



# Hochschule Fulda

## University of Applied Sciences

Fachbereich Lebensmitteltechnologie

### Thermische Eigenschaften von Milchemulsionen

zum Erlangen des akademischen Grades

Master of Science (M. Sc.), Food Processing

vorgelegt am: 05.08.2019

von: Braun, Katja

Geboren am 26.02.1994 in Würzburg

Matrikelnummer: 137162

Referent: Prof. Dr.-Ing. Mamadou Diakité

Co-Referent: Prof. Dr. Thomas Vilgis

## **Danksagung**

---

Die vorliegende Master Thesis entstand im Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz. Für die Möglichkeit zur Durchführung dieser wissenschaftlichen Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken.

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Masterarbeit fachlich unterstützt und motiviert haben.

Zuerst gebührt mein Dank Herrn Prof. Dr. Thomas Vilgis vom Max-Planck-Institut für Polymerforschung, der meine Masterarbeit betreut und begutachtet hat. Für die hilfreichen Anregungen und die konstruktive Kritik, sowie wissenschaftliche Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken. Zudem bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung meiner Forschung.

Des Weiteren gilt mein Dank meinem Food Science Team am Max-Planck-Institut für Polymerforschung, das während meiner Forschung immer hilfsbereit war und so eine angenehme Zusammenarbeit ermöglicht hat.

Außerdem möchte ich Prof. Dr.-Ing. Mamadou Diakité für das Feedback meiner Masterarbeit danken. Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meiner Familie, die mir mein Studium durch ihre Unterstützung ermöglicht haben.

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>Abstract .....</b>	<b>iv</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>viii</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>xi</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>xii</b>
<b>Formelverzeichnis.....</b>	<b>xiv</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Theoretischer Hintergrund .....</b>	<b>4</b>
2.1 Eigenschaften von Milch und Milchproteine.....	4
2.1.1 Caseine.....	7
2.1.2 Molkenproteine.....	8
2.2 Emulsionen .....	9
2.2.1 Emulsionsherstellung .....	14
2.2.2 Adsorption und Stabilität.....	16
2.2.3 Milchproteine als Emulgatoren .....	18
2.2.4 Gibbs Adsorptionsisotherme.....	20
2.2.5 Jamming Effekt.....	22
2.2.6 Verhalten der Emulsionen mit Jamming Effekt .....	24
2.3 Stand der Forschung über milchprotein stabilisierte Emulsionen.....	25
2.4 Rheologische Eigenschaften .....	28
2.4.1 Oszillationsrheometrie .....	31
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>36</b>
3.1 Material .....	37
3.1.1 Milch.....	37
3.1.2 Pflanzenöl .....	37
3.1.3 Natrium-Caseinat .....	38
3.1.4 Molkenproteinisolat .....	38
3.1.5 Sodium dodecyl sulfate (SDS).....	38
3.1.6 Milli-Q® .....	38
3.2 Methoden .....	39
3.2.1 Emulsionsherstellung .....	39
3.2.2 Lichtmikroskopie.....	39
3.2.3 Laser Diffraction Particle Size Analyzer .....	40
3.2.4 Rheologie .....	42
3.2.5 Statistische Bewertung der Ergebnisse .....	43

## Inhaltsverzeichnis

<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>46</b>
4.1	Emulsionsstabilität.....	46
4.2	Öltropfengröße .....	50
4.2.1	Öltropfengröße der verschiedenen Emulsionen.....	50
4.2.2	Öltropfengrößengröße bei Lagerung .....	57
4.3	Rheologie der Emulsionen .....	59
4.3.1	Amplituden-Sweep der Emulsionen.....	59
4.3.2	Frequenz-Sweep der Emulsionen.....	69
4.4	Lichtmikroskopie.....	74
4.5	Thermische Eigenschaft der Emulsionen.....	77
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>82</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>85</b>
	<b>Anhang.....</b>	<b>90</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>93</b>

## Abstract

---

The aim of this research is to investigate the characteristics of milk and milk proteins as emulsifiers. It is still largely unclear how the two main fractions of the milk proteins behave as emulsifier in highly concentrated emulsions. The surface-active effect of these is determined experimentally for emulsions with a high oil content ( $\phi > 0.7$ ), in this case fully refined rapeseed oil. Recent publications have not yet sufficiently investigated how milk proteins behave in emulsions in which a jamming transition is observed. In addition, scientific measurements comparing fresh milk emulsions and emulsions of dried milk protein powders based on rheological and thermal properties are pending and unexamined. The emulsions are made with a Rotor-Stator disperser (Ultra Turrax), the rheological properties are investigated with a rheometer. The influence of oil droplet size should be able to interpret interrelations. This is done with a particle size analyzer based on laser diffraction for different emulsions. In addition to the production of milk emulsion from fresh milk and rapeseed oil, also sodium caseinate and whey protein isolate (WPI) is examined as a comparison. One of the key questions are to investigate which of the milk protein fractions are better suited for stabilization in highly concentrated emulsions. The study of temperature-controlled programs at the rheometer should give more information about the thermal properties of these emulsions. All of the investigated emulsions reveal the jamming transition, which is possible due to the density of the oil droplets, the energy input and the temperature. Emulsions with fresh milk form a stable emulsion in the range of 70%w/w very quickly. The solids-like behavior was very good in these emulsions. Rheological investigations revealed the highest storage and loss modules. A sodium caseinate stabilized emulsion containing 8%w/w sodium caseinate in the aqueous solution and 73%w/w rapeseed oil has achieved approximate results in rheological properties. Emulsions with whey protein isolate did not achieve comparable results, these were significantly lower in stability. A strong negative correlation between protein concentration and droplet size could be calculated. This applies to emulsions with whey protein isolate and with sodium caseinate. The smallest droplets with a mean value of  $\sim 5\mu\text{m}$  could be observed with sodium caseinate emulsions (8%w/w Na-caseinate in the aqueous solution). A bimodal size distribution was more pronounced in emulsions with sodium caseinate than in emulsions with whey protein isolate. Due to the high oil content in the emulsions a certain stability was present. Frequency sweeps have given a relatively good time stability, with sodium caseinate stabilized emulsions performing better than WPI emulsions. When investigating the thermal properties, WPI emulsions

## Abstract

achieved a significantly greater increase in  $G'$  and  $G''$  values when the temperature profile was measured (4-80-4°C) due to structural properties and heat sensitivity.

## Abstract

Das Ziel dieser Forschung ist es die Eigenschaften von Milch und enthaltenen Milchproteinen als Emulgatoren zu untersuchen. Es ist dabei noch weitestgehend ungeklärt, wie sich die beiden Hauptfraktionen der Milchproteine als Emulgator in hochkonzentrierten Emulsionen verhalten. Die oberflächenaktive Wirkung dieser wird für Emulsionen mit einem hohen Ölanteil ( $\phi > 0,7$ ), in diesem Fall vollraffiniertem Rapsöl, experimentell bestimmt. In vergangenen Veröffentlichungen wurde noch nicht ausreichend untersucht, wie sich Milchproteine in Emulsionen, bei welchen ein Jamming Übergang zu beobachten ist, verhalten. Zudem sind wissenschaftliche Messungen zum Vergleich von Frischmilchemulsionen und Emulsionen aus getrockneten Milchproteinpulvern im Bezug auf rheologische und thermische Eigenschaften ungewiss und nicht untersucht. Die Emulsionen werden mit einem Rotor-Stator-Dispergiergerät (Ultra Turrax) hergestellt, deren rheologischen Eigenschaften mit einem Rheometer untersucht. Der Einfluss der Öltröpfengröße, soll Zusammenhänge besser interpretieren können. Diese wird mit einem Partikelgrößenmessgerät, welches auf Laserbeugung basiert, für verschiedene Emulsionen durchgeführt. Neben der Herstellung von Milchemulsion aus Frischmilch und Rapsöl, wird auch Natrium-Caseinat und Molkenproteinisolat (WPI) als Vergleich untersucht. Eines der Kernfragen ist es zu untersuchen, welche der Milchproteinfraktionen sich besser in hochkonzentrierten Emulsionen zur Stabilisierung eignen. Die Untersuchung von temperaturgeführten Programmen am Rheometer soll mehr Aufschluss über die thermischen Eigenschaften dieser Emulsionen geben. Alle untersuchten Emulsionen erreichen den Jamming-Übergang, der durch die Dichte der Öltröpfen, dem Energieeintrag und der Temperatur möglich ist. Bei Emulsionen mit Frischmilch hat sich sehr schnell eine stabile Emulsion im Bereich von 70%w/w ergeben. Das feststoffähnliche Verhalten war bei diesen Emulsionen sehr gut zu beobachten. Rheologische Untersuchungen ergaben die höchsten Speicher- und Verlustmodule. Eine Na-caseinatstabilisierte Emulsion mit 8%w/w Na-Caseinat in der wässrigen Lösung und 73%w/w Rapsöl hat annähernde Ergebnisse in dem rheologischen Eigenschaften erreicht. Emulsionen mit Molkenproteinisolat haben keine vergleichbaren Ergebnisse erzielt, diese waren deutlich geringer in der Stabilität. Eine stark negative Korrelation zwischen Proteinkonzentration und Tropfengröße konnte berechnet werden. Dies gilt für Emulsionen mit Molkenproteinisolat und mit Na-Caseinat. Die kleinsten Tropfen mit einem Mittelwert von  $\sim 5\mu m$  konnten bei Na-Caseinat-Emulsionen (8%w/w Na-Caseinat in der wässrigen Lösung) beobachtet werden. Eine bimodale Größenverteilung war bei Emulsionen mit Na-Caseinat stärker ausgeprägt als bei Emulsionen mit Molkenproteinisolat. Durch den hohen Ölanteil in den Emulsionen war eine gewisse Stabilität vorhanden. Frequenz-Sweeps haben eine relativ

## Abstract

gute Zeitstabilität ergeben, wobei Na-caseinatstabilisierte Emulsionen besser abschnitten als WPI-Emulsionen. Bei der Untersuchung der thermischen Eigenschaften, erzielten WPI-Emulsionen einen deutlich stärkeren Anstieg in den  $G'$ - und  $G''$ -Werten bei Durchführung des Temperaturprofil (4-80-4°C), dies ist auf die strukturellen Eigenschaften und Hitzesensivität zurückzuführen.



## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1 Bestandteile der Milch (Töpel 2016) .....	4
Abbildung 2 Einteilung der Eigenschaften nach Ladung und Polarität der Aminosäuren (Belitz et al. 2001; Töpel 2016).....	5
Abbildung 3 Aufbau der Caseinmicelle (Walstra 1990 in Vilgis 2014).....	7
Abbildung 4 Aufbau der Caseine mit hydrophilen und hydrophoben Abschnitten im Modell (Töpel 2016).....	8
Abbildung 5 Schematische Darstellung der Denaturierung von Molkenproteinen (a) nativer Zustand (b) erste Stufe der Denaturierung (c) Entfaltung der globulären Struktur (Töpel 2016).....	9
Abbildung 6 Emulsionstypen. <b>A</b> O/W <b>B</b> W/O <b>C</b> Mehrfachemulsion O/W/O <b>D</b> W/O/W (Lagaly Gerhard et al. 1997).....	12
Abbildung 7 Destabilisierung von Emulsionen. <b>(A)</b> Flockung/Agglomeration <b>(B)</b> Aufrahmung <b>(C)</b> Koaleszenz <b>(D)</b> Brechung (Lagaly Gerhard et al. 1997) .....	13
Abbildung 8 Aufbruch der Öltröpfen bei der Emulsionsherstellung durch Deformation (Walstra 2003).....	14
Abbildung 9 Prinzip des Rotor-Stator-Systems zur Zerkleinerung der Öltröpfen (IKA-Werke GmbH & Co. KG o. J.b) .....	15
Abbildung 10 Dynamische Änderung der Grenzflächenspannung bei Proteinadsorption an der Öl-Wasser-Grenze (Beverung et al. 1999).....	17
Abbildung 11 Schema der sterischen Abstoßung zwischen adsorbierten Proteinschichten an der Grenzfläche der Öltröpfen (Damodaran 2005) ....	18
Abbildung 12 Modell der möglichen Varianten von protein-stabilisierte Öltröpfen (Singh und Ye 2013).....	19
Abbildung 13 Adsorption globulärer Polymere: grün globuläre Struktur des Proteins; gelb: Ölphase (McClements und Jafari 2018).....	20
Abbildung 14 Adsorption flexibler Polymere: grün flexible Struktur des Proteins; gelb: Ölphase (McClements und Jafari 2018) .....	20
Abbildung 15 Verhalten von Emulsionen mit unterschiedlichen Volumenanteilen (McClements 2005).....	23
Abbildung 16 Jamming Phasendiagramm nach Liu-Nagel (Liu et al. o.J.; Liu J. und Nagel Sidney R. 1998).....	24
Abbildung 17 Fließkurven von Emulsionen verschiedener Konzentrationen und den Einfluss auf die Viskosität (Tadros 2013) .....	26
Abbildung 18 Aufbau und Scherung des Plattenmodells (Brummer 2006).....	30
Abbildung 19 Amplitudentest als Deformationsfunktion einer Messprobe mit $G' > G''$ im LVE-Bereich und dem Grenzwert $\gamma_L$ (Mezger 2010).....	33
Abbildung 20 Amplituden-Sweep mit $G''$ -Maximum (Mezger 2016).....	33
Abbildung 21 Frequenztest mit $T, \omega = \text{const.}$ (Brummer 2006).....	34
Abbildung 22 Frequenz-Sweep mit gelartigen Zustand: $G' > G''$ (Mezger 2016)...	35
Abbildung 23 Prinzip der Laserbeugung zur Messung der Partikelgrößen (Löffler-Mang 2012).....	40
Abbildung 24 Struktur von Natriumdodecylsulfat (SDS) (Matissek et al. 2018).....	41

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 25 Emulsionen mit Frischmilch nach 6 Tagen <b>(a)</b> Überblick der Emulsionen 65%,70%,71%,72%,73%,74% von vorne; <b>(b)</b> Emulsion 65%,70%,71%,72% von oben; <b>(c)</b> Emulsion mit 73%,74% von oben.....	46
Abbildung 26 Aufnahme nach 4 Tagen: links: Emulsion mit 7%w/w WPI-Lösung; rechts: Emulsion mit 8%w/w WPI-Lösung; Ölanteil 73%w/w .....	47
Abbildung 27 Aufnahme nach 4 Tagen: links: Emulsion mit 7%w/w Na-Caseinat-Lösung; rechts: Emulsion mit 8%w/w Na-Caseinat-Lösung; Ölanteil 73%w/w .....	47
Abbildung 28 Öltropfengrößenverteilung der Milchemulsionen mit unterschiedlichen Ölanteilen 70%w/w bis 74%w/w und Frischmilch.....	50
Abbildung 29 Verhalten der Tropfengrößenverteilung mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen und einem Ölanteil von 73%w/w.....	51
Abbildung 30 Verhalten der Tropfengrößenverteilung mit unterschiedlichen Molkenproteinisolat-Konzentrationen (WPI) und einem Ölanteil von 73%w/w .....	52
Abbildung 31 Vergleich Tropfengrößenverteilung von Emulsionen mit Na-Caseinat 5%w/w und Molkenproteinisolaten (WPI) 5%w/w und Ölkonzentrationen von 72%w/w, 73%w/w und 74%w/w.....	53
Abbildung 32 Vergleich Na-caseinatstabilisierte Emulsion und WPI-stabilisierte Emulsion mit 8%w/w Protein in der wässrigen Phase und einem Ölanteil von 73%w/w.....	54
Abbildung 33 Tropfengrößenverteilung von Emulsionen mit einem Mix aus Na-Caseinat und Molkenproteinen (80:20), Gesamtproteingehalt 3,5%w/w und 7%w/w in der wässrigen Phase; unterschiedliche Ölanteile: 73%w/w und 74%w/w .....	55
Abbildung 34 Verhalten der Tropfengröße bei Lagerung: Messung der Emulsionen frisch; nach 5 Tagen; nach 11 Tagen.....	58
Abbildung 35 Amplituden-Sweep der Emulsionen mit Frischmilch und verschiedenen Ölanteilen 70%w/w-74%w/w .....	60
Abbildung 36 Startaufnahme: Mikroskopische Aufnahme während eines Amplituden-Sweeps: Emulsion 70%w/w Öl und 30%w/w Frischmilch; $\omega=10$ rad/s; $T=25^{\circ}\text{C}$ ; Abstand Platte-Platte: 100 $\mu\text{m}$ ; grüner Bereich: betrachteter Bereich für Interpretation.....	61
Abbildung 37 Übersicht der mikroskopischen Aufnahmen im Verlauf des Amplituden-Sweeps mit Interpretation.....	63
Abbildung 38 Vergleich der wichtigsten Emulsionen mit 73%w/w: hellgrün: Frischmilch; orange: Na-Caseinat 8%w/w in wässriger Lösung; dunkelgrün: WPI 8%w/w in wässriger Lösung; violett: Na-Caseinat-WPI-Mix 7% in wässriger Lösung.....	66
Abbildung 39 Vergleich Emulsionen 74%w/w und unterschiedlichen Proteinen deren Konzentration in der wässrigen Phase: a WPI 6%w/w; b Na-Caseinat 6%w/w; c WPI 7%w/w; d Na-Caseinat 7%w/w; e WPI 8%w/w; f Na-Caseinat 8%w/w; Kreis gefüllt: $G'$ ; Kreis nicht gefüllt: $G''$ ; blau Viereck: $\tan\delta$ .....	68
Abbildung 40 Vergleich Emulsionen mit unterschiedlichen Ölen: blau: Rapsöl; grün: Erdnussöl; rot: Olivenöl; alle Emulsionen sind mit 73%w/w und Frischmilch.....	69
Abbildung 41 Frequenz-Sweep der Emulsionen mit 71%w/w bis 74%w/w und Frischmilch, Frequenz $\omega$ von 0,1 -100 rad/s; $\gamma = 0,5\%$ ; $T=25^{\circ}\text{C}$ .....	70

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 42 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ; $T=25^\circ\text{C}$ ); Emulsionen mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen; Ölanteil 73%w/w.....	71
Abbildung 43 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ; $T=25^\circ\text{C}$ ); Emulsionen mit unterschiedlichen Molkenprotein Konzentrationen; Ölanteil 73%w/w .....	71
Abbildung 44 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ; $25^\circ\text{C}$ ): Vergleich Emulsionen mit Na-Caseinat 8%(w/w) und Molkenproteinisolat 8%(w/w) .....	72
Abbildung 45 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ; $25^\circ\text{C}$ ): Vergleich Emulsionen mit Rapsöl, Erdnussöl und Olivenöl (73%(w/w)) und Frischmilch.....	73
Abbildung 46 Original Bio-Heumilch; nicht homogenisiert; 40fach Vergrößerung .	74
Abbildung 47 Mikroskopieaufnahme einer konzentrierten Emulsion; 40fache Vergrößerung; 70%(w/w) und Frischmilch.....	75
Abbildung 48 Mikroskopieaufnahme einer konzentrierten Emulsion; 40fache Vergrößerung; 73%(w/w) und Frischmilch.....	75
Abbildung 49 Vergleich der Mischungen der Emulsion (70%w/w) (1:9) zur Probenvorbereitung (10fache Vergrößerung): links: MilliQ-Wasser; Mitte: 1%ige SDS-Lösung; rechts: 0,2%ige SDS-Lösung .....	75
Abbildung 50 Vergleich verdünnte Emulsionen (9:1) mit 73%(w/w) Ölanteil, 40fache Vergrößerung; links: mit 8%(w/w) WPI; rechts: mit 8%(w/w) Na-Caseinat .....	76
Abbildung 51 Emulsionen mit Frischmilch; Temperaturprofil $4^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}-4^\circ\text{C}$ ; $\omega=10$ rad/s; $\gamma=0,5\%$ ; Ölanteil 73%w/w.....	77
Abbildung 52 Emulsionen mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen; Temperaturprofil $4^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}-4^\circ\text{C}$ ; $\omega=10$ rad/s; $\gamma=0,5\%$ ; Ölanteil 74%w/w ....	78
Abbildung 53 Emulsion mit 8%w/w Molkenprotein in der wässrigen Phase nach Durchführung des Temperaturprofils.....	79
Abbildung 54 Emulsionen mit unterschiedlichen Molkenprotein-Konzentrationen; Temperatur-profil $4^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}-4^\circ\text{C}$ ; $\omega=10$ rad/s; $\gamma=0,5\%$ ; Ölanteil 74%w/w .	79
Abbildung 55 Vergleich der Emulsionen mit jeweils 8%w/w WPI und 8%w/w Na-Caseinat; Temperaturprofil $4^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}-4^\circ\text{C}$ ; $\omega=10$ rad/s; $\gamma=0,5\%$ ; Ölanteil 74%w/w .....	80

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 1 Prozentuale Zusammensetzung der Milchproteine (Töpel 2016) .....	6
Tabelle 2 Anwendungen und Einsatz für unterschiedliche HLB-Werte (nach Griffin) (Lagaly Gerhard et al. 1997; Mollet und Grubenmann 1999; Tadros 2013) .....	11
Tabelle 3 Stellradskala und entsprechende Drehzahl (IKA-Werke GmbH & Co. KG, o. J.).....	16
Tabelle 4 Übersicht über Publikationen mit angrenzenden Inhalten .....	25
Tabelle 5 Überblick über unterschiedliche Arten rheologischen Verhaltens (Mezger 2010); Abbildungen aus (Brunner 2006) .....	29
Tabelle 6 Überblick von Begriffen und Formeln der Rheologie (Kettler und Richtering 2007; Mezger 2010).....	30
Tabelle 7 Interpretation des Verlustfaktors (Mezger 2010) .....	32
Tabelle 8 Versuchsplanung: Übersicht über ausgewählte durchgeführte Versuche und angewandte Methoden; Emulsionsherstellung wie in Kapitel 2.2.1 erklärt.....	36
Tabelle 9 Nährwertangabe je 100ml Heumilch (Gläserne Molkerei GmbH 2019) .	37
Tabelle 10 Einstellung zur Messung eines Temperaturprofils.....	43
Tabelle 11 Faustregel zur Interpretation des Korrelationskoeffizienten $r$ (Kronthaler 2016) .....	44
Tabelle 12 Mittelwerte der Emulsionen mit Frischmilch und einem Ölanteil von 71%w/w bis 75%w/w.....	51
Tabelle 13 Übersicht der Mittelwerte der Öltropfengröße in Abhängigkeit der Proteinkonzentrationen; Ölanteil 73%w/w .....	52
Tabelle 14 mittlere Durchmesser für die Anwendung der Mischungsregel.....	55
Tabelle 15 Korrelationsanalyse der Variablen Proteinkonzentration und Tropfengröße mit Trendlinie; links: Emulsionen mit Na-Caseinat; rechts: Emulsionen mit WPI.....	57
Tabelle 16 Parameter für die durchgeführten Tests am Rheometer .....	59
Tabelle 17 Vergleich der $G'$ - und $G''$ -Werte (gerundet) der Emulsionen mit Na- Caseinat und WPI .....	80

## Abkürzungsverzeichnis

---

### Allgemeine Abkürzungen

CAS	Chemical Abstracts Service
d	days (Tage)
LVE	Linear-viskoelastisch
mW	Milliwatt
n	Anzahl
nm	Nanometer
Na	Natrium
Na-Cas	Natrium-Caseinat
PIDS	Polarization Intensity Differential Scattering
rad/s	Radiant pro Sekunde
rpm	rounds per minute
SDS	sodium dodecyl sulfate
WPC	whey protein concentrate
WPI	whey protein isolate

## Abkürzungsverzeichnis

### Formelzeichen

$\delta$	Phasenverschiebungswinkel
$\tan\delta$	Verlustfaktor
$G$	Schubmodul
$G'$	Speichermodul
$G''$	Verlustmodul
$\gamma$	Deformation
$\tau$	Schubspannung
$\omega$	Kreisfrequenz
$\%(w/w)$	Gewichtsprozent

## Formelverzeichnis

---

Formel ( 1 ) HLB-Wert Variante 1 .....	10
Formel ( 2 ) HLB-Wert Variante 2 .....	10
Formel ( 3 ) HLB-Wert mit zwei Emulgatoren .....	11
Formel ( 4 ) Stokesche Gesetz .....	13
Formel ( 5 ) Gibbs-Adsorptionsgleichung .....	21
Formel ( 6 ) Grenzflächenkonzentration $\Gamma$ .....	21
Formel ( 7 ) Speichermodul $G'$ .....	31
Formel ( 8 ) Verlustmodul $G''$ .....	31
Formel ( 9 ) Verlustfaktor $\tan\delta$ .....	32
Formel ( 10 ) arithmetisches Mittel .....	43
Formel ( 11 ) Median .....	43
Formel ( 12 ) benutzerdefinierter Mittelwert .....	44
Formel ( 13 ) Korrelationskoeffizienten $r$ .....	44

-

## 1 Einleitung

---

In der Lebensmittelindustrie aber auch in der Kosmetikindustrie werden Milchproteine in unterschiedlichsten Produkten eingesetzt. Die in der Milch enthaltenen Milchproteine werden über das Membranverfahren oder auch durch Fällung gewonnen. Da es sich hier um ein natürliches Produkt handelt, ist keine Deklaration mit E-Nummern erforderlich, was wiederum dem Trend zum „clean labeling“ entspricht. Milchproteine, bestehen aus zwei Hauptfraktionen, mit zirka 80% sind die Caseine und zu zirka 20% die Molkenproteine vertreten. Die unterschiedlichen strukturellen und funktionellen Eigenschaften der beiden Fraktionen machen den Einsatz in unterschiedlichsten Bereichen möglich. So haben Caseine die Besonderheit, dass sie sehr hitzestabil sind, jedoch bei einem pH-Wert von zirka 4,6 denaturieren, ebenso bei Zugabe von Lab. Zu den hitzeempfindlichen Milchproteine zählen die Molkenproteine, bei Temperaturen ab 65°C beginnen Teile der Molkenproteine zu koagulieren. Auch ist bekannt, dass Milch und manche Proteine aufgrund ihrer amphiphilen Struktur sich hervorragend als Emulgatoren eignen. Hydrophobe Abschnitte und gleichzeitig hydrophile Abschnitte sind in der Lage eine Verbindung zwischen einer Wasser- und Ölphase zu ermöglichen. Eine Stabilisierung der Fettphase bzw. der Öltröpfen durch Milchproteine erfolgt durch verschiedene Verfahren der Emulsionsherstellung. So können klassische Rotor-Stator-Systeme, Hochdruckhomogenisatoren, Ultraschallverfahren oder Membranverfahren zur Emulsionsherstellung verwendet werden. Von diesen bzw. von den Scherraten hängt ab, wie fein die Öltröpfen werden und letztendlich wie stabil die Emulsion wird (McClements 2005). Wie auch bei der Rohmilch und nicht-homogenisierter Milch bekannt ist, kommt es nach einigen Tagen nach dem Melken zum Aufrahmen des Milchfetts. Es kann zwischen zwei Hauptdestabilisierungsmechanismen unterschieden werden, nämlich der Flockung und der Koaleszenz (Singh 2005). Eine Phasenseparation ist beim Endkunden selten erwünscht, daher gilt meist die Vermeidung der Phasenseparation für einen bestimmten Zeitraum als Ziel der Industrie. Für die Herstellung der Frischmilch ist die Homogenisierung durch Hochdruckhomogenisatoren ein klassischer Teilprozess der Milchindustrie. Während das Milchfett dispers in die Wasserphase verteilt wird, stabilisieren die größtenteils Caseine aber auch Molkenproteine das feinverteilte Milchfett (Kessler 2006). Nicht nur als Emulgator sind Milchproteine geeignet, sondern auch als Schaumstabilisator, weiterhin als Gelbildner und Wasserbinder können diese agieren (Harper 2009; Töpel 2016).



## Einleitung

Aufkonzentrierte Milchproteinlösungen, wie whey protein concentrate (WPC), whey protein isolate (WPI), Caseinat, welche säure- oder labgefällte Caseine sind, machen die Dosierung leicht möglich. Auch Natrium-Caseinat sind durch ihre Wasserlöslichkeit in der Industrie sehr beliebt. Zur Emulgierung werden hauptsächlich Natrium-Caseinate, Molkenproteinisolate oder Molkenproteinkonzentrate wegen ihrer ausgezeichneten oberflächenaktiven Eigenschaft verwendet (Sarkar und Singh 2016; Schuck 2009).

Die Charakteristik der Milchproteine für eine Gelbildung ermöglicht bei der Emulsionsherstellung den Übergang eines Newtonschen Mediums, das heißt niedrig viskoser Flüssigkeit, zu einem viskoelastischen Medium (Knudsen et al. 2008). Emulsionen aus Milch und hohen Pflanzenölkonzentrationen ( $> \sim 65\%$ ) ergeben eine mayonnaiseartige Textur. Dieser Effekt beschreibt den Jamming-Übergang, in der die Öltröpfen sehr dicht, wie in einem Käfig, gepackt sind und sich dadurch stabilisieren. Der Übergang von kugelförmigen Öltröpfen zu nicht kugelförmigen Form ist zu beobachten (Knudsen et al. 2008; Liu J. und Nagel Sidney R. 1998). Milchproteine adsorbieren hierbei an der Grenzfläche beziehungsweise an der Oberfläche der Öltröpfen und bilden eine dünne Schicht. Caseine gelten hier als flexibler und schneller als Molkenproteine (Singh und Ye 2009). Molkenproteine in Emulsionen gelieren beispielsweise durch induzierte Hitze (Mantovani et al. 2016).

Für die Stabilität der hochkonzentrierten Emulsionen sind eine Vielzahl von Faktoren einflussgebend. Zum einen sind Öltröpfengröße, Emulsionsherstellung und letztendlich der Energieeintrag für eine stabile Emulsion hauptverantwortlich, zum anderen sind auch die verwendeten Proteine, deren Aminosäurezusammensetzung und Zustand einflussgebend (Zayas 1997). Im Folgenden wird untersucht, welche Rolle hierbei die Milchproteine spielen und wie gut sich diese im Falle einer hochkonzentrierten Emulsion, das bedeutet ab einem Ölanteil von  $> 0,70$ , als Emulgatoren eignen. Zielsetzung der Masterarbeit ist es, den physikalisch-molekularen Hintergrund dieses Effekts experimentell zu bestimmen, indem unterschiedliche Ölanteile getestet werden. Vor allem das thermische Verhalten der Emulsionen ist größtenteils noch ungeklärt. Neben der Herstellung von Emulsionen bestehend aus konventioneller Frischmilch und pflanzlichem raffiniertem Öl, werden auch Natrium-Caseinat und Molkenproteinisolat und schließlich einem Gemisch daraus mit Öl untersucht. Die Arbeit umfasst neben der Herstellung der Emulsionen mit einem Rotor-Stator-System, die Bestimmung der Öltröpfengröße mit dem Laser Diffraction Particle Size Analyzer. Der Laser Diffraction Particle Size Analyzer und das Lichtmikroskop liefern die erforderlichen wissenschaftlichen Daten, zudem werden

## Einleitung

die rheologischen Eigenschaften mit dem Gemini200 dieser Milchemulsionen untersucht. Letztendlich spielen die rheologischen Messung der verschiedenen konzentrierten Emulsionen und den Einfluss auf die Temperatur zentrale Rolle der Masterarbeit. Es werden vorwiegend Emulsionen mit Ölkonzentrationen von 72-74%(w/w) erstellt. Dazu werden eine nicht homogenisierte Frischmilch, Natrium-Caseinat und Molkenproteinisolat verwendet. Dabei soll in Erfahrung gebracht werden, wie gut sich die jeweiligen Präparate als Emulgator eignen. Das Erforschen der thermischen Eigenschaften stellt den letzten Punkt dieser Arbeit dar, indem Temperaturprofile als Funktion des Rheometers genutzt werden. Die Tropfengröße wird zusätzlich bei frischen Emulsionen und 5 Tagen bzw. 11 Tagen bestimmt, um die Kurzzeitstabilität dieser Emulsionen besser einzuordnen. Eine visuelle Beobachtung dieser Emulsionen, das heißt das Erkennen eines Ölfilms an der Oberfläche, wird in regelmäßigen Zeitpunkten durch Fotoaufnahmen festgehalten. Die Gegenüberstellung aller hergestellten Emulsionen soll mehr über die Eigenschaften der einzelnen Milchproteinfraktionen und ihre thermische Eigenschaft bei hochkonzentrierten Emulsionen erklären. Theoretische Grundlagen zu den Milchproteinen, Emulsionen, Methoden und der Rheologie vermitteln grundlegende Verständnisweisen und helfen die Ergebnisse und Interpretationen zu verstehen.

## 2 Theoretischer Hintergrund

Die Kuhmilch ist ein natürliches Lebensmittel, welches in unterschiedlichsten Verarbeitungszuständen konsumiert wird. Von der Frischmilch zu verarbeiteten Milchprodukten, bis hin zu Trockenmilchpulvern finden diese Produkte breite Anwendung auf der ganzen Welt.

### 2.1 Eigenschaften von Milch und Milchproteine

Das Fett-Wasser-Gemisch besteht neben Fett und Wasser auch noch aus reichlich anderen Bestandteilen, wie in Abbildung 1 zu sehen. Die Hauptbestandteile Wasser sind mit zirka 87%, Lactose 4,6%, Milchfett 4,0% und Proteine 3,6% vorhanden. Da es sich jedoch um ein Naturprodukt handelt, kann die Zusammensetzung nach Kuhrasse, Tierfutter, Alter des Tieres und Gesundheitszustand, schwanken (Ternes 2008; Töpel 2016).

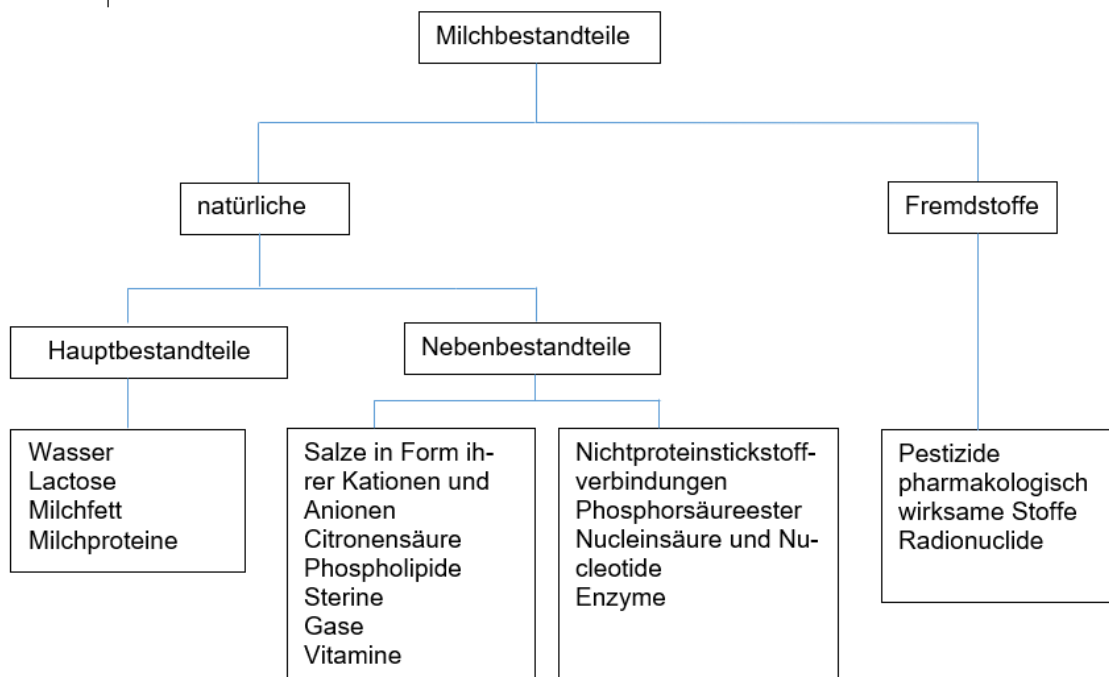


Abbildung 1 Bestandteile der Milch (Töpel 2016)

Die Milchproteine oder allgemein Proteine sind aus verschiedenen, den 20 proteinogenen Aminosäuren durch Peptidbindungen verbunden (Walstra 2003). Die Abfolge der Aminosäuren, die Primärstruktur, legt hierbei die Eigenschaft des Proteins fest und bestimmt durch die Seitenketten die intra- und intermolekularen

## Theoretischer Hintergrund

Wechselwirkung. Wichtig ist hierbei die Ladung und Polarität der Aminosäuren, so können diese in Gruppen eingeteilt werden (Belitz et al. 2001):

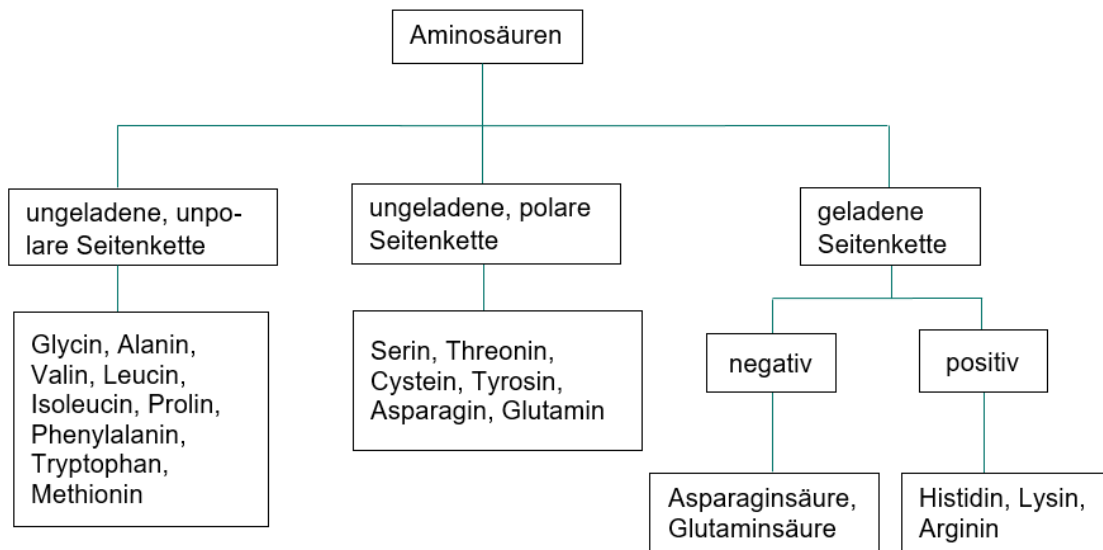


Abbildung 2 Einteilung der Eigenschaften nach Ladung und Polarität der Aminosäuren (Belitz et al. 2001; Töpel 2016)

Vor allem bei der Verarbeitung der Milch werden die besonderen Eigenschaften der Milchproteine in den Molkereien zur Herstellung beispielsweise von Joghurt, Quark und Käse genutzt. Milchproteine beinhalten verschiedene Abschnitte mit unterschiedlichen Aminosäuren. Abhängig vom pH-Wert des Umgebungsmediums, verändern Aminosäuren ihre Eigenschaft beziehungsweise ihre Ladung. Mit zirka 3,6% sind die Milchproteine in der Milch vertreten (Töpel 2016).

Die Majorproteine mit 98% der Gesamtproteine werden in zwei Hauptfraktionen eingeteilt, nämlich in Caseine und Molkenproteine. Dabei machen die Caseine zirka 79,5% der Milchproteine aus und Molkenproteine zirka 20%. In Tabelle 1 ist die prozentuale Zusammensetzung der verschiedenen Milchproteine dargestellt (Töpel 2016).

## Theoretischer Hintergrund

Tabelle 1 Prozentuale Zusammensetzung der Milchproteine (Töpel 2016)

Caseine		Molkenproteine	
$\alpha_{s1}$ -casein	~38%	$\beta$ -Lactoglobulin	~56%
$\alpha_{s2}$ -casein	~10%	$\alpha$ -Lactalbumin	~21%
$\beta$ -casein	~36%	Serumalbumin	~7%
$\kappa$ -Casein	~11%	Immunoglobulin	~14%
$\gamma$ -casein	~3%	Lactoferrin	~2%

Unter den Minorproteinen (2% der Gesamtproteine) zählen unter anderen Serumtransferin,  $\beta$ -Mikroglobulin, Fibronectin, Ceruloplasmin, Kininogen, die lediglich zirka 0,3% ausmachen. Fettkügelchenhüllenproteine wie Mucin 1, Xanthinoxidase, Butyrophillin, Adiposphillin und PAS III sind zu 0,4% vertreten. Die Enzyme Lipoproteinlipase, Peroxidase und Phosphatase machen den kleinsten Anteil der Gesamtproteine aus (Töpel 2016).

Die Milchproteine besitzen unterschiedliche elektrische Ladungen an der Oberfläche, aufgrunddessen kann es abhängig vom pH-Wert zur Änderung der Eigenschaften kommen. Allgemein machen die elektrischen Ladungen eine kolloidale Löslichkeit möglich, da sie stark hydratisieren. Zudem „stoßen sich gleichgeladene Proteinmoleküle ab und erhöhen die Stabilität des kolloiddispersen Zustandes.“ Ebenso „befähigen sie die Proteine zur Salzbindung.“ (Töpel 2016)

Zur Denaturierung der Milchproteine kann es durch verschiedene physikalische und chemische Einflüsse kommen. Vorallem hohe Temperaturen, Drücke, starke Scherkräfte oder energiereiche Strahlungen induzieren eine Denaturierung. Auch pH-Wert-Änderungen und chemische Substanzen führen zur Änderung der Struktur und damit zur Koagulation (Töpel 2016). Es gibt unterschiedliche Folgen, die bei der Denaturierung zu beobachten sind (Walstra 2003):

- Verlust der Bioaktivität
- Verminderte Löslichkeit
- Erhöhte Reaktivität
- Erhöhte Anfälligkeit für Angriffe durch proteolytische Enzyme
- Zunahme der hydrodynamischen Größe

## Theoretischer Hintergrund

Teilweise handelt es sich bei den Denaturierungsprozessen auch um reversible Prozesse, bei denen die native Form wieder zurück gewonnen werden kann. Kommt es jedoch zur Aggregation und folgenden Ausfällung kann die native Form nicht mehr gebildet werden. Weitere biochemische Prozesse können zum Beispiel die Rückfaltung in die native Form verhindern (Walstra 2003).

### 2.1.1 Caseine

Die verschiedenen Gruppen der Caseine bilden in der Milch eine sogenannte Caseinmicelle, somit liegen sie kaum bzw. selten als Caseinmonomeren vor. Eine Caseinmicelle besteht aus zirka 20-150.000 Caseinmonomeren. Diese kann einen Durchmesser von 130-160 nm erreichen. Der Aufbau der Micelle ist in Abbildung 3 Aufbau der Caseinmicelle (Walstra 1990 in Vilgis 2014) abgebildet. Zu den Fraktionen der Caseine zählen die  $\alpha_{s1}$ -Caseine,  $\alpha_{s2}$ -Caseine,  $\beta$ -Caseine,  $\kappa$ -Caseine und  $\gamma$ -Caseine, diese unterscheiden sich durch die unterschiedliche Anordnung der Aminosäureketten. So sind die  $\alpha$ -Caseine und  $\beta$ -caseine durch ihren überwiegend hydrophoben Charakter im inneren der Micelle lokalisiert. Diese sind durch Calciumphosphatbrücken miteinander verbunden. Die  $\kappa$ -Caseine hingegen stabilisieren die Micelle durch ihre haarigen hydrophilen Reste in der hydrophilen kontinuierlichen Phase und befindet sich damit außen an der Micelle.  $\gamma$ -Caseine sind  $\beta$ -Caseinfragmente, welche durch Spaltung (Plasminwirkung) aus  $\beta$ -Caseinen entstehen. Hierzu zählt auch die Proteose-Pepton-Fraktion (Ternes 2008; Töpel 2016; Walstra 1990 in Vilgis 2014).

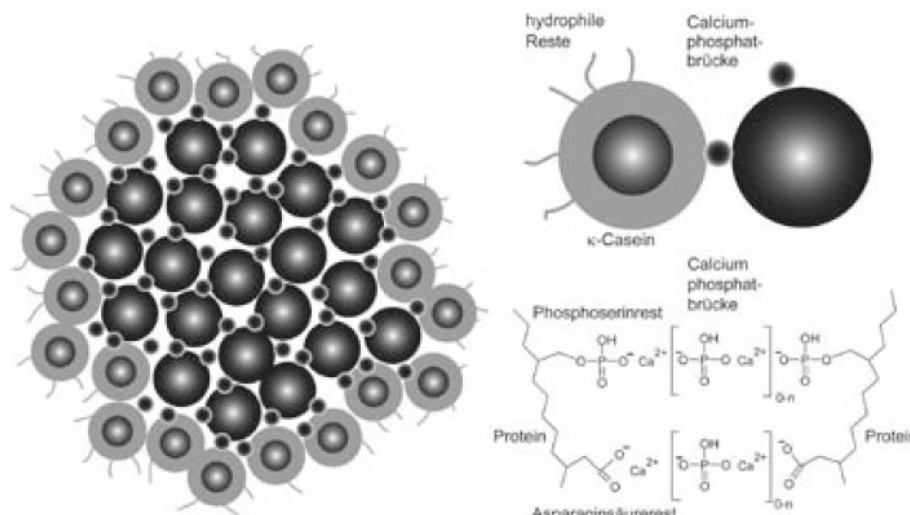


Abbildung 3 Aufbau der Caseinmicelle (Walstra 1990 in Vilgis 2014)

## Theoretischer Hintergrund

$\alpha_{s2}$ - und  $\kappa$ -Caseine besitzen Gruppen, wie beispielsweise die Disulfidgruppe der Aminosäure Cystein, welche für die Empfindlichkeit gegenüber dem Calcium verantwortlich ist. Das Phosphorprotein Casein hat einen hohen Anteil an Phosphor, was die Besonderheit zur Ausbildung von intermolekularen Bindungen mit z.B. Calciumionen besitzt (Khorsand o.J.; Töpel 2016).

Im Modell werden die hydrophilen Phasen meist mit sogenannten „Loops“ gezeichnet, die hydrophoben Abschnitte mit „Trains“. In Abbildung 4 ist der Loop-Train-Modell der Caseinfraktionen dargestellt (Töpel 2016).

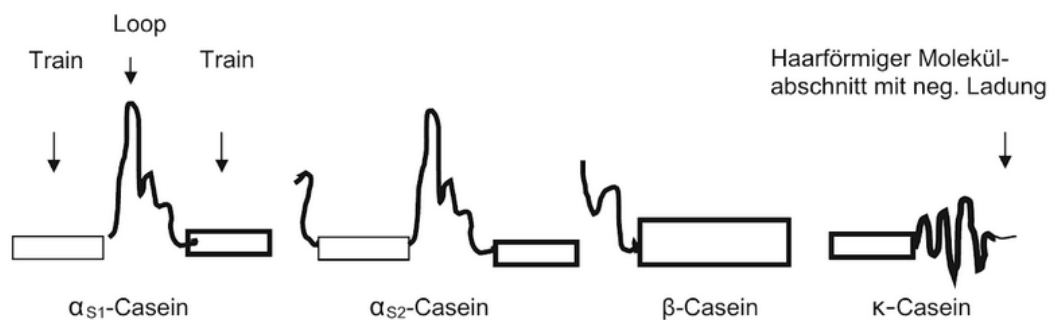


Abbildung 4 Aufbau der Caseine mit hydrophilen und hydrophoben Abschnitten im Modell (Töpel 2016)

Caseine sind bei Temperaturen von  $140^{\circ}\text{C}$  für 20 Minuten hitzestabil, jedoch säure- und labempfindlich. Bei einem pH-Wert von 4,6 bei  $20^{\circ}\text{C}$  kommt es zur Denaturierung. Die Eigenschaft wird bei der Joghurt- bzw. Sauermilchprodukteherstellung genutzt. Die durch Kulturen produzierte Säure in der Milch führt über die zeitliche Absenkung des pH-Werts zur Denaturierung der Caseine. Denaturierung bedeutet im Allgemeinen, dass sich die tertiäre und sekundäre Struktur der Proteinmoleküle ändert und es zum Ausflocken und Koagulieren der Caseine kommt (Ternes 2008; Töpel 2016). Zudem sind die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Caseine calciumempfindlich, diese können Calciumphosphatbrücken bilden, die wiederum zur Ausfällung führen können (Ternes 2008).

### 2.1.2 Molkenproteine

Die  $\beta$ -Lactoglobulin sind mit zirka 56% den Hauptbestandteil der Molkenproteine. Danach folgen  $\alpha$ -Lactalbumin mit zirka 21%, Immunoglobulin 14%, Serumalbumin 7% und Lactoferrin 2%. Charakteristisch für die Molkenproteine ist die globuläre Struktur, welche

## Theoretischer Hintergrund

durch Disulfidbrücken zwischen den Cysteinmolekülen kompakt strukturiert ist. Hydrophobe Aminosäuren ragen meist ins Innere des Moleküls, wobei hydrophile Abschnitte an der Oberfläche lokalisiert sind. Durch diese strukturelle Eigenschaft sind Molkenproteine hitzelabil und beginnen schon ab 65-90°C zu denaturieren. In Abbildung 5 ist der Prozess der Denaturierung schematisch dargestellt. Der Hauptteil der Molkenproteine besitzen kovalente Disulfidbrücken, die durch zwei Schwefelatomen der Cysteine gebildet werden. Durch Hitzeinduzierung ist eine Spaltung dieser Disulfidbrücken möglich, die entstehenden Schwefelverbindungen sind für den sogenannten Kochgeschmack verantwortlich (Zayas 1997). Die Immunoglobuline sind am hitzeempfindlichsten und  $\alpha$ -Lactalbumin bis zirka 90°C stabil (Ternes 2008; Töpel 2016). Zudem sind Molkenproteine scherempfindlich, diese Eigenschaft wird zur Herstellung von mikropartikulierten Molkenprotein genutzt (Töpel 2016).

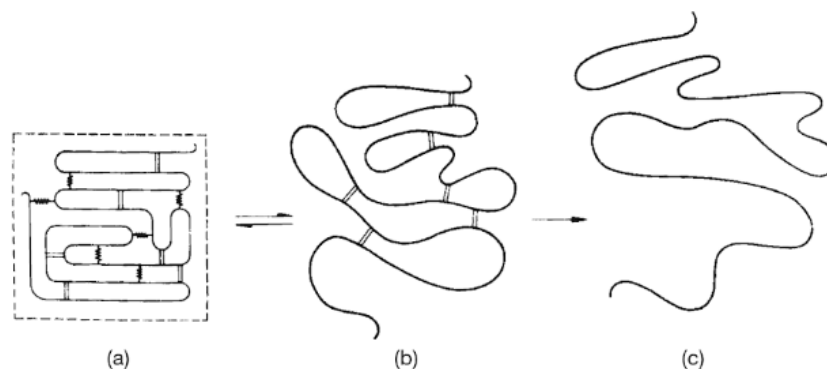


Abbildung 5 Schematische Darstellung der Denaturierung von Molkenproteinen (a) nativer Zustand (b) erste Stufe der Denaturierung (c) Entfaltung der globulären Struktur (Töpel 2016)

## 2.2 Emulsionen

Emulsionen sind Flüssig-Flüssig-Dispersionen, welche zwei nicht ineinander lösliche Phasen beschreibt. Diese Systeme werden auch als lipophobe Systeme bezeichnet, die aus einer kontinuierlichen Phase und einer dispergierten Phase besteht. Die Bildung einer Emulsion findet keinesfalls spontan statt, sondern benötigt einen Energieeintrag (Walstra 2003). Man kann zwischen zwei Arten der Emulsionen unterscheiden. Die Öl-Wasser-Emulsion, auch direkte Emulsion, bei dem die Wasserphase die kontinuierliche Phase darstellt. Aber auch Wasser-in-Öl Emulsionen, bei der Wassertropfen in der kontinuierlichen Ölphase dispers verteilt sind und als inverse Emulsion bekannt sind. Vor allem das Erstere findet in vielen Bereich seine Anwendung, wie beispielsweise bei der



## Theoretischer Hintergrund

Mayonnaise, Milch- und Milcherzeugnisse, Saucen und auch Hautcremes oder medizinische Lotionen. Als typische Wasser-in-Öl-Emulsion gilt die Butter oder Margarine, in der Wassertöpfchen in der Fettphase verteilt sind. So sind Emulsionen nicht nur in der Lebensmittelindustrie vertreten, sondern auch verstärkt in der Kosmetikindustrie, Pharmaindustrie und Pflanzenschutz (Dörfler 2002). Zur Emulsionsbildung und Löslichkeit ist die Bancroft Regel bekannt. Diese besagt, dass sich eine Öl-in-Wasser oder Wasser-in-Öl Emulsionen in Abhängigkeit der Löslichkeit der Emulgatoren bildet. Als kontinuierliche Phase wird die Phase bezeichnet, in welcher der Emulgator löslich ist (Ruckenstein 1996).

Bedeutend ist hier auch das HLB-Konzept (hydrophilic-lipophilic balance), indem oberflächenaktive Stoffe charakterisiert werden. Emulgatoren können einen HLB-Wert zwischen 0 und 20 erhalten und sind dimensionslos. Kleine HLB-Werte (3-6) besagen, dass der Emulgator hydrophob ist und sich somit vorzugsweise in Öl löst. Für große HLB-Wert (10-18) gilt das umgekehrte Verhalten, nämlich der bevorzugten Wasserlöslichkeit. Stark hydrophobe mit HLB-Werten von  $< 3$  und stark hydrophile HLB-Werte  $> 18$  tendieren dazu, sich in Micellen in der Ölphase bzw. Wasserphase anzusammeln und nicht als oberflächenaktive Stoffe zu agieren (McClements 2005). Die Berechnung des HLB-Wertes kann mit Hilfe der Molmasse des nichtionischen Emulgators  $M$  und dessen hydrophilen Anteils  $M_H$  erfolgen und lautet Griffin 1954, wie folgt (Lagaly Gerhard et al. 1997; Lauth und Kowalczyk 2016; Walstra 2005):

$$HLB = 20 \left( \frac{M_H}{M} \right) \quad (1)$$

oder

$$HLB = 7 + \sum(H) - \sum(L) \quad (2)$$

$M_H$  = Molgewicht des hydrophilen Anteils

$M$  = Molgewicht des Emulgators

$H$  = hydrophile Gruppe mit deren Werten

$L$  = lipophile Gruppe mit deren Werten

Für die zweite Gleichung ist die Struktur der oberflächenaktiven Stoffe wichtig, um die Einteilung und Berechnung des HLB-Werts durchzuführen. Die Werte der Gruppen sind in der verschiedenen Literaturstellen beschrieben (Lagaly Gerhard et al. 1997; McClements 2005).

## Theoretischer Hintergrund

Der HLB-Wert gibt Auskunft darüber und ist somit ein Anhaltspunkt, für welche Anwendung sich der oberflächenaktive Stoff eignet. In Tabelle 2 sind mögliche Anwendungen (nach Griffin) für typische HLB-Werte gezeigt (Lagaly Gerhard et al. 1997; Tadros 2013).

Tabelle 2 Anwendungen und Einsatz für unterschiedliche HLB-Werte (nach Griffin) (Lagaly Gerhard et al. 1997; Mollet und Grubenmann 1999; Tadros 2013)

Anwendung	HLB-Wert
Entschäumer	0-3
W/O-Emulsionen	3-8
Netzmittel	7-9
O/W-Emulsionen	8-18
Waschmittel	11-15
Lösungsvermittler	12-18

lipophil  
↓  
hydrophil

Zur Berechnung des HLB-Wertes von unterschiedlich eingesetzten Emulgatoren in Emulsionen gilt es, den Volumenanteil des Emulgators mit dessen HLB-Wertes zu multiplizieren und mit dem anderen Emulgator auf gleiche Weise zu addieren. Beispielsweise kann dies wie folgt berechnet werden (Mollet und Grubenmann 1999):

$$HLB = \%_A \times HLB_A + \%_B \times HLB_B \quad (3)$$

A = Emulgator A

B = Emulgator B

Auch gibt es Doppelemulsionen, auch Mehrfachemulsionen, bei denen beispielsweise Öl-in-Wasser-in-Öl-Emulsionen (O/W/O) oder Wasser-in-Öl-in-Wasser-Emulsionen (W/O/W). In Abbildung 6 sind die verschiedenen Emulsionstypen graphisch dargestellt. Die Öltröpfchen liegen in Emulsionen nie monodispers vor, meist polydispers. Das bedeutet, dass in eine Emulsion mehrere Öltröpfchengrößen vorliegen und eine Öltröpfchengrößenverteilung abhängig von den Parametern der Emulsionsherstellung zu beobachten ist. In dicht gepackten hochkonzentrierten Emulsionen mit Ölphasen bei ~74% füllen kleine Öltröpfchen die Zwischenräume gleichgroßer Öltröpfchen aus (Lagaly Gerhard et al. 1997).

## Theoretischer Hintergrund

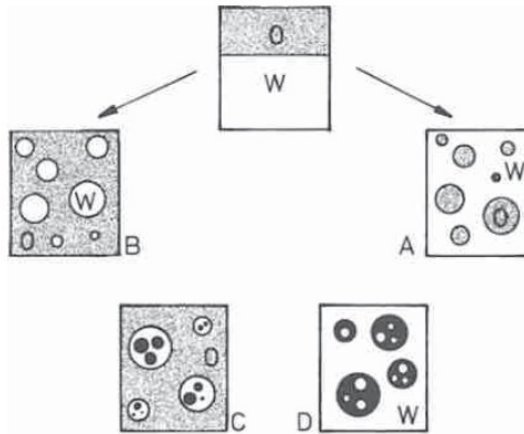


Abbildung 6 Emulsionstypen. **A** O/W **B** W/O **C** Mehrfachemulsion O/W/O **D** W/O/W (Lagaly Gerhard et al. 1997)

Es gibt zwei Hauptmechanismen, warum Emulsionen destabilisieren. In Abbildung 7 sind die Destabilisierungsprozesse graphisch dargestellt. Wie bei der Rohmilch bekannt ist, findet nach einiger Zeit eine Flockung des Milchfettes statt. Bei der Flockung oder auch Traubenbildung (A) lagern sich Öl- oder Fettkugeln zusammen, verbinden und verschmelzen jedoch nicht. „Hierbei wirken Adhäsionskräfte zwischen den Agglutininen der Membranhüllenproteine, wodurch die Kügelchen zusammenkleben und es zu einer Agglutination kommt.“ (Ternes 2008). Durch die Dichteunterschiede von Öl- und Wasserphase kommt es danach zum Aufrahmen (B) und die Agglomerate steigen an die Oberfläche. Bei diesem Prozess handelt es sich um einen reversiblen Prozess, bei dem durch beispielsweise Rühren wieder zur Verteilung der Fett-bzw. Öltropfen kommen kann. Im anderen Falle der Destabilisierung kommt es zur Koaleszenz (C), bei der kleine Öltropfen verschmelzen und einen großen Öltropfen bilden. Als Folge daraus kommt es zur Brechung (D) der Emulsion und die Ölphase ist auf der Oberfläche sichtbar (Lagaly Gerhard et al. 1997).

## Theoretischer Hintergrund

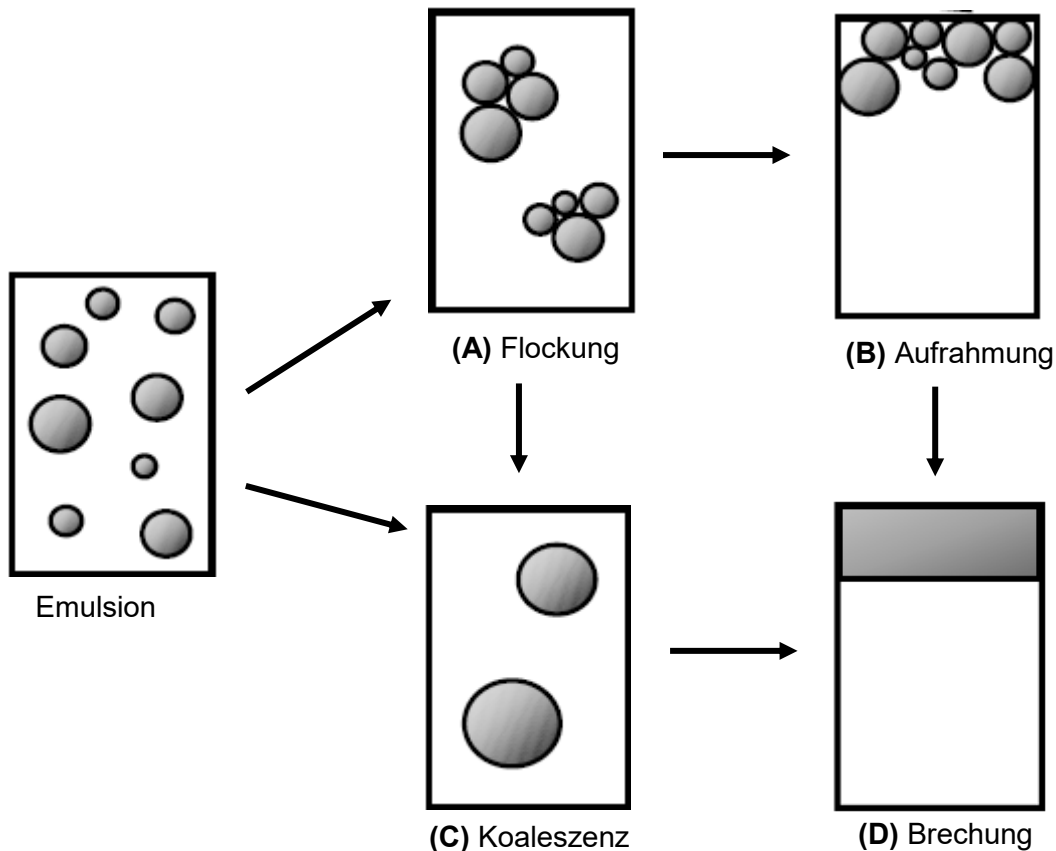


Abbildung 7 Destabilisierung von Emulsionen. (A) Flockung/Agglomeration (B) Aufrahmung (C) Koaleszenz (D) Brechung (modifiziert nach Lagaly Gerhard et al. 1997)

Die Milch ist eine typische Emulsion, bei denen das Milchfett kolloidal in der Wasserphase (Dispersionsmittel) verteilt ist. Bei der Rohmilch ist das Aufrahmen als Prozess der Destabilisierung bekannt. Diesen Effekt beschreibt das Stokessche Gesetz zur Berechnung der Aufrahmgeschwindigkeit (Ternes 2008):

$$v = \frac{2 r^2 (\rho_1 - \rho_2) g}{9 \eta} \quad (4)$$

$v$  = Aufrahmgeschwindigkeit (m/s)

$g$  = Erdbeschleunigung (9,81m/s<sup>2</sup>)

$r$  = Radius der Fettkügelchen (m)

$\rho_1$  = Dichte des Serums (kg/m<sup>3</sup>)

$\eta$  = Viskosität (Pas)

$\rho_2$  = Dichte des Fettes (kg/m<sup>3</sup>)

## Theoretischer Hintergrund

Emulgatoren stabilisieren die Fettkügelchen und setzen gleichzeitig die Oberflächenspannung herab. Diese bilden eine Schicht um die Öltröpfen und es entsteht eine Barriere zwischen den zwei Phasensystemen. Somit isolieren die oberflächenaktiven Stoffe, wie Emulgatoren, die Öltröpfen von der kontinuierlichen Phase und die Öltröpfen untereinander (Dutta et al. 2016; Lagaly Gerhard et al. 1997). Bei der Emulsionsherstellung ist es wichtig, dass die Emulgatoren möglichst schnell an die Öltröpfenoberfläche gelangen und dort zwischen Öl- und Wasserphase vermitteln. „Emulgatoren sind umso wirksamer, je schneller sie aus der Phase, in der sie gelöst sind, an die Grenzfläche herandiffundieren und dort hängen bleiben.“ (Lagaly Gerhard et al. 1997) Proteine, wie Milchproteine, oder oberflächenaktive Substanzen können so eine Koaleszenz oder Flockung verhindern bzw. verzögern, wie auch schon in einigen Forschungen bestätigt wurde (Dickinson 1997; Singh 2005).

### 2.2.1 Emulsionsherstellung

Zur Emulsionsherstellung können verschiedenste Verfahren zur Anwendung kommen. Typisch für die Milchindustrie zur Homogenisierung des Milchfettes sind die Hochdruckhomogenisatoren. Diese funktionieren nach dem Prinzip des Aufprallens der Flüssigkeit durch Hochdruckventile auf einen Prallring (McClements 2005). Der Prozess des Aufbruchs von Öltröpfen und gleichzeitigem Emulgieren durch Deformation ist modellhaft in Abbildung 8 dargestellt. Durch einen einfachen Scherfluss kommt es zur Drehung der Öltröpfen und damit zur sogenannten relativen Deformation  $D$ . Definiert ist diese als  $D = (L - B)/(L + B)$ .  $L$  steht hierbei für die Länge und  $B$  für die Breite der Tropfen. Durch die scherinduzierte Deformation steigt die Oberflächenenergie stark an, sodass bei genügend hoher Scherenergie der deformierte Tropfen in kleine kugelförmige Tropfen zerreißt, um so bei gegebener Scherenergie die Oberflächenenergie zu minimieren (Walstra 2003).

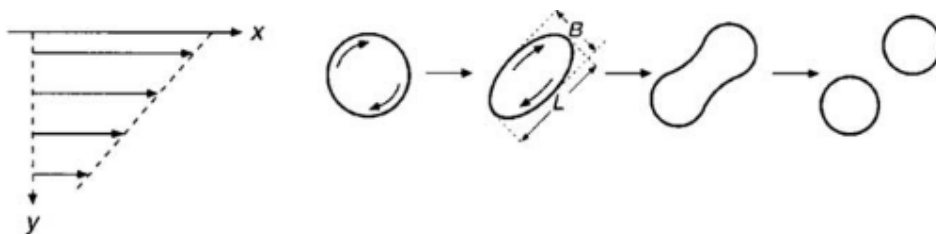
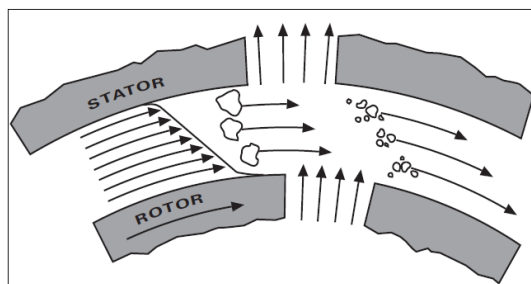


Abbildung 8 Aufbruch der Öltröpfen bei der Emulsionsherstellung durch Deformation (Walstra 2003)

## Theoretischer Hintergrund

Des Weiteren gibt es noch eine Vielzahl mehr an Möglichkeiten die Fetttropfen zu verkleinern und dabei in der kontinuierlichen Phase zu dispergieren. Die einfachste Art zur Homogenisierung sind high-speed Mixer oder auch Dispergiergeräte, die nach dem Rotor-Stator System arbeiten. Wie in Abbildung 9 modellhaft abgebildet, kann man den Rotor und Stator sehen. Wie die Begriffe auch schon vermuten lassen, rotiert der Rotor, wohingegen der Stator statisch bleibt. Durch die Einstellung der Drehzahl beginnt der Rotor sich zu drehen. „Aufgrund der hohen Drehzahl des Rotors wird das zu verarbeitende Medium selbständig axial in den Dispergierkopf gesaugt und anschließend radial durch die Schlitze der Rotor-Stator Anordnung gepresst.“ Es wirken dabei sehr hohe Scher- und Schubkräfte auf die Probe, welche sich durch die Drehzahl steuern lassen. Zusätzlich kommt es zur erhöhten Turbulenz im Scherspalt zwischen Rotor und Stator, was wiederum zur guten Durchmischung der Suspension führt tritt zusätzlich eine große Turbulenz auf, die zu einer optimalen Durchmischung der Suspension gepresst (IKA-Werke GmbH & Co. KG o. J.b; McClements 2005; Walstra 2003). Der Ultra Turrax zählt zu den einfachsten Systemen der Emulsionsherstellung, abhängig vom Energieeintrag können Öltropfchengrößen von 1 – 20 µm hergestellt werden. Der Hochdruckhomogenisator stellt Emulsionen mit den feinsten Öltropfengrößen her (Tadros 2013).



*Abbildung 9 Prinzip des Rotor-Stator-Systems zur Zerkleinerung der Öltropfen (IKA-Werke GmbH & Co. KG o. J.b)*

Die Qualität und Endfeinheit der Emulsion kann durch die Drehzahl des Rotors, Emulgierdauer und Dispergierwerkzeug beeinflusst werden. Für das verwendete Dispergiergerät IKA ULTRA-TURRAX® T 18 basic wird zudem die Drehzahlen für die einzustellenden Stufen definiert (siehe Tabelle 3) (IKA-Werke GmbH & Co. KG o. J.b). Das Gerät mit dem Dispergiergerät S 18 N - 10 gibt an, eine Endfeinheit von 1-10µm erreichen zu können (IKA-Werke GmbH & Co. KG o. J.a).

## Theoretischer Hintergrund

Tabelle 3 Stellradskala und entsprechende Drehzahl (IKA-Werke GmbH & Co. KG, o. J.)

Stellradskala	1	2	3	4	5	6
Leerlaufdrehzahl (rpm)	3.600	7.200	11.200	15.600	20.000	24.200
Drehzahl bez. auf 0,1l Wasser (rpm)	3.500	7.000	11.000	15.500	20.000	24.000

Neben high-speed-Mixer als Rotor-Stator-Verfahren gibt es auch noch die Kolloidmühle, welches ebenso nach dem Prinzip funktioniert. Als weiteres Verfahren findet das Ultraschallverfahren und Membranverfahren zur Emulgierung Gebrauch (McClements 2005; Wehowski 2009).

### 2.2.2 Adsorption und Stabilität

Proteine haben die Eigenschaften bei der Emulsionsherstellung an der Oberfläche der Öltröpfen zu adsorbieren und diese damit zu stabilisieren. Proteine, auch Adsorbentien, adsorbieren an einer flüssigen oder festen Oberfläche und bleiben an der Grenzfläche der zwei Phasen haften. Milchproteine bilden zwischen den Phasen eine Schicht, die wiederum die Phasen verbindet und stabilisiert. Gleichzeitig kommt es zur Reduzierung der Oberflächenspannung. Das Ziel des Systems liegt immer bei der Minimierung der freien Energie und somit auch einer Minimierung der Oberfläche, so bilden sich bei der Herstellung kugelförmige Öltröpfen. Zur Reduzierung der Oberflächenarea kann es schnell wie in Kapitel 2.2 beschrieben zur Koaleszenz, Flockenbildung oder letztendlich zum Bruch der Emulsion kommen. Als Beispiel kann hier die Kollision zweier Regentropfen genannt werden, indem sich ein großer Tropfen bildet und die gesamte Oberfläche reduziert wird. Schließlich streben auch Öl-in-Wasser Emulsionen die Minimierung der freien Oberflächen- oder Grenzflächenenergie an. Es wird angenommen, dass für eine homogene Grenzfläche eine Proportionalität zwischen der Oberflächenenergie und der Grenzflächen oder Oberflächen besteht. Die spezifische freie Oberflächenenergie, die an der Grenzfläche besteht, wird in der SI-Einheit Energie pro Fläche ( $J/m^2$ ) angegeben (Singh und Ye 2009; Walstra 2003). Für den Ablauf einer Proteinadsorption und damit sinkenden Grenzflächenspannung hat Beverung und Mitarbeiter im Jahr 1999 graphisch, siehe Abbildung 10, dargestellt.

## Theoretischer Hintergrund

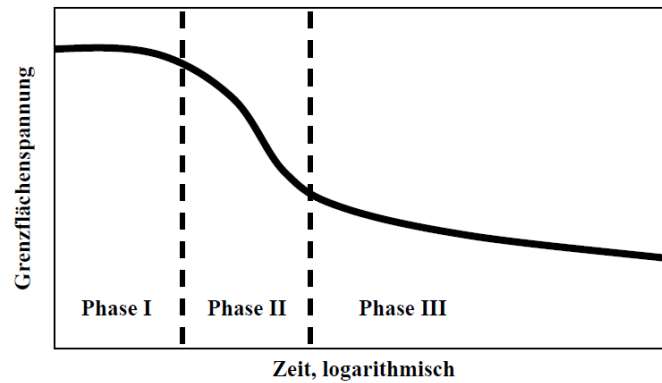


Abbildung 10 Dynamische Änderung der Grenzflächenspannung bei Proteinadsorption an der Öl-Wasser-Grenze (Beverung et al. 1999)

Die Induktionsphase stellt die Phase 1 dar, in welcher die Grenzflächenspannung nicht bzw. nur geringfügig sinkt. Hier kommt es jedoch zur Diffusion der Proteine von der Volumenphase an die Grenzphase. In der zweiten Phase kommt es zur Adsorption der Proteine, wo diese eine Schicht (Layer) bilden. Grund dieses Prozesses ist das Erreichen des energetisch günstigsten Zustands. Im letzten Adsorptionsschritt sinkt die Grenzflächenspannung nur noch gering, hier findet lediglich eine optimale Belegung statt, was teilweise zur Bildung von mehreren Schichten (Multilayern) führt (Beverung et al. 1999; Maurath 2007).

Die Stabilität der Emulsion ist von einigen Faktoren abhängig, wie dem Energieeintrag, Öltropfengröße (Herstellungsmethode), Emulgatormenge, Adsorptionsgeschwindigkeit, Viskosität bzw. Konzentration der Phasen, pH-Wert, Vorbehandlung und Aminosäurezusammensetzung der Proteine (Denaturierungsgrad), Bildung der Adsorptionsschichten und Mikronährstoffe wie Calcium (Singh und Ye 2009; Tadros 2013; Walstra 2003; Zayas 1997).

Kommt es zur stabilen Emulsion so sind zwei Hauptstabilisierungsmechanismen bekannt. Die Stabilisierung kann durch elektrostatische Abstoßung und sterische Abstoßung erfolgen. Die vorhandenen Oberflächenladungen der Proteine führen zur elektrostatischen Abstoßung von gleichgeladenen Proteinen, dies setzt jedoch eine Aufladung der Grenzfläche der Tropfen voraus. So stoßen sich zwei negativ geladene Proteine und zwei positiv geladene Proteine ab. Zudem kann es zur Erhöhung der elektrischen Abstoßung durch Reibung und Eintragsenergie bei der Emulsionsherstellung kommen. In Abbildung 11 ist die sterische Abstoßung der Proteinschichten an der Grenzfläche im



## Theoretischer Hintergrund

Modell zu sehen. Hier sorgen die in die Wasserphase ragenden Abschnitte der Aminosäureketten für eine räumlich Abstoßung. Vor allem sind hier die die Länge der adsorbierten Emulgatoren wichtig für die sterische Abstoßung (Lagaly Gerhard et al. 1997).

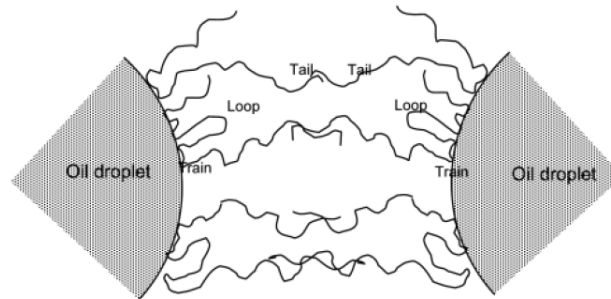


Abbildung 11 Schema der sterischen Abstoßung zwischen adsorbierten Proteinschichten an der Grenzfläche der Öltröpfchen (Damodaran 2005)

### 2.2.3 Milchproteine als Emulgatoren

Milchproteine werden als Emulgatoren eingesetzt. Durch den amphiphilen Charakter der Milchproteine, das heißt die Eigenschaft hydrophile sowie hydrophobe Aminosäureketten zu besitzen, sind diese ausgezeichnete Emulgatoren beziehungsweise oberflächenaktive Substanzen. Sie können Öl- und Wasserphase miteinander verbinden und diese stabilisieren (Dickinson 1997; Loi et al. 2019; Sarkar und Singh 2016). Sowohl Caseine als auch Molkenproteine sind ausgezeichnet als oberflächenaktive Stoffe in der Lebensmittelindustrie einsetzbar. Die Flexibilität bereitet den Caseinen einen Vorteil bei der Adsorption im Vergleich zu den Molkenproteinen (Zayas 1997). Bei der Emulsionsherstellung adsorbieren die Caseine schneller an der Grenzfläche als die Molkenproteine. Zudem bilden Caseine eine zirka 10nm dicke Schicht auf der Grenzfläche, Molkenproteine hingegen nur eine zirka 2nm dicke Schicht. Die erwähnten Unterschiede sind auf die strukturellen Eigenschaften zurückzuführen. So lässt sich eine Reihenfolge der Aktivität der Adsorption von Milchproteinen darstellen:  $\beta$ -casein > monodisperse Caseinmicellen > Serumalbumin >  $\alpha$ -Lactalbumin >  $\alpha$ -Caseine =  $\kappa$ -Casein >  $\beta$ -Lactoglobulin (Sarkar und Singh 2016)

Während der Emulsionsherstellung adsorbieren die Milchproteine an der Öltröpfchenoberfläche und entfalten dort. Der hydrophile Abschnitt ragt in die Wasserphase und der hydrophobe Teil in die Öltröpfchen. Die oberflächenaktiven Caseine und Molkeproteine bilden eine um die Öltröpfchen Schicht, auch Layer, und stabilisieren diese in der kontinuierlichen

## Theoretischer Hintergrund

Wasserphase. Die Schichtenbildung an der Grenzfläche verhindert die Koaleszenz und Ausflockung (Dickinson und Parkinson 2004; Douglas G. Dalgleish 1997).

In Abbildung 12 sind mögliche Varianten der Proteinadsorption im Modell dargestellt. Neben der Bildung von sogenannten Monolayern, das bedeutet der Aufbau einer einfachen Schicht auf dem Öltropfen. Dazu können sich Multilayer bilden, welche sich durch Protein-Protein-Interaktionen bilden. Aggregierte Protein Schichten können sich durch denaturierende Prozesse bilden. Welche Adsorption stattfindet ist abhängig von der vorliegenden Proteinfraction, deren Konzentration, Ladung, Konformation und Interaktionsfähigkeit zwischen den Proteinen (Sarkar und Singh 2016).

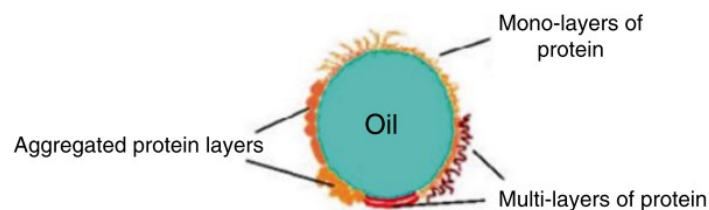


Abbildung 12 Modell der möglichen Varianten von protein-stabilisierte Öltropfen (Singh und Ye 2013)

Die Emulgierfähigkeit der Milchproteine und die Herstellung einer stabilen Emulsion hängt vor allem von der Öltropfengröße ab. Die Emulgatormenge hängt von der Tröpfchengröße ab, da mit geringeren Tropfengrößen eine größere Gesamtfläche der Tropfen entsteht (Lagaly Gerhard et al. 1997). Getrocknete Milchproteine, wie Natrium-Caseinat und Molkenproteinisolat zeigen eine ausgezeichnete Emulgierfähigkeit. Im Gegensatz zu schon aggregierten Milchproteinen, wie sie im Milchproteinkonzentrat vorliegen, haben diese eine schlechtere Emulgatorwirkung (Singh 2005).

In einigen Veröffentlichungen wurde gezeigt, dass Caseine deutlich flexibler sind und dadurch eine geringere Menge zur Emulgierung benötigt wird, verglichen mit den Molkenproteinen. Die Caseine entfalten sich auf der Öltropfenoberfläche, was hingegen bei den Molkenproteine aufgrund ihrer globulären Struktur nur teilweise erfolgt (Singh 2005). In Abbildung 13 sieht man eine mögliche Adsorption von globulären Strukturen wie Molkenproteine, hierfür wird im Vergleich zu Abbildung 14 mehr Protein benötigt um den Ölphase komplett zu bedecken. Abbildung 14 zeigt die flexible Struktur und Adsorption and der Ölphase.

## Theoretischer Hintergrund



Abbildung 13 Adsorption globulärer Polymere: grün globuläre Struktur des Proteins; gelb: Ölphase (McClements und Jafari 2018)

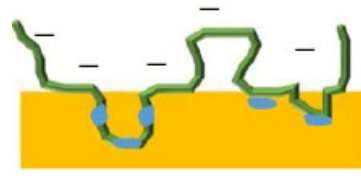


Abbildung 14 Adsorption flexibler Polymere: grün flexible Struktur des Proteins; gelb: Ölphase (McClements und Jafari 2018)

### 2.2.4 Gibbs Adsorptionsisotherme

Bringt man zwei nicht ineinander mischbare Flüssigkeiten zusammen, bildet sich eine Grenzphase, so definierte Gibbs diese schon vor über 100 Jahren. Allgemein kann man sagen, dass eine Grenzfläche eine Fläche der zwei in Kontakt stehenden Phasen ist (Dörfler 2002).

Grenzflächenaktive Stoffe, wie Emulgatoren, vermitteln zwischen den zwei Phasen und machen die Verbindung und Emulgierung möglich. Die Emulgatoren, in diesem Falle Proteine haften auf der Grenzfläche, diese streben nach einem thermodynamischen Gleichgewicht. Ein Gleichgewicht ist eingestellt, wenn eine Sättigung der Grenzfläche erfolgt, das heißt eine Minimierung der Grenzflächenenergie. Der Adsorptionsvorgang kann in zwei Schritten unterteilt werden. Zuerst diffundieren die Proteine in der Lösungsphase wo sie als zweiten Schritt an der Grenzphase adsorbieren. Die Proteine bestimmen durch ihre Eigenschaften die Geschwindigkeit der Prozesse (Dörfler 2002; Lauth und Kowalczyk 2016; Tadros 2013).

Die Beschreibung der Reduzierung der Oberflächenspannung kann durch die Gibbs Adsorptions-Gleichung erfolgen. Definiert die ist Ober- und Grenzflächenspannung wie folgt: „ist [...] diejenige reversible Arbeit, die unter isothermen und isobaren Bedingungen aufzuwenden ist, um die Grenzfläche um die Flächeneinheit ( $1\text{m}^2$  bzw.  $1\text{cm}^2$ ) zu vergrößern.“(Dörfler 2002) Die Gibbs-Gleichung setzt die Änderung der Oberflächenspannung mit der Änderung der Konzentration einer Komponente in Beziehung. Resultierend daraus ist die Änderung der freien Oberflächenenergie. Der Term unterliegt außerdem einer Abhängigkeit von Druck und Temperatur (Dörfler 2002).

Die Gibbs-Adsorptionsgleichung für ein binäres System lautet (Dörfler 2002):

## Theoretischer Hintergrund

$$-d\sigma = RT\Gamma d \ln a \quad (5)$$

bzw. für die Grenzflächenkonzentration

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left( \frac{\partial \sigma}{\partial \ln c} \right)_{p,T} \quad (6)$$

$\sigma$  = Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung

$R$  = ideale Gaskonstante

$T$  = absolute Temperatur [K]

$\Gamma$  = Grenzflächenkonzentration

$a$  = Aktivität

$c$  = Konzentration

Unter Bedingung einer verdünnten Lösung kann  $a = c$  angenommen werden. Es ist zu beachten, dass diese Gleichung nur für Systeme mit einem (reinen) Emulgator gilt (Walstra 2003). Die Gleichung der Adsorptionsisotherme nach Gibbs kann Anwendung finden, wenn Oberflächenspannungen der Proben gemessen werden (Tadros 2013).

Proteine, wie Milchproteine, werden als makromolekulare Emulgatoren durch ihr Molgewicht von >10kDa eingestuft. Als Vergleich können Lecithine und Phospholipide als niedermolekulare Emulgatoren mit <1,3kDa genannt werden. Zu beachten sind aber die wichtigen Kenngrößen, wie unterschiedliche Strukturen und daraus resultierenden Eigenschaften und HLB-Wert. Aus der Literatur kann eine Grenzflächenspannung  $\sigma$  für Öl-in-Wasser-Emulsionen mit Protein von  $\sim 10$  mN/m entnommen werden. Im Vergleich beim Einsatz von niedermolekularen Emulgatoren ist ein stärkeres Herabsetzen der Grenzflächenspannung auf  $\sim 3$  mN/m zu erkennen (Eugster-Meier 2001; Walstra und Roos 1993).

Allgemein ist es möglich, wie Knudsen und Mitarbeiter in dessen Veröffentlichung durchführten, die adsorbierte Emulgatormenge experimentell zu ermitteln. Durch mehrfaches Zentrifugieren der Emulsion und anschließender Größenausschlusschromatographie mit Messung des Brechungsindex, können Rückschlüsse auf die Adsorptionsmenge getroffen werden (Knudsen et al. 2008).

### 2.2.5 Jamming Effekt

Unter dem Jamming Effekt oder Jamming Übergang versteht man das Phänomen, dass aus zwei nicht ineinander mischbaren Substanzen ein feststoffähnliches („solid-like“) Verhalten entsteht. Dieser Effekt ist auch bekannt als der Mayonnaise-Effekt (Wynne 2017). Dieser Effekt tritt auch bei nicht ineinander mischbaren Phasen, wie Emulsionen auf.

Der Jamming Übergang ist bei bestimmten kritischen Volumenanteilen zu beobachten. Durch eine induzierte Scherenergie kommt es zu einer Emulsion mit kugelförmigen Öltröpfen. In Abbildung 15 sind verschiedene Volumenanteile graphisch dargestellt, sie zeigt verdünnte Emulsionen, konzentrierte und gepackte Emulsionen. Aus diesem Verhalten resultiert außerdem die Veränderung der rheologischen Eigenschaften dieser verschiedenen Emulsionen. So ist bei Emulsionen mit einem Volumenanteil  $\phi > 0,64$  ein feststoffähnliches viskoelastisches Verhalten aufgrund der eng gepackten Öltröpfen zu beobachten. Die Tropfen dieser Emulsionen sind so eng gepackt, dass Schwingungsbewegungen innerhalb des Käfigs möglich sind, jedoch sind Translationsbewegungen verhindert (McClements 2005). In dieser Arbeit geht es ausschließlich um hochkonzentrierte Emulsionen, die ein viskoelastisches Verhalten aufzeigen. Mit einem Volumenanteil von  $\phi = 0,74$  ist die dichteste Kugelpackung zu beobachten, jedoch nur im Falle einer homogene Kugelpackung. Dies ist die Theorie von W. Ostwald, die besagt, dass bei Überschreitung dieser Konzentration es entweder zur Phaseninversion, das bedeutet die Umkehrung der Phasen von Öl-in-Wasser zu Wasser-in-Öl Emulsionen, kommt oder zur Brechung der Emulsion. Hat die Emulsion eine heterogene Kugelpackung ist ein Volumenanteil  $\phi$  von  $> 0,74$  möglich, hierbei können kleine Kugeln (Öltröpfen) in die Zwischenräume der großen Kugel gelangen. Können die Öltröpfen sich deformieren, kann sich ein System, ähnlich wie ein Polyederschaum, bilden (Mollet und Grubenmann 1999). Im Falle von konzentrierten Emulsionen sinkt der Abstand zwischen den einzelnen Öltröpfen und damit steigt die Wahrscheinlichkeit an Partikel-Partikel-Interaktionen, was zu einer „solid-like“ Suspension führt (Tadros 2010).

## Theoretischer Hintergrund

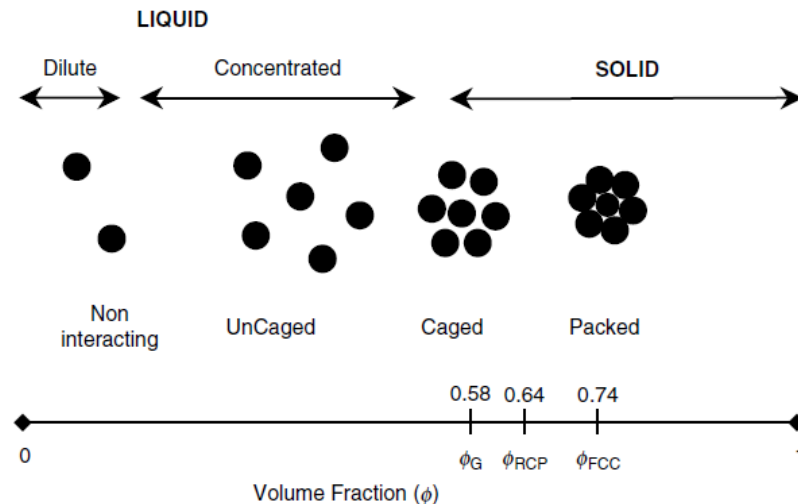


Abbildung 15 Verhalten von Emulsionen mit unterschiedlichen Volumenanteilen (McClements 2005)

Charakteristisch für den „jammed state“ sind die ungeordnet dicht gepackten und komprimierten Öltröpfen, welche für das feststoffähnlichen Verhalten und die Steifigkeit verantwortlich sind. Durch die drastisch sinkende Dynamik des Systems sind die Öltröpfen maximal beschränkt und es herrscht ein positiver Druck. Im Bereich Lebensmittel unterliegt die Mayonnaise diesem Effekt (Dutta et al. 2016). Auch Zahnpasta zeigt den Jamming Effekt, bei der die dicht gepackten Partikel für die Steifigkeit verantwortlich sind. Oder auch durch dicht gepackte Luftblasen, wie beispielsweise beim Rasierschaum ist der Jamming Übergang zu beobachten (Blochowicz 2015; van Hecke M. 2009). Das Liu-Nagel Jamming-Phasendiagramm in Abbildung 16 (Liu J. und Nagel Sidney R. 1998) zeigt den Einfluss von Parametern auf den Jamming-Status. So machen Temperatur, Schubspannung (Energieeintrag) und Packungsdichte  $\phi$  die Hauptparameter aus (van Hecke M. 2009).

Für die Erstellung einer „jammed“ Emulsionen wird ein Emulgator beziehungsweise oberflächenaktiver Stoff benötigt, welche die zwei ineinander unlöslichen Phasen verbindet. Am J-Punkt findet der Jamming Übergang statt, das heißt bei hohen Dichten, entsprechend niedrigen Temperaturen und geringen Scherkräften (van Hecke M. 2009).

## Theoretischer Hintergrund

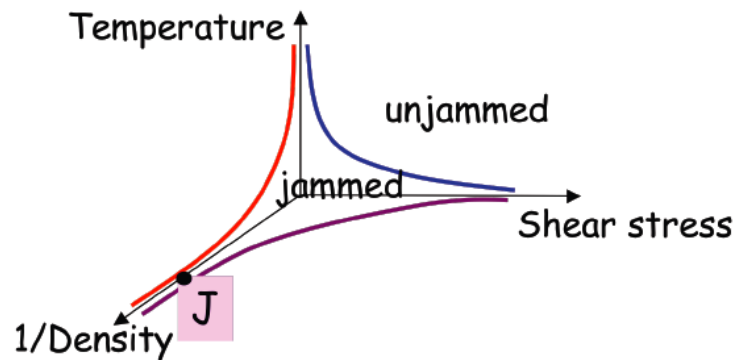


Abbildung 16 Jamming Phasendiagramm nach Liu-Nagel (Liu et al. o.J.; Liu J. und Nagel Sidney R. 1998)

### 2.2.6 Verhalten der Emulsionen mit Jamming Effekt

Dutta und Mitarbeiter untersuchten „jammed“ Emulsionen, auch komprimierte Emulsionen, mit einem Ölanteil von 0,72 auf rheologische Eigenschaften mit Oszillationsversuchen. Er stellte fest, dass sich die Schubspannung  $\tau$  bei  $\gamma < 0,1$ , linear zur Deformation  $\gamma$  verhält. Zudem ist ein nahezu konstantes Speichermodul  $G'$  zu beobachten, welches signifikant höher ist als das Verlustmodul  $G''$ . Kommt es zu  $\gamma > 0,2$ , nimmt  $G'$  stark ab und fällt unter  $G''$ . Dies ist der Hinweis über systemcharakteristische Veränderungen der Struktur und den Verlust der Elastizität. Er beschreibt das konstante Speichermodul als charakteristisches Merkmal für „jammed“ Emulsionen (Dutta et al. 2016).

Drei Parameter bestimmen den „jammed“ Status, hierzu zählen der Volumenanteil, Schubspannung und Temperatur, siehe Abbildung 16. Einige Publikationen erforschten die Parameter und den Einfluss auf die feststoffähnlichen Jamming-Systeme. Abhängig von der Temperatur ändert sich die Rheologie der Emulsionen. Der Jamming-Übergang wurde von einigen Forschern schon untersucht, wie beispielsweise von Choi und Lee, die Emulsionen mit einem Volumenanteil von  $\varphi = 0,3$  kühlen oder erhitzen und das Verhalten untersuchen. Eine Temperaturänderung wurden bei oszillierenden Scherfluss angewendet. Sie fanden heraus, dass sich unter Kühlen von 25°C auf 5°C die Emulsionen in den „jammed“ Status übergangen, das Gegenteil erbrachte das Erhitzen von 5°C auf 25°C der Emulsionen. Bei Erhitzung der „jammed“ Emulsionen kam es zur starken Verformung der Öltröpfen, was zur Auslösung der Aggregate und niedrigem elastischem Modul führt und ein „unjammed“ System zu beobachten war. Zudem war festzustellen, dass bei Kühlung der Emulsion niedrigere Speichermodule gemessen wurden als bei

## Theoretischer Hintergrund

einem isothermen Prozess. So konnten sie schließlich festhalten, dass „unjammed“ Emulsionen frequenzabhängig durch Kühlen in den „jammed“ Status übergangen (Choi und Lee 2015).

### 2.3 Stand der Forschung über milchprotein stabilisierte Emulsionen

Es wurden in der Vergangenheit schon verschiedenste Untersuchungen über die Eigenschaften der der Milchproteinfraktionen und Adsorption an der Grenzfläche durchgeführt. In den meisten Fällen handelte es sich um verdünnte Emulsionen mit einem hohen Wasseranteil. Im Überblick sind einige Publikationen gelistet, die sich mit ähnlichen Themen, wie in dieser Masterarbeit, beschäftigt haben.

*Tabelle 4 Übersicht über Publikationen mit angrenzenden Inhalten*

Thema	Proteinfraktion	Literatur
Grenzflächenspannung	$\beta$ -Caseine	(Beverung et al. 1999)
Gelierung/Rheologie	Na-Caseinat, $\beta$ -Lactoglobulin	(Dickinson 2012)
	Caseinmicellen, WPI	(Balakrishnan et al. 2017)
	Molkenprotein	(Mantovani et al. 2016)
	$\beta$ -Lactoglobulin	(Dickinson 2012)
Adsorption / Stabilität Flockung	Casein, $\beta$ -Lactoglobulin $\beta$ -Casein, $\alpha_{s1}$ -Casein, Na-Caseinat, $\beta$ -Lactoglobulin, WPI	(Douglas G. Dalgleish 1997) (Dickinson 2010) (Damodaran 2005)
Emulsion, Öltropfengröße, Stabilität	Na-Caseinat, WPC	(Loi et al. 2019)
Einfluss Eigenschaften des Molkenproteins auf die Tropfengröße und Viskosität	$\beta$ -Lactoglobulin	(Knudsen et al. 2008) (Dickinson und Parkinson 2004)

Einige wesentliche Eigenschaften und Fakten zur theoretischen Grundlage zum Verständnis und Interpretation dieser Master Thesis werden nachfolgend erklärt.



## Theoretischer Hintergrund

Das Verhalten der unterschiedlich konzentrierten Emulsionen hat starken Einfluss auf die rheologischen Eigenschaften und Stabilität. Tadros untersuchte rheologische Eigenschaften von Emulsionen mit hohen Ölkonzentrationen ( $\phi > 0,6$ ), dass diese einen signifikanten Effekt auf den durchschnittlichen Durchmesser der Öltröpfchen haben. Ebenfalls ist deutlich sichtbar, dass bei niedrig konzentrierten Emulsionen ( $\phi < 0,6$ ) kaum ein Unterschied in der Viskosität der Emulsionen festgestellt wurde. Anders ist es bei den hochkonzentrierten Emulsionen, hier wurden reduzierte Öltröpfchengrößen, sowie signifikant steigende Viskosität beobachtet. In Abbildung 17 ist der Graph der verschiedenen Volumenanteilen, hier mit  $\phi$  dargestellt. Auf der x-Achsen ist die (Zug-)Spannung  $\sigma$  in Pascal logarithmisch, sowie auf der y-Achse die Viskosität  $\eta$  in Pascalsekunde logarithmisch aufgetragen. Die Definition der Parameter können in Tabelle 6 entnommen werden, hierbei steht die Spannung  $\sigma$  für die Schubspannung  $\tau$  (Tadros 2013).

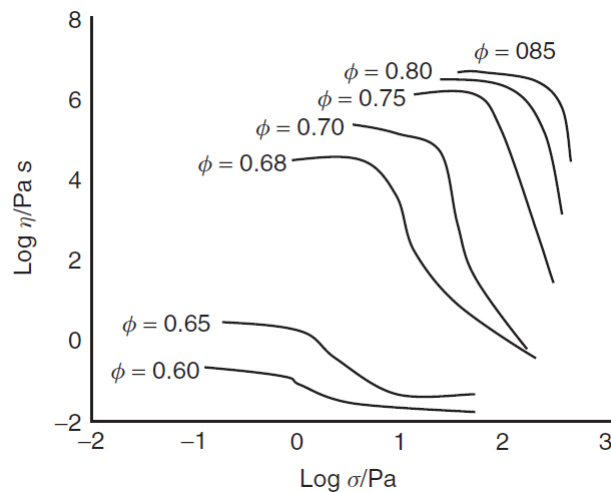


Abbildung 17 Fließkurven von Emulsionen verschiedener Konzentrationen und den Einfluss auf die Viskosität (Tadros 2013)

Ein weiteres typisches Verhalten der hochkonzentrierten Emulsionen ist die Thixotropie. Das bedeutet mit steigender Beanspruchung, kommt es zur Abnahme der Viskosität. Begründet wird dies durch, die eng aneinander liegenden Grenzflächenschichten, die durch die dicht gepackten Öltröpfchen eine besondere Struktur haben. Diese lässt sich durch Deformation zerstören, kann aber wieder durch Ruhe die Grundstruktur zurückgewinnen, diese Zeit ist auch als Relaxationszeit bekannt. Die Relaxationszeit steigt mit zunehmenden Ölanteil, erklärt wird dies durch die stärkeren Interaktionen bei steigender

## Theoretischer Hintergrund

Ölkonzentration (Tadros 2013). Auch Dickinson erklärt die abfallende Viskosität mit steigender Scherrate mit der Zerstörung der hitzeinduzierten Aggregate und dem Herauslösen in die kontinuierliche Phase (Dickinson und Parkinson 2004).

Der Einfluss der Eigenschaft bzw. Behandlungsart der Molkenproteine auf die Emulgatorwirkung untersuchte Knudsen und Mitarbeiter. Er stellte Emulsionen mit einem Ölanteil von 0,6 her. Als oberflächenaktiven Stoff wählte er das Molkenprotein  $\beta$ -Lactoglobulin. Die herstellgestellten  $\beta$ -Lactoglobulin-Lösungen waren zum einen im nativen Zustand und zum anderen vorher bei 69°C bei 30 min und 60°C bei 45min erhitzt. Aus den entstandenen Emulsionen wurde die Tropfengröße, sowie rheologische Messungen durchgeführt. Für die Tropfengröße wurden nur kleine Unterschiede festgestellt. Die Emulsion mit nicht erhitzten  $\beta$ -Lactoglobulin zeigte den kleinsten Durchmesser auf, jedoch wurden bei diesen die geringste Adsorptionsmenge festgestellt. Für alle Emulsionen galt  $G' > G''$ , jedoch zeigte die Emulsion mit erhitzten  $\beta$ -Lactoglobulin (69°C, 45min) das höchste Speicher- und Verlustmodul. Die Textur der Emulsionen mit erhitzten Molkenproteinen zeigte ein feststoffähnliches Verhalten verglichen mit den Emulsionen mit nativen  $\beta$ -Lactoglobulin. Der Einsatz von hitzebehandelten  $\beta$ -Lactoglobulin und damit aggregierten Proteinen als Emulgator kann zur 200-fachen Erhöhung des Speichermoduls führen (Knudsen et al. 2008). Auch Dickinson untersuchte die hitzeinduzierte Aggregation von milchproteinestabilisierten Emulsionen. Der Ölanteil liegt hier zwar bei 30%, jedoch konnte er wissenschaftlich erforschen, wie sich Natrium-Caseinat und Molkenproteinisolat (WPI) bei Emulsionsherstellung verhalten. Es stellte sich heraus, dass sich mit steigendem Anteil an WPI die Tropfengröße steigert. Verursacht ist dies durch die eintretende Brückenflockung (bridging flocculation), welche direkt nach dem Homogenisieren auftritt. Somit zeigen Natrium-Caseinat eine deutlich bessere Emulgatorwirkung als Molkenproteinisolate. Bei einem Verhältnis von 50:50 (Natrium-Caseinat:WPI) wurden zufriedenstellende Partikelgrößenverteilungen beobachtet. Bei Untersuchung der thermischen Behandlung der Emulsionen von 90°C für 48 Stunden zeigen Na-Caseinat keinen signifikanten Unterschied in der Tropfengrößenverteilung. Anders ist es bei den WPI mit  $\beta$ -Lactoglobulin, diese weisen eine 10-fach erhöhte Tropfengrößenverteilung auf. Zurückzuführen ist diese Eigenschaft auf die Hitzedenaturierung der Molkenproteine, welche eine Entfaltung einleitet. Über der Denaturierungstemperatur (>65°C, pH 6,7) kommt es zu freiliegenden non-polaren Seitenketten, welche einen hydrophoben Charakter verleihen und darum die Protein-Protein-Interaktionen verstärkt. In Bezug auf die rheologischen Aspekte und thermischen Einflüsse wird vor allem bei Hitzebedingungen von 90°C für WPI-stabilisierte Emulsionen eine signifikante Steigerung der Viskosität im

## Theoretischer Hintergrund

Vergleich zu niedrigeren Hitzebehandlungstemperaturen (Dickinson und Parkinson 2004). Ähnliche Ergebnisse und Begründungen findet Dickinson bei der Untersuchung von Emulsionsgelen mit proteinstabilisierten Öltröpfen (Dickinson 2012).

Weitere Forschungen machte Loi und Mitarbeiter, indem er proteinstabilisierte Emulsionen auf physiochemische Eigenschaften und Stabilität untersuchte. Unterschiedliche Zusammensetzungen von Na-Caseinat und Molkenproteinkonzentraten (WPC) wurden untersucht. Bei ausschließlicher Verwendung von Natrium-Caseinat werden die kleinsten Tropfengrößen und höchsten Viskositäten erkannt und auch in Laufe der Lagerung werden ebenfalls gleiche Resultate beobachtet, verglichen mit Molkenproteinkonzentraten. Begründet wird dies durch die vorteilhafte kleine kolloidale Struktur der Caseine und die Fähigkeit schneller an der Öl-Wasser-Grenze zu adsorbieren als Molkenproteine (Loi et al. 2019).

Proteine besitzen die Fähigkeit Gele zu bilden. Dazu ist das Entwickeln eines drei-dimensionalen Netzwerks nötig. Dieses Netzwerk kann durch Protein-Protein-Interaktionen oder Protein-Lösungsmittel-Interaktionen entstehen. Die Proteinkonzentration spielt dabei eine wesentliche Rolle. Je höher die Proteinkonzentration ist, desto schneller können Gele gebildet werden. Milchproteine besitzen hierbei die Eigenschaft, dass die Emulsionen bei Erhitzung stabil halten und gleichzeitig bei Abkühlung Gele bilden (Zayas 1997). Gele, die mit Hilfe von Milchproteinen entstehen, sind mit Änderung der Struktur bzw. der Denaturierung verbunden. So kommt es bei Molkenproteinen durch Hitze zur Denaturierung, bei Caseinen bei Lab- oder Säurezugabe. Wie es auch beim stichfesten Joghurt der Fall ist, entstehen Gele durch Säurebildung der Joghurtkulturen, das heißt es liegt eine abnehmende Abstoßung der Caseinmicellen vor. Es kommt zur Koagulation und Netzwerkbildung. Sind dabei die Protein-Protein-Interaktionen zu stark, kann es zur Synärese, das heißt zum Austritt von Wasser, kommen. Eine Gelierung kommt durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken, ionische und hydrophobe Interaktionen, Van der Waals Kräfte und kovalente Disulfidbrücken zustande (Lucey 2009).

### **2.4 Rheologische Eigenschaften**

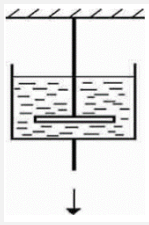
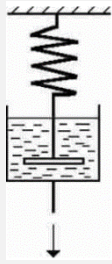
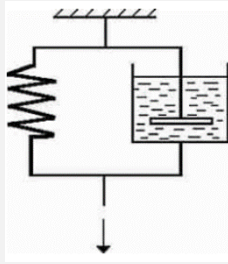
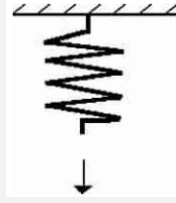
„Rheologie (gr.: rheos=fließen) ist die Lehre von Deformation und vom Fließen der Substanzen. [...] Rheologische Untersuchungen umfassen aber nicht nur das Fließverhalten, sondern auch das Deformationsverhalten von Festkörpern.“ Mit Hilfe der Bestimmung der rheologischen Eigenschaften einer Probe kann diese charakterisiert und eine Einstufung in Arten des rheologischen Verhalten siehe Tabelle 5 erfolgen. Ebenfalls sind zu

## Theoretischer Hintergrund

jedem rheologischem Verhalten ein Modell definiert, welche auch in Tabelle 5 abgebildet sind (Markgraf und Horn 2014; Mezger 2016).

Das Gesetz nach Newton beschreibt das idealviskose Verhalten einer Flüssigkeit, dieses kann mit Fließkurven und Viskositätskurven gemessen und interpretiert werden. Hier spricht man von einem Dämpfermodell, dieses kennzeichnet einen irreversiblen Prozess, in dem das Verlustmodul größer als das Speichermodul ist ( $G'' > G'$ ). Der Verlustfaktor ausgedrückt mit  $\tan\delta$  ist kleiner als 1, denn der Quotient aus dem Verlustmodul und dem Speichermodul wird aus der vorherigen Definition aus  $G'' > G'$  automatisch kleiner als 1. Nimmt der Verlustfaktor den Wert 1 an, so wird der Sol-Gel-Übergang erreicht, hier haben Verlustmodul und Speichermodul die gleichen Werte. Das (ideal-) elastische Deformationsverhalten, welches das Federmodell demonstriert, stellt einen reversiblen Prozess dar, welcher sich nach dem Hooke'schen Gesetz richtet (Kettler und Richtering 2007). Das bedeutet, dass die eingesetzte Energie bei Deformation zu gleichem Betrag gespeichert und bei Deformationsentlastung der Probe vollständig zurückgewonnen wird (Markgraf und Horn 2014).

*Tabelle 5 Überblick über unterschiedliche Arten rheologischen Verhaltens (Mezger 2010); Abbildungen aus (Brummer 2006)*

Flüssigkeit		Feststoff	
(ideal-)viskoses Fließverhalten	viskoelastisches Fließverhalten	viskoelastisches Deformationsverhalten	(ideal-) elastisches Deformationsverhalten
Gesetz nach Newton	Modell nach Maxwell	Modell nach Kelvin/Voigt	Gesetz nach Hooke
			
Fließkurven, Viskositätskurven	Kriechversuche, Relaxationsversuche, Oszillationsversuche		
$G'' > G'$	$G'' = G'$		$G'' < G'$
$\tan\delta > 1$	$\tan\delta = 1$		$\tan\delta < 1$

Meist jedoch handelt es sich um komplexere Systeme, die einen elastischen Anteil sowie einen viskosen Anteil besitzen. Liegt ein viskoelastisches Fließverhalten bzw. Deformationsverhalten vor, so bestimmt man den linear-viskoelastischen Bereich (LVE-Bereich).

## Theoretischer Hintergrund

Dieser Bereich gibt an, wann das Netzwerk bzw. die elastische Mikrostruktur der Probe zerbricht (Brummer 2006; Fuchs 2013). Die Kombination aus dem Hook'schen Gesetz und Newton'schen Gesetz macht die Charakterisierung des viskoelastischen Verhaltens möglich (Kettler und Richtering 2007).

Um die rheologischen Eigenschaften zu definieren bedingt es Parameter. Die rheologische Messung der Probe findet zwischen zwei parallelen Platten statt. Die untere Platte erfährt keine Bewegung, die obere Platte hingegen wird durch die tangential angreifende (Scher-)kraft  $F$  mit konstanter Geschwindigkeit  $v$  bewegt (siehe Abbildung 18). Die daraus resultierende Scherrate  $\dot{\gamma}$  wird durch das Verhältnis der Geschwindigkeit  $v$  zum Plattenabstand  $h$  definiert. Die auf die Probe wirkenden (Scher-)kräfte im Verhältnis zur (Scher-)fläche definiert die Schubspannung  $\tau$ . Die Deformation  $\gamma$  ist der Quotient aus der Auslenkung  $s$  und dem Plattenabstand  $h$  (Hochstein 1997).

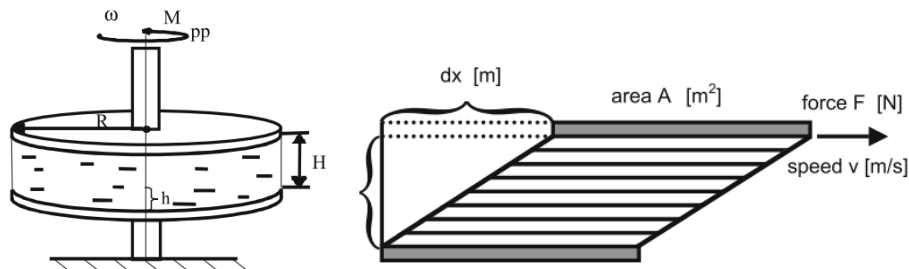


Abbildung 18 Aufbau und Scherung des Plattenmodells (Brummer 2006)

In Tabelle 6 ist ein Überblick der Formeln mit Begriffen definiert:

Tabelle 6 Überblick von Begriffen und Formeln der Rheologie (Kettler und Richtering 2007; Mezger 2010)

Bezeichnung	Formel	Einheit
Schubspannung/shear stress	$\tau = \frac{F}{A}$ F= (Scher-)kraft; A=(Scher-)fläche	[Pa]
Deformation /strain	$\gamma = \frac{s}{h}$ s= Auslenkung [m]; h= Plattenabstand [m]	dimensionslos

## Theoretischer Hintergrund

Schubmodul /shear modulus	$G = \frac{\tau}{\gamma}$	[Pa]
Kreisfrequenz	$\omega = 2\pi \cdot f$	[rad/s] oder [1/s]

Literaturwerte für das Schubmodul  $G$  (bei 20°C) liegen für viskoelastische Gele, wie Dispersionen, Lotionen, Cremes, Salbe, Lebensmittelpasten, Kosmetika bei einem Bereich von 50 bis 5000 Pascal (Mezger 2016).

### 2.4.1 Oszillationsrheometrie

Es wird hauptsächlich zwischen Oszillations- und Rotationsversuchen unterschieden. Beim Ersteren ist eine oszillierende Platte angebracht, beim Letzteren rotiert die Platte kontinuierlich auf der Probe. Neben diesen gibt es noch Kriech- und Relaxationsversuche zur Untersuchung von viskoelastischen Flüssigkeiten und/oder Feststoffen. Vor allem Oszillationsversuche, auch „dynamisch-mechanische Analyse“, werden zur Interpretation von viskoelastischen Proben herangezogen. Hier spielen das Speichermodul ( $G'$ ) und das Verlustmodul ( $G''$ ) eine zentrale Rolle. Definiert sind Speicher- und Verlustmodul mit folgenden Formeln (Mezger 2016):

$$G' = (\tau_A/\gamma_A) \cdot \cos\delta \quad (7)$$

$$G'' = (\tau_A/\gamma_A) \cdot \sin\delta \quad (8)$$

$\tau_A$  = Schubspannungs-Amplitude (Oszillationsversuch)

$\gamma_A$  = Deformationsamplitude (Oszillationsversuch)

$\delta$  = Phasenverschiebungswinkel

Das Speichermodul  $G'$  (storage modulus) ist das Maß für die während des Scherprozesses in der Probe gespeicherte Deformationsenergie. Nach Entlastung steht diese Energie wieder vollständig zur Verfügung. Der  $G'$ -Wert drückt das elastische Verhalten des Probenmaterials aus. Das Verlustmodul  $G''$  (loss modulus) steht für die während des Scherprozesses verbrauchte und danach verlorene Deformationsenergie. Es wird als irreversibles Deformationsverhalten oder auch viskoses Verhalten definiert. Der Verlustfaktor setzt das viskose Verhalten  $G''$  mit dem elastischen Verhalten  $G'$  in Verhältnis und gibt somit das viskoelastische Deformationsverhalten an (Mezger 2010; Walstra 2003).

## Theoretischer Hintergrund

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \quad (9)$$

Die Interpretation dieses Verlustfaktors kann mit folgender Tabelle 7 vorgenommen werden.

*Tabelle 7 Interpretation des Verlustfaktors (Mezger 2010)*

<b>Idealviskoses Verhalten</b>	<b>Verhalten einer viskoelastischen Flüssigkeit</b>	<b>Viskoelastisches Verhalten mit gleichgroßen viskosen und elastischen Anteilen</b>	<b>Verhalten eines viskoelastischen Gels oder Festkörpers</b>	<b>Idealelastisches Deformationsverhalten</b>
$\delta = 90^\circ$	$90^\circ > \delta > 45^\circ$	$\delta = 45^\circ$	$45^\circ > \delta > 0^\circ$	$\delta = 0^\circ$
$\tan\delta \rightarrow \infty$	$\tan\delta > 1$	$\tan\delta = 1$	$\tan\delta < 1$	$\tan\delta \rightarrow 0$
$G' \rightarrow 0$	$G'' > G'$	$G' = G''$	$G' > G''$	$G'' \rightarrow 0$

### 2.4.1.1 Amplituden-Test

Als Oszillationsversuch wird der Amplitudentest, auch Amplituden-Sweep zur Bestimmung des linear viskoelastischen Bereichs (LVE-Bereichs) herangezogen. Bei diesem Test variiert die Amplitude, meist wird diese innerhalb des Tests auf ein 100-faches erhöht (Brunner 2006). Die Frequenz, sowie Temperatur dagegen bleiben konstant. Typischerweise, wie in Abbildung 19 gezeigt, wird bei der Messung das Speichermodul  $G'$  und Verlustmodul  $G''$  meist logarithmisch auf der y-Achse auftragen. Auf der x-Achse ist die Deformation  $\gamma$  ebenso logarithmisch aufgetragen. Es ist zu beobachten, dass  $G'$  und  $G''$  zuerst parallel verlaufen, jedoch es dann mit steigender Deformation  $\gamma$  zum Abfall von Speichermodul und darauffolgend zum Abfall des Verlustmoduls kommt. Die Grenzdeformation  $\gamma_L$  wird als der x-Achsenwert bezeichnet, bei dem sich das System als letzten Wert im LVE-Bereich befindet bevor es zum Zusammenbruch des Systems kommt (Fuchs 2013). Fällt  $G'$  unter  $G''$  bzw. steigt der Verlustfaktor  $\tan\delta > 1$ , liegt ein viskoser Charakter vor, das heißt die Probe kriecht oder läuft durch den Strukturzusammenbruch (Markgraf und Horn 2014).

## Theoretischer Hintergrund

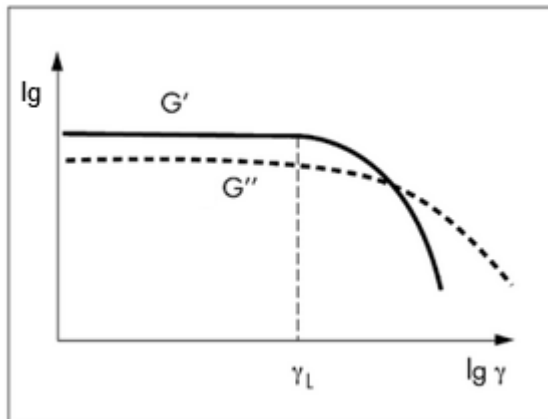


Abbildung 19 Amplitudentest als Deformationsfunktion einer Messprobe mit  $G' > G''$  im LVE-Bereich und dem Grenzwert  $\gamma_L$  (Mezger 2010)

Ebenso kann  $G'' > G'$  im LVE-Bereich vorliegen, das heißt, dass es sich um eine viskoelastische Flüssigkeit handelt. Dieser Test wird meist durchgeführt, um die linear-viskoelastische Grenze der Messprobe zu bestimmen (Mezger 2010). Erhält man bei Durchführung eines Amplituden-Sweeps ein Graph wie in Abbildung 20, bei dem ein  $G''$ -Maximum zu beobachten ist, so ist das charakteristisch für beispielsweise eine hochkonzentrierte Dispersion. Grund für dieses Maximum können aufgebaute Kräftenetzwerke und Gele sein. Diese ansteigenden Verlustmodul-Werte „weisen auf einen zunehmenden Anteil der Deformationsenergie hin, die noch vor dem letztendlichen Zusammenbrechen der inneren Struktur verbraucht wird“ (Mezger 2016).

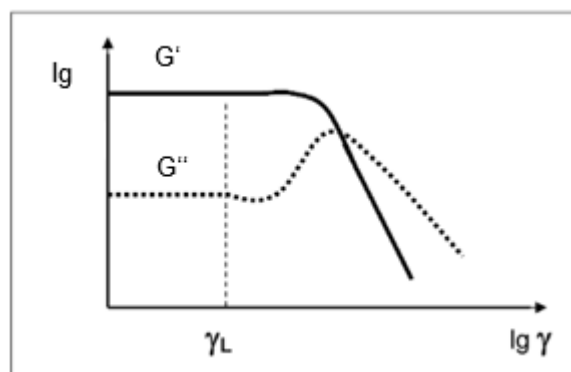


Abbildung 20 Amplituden-Sweep mit  $G''$ -Maximum (Mezger 2016)



## Theoretischer Hintergrund

### 2.4.1.2 Frequenztest

Nach einem Amplitudentest folgt meist ein Frequenztest, auch Frequenz-Sweep, bei dem die Frequenz variiert während Amplitude und Temperatur konstant gehalten werden. Hier kann das Verhalten der Probe auf eine konstante Deformation geprüft werden. Aus den Ergebnissen kann man ein zeitabhängiges Deformationsverhalten der Probe interpretieren, dass die Frequenz der inverse Wert für die Zeit darstellt. In Abbildung 21 wird der Test beispielsweise bei niedriger Kreisfrequenz gestartet und endet bei hohen Frequenzen. Es handelt sich hierbei um eine sinusförmige Drehschwingung der Platte, bei der sich die Dauer jeder einzelnen Schwingung von Messpunkt zu Messpunkt bei konstanter maximaler Auslenkung des Drehwinkels ändert. Die maximal zulässige Auslenkung des Drehwinkels wird durch den Amplituden-Sweep zur Bestimmung des LVE-Bereichs bestimmt (Brummer 2006; Mezger 2016).

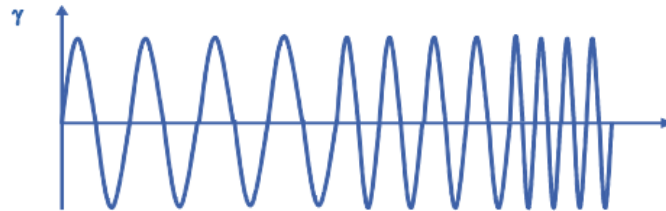


Abbildung 21 Frequenztest mit  $T, \omega = \text{const.}$  (Brummer 2006)

Für die Messung und in der Auswertung der Graphen wird die Kreisfrequenz  $\omega$  mit der Einheit [rad/s] oder [1/s] verwendet, da diese im Vergleich zur Frequenz  $f$  [Hz] eine SI-Einheit darstellt. Die Formel zur Umrechnung von Kreisfrequenz  $\omega$  in Frequenz  $f$  kann aus Tabelle 6 entnommen werden (Mezger 2016).

Typischerweise wird auf der x-Achse die Kreisfrequenz  $\lg \omega$  und auf der y-Achse meist  $\lg G'$  und  $\lg G''$  aufgetragen. Für den Fall, dass  $G' > G''$  während der gesamten Messung vorliegt (siehe Abbildung 22), ist anzunehmen, dass das elastische Verhalten gegenüber dem viskosen Verhalten der Probe dominiert. Stabile Dispersionen und Gele weisen über die gesamte Messungszeit  $G' > G''$  auf, was auf ein dreidimensionales Kräfte Netzwerk zurückzuführen ist. Oft verlaufen  $G'$  und  $G''$  der Proben mit Gel-Charakter im nahezu parallelen Verlauf und leichtem Kurvenanstieg. Liegt  $G' \geq 10$  Pa vor, dann ist anzunehmen, dass die Probe eine gewisse Dispersionsstabilität oder Gel-Stabilität aufweist. Die Darstellung der Kurve der Viskosität wird in Abbildung 22 nicht betrachtet und ist laut dem Autor in dieser Hinsicht nicht sinnvoll (Mezger 2016).

## Theoretischer Hintergrund

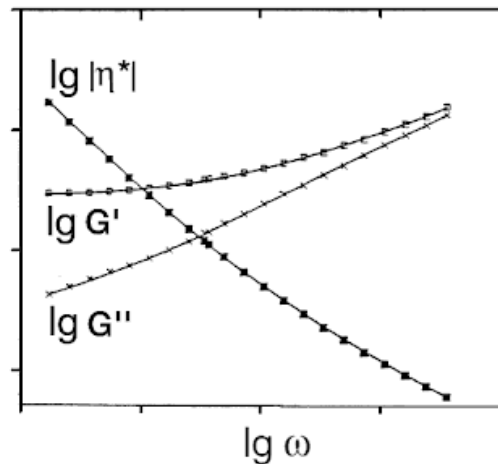


Abbildung 22 Frequenz-Sweep mit gelartigen Zustand:  $G' > G''$  (Mezger 2016)

### 2.4.1.3 Temperaturabhängiges Verhalten

Um den Einfluss der Temperatur auf die Probe zu messen, ist ein Temperaturprofil, auch Temperaturrampe, bei konstanten dynamisch-mechanischen Bedingungen anzulegen. Dieser rheologische Test wird auch dynamisch-mechanische thermische Analyse oder DMTA-Test genannt. Hier werden die Amplitude und Frequenz konstant gehalten. Durch das Temperaturprogramm kann das Verhalten der Probe auf die Temperatur und auch die Reaktion auf die Aufheiz- bzw. Abkühlrate [ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ], bestimmt werden. Diese Untersuchung dient der Charakterisierung der Probe in Bezug auf die Temperatur. Es kann abhängig von der Probe beispielsweise das Erweichen, Schmelzen oder Gelieren beurteilt werden. Im Falle der Proteine reagieren hitzesensitive Proteine stärker als andere Proteine, da es zur Änderung der Struktur kommt (Mezger 2016).

Meist wird eine Aufheiz- bzw.- Abkühlrate von maximal  $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$  gewählt. Für die graphische Auswertung wird die Zeit linear auf der x-Achsen aufgetragen. Auf der ersten y-Achse sind das Speichermodul  $G'$  und Verlustmodul  $G''$  logarithmisch zu sehen, die zweite y-Achse zeigt das Temperaturprofil aller Wertepunkte. Auch ist es möglich den  $\tan \delta$  in den Graph mit aufzunehmen (Mezger 2010). Während der gesamten Messung wird eine Isolierung am Gerät angebracht, die ein Austrocknen weitestgehend verhindert.

### 3 Material und Methoden

In Tabelle 8 ist eine Übersicht über ausgewählte durchgeführte Versuche, die im Ergebnisteil vorgestellt und diskutiert werden. Vorversuche und weitere Versuche, die für diese Arbeit keine Relevanz zeigen, werden nicht aufgeführt. Die Materialien und Erklärung der Methoden und deren Einstellungen werden im folgenden Kapitel erläutert.

*Tabelle 8 Versuchsplanung: Übersicht über ausgewählte durchgeführte Versuche und angewandte Methoden; Emulsionsherstellung wie in Kapitel 2.2.1 erklärt*

Material					Methoden				
Ölanteil	Wasseranteil	Proteinfraktion	Proteinanteil in der Wasserphase	Lagerung	Lichtmikroskopie	Amplituden-Sweep	Frequenz-Sweep	Temperaturprofil (4-80-4°C)	Bestimmung der Ötropfengröße
[%]	[%]		[%]			G', G'' [Pa]	G', G'' [Pa]	G', G'' [Pa]	[µm]
70	30	Frischmilch	3,4	frisch	x	x*	x	-	x
71	29	Frischmilch	3,4	frisch	x	x	x	-	x
72	28	Frischmilch	3,4	frisch	x	x	x	-	x
73	27	Frischmilch	3,4	frisch	x	x	x	-	x
74	26	Frischmilch	3,4	frisch	x	x	x	x	x
73	27	Na-Caseinat	4	frisch	-	x	x	-	x
73	27	Na-Caseinat	5	frisch	x	x	x	x	x
73	27	Na-Caseinat	6	frisch	x	x	x	x	x
73	27	Na-Caseinat	6	nach 5d	x	-	-	-	x
73	27	Na-Caseinat	6	nach 11d	x	-	-	-	x
73	27	Na-Caseinat	7	frisch	x	x	x	-	x
73	27	Na-Caseinat	8	frisch	x	x	x	x	x
73	27	WPI	4	frisch	-	x	x	-	x
73	27	WPI	5	frisch	x	x	x	x	x
73	27	WPI	6	frisch	x	x	x	x	x
73	27	WPI	6	nach 5d	x	-	-	-	x
73	27	WPI	6	nach 11d	x	-	-	-	x
73	27	WPI	7	frisch	x	x	x	x	x
73	27	WPI	8	frisch	x	x	x	x	x
73	27	Na-Caseinat-WPI-Mix (80:20)	3,5	frisch	x	-	-	-	-
73	27	Na-Caseinat-WPI-Mix (80:20)	7	frisch	x	x	x	-	x

x = Messung durchgeführt; - = keine Messung durchgeführt; \* mit integrierter Mikroskop-Videoaufzeichnung

### 3.1 Material

Das Material zur Emulsionsherstellung und Probenpräparation wird frisch hergestellt und innerhalb eines Tages verbraucht. Die Frischmilch wird nur im Zeitraum bis zum Mindesthaltbarkeitsdatums verwendet.

#### 3.1.1 Milch

Für die Herstellung von Milchemulsionen wurde die Heumilch von der „Gläserne Molkerei“ verwendet. Diese wurde vom Hersteller bei 72-74°C für zirka 40 Sekunden pasteurisiert und ist nicht homogenisiert. Zudem handelt es sich hierbei um eine Milch in Bio-Qualität. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 9 dargestellt.

*Tabelle 9 Nährwertangabe je 100ml Heumilch (Gläserne Molkerei GmbH 2019)*

Brennwert	285 kJ / 68 kcal
Fett	3,8 g
davon gesättigte Fettsäuren	2,4 g
Kohlenhydrate	4,9 g
davon Zucker	4,9 g
Eiweiß	3,4 g
Salz	0,13 g

#### 3.1.2 Pflanzenöl

Außerdem wurde ein Rapsöl von der Firma Rapso verwendet. Hierbei handelt es sich um ein vollraffiniertes Rapsöl, welches keine oder nur in Spuren Phospholipide und Lecithine aufweist. Dieses ist frei verkäuflich und in 0,75 Liter Flaschen zu erwerben. Laut Prüfbericht hat das Produkt eine absolute Dichte von  $0,9173\text{g/cm}^3$  und einen Rauchpunkt von 217°C.

Als Vergleich wird das Olivenöl Cucina von Bertolli verwendet, es handelt sich hierbei um ein raffiniertes Olivenöl, welches einen geringen Anteil an nativem Olivenöl beinhaltet. Es besitzt einen Rauchpunkt von 220°C. Das dritte Öl ist ein raffiniertes Erdnussöl der Firma Brändle. Der Rauchpunkt bei diesem liegt bei 210°C. Der Rauchpunkt gibt

## Material und Methoden

Auskunft über den Anteil der freien Fettsäuren im Öl. Über deren Anteil an Lecithin und Phospholipiden ist nichts bekannt.

### 3.1.3 Natrium-Caseinat

Das Natrium-Caseinat von Sigma Aldrich (CAS-Nummer 9005-46-3) beinhaltet die Caseinfraktionen  $\alpha_{s1}$ -Casein,  $\alpha_{s2}$ -Casein,  $\beta$ -Casein,  $\kappa$ -Casein. Zudem ist es durch sein Salz wasserlöslich und besitzt einen Caseingehalt von zirka 80%.

### 3.1.4 Molkenproteinisolat

Das Molkenproteinisolat von Davisco, BiPRO besteht aus den Molkenproteinfraktionen  $\beta$ -Lactoglobulin und  $\alpha$ -Lactalbumin und ist laut Beschreibung nicht denaturiert. Dieses Produkt hat einen Proteingehalt von mind. 95%.

### 3.1.5 Natrium dodecyl sulfate (SDS)

Die oberflächenaktive Substanz Natrium-Dodecylsulfat (Sodium dodecyl sulfate) wird zur Verdünnung der aller Milchemulsionen verwendet, um die Messung im Laser Diffraction Particle Size Analyzer durchzuführen. Es wurde das SDS von der Firma Roth mit der CAS-Nummer 151-21-3 verwendet. Die schwach konzentrierte SDS-Lösung verhindert die Traubenbildung der Öltropfen in der Wasserphase.

### 3.1.6 Milli-Q®

Zur Verdünnung und Herstellung der Proteinlösungen wird Reinstwasser Milli-Q®-Wasser verwendet. Dieses zeichnet sich durch den sehr niedrigen Gehalt an Mineralstoffen aus und wird von einem Reinwassersystem gefiltert.

## **3.2 Methoden**

Die Herstellung der Emulsionen, sowie die Durchführung von Amplituden-Sweep und Frequenz-Sweep mit anschließender Partikelgrößenmessung innerhalb eines Tages durchgeführt. Die Messung des Temperaturprofils von 4 bis 80°C und anschließender Abkühlung von 80°C auf 4°C wird innerhalb von 3 Tagen, nach Abkühlung der Proben im Kühlschrank auf 4°C, durchgeführt. Hierbei wird darauf geachtet, dass eine Probe aus der Mitte der Emulsion entnommen wird.

### **3.2.1 Emulsionsherstellung**

#### **3.2.1.1 Milchemulsionen**

Die Milchemulsionen wurde mit einem ULTRA-TURRAX® T 18 basic hergestellt. Dieser funktioniert nach dem Rotor-/Stator-Prinzip. Laut Herstellerangaben ist es möglich mit diesem mechanischen Prinzip eine Endfeinheit der Emulsion von 1-10 µm zu erreichen. Alle 50g-Emulsionen wurde bei einer Drehzahl von 15.600 (Leerlaufdrehzahl) und einer Homogenisierungsdauer von 5 Minuten durchgeführt.

#### **3.2.1.2 Emulsion aus Milchproteinen und Pflanzenölen**

Emulsionen aus den jeweiligen Na-Caseinat-, Molkenproteinisolat- (WPI) oder gemischte Caseinat-/Molkenproteinisolat-Lösung wurde mit MilliQ-Wasser hergestellt. Daraufhin wurde die gewünschte Ölkonzentration mit den Protein-Lösungen emulgiert. Die Prozentangaben sind alle in Gewichtsprozent % (w/w).

### **3.2.2 Lichtmikroskopie**

Für die Aufnahme von Mikroskopiebildern wurde das Lichtmikroskop Axio Scope.A1 der Firma ZEISS verwendet. Die Bilder wurden nach dem Prinzip der Hellfeldmikroskopie aufgenommen. Es standen Objektive mit einer 10-, 20- und 40-fachen Vergrößerung zur Verfügung. Zur Auswertung wurde die Software imagej verwendet, um den Maßstab einzufügen.

### 3.2.3 Laser Diffraction Particle Size Analyzer

Zur Bestimmung der Öltropfengröße wurde ein Laser Diffraction Particle Analyzer LS 13 320 der Firma Beckman Coulter verwendet. Dieser macht es möglich im Messbereich von  $0,040\mu\text{m}$  -  $2000\mu\text{m}$  Partikel zu messen. Neben der Messung der Partikelgröße kann die Partikelgrößenverteilung gemessen und in der zugehörigen Software ausgegeben werden. Der LS 13 320 verwendet eine 5-mW-Laserdiode mit einer Wellenlänge von  $750\text{nm}$  (oder  $780\text{nm}$ ) als Hauptbeleuchtungsquelle. Die Messung der Partikel beruht auf dem Prinzip der Lichtstreuung, siehe Abbildung 23, indem jede Partikelgröße das Licht charakteristisch streut. Das zentrale Merkmal der Fourier-Optik ist es, dass das Streulicht eines jeden Teilchens in einem bestimmten Winkel an der Linse gebrochen wird. Letztendlich erzeugt die Fourier-Linse ein Bild des zusammengesetzten Streumusters aller Partikel. Die Streumuster der sich bewegenden Partikel in der Probenzelle werden überlagert, wobei ein zusammengesetztes Streumuster aller Partikel bzw. eine Beugungslichtverteilung entsteht. Dieses ist die Summe der gebeugten Intensitäten aller Partikel im Strahl. Eingebaute Detektoren zeichnen diese Streumuster auf und bilden im Verlauf der Messung ein Durchschnitt der Muster. Eine wichtige Komponente ist die Fourier-Linse, diese fokussiert den einfallenden Strahl, damit er nicht mit dem gestreuten Licht interferiert. Unter der Interferenz versteht man die Überlagerung von Wellen. Das gebeugte Licht trifft auf eine Zentralsdiode und daraufhin werden konzentrisch angeordnete Diodenhalbringe abgebildet. Zur Auswertung kommt es zu Umwandlung des gestreuten Lichts an der Detektorebene in eine Funktion. Aus der Messdauer ergibt sich eine Analyse der resultierenden Muster die tatsächliche Partikelgrößenverteilung der Probe. Die zugrunde gelegte Theorie ist das Fraunhofer-Modell, das keine zusätzlichen Daten, wie Brechungsindex und Absorptionskoeffizienten, zur Berechnung benötigt (Beckman Coulter 2003; Löffler-Mang 2012).

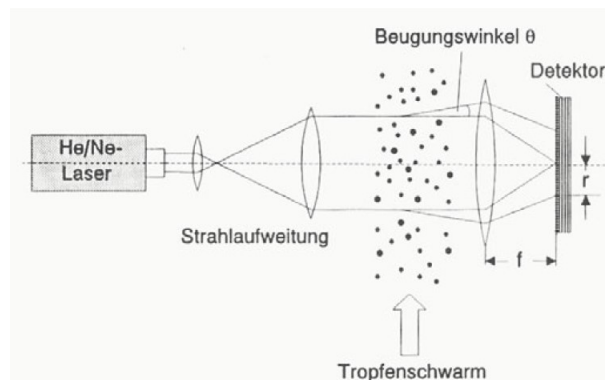


Abbildung 23 Prinzip der Laserbeugung zur Messung der Partikelgrößen (Löffler-Mang 2012)

## Material und Methoden

Der Particle Size Analyzer misst auch Partikel im Nanometerbereich, mit der sogenannten PIDS (Polarization Intensity Differential Scattering) Technologie. Die gesamte Messung wird somit eine Kombination aus PIDS und Laserbeugung sein, was die direkte Detektion von Partikeln ab 10nm Größe ermöglicht. Das PIDS-System besitzt eine sekundäre Wolfram-Halogen-Lichtquelle. Dieses Licht wird durch eine Reihe von Filtern projiziert. Die Filter lassen drei Wellenlängen durch zwei orthogonal orientierte Polarisatoren durch, diese sind bei 450nm (blau), 600nm (orange), and 900nm (nahinfrarot, unsichtbar) festgelegt (Beckman Coulter 2003; Beckman Coulter GmbH 2019).

Für die Messung der Emulsionen wird zuvor eine Mischung von 1:9 (1g Probe + 9g 0,2%ige SDS-Lösung) hergestellt. Um ein Aggregieren der Öltröpfchen in der Wasserphase zu vermeiden, wurde die Verdünnung mit einem negativ geladenen oberflächenaktiven Stoff durchgeführt. Um diesen Effekt zu verhindern beziehungsweise um einwandfreie Ergebnisse der Öltröpfchengröße zu erhalten, wurde Natriumdodecylsulfat (SDS Sodiumdodecylsulfat) verwendet. Die chemische Struktur, wie in Abbildung 24 abgebildet, zeigt dessen hydrophilen und hydrophoben Teil. Diese Besonderheit macht die Stabilisierung der Öltröpfchen durch ein Anlagern der SDS-Moleküle möglich. Die verwendete Konzentration von 0,2 % SDS wurde experimentell ermittelt, indem unterschiedliche Konzentrationen hergestellt und daraufhin mikroskopische Aufnahmen untersucht und verglichen wurden (Matissek et al. 2018). Die gewählte Konzentration wurde in anderen Veröffentlichungen ebenfalls zur Probenvorbereitung verwendet (Mattia et al. 2015). Die Herstellung der Verdünnung fand unmittelbar vor Eingabe der Probe in den Particle Size Analyzer statt, sodass eine Aggregatbildung verhindert wurde.

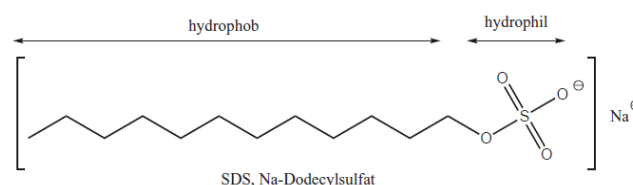


Abbildung 24 Struktur von Natriumdodecylsulfat (SDS) (Matissek et al. 2018)

Vor jeder Messung wird eine Kalibrierung durchgeführt, um möglichst genaue Ergebnisse zu erhalten. Diese beinhaltet das Entgasen bzw. Entfernen von Luftblasen, Messung des Hintergrunds, ein Ausgleich und eine Anpassung des Probenraums.

Die graphische Auswertung erfolgt in der Grafiksoftware OriginPro 8.5.



### 3.2.4 Rheologie

Für die rheologischen Messung wurde das luftgelagerte Rheometer Gemini 200 von der Firma Malvern Instruments ehemals Bohlin Instruments verwendet. Mit der passenden Software Gemini200 konnten alle Einstellungen, sowie Datenexport durchgeführt werden. Die gesamte graphische Auswertung der rheologischen Tests wird in der Grafiksoftware OriginPro 8.5 durchgeführt. Im Rahmen der Masterarbeit wird eine Vierfachbestimmung für die Messungen des Amplituden-Sweeps und Frequenz-Sweeps durchgeführt. Weitere Messungen können aus zeitlichen Gründen nicht realisiert werden. Dies ist ein weiterer Punkt für wissenschaftliche Untersuchungen in dieser Thematik.

Die verwendete Platte-Platte-Geometrie der Firma Malvern Instruments besteht aus einer Platte mit einem Durchmesser von 25 Millimeter. Der Plattenabstand bei allen analysierten Proben liegt bei 1 Millimeter.

#### 3.2.4.1 Amplituden-Sweep

Der Amplituden-Sweep wurde für Charakterisierung der Proben verwendet. Für die untersuchten Proben wurde die Deformation  $\gamma$  von 0,1% bis 100% mit Kreisfrequenz  $\omega$  von 10 rad/s gewählt.

#### 3.2.4.2 Frequenz-Sweep

Der Frequenz-Sweep startet bei einer Kreisfrequenz  $\omega$  von 0,1rad/s und endet bei 100rad/s, die konstante Deformation  $\gamma$  war hierbei bei 0,5%. Der Wert der Deformation wurde aus vorangängigen Versuchen im LVE-Bereich gewählt.

#### 3.2.4.3 Temperaturabhängiges Verhalten

Um das Verhalten der Proben auf die Temperatur zu untersuchen, wurden Temperaturrampen mit 1°C/min eingestellt. Das Temperaturprofil wurde von 4°C auf 80°C und mit anschließender Abkühlung von 80°C auf 4°C gewählt. Die Einstellungen sind in Tabelle 10 ersichtlich. Das Temperaturprofil wird in den Ergebnissen als zweite y-Achse angezeigt. Zur Verhinderung der Aushärtung der Probe ist eine Isolierung während der gesamten Messung angebracht.

Tabelle 10 Einstellung zur Messung eines Temperaturprofils

Parameter	Einstellungen
Kreisfrequenz $\omega$	10rad/s
Deformation $\gamma$	0,5%
Temperatur $T$	4 - 80°C + 80 - 4°C

### 3.2.5 Statistische Bewertung der Ergebnisse

Zur Interpretation der Messdaten werden statistische Methoden verwendet.

**Mittelwerte:** Der arithmetische Mittelwert wird zur Bestimmung des Mittelwertes einer Datenreihe mit Einbezug aller Daten inklusiv Extremdaten genutzt. Es werden alle Daten  $x_i$  addiert und durch die Anzahl der Daten  $n$  dividiert. Die Formel lautet wie folgt (Kronthaler 2016):

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (10)$$

**Median:** Eine andere Möglichkeit den Mittelwert einer Datenreihe zu bestimmen, ist der Median  $x_{0,5}$ , auch Zentralwert genannt. Zuerst ist eine Datensortierung aufsteigend durchzuführen. Die Ermittlung des Punktes bei dem 50% aller Daten sind, ist zu bestimmen. Folgende Gleichung kann für die Berechnung des Medians herangezogen werden (Sibbertsen und Lehne 2012):

$$x_{0,5} = \begin{cases} \frac{x_{n+1}}{2} & , \text{falls } n \text{ ungerade;} \\ \frac{1}{2} (x_{[\frac{n}{2}]} + x_{[\frac{n}{2}+1]}) & , \text{falls } n \text{ gerade} \end{cases} \quad (11)$$

Für die Berechnung des Mittelwerts der Tropfengröße im Particle Size Analyzer wird eine benutzerdefinierte Berechnung angewandt, da hier der Anteil der Partikel in jedem Kanal herangezogen wird. Das Gerät misst nicht die Anzahl der Öltropfen. Die Werte für die Variablen  $p$  und  $q$  richten sich nach der ausgewählten Werten, in diesem Fall die arithmetische Durchschnittsgröße im Volumen%-Modus (Beckman Coulter 2003).

Die Formel lautet:

$$\bar{x}(p, q) = \left[ \frac{\sum n_i x_i^p}{\sum n_i x_i^q} \right]^{\frac{1}{(p-q)}} \quad (12)$$

$p = 4$

$q = 3$

$x_i =$  Kanalmitte

$n_i =$  Anteil der Partikel im  $i$ 'ten Kanal

**Korrelationsanalyse:** Bei der Korrelation (Zusammenhangsberechnung) wird der Zusammenhang zwischen zwei Variablen ermittelt. Mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten von Bravais-Pearson kann eine Interpretation der Daten erfolgen. Dabei sind positive, wie negative Koeffizienten möglich. Das Vorzeichen gibt an, in welche Richtung der Zusammenhang besteht. Positiven Korrelationskoeffizienten geben den Hinweis, dass sich die Variablen in gleiche Richtung bewegen. Für negative Koeffizienten ist anzunehmen, dass diese sich die Variablen in entgegengesetzter Richtung bewegen. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson für metrische Daten ist wie folgt (Kronthaler 2016):

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (13)$$

$x_i$  und  $y_i$  sind die beobachteten Werte und

$\bar{x}$  und  $\bar{y}$  sind die arithmetischen Mittel

Der vorgestellte Korrelationskoeffizient kann ausschließlich im Bereich  $-1 \leq r \leq 1$  Werte annehmen. Zudem besteht bei Werten mit  $r = 1$  oder  $r = -1$  eine sehr starke Korrelation. Zudem stellt Kronthaler folgende Faustregel zur Interpretation der Koeffizienten zur Verfügung (Kronthaler 2016):

*Tabelle 11 Faustregel zur Interpretation des Korrelationskoeffizienten  $r$  (Kronthaler 2016)*

Wert von $r$	Zusammenhang zwischen zwei Variablen
$r = 1$	Perfekt positive Korrelation
$1 > r \geq 0,6$	Stark positive Korrelation
$0,6 > r \geq 0,3$	Schwach positive Korrelation
$0,3 > r > -0,3$	Keine Korrelation

## Material und Methoden

$-0,3 \geq r > -0,6$	Schwach negative Korrelation
$-0,6 \geq r > -1$	Stark negative Korrelation
$r = -1$	Perfekt negative Korrelation

Zur Auswertung wird geprüft, ob eine Korrelation zwischen den Variablen Proteinkonzentration (bei gleichbleibendem Ölanteil) und der Tropfengröße besteht. Es werden aus drei Messungen jeweils die Mittelwerte (Dreifachbestimmung) zur Korrelationsanalyse herangezogen.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Emulsionsstabilität

Für die Milchemulsionen, das heißt die Emulsion mit Rapsöl und Frischmilch, konnten stabile Emulsionen im Bereich bis 72%w/w realisiert werden. Alle Emulsionen wurden bei einer Raumtemperatur von zirka  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  hergestellt. Eine nicht stabile Emulsion zeichnete sich durch einen Ölfilm bzw. ersichtlichen freiem Öl auf der Oberfläche aus. Die hergestellten Emulsionen sind in Abbildung 25 dargestellt. Die Emulsion mit 70%w/w Rapsöl und 30%w/w Frischmilch, war sehr cremig jedoch weniger ausgeprägt als 72%ige Emulsionen. Bei steigender Ölkonzentration, teilweise schon bei Emulsionen mit 74%w/w Ölanteil, kam es während der Emulsionsherstellung zum Bruch. Es war keine Emulsionen mit Jamming Effekt zu erkennen, diese zeigten auf den ersten Blick das Verhalten einer Newton'schen Flüssigkeit. Vor allem fand dies bei längerer Emulgierdauer statt. Das Liu-Nagel-Diagramm kann hier Anwendung finden, indem durch zu hohen mechanischen Eintrag es zur einer „unjammed“ Emulsion kommen kann. Die Temperatur als zweiten Parameter könnte ebenfalls eine Rolle bei dieser Beobachtung sein. Doch vor allem spielt die Menge der oberflächenaktiven Stoffe eine bedeutende Rolle. Mit steigender Ölkonzentration reicht die Menge an Emulgatoren zur Stabilisierung der Öltröpfchen nicht aus. Das letztere ist die Hauptursache für instabile Emulsionen. Die Besonderheit beim Einsatz von Frischmilch als kontinuierliche Phase und enthaltenen Emulgatoren ist, dass die Emulgatormenge bei steigender Ölkonzentration in der gesamten Emulsion sinkt.

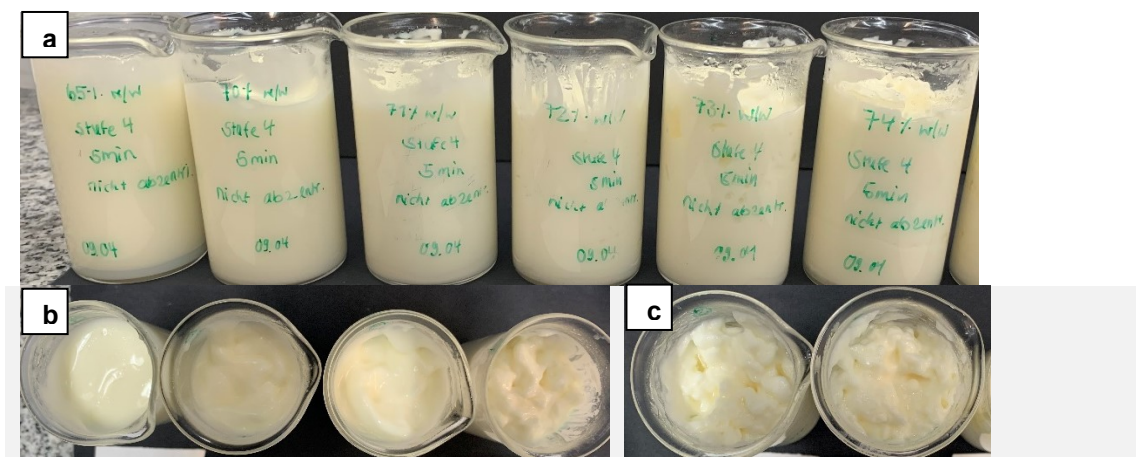


Abbildung 25 Emulsionen mit Frischmilch nach 6 Tagen (a) Überblick der Emulsionen 65%,70%,71%,72%,73%,74% von vorne; (b) Emulsion 65%,70%,71%,72% von oben; (c) Emulsion mit 73%,74% von oben

## Ergebnisse und Diskussion

Ein etwas anderes Verhalten zeigten die Emulsionen mit Milchproteinen-Lösungen. Beim Einsatz von Na-Caseinat, war mit steigender Proteinkonzentration in der wässrigen Phase eine steigende Cremigkeit zu beobachten. Das Experiment zeigte, dass sich der Einsatz von Na-Caseinat sich sehr gut als Emulgator eignet. Gegenüber den Emulsionen mit Molkenproteinisolat zeigten Na-Caseinat-Emulsionen bessere Stabilität. In Abbildung 26 sind WPI-stabilisierte Emulsionen mit links 7%w/w und rechts 8%w/w zu sehen. Es handelt sich hierbei um Aufnahmen nach 4 Tagen. Im linken Bild sind deutliche Öltropfen auf der Oberfläche zu sehen. Bei 8%w/w WPI in der wässrigen Phase sind keine sichtbaren Öltropfen auf der Oberfläche der Emulsion. Vergleicht man in Na-Caseinat-stabilisierte Emulsionen, wie in Abbildung 27 zu sehen, sind hier deutlich stabilere Emulsionen zu beobachten.

Für Untersuchungen die Langzeitstabilität ist im Rahmen der Masterarbeit aus zeitlichen Gründen keine Untersuchung durchgeführt worden.



Abbildung 26 Aufnahme nach 4 Tagen: links: Emulsion mit 7%w/w WPI-Lösung; rechts: Emulsion mit 8%w/w WPI-Lösung; Ölanteil 73%w/w  
Abbildung 27 Aufnahme nach 4 Tagen: links: Emulsion mit 7%w/w Na-Caseinat-Lösung; rechts: Emulsion mit 8%w/w Na-Caseinat-Lösung; Ölanteil 73%w/w

Auch die Literatur bestätigt die Beobachtung der Stabilität, so schrieb Zayas in seinem Kapitel *Emulsifying Properties*, dass mit steigender Na-Caseinat Konzentration eine verbesserte Stabilität der Emulsion besteht (Zayas 1997). Die höhere Flexibilität der Caseine und schnellerer Adsorption an der Grenzfläche bestätigt die bessere Stabilität gegenüber der Molkenproteine. Festzuhalten ist auch, dass Emulsionen mit Na-Caseinat oder WPI weniger empfindlich auf den mechanischen Eintrag des Ultra Turrax reagieren. Auch bei Ölkonzentrationen von 75%w/w ist kein Bruch der Emulsion während der Emulsionsherstellung zu beobachten.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Emulsionen, die aus einem Na-Caseinat-Molkenproteinisolat-Mix mit einem Verhältnis von 80:20 bestehen, und identisch wie bei der Frischmilch einen Gesamtproteingehalt von ~3,5% enthalten, sind optisch nicht mit der Emulsion mit Frischmilch zu vergleichen. Weder die Stabilität noch die Festigkeit der Emulsion war ähnlich. Bei Erhöhung der Na-Caseinat-WPI-Mix-Konzentration auf das Doppelte (Gesamtproteingehalt 7%), können annäherungsweise stabilere Emulsionen gebildet werden. Die rheologischen Eigenschaften in Kapitel 4.3 zeigten die Unterschiede zwischen den Emulsionen.

Konzentrierte Emulsionen mit Frischmilch zeigen trotz ihres relativ geringeren Gesamtproteingehalts eine hohe Festigkeit bei Ölkonzentrationen von 73%w/w. Lediglich Na-caseinatsstabilisierte Emulsionen mit einem Anteil von 8%w/w in der Wasserphase konnte ähnliche Ergebnisse erzielen. Vor allem ist hier die Struktur der Proteine ursächlich. Bei der verwendeten Frischmilch handelt es sich um eine nicht homogenisierte Milch. Diese hat den Vorteil, dass Proteine durch den Homogenisierungsprozess nicht an den Milchfettkügelchen anlagern und eine Sekundärfettkugelmembran bilden. Diese liegen erweist sich frei vor und können als grenzflächenaktive Stoffe wirken. Das enthaltene Fett scheint dabei nicht störend für den Emulsionsprozess zu sein, da dieses Milchfett deutlich kleiner im Mittelwert sind als das Öl (Kessler 2006).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Frischmilch-Emulsionen eine gute Stabilität gegenüber Emulsionen mit Protein-Lösungen zeigen. Es hat sich schon nach der Emulsionsherstellung bestätigt, dass Milchproteine sich auch im Bereich der der hochkonzentrierten Emulsionen gut eignen. Vor allem bei Verwendung von Frischmilch ergeben sich durch die Emulsionsherstellung durch eine Stator-Rotor-System schnell Emulsionen mit einem feststoffähnlichen Verhalten. Stabilere Emulsionen mit homogener Öltröpfenverteilung kann mit Hilfe von anderen Herstellungsmethoden erreicht werden, wie beispielsweise der Hochdruckhomogenisator. Na-Caseinate haben in den Messungen gezeigt, dass diese sich durch ihre strukturellen Eigenschaften sehr gut als oberflächenaktive Stoffe eignen, indem sie die Öltröpfen stabilisieren.

Ein theoretisch physikalisches Modell zur Berechnung der Emulgatormenge ist in diesem Fall der konzentrierten Emulsionen nicht möglich. Zur Anwendung der Gibb's Adsorptionsgleichung sind die Messung von Oberflächenspannungen der Emulsionen nötig. Zudem ist nicht klar, zu welcher Zeit und welche Proteine in dem komplexen Emulgatorgemisch emulgierend wirken. In den vorliegenden Systemen sind mehrere Proteinarten einer Milchfraktion vorhanden. Jedes Milchprotein hat aufgrund seiner strukturellen

## Ergebnisse und Diskussion

Eigenschaften (hydrophile und hydrophobe Abschnitte) unterschiedliche Grenzflächenaktivität bei der Emulgierung. Auf der anderen Seite spielt die Tropfengröße eine wichtige Rolle bei der Emulsion, zur Berechnung ist anzunehmen, dass homogene Tropfengrößen vorliegen. Bei den vorliegenden Proben wurde durch den Particle Size Analyzer eine bimodale Größenverteilung gemessen. Bei Herstellung der Emulsion mit dem Rotor-Stator-System (Ultra Turrax) ist eine einheitliche Tropfenverteilung nicht gegeben. Zur einfachen Berechnung der Proteinmenge kann die Oberfläche der Tropfen zu bestimmt werden, zudem kann die durchschnittliche Fläche der Proteine angenommen werden. Die Fläche der Proteine kann dann so berechnet werden, dass die komplette Oberfläche der Öltröpfen bedeckt ist. Diese Methode ist jedoch sehr ungenau und nur bei homogenen Öltröpfengrößen und bekannten Proteingrößen anzuwenden. Zudem bestätigen auch eine Vielzahl an Publikationen, dass Milchproteine während der Emulsionsherstellung untereinander kompetitiv wirken, was zusätzlich die Berechnung komplexer machen würde. Waninge und seine Mitarbeiter erarbeiten acht Modelle, wie Milchproteine an der Grenzfläche adsorbieren können und auch kompetitiv wirken (Waninge et al. 2005). Singh veröffentlichte eine zusammenfassende Publikation, in der er darauf hinwies, dass  $\beta$ -Caseine bevorzugt zu  $\alpha_{s1}$ -Caseinen an der Grenzfläche adsorbieren und sie auch von dieser verdrängen. Dieses gilt jedoch nur für Emulsionen mit 30% Ölanteil (Singh 2005). Zusammenfassend ist eine Berechnung der benötigten Proteinmenge zum Erzielen einer stabilen Emulsion nicht sinnvoll. Bei Untersuchung, ob die Gibbs Adsorptionsisotherme auch bei hochkonzentrierten Emulsionen angewandt werden kann, ist auch zu berücksichtigen, dass Milchproteinkonzentrat-Hersteller keine exakte Angabe zum Proteingehalt machen können. Um exaktere Ergebnisse zu erzielen, könnte beispielsweise der Proteingehalt durch Messung des Stickstoffgehaltes mit Hilfe der Kjeldahl-Methode bestimmt werden. Durch elektrophoretische Methoden können Molekulargewicht und genauere Eigenschaften der enthaltenen Proteine bestimmt werden (Matissek et al. 2018). Möglicherweise kann ein theoretisches Modell angewendet werden, wenn Messungen die benötigten Variablen, wie der Grenzflächenspannung, liefern.

Die maximale Emulgierkapazität im Falle von Emulsionen mit Frischmilch liegt laut Ergebnissen zwischen 71%w/w und 73%w/w Rapsöl. Vergleicht man Literaturwerte unabhängig von der Emulsionszusammensetzung, schreibt Malkin eine maximale Packung der hochkonzentrierten Emulsionen von 71,2% (Malkin und Kulichikhin 2015). Derkack gibt ebenfalls, abhängig von der Tropfengröße, eine limitierte Packung zwischen 71% und 75% an, in welcher noch eine kugelförmige Struktur zu erkennen ist (Derkach 2009).



## Ergebnisse und Diskussion

Die Stabilisierung der Öltropfen findet durch das eng gepackte Öltropfennetzwerk statt. Bei Ölanteilen von 75%w/w war eine komplette Emulgierung der Ölmenge nicht mehr gewährleistet, bei zu hohem Energieeintrag kam es zum Bruch der Emulsion. Dies kann ebenfalls mit dem Liu-Nagel-Diagramm, siehe Abbildung 16, erklärt werden.

### 4.2 Öltropfengröße

#### 4.2.1 Öltropfengröße der verschiedenen Emulsionen

Bei der Untersuchung der Öltropfengröße im Particle Size Analyzer ist, wie in Abbildung 28 zu sehen, eine leicht sinkende Tropfengröße bei steigendem Ölanteil bei Emulsionen mit Frischmilch zu beobachten. Zudem liegt eine bimodale Größenverteilung vor, diese ist durch zwei Maxima zu erkennen und bei allen fünf Emulsionen zu sehen. Eine bimodale Verteilung der Durchmesser ist bei den Frischmilch-Emulsionen zu erkennen, da auch noch Milchfett in den Emulsionen enthalten sind. Die Milchfettkügelchen haben eine deutlich geringere Größe als das emulgierte Rapsöl.

In Tabelle 12 sind die Mittelwerte der Emulsion aus Abbildung 28 aufgelistet. Diese berechnen sich aus den Mittelwerten drei gemessenen Durchgängen.

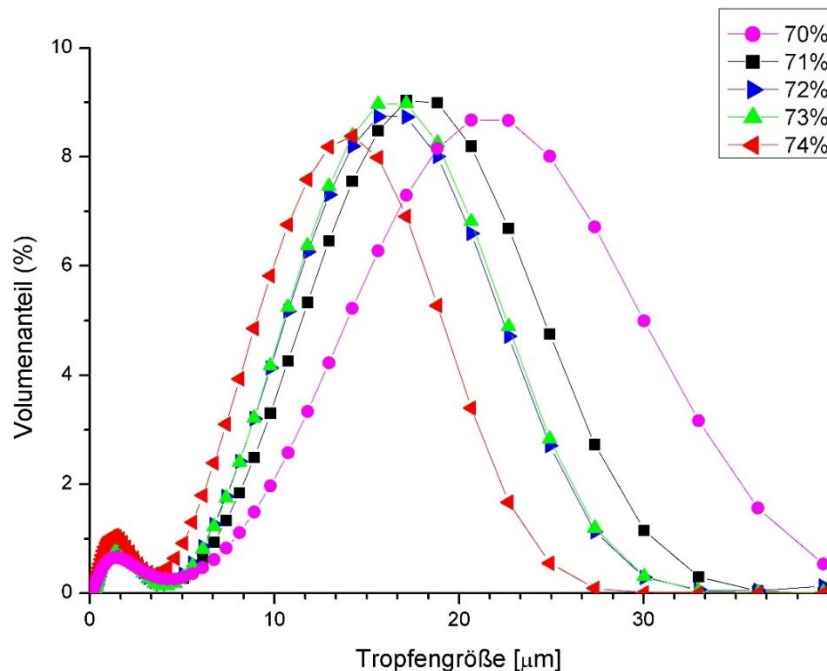


Abbildung 28 Öltropfengrößenverteilung der Milchemulsionen mit unterschiedlichen Ölanteilen 70%w/w bis 74%w/w und Frischmilch

## Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 12 Mittelwerte der Emulsionen mit Frischmilch und einem Ölanteil von 71%w/w bis 75%w/w

Ölanteil [%w/w]	mittlerer Durchmesser [ $\mu\text{m}$ ]
70	18,35
71	15,04
72	14,52
73	13,93
74	11,34

In Abbildung 29 sind Emulsionen mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen zu sehen. Alle Emulsionen haben einen Ölanteil von 73%w/w, lediglich die Na-Caseinat Konzentration variiert. Hier zeigt sich, dass mit steigender Proteinkonzentration die Öltropfengröße sinkt. Da mehr Emulgator zur Verfügung steht, kann mehr Oberfläche bei gleichem Volumen, das bedeutet kleinere Tropfen, stabil in der Emulsion gehalten werden.

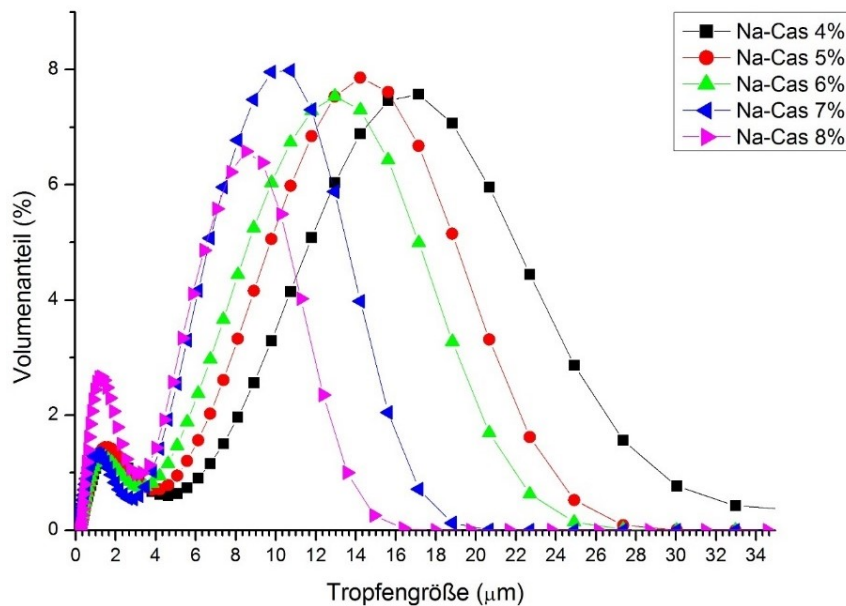


Abbildung 29 Verhalten der Tropfengrößenverteilung mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen und einem Ölanteil von 73%w/w

Das Verhalten der sinkenden Tropfengröße bei steigender Proteinkonzentration ist auch beim Einsatz von Molkenproteinisolat zu beobachten. In Abbildung 30 ist die graphische Auswertung für den genannten Fall aufgetragen. Ebenso liegt bei allen Emulsionen ein Ölanteil von 73%w/w vor.

## Ergebnisse und Diskussion

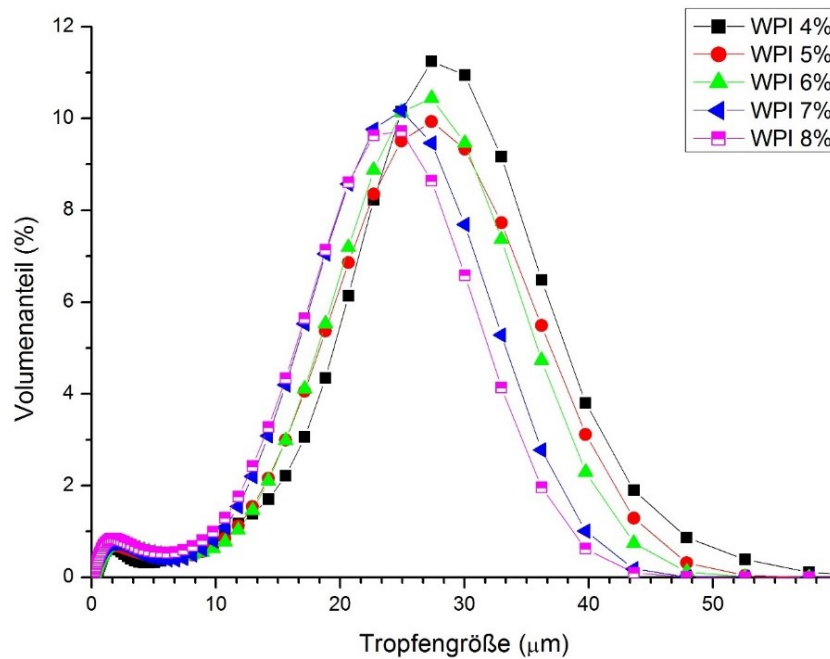


Abbildung 30 Verhalten der Tropfengrößenverteilung mit unterschiedlichen Molkenproteinisolat-Konzentrationen (WPI) und einem Ölanteil von 73%w/w

Zur Übersicht sind in Tabelle 13 alle Mittelwerte, berechnet aus den drei Mittelwerten der drei Messungen, mit ihren Standardabweichungen. Die Standardabweichungen nehmen mit steigender Proteinkonzentration leicht ab. Durch die bimodale Größenverteilung ist die Standardabweichung vergleichsmäßig hoch. Im letzten Abschnitt des Kapitels 4.2.1 wird die Korrelationsanalyse für Emulsionen mit Na-Caseinat und Molkenproteinisolat als Emulgatoren mit Einfluss auf die Tropfengröße dargestellt.

Tabelle 13 Übersicht der Mittelwerte der Öltropfengröße in Abhängigkeit der Proteinkonzentrationen; Ölanteil 73%w/w

Konzentration Proteinlösung [%]	Protein	mittlerer Durchmesser [ $\mu\text{m}$ ]	Standardabweichung [ $\mu\text{m}$ ]
4	WPI	24,49	11,82
5	WPI	22,23	11,95
6	WPI	21,71	11,57
7	WPI	20,15	10,65
8	WPI	18,84	10,61
4	Na-Caseinat	13,95	6,545
5	Na-Caseinat	10,71	7,75
6	Na-Caseinat	11,08	4,57
7	Na-Caseinat	7,74	4,57
8	Na-Caseinat	5,19	3,77

## Ergebnisse und Diskussion

Trägt man Emulsionen mit Natrium-Caseinat und Emulsionen mit Molkenproteinisolaten (WPI) als Vergleich auf, so ist eine deutliche Verschiebung der Mittelwerte zu beobachten. Na-caseinatstabilisierte Emulsionen zeigen eine Verschiebung nach links, was eine geringere Öltropfengröße bedeutet. Abhängig vom Ölanteil können Mittelwerte bei Na-Caseinat-Emulsion von zirka  $10\ \mu\text{m}$  und bei WPI-Emulsionen einen doppelten Durchmesser von zirka  $22\ \mu\text{m}$  aufweisen. In Abbildung 31 sind Werte mit jeweils 5%w/w Protein in der wässrigen Phase dargestellt. Hierzu werden jeweils ein Ölanteil von 72%w/w bis 74%w/w aufgezeigt. Ähnliche Ergebnisse werden auch bei höheren Proteinkonzentration, wie beispielsweise 6%w/w, 7%w/w und 8%w/w festgestellt.

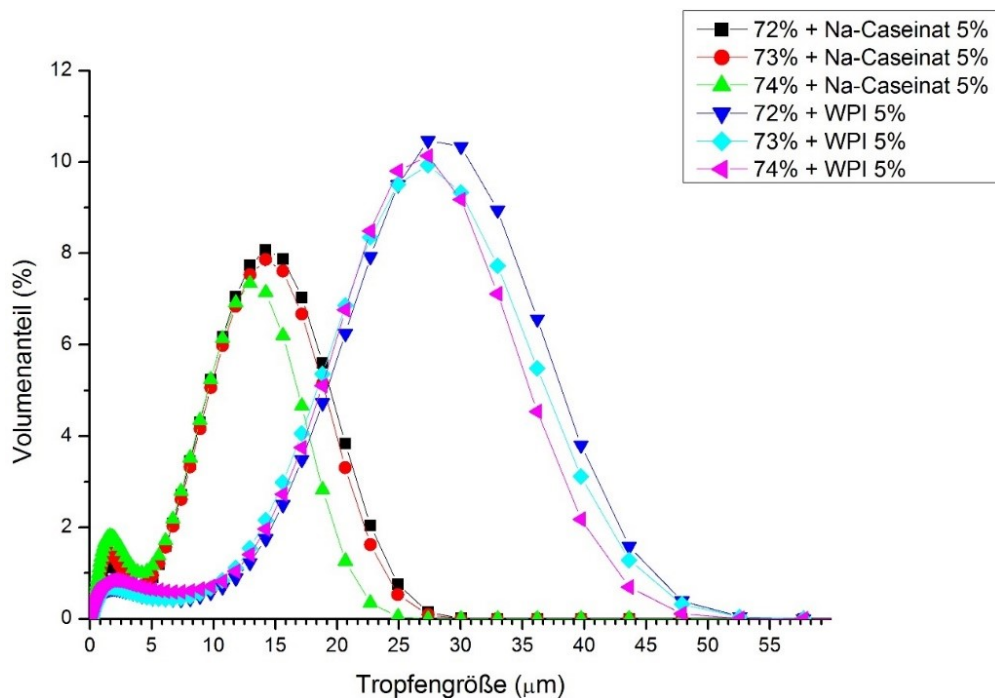


Abbildung 31 Vergleich Tropfengrößenverteilung von Emulsionen mit Na-Caseinat 5%w/w und Molkenproteinisolaten (WPI) 5%w/w und Ölkonzentrationen von 72%w/w, 73%w/w und 74%w/w

Bei einem Proteinanteil von 8%w/w in der wässrigen Phase wird die stärkste Verschiebung und Differenz in den Mittelwerten festgestellt, wie in Abbildung 32 graphisch dargestellt. Die Mittelwerte der Emulsionen sind zirka um ein Dreifaches verschoben. Die sinkende Öltropfengröße mit steigender Na-Caseinat Konzentration in wässriger Phase gilt auch für den Bereich der hochkonzentrierten Emulsionen um 73%w/w Ölanteil. Die Literatur bestätigt die bessere Emulgatorwirkung der Caseine gegenüber der Molkenproteine (Sarkar und Singh 2016). Bei Na-Caseinat-Emulsionen ist die Größenverteilung im kleineren Bereich bei  $\sim 2\ \mu\text{m}$  im Volumenanteil deutlich ausgeprägter als bei WPI-

## Ergebnisse und Diskussion

Emulsionen. Hintergrund dieser Beobachtung ist die grenzflächenaktivere und schnellere Adsorption der Caseine an der Grenzfläche, welche sich während der Emulsionsherstellung im Rotor-Stator-System die schnelle Stabilisierung der entstehenden kleinen Öltröpfen ermöglicht. Die bimodale Größenverteilung bei WPI-Emulsionen ist im ersten Peak deutlich abgeschwächt. Aufgrund der strukturellen Eigenschaft der Molkenproteine ist die Stabilisierung der Öltröpfen während der Emulsionsvorgangs nicht schnell genug, das heißt die Adsorptionsrate ist zu gering, dass es zu schnell wieder zum Zusammenfließen der kleinen Tropfen kommt. In weiteren Untersuchungen muss geklärt werden, ob sich bei Konzentrationen von  $>8\%w/w$  Na-Caseinat in der wässrigen Lösung ein weiteres Absinken der Öltröpfengröße ergeben wird und ob sich begründet lässt, dass durch die steigende Menge an Emulgator die Öltröpfen noch schneller stabilisiert werden können

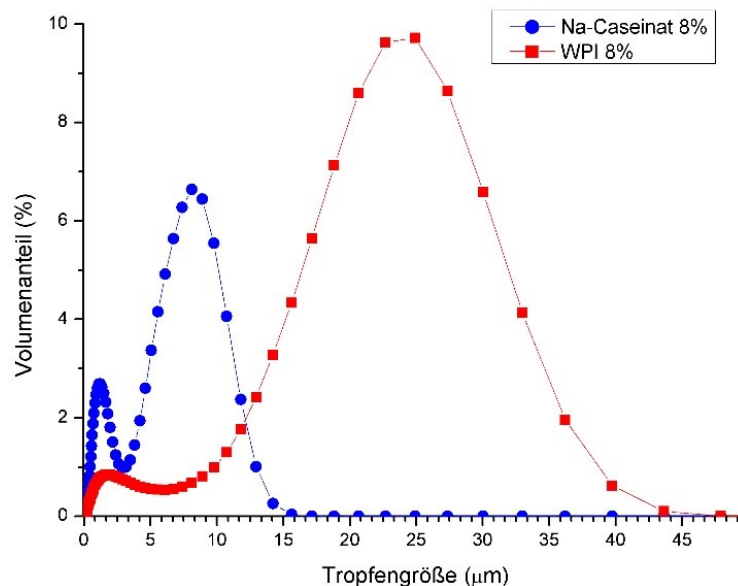


Abbildung 32 Vergleich Na-caseinatstabilisierte Emulsion und WPI-stabilisierte Emulsion mit  $8\%w/w$  Protein in der wässrigen Phase und einem Ölanteil von  $73\%w/w$

Das Verhalten bei Verwendung eines Mixes aus Na-Caseinat und Molkenproteinisolat im identischen Verhältnis wie es in der Frischmilch vorliegt von 80:20, sind kleinere Öltröpfen bei höheren Proteinkonzentrationen in der wässrigen Phase zu beobachten (siehe Abbildung 33). Zudem ist die Emulsion höherer Proteinkonzentration eine stabilere und cremigere Emulsion, wie auch im nächsten Kapitel die Rheologie bestätigt.

## Ergebnisse und Diskussion

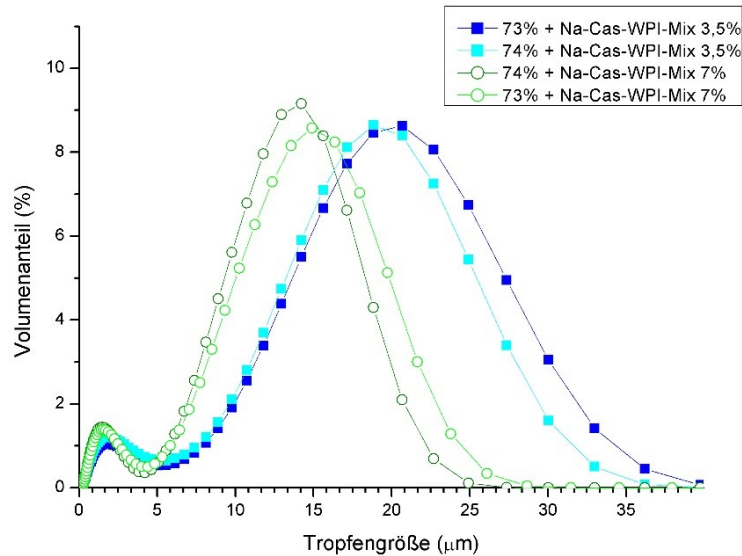


Abbildung 33 Tropfengrößenverteilung von Emulsionen mit einem Mix aus Na-Caseinat und Molkenproteinen (80:20), Gesamtproteingehalt 3,5%w/w und 7%w/w in der wässrigen Phase; unterschiedliche Ölanteile: 73%w/w und 74%w/w

Mit einer Mischungsregel kann geprüft werden, ob ein Zusammenhang mit der Öltropfengröße bei gleichem Volumen besteht. Die plausible Mischungsregel lautet:

$$\bar{x}_{AB} \approx \varphi_A \cdot \bar{x}_A + \varphi_B \cdot \bar{x}_B \quad (14)$$

$\varphi_A$  = %-Anteil des Emulgators A

$\varphi_B$  = %-Anteil des Emulgators B

$\bar{x}_A$  = mittlerer Durchmesser bei Einsatz des Emulgators A

$\bar{x}_B$  = mittlerer Durchmesser bei Einsatz des Emulgators B

$\bar{x}_{AB}$  = mittlerer Durchmesser bei Einsatz des Emulgators A und B

Zu beachten ist, dass sich die Konzentration des Emulgators bei allen gleich sein muss, wie hier beispielsweise die Konzentration von 7%w/w. Für folgende Messungen (siehe Tabelle 14) haben sich mittlere Durchmesser ergeben:

Tabelle 14 mittlere Durchmesser für die Anwendung der Mischungsregel

Mischungen (bei 73%w/w Öl)	mittlerer Durchmesser [ $\mu m$ ]
7%w/w Na-Caseinat	7,74
7%w/w WPI	20,15
7%w/w 80% Na-Caseinat + 20% WPI	11,11

## Ergebnisse und Diskussion

Die Berechnung lautet:

$$0,8 \cdot 7,74\mu m + 0,2 \cdot 20,15\mu m = 10,22\mu m$$

Vergleichen kann man dieses Ergebnis mit dem der direkten Mischung von Na-Caseinat und WPI im Verhältnis von 80:20. Der mittlere Durchmesser der Mischung der Proteinfractionen ergab  $11,11\ \mu m$ . Der Wert besitzt lediglich eine Differenz von  $1\ \mu m$  zum berechneten Wert von  $10,22\ \mu m$ . Dies ist ein Hinweis, dass zur Berechnung der Öltropfengröße eines Protein-Mixes die Mischungsregel herangezogen werden kann und einen Richtwert liefert. Weitere Berechnungen müssen getestet werden, um eine verlässliche Aussage treffen zu können. Lediglich ist dies an einem Beispiel berechnet worden und benötigt für die Zukunft mehr Experimente. Rückschlüsse auf die Öltropfengröße eines Protein-Mixes können nur bei gleichen Konzentrationen und Volumen getroffen werden.

Bei Durchführung der Korrelationsanalyse und Berechnung des Korrelationskoeffizienten haben sich folgende Werte ergeben. Bei Einsatz von Molkenproteinisolaten (WPI) bzw. Na-Caseinat und Änderung der Konzentration von 4%w/w bis 8%w/w Protein der Protein-Lösung:

$$r_{WPI} = -0,9859$$

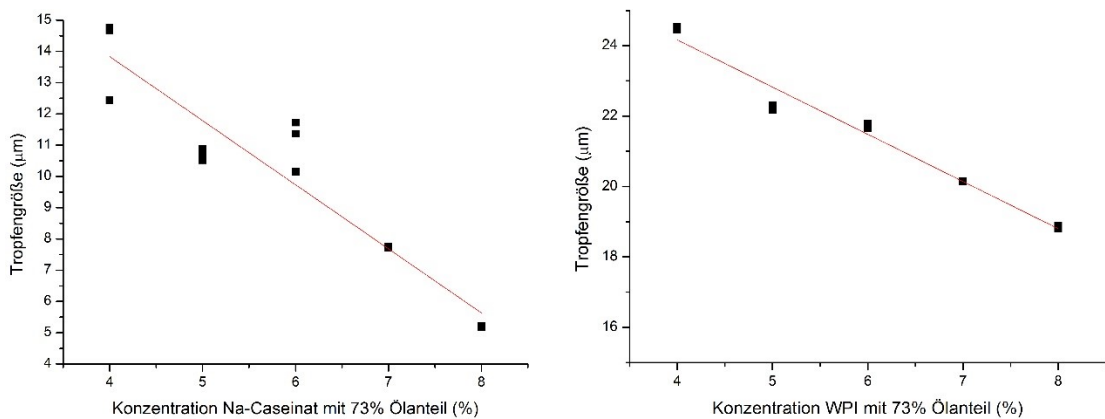
$$r_{Na-Caseinat} = -0,9473$$

Es liegt in beiden Fällen eine starke negative Korrelation vor, was bedeutet, dass bei steigender Konzentration bei hochkonzentrierten Emulsionen eine sinkende Tropfengröße zu beobachten ist. Die Berechnung wurde mit allen Nachkommastellen durchgeführt, zur besseren Ansicht wird im Anhang 1 auf drei Nachkommastellen verkürzt.

In Tabelle 15 ist die graphische Auswertung der zwei Variablen Konzentration und Tropfengröße mit Einzeichnung der Trendlinie aufgezeigt. Alle Emulsionen haben zum besseren Vergleich einen Ölanteil von 73%w/w. Links ist die Linearität der Emulsionen mit Na-Caseinat und rechts die Linearität der Emulsionen mit Molkenproteinisolaten zu sehen. Die graphische Darstellung der Linearität wurde mit der Software Origin erstellt. Die Berechnung zum Nachvollziehen des Korrelationskoeffizienten ist in Anhang 1 angefügt. Die Berechnung wurde mit allen Nachkommastellen durchgeführt, zur besseren Ansicht wurde im Anhang auf drei Nachkommastellen verkürzt.

## Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 15 Korrelationsanalyse der Variablen Proteinkonzentration und Tropfengröße mit Trendlinie; links: Emulsionen mit Na-Caseinat; rechts: Emulsionen mit WPI



Die starke negative Korrelation von Proteinkonzentration und Öltropfengröße ist durch den Adsorptionsmechanismus und die damit verbundene Stabilisierungsmechanismen begründet. Je mehr Milchproteine in der wässrigen Lösung vorhanden ist und es darauf folgend zur Emulgierung kommt, desto besser können Öltropfen stabilisiert werden. Diese adsorbieren an der Oberfläche der Tropfen und stabilisieren diese sterisch und elektrostatisch (Andic und Boran 2015).

Zudem lässt sich jedoch auch vermuten, dass die Emulsionsherstellungsmethode hierbei an ihre Grenzen kommen wird. Mit dem Rotor-Stator-System ist es zwar möglich Tropfengrößen bis  $1\mu m$  zu erreichen, jedoch wird eine homogene Tropfenverteilungen schwierig sein. Andere Herstellungsmethoden, wie der klassische Hochdruckhomogenisator oder das Membranverfahren kann einheitliche Tropfengrößen und Größen  $<1\mu m$  erzeugen, was letztendlich auch zu einer besseren Stabilität führen kann (McClements 2005). Um eine Signifikanz der Korrelation der Variablen zu bestätigen, müssen weitere Messung durchgeführt ( $n>3$ ) werden. Im Rahmen der Masterarbeit konnte dies aus zeitlichen Gründen nicht untersucht werden.

### 4.2.2 Öltropfengrößengröße bei Lagerung

Um das Verhalten der Lagerung bei  $4^{\circ}C$  und die Stabilität zu beurteilen, wurden die Öltropfengröße der frischen Emulsion, nach 5 Tage und 11 Tagen gemessen. Als Vergleich sind Emulsionen mit Na-Caseinat und Molkenproteinisolaten, jeweils mit 6%w/w der wässrigen Phase in Abbildung 34 dargestellt. Neben der Beobachtung, dass bei WPI-Emulsionen ein stärkerer Ölfilm zu beobachten war als bei Na-caseinatstabilisierten



## Ergebnisse und Diskussion

Emulsionen, war auch nach 11 Tagen das freie Öl an der Oberfläche stärker. Die Probe für die Messung nach 5 bzw. 11 Tagen wurde aus der Mitte der Emulsion entnommen. Vergleicht man die Tropfengröße der frischen und gelagerten Emulsion ist keine wesentliche Änderung in der Tropfengröße zu beobachten. Um den signifikanten Unterschied zweier Mittelwerte (bspw. t-test) zu ermitteln, benötigt man die Anzahl der Messpunkte einer Messung, dies ist durch den Laser Diffraction Size Analyzer nicht möglich. Hier werden lediglich die Volumenanteile im Probenraum gemessen. Es ist jedoch deutlich, dass sich die Tropfengröße in Abhängigkeit der Zeit nicht wesentlich verändert, vergrößert oder verkleinert. Zu beachten ist aber auch, dass das freie Öl auf der Oberfläche nicht mehr emulgiert ist. Dies weist auf eine Koaleszenz hin, dass bei Lagerung mehrere Öltröpfen zusammengefließen sind. In Anhang 2 sind alle Messungen der Mittelwerte in  $\mu\text{m}$  der Emulsionen im frischen Zustand, nach 5 Tagen und nach 11 Tagen tabellarisch angefügt.

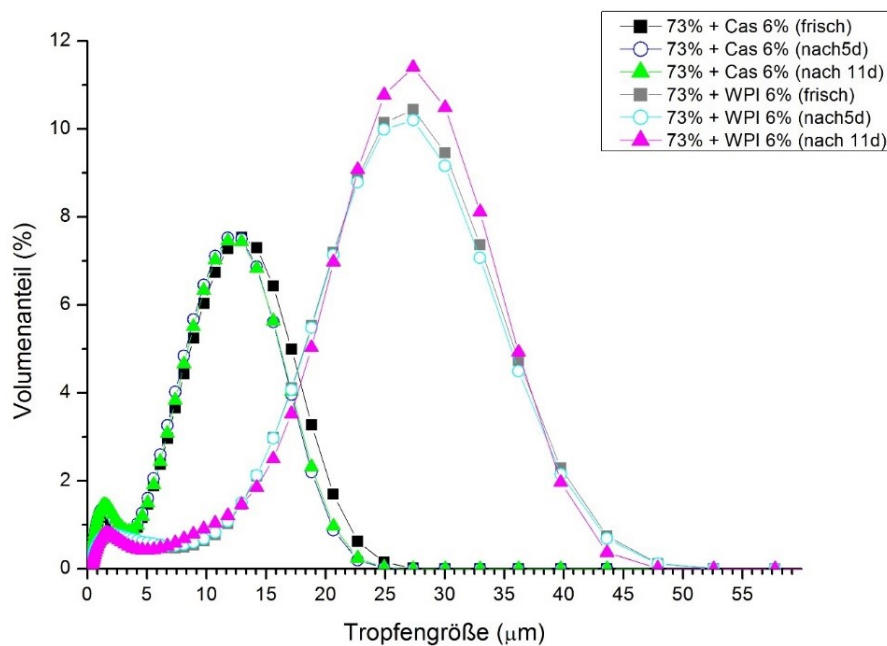


Abbildung 34 Verhalten der Tropfengröße bei Lagerung: Messung der Emulsionen frisch; nach 5 Tagen; nach 11 Tagen

Die Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses der Öltröpfengröße auf die Lagerung hat ergeben, dass es keinen deutlichen Unterschied zwischen frischen, 5 Tage gelagerten und 11 Tage gelagerten Emulsionen gibt. Auch hier haben Na-caseinatstabilisierte Emulsionen und WPI-stabilisierte Emulsionen keinen Unterschied gemacht. Die Prüfung der Kurzzeitstabilität von 11 Tagen bei  $4^{\circ}\text{C}$  kann jedoch vermuten, dass durch die dichte Packung der Öltröpfen eine stabile Emulsion entstanden ist.

### 4.3 Rheologie der Emulsionen

Folgende Werte und Einstellungen (siehe Tabelle 16) wurden für den Amplituden-Sweep und Frequenz-Sweep vorgenommen. Diese gelten für alle folgenden dargestellten Ergebnisse.

Tabelle 16 Parameter für die durchgeführten Tests am Rheometer

Parameter	Amplituden-Sweep	Frequenz-Sweep	Temperaturprofil
Temperatur [°C]	25	25	4 – 80 – 4
Deformation $\gamma$ [%]	0,1 -100	0,5	0,5
Kreisfrequenz $\omega$ [rad/s]	10	0,1 - 100	10

Die rheologischen Eigenschaften der untersuchten Emulsionen haben aufgrund der viskoelastische Eigenschaften ein relativ hohes Speicher- und Verlustmodul, verglichen mit den Literaturwerten von Mezger (Mezger 2016). Emulsionen mit Frischmilch haben dabei die höchsten Moduli verglichen mit den Na-Caseinat oder WPI-Emulsionen. Zurückzuführen ist das auf die Grenzflächenaktivität der Proteine, so liegen Caseinmicellen und Caseinsubmicellen vermutlich im nahezu nativen Zustand in der Frischmilch vor. Diese adsorbieren an der Grenzfläche und bilden eine verhältnismäßig dicke Schicht, was die Stabilität erhöht. Durch die Fällung liegen die Caseine als Na-Caseinat strukturell verändert vor, da es hier um ein lab- oder säuregefälltes Protein handelt, sind Caseinmicellen oder Submicellen weitestgehend ausgeschlossen.

#### 4.3.1 Amplituden-Sweep der Emulsionen

Zuerst wurden Emulsionen mit Rapsöl und Frischmilch rheologisch untersucht. Auf der y-Achse sind Speichermodul  $G'$  und Verlustmodul  $G''$  in Pascal gegenüber der Deformation  $\gamma$  in % aufgetragen. Verglichen werden in Abbildung 35 verschiedene Ölanteile von 70%w/w bis 74%w/w. Bei allen Emulsionen ist der typische LVE-Bereich zu sehen, indem die  $G'$ - und  $G''$ -Werte trotz ansteigender Deformation konstant bleiben. Die Haptik und Optik wurde durch die rheologischen Ergebnisse bestätigt. Mit steigendem Ölanteilen sind die  $G'$ - und  $G''$ -Werte angestiegen. Die Emulsion mit 74%w/w Ölanteil mit 26%w/w Frischmilch erzielte die höchsten Speicher- und Verlustmodule, jedoch ist kein signifikanter Unterschied zu den Emulsionen mit 72% und 73% zu erkennen. Erkennbar ist dies durch die Standardabweichungen. Diese Emulsionen zeigen durch ihre hohen

## Ergebnisse und Diskussion

Konzentrationsverhältnisse eine kompakt gepackte Öltropfenstruktur, was die Moduli ansteigen lässt. Zudem ist zu beobachten, dass in allen Fällen das Speichermodul größer ist als das Verlustmodul, diese Eigenschaft weist auf eine Emulsion mit größerem elastischem Anteil wie viskosem Anteil hin. Jedoch ist auch eine drastische Absenkung der Speichermodule beginnend bei einer Grenzdeformation  $\gamma_L$  zwischen 4% und 10% zu beobachten. Gleichzeitig erreicht das Verlustmodul verzögert zuerst ein Maximum, fällt dann jedoch auch ab. Wie im Grundlagenteil schon erwähnt, ist das beobachtete Maximum des Verlustmoduls vor Abfall charakteristisch für hochkonzentrierte Dispersionen. Dieses weist auf einen zunehmenden viskosen Anteil hin, diese ansteigende Deformationsenergie wird schließlich für das Zusammenbrechen der inneren Struktur verbraucht. In der Enddeformation von 100% überliegt der viskose Anteil den elastischen Anteil, was auf den Strukturzusammenbruch der Emulsion hindeutet. Höhere Ölanteile (74%) besitzen eine stärkere Struktur und Stabilität, daher kommt es später zum Strukturzusammenbruch verglichen mit der 70%igen Emulsion.

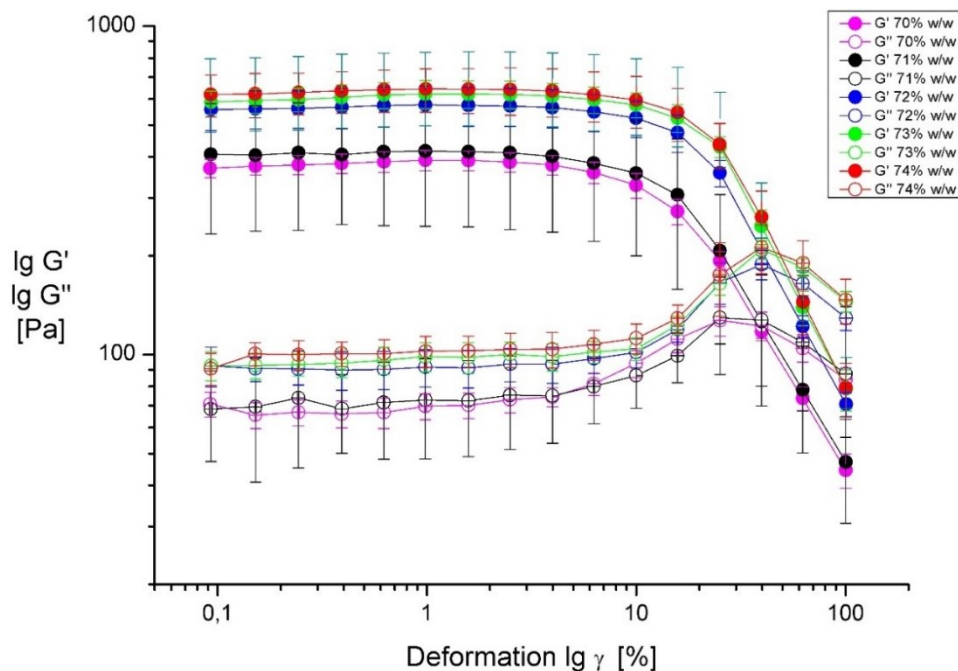
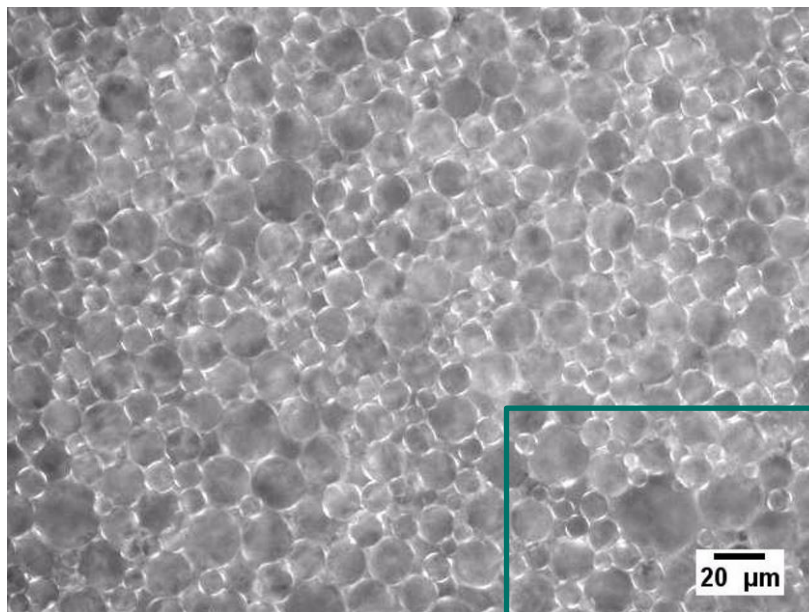


Abbildung 35 Amplituden-Sweep der Emulsionen mit Frischmilch und verschiedenen Ölanteilen  
70%w/w-74%w/w

Mit Hilfe der mikroskopischen Aufnahmen während des Amplituden-Sweeps (siehe Abbildung 37) ist deutlich zu erkennen, dass das eng gepackte Öltropfennetzwerk im LVE-Bereich als gesamtes Netzwerk durch die anliegende Oszillation verschoben wird. Für die Interpretation wird ein Ausschnitt der mikroskopischen Aufnahme näher betrachtet.

## Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 36 zeigt den Ausschnitt, welche für die Beschreibung gewählt wurde. In Abbildung 37 sind Fotos zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit Interpretation zu sehen, diese zeigen die Bewegung und Vorzugsrichtung mit steigender Deformation. Wird die Fließgrenze erreicht, das heißt das Ende des LVE-Bereichs, kommt es zum Abfall von  $G'$  und  $G''$ . Es kommt durch die steigende Deformation zu einem zunehmenden Abstand der Öltröpfen, damit werden van der Waals Kräfte, Protein-Protein-Interaktionen, Protein-Wasser-Interaktionen (Halling 1981; Zayas 1997) verringert. An der Fließgrenze beginnt die Emulsion zu fließen, der Wasseranteil in der Emulsion macht dies möglich. Kleine Öltröpfen können sich schneller bewegen, da sie Zwischenräume finden. Das Wasser wird den an der Grenzfläche der Öltröpfen adsorbierten Proteinen entzogen und es kommt zur Reduzierung der Protein-Wasser-Interaktionen. Das Netzwerk bzw. der Käfig wird gelockert und ist nicht mehr stark genug. Gleichzeitig wird das Jamming durch die hohen Scherraten aufgelöst. Hier kann auch wieder auf das Liu-Nagel-Phasendiagramm verwiesen werden, dass mit steigender mechanischer Beanspruchung und gleichbleibender Temperatur und Dichte kein Jamming Effekt mehr zu erkennen ist.



*Abbildung 36 Startaufnahme: Mikroskopische Aufnahme während eines Amplituden-Sweeps: Emulsion 70%w/w Öl und 30%w/w Frischmilch;  $\omega=10$  rad/s;  $T=25^{\circ}\text{C}$ ; Abstand Platte-Platte:  $100\mu\text{m}$ ; grüner Bereich: betrachteter Bereich für Interpretation*

Die gesamte Probe ist zwischen zwei Platten ( $d=40\text{mm}$ ) fixiert, der Abstand dieser beträgt  $100\mu\text{m}$ . Der Mittelwert für den Durchmesser der Öltröpfen bei 70%w/w Ölanteil beträgt  $\sim 20\mu\text{m}$ . Das Mikroskop ist auf der linken Seite mittig angebracht, somit wird nur

## Ergebnisse und Diskussion

dieser Teil der Probe betrachtet (siehe Abbildung 36, grüner Bereich). Für die Berechnung der Öltropfenschichten kann grob angenommen werden, dass sich 5 Öltropfenschichten ergeben ( $\frac{\text{Abstand der Platten}}{\text{Mittwert Durchmesser Öltropfen}} = \frac{100\mu\text{m}}{20\mu\text{m}}$ ). Da Die Öltropfen nicht starr liegen, sondern ineinander fallen, ist dies nur ein Richtwert. Zudem wird hier der Mittelwert zur Berechnung herangezogen, obwohl eine bimodale Verteilung vorliegt. Wie auch in den mikroskopischen Aufnahmen zu sehen, sind auch kleine Öltropfen vorhanden.

In der Kugelpackung sind mehrere Schichten vorhanden, Öltropfen können während der Messung auch in andere Schichten gelangen und Plätze tauschen. Im LVE-Bereich werden Lücken im „Käfig“ von kleinen Öltropfen gefüllt. Mit steigender Deformation kommt es zur Orientierung und Vorzugsrichtung der Öltropfen.

## Ergebnisse und Diskussion

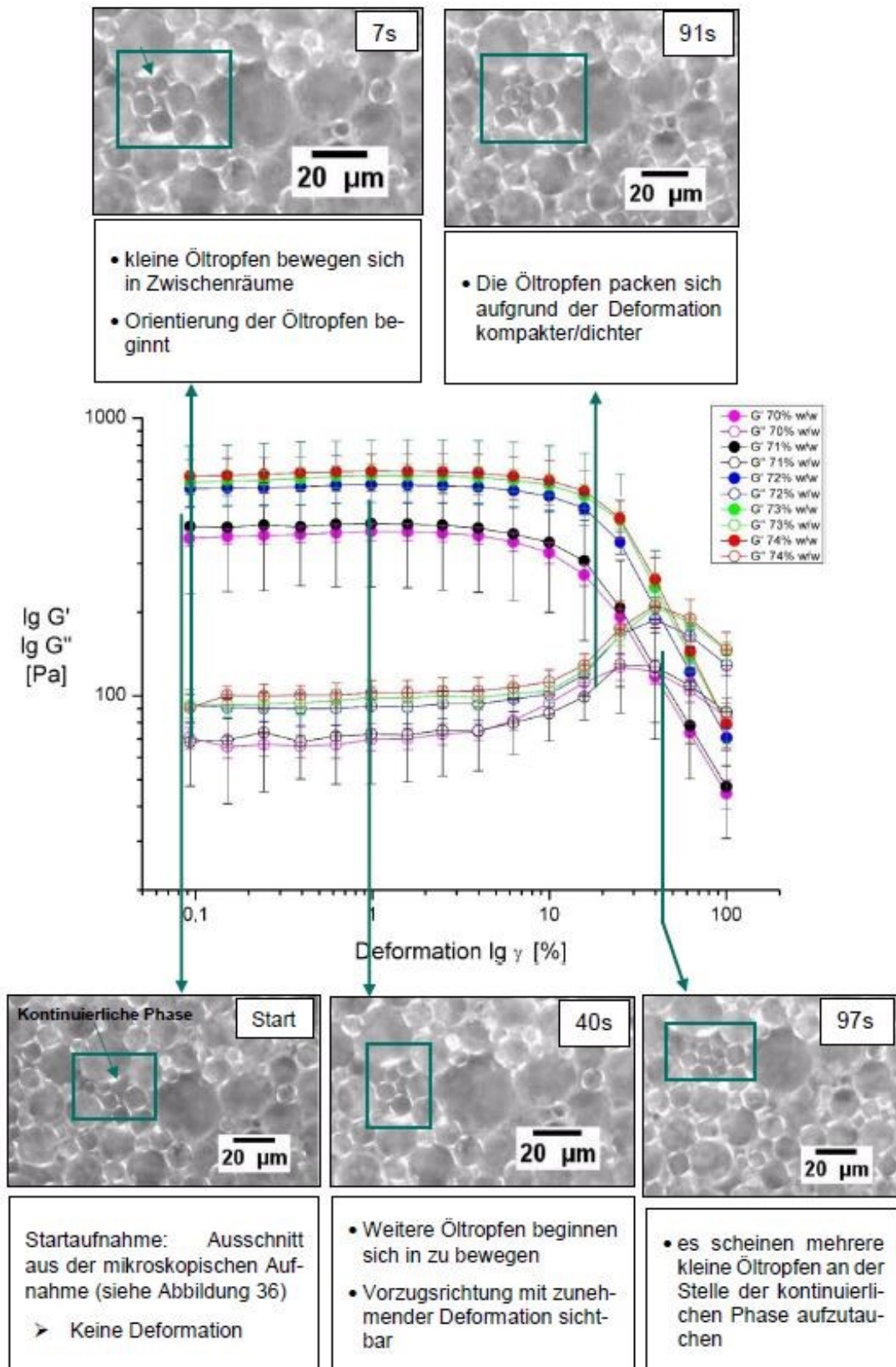


Abbildung 37 Übersicht der mikroskopischen Aufnahmen im Verlauf des Amplituden-Sweeps mit Interpretation

## Ergebnisse und Diskussion

Das „slipping“ kann bei der Messung der Emulsionen auch eine Rolle spielen, davon spricht man, wenn die obere Platte aufgrund der geringen Haftkräfte über die Probe rutscht. Dies könnte bei hohen Ölkonzentrationen (74%w/w) in Betracht gezogen werden, da ein öliger Film sichtbar ist. Dies deutet darauf hin, dass nicht das gesamte Öl emulgiert werden konnte. Mit steigender Deformation kann dies auch den Abfall der Module beschreiben und ist zu berücksichtigen, jedoch ist dies nicht zu vermuten. Der Effekt würde stark unterschiedliche Messergebnisse liefern, dies liegt jedoch nicht vor.

In Abbildung 38 werden die wichtigsten Emulsionen mit einem Ölanteil von 73%w/w dargestellt. Die Emulsion mit Frischmilch, welche den niedrigsten Gesamtproteingehalt aufweist, erreicht mit der 8%w/w Na-Caseinat in der wässrigen Phase die höchsten Speichermodule. Jedoch sind die Verlustmodule der beiden Emulsionen nicht sehr eng beieinander, was besagt, dass die Emulsion mit Frischmilch einen niedrigeren viskosen Anteil im Vergleich zur Na-Caseinat-stabilisierten Emulsionen hat. Zudem sind die Frischmilchemulsionen in Abhängigkeit der Deformation länger stabil, verglichen mit allen anderen Speichermodulen. Emulsionen mit Na-Caseinat, WPI oder einem Mix daraus weisen eine Grenzdeformation von zirka 1% auf, Frischmilchemulsion hingegen erst bei  $\gamma_L=10\%$ . Modellierter Milchmulsionen, das heißt Emulsionen mit zusetzten Na-Caseinat oder WPI, zeigen auch nicht den charakteristischen Verlauf des Verlustmoduls, nämlich mit einem Maximum vor Abfall von  $G''$ . Emulsionen mit 8%w/w WPI in der wässrigen Phase zeigen das geringste Speichermodul. Bei dieser Emulsion sind  $G'$  und  $G''$  verhältnismäßig eng beieinander. Der Verlustfaktor ist daher nahe bei 1, jedoch nicht kleiner als 0. Es kommt danach zu  $\tan\delta > 1$ , was auf eine viskoelastischen Flüssigkeit hindeutet und einem fließfähigen Medium. Zur steigenden Fließfähigkeit kommt es vermutlich durch Zusammenbruch des Öltropfennetzwerks, adsorbierte Molkenproteine an der Öltropfengrenzfläche bilden geringere Interaktionen, wie Protein-Protein-Interaktionen, Protein-Wasser-Interaktionen, van der Waals Kräften und Wasserstoffbrückenbindungen. Das enthaltene Natrium im Caseinat macht es möglich die Öltropfen sterisch zu stabilisieren und das Netzwerk zu stärken. In Abbildung 38 verglichene Emulsionen zeigen, dass Emulsionen mit Frischmilch, begründet durch den niedrigeren Verlustfaktor am Anfang  $\tan\delta < 1$  und späten Wechsel zu  $\tan\delta > 1$ , eine deutlich stabilere und festere Struktur gegenüber der Deformation als alle anderen Emulsionen. Der Verlauf der Verlustfaktoren der Emulsionen mit WPI oder Na-Caseinat wird im Folgenden noch graphisch dargestellt.

## Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 38 werden die wichtigsten Emulsionen mit einem Ölanteil von 73%w/w dargestellt. Die Emulsion mit Frischmilch, welche den niedrigsten Gesamtproteingehalt aufweist, erreicht mit der 8%w/w Na-Caseinat in der wässrigen Phase die höchsten Speichermodule. Jedoch sind die Verlustmodule der beiden Emulsion nicht sehr eng beieinander, was besagt, dass die Emulsion mit Frischmilch einen niedrigeren viskosen Anteil im Vergleich zur Na-Caseinat-stabilisierten Emulsion. Zudem sind die Frischmilchemulsionen in Abhängigkeit der Deformation länger stabil, verglichen mit allen anderen Speichermodulen. Emulsionen mit Na-Caseinat, WPI oder einem Mix daraus weisen eine Grenzdeformation von zirka 1% auf, Frischmilchemulsion hingegen erst bei  $\gamma_L=10\%$ . Modellierte Milchemulsionen, das heißt Emulsionen mit zusetzten Na-Caseinat oder WPI, zeigen auch nicht den charakteristischen Verlauf des Verlustmoduls, nämlich mit einem Maximum vor Abfall von  $G''$ . Emulsionen mit 8%w/w WPI in der wässrigen Phase zeigen das geringste Speichermodul. Bei dieser Emulsion sind  $G'$  und  $G''$  verhältnismäßig eng beieinander, der Verlustfaktor ist daher nahe bei 1, jedoch nicht kleiner als 0. Es kommt danach zu  $\tan\delta > 1$ , was auf eine viskoelastischen Flüssigkeit hindeutet und einem fließfähigen Medium. Zur steigenden Fließfähigkeit kommt es vermutlich durch Zusammenbruch des Öltropfgennetzwerks, adsorbierte Molkenproteine an der Öltropfengrenzfläche bilden geringere Interaktionen, wie Protein-Protein-Interaktionen, Protein-Wasser-Interaktionen, van der Waals Kräften und Wasserstoffbrückenbindungen. Das enthaltene Natrium im Caseinat macht es möglich die Öltropfen sterisch zu stabilisieren und das Netzwerk zu stärken. In Abbildung 38 verglichene Emulsionen zeigen, dass Emulsionen mit Frischmilch, begründet durch den niedrigeren Verlustfaktor am Anfang  $\tan\delta < 1$  und späten Wechsel zu  $\tan\delta > 1$ , eine deutlich stabilere und festere Struktur gegenüber der Deformation als alle anderen Emulsionen. Der Verlauf der Verlustfaktoren der Emulsionen mit WPI oder Na-Caseinat wird im Folgenden noch graphisch dargestellt.

Der typische Kurvenverlauf des Verlustmoduls mit einem Maximum vor dem starken Abfall ist bei Na-caseinatstabilisierten und molkenproteinstabilisierten Emulsionen nicht zu beobachten. Dies deutet darauf hin, dass bei Frischmilchemulsionen ein stärker ausgeprägtes Netzwerk vorhanden ist im Vergleich zu allen anderen hochkonzentrierten Emulsionen. Die durch das Maximum erkennbare zunehmende Deformationsenergie wird anschließend zum Strukturabbau durch zunehmende Deformationen wieder verbraucht. Frischmilchemulsionen enthalten neben Öl, Wasser und Protein noch andere Inhaltsstoffe, wie Lactose und Mineralstoffe. Auch diese Inhaltsstoffe können durch Interaktionen die Emulgierereffektivität beeinflussen. Considine und Mitarbeiter veröffentlichten eine



## Ergebnisse und Diskussion

zusammenfassende Publikation, welche unterschiedliche Interaktionen erläutert (Conside und Flanagan 2009). Vorstellbar ist auch, dass die Milchfettkugeln sich in den Zwischenräumen der Öltropfen befinden und diese damit stabilisieren. Die Fettkugelmembranen stabilisieren das Milchfett und verhindern die Koaleszenz

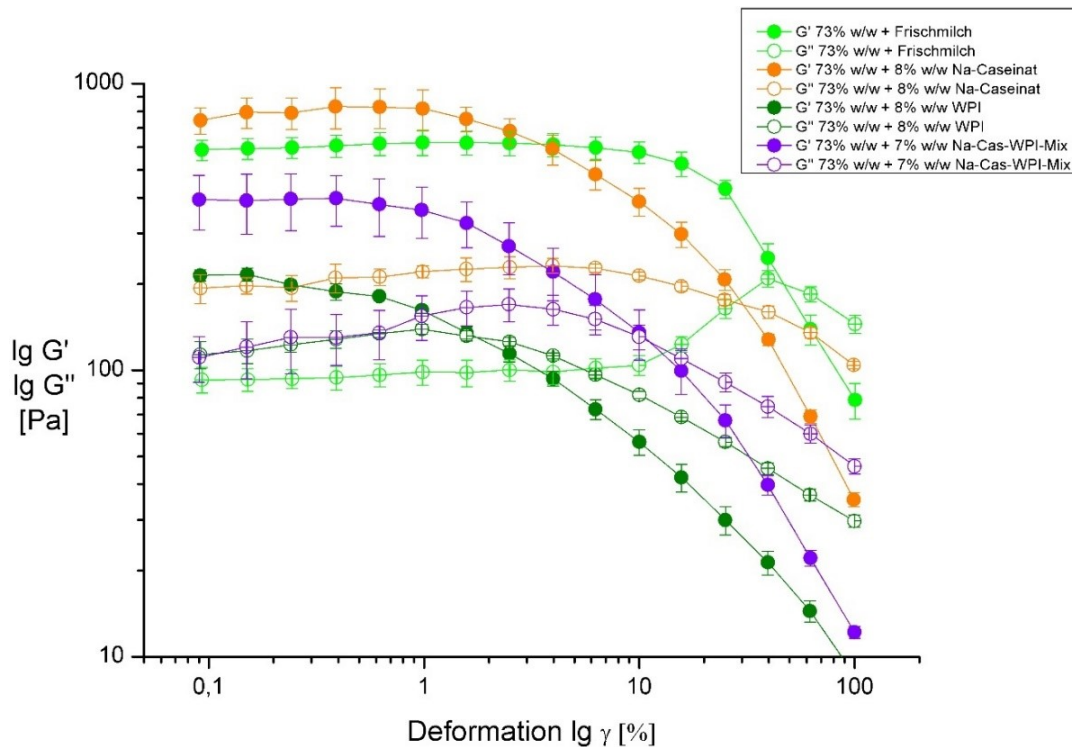
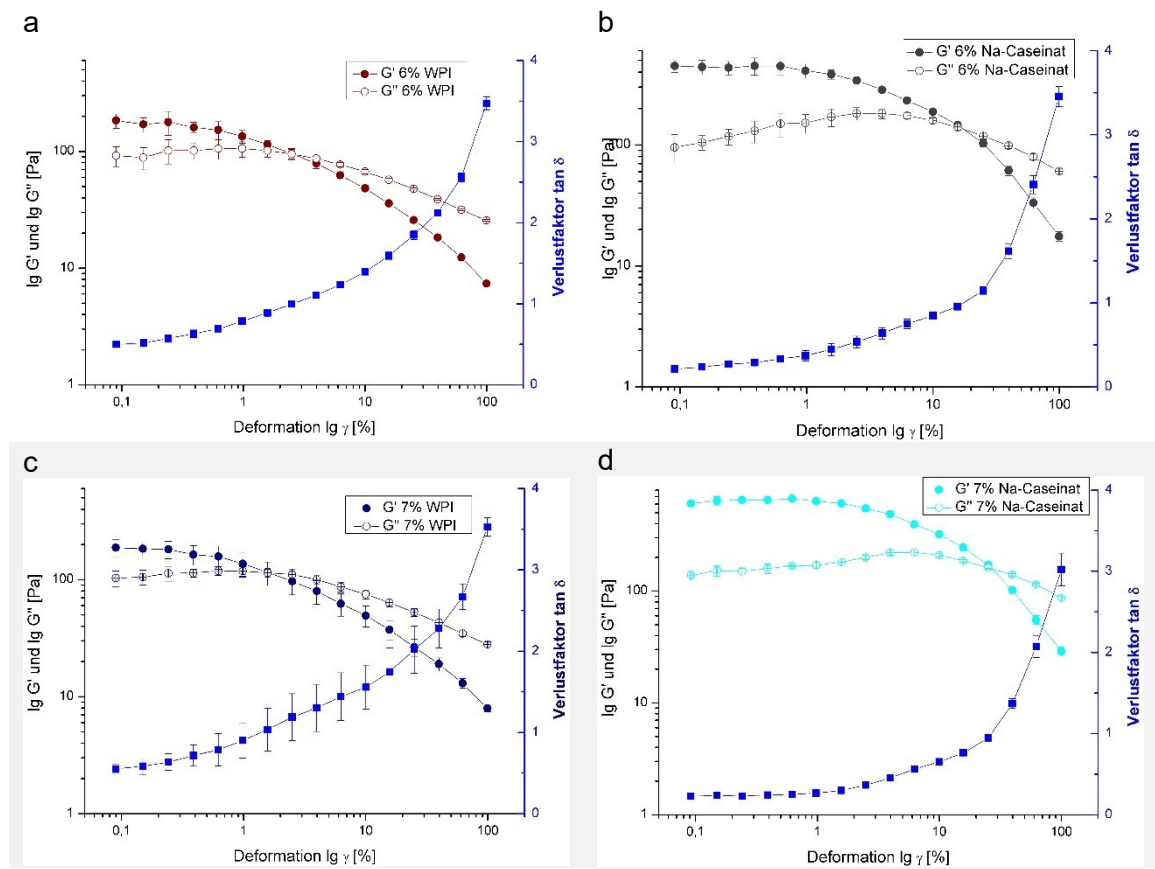


Abbildung 38 Vergleich der wichtigsten Emulsionen mit 73%w/w: hellgrün: Frischmilch; orange: Na-Caseinat 8%w/w in wässriger Lösung; dunkelgrün: WPI 8%w/w in wässriger Lösung; violett: Na-Caseinat-WPI-Mix 7% in wässriger Lösung

Verglichen werden die  $G'$  und  $G''$  mit ihren Verlustfaktor der einzelnen Emulsionen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen in Abbildung 39. Links sind Graphen der Emulsionen mit WPI-Lösungen (a,c,e) zu sehen, rechts Emulsionen mit Na-Caseinat (b,d,f). Es ist ersichtlich, dass es bei molkenprotein stabilisierten Emulsionen schneller zu einem Schnittpunkt von  $G'$  und  $G''$  kommt. Der Verlustfaktor steigt somit mit steigender Deformation und steigender Zeit stetig an. Es kommt von  $\tan \delta < 1$  zu  $\tan \delta > 1$  und erreicht bei allen WPI-Emulsionen ein  $\tan \delta$  von nahezu 3,5 während der gesamten Messung und identischen Parameter. Bei Na-caseinat stabilisierten Emulsionen kommt es verglichen mit den WPI-Emulsionen zum späterem Strukturzusammenbruch. Der Schnittpunkt von  $G'$  und  $G''$  setzt zeitlich später ein. Die Kurve des Verlustfaktors läuft erst konstant und steigt danach stetig an. Vor allem bei Vergleich der Konzentrationen der Na-Caseinat, also Graph b, d, und f, ist ein Plateau des Verlustfaktors zu Beginn der

## Ergebnisse und Diskussion

Messung zu beobachten. Am stärksten ausgeprägt ist dieser bei Emulsionen mit einem Na-Caseinat Anteil von 8%w/w in wässriger Lösung. Auch erreicht dieser nur einen  $\tan\delta$  von zirka 2,5 während der gesamten Messung. Abschließend zur Abbildung 39 lässt sich sagen, dass Graph f die höchste Stabilität und das stärkste Öltropfennetzwerk aufweist und es abhängig von der Zeit und Deformation später zum Strukturbruch kommt. Das heißt die Interaktionen, um das Netzwerk stabil zu halten, werden reduziert, gleichzeitig kommt es zum Auflösen des Jamming Effektes durch zunehmende Deformation der Emulsion.



## Ergebnisse und Diskussion

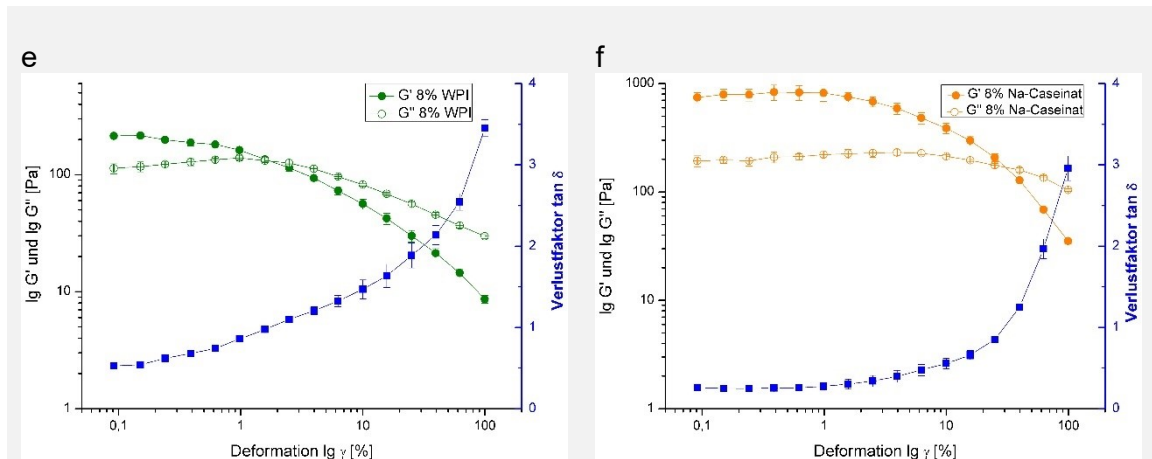


Abbildung 39 Vergleich Emulsionen 74%w/w und unterschiedlichen Proteinen deren Konzentration in der wässrigen Phase: a WPI 6%w/w; b Na-Caseinat 6%w/w; c WPI 7%w/w; d Na-Caseinat 7%w/w; e WPI 8%w/w; f Na-Caseinat 8%w/w; Kreis gefüllt:  $G'$ ; Kreis nicht gefüllt:  $G''$ ; blau Viereck:  $\tan \delta$

Vergleicht man Emulsionen mit unterschiedlichen Ölen, ergeben sich auch unterschiedliche rheologische Eigenschaften, wie in Abbildung 40 zu sehen. Alle Emulsionen wurden mit Frischmilch hergestellt. Rapsöl und Erdnussöl, welche beides Vollraffinate sind, weisen einen nahezu identischen Verlauf auf. Bei Emulsionen mit Olivenöl konnte schon während der Herstellung erkannt werden, dass nicht die komplette Menge an Olivenöl emulgiert werden kann. Die Probe zur Messung wurden aus der stabilen Emulsion entnommen. Beim Olivenöl handelt es sich zudem nicht um ein Vollraffinat, dieses ist raffiniertes Olivenöl mit einem geringen Anteil an nativem Olivenöl. Die relativ hohen Standardabweichungen der Emulsionen mit Frischmilch zeigen, dass es sich hier um ein Naturprodukt handelt. Unterschiedliche Milchpackungen können somit unterschiedliche Emulsionen bilden, da nicht genau bestätigt werden kann, wie viel und welche Milchproteine sich in der Emulsion befinden. Unterschiede bei der Emulsionsherstellung mit Olivenöl zeigte, dass nicht das komplette Öl emulgiert werden konnte, zudem hat dieses niedrigere  $G'$ - und  $G''$ -Werte aufgezeigt. Hintergrund hierfür könnte vor allem die Zusammensetzung sein, da es sich beim Olivenöl zwar hauptsächlich und ein raffiniertes Produkt handelt, jedoch ein geringer Anteil an nativem Olivenöl enthalten ist. Die Zusammensetzung in den Ölsäuren und Farbstoffen besteht ein Unterschied zu den anderen beiden Ölen. Polyphenole, welche auch als starke oberflächenaktive Stoffe agieren, sind auch als Unterschied zwischen den Ölen zu nennen (Matissek und Baltes 2016). Weitere Messungen mit niedrigen Ölkonzentrationen sollten in weiteren Versuchen noch geprüft werden.

## Ergebnisse und Diskussion

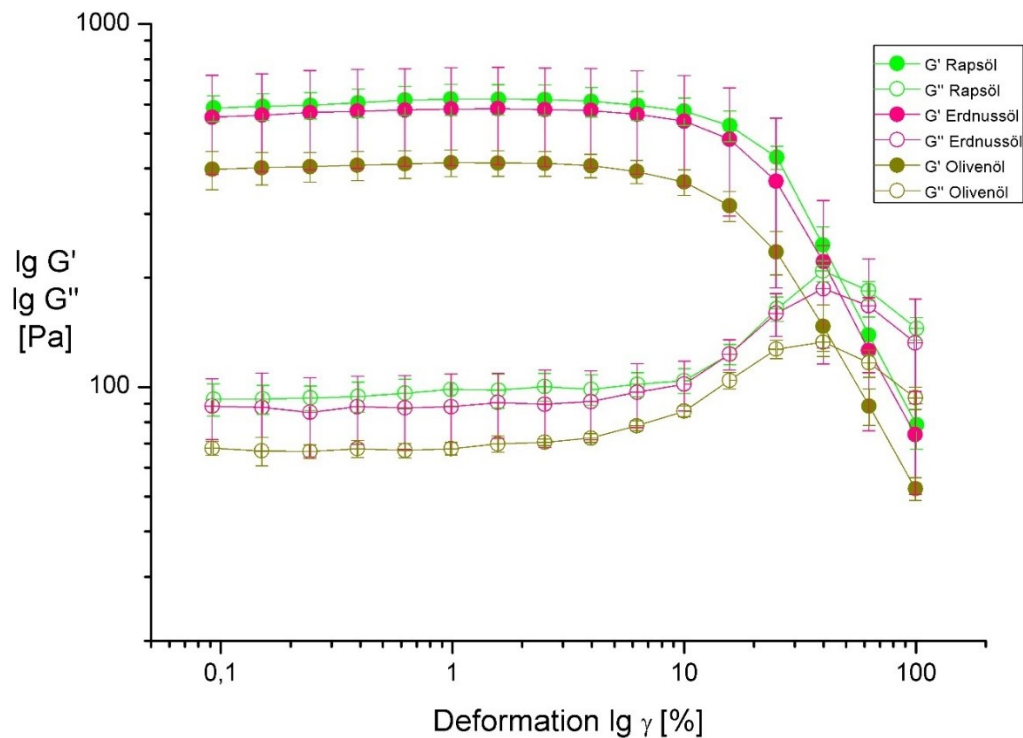


Abbildung 40 Vergleich Emulsionen mit unterschiedlichen Ölen: blau: Rapsöl; grün: Erdnussöl; rot: Olivenöl; alle Emulsionen sind mit 73%w/w und Frischmilch

### 4.3.2 Frequenz-Sweep der Emulsionen

Nach Durchführung des Amplituden-Sweeps wurden Frequenz-Sweeps zu verschiedenen Emulsionen durchgeführt. Der Wert für die festgelegte Deformation  $\gamma = 0,5\%$  wurde aus dem LVE-Bereich des Amplituden-Sweeps entnommen. In Abbildung 41 ist zu sehen, dass  $G' > G''$  vorliegt und höhere Ölanteile leicht höhere Module verursachen, jedoch ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Alle Emulsionen zeigten einen höheren elastischen Anteil wie viskosen Anteil. Die Frequenz-Sweeps bestätigen das Verhalten einer Dispersion und Gelen mit der Eigenschaft  $G' > G''$ . Der parallel leichte Anstieg der Module zeigt eine Abhängigkeit der Frequenz. Es lässt aufgrund des leichten Anstiegs darauf schließen, dass ein stabiles Strukturnetzwerk die Emulsion nur leicht frequenzabhängig macht. Alle Emulsionen zeigen aufgrund der größeren Öltröpfenpackung den Jamming Effekt. Die Größe der Öltröpfen bei höheren Ölkonzentrationen deuten auf ausgeprägtere gelartige Eigenschaften als bei niedrigeren Ölkonzentrationen hin. Auch Manoi untersuchte hochkonzentrierte molkenprotein stabilisierte Emulsionen und erhielt ähnliches Verhalten beim Frequenz-Sweep (Manoi und Rizvi 2009).

## Ergebnisse und Diskussion

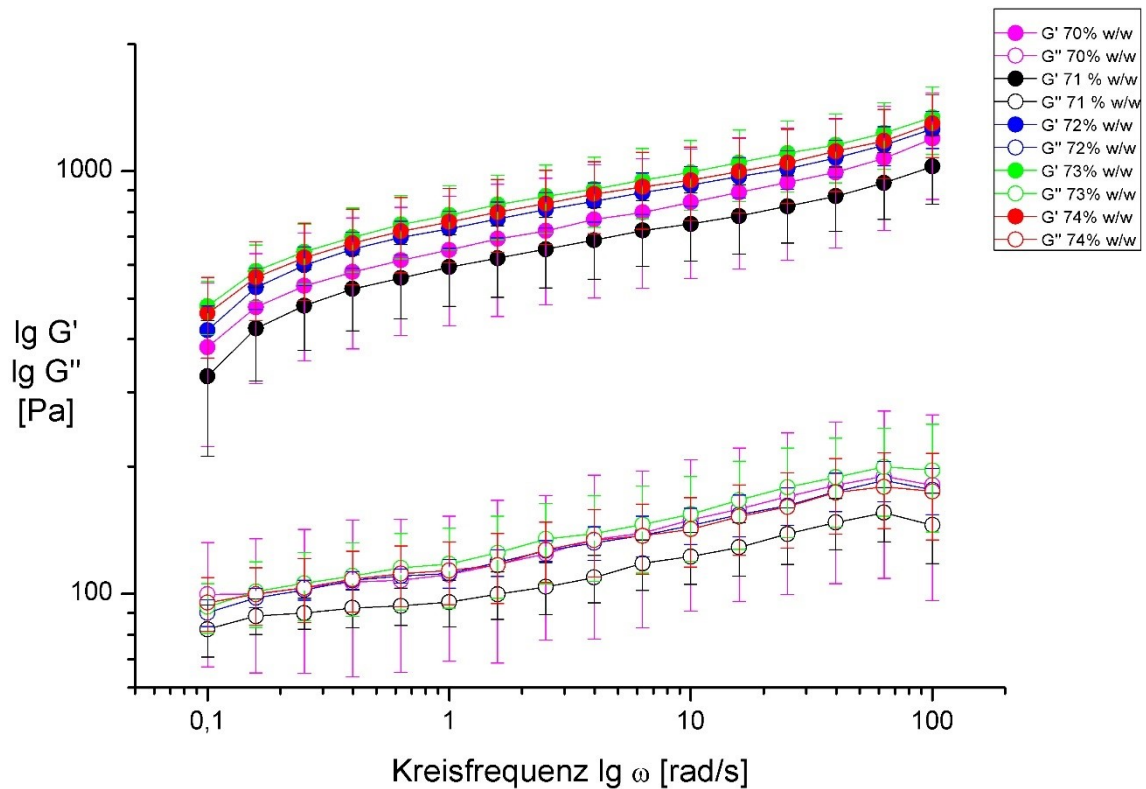


Abbildung 41 Frequenz-Sweep der Emulsionen mit 71%w/w bis 74%w/w und Frischmilch, Frequenz  $\omega$  von 0,1 -100 rad/s;  $\gamma = 0,5\%$ ;  $T=25^\circ\text{C}$

Vergleicht man die Emulsionen, welche mit Na-Caseinat stabilisiert sind, erhält man verglichen mit den Frischmilchemulsionen in Abbildung 41 ähnliches Verhalten. Abbildung 42 zeigt die graphische Darstellung verschieden konzentrierter Na-Caseinat-Emulsionen. Alle haben einen Ölanteil von 73%w/w. Emulsionen mit 8%w/w Na-Caseinat in der wässrigen Lösung zeigen das höchste Speicher- und Verlustmodul. Allgemein überwiegt das elastische Verhalten dem viskosen Verhalten ( $G' > G''$ ) bei allen Emulsionen. Ein deutlich niedrigeres Speicher- und Verlustmodul zeigen Emulsionen, welche durch Molkenproteine stabilisiert sind (siehe Abbildung 43). In beiden Abbildungen ist wieder ein leichter Anstieg mit steigender Frequenz zu verzeichnen. Die Proteinkonzentration zeigt auch einen positiven Einfluss auf die Stabilität der Emulsion in den rheologischen Eigenschaften. So hat die Emulsion mit den höchsten Proteinkonzentrationen die die höchsten Moduli, unabhängig von Verwendung der Milchproteinfraktionen. Interessant ist der Anstieg der Kurven, wenn man Na-Caseinat Emulsionen und WPI Emulsionen vergleicht. WPI-Emulsionen zeigen eine größere Steigung als Na-Caseinat Emulsionen. Dies besagt, dass WPI-Emulsionen einen stärkeren Effekt auf eine steigende Frequenz haben. Es können auch Rückschlüsse auf das zeitliche Verhalten der Emulsionen mit Hilfe der

## Ergebnisse und Diskussion

Frequenz-Sweeps gemacht werden. So ist eine schwache Änderung der Moduli in Abhängigkeit der Frequenz ein Hinweis auf die Zeitstabilität. Na-caseinatstabilisierte Emulsionen zeigen daher eine höhere Zeitstabilität als WPI-stabilisierte Emulsionen. Vergleicht man diese Ergebnisse mit der Literatur erhält man ähnliche Verläufe bezüglich der Eigenschaft der höheren Moduli mit steigendem Ölanteil (Mason et al. 1997). Die rheologischen Eigenschaften zwischen den unterschiedlichen Ölen wurde auch in einer vergangenen Publikation untersucht. Ebenso verwendete Mattia und Mitarbeiter eine Frequenz von 0,1 bis 100 und erhielt ähnliche Speichermoduli, wie es in diesem Versuch gemessen wurde. Verwendet wurden hier jedoch Eiweiße, wie es in einer Mayonnaise der Fall ist. Der leichte Anstieg der  $G'$ -Werte wurde auch hier beobachtet, dies wird ebenso durch die Interaktionen zwischen den Tropfen begründet (Mattia et al. 2015).

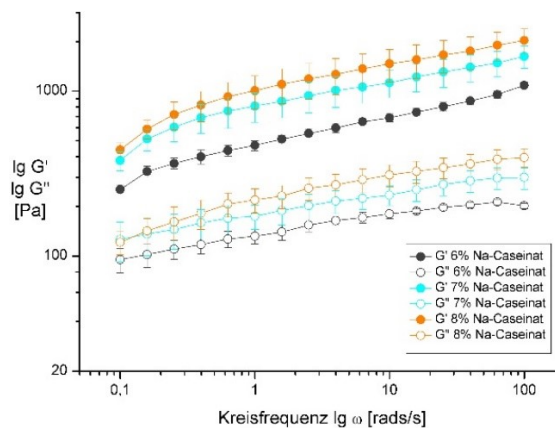


Abbildung 42 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ;  $T=25^{\circ}\text{C}$ ); Emulsionen mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen; Ölanteil 73%w/w

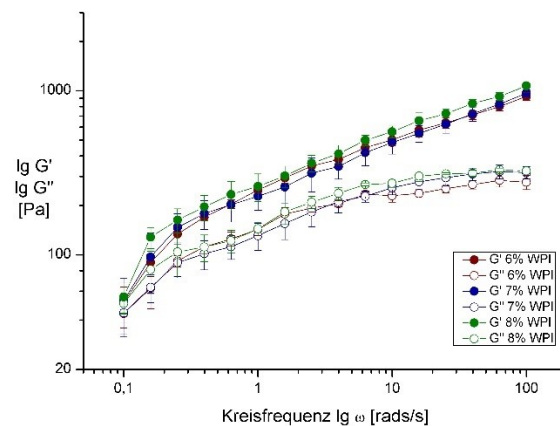


Abbildung 43 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ;  $T=25^{\circ}\text{C}$ ); Emulsionen mit unterschiedlichen Molkenprotein Konzentrationen; Ölanteil 73%w/w

Im direkten Vergleich kann man in Abbildung 44 Emulsionen mit Na-Caseinat 8%w/w und Molkenproteinen 8%w/w in wässriger Phase sehen. Die Kurven der Speichermodulität und auch der Verlustmodulität scheinen sich mit steigender Frequenz anzunähern. Es ist davon auszugehen, dass eine Stabilität durch die kompakte Netzwerkstruktur der Öltröpfchen gegeben ist. Das Netzwerk der Öltröpfchen kann aus den Mikroskopiebildern im Kapitel 3.2.2 entnommen werden.

## Ergebnisse und Diskussion

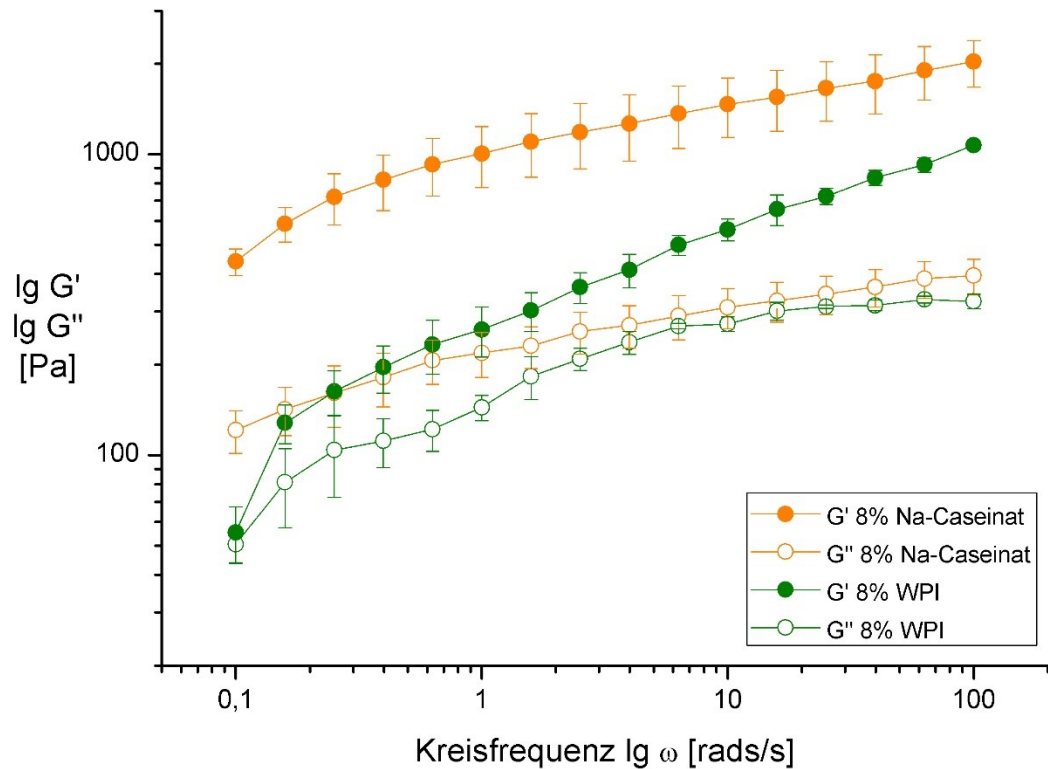


Abbildung 44 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ;  $25^\circ\text{C}$ ): Vergleich Emulsionen mit Na-Caseinat 8%(w/w) und Molkenproteinisolat 8%(w/w)

Bei Einsatz von unterschiedlichen Ölen, wie Rapsöl, Erdnussöl und Olivenöl zur Emulsionsherstellung mit Frischmilch erhält man beim Frequenz-Sweep ähnliches Verhalten zu den andere Messungen. In Abbildung 45 werden diese graphisch aufgezeigt, wie schon beim Amplituden-Sweep, haben Emulsionen mit Rapsöl zu Emulsionen mit Erdnussöl kaum einen Unterschied in den rheologischen Eigenschaften. Auch hier liegt bei allen Emulsionen das Verhalten  $G' > G''$  vor. Lediglich Emulsionen mit Olivenöl zeigen ein deutlich niedrigeres Speicher- und Verlustmodul verglichen mit den anderen. Alle haben einen leichten Anstieg in den  $G'$ - und  $G''$ -Werten mit steigender Frequenz.

## Ergebnisse und Diskussion

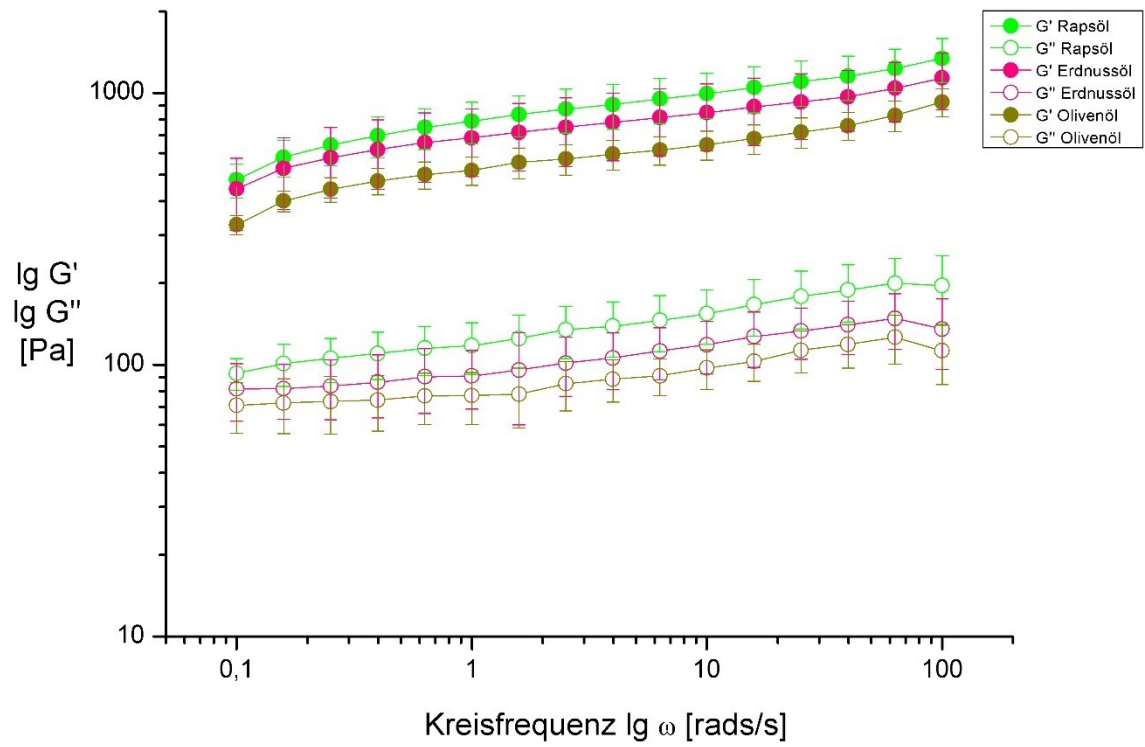
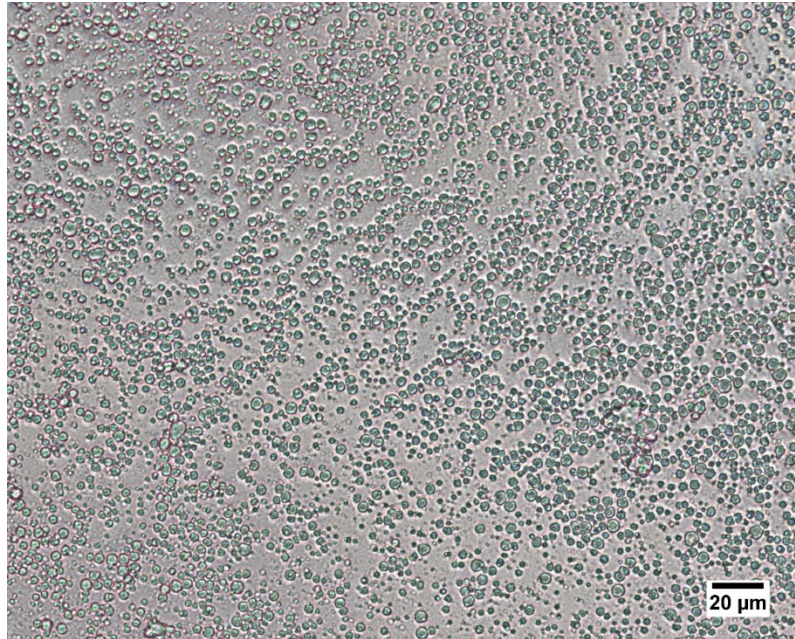


Abbildung 45 Frequenz-Sweep ( $\gamma=0,5\%$ ;  $25^\circ\text{C}$ ): Vergleich Emulsionen mit Rapsöl, Erdnussöl und Olivenöl (73%(w/w)) und Frischmilch



#### 4.4 Lichtmikroskopie

In Abbildung 46 ist die Heumilch mit einem Objektiv von 40x abgebildet. Diese wurde nicht homogenisiert, daher sind hier relativ große Milchfettropfen zu sehen. Die Analyse im Particle Size Analyzer hat eine monomodale Größenverteilung mit einem Mittelwert von  $3,042\mu\text{m}$  ergeben.



*Abbildung 46 Original Bio-Heumilch; nicht homogenisiert; 40fach Vergrößerung*

Bei den mikroskopischen Aufnahmen sind die Öltropfen durch ihre dichte Packung schwer zu fokussieren. Abbildung 47 und Abbildung 48 zeigen Emulsionen mit Frischmilch, links mit 70%w/w und rechts mit 73%w/w. In beiden Abbildungen kann man sehen, dass keine homogenen Öltropfengröße vorhanden ist. Dies ist durch die Herstellungsmethode einflussgebend. Die aus der Literatur vorgestellten Modelle wurden hiermit bestätigt, so kommt es ab einem Ölanteil von 70%w/w zu einem Modell, in welche die Öltropfen wie in einem Käfig gehalten werden. Sie sind zudem nicht mehr als kugelförmig zu sehen, sondern stoßen direkt an benachbarte Öltropfen und bilden eine leicht polyedrische Struktur. Weitere Ölkonzentrationen haben ähnliche Ergebnisse gezeigt, welche mit dem bloßem Auge keinen Unterschied zeigten.

## Ergebnisse und Diskussion

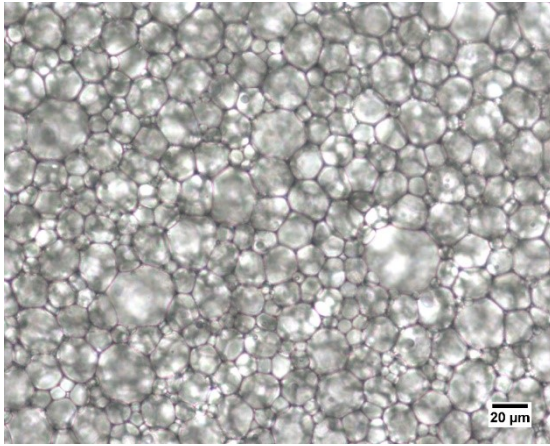


Abbildung 47 Mikroskopieaufnahme einer konzentrierten Emulsion; 40fache Vergrößerung; 70%(w/w) und Frischmilch

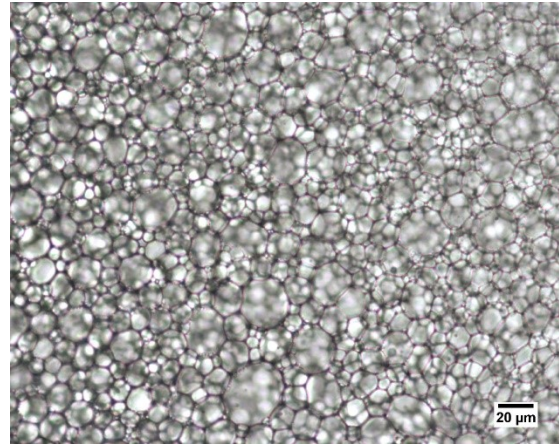


Abbildung 48 Mikroskopieaufnahme einer konzentrierten Emulsion; 40fache Vergrößerung; 73%(w/w) und Frischmilch

Zur Probenvorbereitungen für die Größenbestimmung der Öltröpfen wurden Mischungen mit einem Komponentenverhältnis von 1:9 mit SDS-Lösungen hergestellt. Abbildung 49 zeigt den Unterschied zwischen den Versetzten mit MilliQ-Wasser, einer 1%igen SDS-Lösung und 0,2%igen SDS-Lösung. Das letztere wies ein Verhalten auf, bei denen die Öltröpfen nicht aggregierten. Ziel war es keine Aggregate im Partikelanalyzer zu messen und damit eine verfälschte Größenverteilung zu erhalten.

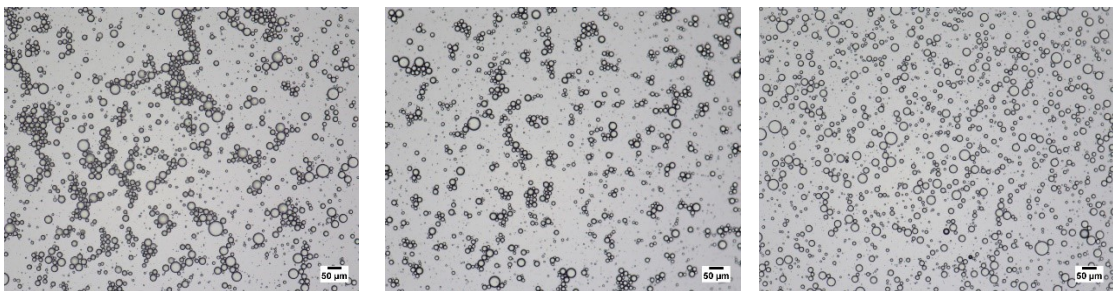
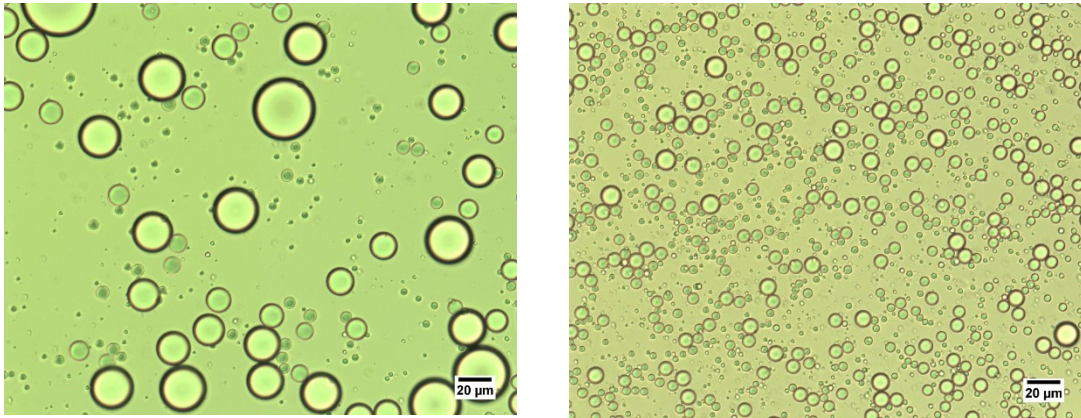


Abbildung 49 Vergleich der Mischungen der Emulsion (70%w/w) (1:9) zur Probenvorbereitung (10fache Vergrößerung): links: MilliQ-Wasser; Mitte: 1%ige SDS-Lösung; rechts: 0,2%ige SDS-Lösung

Auch die mikroskopischen Aufnahmen bestätigen den deutlichen Unterschied der Mittelwerte von WPI-Emulsionen und Na-Caseinat-Emulsionen. Nach Herstellung einer 0,2%igen SDS-Lösung mit MilliQ-Wasser und darauffolgenden Verdünnung der Probe in einem Mischungsverhältnis von 1:9, werden wie in den Aufnahmen in Abbildung 50

## Ergebnisse und Diskussion

zu sehen, unterschiedlich große Öltröpfen beobachtet. Zu beachten ist jedoch auch, dass es sich bei Mikroskopieaufnahmen um eine Momentaufnahme eines eingeschränkten Ortes, dem sichtbaren Feld, handelt.



*Abbildung 50 Vergleich verdünnte Emulsionen (9:1) mit 73%(w/w) Ölanteil, 40fache Vergrößerung; links: mit 8%(w/w) WPI; rechts: mit 8%(w/w) Na-Caseinat*

#### 4.5 Thermische Eigenschaft der Emulsionen

Untersuchungen der thermischen Eigenschaften der hergestellten Emulsionen kann mehr Erfahrung über eine Gelierung bringen. Eine Gelierung kann dann beobachtet werden, wenn sich ein starkes Netzwerk während der Temperaturänderung ausbildet, beispielsweise durch die Proteine. Ausgedrückt wird dies durch den Anstieg der Speicher- und Verlustmodule während Messung.

Auf der  $y_1$ -Achse sind Speichermodul  $G'$  und Verlustmodul  $G''$  in Pascal logarithmisch gegenüber der Zeit in Minuten aufgetragen. Die Temperatur ist auf der zweiten  $y$ -Achse rechts aufgetragen. Die Messung beginnt bei  $4^\circ\text{C}$  steigt auf  $80^\circ\text{C}$  und sinkt anschließend wieder auf  $4^\circ\text{C}$ . Das Temperaturprofil ist so gewählt, dass die Aufheizung genauso lang benötigt, wie die Abkühlung.

Das in Abbildung 51 gezeigte Temperaturprofil ist eine Emulsion mit Frischmilch und einem Ölanteil von 74%w/w. Der elastische Anteil  $G'$  der Probe überliegt dem viskosen Anteil  $G''$  in der gesamten Messung. Gleichzeitig ist ein stetiger Anstieg zu beobachten, verstärkt kommt es nach der Erreichung von  $80^\circ\text{C}$ , dort steigen  $G'$  und  $G''$  stärker an. Es zeigt, dass es zur zunehmenden festeren, gelartigen Struktur kommt, welches durch die Erhitzung der Probe verursacht wird. Bei der Erhitzung kommt es auch zu Interaktionen zwischen adsorbierten und nicht adsorbierten Proteinen (Singh und Ye 2009).

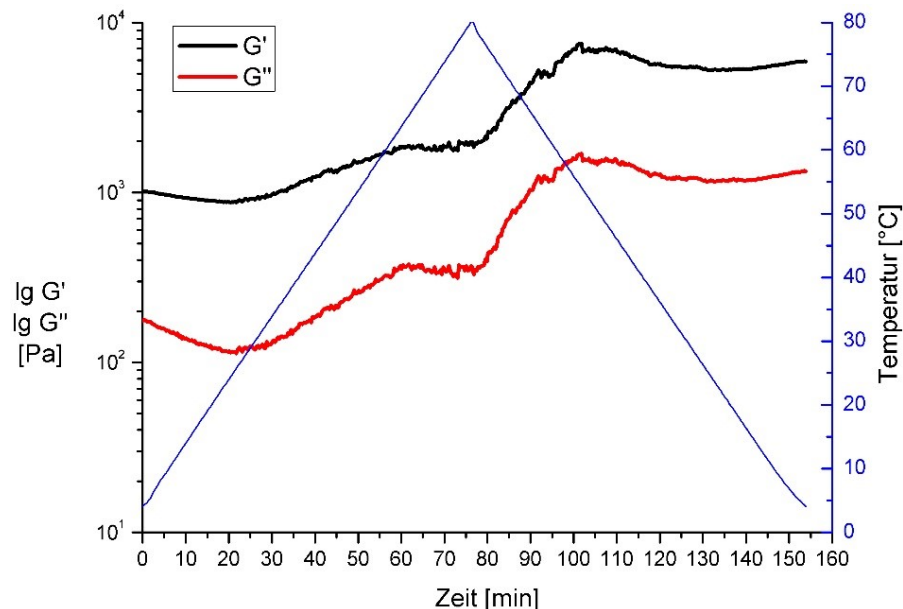


Abbildung 51 Emulsionen mit Frischmilch; Temperaturprofil  $4^\circ\text{C}$ - $80^\circ\text{C}$ - $4^\circ\text{C}$ ;  $\omega = 10 \text{ rad/s}$ ;  
 $\gamma = 0,5\%$ ; Ölanteil 73%w/w

## Ergebnisse und Diskussion

Bei Überprüfung des Temperatureinflusses der Emulsionen mit ausschließlich Na-Caseinat, hat wie in Abbildung 52 zu sehen ergeben, dass auch ein stetiger Anstieg der  $G'$  - und  $G''$  -Werten bei allen Konzentrationen von 5%w/w, 6%w/w und 8%w/w in der wässrigen Phase zu beobachten sind. Ebenso überwiegt der elastische Anteil gegenüber dem viskosen Anteil während der gesamten Messung ( $G' > G''$ ). Bei Emulsionen mit einer Konzentration von 8%w/w in der wässrigen Phase ist zu Beginn der stärkste Anstieg zu verzeichnen, jedoch nach Erreichung des Maximums ein Abfall von Speicher- und Verlustmodul. Zudem verlaufen  $G'$ -Kurven nahezu parallel zu den zugehörigen  $G''$ -Kurven. Bei Erhöhung der Proteinkonzentration ist eine schnellere Aggregation und Gelbildung zu beobachten, dies erwähnt auch Singh in seiner Publikation. Auch weist er darauf hin, dass mit Erwärmung adsorbierte Proteine mit nicht adsorbierten Proteinen besser interagieren. Erklärt wird dies durch die Denaturierung der nicht adsorbierten Protein, da die Hydrophobizität während der Denaturierung steigt (Singh und Ye 2009).

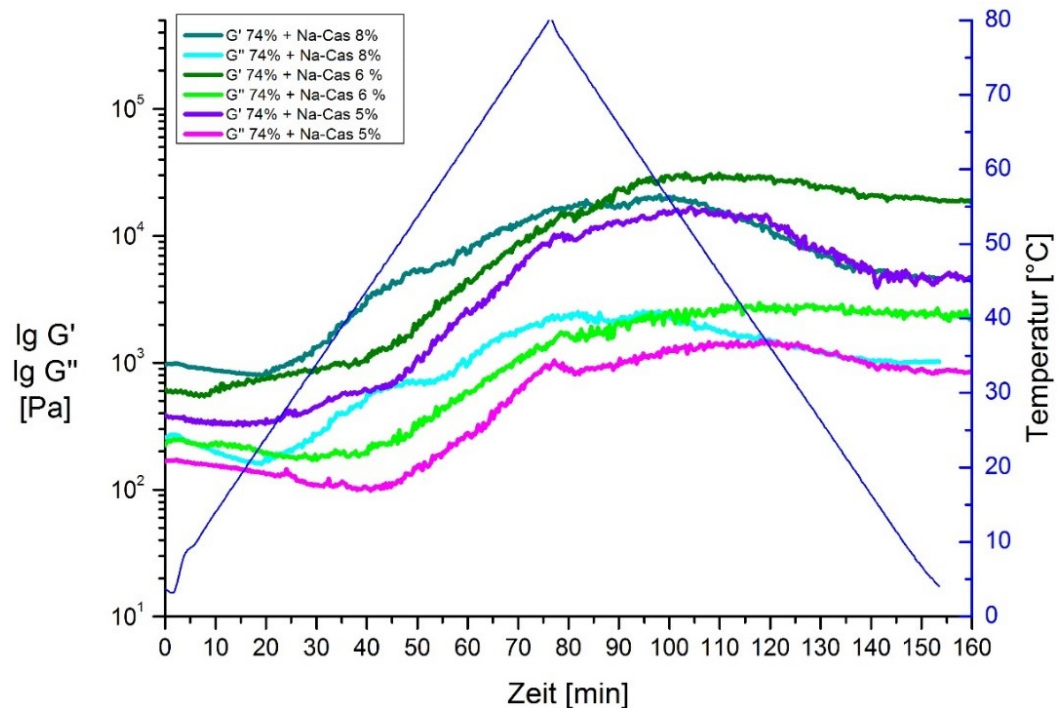


Abbildung 52 Emulsionen mit unterschiedlichen Na-Caseinat Konzentrationen; Temperaturprofil  
4°C-80°C-4°C;  $\omega = 10 \text{ rad/s}$ ;  $\phi = 0,5\%$ ; Ölanteil 74%w/w

In Abbildung 54 sind molkenproteinstabilisierte Emulsionen zu sehen. Ebenso sind hier über den gesamten Messungszeitraum  $G'$  größer als  $G''$ . Zu Beginn ist ein eher niedriges Niveau der beiden Moduli zu sehen, jedoch schon ab zirka 65°C kommt es zum steilen Anstieg von Speicher- und Verlustmodul. Auch nach Erreichung des Maximums von

## Ergebnisse und Diskussion

80°C steigen diese weiter an. Erst bei Abkühlung ab zirka 55°C verlaufen die Werte in einem Plateau. Emulsionen mit 8%w/w Molkenprotein in der wässrigen Phase haben den Verlauf mit den höchsten Speicher- und Verlustmodulen. Der Verlauf weist darauf hin, dass sich bei Erhitzung der Proben eine Gelstruktur bildet und das Netzwerk damit stark stabilisiert. Dies zeigt die Gelbildung der WPI über Disulfidbrücken (Cystein), welche zwischen 65°C und 72°C vernetzen (Visschers und Jongh 2005). Im Allgemeinen zeigen Molkenproteine durch ihre Hitzeempfindlichkeit diesen Effekt. In Abbildung 53 ist die gelartige Probe nach Durchführung des Temperaturprofils zu sehen. Es scheint als hätte sich eine irreversible Struktur gebildet, welche relativ fest ist.

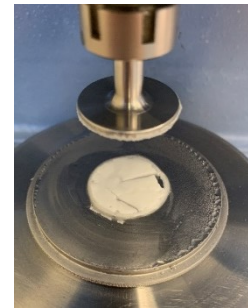
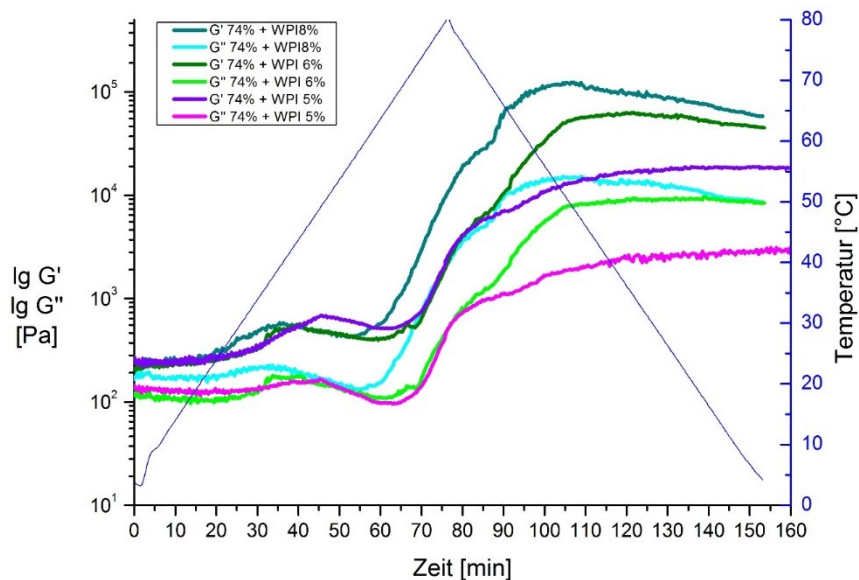


Abbildung 53 Emulsion mit 8%w/w Molkenprotein in der wässrigen Phase nach Durchführung des Temperaturprofils

Abbildung 54 Emulsionen mit unterschiedlichen Molkenprotein-Konzentrationen; Temperaturprofil 4°C-80°C-4°C;  $\omega = 10 \text{ rad/s}$ ;  $\gamma = 0,5\%$ ; Ölanteil 74%w/w

In Abbildung 55 ist der Vergleich der Kurven der Na-caseinatstabilisierten Emulsion mit 8%w/w und molkenproteinstabilisierten (WPI) Emulsion mit 8%w/w dargestellt. Vergleicht man die maximal erreichten Werte des Speicher- und Verlustmoduls, ist ein deutlicher Unterschied zu sehen. In Tabelle 17 sind die gerundeten Werte dargestellt. Die Werte der WPI-Emulsion sind zirka ein sechsfaches größer als die der Na-Caseinat Emulsionen.

## Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 17 Vergleich der  $G'$ - und  $G''$ -Werte (gerundet) der Emulsionen mit Na-Caseinat und WPI

Modul	Na-Caseinat-Emulsion	WPI-Emulsion
$G'$ [Pa]	20.900	124.000
$G''$ [Pa]	2.600	15.300

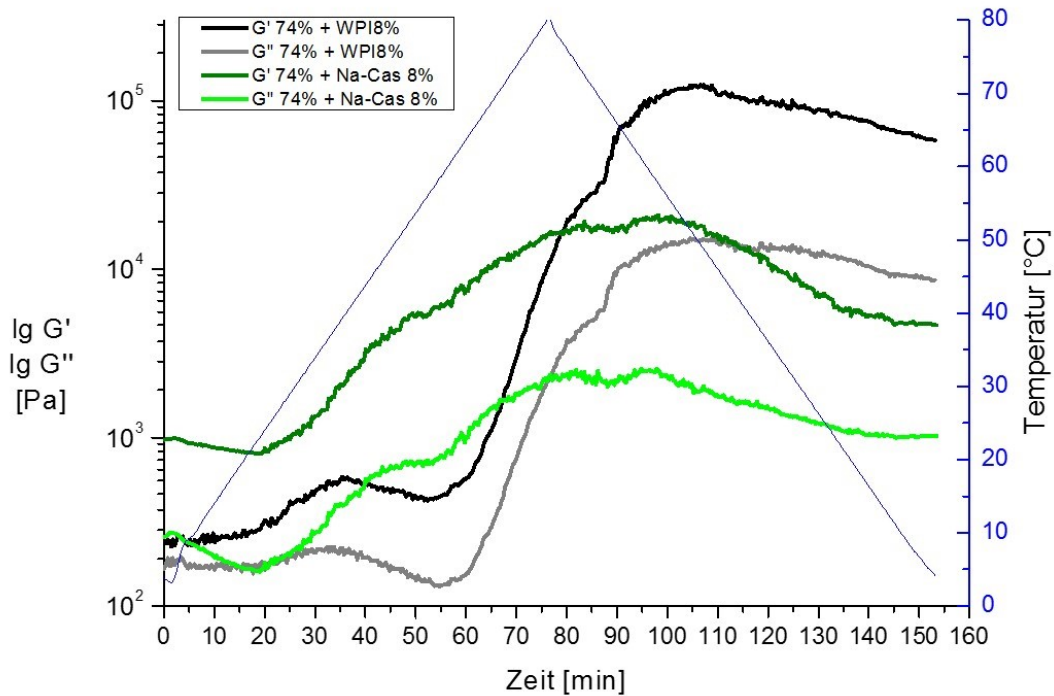


Abbildung 55 Vergleich der Emulsionen mit jeweils 8%w/w WPI und 8%w/w Na-Caseinat; Temperaturprofil 4°C-80°C-4°C;  $\omega = 10$  rad/s;  $\gamma = 0,5\%$ ; Ölteil 74%w/w

Die Erhitzung und anschließende Abkühlung der Emulsionen mit Hilfe von Temperaturprofilen von 4°C - 80°C - 4°C zeigt eine starke Änderung der rheologischen Eigenschaften aller untersuchten Emulsionen. Ursächlich für diesen Effekt ist der Energieeintrag durch Temperaturerhöhung und damit die Veränderung der strukturellen Eigenschaften der Proteine. Molkenproteine sind bekannt für ihre Hitzeempfindlichkeit, bei Temperaturänderung einhergehende (irreversible) Veränderung der sekundären und tertiären Strukturen. Durch die Erwärmung kommt es zur Denaturierung der Molkenproteine, was wiederum zur Stärkung der Adsorption und Festigkeit führt. Auch wird in der Literatur beschrieben, dass mit steigender Proteinkonzentration die Denaturierungstemperatur sinkt. Die Denaturierung bewirkt hydrophobe Interaktionen und Disulfidbindungen, mit

## Ergebnisse und Diskussion

diesem konnte Chen und Dickinson die steigenden  $G'$ -Werte der Molkenproteinemulsionen bei steigender Temperatur auf 85°C erklären. Auch erklären sie die steigenden  $G'$ -Werte während der Abkühlung von 85°C auf 30°C durch die verstärkten Wasserstoffbrückenbindungen. Eine komplette Übertragung der Interpretation der Werte, mit denen der hochkonzentrierten Emulsionen kann nicht durchgeführt werden (Chen und Dickinson 1997). Knudsen und Mitarbeiter untersuchten spezifisch  $\beta$ -lactoglobulin und deren Denaturierungsgrad auf die rheologischen Eigenschaften. Einen deutlichen Unterschied gab es zwischen nativen und erhitzten Molkenproteinen (bei 69°C). Das Speichermodul war bei erhitzten Proteinen deutlich höher als bei nativen, erklärt wird dies durch die oberflächenaktiven Proteine, welche auf den Öltröpfen adsorbiert sind. Auch hier werden steigende Hydrophobizität und verstärkte Bildung von Aggregaten als Ursache der erhöhten  $G'$ -Werte genannt (Knudsen et al. 2008). Bei der Herstellung von herkömmlicher Mayonnaise auf Eibasis kommt es ebenso durch die Erhitzung der Emulsion zur Denaturierung der Eiproteine, welche die Öltröpfen dann stabilisieren (van Nieuwenhuyzen und Szuhaj 1998). Der ersichtliche Plateauwert nach Erhitzung der Emulsionen kann als Gelierung betrachtet werden, da das Speicher- und Verlustmodul auf hohem Niveau verbleibt und nicht wieder absinkt. Lediglich bei den Na-Caseinat-Emulsionen ist ein leichtes Absinken zu beobachten. Dies weist darauf hin, dass das Na-Caseinat, aufgrund der höheren Stabilität, weniger auf die Erhitzung reagieren als Molkenproteine. Das Speichermodul und Verlustmodul sinken zum Ende leicht ab und die Emulsion wird daher weicher und ist nicht so stabil wie die Gelstruktur, die durch das WPI gebildet wird. Als Fehlerquelle bei der Durchführung der Temperaturprofile kann trotz Isolierung auch die Trocknung der Probe durch die Erhöhung der Temperatur sein. Dies kann zusätzlich zur Erhöhung des Speicher- und Verlustmoduls führen. Um weitere verlässliche Ergebnisse über die thermischen Eigenschaften der Emulsionen zu erhalten, müssen weitere Kontrollmessungen durchgeführt werden. Aufgrund der zeitlichen Begrenzung konnte dies nicht durchgeführt werden.



## 5 Zusammenfassung und Ausblick

---

Ein wichtiges Ergebnis ist, dass mit Hilfe von Milchproteinen eine hochkonzentrierte, stabile Emulsion mit sichtbarem Jamming-Effekt herzustellen ist. Beide Fraktionen der Milchproteine Caseine und Molkenproteine eignen sich als Emulgatoren, wobei das Na-Caseinat eine deutlich bessere Effektivität bei der Emulgierung hat als Molkenproteinisolate. Die erzielten Tropfengrößen in Abhängigkeit der Proteinkonzentration hat eine stark negative Korrelation ergeben, welche auch die visuelle Beobachtung der Stabilität bestätigte. Natrium-Caseinat-Emulsionen haben die geringsten Öltropfengröße erreicht. Die geringste Öltropfengröße war im Mittel  $5,19\mu\text{m}$  bei einer Emulsion von 73%w/w Rapsöl und 8%w/w Na-Caseinat-Lösung. Zur Überprüfung der Stabilität könnten weitere Methoden Anwendung finden, wie beispielsweise die Zentrifugation mit Bestimmung des freien Öls. Hierbei kann untersucht werden, ob sich eine Korrelation zwischen Proteineinsatz und Stabilitätsindex ergibt. Weiterhin können zur Überprüfung der Stabilität auch Messung der Grenzflächenspannung mittels eines Tensiometers durchgeführt werden. Geringe Grenzflächenspannungen deuten auf stabile Emulsionen hin. Weitere Untersuchungen des Temperatureinflusses während der Emulsionsherstellung sollten noch weiter untersucht werden. Die Resultate der Messungen bei Temperaturänderung ergaben teilweise starke Einflüsse, indem das Speicher- und Verlustmodul während der Aufheizung stark anstieg. Hierbei haben Emulsionen mit Molkenproteinisolaten den stärksten Anstieg gezeigt. Emulsionen mit Na-Caseinat stabilisiert waren in den  $G'$ - und  $G''$ -Werten lediglich ein Sechstel verglichen mit den WPI-Emulsionen. Frischmilchemulsionen haben den geringsten Effekt auf die Temperaturänderung gezeigt. Wobei Emulsionen aus Frischmilch beim Amplituden-Sweep die höchsten Moduli zeigten, trotz der geringen Gesamtproteinkonzentration. Weitere Versuche sollte hier klären, welche Inhaltsstoffe der Milch hier noch zur Emulgierung beitragen und welche Rolle das Milchfett spielt. Die zu Beginn gestellte Fragestellung, inwieweit sich Milchproteine als Emulgatoren in hochkonzentrierten Emulsionen eignen, konnte im Detail beantwortet werden. Auch konnten nähere Ergebnisse zu den beiden Milchproteinfraktionen, den Caseinen und Molkenproteinen erzielt werden. Der Unterschied der Wirkung als Emulgator in hochkonzentrierten Emulsionen sollte in Zukunft noch zwischen Natrium-Caseinat und nativen Caseinen untersucht werden. In der Forschung wird verstärkt Na-Caseinat verwendet, da dies wasserlöslich ist und in vorliegenden Veröffentlichungen sehr gute Emulgiereigenschaften aufzeigten. Der Jamming-Übergang konnte durch das Emulsionsherstellungsverfahren,

## Zusammenfassung und Ausblick

dem Ultra Turrax, beobachtet werden. Um genauere Einflüsse des Herstellungsverfahrens auf Emulsionen mit Jamming Effekt feststellen zu können, ist in weiteren Forschungen das Hochdruckhomogenisierverfahren, Membranverfahren und Ultraschallverfahren zu vergleichen. Es ist zu prüfen, ob andere Verfahren noch geringere Öltropfengrößen erreichen, ob diese homogen vorliegen und eine monomodale Größenverteilung aufzeigen.

Langzeitstabilität ist auch in der Industrie ein wichtiger Parameter, dieser konnte im Rahmen der Master Thesis aus zeitlichen Gründen nicht untersucht werden. Jedoch ist dieser bedeutend und sollte in weiteren Untersuchungen wissenschaftlich mit geeigneter Methode bestimmt werden. Die visuelle Beobachtung in der vorliegenden Arbeit ist subjektiv und sollte nicht als wissenschaftlich exakte Methode verwendet werden. Zum Vergleich zu anderen Messungen haben diese wichtigen unterstützenden Hinweise gegeben. In weiteren Forschungen sollte eine angemessene Methode, wie schon in den theoretischen Grundlagen erwähnt, verwendet werden. Zum Beispiel könnte eine mögliche Methode, wie Knudsen 2008 in seiner Veröffentlichung „*Droplet surface properties and rheology of concentrated oil in water emulsions stabilized by heat-modified beta-lactoglobulin*“ verwendet werden. Die Methode der mehrfachen Zentrifugation und anschließender Größenausschlusschromatografie stellt jedoch eine sehr umfangreiche Forschung dar.

Auch sollte der Denaturierungsgrad der verwendeten Proteine, insbesondere der der hitzeempfindlichen Molkenproteine bekannt sein. Der Denaturierungsgrad gibt an, wie stark sich die Struktur der Proteine mit Hilfe von beispielsweise Temperatur, mechanischen Einflüssen und weiteren Faktoren verändert. Die Eigenschaften als Emulgator zu wirken, ist abhängig davon die Proteinstruktur. Proteininteraktionen und Verdrängung der Proteine untereinander wurden schon in vergangenen Publikationen untersucht. Zusammenfassend sind die Ergebnisse im Sammelwerk von McSweeney und O'Mahony dargestellt (McSweeney und O'Mahony 2016).

Weiterhin ist zu untersuchen, inwieweit sich das Liu-Nagel-Phasendiagramm auf milchprotein stabilisierte Emulsionen übertragen lässt. In weiteren Forschungen muss geklärt werden, wie sich milchprotein stabilisierte Emulsionen auf die Parameter Temperatur, mechanische Beanspruchung und Dichte verändern. Vor allem die Änderung der Tropfengröße, rheologische Eigenschaften, sowie thermische Eigenschaften lassen weitere Fragen offen.

## Zusammenfassung und Ausblick

Nach Durchführung dieser Master Thesis konnte explizit geklärt werden, ob sich nicht homogenisierte Frischmilch als kontinuierliche Phase bei der Emulsionsherstellung mit Rapsöl mit hohen Konzentrationen eignet. Rheologische Eigenschaften gaben eine detaillierte Auskunft über das Verhalten der Emulsionen mit Jamming Effekt. Der Unterschied zwischen den Milchproteinfraktionen konnte mit Vergleich der Literatur und einzelnen Messungen genau erarbeitet werden.

## Literaturverzeichnis

---

- Andic, S. & Boran, G. (2015). Milk Proteins: Functional polymers in food science. *Functional Polymers in Food Science*. *Scrivener Publishing LLC*, 159–180.
- Balakrishnan, G., Nguyen, B. T., Schmitt, C., Nicolai, T. & Chassenieux, C. (2017). Heat-set emulsion gels of casein micelles in mixtures with whey protein isolate. *Food Hydrocolloids* *73*, 213–221.
- Beckman Coulter, I. (2003). *LS 13 320 Manual*.
- Beckman Coulter GmbH. (2019). PIDS Technologie. Beckman Coulter GmbH.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2001). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie* (Springer-Lehrbuch, Fünfte, vollständig überarbeitete Auflage). Berlin: Springer.
- Beverung, C. J., Radke, C. J. & Blanch, H. W. (1999). Protein adsorption at the oil/water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamic interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 59–80.
- Blochowicz, T. (2015). *Jamming in granularen Medien*.
- Brummer, R. (2006). *Rheology Essentials of Cosmetic and Food Emulsions*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.
- Chen, J. & Dickinson, E. (1997). Viscoelastic properties of heat-set whey protein emulsion gels.
- Choi, S. B. & Lee, J. S. (2015). Jamming and unjamming transition of oil-in-water emulsions under continuous temperature change. *Biomicrofluidics* *9* (3), 34107.
- Considine, T. & Flanagan, J. (2009). Interaction between milk proteins and micronutrients. In A. Thompson, H. Singh & M. Boland (Hrsg.), *Milk proteins. From expression to food* (Food science and technology international series, S. 377–407). San Diego, Calif: Academic Press.
- Damodaran, S. (2005). Protein Stabilization of Emulsions and Foams. *Journal of Food Science* *70* (3), R54-R66.
- Derkach, S. R. (2009). Rheology of emulsions. *Advances in colloid and interface science* *151* (1-2), 1–23.
- Dickinson, E. (1997). Properties of Emulsions Stabilized with Milk Proteins: Overview of Some Recent Developments. *Journal of Dairy Science*.
- Dickinson, E. (2010). Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* *81* (1), 130–140.
- Dickinson, E. (2012). Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids* *28* (1), 224–241.

## Literaturverzeichnis

- Dickinson, E. & Parkinson, E. L. (2004). Heat-induced aggregation of milk protein-stabilized emulsions: sensitivity to processing and composition. *International Dairy Journal* 14 (7), 635–645.
- Dörfler, H.-D. (2002). *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme. Physik und Chemie ; mit 579, zum Teil farbigen Abb. und 88 Tabellen*. Berlin: Springer.
- Douglas G. Dalgleish. (1997). Trends in Food Science & Technology. Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Elsevier Science Ltd*. (8).
- Dutta, S. K., Knowlton, E. & Blair, D. L. (2016). Emulsions. In A. Fernandez-Nieves & A. M. Puertas (Hrsg.), *Fluids, colloids and soft materials. An introduction to soft matter physics* (S. 295–305). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Eugster-Meier, E. (2001). *Adsorptionsverhalten von Proteinen und niedermolekularen Lipiden der Milch an Phasengrenzflächen*, Eidgenössischen Technischen Hochschule. Zürich.
- Fuchs, R. (2013). *Quantitative Beschreibung der nicht linear-viskoelastischen Eigenschaften viskoelastischer Tensidsysteme*.
- Gläserne Molkerei GmbH. (2019). Nährwerte je 100ml Heumilch. <https://glaeserne-molkerei.de/produkte/bio-milch/heumilch/>.
- Halling, P. J. (1981). Protein-stabilized foams and emulsions. *Critical reviews in food science and nutrition* 15 (2), 155–203.
- Harper, J. W. (2009). Model food systems and protein functionality. In A. Thompson, H. Singh & M. Boland (Hrsg.), *Milk proteins. From expression to food* (Food science and technology international series, S. 409–422). San Diego, Calif: Academic Press.
- Hochstein, B. (1997). *Rheologie von Kugel- und Fasersuspensionen mit viskoelastischen Matrixflüssigkeiten*.
- IKA-Werke GmbH & Co. KG. (o. J.a). *Dispergierwerkzeug ika\_18n\_10\_19g. Bedienungsanleitung*.
- IKA-Werke GmbH & Co. KG. (o. J.b). *IKA ULTRA-TURRAX® T 18 basic. Bedienungsanleitung*.
- Kessler, H.-G. (2006). *Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik. Molkereitechnologie ; mit 109 Tabellen* (4., überarb. und erw. Aufl., 1. Nachdr.). München: Verl. A. Kessler.
- Kettler, E. T. C. & Richtering, W. (2007). *Rheologie komplexer Flüssigkeiten. Fachgruppe Chemie / Lehrstuhl für Physikalische Chemie II und Institut für Physikalische Chemie*, Publikationsserver der RWTH Aachen University; Aachen, Techn. Hochsch., Diss., 2007.
- Khorsand, N. (o.J.). *Physikalisch-Mechanisch Eigenschaften von caseinatbasierten essbaren Filmen, unter Verwendung von Maiskeimöl, Avishan Shirazi Ölessenz und Tragacanth gum*. Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur. Wien.

## Literaturverzeichnis

- Knudsen, J. C., Øgendal, L. H. & Skibsted, L. H. (2008). Droplet surface properties and rheology of concentrated oil in water emulsions stabilized by heat-modified beta-lactoglobulin B. *Langmuir* 24 (6), 2603–2610.
- Kronthaler, F. (2016). *Statistik angewandt*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Lagaly Gerhard, Schulz Oliver & Zimehl Ralf. (1997). *Dispersionen und Emulsionen. Eine Einführung in die Kolloidik feinverteilter Stoffe einschließlich der Tonminerale*: Steinkopff.
- Lauth, G. J. & Kowalczyk, J. (2016). *Einführung in die Physik und Chemie der Grenzflächen und Kolloide*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Liu, A. J., Sussman, D. & Chiou, K. (o.J.). Jamming and the glass transition. <https://www.physics.upenn.edu/liugroup/jamming.html>. Zugegriffen: 2. Juli 2019.
- Liu J. & Nagel Sidney R. (1998). Jamming is not just cool any more. *re* © Macmillan Publishers Ltd (396).
- Löffler-Mang, M. (2012). *Optische Sensorik. Lasertechnik, Experimente, Light Barriers* (Fertigung, 1. Aufl.). Wiesbaden: Vieweg + Teubner.
- Loi, C. C., Eyres, G. T. & Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food research international (Ottawa, Ont.)* 120, 83–91.
- Lucey, J. A. (2009). Milk protein gels. In A. Thompson, H. Singh & M. Boland (Hrsg.), *Milk proteins. From expression to food* (Food science and technology international series, S. 449–472). San Diego, Calif: Academic Press.
- Malkin, A. Y. & Kulichikhin, V. G. (2015). Structure and rheology of highly concentrated emulsions: a modern look. *Russian Chemical Reviews* 84 (8), 803–825.
- Manoi, K. & Rizvi, S. S.H. (2009). Emulsification mechanisms and characterizations of cold, gel-like emulsions produced from texturized whey protein concentrate. *Food Hydrocolloids* 23 (7), 1837–1847.
- Mantovani, R. A., Cavallieri, Â. L. F. & Cunha, R. L. (2016). Gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein. *Journal of Food Engineering* 175, 108–116.
- Markgraf, W. & Horn, R. (2014). 6.2 Rheologie in: *Handbuch der Bodenkunde* (Wiley online library). Weinheim: Wiley-VCH.
- Mason, T. G., Lacasse, M.-D., Grest, G. S., Levine, D., Bibette, J. & Weitz, D. A. (1997). Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentrated emulsions. *Physical Review E* (3), 3150–3166.
- Matissek, R. & Baltes, W. (2016). *Lebensmittelchemie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Matissek, R., Fischer, M. & Steiner, G. (2018). *Lebensmittelanalytik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

## Literaturverzeichnis

- Mattia, C. D., Balestra, F., Sacchetti, G., Neri, L., Mastrocola, D. & Pittia, P. (2015). Physical and structural properties of extra-virgin olive oil based mayonnaise. *LWT - Food Science and Technology* 62 (1), 764–770.
- Maurath, S. (2007). *Charakterisierung und Optimierung der Grenzflächenstabilisierung von Wasser-in-Öl-Emulsionen mit Ethylcellulose als Polymeremulgator*, Eberhard-Karls-Universität. Tübingen.
- McClements, D. J. (2005). *Food emulsions. Principles, practices, and techniques* (CRC series in contemporary food science, 2. ed.). Boca Raton, Fla.: CRC Press.
- McClements, D. J. & Jafari, S. M. (2018). Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in colloid and interface science* 251, 55–79.
- McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. (Hrsg.). (2016). *Advanced Dairy Chemistry*. New York, NY: Springer New York.
- Mezger, T. (2010). *Das Rheologie-Handbuch* (4. Aufl.). Hannover: Vincentz Network.
- Mezger, T. (2016). *Das Rheologie Handbuch. Für Anwender von Rotations- und Oszillations-Rheometern*.
- Mollet, H. & Grubenmann, A. (1999). *Formulierungstechnik: Emulsionen, Suspensionen, feste Formen*: Wiley-VCH.
- Ruckenstein, E. (1996). Microemulsions, Macroemulsions, and the Bancroft Rule. *Langmuir* 12 (26), 6351–6353.
- Sarkar, A. & Singh, H. (2016). Emulsions and Foams Stabilised by Milk Proteins. In P. L. H. McSweeney & J. A. O'Mahony (Hrsg.), *Advanced Dairy Chemistry* (S. 133–153). New York, NY: Springer New York.
- Schuck, P. (2009). Effects of drying on milk proteins. In A. Thompson, H. Singh & M. Boland (Hrsg.), *Milk proteins. From expression to food* (Food science and technology international series, S. 283–302). San Diego, Calif: Academic Press.
- Sibbertsen, P. & Lehne, H. (2012). *Statistik. Einführung für Wirtschafts- und Sozialwissenschaftler*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Singh, H. (2005). Protein functionality and aggregation. Milk protein functionality in food colloids, 177–193.
- Singh, H. & Ye, A. (2009). Interactions and functionality of milk proteins in food emulsions. In A. Thompson, H. Singh & M. Boland (Hrsg.), *Milk proteins. From expression to food* (Food science and technology international series, S. 321–340). San Diego, Calif: Academic Press.
- Singh, H. & Ye, A. (2013). Structural and biochemical factors affecting the digestion of protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 18 (4), 360–370.

## Literaturverzeichnis

- Tadros, T. F. (2010). *Rheology of dispersions. Principles and applications*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Tadros, T. F. (2013). *Emulsion Formation and Stability* (Topics in colloid and interface science, 1. Aufl.). s.l.: Wiley-VCH.
- Ternes, W. (2008). *Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung* (3., überarb. Aufl., Studienausg). Hamburg: Behr.
- Töpel, A. (2016). *Chemie und Physik der Milch. Naturstoff, Rohstoff, Lebensmittel* (4. überarbeitete Auflage). Hamburg: Behr's Verlag.
- van Hecke M. (2009). Jamming of soft particles: geometry, mechanics, scaling and isotacticity. *Journal of Physics: Condensed Matter* 22 (3).
- van Nieuwenhuyzen, W. & Szuhaj, B. F. (1998). Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions (7), 282–291.
- Vilgis, T. (2014). *Frische Milch. Kolloidale Struktur, Physik und Verdauung 2014*.
- Visschers, R. W. & Jongh, H. H. J. de. (2005). Disulphide bond formation in food protein aggregation and gelation. *Biotechnology advances* 23 (1), 75–80.
- Walstra, P. & Roos, A. L. de. (1993). Proteins at air-water and oil-water interfaces: Static and dynamic aspects. *Food Reviews International* 9 (4), 503–525.
- Walstra, P. (1990). On the Stability of Casein Micelles. *Journal of Dairy Science* (8).
- Walstra, P. (2003). *Physical chemistry of foods* (Food science and technology, Bd. 121). New York: Marcel Dekker.
- Walstra, P. (2005). Fundamentals of Interface and Colloid Science. Emulsions. *Elsevier Ltd.* 5, 8.1-8.94.
- Waninge, R., Walstra, P., Bastiaans, J., Nieuwenhuijse, H., Nylander, T., Paulsson, M. & Bergenståhl, B. (2005). Competitive adsorption between beta-casein or beta-lactoglobulin and model milk membrane lipids at oil-water interfaces. *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (3), 716–724.
- Wehowski, M. (2009). *Herstellung flüssiger und pulverförmiger Emulsionen mit einem neuartigen Hochleistungsdispersator und einer Hochdruck-Dispersier-Sprühanlage* (1st ed.). Göttingen: Cuvillier Verlag.
- Wynne, K. (2017). The Mayonnaise Effect. *The journal of physical chemistry letters* 8 (24), 6189–6192.
- Zayas, J. F. (1997). *Functionality of Proteins in Food*. Berlin: Springer Berlin.



## Anhang

---

Anhang 1 Vorgehensweise der Berechnung des Korrelationskoeffizienten  $r$  für das Beispiel der Na-caseinatstabilisierten Emulsion mit 73%w/w Ölanteil; Export aus Excel, verglichen mit Origin .....91

Anhang 2 Mittelwerte der Proben in  $\mu m$ : frisch; nach 5 Tagen; nach 11 Tagen ....92

Anhang 1 Vorgehensweise der Berechnung des Korrelationskoeffizienten  $r$  für das Beispiel der Na-caseinatstabilisierten Emulsion mit 73%w/w Ölanteil; Export aus Excel, verglichen mit Origin

Protein-konzentration $x_i$ [%w/w]	Tropfen-größe $y_i$ [ $\mu\text{m}$ ]	Mittelwert $\bar{y}$	$y_i - \bar{y}$	$x_i - \bar{x}$	Mittelwert $\bar{x}$	$(x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})^2$
4	12,429	9,734	2,695	-2	6,000	-5,390	7,263	4
4	14,677		4,943	-2		-9,886	24,436	4
4	14,748		5,014	-2		-10,028	25,141	4
5	10,520		0,786	-1		-0,786	0,618	1
5	10,757		1,023	-1		-1,023	1,047	1
5	10,864		1,130	-1		-1,130	1,277	1
6	10,149		0,415	0		0	0,172	0
6	11,361		1,627	0		0	2,646	0
6	11,722		1,987	0		0	3,950	0
7	7,727		-2,007	1		-2,007	4,028	1
7	7,752		-1,982	1		-1,982	3,930	1
7	7,732		-2,002	1		-2,002	4,009	1
8	5,212		-4,522	2		-9,045	20,451	4
8	5,180		-4,555	2		-9,109	20,744	4
8	5,182		-4,552	2		-9,103	20,718	4
<b>Summe</b>				<b>-1,776E-14</b>		<b>-61,492</b>	<b>140,427</b>	<b>30</b>
<b>Korrelationskoeffizient</b>	$r_{\text{Na-caseinat}} = \frac{\Sigma (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\Sigma (x_i - \bar{x})^2 \Sigma (y_i - \bar{y})^2}} = \frac{61,49}{\sqrt{140,42 \cdot 30}} = -0,947$							

Anhang 2 Mittelwerte der Proben in  $\mu\text{m}$ : frisch; nach 5 Tagen; nach 11 Tagen

Probe	frisch [ $\mu\text{m}$ ]	nach 5 Tagen [ $\mu\text{m}$ ]	nach 11 Tagen [ $\mu\text{m}$ ]
72%+5%Na-Cas.	11,29	11,60	10,79
73%+5%Na-Cas.	10,71	10,67	10,32
74%+5%Na-Cas.	8,937	10,06	9,98
72%+5%WPI	23,23	24,52	24,94
73%+5%WPI	22,23	24,15	27,16
74%+5%WPI	20,92	22,04	22,92
72%+6%Na-Cas.	10,27	9,42	10,28
73%+6%Na-Cas.	9,76	9,15	9,11
74%+6%Na-Cas.	9,11	9,12	8,769
72%+6%WPI	20,20	21,52	22,51
73%+6%WPI	21,71	21,24	22,20
74%+6%WPI	20,20	19,81	20,44

## Selbstständigkeitserklärung

---

„Ich versichere eidesstattlich, dass ich die vorliegende schriftliche Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Die Stellen der Arbeit, die anderen Werken dem Wortlaut oder dem Sinne nach entnommen sind, wurden in jedem Fall unter Angabe der Quellen (einschließlich des World Wide Web und anderer elektronischer Text- und Datensammlungen) kenntlich gemacht. Dies gilt auch für beigegebene Zeichnungen, bildliche Darstellungen, Skizzen und dergleichen.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht. Die schriftliche und die elektronische Form der Arbeit stimmen überein.

Mir ist bewusst, dass jedes Zuwiderhandeln als Täuschungsversuch zu gelten hat und gemäß der Allgemeinen Prüfungsordnung für Bachelor- und Master-Studiengänge an der Hochschule Fulda mit „nicht ausreichend“ bewertet wird. Die schriftliche und die elektronische Form der Arbeit stimmen überein.

Mainz, 05.08.2019

---

Ort, Datum



---

Unterschrift