur 2. Koncentrationen af kolesterol, triglycerid og phospholipid i rotte plasma. Gennemsnit + SEM (n=12). Søjler indenfor samme gruppe med forskellige bogstaver er signifikant forskellige. Gruppe 1, 2 og 3 er fodret med henholdsvis fraktion 1, 2 og 3, gruppe 4 har fået med en blanding af lige dele fraktion 1, 2 og 3 og gruppe 5 er fodret med soja lecithin.



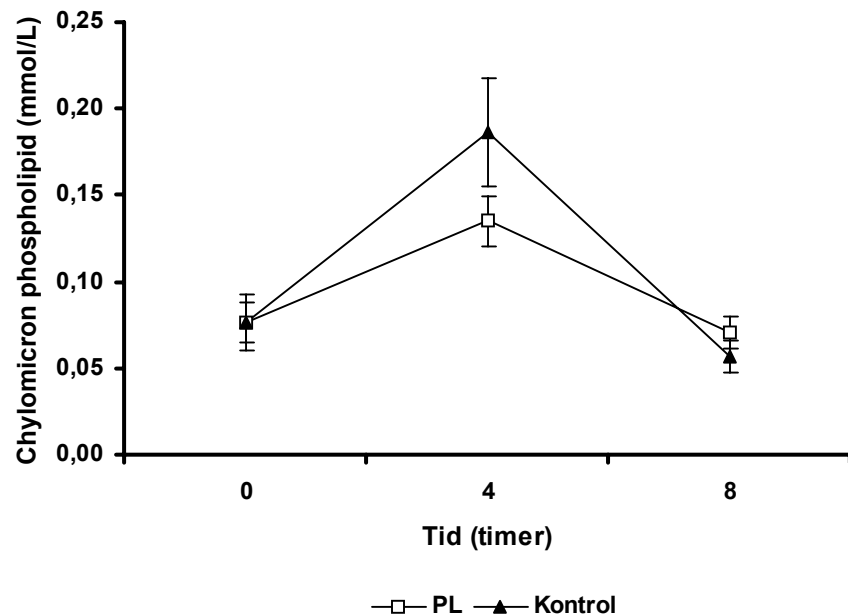
Figur 3. Fordelingen af udvalgte fedtsyrer i phospholipid fra enterocytter (vægt%). Gennemsnit + SEM (n=12). Søjler indenfor samme gruppe med forskellige bogstaver er signifikant forskellige. Gruppe 1, 2 og 3 er fodret med henholdsvis fraktion 1, 2 og 3, gruppe 4 har fået med en blanding af lige dele fraktion 1, 2 og 3 og gruppe 5 er fodret med soja lecithin.



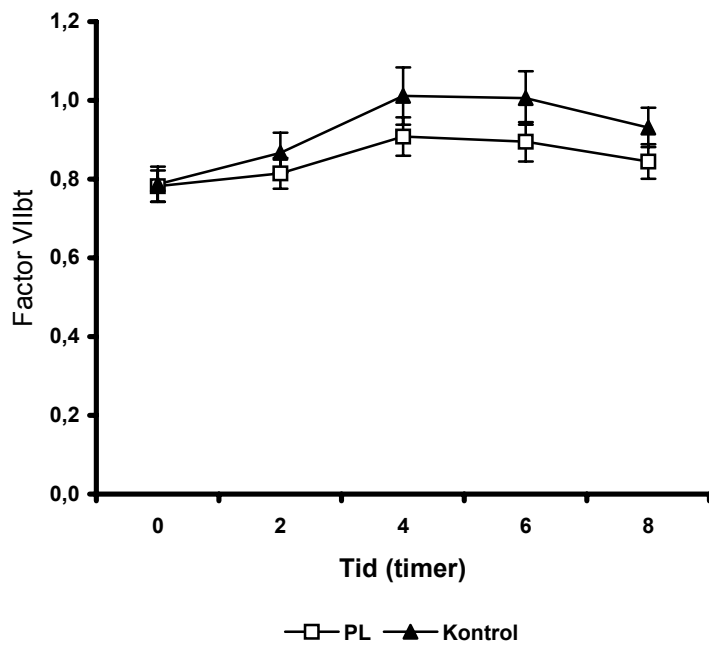
Figur 4. Fedtsyresammensætningen i rottelever phospholipid (vægt%). Gennemsnit ± SEM (n=12). Søjler indenfor samme gruppe med forskellige bogstaver er signifikant forskellige. Gruppe 1, 2 og 3 er fodret med henholdsvis fraktion 1, 2 og 3, og gruppe 5 er fodret med soja lecithin. Gruppe 4 er ikke analyseret.



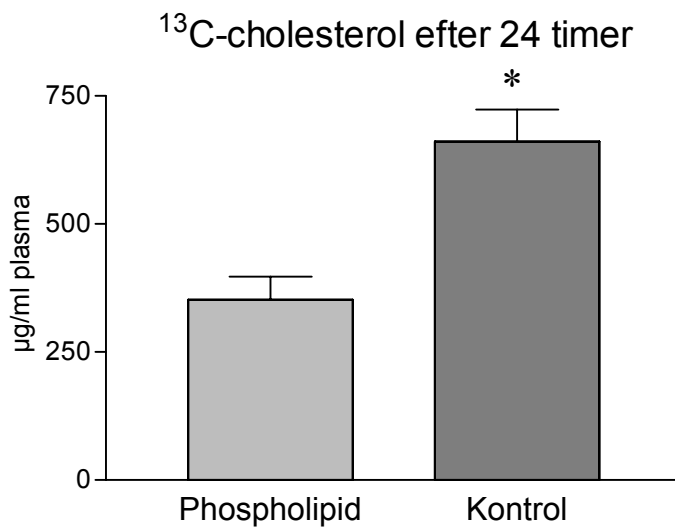
Figur 5. Koncentrationen af triglycerider i chylomicroner før, samt 4 og 8 timer efter indtagelse af testmåltider med og uden mælkephospholipider. Gennemsnit \pm SEM (n=12).



Figur 6. Koncentrationen af phospholipider i chylomicroner før samt 4 og 8 timer efter indtagelse af testmåltider med og uden mælkephospholipider. Gennemsnit \pm SEM (n=12).



Figur 7. Faktor VIIbt før, samt 2, 4, 6 og 8 timer efter indtagelse af testmåltider med og uden mælkephospholipider. Gennemsnit \pm SEM (n=12).



Figur 8. Mængden af absorberet ^{13}C -cholesterol i plasma 24 timer efter indtagelse af testmåltid med og uden mælkephospholipid. Gennemsnit \pm SEM (n=11).

Mælkephospholipiders funktionelle egenskaber

*Charlotte Jacobsen
Afdeling for Fiskeindustriell Forskning
Danmarks Fiskeriundersøgelser*

Maj 2002

Indledning og formål

Ved ekstraktion har et tysk firma (Paninkret GmbH) isoleret tre mælkephospholipid fraktioner fra et vallefedt produkt. Fordelingen af de enkelte phospholipidklasser i de tre mælkephospholipid fraktioner er forskellig. Fraktion 1 indeholder således meget sphingomyelin og lige dele phosphatidylethanolamin og phosphatidylcholin, mens fraktion 2 indeholder meget phosphatidylethanolamin og lige dele sphingomyelin, phosphatidylcholin og phosphatidylinositol. Fraktion 3, der vægtmæssigt er den mindste fraktion indeholder lige dele sphingomyelin og phosphatidylethanolamin og lidt mindre phosphatidylcholin.

Fedtsyresammensætningen af de enkelte fraktioner afspejler forskellen i fordelingen af phospholipidklasser, idet fraktion 1 har et stort indhold af mættede fedtsyrer; mens fraktion 2 og 3 har et lavere indhold af mættede fedtsyrer og et tilsvarende højere indhold af mono- og polyumættede fedtsyrer.

I det følgende redegøres for resultaterne fra en række forsøg, som har haft til formål at belyse de fraktionerede mælkephospholipiders (MPL) funktionelle egenskaber med henblik på en eventuel kommerciel udnyttelse af MPL. Der er udført forsøg i såvel modelsystemer som i rigtige levnedsmidler. Vi har fået udleveret 3 fraktioner MPL, men vi har kun udført forsøg med fraktion 1 og 2, som i det følgende benævnes MPL1, MPL2 .

Såfremt MPL skal udnyttes kommercielt, vil det i mange tilfælde skulle anvendes i stedet for soyalecithin. Derfor er MPL's egenskaber i en del af forsøgene blevet sammenlignet med soyalecithins. For visse af produkterne har det imidlertid ikke været muligt at fremskaffe standard recepter, hvor soya lecithin anvendes som emulgator. I disse tilfælde er MPL blev sammenlignet med den emulgator, som vi har fået oplyst sædvanligvis anvendes i produktet.

Flg. kommercielle emulgatorer er anvendt i et eller flere af forsøgene:

Centrolex FP 30 (CFP30)(fraktioneret soya-lecithin m. 30% phosphatidyl-cholin, Central Soya)
Centrolex F (CF)(ren soya-lecithin, de-oiled, Central Soya)
Nutrilac 7015 (N7015) (Mælkeprotein, Arla Foods)
Precept 8160 (P8160) (hydrolysed de-oiled soy-lecithin, Central Soya)
Na-stearyllactylat (Danisco Cultor)
Recodan (mono-og diglycerider af spise-fedtsyrer (E471), carrageenan (E407) og guar gum (E412))
E471 (mono-og diglycerider af spise-fedtsyrer)
Cremodan mousse 32 (gelatine og E472, Danisco Cultor)
Cremodan mousse 34 (gelatine og E471, Danisco Cultor)

Datablade for kommercielle emulgatorer er vedlagt som bilag.

Emulgatorerne er testet i en simpel olie-i-vand emulsion for emulgeringskapacitet og stabilitet, i mayonnaise, mælkedrik, is, skærekage og chokolademousse.

Emulgeringskapacitet

Formålet med dette forsøg var at sammenligne emulgeringskapaciteten for MPL med en række kommercielle emulgatorers emulgeringskapacitet. Emulgeringskapaciteten er et udtryk for emulgatorens evne til at emulgere olie i vand i en olie-i-vand modeulsion

Metode

1. Måle-/bægerglas vejes [b].
2. 0,4 g [a] emulgator blendes (KRUPS Speed pro) med 100 ml vand i 1 min.
3. Der overføres ca. 50 ml emulgator/vand blanding til måle-/bægerglas og dette vejes [c].
4. 50 ml olie tilsættes og blandes med UltraTurrax i 10 sek. ved 13.500 rpm.
5. Olie tilledes med 0,3 ml/sek. (slangepumpe hast. 45, Ultra Turrax 13.500 rpm).
6. Tilledningen stoppes ved ”vending” (o/w → w/o, ses/høres ved ændring af pitch på ultra turrax og synlig forandring af emulsionen).
7. Måle-/bægerglas vejes [d].
8. Emulgeringskapaciteten beregnes ved:

$$\text{Emulsionskapacitet (EK)} = \frac{(d - c)}{((c - b) \cdot (\frac{a}{100}))}$$

Resultater

Resultaterne af forsøget er vist i tabel 1.

Tabel 1. Emulgeringskapacitet

Emulgator	Emulgeringskapacitet
Centrolex FP30	535±11
Centrolex F	543±36
Nutrilac 7015	538±20
Precept 8160	560±3
MPL1	544±92
MPL2	477±78

En variansanalyse på data viser, at der ikke er statistisk forskel på emulgeringskapaciteten for de forskellige emulgatorer ($p > 0.05$). Heraf kan konkluderes, at mælkephospholipiderne i en simpel olie-i-vand emulsion er lige så gode emulgatorer som kommercielt tilgængelige emulgatorer.

Emulsionsstabilitet

Formålet med forsøget var at sammenligne emulsionsstabiliteten af simple o/v emulsioner fremstillet med MPL som emulgator med ditto for emulsioner fremstillet med kommercielt tilgængelige emulgatorer.

Metode

Emulsionen blev fremstillet som beskrevet i punkt 2.-4. under "Emulgeringskapacitet".

Stabiliteten blev bestemt ved en accelereret centrifugeringstest. Emulsionen blev centrifugeret ved 3000 g og antallet af faser samt størrelsen af disse blev noteret.

Resultater

Tabel 2. Resultater fra centrifugeringstest

	Uklar vandig zone	Hvid zone	Uklar olie	Klar olie	Total
Centrolex FP30	45,0	2,5	49,5	3,0	100
Centrolex F	44,4	2,5	48,1	4,9	100
Precept 8160	42,9	4,9	46,6	5,6	100
Na-stearyllactylat	37,5	1,0	61,7	0,0	100
Nutrilac 7015	45,0	1,5	52,5	1,0	100
MPL1	45,0	5,0	49,0	1,0	100
MPL2	46,0	1,5	47,5	5,0	100

Af tabel 2 fremgår, at alle emulsioner uanset emulgatorstype skiller ad efter centrifugering. De 2 midterste faser (hvid zone og uklar olie zone) er emulsionsfaser i forskellige stadier af faseadskillelse, mens den vandige fase og oliefasen er vand og olie, som er separeret ud. Der er signifikant forskel på de forskellige fasers størrelse. MPL1 og MPL2 har en vandfase af samme størrelse som de øvrige kommercielle emulgatorer på nær natriumstearyllactylat, som har en mindre vandfase. Til gengæld har MPL1 sammen med Precept 8160 en relativ stor hvid emulsionsfase, mens MPL2 er på niveau med Nutrilac og natriumstearyllactylat. Ligeledes har MPL1 en relativ lille klar oliefase, mens det modsatte er tilfældet for MPL2. Disse data kan antyde, at MPL1 er god til at hindre olieudskillelse, mens MPL2 er dårligere til dette, dog stadig på niveau med flere af de kommercielle emulgatorer (Precept 8160 og Centrolex F).

Mayonnaise

I traditionel mayonnaise anvendes æggeblomme som emulgator, hvor både proteiner og phospholipider spiller en rolle i emulsionsdannelsen. Det er dog også muligt at fremstille mayonnaise med mælkeprotein som emulgator. Formålet med forsøget var at undersøge, om MPL kunne erstatte æggeblomme som emulgator, ligesom det er tilfældet med mælkeprotein. Det blev også undersøgt om de forskellige typer soyalecithin (CFP30, CF og P8160) kunne erstatte æggeblomme.

Metoder

Fremstilling af mayonnaise i Stephanmixer.

1. Vand, salt, sukker og kaliumsorbat blandes og der køres 15 sek. med vakuum.
2. Æggeblomme (emulgator) tilsættes og der køres i 15 sek. med vakuum.
3. Stabilisator mixes med olie (1:3) og tilsættes, der køres i 15 sek. med vakuum.
4. 2/3 af olien tilsættes langsomt mens der køres uden vakuum.
5. 1/3 af olien blandes med eddike og tilsættes langsomt.
6. Der køres total 2½ min.
7. Der køres i 15 sek. med vakuum, mens der røres med ”dejskraber”.

Recepten for standardmayonnaisen med æggeblomme som emulgator er vist i tabel 3.

Tabel 3. Recept Standard.

Reference	Mængde
Rapsolie	480,00
Vand	61,60
Salt (NaCl)	1,80
Sukker	6,00
Kaliumsorbat	0,60
Æggeblomme	24,00
Grindsted FF 5105 (stabilisator)	2,00
Eddike	24,00
Total	600,00

Som vist i tabel 4 blev der afprøvet forskellige koncentrationer af de forskellige emulgatorer, ligesom MPL1 og MPL2 blev forsøgt afprøvet sammen med Nutrilac 7015. Koncentrationerne for phospholipiderne blev valgt, så de lå i nærheden af de koncentrationer, som resulterede i stabile mayonnaise i tidligere forsøg med mælkeproteinet Nutrilac 7015 (N7015) som eneste emulgator.

Tabel 4. Emulgatorkoncentrationer afprøvet i mayonnaise

Koder	0,10%	0,20%	0,40%	0,80%	2,00%
Standard	-	-	-	-	-
Centrolex FP30	x	-	x	x	-
Centrolex F	x	-	-	x	-
Precept 8160	x	-	-	x	-
MPL1	x	-	-	x	x
MPL2	-	-	-	x	x
Nutrilac 7015	-	-	x	-	-
N7015 + MPL1	-	-	-	x	-
N7015 + MPL2	-	-	-	x	-

I forsøgene med N7015 og MPL er det total koncentrationen, som er angivet.
De 2 emulgatorer blev blandet i forholdet 1:1

Mayonnaiserne blev bedømt visuelt umiddelbart efter fremstilling samt med 1-2 dages mellemrum i op til 2 måneder. Der blev ikke foretaget rheologiske målinger af konsistensen. Denne blev kun bedømt visuelt.

Resultater

Det lykkedes at fremstille produkter, som visuelt lignede mayonaiser, med nedenstående emulgatorer. De øvrige mayonaiser var enten meget tynde eller skilte kort tid efter fremstilling.

Tabel 5. Emulgatorer der resulterede i mayonnaise.

Koder	Kommentar
Standard m. æggeblomme	Normal mayonnaise
MPL2 (0,8 %)	Holdt under en uge, skilte så.
N7015 + MPL1 (total 0,8%, 1:1)	Normal mayonnaise
N7015+ MPL2 (total 0,8%, 1:1)	Normal mayonnaise

Det kan konkluderes, at det ikke var muligt at fremstille en mayonnaise med normal konsistens og holdbarhed udelukkende med en af de 2 MPL fraktioner som emulgator, ej heller med soyalecithin som emulgator. Det vil måske være muligt, at bruge MPL til fremstilling af dressinger, da konsistensen af mayonnaiserne var tynd og dressinglignende, når MPL blev anvendt alene. Den fysiske stabilitet af disse dressinglignende mayonaiser blev dog ikke bestemt. Hvis MPL blandes med et mælkeprotein, f.eks. Nutrilac 7015 er det muligt, at fremstille en stabil mayonnaise. Der skal dog yderligere undersøgelser til for at afgøre, om en blanding af mælkeprotein og MPL resulterer i en mayonnaise med bedre konsistens, smag og holdbarhed end mayonnaise baseret på mælkeprotein alene.

Mælkedrik

I forbindelse med et andet projekt har vi udviklet en mælkedrik med jordbærsmag baseret på skummetmælk tilsat 5 % olie, hvor Recodan anvendes som emulgator/stabilisator (se tabel 6 for standardmælkedrikken). Det skal nævnes, at skummetmælken i sig selv indeholder mælkeproteiner, som også virker emulgerende. Formålet med forsøget var at undersøge, om MPL kunne erstatte Recodan som emulgator/stabilisator. Da Recodan udover mono og diglycerider af spisefedtsyrer også indeholder stabilisator (guar gum og carreegeenan) var det ikke sikkert, at vi kunne opnå samme konsistens og stabilisering af mælkedrikken, hvis vi fjernede Recodan uden at tilsætte guar gum og carreegeenan. Vi kunne ikke få oplyst, hvor meget guar gum og carreegeenan Recodan indeholder. Derfor udførtes indledningsvist forsøg, hvor mælkedrik blev tilsat det kommercielle soyalecithin produkt Precept 8160 samt carreegeenan og guar gum i forskellige koncentrationer og forhold. Formålet med disse forsøg var at finde den mest velegnede koncentration af carreegeenan og guar gum til de videre forsøg med MPL. Disse indledende forsøg blev ikke udført med MPL, fordi vi kun havde en begrænset mængde MPL til rådighed (se tabel 7).

Metode

Fremstilling af mælkedrik

1. Afvej alle ingredienser.
2. Bland sukker og mælk i en gryde af passende størrelse og opvarm langsomt blandingen på gasblus under omrøring. Mål løbende blandingens temperatur.
3. Når temperaturen i blandingen er ca. 30-40°C tilsættes emulgator under omrøring
4. Når temperaturen er ca. 60°C tilsættes olien under omrøring.
5. Ved en temperatur på ca. 68°C tilsættes aromaen (hvis dette bruges). Husk at skylle vejbægeret med aromaen i gryden med mælkedrikken efter tilsætning, således at det hele kommer med.
6. Opvarm blandingen yderligere et par minutter til max. 70°C under omrøring.
7. Umiddelbart herefter transporteres blandingen (stadig i gryde) til homogenisatoren, og blandingen homogeniseres varm ved 200 bar.

Tabel 6. Recept for Standard.

Ingrediens	Procent
Recodan	0,2
Sukker	5,0
Rapsolie	5,0
Skummetmælk	89,8
Total	100,0

Tabel 7. Recepter med forskellige koncentrationer med soyalecithin.

Ingrediens	Procent	Procent	Procent	Procent	Procent	Procent
	K1	K2	K3	K4	K5	K6
Precept 8160	0,2	0,10	0,067	0,030	0,03	0,085
Guargum		0,05	0,067	0,085	0,12	0,085
Carrageenan		0,05	0,067	0,085	0,05	0,030
Sukker	5	5	5	5	5	5
Rapsolie	5	5	5	5	5	5
Skummetmælk	89,8	89,8	89,8	89,8	89,8	89,8
Total	100,0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Resultater trin 1

Ud fra en sensorisk vurdering blev det besluttet, at der skulle anvendes samme koncentrationer af emulgator og stabilisator som i koderne K1 og K6 til de efterfølgende forsøg med MPL. De øvrige koder var for tykke og slimede. Nye prøver blev derfor fremstillet som angivet i Tabel 8.

Metoder trin 2.

Tabel 8. Recept for koder m. MPL1 og 2 i forskellige koncentrationer

Kode navn	MPL1.1	MPL1.6	MPL2.1	MPL2.6
	Procent	Procent	Procent	Procent
MPL1/MPL2	0,2	0,085	0,2	0,085
Guargum		0,085		0,085
Carrageenan		0,030		0,030
Sukker	5	5	5	5
Rapsolie	5	5	5	5
Skummetmælk	89,8	89,8	89,8	89,8
Total	100,0	100,000	100,0	100,000

Resultater trin 2

På baggrund af en sensorisk vurdering (3 dommere) blev det besluttet at afprøve lavere koncentrationer af MPL1 og MPL2, da disse gav anledning til en uønsket off-flavor i mælkedrikken. Konsistensen af mælkedrikken var dog god, idet den lignede standarden m Recodan. Dog syntes MPL1.6 og MPL2.6 at være lidt tykkere end standarden.

Metoder trin 3

I disse forsøg blev det besluttet kun at afprøve MPL1, og den blev afprøvet i en lavere koncentration som nævnt ovenfor. I forhold til tidligere forsøg blev koncentrationen af MPL1 reduceret til hhv. 1/2 og 1/4 i en mælkedrik uden stabilisator. Endvidere blev det afprøvet om tilsætning af jordbærsmag kunne maskere den ubehagelig off-flavour, som var blevet konstateret i det forrige forsøg. Dette blev afprøvet i mælkedrik med stabilisator.

Tabel 9. Recept for trin 3.

Kode	MPL1(1/2)	MPL1(1/4)
Ingrediens	Procent	Procent
MPL 1	0,10	0,05
Sukker	5	5
Rapsolie	5	5
Skummetmælk	89,8	89,8
Total	99,9	99,9

Kode	MPL1.6	MPL1.6j
MPL1 1	0,085	0,085
Guargum	0,085	0,085
Carrageenan	0,030	0,030
Sukker	5	5
Rapsolie	5	5
Skummetmælk	89,8	89,8
Jordbærsmag	0	0,13
Total	100,000	100,000

Resultater trin 3

En sensorisk vurdering (2 dommere) viste, at MPL1(1/2) havde en tilfredsstillende konsistens, men en anelse off-flavor. Derimod var både konsistens og smag tilfredsstillende, når koncentrationen af MPL1 blev reduceret til 1/4 (MPL1 (1/4)). Som i det tidligere forsøg var der atter off-flavor i MPL1.6, men denne blev maskeret af jordbærsmagen i MPL1.6j. Begge prøver var dog noget tykke i konsistensen.

Trin 4 metoder

Mælkedrikkene som blev fremstillet ovenfor blev ikke varmebehandlet og har derfor kun kort holdbarhed. Da det kan være ønskværdigt at varmebehandle mælkedrikken, så den bliver langtidsholdbar, blev det afprøvet om en HTST behandling af mælkedrikken (140 °C i ca. 8 sek.) påvirkede smag og konsistens af mælkedrikken MPL1 (1/4) og MPL2(1/4) dvs uden jordbærsmag.

Prøverne blev bedømt ved en triangeltest af et forbrugerpanel bestående af 8 utrænede dommere. I triangeltesten blev MPL1 (1/4) og MPL2 (1/4) hver for sig testet overfor en standard mælkedrik med Recodan. Endvidere blev prøvernes dråbestørrelse bestemt.

Trin 4 resultater

Triangeltestene viste, at dommerne ikke kunne kende forskel på prøverne MPL1 og standarden m.h.t. smag og konsistens ($p > 0.05$ %). Derimod kunne dommerne godt kende forskel på MPL2 (1/4) og standarden. MPL2 (1/4) blev beskrevet som havende en gammel smag eller en bismag, som ikke kunne beskrives, og den havde en tyndere konsistens.

Dråbestørrelsesmålinger viste, at den gennemsnitlige dråbestørrelse ($d(3,2)$) for standarden var 1.03 μm , mens den for MPL1 (1/4) var 0.92 μm og for MPL2(1/4) var 0.87 μm . Disse forskelle er små og formentlig uden betydning, og derfor kan det forventes, at de 3 mælkedrikke vil have den samme fysiske stabilitet.

På baggrund af ovenstående kan konkluderes, at det er muligt at anvende MPL1 som emulgator/stabilisator i mælkedrik uden jordbærsmag, såfremt der ikke anvendes for høje koncentrationer. En koncentration på 0,05 % MPL1 i en mælkedrik uden stabilisator og aromastoffer vil resultere i en mælkedrik uden off-flavor og med en tilfredsstillende konsistens. Derimod synes MPL2 mindre velegnet til mælkedrik, da den giver anledning til en ubehagelig off-flavour. Den ubehagelige off-flavour kan muligvis maskeres ved at tilsætte aromastoffer som jordbærsmag. Det skal bemærkes, at den ubehagelige smag forårsaget af MPL muligvis skyldes, at emulgatoren ikke var helt frisk, da forsøgene blev udført.

Is

Det blev undersøgt, om MPL kan anvendes som emulgator i is. Den anvendte recept er en modificeret udgave af en recept fra CentralSoya, som anbefaler Centrox F som emulgator i is. Derfor er Centrox F valgt som standard. Vi har ikke kunnet få oplyst sammensætningen på den stabilisatorblanding som Central Soya anvender. Derfor afprøvede vi indledningsvist en række stabilisator blandinger i forskellige koncentrationer, som blev valgt ud fra resultater af forsøg udført af studerende ved BioCentrum-DTU. På baggrund af disse forsøg nåede vi frem til den grundrecept, som er vist i tabel 10. Under tabel 10 er vist, at MPL1 og 2 udover standarden (Centrox F) også blev sammenlignet med andre soya lecithin produkter.

Metoder

Tabel 10. Is recept.

Grund recept.			
Ingredienser	Std.	%	Mængde
Fløde (36% fedt)		38,79	775,8
Skummetmælkspulver		3,30	66,0
Sukker		15,00	300,0
Locust bean gum		0,10	2,0
Guar gum		0,10	2,0
Carrageenan		0,05	1,0
Skummetmælk (0.4% fedt)		42,51	850,2
Emulgator X _n		0,15	3,0
		100	2000

X₁ = Centrox F (Standard) (CF)

X₂ = Centrox FP30 (CFP30)

X₃ = Precept 8160 (P8160)

X₄ = MPL1

X₅ = MPL2

Fremstilling af is

1. Alle ingredienser afvejes.
2. Alle tørre ingredienser blandes i metal skål.
3. Mælk tilsættes.
4. Piskes til alt er opløst.
5. Fløde tilsættes.
6. Piskes til alt er opløst.
7. Blandingen homogeniseres ved 200 bar.
8. Transporteres i lukket beholder til ismaskine.
9. Ismixen vejes inden den hældes i ismaskinen. Vigtigt! Sammen mængde hver gang.
10. Temperaturen måles.
11. Der omrøres i 2 min uden køl.
12. Der omrøres i 18 min med køling.

13. Temperaturen måles.
14. Isen overføres til de forskellige prøvebæger.
15. Indfrysning -20°C

Analyser:

Overrun:

Der udtages en fastsat vægtmængde prøve i et lavt pyrexglas af ismixen lige før, den bliver hældt i ismaskinen. Prøven fordeles forsigtigt, så der opnås en jævn overflade. Volumen bestemmes ud fra højden og diameteren af prøven. Ligeledes bestemmes volumen af den samme vægtmængde af isen lige efter den er fremstillet i ismaskinen. Der laves dobbeltbestemmelse. Svulmningsprocenten (% overrun), kan beregnes ved hjælp af:

$$\text{Volumen af cylinder} = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

$$\% \text{ overrun} = \frac{\text{vol. af frossenis} - \text{vol. af ismix}}{\text{vol. af ismix}} \cdot 100\%$$

Smeltetest:

Denne test bruges til at bestemme, hvor hurtigt de forskellige isprodukter smelter. Isen opbevares i 40 ml plastbægre, med samme vægt, ved -20°C . Isen anbringes på et lille net. Nedenunder nettet stilles en forvejet petriskål. Hvert 10 min. fjernes skålen, og der stilles en tom skål under prøven. Dette fortsætter, indtil al isen er smeltet. Skålene vejes, og der tegnes en kurve over forløbet af smeltningen. Der anvendes analysevægt til denne test, og der laves dobbeltbestemmelse.

Desuden blev prøverne også vurderet visuelt og sensorisk af en dommer efter fremstilling samt ved en triangeltest af et utrænnet forbrugerpanel, hvor MPL1 og MPL2 hver for sig blev sammenlignet med standarden (CF).

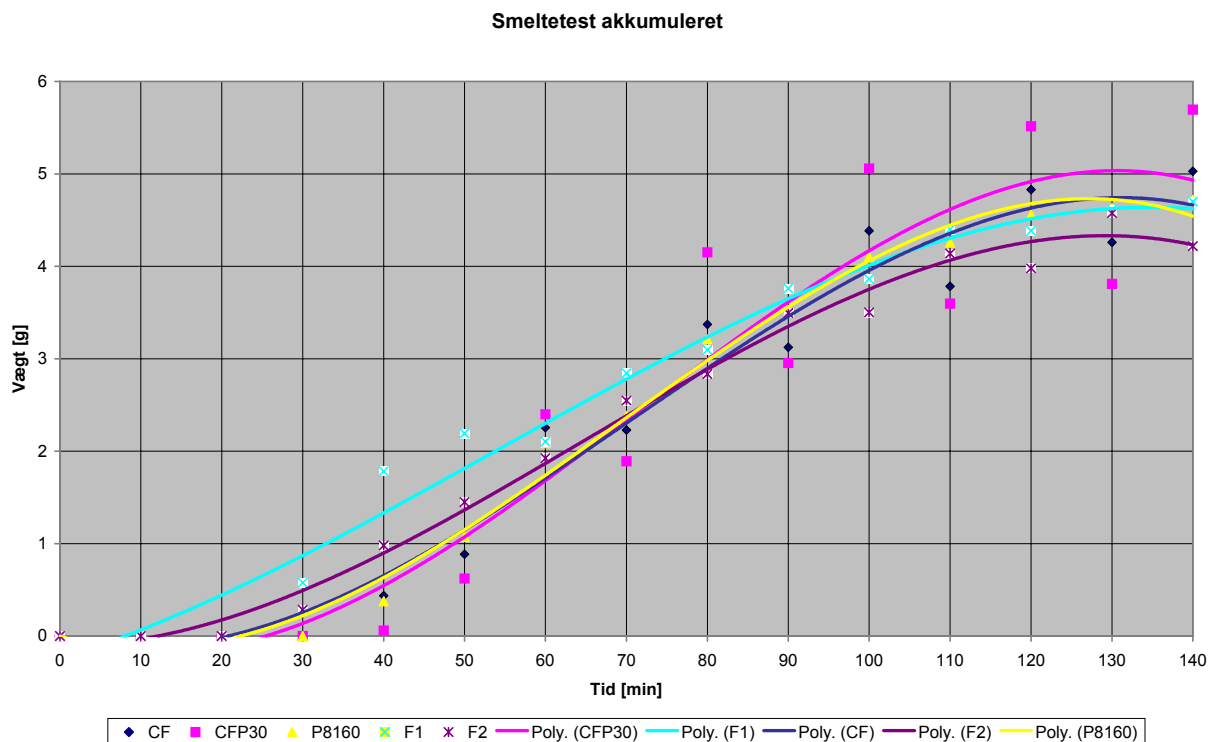
Resultater

Koderne MPL1 og MPL2 var begge blødere i konsistensen efter fremstilling, sammenlignet med de 3 andre koder. Begge havde også en svag bismag.

Tabel 11 viser, at sammenlignet med de kommercielle emulgatorer øges volumen af isen ved brug af MPL især for MPL1. D.v.s. MPL øger mængden af luft, som kan piskes ind i isen.

Tabel 11. Overrun resultater.

	% overrun	Std. dev.
CF	18,19	0,39
CFP30	17,50	2,99
P8160	17,84	3,05
MPL1	26,75	1,77
MPL2	21,57	0,00



Figur 1. Tendenslinjer for smeltetest (akkumulerede tal). F1=MPL1, F2=MPL2

Figur 1 viser tendenslinjerne for smeltekurverne beregnet med et tredjegrads polynomium. Der er kun små forskelle på smelteforløbet for de forskellige emulgatorer. Der synes dog at være en tendens til, at de to MPL fraktioner smelter hurtigst i starten af forløbet, men at de hurtigere når en max. værdi og flader ud. De andre koder starter lidt langsommere, men når en højere værdi i slutningen af forløbet.

Ligesom for mælkedrikken var der ikke statistisk signifikant forskel på smag og konsistens mellem produkterne med hhv. MPL1 og standardisen med Centrolex F. Dog skal det nævnes, at nogle af dommerne bemærkede, at isen med MPL1 havde en "gammel" bismag. Der var derimod signifikant forskel på standardisen og isen med MPL2. Dommerne syntes, at isen med MPL2 havde en sød og gammel gennemtrængende off-flavour. Derimod blev konsistensen af isen vurderet til at have en mere rund og blød konsistens end standardisen, som var mere iset.

På baggrund af disse resultater kan konkluderes, at anvendelse af MPL1 og MPL2 i is resulterer i en is med gode funktionelle egenskaber (højt overrun, lavere total afsmeltning og god konsistens), men at der især for MPL2 er problemer med smagen ("gammel", sød, gennemtrængende smag). Denne off-flavour kan muligvis maskeres ved tilsætning af aroma såsom jordbær, chokolade e.lign. Som nævnt tidligere skyldes off-flavouren måske, at MPL ikke var helt frisk og derfor muligvis har været oxideret til en vis grad, da vi anvendte den til forsøgene.

Skærekage

For at teste anvendelsesmulighederne for MPL i kager blev DanCake kontaktet. Dan Cake anvender ikke soya lecithin i deres kager, men bruger E 471 (mono- og diglycerider af spisefedtsyrer). Vi fik oplyst, at E471 tilsættes for at forhindre udtørring af kagerne og dermed forlænges holdbarheden af disse. Forsøgets formål var derfor at undersøge om MPL kunne erstatte E471.

Metoder

Standardrecepten for skærekagen er vist i tabel 12.

Fremgangsmåde:

1. Margarine og æg skal være tempererede.
2. Margarine og sukker røres godt med spartel på en røremaskine i 9 min. ved 60 omd. Kanterne skræbes ned.
3. Æggene kommes i a`4 gange. Kanterne skræbes ned.
4. De tørre ingredienser , vand og glykose tilsættes og det røres sammen i 1 min. ved 30 omd.
5. Det hele mænges rundt med en spartel/hånden for at være sikker på at det hele er rørt med.
6. Afvejes i folieforme a`640 ml. der bliver 3 kager a`400g til denne portion.
7. Kagerne bages ved 170°C i 35 min. De sidste 10 min. med åbent spjæld.

Der blev fremstillet flg. batches:

Batch 1: Standard.

Batch 2: recepten uden emulgator E471

Batch 3 : E471 erstattet med 2 g af fraktion 1.

Batch 4: E471 erstattet med 5 g af fraktion 1.

Batch 5 : E471 erstattet med 10 g af fraktion 1.

Batch 6 : E471 erstattet med 2 g af fraktion 2.

Batch 7 : E471 erstattet med 5 g af fraktion 2

Batch 8 : E471 erstattet med 10 g af fraktion 2.

Tabel 12. Standardrecept skærekage

Ingredienser	Procent	Afvejet
Mel	24,5 %	350 g
Sukker	26,5 %	380 g
Margarine	17,5 %	250 g
Glykose	5,5 %	80 g
Emulgator E- 471	0,7 %	10 g
Vand	4,2 %	60 g
Æg	18,2 %	260 g
Hvedestivelse	2,1 %	30 g
Bagepulver	0,5 %	7,5 g
Salt	0,2 %	2,5 g
Vanille	0,1 %	1,5 g
I alt	100 %	1431,5 g

Højden af kagerne blev målt efter bagning for at vurdere MPL's effekt på hævningsen. Derudover blev kagerne bedømt med en sensorisk rangordenstest af et utrænnet panel efter hhv. 1 og 4 dages opbevaring ved rumtemperatur i plastikpose. Flg. parametre indgik i rangordenstesten: Klæghed, tørhed og luftighed. Derudover blev dommerne bedt om at notere eventuelle off-flavours. På hver af de 2 bedømmelsesdage blev foretaget 2 bedømmelser: 1) MPL1 i de 3 forskellige koncentrationer blev sammenlignet med standardkagen og med kagen uden emulgator, 2) MPL2 i de 3 forskellige koncentrationer blev sammenlignet med standardkagen og kagen uden emulgator. Endelig blev prøverne med MPL1 og MPL2 vurderet kvalitativt af 2 dommere efter knap 3 måneders opbevaring ved stuetemperatur i plasticpose. Der var ikke mere tilbage af standardkagen og kagen uden emulgator, hvorfor disse ikke blev vurderet efter 3 måneder.

Resultater

Højden af kagerne er vist i tabel 13. Det ses, at kagerne med MPL2 generelt var højere end de øvrige kager, hvilket kunne indikere, at MPL2 kagerne hævede mere end de øvrige kager.

Tabel 13. Højden på kagerne

Batch 1: 6,6 cm, 6,6 cm og 6,6 cm. Gns:6,6 cm.

Batch 2: 6,6 cm, 7,0 cm og 7,0 cm. Gns:6,9 cm.

Batch 3: 6,7 cm, 6,6 cm og 6,7 cm. Gns:6,7 cm.

Batch 4: 6,5 cm, 6,5 cm og 6,5 cm. Gns:6,5 cm

Batch 5: 7,1 cm, 7,0 cm og 7,1 cm. Gns:7,1 cm.

Batch 6: 7,7 cm, 7,7 cm og 7,7 cm. Gns:7,7 cm.

Batch 7: 7,6 cm, 7,7 cm og 7,7 cm. Gns:7,7 cm.

Batch 8: 7,5 cm, 7,6 cm og 7,7 cm. Gns:7,6 cm.

Resultaterne fra de sensoriske bedømmelser er summeret i tabel 14. En statistisk analyse af resultaterne efter 1 dags lagring viste, at der for MPL1 prøverne var signifikant forskel på klæghed og tørhed, mens der for MPL2 prøverne slet ikke var forskel mellem prøverne for nogle af parametrene. Det ses, at prøverne med MPL1 især i høje koncentrationer blev oplevet som mindre klæge end standarden og kagen uden emulgator. Til gengæld blev kagen med MPL1 i høj

koncentration oplevet som mest tør. Efter 4 dages lagring var der kun signifikant forskel mellem prøverne m.h.t. luftighed for MPL1 prøverne. Det ses, at MPL1 prøven i middelkoncentration blev oplevet som mindre luftig end de øvrige prøver, mens standarden var mest luftig. Kommentarerne fra dommerne m.h.t. kagerens smag antydede, at standardkagen havde den bedste smag, men der blev som nævnt ikke foretaget nogen kvantitativ bedømmelse af smagen, så dette resultat skal tages med forbehold.

Tabel 14. Resultater fra rangordenstest på skærekager

1 dags lagring. MPL1					
Deskriptor	Standard	Uden emulgator	MPL (2 g)	MPL (5 g)	MPL (10 g)
Klæghed	23	29	18,5	21	10,5
Tørhed	24	10	25	16	30
Luftighed	18	19	26	20	22
1 dags lagring. MPL2					
Klæghed	24,5	12,5	23,5	23,5	24
Tørhed	14,5	20	19	20,5	20,5
Luftighed	17,5	25,5	14,5	24	18,5
4 dages lagring. MPL1					
Klæghed	20,5	20,5	20,5	20	22,5
Tørhed	21	25	21,5	22	15
Luftighed	26	22	20,5	14,5	21,5
4 dages lagring. MPL2					
Klæghed	14,5	16	13,5	19,5	24
Tørhed	21	19	17,5	18,5	7,5
Luftighed	19,5	17,5	12,5	11,5	14,5

Tallene i tabellen angiver summen af dommernes rangordensværdier. Den prøve som har den mindste værdi for f.eks. klæghed er mindre klæg end de øvrige prøver o.s.v.

Bedømmelserne foretaget af 2 dommere efter 3 måneders lagring viste, at kagerne generelt stadig var spiselige. Der var ingen mug på kagerne, og de var ikke tørre. Resultaterne indikerede, at en forøgelse af emulgatorkoncentrationen resulterede i mere klæge kager. Der blev ikke konstateret off-flavour i kagerne.

På baggrund af ovenstående kan der ikke gives nogen endelig konklusion om eventuelle fordele ved at tilsætte MPL til kagerne. Der må foretages yderligere undersøgelser. Resultaterne viser dog, at kagerne ikke får dårligere konsistens efter nogle dages lagring, når der tilsættes MPL end når der tilsættes E471.

Chokolademousse

MPL1's egenskaber som emulgator blev undersøgt i chokolademousse. Der blev anvendt en standardrecept samt 2 emulgatorer/stabilisatorer fra Danisco Cultor som sammenligningsgrundlag.

Metoder

Der blev taget udgangspunkt i recepter fra Danisco Cultor, idet vi herfra modtog 2 forskellige emulgator/stabilisator blandinger (Cremodan 32 og Cremodan 34), som er udviklet specielt til chokolademousse. På baggrund af en række forførsøg blev nedenstående batches fremstillet for at vurdere MPLs egenskaber i forhold til Cremodan.

Tabel 15. Recepter for batch 1 og 2: med 2 % hhv. Cremodan 32 og 34

Ingredienser	Procent	Afvejet
Fløde 38 %	16 %	160 g
Skummet mælk	61,5 %	615 g
Sukker	14,5 %	145 g
Mørk chokolade	2 %	20 g
Kakao pulver 10 – 12 %	4 %	40 g
Cremodan mousse 32/34	2 %	20 g
Total	100 %	1000 g

Batch 3, 4 og 5: Her blev cremodan erstattet med hhv. 0,5 %, 2 % og 3 % MPL1. Flødeindholdet blev opjusteret for at opnå samme vægt af prøverne som i standardprøverne.

Resultater

De 3 prøver med MPL1 var flydende og stivnede ikke. Produktet var dog homogent. Heraf kan konkluderes, at MPL ikke kan anvendes som emulgator alene, men sandsynligvis skal tilsættes sammen med gelatine e. lign. Ressourcerne tillod dog ikke, at der blev udført flere forsøg.

Konklusion

Med baggrund i ovenstående forsøg kan konkluderes, at MPL generelt har gode funktionelle/emulgerende egenskaber, men at der i nogle produkter såsom mælkedrik og is kan opstå problemer med off-flavour især for MPL2. Denne off-flavour kan dog muligvis maskeres ved aromatisætning. Det er også muligt, at der ikke vil være problemer med dårlig smag, såfremt der anvendes frisk MPL. De 2 MPL fraktioner, som vi anvendte, var ikke helt friske, hvorfor det er muligt, at emulgatorerne til en vis grad var oxiderede.

De opnåede resultater viste, at MPL kan anvendes som emulgator i simple o-v emulsioner, i mayonnaise (når den anvendes sammen med mælkeprotein), i is, i mælkedrik og i kage. I is var de funktionelle egenskaber af MPL bedre end de kommercielle emulgatorer. I skærekagen var der dog ikke signifikant forskel på de sensoriske egenskaber i kage med og uden MPL efter kort tids lagring. Derfor anbefales det, at der foretages flere forsøg for at bestemme effekten af MPL på kagers holdbarhed. Der skal også yderligere forsøg til for at afgøre om MPL kan anvendes som emulgator sammen med gelatine i chokolademousse.

