

Spot på faseovergange i grevedefedt med fast-stof NMR

Julen er snart over os. Grevedefedt, en af de klassiske komponenter fra det traditionelle julefrokostbord, er blevet analyseret med fast-stof NMR.

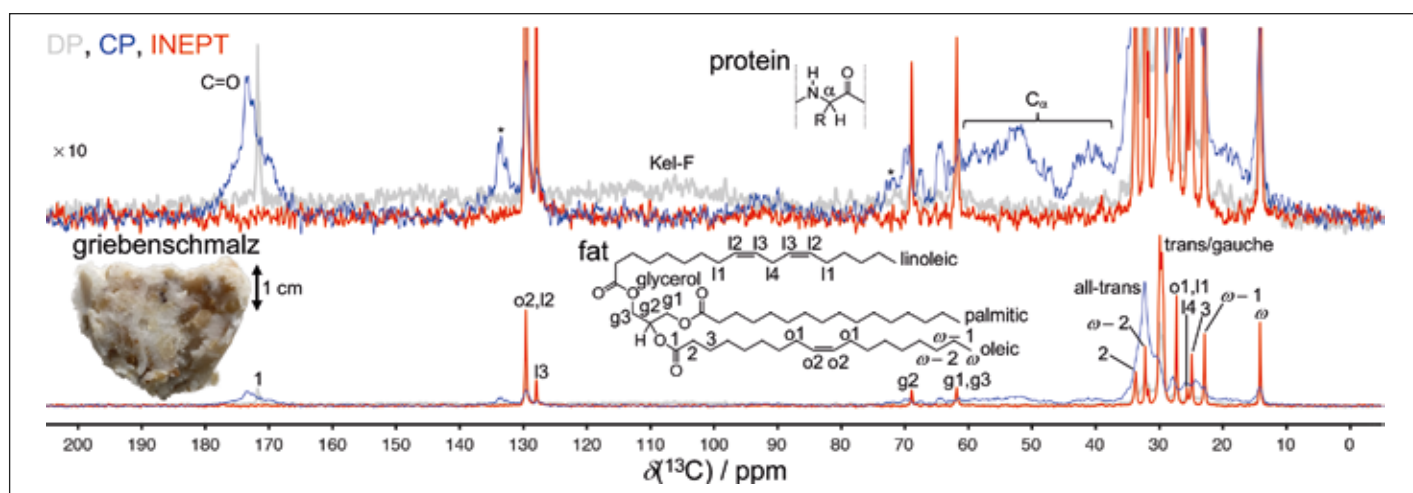
Af Daniel Topgaard¹,
Diana Bernin² og
Emmanouela Leventaki²

¹ Institut for Kemi, Lunds Universitet, Lund
² Institut for kemi og kemiteknik, Chalmers Tekniske Universitet, Gøteborg

Indtil midten af 1900-tallet var svi- nefedt med sprøde stykker skind den mest udbredte smørepålæg. Produktet er kendt som griebenschmalz på tysk, smalec på polsk og grevedefedt på dansk. Men i midten af 1900-tallet kom smør og margarine på banen, og grevedefedt blev i høj grad erstattet af disse produkter. I dag er grevedefedt for mange blevet en slags klas- siker, der indgår i det traditionelle julefrokostbord.



Foto: Pixabay



Figur 1. ¹³C MAS NMR-spektre for grevedefedt ved +2°C opnået ved hjælp af spektral filtering for at fremhæve sameksistensen af faste stoffer og væsker. Spektrene blev optaget ved anvendelse af DP (grå), CP (blå) og INEPT (rød) pulssekvenser. Spektrene blev optaget på en ~40 μL prøve af et kommercielt grevedefedtprodukt vist på billedet nederst til venstre. Peak assignment henviser til de mærkede kulstofatomer i de kemiske strukturtegninger af en generisk aminosyrerest i et protein og et repræsentativt fedtmolekyle med linolsyre, palmitinsyre og oliesyreacylkæder knyttet til glyceroldelen via esterbindinger. Labels ved ~30 og ~32 ppm indikerer de distinkte kemiske skift af indre methylsegmenter, der gennemgår trans/gauche-konformationel isomerisering eller indtager en all-trans-konfiguration. De øverste spektre er forstørret x10 sammenlignet med de nederste. Stjerner angiver spinningssidebånd og label ved 105 ppm indikerer maksimum af en bred DP-resonans fra Kel-F-materialet i rotorindsatsen. Figuren er reproduceret fra Bernin et al. [2] under Creative Commons CC BY license.

Er det hele et fedt?

Hvad karakteriserer egentlig en god grevfedt? Smag har betydning, men derudover er mundfylde ("mouthfeel") også afgørende. Mundfylde bestemmes i høj grad af de gradvise overgange mellem forskellige faste og flydende fedtfaser, når vi bider, tygger og synker maden. Mens en fedtkilde, der består af ensartede triglycerider med samme acylkædelængder og samme grad af umættethed, formentlig ikke giver den optimale smelteprofil, forventes det, at en fedtkilde bestående af varierende triglycerider, hvor visse krystalformer eventuelt er stabiliseret med tilsætningsstoffer, i højere grad vil bidrage til en større sensorisk oplevelse i form af mundfylde.

For et rent mættet triglyceridsystem vil krystallisation af den smeltede fase finde sted ved dannelse af den såkaldte α -form (pseudohexagonal) og efterfølgende overgang til den β -form (triklinisk), nogle gange via β' -formen [1]. Simple blandede triglycerider har ofte det samme forløb. Mere komplekse blandinger, herunder triglycerider med forskellige acylkædelængder og grader af umættethed forbundet med den samme glyceroldel, kan forventes at have mere komplekse krystallisationsprocesser med fraktionering af molekylære komponenter mellem den smeltede fase og forskellige krystalformer.

Metoder til karakterisering

Røntgendiffraction kan give et væld af oplysninger om krystalsymmetrier, afstande og nogle gange atompositioner i enhedscellen i et triglycerid-system. Derimod kan røntgendiffraction ikke karakterisere de flydende og de mindre ordnede faste faser i en multikomponentfedtblanding, som mange fedtholdige fødevarer, inklusiv grevfedt, består af. Lavfelts proton NMR er en hurtig og nøjagtig metode til at kvantificere forholdet mellem fast og flydende fedt, men i grevfedt vil tilstedeværelsen af andre faste stoffer, som for eksempel partikler af svineskind, introducere støj og dermed indvirke på analyserne.

Fast-stof NMR-analyser

Med det formål at muliggøre en karakterisering af en blanding af spækbaserede smørepålæg, blev der anvendt kulstof-13 (^{13}C) fast-stof NMR til en detaljeret undersøgelse af termotropiske faseovergange i udvalgte smørepålægsprodukter [2]. Fast-stof NMR er afhængig af "magic angle spinning" (MAS). Ved hjælp af proton decoupling, opnås ^{13}C -spektre med tilstrækkelig opløsning til at



Foto: Wikimedia

identificere multiple alifatiske, olefinske og allyliske kulstofatomer i kulbrintkæderne, selv under tilstedeværelsen af kollagenprotein fra svineskindet [3]. Ved at anvende en kombination af både krydspolariseringseksperimenter (CP), hvor polarisering overføres fra protoner til kulstof, og INEPT (insensitive nuclei enhanced by polarization transfer) pulsskvikensen, kan der opnås information om de molekylære segmenter med kombinationer af fast, intermediær, flydende og flydende krystallinsk dynamik. De NMR-spektroskopiske målinger blev gennemført på et 500 MHz spektrometer udstyret med en 4 mm CPMAS probe og en MAS spinningshastighed på 5 kHz.

Figur 1 viser ^{13}C NMR-spektre for grevfedt målt ved 2°C , hvor de sammenlignelige amplituder af CP- og INEPT-resonanser indikerer, at prøven af grevfedt indeholder nogenlunde samme mængder af fast og flydende fase. De større linjebredder i CP-spektret afspejler hovedsageligt variation i de isotrope kemiske skift, der stammer fra konformationer og pakninger af krystalinske faste stoffer. Omvendt resulterer hurtig konformationel isomerisering i de små INEPT-toppe. Smelteprofilen blev undersøgt ved at optage NMR-spektre på prøverne af grevfedt ved varierende temperatur. Det overordnede forhold mellem fast og flydende fedt kunne estimeres ved sammenligning af all-trans CP og trans/gauche INEPT-toppe (kemiske skift ved henholdsvis ~ 32 og ~ 30 ppm). Ved den laveste undersøgte temperatur, -8°C , var alle prøver domineret af fast fedt.

Med stigende temperatur blev fast fedt forventeligt gradvist erstattet med en flydende form. Grevfedten indeholdt både fast og flydende fedt over et temperaturinterval på mere end 40°C , i overensstemmelse med en blanding af flere komponenter med individuelle overgangstemperaturer bestemt af deres acylkædelængder og grader af umættethed. En mere detaljeret inspektion af temperaturafhængigheden af CP-

resonanserne fra all-trans metylen (~ 32 ppm) og karbonyl (~ 173 ppm) afslørede mindst to sæt toppe, der formentlig stammer fra krystalformer analoge med de lavtsmeltende α - og højtsmeltende β -former, der findes i rene triglycerid-systemer. Sammenligning med literaturdata for α/β' - og β -formerne af tripalmitin og andre krystalformer af all-trans alkaner [4-6] indikerede, at de molekylære konformationer og krystalstrukturer i grevfedt adskiller sig fra dem, der findes i rene triglycerider.

Konklusion

Fast-stof NMR med spektral filtering muliggør detaljeret karakterisering af sameksisterende faste og flydende faser i spækbaseret smørepålæg som grevfedt over forskellige temperaturområder. De mange spektrale detaljer indikerer, at metoden er anvendelig i forbindelse med udvikling af forskellige typer af fedtholdige fødevarer med optimal balance mellem fast og flydende fraktioner for at opnå gunstige teksturegenskaber og forbrugerappet ved forskellige serveringstemperaturer.

E-mail:

Daniel Topgaard:

daniel.topgaard@fkem1.lu.se

Referencer:

1. L. Hernqvist, K. Larsson, On the crystal structure of the β' -form of triglycerides and structural changes at the phase transitions LIQ. $\rightarrow \alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. Fette Seifen Anstrichm. 9, 349-354 (2002). <https://doi.org/10.1002/lipi.19820840905>.
2. D. Bernin, E. Leventaki, D. Topgaard. Solid-liquid phase transitions of triglycerides in griebenschmalz, smalec, and fedt Studied Using ^{13}C solidstate NMR with dynamicsbased spectral filtering. Appl. Magn. Reson. (2023). <https://doi.org/10.1007/s00723-023-01564-5>.
3. S. Björklund, A. Nowacka, J.A. Bouwstra, E. Sparr, D. Topgaard, Characterization of stratum corneum molecular dynamics by natural-abundance ^{13}C solid-state NMR. PLOS One. 8, e61889 (2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061889>.
4. S.M. Bociek, S. Ablett, I.T. Norton, A ^{13}C -NMR study of the crystal polymorphism and internal mobilities of the triglycerides, tripalmitin and tristearin. J. Am. Oil Chem. Soc. 62, 1261-1266 (1985). <https://doi.org/10.1007/BF02541839>.
5. D.L. VanderHart, Influence of molecular packing on solid-state ^{13}C chemical shifts: the n-alkanes. J. Magn. Reson. 44, 117-125 (1981). [https://doi.org/10.1016/0022-2364\(81\)90195-5](https://doi.org/10.1016/0022-2364(81)90195-5).
6. M. Adam-Berret, C. Rondeau-Mouro, A. Riaublanc, F. Mariette, Study of triacylglycerol polymorphs by nuclear magnetic resonance: effects of temperature and chain length on relaxation parameters. Magn. Reson. Chem. 46, 550-557 (2008). <https://doi.org/10.1002/mrc.2213>.