

Afslutningsrapport

New Antioxidant Strategies for Consumer Health and Food Quality
Delprojekt om antioxidanter og grænseflader

Mejeribrugets ForskningsFond
Rapport nr. 2009-97

April 2009

Afslutningsrapport

New Antioxidant Strategies for Consumer Health and Food Quality – Delprojekt om antioxidanter og grænseflader

Projektleder:

Professor Leif H. Skibsted
Institut for Fødevarevidenskab, Fødevarekemi
Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer (KU-LIFE)
Københavns Universitet
Rolighedsvej 30
1958 Frederiksberg C
Tlf. 3533 3221
E-mail: ls@life.ku.dk

Projektperiode:

1. januar 2003 – 31. december 2008

Deltagere:

Leif Skibsted (koordinator af delprojekt antioxidanter) og Eleonora Miquel Becker
Institut for Fødevarevidenskab, Fødevarekemi
Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer
Københavns Universitet
Rolighedsvej 30
1958 Frederiksberg C
E-mails: ls@life.ku.dk, emb@life.ku.dk

Charlotte Jakobsen, Anne-Mette Haahr og Ann-Dorit Moltke Sørensen
Danmarks Fiskeriundersøgelser, Institut for Akvatiske Ressourcer (DFU)
Danmarks Tekniske Universitet
2800 Kgs. Lyngby
E-mails: cja@dfu.min.dk, ads@aqua.dtu.dk

Björn Bergenståhl, Evelin Kalda og Lars Nilsson
Division of Food Technology, Center for Chemistry and Chemical Engineering
Lunds Universitet
Postboks 124
S-221 00 Lund, Sverige
E-mails: bjorn.bergenstahl@livsteki.lth.se, lars.nilsson@livsteki.lth.se

Tilknyttet projektet:

Lone Søvad Madsen
Center for Fødevareteknologi, Teknologisk Institut
Holbergsvej 10
6000 Kolding
E-mail: lone.s.madsen@teknologisk.dk

Finansieringskilder:

Mejeribrugets ForskningsFond
Öforsk
Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer
Stiftelsen Lantbruksforskning (Stockholm)
Lunds Tekniska Högskola

Sammendrag

Projektet er et større forskningssamarbejde, der skal kaste lys over tidlige oxidationsprocesser i fødevarer samt indflydelsen af naturlige antioxidanter på disse processer.

Projektet har haft to indsatsområder:

1. Prædiktion af oxidation i komplekse fødevarer og synergi mellem antioxidanter og andre ingredienser som for eksempel emulgatorer og naturlige farvestoffer.

2. Betydningen af selenindholdet i fødevarer for den oxidative status af produkterne og for den ernæringsmæssige værdi af disse fødevarer. Indsatsen omkring selen er tidligere afrapporteret (Afslutningsrapport nr. 2008-94, "New Antioxidant Strategies for Consumer Health and Food Quality – Delprojekt om selen" fra Mejeribrugets ForskningsFond).

I fødevarer finder flere reaktioner sted samtidigt, hvilket gør det svært at opstille de eksakte virkningsmekanismer for antioxidanter. Vi anbefaler derfor en trinvis undersøgelse for at klarlægge mekanismerne mellem antioxidanter og fødevarer: (i) brug af hurtige kinetiske metoder i simple systemer, (ii) brug af relevante lipidoxidationsanalyser i simple, heterogene systemer og (iii) måling af fødevarer med antioxidanter gennem lagringsperioden. Der benyttes flere forskellige metoder til at bestemme lipidoxidation samt antioxidantforbrug.

I projektet er undersøgt interaktioner mellem quercetin og andre kædebrydende antioxidanter, mellem α -tocopherol eller tocotrienoler (α , γ eller δ) og carotenoider, mellem polyphenoler fra aronia eller solbær og α -tocopherol, mellem puerarin og β -caroten, mellem emulgator og antioxidanter, mellem forskellige antioxidanter og salat-ekstrakt, og endelig mellem antioxidanter i flødeost.

I relation til mejeriprodukter er særligt nedenstående resultater interessante:

De vandopløselige plantephenoler inaktiverer hurtigt exciteret riboflavin og vil være en god beskyttelse mod lysinduceret oxidation i mejeriprodukter (fx drikkeyoghurt).

Kombinationer af α -tocopherol og forskellige flavonoider beskyttede i fællesskab mod lipidoxidationen, især når flavonoider var i overskud i forhold til α -tocopherol. Kombinationer af α -tocopherol og quercetin udviste synergistiske effekter mod lipidoxidationen i et flødeostmodelsystem. Effekten var afhængig af, om oxidationen var igangsat i vand- eller fedtfasen.

Projektet har vist, at kaseinat har gode antioxidantegenskaber i emulsioner. Denne viden kan udnyttes af mejeriingrediensindustrien til at designe nye frigivelsessystemer for stoffer, som er følsomme over for oxidation (fx omega-3-fedtsyrer).

Delprojektet om antioxidanternes virkningsmåde er delt op i yderligere tre dele:

1. Mekanistisk og kinetisk studie af interaktioner mellem forskellige antioxidanttyper med henblik på at opnå synergieffekter
2. Interaktioner mellem antioxidanter og emulgatorer på grænsefladen
3. Antioxidant effekt og antioxidant-emulgator interaktioner i funktionelle fødevarer

Disse er beskrevet mere detaljeret i det følgende.

English Summary

The project constitutes a large-scale research collaboration in which the objective is to elucidate the early oxidation processes in foods and the impact of natural antioxidants on these processes.

The project had two target areas:

1. Prediction of oxidation in complex food and synergies between antioxidants and other ingredients such as emulsifiers and natural coloring agents.
2. Impact of selenium content of foods on the oxidative status of the products as well as the nutritional value of such foods. The Seleno subproject was completed and reported in the final report of the Danish Dairy Research Foundation (Afslutningsrapport nr. 2008-94, "New Antioxidant Strategies for Consumer Health and Food Quality – Delprojekt om selen").

In foods, several reactions occur simultaneously, which makes it difficult to establish the exact synergism of the antioxidants. Therefore, we recommend three-step research to clarify the mechanisms between antioxidants and foods: (i) use of rapid kinetic methods in simple systems, (ii) use of relevant lipid oxidation analyses in simple, heterogeneous systems, and (iii) analysis of foods with antioxidants during the storage period. Several lipid oxidation indicators and the antioxidant consumption are monitored.

The project examined the interactions between quercetin and other chain-breaking antioxidants, between α -tocopherol or tocotrienols (α , γ , or δ) and carotenoids, between polyphenols from black chokeberry or black currant and α -tocopherol, between puerarin and β -carotene, between emulsifier and antioxidants, between different antioxidants and lettuce extract, and finally between antioxidants in cream cheese.

Relative to dairy products, below results are of specific interest:

Water-soluble plant phenols rapidly inactivate excited riboflavin and consequently act as good protection against light-induced oxidation in dairy products (e.g. yoghurt drink). Combinations of α -tocopherol and different flavonoids jointly protected against lipid oxidation, specifically with excess of flavonoids compared to α -tocopherol.

Combinations of α -tocopherol and quercetin showed synergistic effects against lipid oxidation in a cream cheese model system. The effect was dependent on whether oxidation had been started in the water or lipid phase.

The project results showed that caseinate has good antioxidant effects in emulsions. This knowledge could be utilized by the dairy ingredients industry to design new controlled release systems for components that are sensitive to oxidation (e.g. Omega-3 fatty acids).

The subproject on the antioxidant mode of action is subdivided into three parts:

1. Kinetics of oxidation in foods
2. Antioxidant emulsifier assembly at interfaces
3. Antioxidant effect and antioxidant/emulsifier interactions in functional food

These parts are described in more detail in the subsequent paragraphs.

Projektets resultater

Del 1: mekanistisk og kinetisk studie af interaktioner mellem forskellige antioxidanttyper med henblik på at opnå synergieffekter

Eleonora Miquel Becker & Leif H. Skibsted, KU-LIFE

Baggrund

Beskyttelse af fødevarer mod oxidativ nedbrydning kan opnås ved en kombination af forskellige procesparametre som bl.a. brug af antioxidant, optimering af temperatur og emballering. Velkendte antioxidant er ascorbinsyre (vitamin C), carotenoide og tocopheroler (fx vitamin E). Inden for plantephenolerne har flavonoider og anthocyanidiner særlig interesse pga. deres formodede, gavnlige sundhedsmæssige effekt. Antioxidanter fordeles forskelligt i fødevaren afhængig af deres opløselighed i vand og fedt. Denne distribution af antioxidant i de forskellige faser er af stor betydning, idet det antages, at oxidation især er udpræget på grænsefladerne mellem faserne, og da den initieres her. Den antioxidative effekt er ikke kun afhængig af antioxidanternes opløselighed og effektivitet mod lipidoxidationen, men også af de interaktioner mellem antioxidant, som kan føre til en ekstra effekt (synergi). Synergistiske interaktioner mellem tocopheroler og ascorbat er velbeskrevet, mens flere studierne af samspillet af andre typer antioxidant som fx carotenoide og polyphenoler er nødvendige.

Formål

I håbet om at øge den mekanistiske indsigt i sammenspillet mellem antioxidant i lipidoxidation er forskellige emner blevet undersøgt: (i) Kinetiske og termodynamiske data for kombinationer af antioxidant i homogene systemer, (ii) betydning af den hydrofile/lipofile balance samt forskelle i overfladeaktivitet for antioxidant i heterogene systemer og (iii) kombination af resultaterne fra (i) og (ii) til at opnå mekanistisk viden om antioxidanternes interaktion i heterogene systemer af stigende strukturel kompleksitet.

Resultater

De undersøgte antioxidant har forskellig hydrofil/lipofil balance og forskellig grænsefladeaktivitet. Deres antioxidative effekt blev undersøgt som enkeltkomponent og i indbyrdes kombination i forskellige lipidsystemer.

Interaktioner mellem quercetin og andre kædebrydende antioxidant

Den antioxidative effekt mod lipidoxidation af kombinationer af quercetin (en flavonol) og α -tocopherol, rutin (*O*-rutenosid af quercetin) eller astaxanthin (carotenoid) blev påvirket forskelligt i solsikkeolie (metode: Rancimat-test med høj temperatur for at initiere oxidationen), i en olie-i-vand-emulsion (metode: iltmåling med metmyoglobin som prooxidant) og i phospholipid-liposomer (måling af konjugerede diener, med vandopløselig azo-initiator som prooxidant). Quercetin var mindst lige så effektiv som α -tocopherol i alle tre systemer. Kombinationer af quercetin med α -tocopherol viste en tydelig synergistisk effekt i emulsioner og en svag synergi i liposomerne, mens kombinationen var antagonistisk (med modsat virkning) i ren solsikkeolie. Astaxanthin forstærkede ikke effekten af quercetin og havde alene kun en svag antioxidativ effekt i emulsionen. Rutin var kun effektiv som antioxidant i liposomerne, hvor den viste en tydelig synergistisk effekt med quercetin.

For at definere mekanismen bag den synergistiske effekt mod lipidoxidationen for kombinationen af α -tocopherol og quercetin, blev der udført en undersøgelse i et modelsystem. Systemet bestod af tert-butyl alkohol (solvent), methyl linoleate (lipid), en azo-forbindelse som prooxidant (AIBN, α, α' -azobis-isobutyronitril) ved en temperatur på

50°C. De to antioxidanter blev tilført systemet og forbrug af antioxidanter blev fulgt over tid. α -Tocopherol blev forbrugt først når tilsat alene, hvilket tyder på, at α -tocopherol er den mest effektive antioxidant. Ved tilstedeværelse af begge antioxidanter var koncentrationen af quercetin konstant indtil α -tocopherol blev brugt op. Disse resultater tyder på, at quercetin bliver regenereret af α -tocopherol, men at denne regenerering ikke medførte synergi. Denne mangel af synergi sammenlignet med den tydelige synergi vist i emulsionerne kan muligvis forklares i forskellen i matrice (homogen vs. heterogen).

Interaktioner mellem α -tocopherol eller tocotrienoler (α , γ , eller δ) og carotenoider (i samarbejde med Uniplantation, Malaysia)

Denne undersøgelse er baseret på 1) stegeeksperimenter med kartofler i palmeolie, hvor indholdet af phenolerne og carotenoider i olien blev fulgt efter gentagne stegninger, 2) eksperimenter hvor ændringen i lag-phase for lipidoxidationen i liposomerne blev fulgt efter tilsætning af antioxidanter alene eller i kombinationer to og to (metode: bestemmelse af konjugerede diener, vandopløselig azo-initiator som prooxidant) og 3) eksperimenter hvor dannelsen af phenol- eller carotenradikaler i chloroform blev fulgt vha. laser flash photolyse. I stegeeksperimenterne blev antioxidanter forbrugt i rækkefølgen: β -caroten > γ -tocotrienol >> α -tocotrienol \approx α -tocopherol \approx δ -tocotrienol. Tilstedeværelsen af β -caroten beskyttede delvist phenolerne mod oxidation i olien. I liposomerne fulgte den antioxidantive effekt den samme rækkefølge som i olien, hvor β -caroten var mindst effektiv. Tydelige synergistiske effekter blev vist for kombinationer af phenolerne med carotenoiderne. Ud fra forsøg med laser flash photolyse blev der foreslået, at mekanismen bag interaktionen er, at carotener bliver oxideret først og dermed beskytter phenoler mod lipidradikaler.

Interaktioner mellem polyphenoler fra aronia eller solbær og α -tocopherol

Aronia (surbær) har et usædvanlig højt indhold af polyphenoler og hydroxykaneltsyre-derivater, hvilket gør juicen fra aronia meget interessant som potentiel kilde af effektive antioxidanter. Aroniasaft anvendes i flere mejeriprodukter som frugttilsætning. Interaktioner af aronias antioxidanter og α -tocopherol blev undersøgt i liposomer. Phenolerne fra Aronia viste synergi, idet de beskyttede α -tocopherol mod oxidation i liposomer. Kombinationen af α -tocopherol med solbær viste derimod kun en additiv effekt mod lipidoxidation. Mekanismen bag synergien er, at enten i) bliver phenolerne fra aronia oxideret først, hvorved de beskytter tocopherolen mod lipidoxidationen, indtil alle phenoler er brugt op, eller ii) α -tocopherol indgår først i oxidationen, men bliver regenereret af phenolerne. Den synergistiske effekt kan også være resultat af en kombination af begge mekanismer. Det var overraskende, at ascorbinsyre fra solbær ikke virkede synergistisk med α -tocopherol.

Interaktioner mellem puerarin og β -caroten

Puerarin, et isoflavonoid C-glykosid fra roden af planten *pueraria lobata*, som anvendes i Kina som plantemedicin, blev valgt i denne undersøgelse pga. dens simple struktur med kun to phenolgrupper, dens gode opløselighedsegenskaber og gode stabilitet i opløsninger. Den antioxidantive effekt mod lipidoxidation i liposomer blev undersøgt for puerarin alene eller i kombination med β -caroten. Derudover blev puerarins syre/base-egenskaber undersøgt i vandige opløsninger for at kunne forstå ndflydelse af pH på puerarins antioxidantive effekt. Puerarin var en bedre antioxidant end 7-propylpuerarin og 4'-propylpuerarin, hvilket var i overensstemmelse med deres oxidationspotentiale. I liposomer, hvor oxidationen blev initieret med en vandopløselig initiator, var effekten af puerarin eller β -caroten svag, og kombinationer af disse antioxidanter viste kun en additiv effekt. Initiering af oxidationen med en fedtopløselig azo-initiator viste, at β -caroten øgede puerarins antioxidantive effekt, idet carotenoidet er placeret i lipidfasen sammen med azo-initiatoren, mens puerarin havde en mindre effekt pga. dens placering væk fra oxidationens

initiering. Kombinationerne af phenol og carotenoid viste derimod en tydelig synergistisk effekt, hvilket kunne forklares med at puerarin (den deprotonerede form) er i stand til at regenerere β -caroten.

Interaktioner mellem emulgator og antioxidanter (samarbejde med DFU)

To lagringsforsøg blev opstillet for at undersøge interaktioner mellem emulgator, antioxidanter, jern og pH i en olie-i-vand-emulsion. I forsøg 1 blev pH (3 og 6) og forskellige antioxidanter (kaffesyre, rutin, naringenin og en kontrol) undersøgt sammen med den kommercielle fødevareremulgator, Citrem. I forsøg 2 blev emulgator (Citrem eller Tween) og antioxidanter (kaffesyre, kumarinsyre og en kontrol) undersøgt i emulsionen med pH 6. ESR-forsøg blev udført vha. spinfanger for at kvantificere radikaldannelse. I begge forsøg viste ESR-målingerne, at tilsætning af jern medførte en høj dannelse af spinaddukt, som blev forøget over tid. I forsøg 1 var der større grad af oxidation i emulsioner ved pH 3 end ved pH 6, og de tilsatte antioxidanter havde ingen antioxidativ effekt. I det andet forsøg var oxidationen påvirket af typen af antioxidant, mens typen af emulgator ikke havde en tydelig effekt – for nogle prøver var der højere radikaldannelse med Tween og under andre betingelser var radikaldannelsen højere med Citrem.

Kanel i cappuccinopulver (samarbejde med Teknologisk Institut)

Formålet var at klarlægge, om kanel har en antioxidativ effekt i cappuccinopulver under forskellige betingelser: temperatur: 35°C/ 20°C og luftfugtighed: 75 % RH/ 23 % RH. Kanel havde ingen effekt i cappuccinopulveret lagret i 14 uger. Produktet var stabilt over for oxidation målt ved ESR og gaschromatografi. Cappuccinopulver havde et højt indhold af Maillardprodukter, som blev nedbrudt under lagring ved høj fugtighed pga. den høje mobilitet i matricen.

Interaktioner mellem forskellige antioxidanter og salat-ekstrakt

Et vandopløseligt ekstrakt af hovedsalat havde en antioxidantiv effekt mod lipidoxygenationen i liposomer målt som konjugerede diener. Tilsætning af α -tocopherol eller quercetin havde en synergistisk effekt mod lipidoxygenationen både ved brug af en vandopløselig eller fedtopløselig azo-initiator. Tilsætning af ascorbinsyre viste den samme lagphase med eller uden salatekstrakt. Opvarmning af salatekstraktet (80°C i 10 min) havde ingen effekt på lagphasen, men øgede den synergistiske effekt ved tilsætning af α -tocopherol eller quercetin, muligvis pga. inaktivering af enzymet, polyphenoloxidase.

Interaktioner mellem antioxidanter i flødeost

Riboflavin-modelsystem

De vandopløselige plantephenoler rutin, (+)-catechin og (-)-epigallocatechigallate var effektive quencherer af triplet-exiteret riboflavin i vandige opløsninger målt vha. laser flash photolyse. Deaktivering af triplet-riboflavin fulgte anden ordens reaktionskinetik med reaktionshastigheder nær det diffusionskontrollerede. Ingen synergistiske effekter blev observeret for kombinationer af disse antioxidanter. Den store effekt over for inaktivering af triplet-exiteret riboflavin gør antioxidanterne interessante i forhold til lysinduceret oxidation i mejeriprodukter, som fx drikkeyoghurt, med tilsætning af frugt eller grøn te.

Flødeostmodelsystem

Den antioxidative effekt mod lipidoxygenation af α -tocopherol, quercetin, (+)-catechin, rutin og β -caroten blev undersøgt i flødeost. Oxidationen blev initieret enten vha. en vandopløselig eller en fedtopløselig azo-initiator, og oxidationen blev målt ved dannelse af flygtige komponenter (GC-headspace). Initiering af lipidoxygenationen i fedtfasen blev kun mindsket af α -tocopherol og quercetin. Når oxidationen blev initieret fra vandfasen, blev der kun målt en lav koncentration af flygtige komponenter og kun høje koncentrationer af

α -tocopherol og quercetin kunne reducere dem yderligere. Kombinationer af α -tocopherol og quercetin var kun synergistiske i de prøver, hvor oxidationen blev initieret i fedtfasen.

Konklusion

Kombinationer af α -tocopherol og forskellige flavonoider udviste synergi i lipidoxidationen, især når flavonoider var i overskud i forhold til α -tocopherol. Synergistiske effekter blev fundet både i homogene og heterogene systemer. Forskellige virkningsmekanismer er mulige: (i) regenerering af α -tocopherol, som er den mere effektive antioxidant, af flavonoider, en effekt der bliver forstærket af den fysiske adskillelse mellem flavonoider og lipidradikaler i heterogene systemer eller (ii) "offeroxidation" af flavonoider, hvorved de beskytter tocopherolerne imod radikaler dannet i vandfasen. Synergistiske effekter blev også vist for kombinationer af tocopheroler og carotenoider. Disse effekter var mere udtalte, når tocopherolerne var i overskud sammenlignet med carotenoiderne. Forskellige mekanismer er igen mulige: (i) "Offeroxidation" af carotenoider, hvor oxidationsprodukter fra carotenoider regenererer tocopheroler eller hvor carotenoider er det primære oxidationssubstrat, (ii) tocopheroler som regenererer carotenoider eller (iii) for lysinduceret lipidoxidation, en kombination af forskellige virkningsmekanismer, hvor carotenoider agerer som singlet oxygen quencher og tocopheroler som radikal scavenger. Dermed beskytter de hinanden mod reaktive oxygenspecies. Mekanismen bag samspillet mellem flavonoider og carotenoider kræver flere undersøgelser, men ud fra det eksperimentelle arbejde udført for puerarin og β -caroten er synergistiske effekter mulige under neutrale og basiske betingelser, når oxidationen er startet i fedtfasen. Den foreslåede mekanisme er en regenerering af β -caroten af deprotoniseret puerarin. I levnedsmidler opererer flere mekanismer samtidigt, og denne diversitet af reaktioner gør, at konklusioner om eksakte virkningsmekanismer er nærmest umulige. Derfor er en trinvis undersøgelse nødvendig for at klarlægge mekanismer mellem antioxidant i levnedsmidler: (i) brug af hurtige kinetiske metoder i simple systemer, (ii) brug af relevante lipidoxidationsanalyser i simple heterogene systemer og (iii) analyse af levnedsmidler tilsat antioxidant under lagring, hvor flere lipidoxidationsindikatorer samt antioxidantforbrug følges.

Del 2: Interaktioner mellem antioxidant og emulgatorer på grænsefladen

Björn Bergenståhl, Evelin Kalda og Lars Nilsson, Lunds Universitet

Formål

Polyphenoler har vist antioxidant aktivitet i forskellige systemer. Især hydrofobe antioxidant har udvist høj aktivitet i olie-i-vand-emulsioner, mens hydrofile antioxidant virker bedst i fedtholdige systemer (det polære paradox). Disse observationer har ført til den påstand, at lokalisering af antioxidant i grænsefladen mellem vand og olie er nødvendigt for at opnå en høj antioxidant effekt. Formålet er derfor at undersøge, om der opstår synergier og antagonier mellem polyphenoler og emulgatorer i grænsefladen igennem "competitive adsorption".

Resultater

Emulsioner med forskellige emulgatorer og antioxidant blev fremstillet (se Tabel 1).

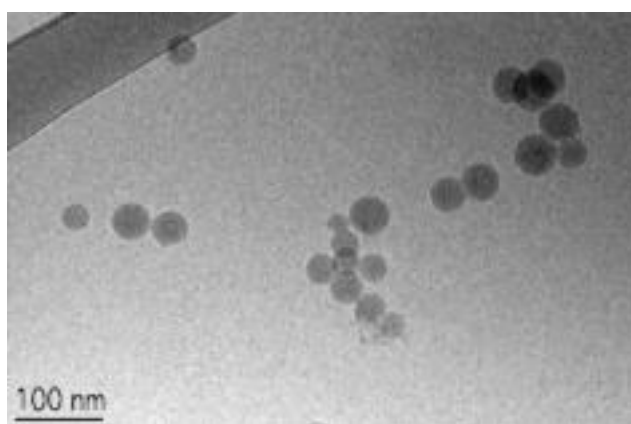
Tabel 1. Emulgatorer og antioxidanter brugt i forsøget.

Emulgator	Antioxidant
Citronstyre-esterificerede monodiglycerider	Catechin
Monodiglycerider	Rutin
Phosphatidylcholin (fra soyabønner)	Naringenin
Etoxylerede sorbitanestre (Tween 80)	Kaffesyre
Natriumkaseinate	Kumarinsyre

Overfladeaktiviteten blev undersøgt, og det var især naringenin, der kunne vekselvirke med grænsefladen. Hvert andet eller tredje molekyle på grænsefladen var et naringenin-molekyle. De andre antioxidanter udgjorde kun 10% af de molekyler, der fandtes på grænsefladen. Med baggrund i resultaterne opnået fra antioxidanter på DFU og KU-LIFE kunne der ikke konstateres en sammenhæng mellem den antioxidative aktivitet og vekselvirkningen af antioxidanterne med grænsefladen. En af grundene kunne være den lave opløselighed af polyphenolerne, hvilket resulterede i udfældning. Emulgatorer kunne eventuelt øge polyphenolernes opløselighed i et færdigt formuleret system.

For at finde ud af, om emulgatorer øger opløseligheden, og om der er en sammenhæng mellem overfladeadsorption og antioxidativ effekt, blev der lavet forsøg med dynamisk lysspredning for at karakterisere partiklerne af en overmættet opløsning af naringenin. Resultaterne viste, at en 100 ppm opløsning var ustabil og gradvist dannede bundfald. Allerede efter 20 minutter blev der dannet partikler i størrelsesordenen 500 nm, og efter 3 dage kunne der ses krystaller i bunden af beholderen. Ved tilstedeværelse af en emulgator (Tween 80, polysorbate, 0,5%) blev der derimod dannet partikler i nanostørrelse (120 nm) som var stabile og dispergeret i opløsningen i flere dage. Muligvis forklarer dannelsen af disse partikler den observerede antioxidative effekt.

Der blev også vist vha. Cryo-TEM (figur 1) og dynamisk lysspredning, at de vandopløselige phenoler, kaffesyre og kumarinsyre dannede stabile partikler ved tilstedeværelsen af lave koncentrationer af prooxidative kationer som Fe^{2+} .



Figur 1. Nanopartikler af kaffesyre (100 ppm) i en 10 mM $FeSO_4$ -opløsning vha. cryo-TEM. Det mørke objekt i øverste venstre hjørne er den karbonfiber, der blev brugt til at holde prøven i mikroskopet.

Konklusion

Hypotesen baseret på, at polyphenoler vekselvirker med emulgatorer og danner en fælles grænseflade blev ikke understøttet af de udførte forsøg. Det ser ud til, at polyphenoler er

mere aktive som nanopartikler end i en opløst form. En vigtig konklusion er derfor, at oxidationen snarere foregår som en heterogen proces i en multifase system. Det gælder også antioxidanternes virkning.

Del 3: Antioxidant effekt og antioxidant-emulgator interaktioner i funktionelle fødevarer

Charlotte Jacobsen, Ann-Dorit Moltke Sørensen og Anne-Mette Haahr, DFU.

Formål

Formålet med dette delprojekt har været at undersøge sammenhængen mellem den fysiske lokalisering af udvalgte antioxidant i emulsioner og deres antioxidative effekt, og at undersøge hvordan emulgatorer kan udnyttes på rationel vis til at reducere lipidoxidation i emulsioner. Det har også været et vigtigt mål at undersøge antioxidant-emulgator interaktioner og disses effekt på lipidoxidationsprocesserne i emulsioner.

Resultater

Undersøgelserne vedr. fysisk lokalisering af antioxidant er blevet udført på Lund Universitet og er rapporteret overfor under del 2.

Optimering af modelsystem

Indledningsvis blev et antal emulgatorer (Dimodan, Citrem, Tween, lecitin og natriumkaseinat) udvalgt til de efterfølgende forsøg. Modelsystemet bestod af 10 % olie-i-vand (o/v)-emulsioner med 1% emulgator. For hver af emulgatorerne blev der fremstillet emulsioner med to forskellige pH-værdier (3 og 6). Dernæst blev procesbetingelserne for produktionen af disse emulsioner optimeret for at opnå emulsioner med en tilfredsstillende dråbestørrelse og fysisk stabilitet. På baggrund af disse forsøg kunne det konkluderes, at Dimodan ikke kunne bruges som emulgator til de efterfølgende forsøg, da det ikke var muligt at producere fysisk stabile emulsioner.

Evaluering af emulgatorens effekt på emulsionernes oxidative stabilitet:

Der blev dernæst udført lagringsforsøg med emulsioner baseret på de resterende emulgatorer (en emulgator pr. emulsion). Emulsioner med hhv. pH 3 og pH 7 blev fremstillet. Oxidationen blev bestemt ved at måle peroxidtal og sekundære flygtige oxidationsprodukter, sidstnævnte ved anvendelse af dynamisk headspace GC-MS. Dråbestørrelsen og dråbernes ladning blev også målt. Forsøget blev gentaget flere gange for at bekræfte resultaterne, som viste, at oxidationshastigheden afhang af emulgator typen som følger: Tween80 > Citrem > lecithin > natriumkaseinat. Derudover var oxidationen signifikant hurtigere ved pH 3 end ved pH 7. Den prooxidative effekt af jern, og den antioxidative effekt af EDTA blev også undersøgt. Det blev vist, at jern var prooxidativ, mens EDTA effektivt beskyttede mod den jernkatalyserede oxidation uanset hvilken emulgator, der blev benyttet. Resultaterne viste også, at oxidationen til en vis grad afhang af dråbernes ladning. Sammenhængen mellem dråbernes ladning og den oxidative stabilitet var dog relativ kompleks, og der er brug for mere forskning for fuldstændigt at forstå, under hvilke omstændigheder dråbernes ladning påvirker den oxidative stabilitet, og i hvilket omfang andre faktorer som grænsefladens tykkelse og sammensætning påvirker oxidationshastigheden.

Senere i projektet er det også blevet undersøgt om livetin, et æggeblommeprotein, kan virke som en tilfredsstillende emulgator i modelsystemet. Resultaterne viste, at dette er tilfældet. Derfor blev der efterfølgende udført et lagringsforsøg, hvor oxidationshastigheden i emulsioner med hhv. livetin og natriumkaseinat blev sammenlignet. Der blev anvendt to

forskellige emulgator-koncentrationer (0,2 og 0,75 %) og tre pH-værdier (3,0, 6,5 og 7,5) med henblik på at undersøge, i hvilken grad olie-vand-grænsefladens tykkelse og dråbernes ladning influerede på oxidationen. Resultaterne viste tydeligt, at oxidationen forløb hurtigere i emulsioner med livetin end i emulsioner med kaseinat. For begge emulsioner var oxidationen hurtigst ved den laveste emulgator-koncentration. Dette kunne indikere, at grænsefladelaget blev tykkere ved højere emulgator-koncentrationer, og at dette medførte en bedre beskyttelse mod oxidation. Effekten af pH afhang af emulgator-type og koncentration.

Evaluering af emulgator/antioxidant-interaktioner

Indledningsvis udførtes et antal mindre forsøg for at udvælge antioxidanter og emulgatorer til de efterfølgende forsøg, hvor emulgator/antioxidant-interaktioner skulle undersøges nærmere. På baggrund af de opnåede resultater blev Tween og Citrem valgt som emulgatorer, og de phenoliske stoffer, kaffesyre, rutin, naringenin og kumarinsyre blev valgt som antioxidanter. To forsøg med følgende formål blev dernæst udført: 1) At evaluere hvordan interaktioner mellem antioxidanter og emulgatorer påvirker antioxidanternes effekt, 2) At evaluere effekten af pH på antioxidanternes effekt ved anvendelse af forskellige emulgatorer, 3) At evaluere effekten af antioxidanterne, når der tilsættes jern til emulsionerne.

I det første forsøg blev den antioxidative effekt af naringenin, rutin og kaffesyre evalueret i emulsioner med Citrem som emulgator. Emulsionernes pH var 3 eller 6. I det andet forsøg blev enten Citrem eller Tween anvendt som emulgator og alle emulsionernes pH var 6. I disse forsøg blev antioxidanterne, kaffesyre og kumarinsyre, evalueret. I begge forsøg tilsattes jern til halvdelen af koderne. Oxidationen blev målt på samme måde som oven for bortset fra, at KU-LIFE også målte niveauet af frie radikaler ved elektron-spin-resonansmålinger.

Resultaterne viste, at pH havde en meget stor betydning for oxidationen, når jern var til stede. Ved pH 3 synes de phenoliske stoffer at være mere aktive i at reducere Fe^{3+} til Fe^{2+} end ved pH 6, og dette gav anledning til øget lipidoxidation ved pH 3. Det kunne også konkluderes, at den fysiske lokalisering af antioxidanterne ikke er den eneste vigtige faktor, som bestemmer antioxidanternes effekt i emulsioner, hvor oxidationen er katalyseret af jern. Det blev således observeret, at den eneste overfladeaktive polyphenol, naringenin, kun havde en svag antioxidativ effekt. Derudover udviste den mest vandopløselige polyphenol, kaffesyre, forskellige effekter afhængig af pH og emulgator-type, selvom den ikke adsorberede til grænsefladen i nogle af emulsionerne. Den var således en stærk prooxidant ved pH 3 (med og uden jern), mens dens effekt ved pH 6 afhang af emulgator-typen og af tilstedeværelsen af jern. Når Tween blev brugt som emulgator fremmede kaffesyre dannelsen af flygtige oxidationsprodukter, men når Tween blev erstattet med Citrem, havde kaffesyre ingen effekt på dannelsen af flygtige oxidationsprodukter, når jern var til stede, mens den i den samme emulsion uden jern så ud til at have en svag antioxidativ effekt. Resultaterne indikerede også, at der ved pH 6 kan dannes jern-phenolkomplekser/nanopartikler, men flere studier er nødvendige for at belyse deres effekt på lipidoxidation.

Dermed kunne det konkluderes, at andre faktorer såsom 1) den elektriske ladning af emulgatorer og antioxidanter, 2) antioxidanternes evne til at danne komplekser med jern og/eller til at reducere Fe^{3+} til Fe^{2+} , hvilket synes særlig vigtig for kaffesyre, 3) den fysiske struktur af emulgatoren, som kan influere på antioxidanternes og jerns evne til at interagere, 4) emulgatorens evne til at chelere metalioner også synes at være vigtige for antioxidanternes effekt i emulsioner. Dermed synes den såkaldte "polære paradoks"-hypotese at være for simpel til at forklare de komplekse mekanismer bag antioxidanternes effekt i

flerfase-systemer, hvor oxidation er katalyseret af metalioner. Denne "polære paradoks"-hypotese har ellers i en del år været brugt til at forklare og til dels forudsige hhv. polære og upolære antioxidanters virkning i olier versus emulsioner.

Konklusioner

De opnåede resultater har vist, at emulgatorarten har signifikant betydning for emulsionens oxidative stabilitet, og at det er muligt at reducere oxidationen ved at vælge den rigtige emulgator. Vi har stadig ikke fuld forståelse for mekanismerne bag emulgatorers evne til at influere på oxidation, men faktorer som dråbernes ladning og grænsefladens sammensætning/tykkelse synes at være vigtige. Resultaterne har også vist, at emulgator/antioxidant-interaktioner er komplekse, og at tilstedeværelsen af jern øger kompleksiteten af disse interaktioner. De opnåede resultater har bidraget til en øget forståelse af, hvilke typer interaktioner der er tale om, og hvordan de kan påvirke oxidationen, men der er stadig behov for yderligere forskning i dette område. Dette er især tilfældet, når resultaterne skal anvendes til produktion af levnedsmiddelemulsioner og ikke kun i de simple emulsioner, som vi har arbejdet med i dette projekt.

Project Results

Part 1: Kinetics of Oxidation in Foods

Eleonora Miquel Becker & Leif H. Skibsted, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen.

Aim and Background

Lipid oxidation is recognized as one of the major causes of quality deterioration of processed foods. One of the most effective means of retarding lipid oxidation in fatty foods is to incorporate antioxidants. Natural antioxidants are mainly available as herbal extracts containing mixtures of several compounds with antioxidative properties. When mixtures of natural antioxidants are added to a product, the antioxidants may interact with each other and with endogenous antioxidants present in most fatty foods. Some combinations of antioxidants exert synergism, which is a phenomenon where a number of compounds when present together in the same system have a more pronounced effect than the effect which would be derived from a simple additivity concept. In order to obtain a deeper mechanistic understanding of the interactions between different phenolic compounds and between phenolic compounds and carotenoids during lipid peroxidation, several related topics were investigated: (i) Kinetic and thermodynamic data for combinations of antioxidants in homogeneous systems, (ii) influence of the hydrophilic/lipophilic balance of the antioxidants and the difference in surface activity for the antioxidant interaction in heterogeneous systems, and (iii) use of combinations of the results obtained in (i) and (ii) to obtain mechanistic information on the interaction of antioxidants in heterogeneous systems of increasing complexity.

Results and Conclusions

Combinations of α -tocopherol and various flavonoids exerted antioxidant synergism during lipid oxidation, especially when flavonoids were in excess compared to the tocopherols. These synergistic effects have been observed in homogeneous as well as heterogeneous systems. Several mechanisms under two main headings are possible: (i) regeneration of tocopherols as the better antioxidant by the flavonoids; an effect, which can be further enhanced by a physical separation of the flavonoid from the lipid-derived radicals in the heterogeneous system, or (ii) sacrificial oxidation of the flavonoids, in effect protecting the tocopherols against radicals generated in the water phase. For combinations of tocopherols and carotenoids, synergistic effects in lipid oxidation were more pronounced for combinations with excess of tocopherols compared to carotenoids. Again several mechanisms are proposed: (i) sacrificial oxidation, where either carotenoid degradation products regenerate the tocopherols or where the carotenoids are the primary oxidation substrate, (ii) regeneration of the carotenoids by the tocopherols, or (iii) for photoinduced oxidation by a combination of different mechanisms, where the carotenoids act as singlet oxygen quenchers and tocopherols as radical scavengers, thus protecting each other against reactive oxygen species. The effect of combinations of flavonoids and carotenoids on lipid oxidation needs more experimental work, but it seems from the study of the isoflavonoid, puerarin, and β -carotene that a synergistic effect is possible under neutral and basic conditions via regeneration of the carotenoid by the isoflavonoid, when oxidation is initiated in the lipid phase. In real food systems, several mechanisms may act simultaneously and this diversity of reactions makes conclusions on exact mechanisms in complex systems almost impossible. Thus, experimental work including different model system or assays together with the actual real food product is necessary to elucidate the mechanism of antioxidant interaction.

Part 2. Antioxidant Emulsifier Assembly at Interfaces

Björn Bergenståhl, Evelin Kalda, and Lars Nilsson, Livsmedelsteknologi, Lund University.

Aim and Background

Antioxidant activity has been possible to show with polyphenolic antioxidants in emulsions under various conditions. Particularly high activity has been observed with hydrophobic antioxidants in water-rich systems and with hydrophilic antioxidants in oil-rich systems (the so-called polar paradox). These observations have led to the conclusion that the localisation of the antioxidant at the interface is crucial to its activity. Based on this we expected that there should be synergies and anti-synergies between emulsifiers and polyphenolic antioxidants through competitive adsorption.

Results and Conclusions

Emulsion with different emulsifiers (citric acid esterified monodiglycerids, monodiglycerides, phosphatidylcholine, Tween 80, and sodium caseinate) have been manufactured and equilibrated with polyphenolic antioxidants (catechin, rutin, naringenin, caffeic acid and cumaric acid).

The surface activity was investigated and we found that in particular naringenin displayed an ability to interact with interfaces and interfacial layers. The adsorbed material corresponded to every second or third molecule in the interfacial layer. With the other polyphenols we found that less than 10% of the molecules forming the surface layer were of polyphenolic origin. Based on these observations it seemed unclear if the surface layer could explain the antioxidant activity previously observed in these systems. A second, observed problem was the poor solubility that made it difficult to prepare samples for the experimental work due to precipitation of the polyphenols due to poor solubility. Eventually, it would also be possible that the emulsifiers improve the solubility of the polyphenols in the final systems.

To investigate these hypotheses further we made dynamic light scattering experiments to characterise the particles from an oversaturated solution of naringenin. The results showed that a 100 ppm solution is unstable and precipitates gradually. Already after 20 minutes, 500 nm sized particles are formed, and after 3 days clear crystals can be observed at the bottom of the container. However, in the presence of emulsifier (Tween 80, polysorbate, 0.5%) stable nano-sized particles around 120 nm were formed and remained stable for several days in the dispersed state. We may here only speculate if these particles may be an explanation to observed technical antioxidant activity.

We have also shown, using Cryo-TEM and dynamic light scattering, that comparable water soluble polyphenolic antioxidants such as caffeic acid and cumaric acid can form stable particles when precipitated together with a low concentration of prooxidative cations such as Fe (II).

The general hypothesis that the polyphenolic antioxidants interact with the emulsifier and form a combined interfacial layer seems not to hold. Additionally, it seems like the polyphenolic antioxidants in many situations are more active as nano-precipitates than in a solubilised state. An important consequence of this is that the oxidation process rather is of a heterogeneous nature in a multiphase system. We believe that these observations may pave the way for further studies in the area.

Part 3. Antioxidant Effect and Antioxidant/Emulsifier Interactions in Functional Food

Charlotte Jacobsen, Ann-Dorit Moltke Sørensen, and Anne-Mette Haahr, National Institute of Aquatic Resources, DTU

Aim and Background

The objectives of this sub-project have been to investigate the relationship between the physical localisation of selected antioxidants in emulsions and their antioxidative effect, and to determine how emulsifiers rationally can be used to reduce lipid oxidation in emulsions. An important goal has also been to understand antioxidant/emulsifier interactions and their effect on lipid oxidation processes in emulsions.

Results and Conclusions

The results obtained have shown that the emulsifier type significantly influences oxidative stability and that it is possible to reduce oxidation by selecting the right emulsifier. The mechanisms behind emulsifier's ability to affect oxidation is not yet fully understood, but factors such as surface charge and interface composition/thickness seem to be important. We expect that the livetin experiment will provide more information about the importance of the different factors. The data have also shown that emulsifier-antioxidant interactions are complex and that the presence of iron increases the complexity of the interactions. The results have contributed to an increased understanding of these interactions, but there is a need for more investigations in this area. This is particularly important if the results should be used in connection with the production of real food emulsions and not only for the relatively simple systems, we have worked with.

Publikationer og offentliggørelse i forbindelse med projektet

Artikler i internationale tidsskrifter

Becker, E.M., Cardoso, D.R., & Skibsted, L.H. Deactivation of riboflavin triplet-excited state by phenolic antioxidants: mechanism behind protective effects in photo-oxidation of milk-based beverages *European Food Research and Technology* 2005, 221: 382-386.

Becker, E.M., Joergensen, S.S., Andersen, M.L. & Skibsted, L.H. Mechanism of antioxidant interaction of α -tocopherol on quercetin in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate, Indsendes til *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Becker, E.M., Madsen, L.S. & Skibsted, L.H. The effect of cinnamon in the stability of cappuccino powder, Indsendes til *Milchwissenschaft*.

Becker, E.M.; Nissen, L.R. & Skibsted, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology* 2004, 219: 561-571.

Becker, E.M., Ntouma, G. & Skibsted, L.H. Synergism and antagonism between quercetin and other chain-breaking antioxidants in lipid systems of increasing structure organisation. *Food Chemistry* 2007, 103 (4): 1288-1296.

Becker, E.M., Schou M.F., Andersen, M.L. and Skibsted, L.H. Protection of cream cheese by combinations of α -tocopherol and plant phenols as antioxidants, *Milchwissenschaft – Milk Science International* 2008, 63 (1): 57-61.

Graversen, H.B., Becker, E.M., Skibsted, L.H. & Andersen, M.L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) but not blackcurrant (*Ribes nigrum*) protects α -tocopherol against oxidation. *European Food Research and Technology* 2008, 226 (4): 737-743.

Haahr, A.-M., & Jacobsen, C. Emulsifier type, metal chelation and pH affect oxidative stability of omega-3 enriched emulsions, *European Journal of Lipid Science and Technology* 2008, 110: 949-961.

Jacobsen, C., Let, M.B., Sørensen, A.-D.M., Horn, A.F., Timm-Heinrich, M., & Nielsen, N.S. Applications of natural antioxidants in omega-3 enriched foods. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2008, 7: 3288-3295.

Nilsson, L., Löf, D., Schillen, K. & Bergenståhl, B. Nanoprecipitates of polyphenolic antioxidants (*indsendes til Journal of the Science of Food and Agriculture*)

Nilsson, L., Löf, D., Schillen, K. & Bergenståhl, B. Solubilisation and precipitation of polyphenolic antioxidants in a micellar emulsifier solution (*indsendes til Colloids and Surfaces*)

Rui-Min Han, Yu-Xi Tian, Eleonora Miquel Becker, Mogens L. Andersen, Jian-Ping Zhang, Leif H. Skibsted. Puerarin and conjugate bases as radical scavengers and antioxidants: Molecular mechanism and synergism with β -carotene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55 (6): 2384-2391.

Schroeder, M.T., Becker, E.M. & Skibsted L.H. Molecular Mechanism of Antioxidant Synergism of Tocotrienols and Carotenoids in Palm Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006, 54 (9): 3445-3453.

Sørensen, A.-D.M., Haahr, A.-M., Becker, E.M., Skibsted, L.H., Bergenståhl, B., Nilsson, L. & Jacobsen, C. Interactions between iron, phenolic compounds, emulsifiers, and pH in omega-3 enriched oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008, 56 (5): 1740-1750.

En publication om livetinforsøgene er undervejs og skrives sammen med Bjørn Bergenståhl og Lars Nilsson fra Lunds Universitet.

Resultaterne vedrørende kaffe- og kumarinsyre inkluderes i en reviewartikel om antioxidative effekter af kaffesyre i forskellige fiskeprodukter. Manuskriptet skrives sammen med partnerne i EU-projektet, SEAFOODplus.

Populærvideenskabelige artikler

Becker, E.M. Lund-Nielsen, T., Skibsted, L.H. & Nielsen, J.H. Antioxidanternes virkningsmekanisme – Fokus på lipoxidation i mælk og mejeriprodukter, *Mælkeritidende* 2004, 5: 106-111.

Becker, E.M, Schrøder, M.T. & Skibsted, L.H., Palmeolie som functional food, *Ingeniøren*, 2006, 35: 7.

Studenteropgaver

Ph.d.-afhandling:

Becker, E.M. Interactions between natural antioxidants in lipid systems of increasing structural organization. Ph.d.-afhandling, KU-LIFE, marts 2007.

Master og bacheloropgaver:

Bachelorprojekt: "Antioxidativ effekt af Aronia" af Heidi B. Graversen. Vejledere: Eleonora Miquel Becker, Mogens L. Andersen og Leif H. Skibsted.

Specialeprojekt: "Tocotrienoler som antioxidanter i palmeolie" af Maria Therese Schrøder. Vejledere: Eleonora Miquel Becker og Leif H. Skibsted.

Leonardo-studerende fra Department of Chemistry, Section of Industrial and Food Chemistry, University of Ioannina, Greece: "Effekt af antioxidanter i liposomer" af Georgia Ntouma. Vejledere: Eleonora Miquel Becker og Leif H. Skibsted.

Bachelorprojekt: "Brug af naturlige antioxidanter i flødeost – rosmarinekstrakt og α -tocopherol" af Mette Møller Andersen. Vejledere: Eleonora Miquel Becker, Mogens L. Andersen og Lene Vognsen (Arla Foods).

Bachelorprojekt: "Brug af naturlige antioxidanter i Ghee" af Sandra Wind. Vejledere: Eleonora Miquel Becker, Mogens L. Andersen og Lene Vognsen (Arla Foods).

Tyrkisk ph.d.-studerende: Arzu Altunkaya, Hacettepe University, Faculty of Engineering Food Engineering Department, 06800 Beytepe/Ankara TURKEY, "Antioxidant activity of lettuce extract (*L. sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants and detection of radicals during lettuce enzymatic processes". Vejledere: Eleonora Miquel Becker og Leif H. Skibsted.

Indlæg ved faglige kongresser, symposier, etc.

Becker, E.M., Fast, M.F., Graversen, H., Ntouma, G., Andersen, M.L. & Skibsted, L.H. Mundtlig præsentation "Synergy between antioxidants in lipid systems of increasing structural organization" til 98th AOCS Annual Meeting & Expo, Quebec City Convention Centre, Quebec City, Canada, 13.-16. maj 2007.

Becker, E.M., Schrøder, M.T., Graversen, H., Andersen, M.L. & Skibsted, L.H. Poster "Synergistic effects of natural antioxidants in lipid peroxidation" ved konferencen "Nutrigenomics and Health – from vision to food" organiseret af LMC i København d. 15.-16. marts 2006.

Becker, E.M., Schrøder, M.T. & Skibsted, L.H. Poster "Synergistic effects of tocotrienols and carotenoids in lipid peroxidation" til 6th COSTAM/SFRR International Workshop, juni 2006, Kuching, Malaysia.

Haahr, A.M., & Jacobsen, C. Emulsifier type, metal chelation and pH significantly affect oxidative stability in omega-3 enriched emulsions. Abstract og mundtlig fremstilling, West European Fish Technologist Association 35th Meeting, September 2005, Antwerpen, Belgien.

Jacobsen, C., Sørensen, A.-D.M, Becker E. M., Skibsted, L.H., Bergenståhl, B., Interactions between phenolic compounds, emulsifiers and pH in Omega-3 Enriched Emulsions. Abstract og mundtlig præsentation ved 99th Annual AOCS meeting Seattle, USA, maj 2008.

Schrøder, M.T., Becker, E.M. & Skibsted, L.H. Poster "Antioxidant activity of tocotrienols and carotenoids in Palm oil" ved PIPOC-konferencen (Pacific International Palm Oil Conference) i Kuala Lumpur, Malaysia d. 25.-28. oktober 2005.

Sørensen, A.M., Haahr, A-M., Berner, L., Jacobsen, C. Interaction between antioxidants, emulsifiers and pH in omega-3 enriched oil-in-water emulsions. Abstract og poster ved AOCS annual meeting, St. Louis, Ohio, Missouri, maj 2006.

Sørensen, A.M., Haahr, A-M., Berner, L., Jacobsen, C. Interaction between antioxidants, emulsifiers and pH in omega-3 enriched oil-in-water emulsions. Poster ved 2nd meeting on developing functional foods with omega-3 fatty acids. Helsingør, juni 2006.

Fleere projektmedlemmer præsenterede deres resultater ved FOODANTIOX-seminaret, Ørestad, København, 13. oktober 2005. For eksempel: Haahr, A.M., and Jacobsen, C. Har emulgatorer indflydelse på oxidationshastigheden i olie-i-vand emulsioner.

Mødeindlæg

Åkesson B. & Skibsted L.H. Foredrag om FOODANTIOX, Turning Torso, Malmø, 17. april 2007.

Redegørelse for forskeruddannelse, herunder tilknyttede gæsteforskere og evt. forskerophold ved andre institutioner

Projektet har resulteret i følgende ph.d.-afhandling: Becker, E.M. Interactions between natural antioxidants in lipid systems of increasing structural organization. Ph.d.-afhandling, KU-LIFE, marts 2007.

Leif H. Skibsted opholdt sig i Beijing, Kina, i 3 uger i vinteren 2006, hvor puerarins syre/base-egenskaber samt forsøg med puerarin og carotener vha. laser flash photolyse blev udført. Derudover blev manuskriptet diskuteret og færdiggjort.

Redegørelse for samarbejdsrelationer nationalt og internationalt

Projektet har samarbejdet med LIPIDTEXT projektet, som er et projekt under EU-programmet SEAFOODplus. Ni internationale partnere fra Danmark, Sverige, Norge, Frankrig, Island, UK og Spanien deltog i LIPIDTEXT projektet.

Samarbejde med United Plantations i Malaysia i forbindelse med palmeolieforsøg.

Samarbejde med Agropharm S. A. (Tuszyn, Polen) i forbindelse med aroniaforsøg.

Samarbejde med Department of Chemistry, Renmin University of China, Beijing, Kina og State Key Laboratory for Structural Chemistry of Unstable and Stable Species, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing, Kina om puerarinforsøg.

Vurdering af resultaternes praktiske og videnskabelige betydning for mejeribruget samt hvilke nye problemstillinger, projektet har afdækket

Vandopløselige plantephenoler inaktiverer hurtigt exciteret riboflavin og vil være en god beskyttelse mod lysinduceret oxidation i mejeriprodukter (fx drikkeyoghurt).

Kombinationer af α -tocopherol og forskellige flavonoider udviste synergi mod lipid-oxidationen, især når flavonoider var i overskud i forhold til α -tocopherol. Kombinationer af α -tocopherol og quercetin udviste synergistiske effekter mod lipidoxidationen i et flødeostmodelsystem.

Projektet har vist, at kaseinat har gode antioxidantegenskaber i emulsioner. Denne viden kunne udnyttes af mejeriingrediensindustrien til at designe nye delivery systemer for stoffer, som er sensitive over for oxidation (fx omega-3 PUFA).

Vurdering af, om projektet har relationer til andre/nye mejerirelaterede samarbejdsprojekter

Det vil være oplagt at fortsætte undersøgelsen i nyt projekt, hvor også proteinernes rolle som oxidationssubstrat og især som naturlige antioxidanters undersøges.

MEJERIFORENINGEN

Mejeribugets ForskningsFond

Frederiks Allé 22 · DK-8000 Århus C

Tel 8731 2000 · ddb@mejeri.dk

www.mejeri.dk/forskning