



Rapport

Sund tilberedning

Delopgave 1b. Potentielle naturlige antioxidanter

Screeningsforsøg med udvalgte råvarer i modelsystemer for marinader

Kirsten Jensen

3. marts 2014
Proj.nr. 2002283-14
Version 1
KIJ/MT

Sammendrag

Når kød tilberedes ved stegning og grilning, kan der dannes kræftfremkaldende stoffer (stege- og røgmutagener). Indledende undersøgelser på DMRI har vist, at det er muligt at hæmme dannelsen af disse uønskede stoffer via tilsætning af naturlige antioxidanter til kødet – i form af hvidløgsmarinade og æblepure – inden varmebehandling.

Formålet med nærværende projekt har været at udvikle en marineringssteknologi, der effektivt hæmmer dannelsen af kræftfremkaldende stoffer under stegning og grilning af kød. I første delopgave blev krydderurter, krydderier og bær screenet for antioxidativ aktivitet i vandige opløsninger. Der blev udvalgt 3 potentielle råvarer (sumak, tørret oregano og acerola) med henblik på anvendelse som naturlige antioxidanter i sunde og velsmagende marinader.

For at teste om den antioxidative kapacitet i de udvalgte råvarer ændres, når de kombineres med indholdsstoffer, der indgår i kommercielt tilgængelige marinader, er der gennemført screeningsforsøg i 2 modelsystemer. Her blev effekten af pH, fedtindhold samt varmepåvirkning testet. Resultaterne blev suppleret med screening for antioxidant aktivitet i 4 færdigblandede marinader.

Konklusion

Tre potentielle naturlige antioxidanter (sumak, tørret oregano og acerola) er screenet i modelsystemer for marinader for effekten af ændringer i pH og fedtindhold samt varmepåvirkning. Sammenholdt med resultater fra screeninger i vandige ekstrakter ses der en reduktion af kapaciteten i den sure opløsning, mens aktiviteten i V/O-emulsionen er forøget. Acerola adskiller sig markant fra oregano og sumak i alle matricer og vurderes derfor som særdeles velegnet som ingrediens i sunde og velsmagende marinader.

Baggrund

Kød er en fødevarer med høj næringsværdi og udgør derfor en vigtig del af danskernes ernæring. Når kød tilberedes, kan der imidlertid dannes kræftfremkaldende stoffer (stege- og røgmutter), hvilket er medvirkende til, at indtaget af kød er kædet sammen med øget risiko for udvikling af tarmkræft. Det er særdeles uheldigt, at en ellers sund fødevarer "ødelægges" under tilberedning, ikke mindst når danskerne sætter stor pris på den stegte kødsmag og netop også er blevet kåret til verdens mest grillende folkefærd. Indledende undersøgelser på DMRI har vist, at det er muligt at hæmme dannelsen af de kræftfremkaldende stoffer via tilsætning af naturlige antioxidanter i form af hvidløgsmarinade og æblepure til kødet inden varmebehandling [1].

Formålet med projektet har derfor været at udvikle en marineringssteknologi, der effektivt kan hæmme dannelsen af kræftfremkaldende stoffer under stegning og grilning af kød. I første delopgave [2] blev der på baggrund af en screening for antioxidativ aktivitet udvalgt 3 potentielle naturlige antioxidanter: sumak, tørret oregano og acerola.

Den indledende screening blev udført i vandige opløsninger ved stuetemperatur. Det er væsentligt at få afklaret, om den antioxidative aktivitet i de udvalgte råvarer bevares, når de kombineres med andre relevante indholdsstoffer og påvirkes af varme. Der er derfor gennemført screeningsforsøg med 2 modelsystemer, hvor matriceeffekten af en vandbaseret sur marinade og en varmebehandlet emulsion med indholdsstoffer svarende til en færdigblandet marinade er testet. Resultaterne blev suppleret med screeninger af antioxidant aktivitet i 4 færdigblandede marinader.

Materialer og metoder

Råvarer

Sumak, tørret oregano og acerola-puré er udvalgt som de stærkeste antioxidanter blandt 20 forskellige krydderier, urter og bær, screenet for antioxidant aktivitet [2]. Der blev anvendt de samme prøver af de findelte råvarer, som indgik i de indledende screeninger. Til emulsionsmarinaderne blev der anvendt 100 % raffineret solsikkeolie (First Price, SuperBest), majsstivelse (Maizena), kaseinat (SFK), skummetmælkspulver (Åblomst, SuperBest) og salt (NaCl). Der blev desuden testet 4 færdige marinader: oliemarinade Gyros Hvidløg, emulsionsmarinade Madras, Smokey BBQ-sauce og marinade Chili Rødvind.

Fremstilling af ekstrakter

50 g produkt blev opslæmmet i 250 ml ionbyttet vand eller acetatbuffer (0,1 N eddikesyre/0,1 N natriumacetat) pH 4,6 svarende til den surhedsgrad, der normalt findes i dressinger. Til tørret oregano, der har et stort volumen, var det nødvendigt at anvende 500 ml. Blandingen henstod 1 time ved stuetemperatur, hvorefter den blev filtreret og overført til prøverør. Ekstrakterne blev opbevaret ved -20 °C. De vandige ekstrakter blev anvendt til emulsionsmarinader, mens de sure ekstrakter blev anvendt direkte til screening af antioxidant aktivitet. De færdige marinader blev fortyndet 1:3 og filtreret inden screeningen.

Fremstilling af emulsion

Der blev fremstillet en vand/olie-emulsion (V/O) som modelsystem til at teste matriceeffekten af indholdsstofferne i en traditionel færdigblandet emulsionsmarinade. Inden fremstillingen af emulsionen blev olien "strippet" ved en filtrering 5 gange gennem en Büchner-tragt, der indeholdt 100 g aluminiumoxid som filtreringsmiddel pr. 100 g olie. Herved blev olien rensset for urenheder, antioxidanter, vitaminer, peroxider og jernrester. Krydderiekstrakt og strippet olie blev blandet i forholdet 2,5:1. De tørre ingredienser (salt, Maizena, kaseinat og skummetmælkspulver) blev tilsat (Ultraturax), og emulsionen blev opvarmet under omrøring til 80 °C i 2 min. Efter afkøling blev pH justeret til 4,2-4,5. Den færdige emulsion indeholdt 50 % ekstrakt. Inden screeningen for antioxidativ aktivitet blev emulsionen fortyndet 1:1 med vand.

Hård varmpåvirkning

Det var oprindeligt planlagt at teste, hvorvidt de udvalgte råvarers antioxidative kapacitet blev påvirket ved hård varmpåvirkning (stegning). Det var imidlertid ikke muligt at finde en realistisk metode til hård opvarmning af modelmarinaderne og efterfølgende opsamling af prøven. Denne test er derfor udgået.

Analysemetoder

De anvendte metoder til måling af henholdsvis iltforbrug ved lipidoxidation og DPPH radikal scavenging kapacitet (reduktion af frie radikaler), er beskrevet i [2]. Metoden til pH-målinger er beskrevet i [3].

Resultater

pH i marinader

pH-niveaue i de færdige marinader lå mellem 3,9 og 4,9.

Måling af iltforbrug

Kapaciteten for hæmning af oxidation, ved målinger af iltforbrug efter tilsætning af antioxidanter i vandig opløsning og de 2 marinademodeller, er anført i tabel 1 som et indeks, l. Resultaterne i tabellen er korrigeret for fortyndinger i forbindelse med fremstillingen, så en sammenligning med de vandige og sure ekstrakter er mulig.

Tabel 1. Indeks for hæmning af iltforbrug, omregnet til 100 % tørstof

Råvarer	I _{oxygen} vandig opløsning	I _{oxygen} sur opløsning pH 4,6	I _{oxygen} V/O-emulsion pH 4,2-4,5
Sumak	3,9	3,1	11
Oregano, tørret	6,2	4,5	23
Acerola, puré	59	40,5	114
Færdigblandede marinader			
Oliemarinade Gyros Hvidløg			4
Emulsions- marinade Madras			17
Smokey BBQ Sauce		13	
Marinade Chili Rødvin		18	

Sammenholdes resultaterne fra modelmarinaderne med målingerne i vandig opløsning, ses en reduktion af kapaciteten i den sure opløsning, mens aktiviteten i V/O-emulsionen er markant forøget. V/O-emulsionerne er målt op mod en vandig blindværdi, og det kan derfor ikke udelukkes, at de øvrige ingredienser i emulsionen også har en antioxidant effekt. For at få afklaret effekten af de øvrige ingredienser i V/O-emulsionen vil der efterfølgende blive gennemført en screening af denne. Det kan dog ikke alene forklare den væsentligt forhøjede aktivitet af acerolækstrakt i V/O-emulsionen.

Resultaterne fra de 3 færdige marinader er sammenlignelige med modelmarinaderne med sumak og oregano. I den oliebaseerede marinade, Gyros Hvidløg, ses en væsentlig lavere kapacitet, hvilket sandsynligvis må tilskrives den anvendte screeningsmetode.

DPPH

Produkternes procentvise radical-scavenging-kapacitet er testet i 5 mg tørstof pr. ml mod 0,05 mM DPPH-. Resultaterne er anført i tabel 2 som et gennemsnit af en tripelbestemmelse med standardafvigelse. Det var ikke muligt at bestemme aktiviteten i V/O-emulsionen, da den skilte i en olie- og vandfase efter tilsætning af reagenser forud for målingen. For sumak og oregano ses der et fald i aktiviteten i den sure modelmarinade. Niveauet for 3 af de færdigblandede marinader svarede til de sure modelmarinader, mens den oliebaseerede Gyros Hvidløg igen er væsentlig lavere.

Tabel 2. Radical-scavenging-kapacitet, testet i 5 mg tørstof pr. ml mod 0,05 mM DPPH-

Råvarer	DPPH scavenging kapacitet, %, i 5 mg TS/ml		
	vandig opløsning	sur vandig opløsning	V/O-emulsion
Sumak	11,5 (0,14)	7,9 (0,99)	
Oregano, tørret	12,0 (0,42)	9,1 (0,35)	
Acerola, pure	8,7 (0,13)	8,9 (0,35)	
Færdigblandede marinader			
Oliemarinade Gyros Hvidløg			2,5 (0,33)
Emulsions- marinade Madras			6,5 (0,13)
Smokey BBQ Sauce		6,3 (0,25)	
Marinade Chili Rødvin		8,1 (0,13)	

Samlet vurdering

De udvalgte råvarers antioxidative kapacitet bliver sandsynligvis påvirket af de øvrige indholdsstoffer i modelmarinaderne, hvor kombinationen af indholdsstoffer, og evt. også varmebehandlingen i V/O-emulsionen, tilsyneladende har en positiv effekt. Det kan dog ikke udelukkes, at årsagen til den forbedrede effekt kan findes i den anvendte måleteknik. Ved måling af iltforbruget adskiller acerola sig markant fra oregano og sumak og vurderes derfor som særdeles velegnet som ingrediens i sunde og velsmagende marinader.

Resultaterne fra modelmarinaderne er generelt sammenlignelige med de færdige marinader, med undtagelse af den oliebaseerede Gyros Hvidløg der skiller sig væsentligt ud ved en lavere kapacitet. Om der er tale om en reel forskel, eller om det skyldes begrænsninger i den anvendte screeningsmetode, kan ikke afklares i denne forsøgsopsætning. Ved screening af iltforbrug, hvor der er tale om et meget følsomt målesystem, kan det ikke udelukkes, at et højt olieindhold påvirker elektroden og dermed resultaterne.

Hvis de samme screeningsmetoder skal anvendes til yderligere udvælgelse af råvarer, vil det derfor være mest hensigtsmæssigt at forsætte arbejdet baseret på modelsystemer med pH-regulerede, vandige marinader eller V/O-emulsioner.

Konklusion

Tre potentielle naturlige antioxidanter (sumak, tørret oregano og acerola) er screenet i modelsystemer for marinader for effekten af ændringer i pH og fedtindhold samt varmepåvirkning. Sammenholdt med resultater fra iltmålinger i vandige ekstrakter ses en reduktion af kapaciteten i den sure opløsning, mens aktiviteten i V/O-emulsionen er forøget. Acerola adskiller sig markant fra oregano og sumak i alle matricer og vurderes derfor som særdeles velegnet som ingrediens i sunde og velsmagende marinader.

Referencer

- 1] Rapport "Betydning af antioxidanter og brug af mikrobølgeovn på spisekvalitet og dannelse af stegemutagener", MDAG, Projekt 1378961-03/2000220 DMRI
- 2] Delopgave 1a. Potentielle naturlige antioxidanter. Screening af antioxidant aktivitet. 2014. Kirsten Jensen, DMRI.
- 3] Bestemmelse af pH i kød og kødprodukter. DMRI, 66009-ANF-011-08.