

Teilprojekt 4.1.2: Ernährungsphysiologische Evaluierung von Polyenfettsäuren und Resveratrol in Rapsöl (Arbeitsgruppe Schwarz)

Förderkennzeichen: 12252L

Zuwendungsempfänger: Christian-Albrechts-Universität Kiel
Ohlshausenstr. 40
24098 Kiel

Ausführende Stelle: Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde,
Lebensmitteltechnologie,
Heinrich-Hecht Platz 10, 24118 Kiel

Projektleiter: Prof. Dr. K. Schwarz

Laufzeit des Verbundprojektes: 01.11.2001 bis 31.10.2005

Schlussbericht

I Kurze Darstellung

1 Aufgabenstellung

1.1 Überprüfung der Ölstabilität von niedriger (5%) und höher (12%) angereicherten Ölen mit langkettig, hochungesättigten Fettsäuren (LCPUFA) unter verschiedenen Lagerungsbedingungen.

Der zunehmende Gehalt an LCPUFA geht mit einer erhöhten Oxidationsempfindlichkeit der angereicherten Öle einher. Es sollte daher überprüft werden, ob die alleinige Erhöhung der Tocopherolkonzentration ausreichend ist, die Öle zu stabilisieren (Lagerung bei 40°C unter Lichtausschluss) bzw. mit welchen Ölstabilitäten bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen dieser dotierten Öle zu rechnen ist (Lagerung bei Raum- und Kühlschranktemperatur, Lichteinwirkung und -ausschluss)

1.2 Qualitätsmonitoring der Öle und Ölprodukte während der Tier- und Humanstudien

Entscheidende Voraussetzung für die Aussagekraft der durchgeführten Tier- und Humanstudien ist eine einwandfreie und durchgängig gleichbleibende Qualität der Modellöle bzw. der daraus hergestellten Produkte. Daher wurde ein Monitoring der eingesetzten Ölprodukte parallel zu den Studien unter äquivalenten Lagerungsbedingungen (Temperaturen, Licht, Zeit) durchgeführt.

1.3 Bedeutung rapseigener Phenole zur Stabilisierung von angereicherten Ölen und Ölprodukten gegenüber einer erhöhten Lipidoxidation

Im Raps nativ vorkommende Antioxidantien sollten genutzt werden, um die angereicherten LCPUFA im Öl und in den Ölprodukten zu schützen mit gleichzeitigem Verzicht auf eine potentielle Anreicherung mit anderen Antioxidantien, um zu einer Nachhaltigkeit des Projektes sinnvoll beizutragen. Dazu wurden sowohl einzelne Extrakte aus dem Rapspresskuchen und dem Öl hergestellt als auch einzelne Fraktionen aus den Extrakten gewonnen. Diese Fraktionen wurden auf ihr antioxidatives Potential untersucht und aktive Fraktionen in Ölen und Ölprodukten auf ihre Effizienz hin getestet.

1.4 Stabilisierung gegenüber einer erhöhten Lipidoxidation in angereicherten Modellmargarinen durch gezielt eingesetzte, margarinetypische Lebensmittelinhaltsstoffe

Die Stabilisierung von LCPUFA in Ölprodukten wurde am Beispiel von Modellmargarinen durch den Einsatz margarinetypischer Lebensmittelinhaltsstoffe vorgenommen. Dazu wurde zum einen der Einfluss verschiedener Emulgatoren, Hydrokolloide, Synergisten und Salzkonzentrationen auf die Aktivität von (rapseigenen) Antioxidantien überprüft und zum anderen deren Auswirkung auf die Freisetzung sekundärer Oxidationsprodukte (Bildung des Off-Flavours) untersucht.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Es lagen umfangreiche Erfahrungen in der Beurteilung der Oxidation von lipidhaltigen Lebensmitteln und der Stabilisierung von komplexen lipidhaltigen Systemen vor. Im Rahmen des EU-Projekts (FAIR CT-95-0158) wurden die etablierten Methoden mit denen anderer europäischer Forschungseinrichtungen verglichen und umfangreiche Kenntnisse über den Einsatz von Antioxidantien aus pflanzlichen Rohstoffen zur Stabilisierung lipidhaltiger Systeme erworben. Folglich waren für die geplanten Vorhaben sowohl die personellen als auch die apparativen Voraussetzungen gegeben.

3 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Qualität der hoch ungesättigten Öle und Ölprodukte ist die entscheidende Voraussetzung für eine gesundheitliche Unbedenklichkeit und eine geschmackliche Akzeptanz von neuartigen Produkten. Die Anreicherung von Rapsöl mit langkettigen, hoch ungesättigten Fettsäuren (LCPUFA) führt zu einer deutlichen Abnahme der Ölstabilität und eine starke Off-Flavourbildung kann hervorgerufen werden, die mit marinen Ölen vergleichbar ist (Frankel et al., 2002). Bei der oxidativen Schädigung von hoch ungesättigten Fettsäuren werden primäre und sekundäre Lipidoxidationsprodukte gebildet. Zur Bestimmung primärer Oxidationsprodukte sind zahlreiche photometrische Methoden am Lehrstuhl etabliert (Stöckmann et al. 2000). Einerseits kann der Anstieg an konjugierten Dienen erfasst werden, die durch die Messung der Extinktion bei einer Wellenlänge von 234 nm quantifizierbar ist. Andererseits können gebildete Lipidhydroperoxide mit Hilfe der

Oxidation von Eisen(II)-Ionen zu Eisen(III)-Ionen nachgewiesen werden, die mit Thiocyanat einen rötlich gefärbten Komplex bilden und so photometrisch bei 485 nm vermessen werden können. Als Marker für sekundäre Oxidationsprodukte von ω -3-Fettsäuren ist das Aldehyd Propanal geeignet (Frankel et al., 1994), was in Anlehnung an der am Lehrstuhl etablierten Methode (Headspace-Gaschromatographie) zur Bestimmung von Hexanal für ω -6-Fettsäuren (Schwarz et al., 2000) modifiziert werden konnte.

Aus Studien von Lampi et al. (1999) sowie Kulas und Ackmann (2001) war bekannt, dass die Stabilisierung von Ölen mit Tocopherolen nur in begrenztem Maße möglich ist. Die gilt insbesondere für alpha-Tocopherol, für das in Fischölen eine maximale Aktivität von 100 ppm festgestellt wurde und eine weitere Erhöhung der Konzentration zu einer Abnahme der Wirksamkeit führt. (Für gamma-Tocopherol liegt das Konzentrationoptimum bei 500 ppm). Aus diesem Grund war es von Interesse phenolische Antioxidantien, die ebenfalls im Raps vorkommen auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Rapspresskuchen zeichnet sich durch einen Gehalt von ca. 1,5% phenolischen Komponenten als eine interessante Quelle aus Kozłowska and Zadernowski, (1988); Bouchaereu et al. (1991).

Extrahierte und isolierte Antioxidansfraktionen aus Rapspresskuchen und Rapsöl konnten hinsichtlich ihres antioxidativen Potentials gegenüber dem stabilen Radikal (α,α -Diphenyl- β -Picrylhydrazyl; DPPH) gescreent werden, da die Aktivitäten von Antioxidantien gegenüber DPPH überwiegend vergleichbar sind mit der Inhibierung der primären Lipidoxidationsprodukten in homogenen Systemen wie Ölen (Schwarz et al. 2001).

Der Einsatz von Antioxidantien in heterogenen Systemen wie Emulsionen ist jedoch problematisch, da die Aktivität der Antioxidantien wesentlich von der Art und den Eigenschaften der eingesetzten Lebensmittelinhaltsstoffe beeinflusst wird (Schwarz et al., 2000). Zum einen ist die Verteilung der Antioxidantien in den verschiedenen Phasen einer Emulsion maßgebend für deren Wirksamkeit, wobei das Verteilungsverhalten sowohl von der Molekülstruktur des Antioxidans als auch von Matrixbestandteilen der Emulsion wie z.B. des Emulgators beeinflusst wird (Stöckmann und Schwarz, 1999). Zum anderen konnte zwar die Phasengrenze als überwiegender Ort der Lipidoxidation charakterisiert werden (Barclay et al., 1995; Barclay and Vinqvist, 1994; Pryor et al., 1993), wobei allerdings eine höhere Anreicherung der Antioxidantien an der Phasengrenze in micellaren Systemen oder Emulsionen nicht zur erwarteten Aktivitätssteigerung führte (Stöckmann et al., 2000). Als Ursache für den erheblichen Verlust der Wirksamkeit von Antioxidantien wird das Eingehen von Wechselwirkungen zwischen Antioxidantien und Matrixbestandteilen an der Phasengrenze angenommen. Verantwortlich werden dafür spezifische Interaktionen, wie z.B. hydrophobe Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrückenbindungen gemacht (Pryor et al., 1988), bei denen insbesondere die Wasserstoffatome der phenolischen Hydroxylgruppen involviert sind, so dass deren Abspaltung und eigentliche radikalreduzierende, antioxidative Funktion wesentlich beeinträchtigt ist (Iwatsuki et al., 1994; Stöckmann et al., 2000; Polewski et al., 2002).

Besonderer Fokus wurde daher auf die gezielte Auswahl von Matrixbestandteilen gelegt, so dass die Aktivität der Antioxidantien möglichst vollständig erhalten bleibt. Von besonderem Interesse

war es, den Einfluss von margarinetypischen Lebensmitteladditiven wie Emulgatoren, Hydrokolloide in Low-fat-Produkten, Synergisten und Salz auf die antioxidative Aktivität der Antioxidantien zu überprüfen.

4 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Saatgut „Libelle“ wurde von der DSV bereitgestellt, woraus das Rapsöl mit niedrigen α -Linolengehalten von der PPM Magdeburg abgepresst wurde. Das Rapsöl wurde von der Union in Vlaardingen mit den von der BASF AG gelieferten Fettsäuren und Tocopherol angereichert und teilweise zu Margarinen verarbeitet. Die dotierten Öle und Ölprodukte wurden an die Uni Kiel/DFA (Arbeitsgruppe Erbersdobler/ Somoza) für die Tierstudien bzw. an die FH Münster für die Humanstudien geliefert. Repräsentative Proben dieser Produkte wurden an die Uni Kiel (Arbeitsgruppe Schwarz) für die Lagerungsstudien bzw. das Qualitätsmonitoring der Tier- und Humanstudien verschickt. Die Analytik der Fettsäurezusammensetzung, des Resveratrolgehalts und des Tocopherolgehalts in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Erbersdobler/Somoza entwickelt und etabliert. Für die FH Münster wurde die Oxidationsstabilität der Öl- und Margarineproben zusätzlich bei erhöhten Temperaturen untersucht, um die Qualität der erhitzten Speisen während der 1. Humanstudie zu überprüfen.

II. Eingehende Darstellung

1 Eingehende Darstellung der erzielten Ergebnisse

1.1. Untersuchung mit LCPUFA angereicherten Ölen unter verschiedenen Lagerungsbedingungen

1.1.1 Methodenvergleich zur Hydroperoxidbestimmung

In Ergänzung der Methodenetablierung zur Bestimmung von primären und sekundären Oxidationsprodukten wurde die Hydroperoxidbildung in Ölen mit unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzungen verglichen. Die Bestimmung der Hydroperoxide über die konjugierten Diene (CD) und die Bildung des Thiocyanatkomplexes wurden im letzten Zwischenbericht ausführlich beschrieben. Diesen Methoden wurde die Referenzmethode nach Wheeler (POZ) gegenübergestellt. Zur Durchführung wurden die Öle von Antioxidantien befreit und bei 40°C über mehrere Wochen oxidiert. In Tabelle 1 sind die Korrelationsfaktoren der einzelnen Methoden aufgeführt. Der Vergleich zwischen der Peroxidzahl nach Wheeler und der Hydroperoxidbestimmung über den Thiocyanatkomplex, welche beide auf der Reduktion der Hydroperoxidgruppe basieren, unterschieden sich im Mittel um einen Faktor von 3,3. Da diese Faktoren zwischen den Ölen mit unterschiedlichen Fettsäuren nur geringfügige Schwankungen aufwiesen, kann davon ausgegangen werden, dass diese Methoden unabhängig von der Fettsäurezusammensetzung miteinander korrelieren. Die Ergebnisse der Thiocyanatmethode sind daher ebenso verlässlich, jedoch um den Faktor 3,3 empfindlicher. Die Vorteile bei dieser Methode liegen weiterhin in der schnelleren und preisgünstigern Durchführung. Die größeren Schwankungen bei den Korrelationen von konju-

gierten Dienen mit der Hydroperoxidbestimmung über den Thiocyanatkomplex und der POZ lassen sich wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Messprinzipien zurückführen. Bei der Bestimmung von konjugierten Dienen werden auch andere Bestandteile die ihr Absorptionsmaximum bei 234 nm haben detektiert.

Tab. 1: Korrelationsfaktoren verschiedener Methoden zur Hydroperoxidbestimmung von Ölen mit unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzungen.

Öl	Thiocyanat ^a -POZ ^b		Thiocyanat ^a -CD ^c		POZ ^b -CD ^c	
	Faktor ^d	<i>r</i>	Faktor ^d	<i>r</i>	Faktor ^d	<i>r</i>
Fischöl	3.2	0.98	8.0	0.96	2.4	0.96
Leinöl	3.2	0.99	6.1	0.99	1.9	1.00
EPA/DHA ^e	3.1	0.99	6.7	0.99	2.2	0.99
Maiskeimöl	3.5	0.99	4.4	0.99	1.2	0.99
Rapsöl	3.3	0.97	7.2	0.96	2.1	0.99
Olivenöl	3.4	0.90	6.7	0.96	1.5	0.99

^a Hydroperoxidkonzentration photometrisch bestimmt über den Thiocyanatkomplex bei 485 nm

^b Hydroperoxidkonzentration jodometrisch bestimmt nach Wheeler

^c Anstieg konjugierter Diene photometrisch bestimmt bei 234nm

^d Steigung der Korrelationsfunktion nach Pearson, *r* = Korrelationskoeffizient

^e Mit 5% EPA/DHA (1:1) dotiertes Rapsöl

1.1.2 Stabilität von Rapsölen angereichert mit ca. 5% LCPUFA

Zur Untersuchung der Lagerstabilität wurden adäquate Proben der angereicherten Modellöle mit α -Linolensäure (ALA), mit Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und einem Gemisch aus gleichen Teilen an EPA und DHA (EPA/DHA) bei fünf unterschiedlichen Temperaturen gelagert. Dabei entsprach die Lagerung bei -40°C und -20°C der Lagerung der Öle und des Tierfutters vor und während des Fütterungszeitraumes. Als weitere Lagerungstemperaturen wurden $+4^{\circ}\text{C}$ als Kühlschrantemperatur, $+20^{\circ}\text{C}$ als Zimmertemperatur und $+40^{\circ}\text{C}$ zur Überprüfung der Oxidationsempfindlichkeit der Öle gewählt. Untersucht wurden die Fettsäurezusammensetzung und der Oxidationsstatus anhand der primären und sekundären Lipidoxidationsprodukte. Dabei wurden die primären Oxidationsprodukte über den Anstieg der konjugierten Diene sowie über die Hydroperoxide (Thiocyanatkomplex mit Eisen(III)-Ionen) erfasst.

Der Oxidationsverlauf der bei $+40^{\circ}\text{C}$ gelagerten Modellöle gibt einen Überblick über die Empfindlichkeit der mit ω -3-Fettsäuren dotierten Öle (EPA, DHA, EPA/DHA) im Vergleich zu handelsüblichem Rapsöl (ALA). Das mit α -Linolensäure angereicherte Öl weist einen Gesamtgehalt an C18:3 von ca. 9% auf, was einem handelsüblichen Rapsöl entspricht. Anhand der Oxidationsverläufe werden die unterschiedlichen Oxidationsgeschwindigkeiten deutlich (Abb.1). Während ALA eine sehr viel längere Induktionsperiode sowie einen flacheren Anstieg aufweist, oxidieren die mit ω -3-Fettsäuren dotierten Öle mit einer wesentlich verkürzten Induktionsperiode und schnellerer Geschwindigkeit aufgrund ihrer höheren Anzahl an Allylgruppen. Ein Unterschied zwischen EPA und DHA bzw. ihrem Gemisch konnte jedoch nicht gezeigt werden. Die entsprechenden Proben, analysiert auf den Gehalt an konjugierten Dienen, zeigten den gleichen Oxidationsverlauf (ohne Abb.). Daraus wird ersichtlich, dass die Stabilität eines Rapsöls durch die An-

reicherung mit DHA und EPA deutlich abnimmt, auch wenn der Gehalt an Tocopherolen erhöht wurde (Tocopherolgehalte der Öle ALA = 443 ppm, EPA = 597 ppm, DHA = 652 ppm, EPA/DHA = 624 ppm).

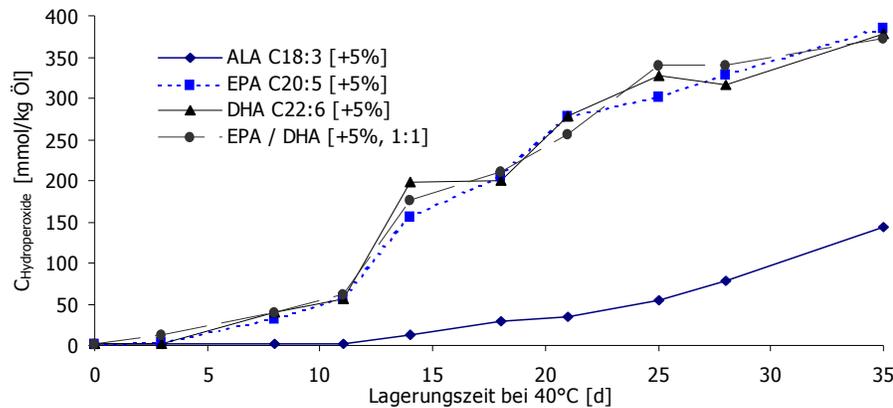


Abb. 1: Oxidationsverlauf von mit α -Linolensäure (ALA), Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und EPA/DHA angereicherten Rapsölen bei 40°C in reinem Öl (Bulköl) anhand der Hydroperoxidkonzentration gemessen als Thiocyanatkomplex

Die flüchtigen (sekundären) Abbauprodukte der Lipidoxidation sind im Wesentlichen für das off-Flavour verantwortlich und wurden anhand der von Propanal, das als Leitsubstanz für sekundäre Lipidoxidationsprodukte der ω -3-Fettsäuren gilt, bestimmt. Wie in Abbildung 2 dargestellt, steigt der Propanalgehalt für EPA-, DHA- und EPA/DHA angereicherte Rapsöle bereits nach der Induktionsperiode von ca. 5 Tagen leicht und nach dem 28. Tag steil an. Für ALA angereichertes Rapsöl kann selbst nach 35 Tagen noch keine Propanalbildung nachgewiesen werden. Daraus lässt sich folgern, dass auch im Hinblick auf das Off-Flavour die dotierten Öle wesentlich geringere Stabilitäten als handelsübliche Rapsöle aufweisen und einer zusätzlichen Stabilisierung bedürfen.

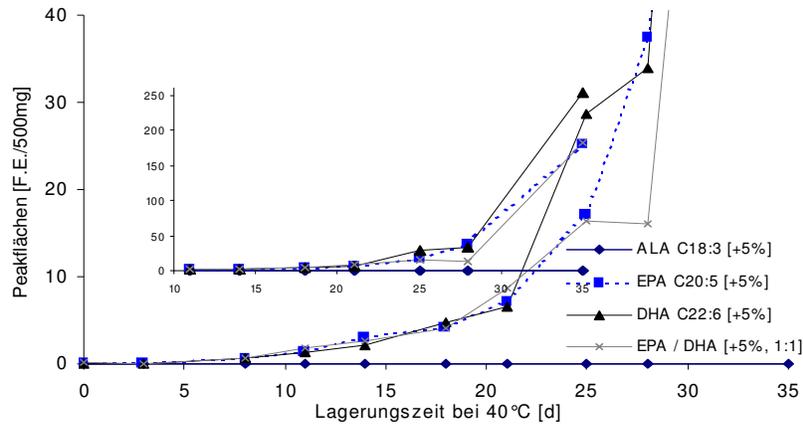


Abb. 2: Oxidationsverlauf von mit α -Linolensäure (ALA), Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und EPA/DHA angereicherten Rapsölen bei 40°C in reinem Öl (Bulköl) anhand der Propanalkonzentration

1.1.3 Stabilität von Rapsölen angereichert mit ca. 12% LCPUFA

Die eingesetzten Öle in der zweiten Tierstudie wurden im Gegensatz zur ersten Tierstudie mit doppelt so hohen Gehalten (12 %) an α -Linolensäure (ALA), Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und einem Gemisch aus gleichen Teilen an EPA und DHA (EPA/DHA) dotiert. Die Öle wurden entsprechend den Lagerungsbedingungen für die niedrig dotierte Öle (6 %) gelagert und untersucht.

Stabilität von EPA/DHA gegenüber ALA

Wie bei der Dotierung mit 6 % unterschieden sich die Oxidationsverläufe von EPA- und DHA-angereicherten Öle nicht von den Oxidationsverläufen der Rapsöle, die mit einem EPA/DHA-Gemisch angereichert worden sind. Deshalb wurde im Folgenden nur EPA/DHA im Vergleich zu ALA dargestellt. EPA/DHA und ALA angereicherte Öle zeigten jeweils typische Oxidationsverläufe mit einem Maximum an gebildeten Hydroperoxiden mit anschließendem Abbau nach bereits 3,5 Wochen (Abb. 3). Die Stabilität von EPA/DHA angereicherten Ölen war im Gegensatz zu ALA angereicherten Ölen wesentlich verringert, obgleich der Tocopherolgehalt gleichermaßen entsprechend der erhöhten Anzahl an Allylgruppen gesteigert wurde (Abb. 5 + Abb. 6). Die maximale Hydroperoxidkonzentration von EPA/DHA angereichertem Öl war ca. um das Doppelte höher als die des ALA angereicherten Öles. Im Vergleich zur Stabilität der Öle mit einer 5% Dotierung, erreichten diese höher dotierten Öle (12% Dotierung) eine doppelte Oxidationsgeschwindigkeit. EPA/DHA (5%) angereichertes Öl erreichte beispielsweise nach 5 Wochen eine Hydroperoxidkonzentration von ca. 400 mmol/kg Öl, während dieser Gehalt bei dem 12% dotierten Öl nach ca. 2,5 Wochen erreicht war. Das gleiche Verhältnis galt auch für die ALA-angereicherte Öle, wobei hier eine Hydroperoxidkonzentration von ca. 150 mmol/kg Öl erreicht wurde.

In Abbildung 4 sind die Gehalte an sekundären (flüchtigen) Oxidationsprodukten für die Leitsubstanz Propanal dargestellt. Bei EPA/DHA angereichertem Öl zeigte Propanal erwartungsgemäß

genau nach 3,5 Wochen, am Maximum der Hydroperoxidkonzentration, seinen steilsten Anstieg. Hexanal, die Leitsubstanz für sekundäre Oxidationsprodukte der ω -6-Fettsäuren, stieg erst nach ca. 31 Tagen an, als auch der verstärkte Abbau der Hydroperoxide einsetzte.

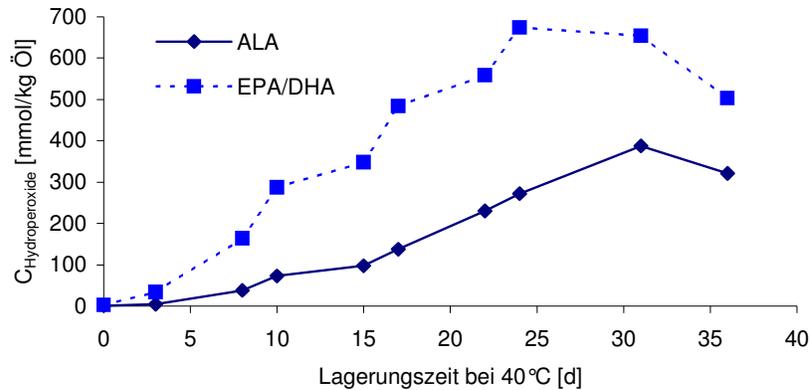


Abb. 3: Oxidationsverlauf von ALA (12%) und EPA/DHA (12%, 1:1) bei 40°C in reinem Öl (Bulköl) anhand der Hydroperoxidkonzentration gemessen über den Thiocyanatkomplex

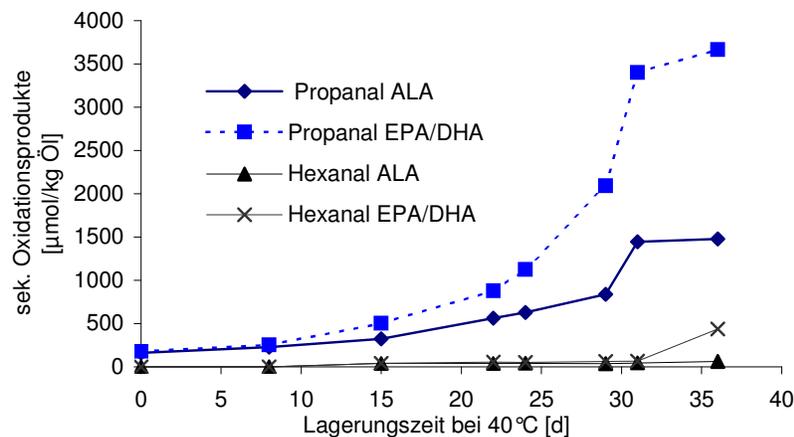


Abb. 4: Oxidationsverlauf von ALA (12%) und EPA/DHA (12%, 1:1) bei 40°C in reinem Öl (Bulköl) anhand der Konzentration der sekundären Oxidationsprodukte Propanal und Hexanal

Die Tocopherolisomere wurden mittels NP-HPLC über eine Diolphase getrennt und mit Hilfe des Fluoreszenzdetektors detektiert. Der Gesamttocopherolgehalt betrug ca. 1400 mg/kg Öl für ALA- (Abb. 5) sowie 2100 mg/kg Öl für EPA/DHA angereicherte Öle (Abb. 6) und setzte sich hauptsächlich aus den vier Tocopherolisomeren zusammen, während die Tocotrienolisomere nur in Spuren vorkamen. Aus den Abbildungen ist ersichtlich, dass auch der Tocopherolabbau in EPA/DHA angereicherten Ölen im Gegensatz zu ALA angereicherten Ölen wesentlich beschleunigt war. Der Gesamttocopherolgehalt in ALA angereichertem Öl war nach 28 Tagen auf die Hälfte reduziert und in EPA/DHA gereichertem Öl bereits nach 16 Tagen. Die einzelnen Isomere wurden unterschiedlich stark abgebaut. Während im ALA angereichertem Öl β - und δ -Tocopherol annähernd konstant blieben, war α -Tocopherol nach 29 Tagen komplett abgebaut und γ -Tocopherol um die Hälfte reduziert. Bei EPA/DHA angereichertem Öl dagegen war α -

Tocopherol bereits nach 20 Tagen nicht mehr nachweisbar und γ -Tocopherol ebenfalls um die Hälfte reduziert. Hier erfuhren allerdings auch die Isomere β - und δ -Tocopherol einen Abbau.

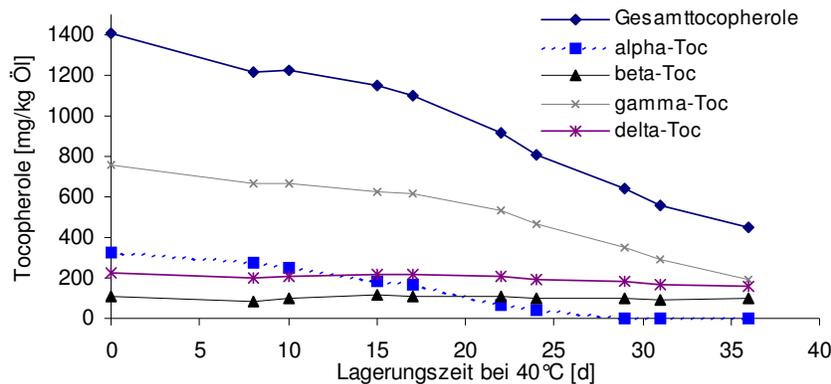


Abb. 5: Abbau der Gesamttocopherole und der Tocopherolisomere in ALA (12%) während der Lagerung bei 40 °C

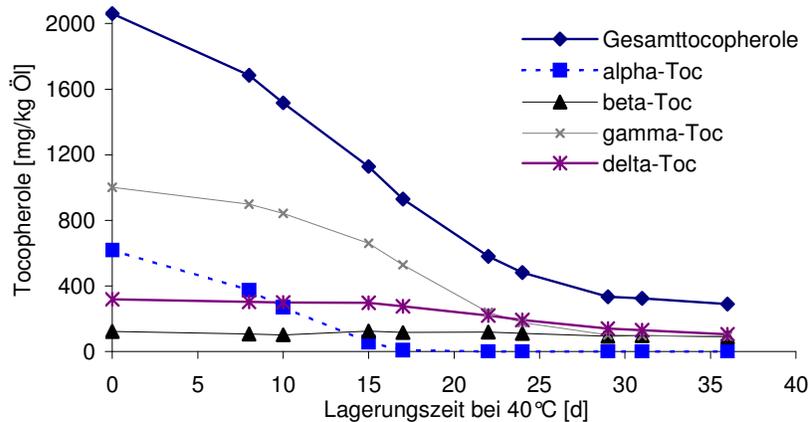


Abb. 6: Abbau der Gesamttocopherole und der Tocopherolisomere in EPA/DHA (12%, 1:1) während der Lagerung bei 40 °C

Oxidationsverhalten bei Kühlschrank- und Raumtemperatur

Nach den Leitsätzen für Speisefette und Speiseöle gilt eine Hydroperoxidkonzentration (jodometrisch analysiert) von > 5 mmol/kg Öl in raffiniertem Speiseöl als beginnender oxidativer Fettverderb. Die jodometrische Hydroperoxidkonzentration ist in etwa um den Faktor 3,3 geringer als die Hydroperoxidkonzentration gemessen über den Thiocyanatkomplex (siehe Tab. 1). Daher ergibt sich als Grenzwert für den oxidativen Fettverderb für die Hydroperoxidzahl gemessen über den Thiocyanatkomplex ein Wert von 16,5 mmol/kg Öl.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Lagerungsdauer der Öle mit einer Dotierung von 5% bzw. 12% an LCPUFA bei verschiedenen Lagerungstemperaturen, bis der Beginn eines oxidativen Fettverderbs einsetzt.

Tab. 2: Lagerungszeit von niedrig (5%) und hoch (12%) dotierten Rapsölen mit LCPUFA bis zum beginnenden oxidativen Fettverderb bei verschiedenen Lagerungstemperaturen

	Tage bis zum Beginn des oxidativen Fettverderbs		
	4°C	20°C	40°C
ALA 12% ^a	n.e. ^c	26	5
EPA/DHA 12% ^a	48	10	1
ALA 5% ^b	n.e. ^d	34	15
EPA 5% ^b	n.e. ^d	21	4
DHA 5% ^b	n.e. ^d	19	4
EPA/DHA 5%, 1:1 ^b	n.e. ^d	12	3

^a Öle aus der 2. Tierstudie ^b Öle aus der 1. Tierstudie ^c nicht erreicht nach 71 Tagen

^d nicht erreicht nach 58 Tagen

^e Diese Grenzwerte gelten für die Hydroperoxidzahl gemessen mit der jodometrischen Methode. Die POZ (jodometrisch) ist in etwa um den Faktor 3,3 geringer als die POZ (Thiocyanat) (siehe Tab.1). Daher ergibt sich als Grenzwert für die Hydroperoxidzahl gemessen als Thiocyanat ein Wert von 16,5 mmol/kg Öl.

Das Verhältnis der Oxidationsgeschwindigkeiten zwischen ALA- und EPA/DHA angereichertem Ölen war sowohl für die 5% -Dotierung als auch für die 12%-Dotierung annähernd gleich. So ergibt sich bei 40°C ein Faktor von 5 und für 20°C ein Faktor zwischen 2,6-2,7. Auch bei 20°C konnte gezeigt werden, dass die höhere Dotierung mit ω -3-Fettsäuren trotz höheren Gehalten an Tocopherolen zu einer geringeren Stabilität der Öle führte. Während der Lagerung bei 4°C nahm der Gesamttocopherolgehalt um 3% ab. Bei 20°C wurde der Gesamttocopherolgehalt um 30% reduziert, wobei hierfür vor allem die Abnahme von α -Tocopherol um 50% verantwortlich war (ohne Abb.).

1.1.4 Stabilität von Ölen unter Lichteinfluss

Während die Temperatur im Bereich von < -18 °C bis 60 °C nur Einfluss auf die Oxidationsgeschwindigkeit von Ölen nimmt, bewirkt der Faktor Licht eine Veränderung des Oxidationsmechanismus. Die Anwesenheit von Luftsauerstoff ist erforderlich, um die Oxidation von Fettsäuren zu bewirken, ein erfolgreicher Ausschluss von Sauerstoff kann die Reaktion praktisch stoppen (Frankel, 1998). Werden Öle unter Lichteinfluss gelagert (z.B. PET-Gebinde), so verläuft die Oxidation von Ölen über die Photooxidation. D.h. Sauerstoff kann sich direkt an ungesättigte Fettsäuren anlagern, ohne dass zuvor ein Fettsäureradikal gebildet werden muss. Dadurch kann einerseits die Oxidationsgeschwindigkeit enorm ansteigen und andererseits könnten Schutzfaktoren wie z.B. Antioxidantien, die bei Ausschluss von Licht sehr effektiv sind, u. U. nahezu wirkungslos werden. Ziel der Untersuchungen ist es, die Stabilität von Modellölen unter Lichteinfluss zu untersuchen. Des Weiteren wurde die Wirksamkeit von antioxidativ wirksamen Additiven bei Lagerung im Dunkeln (bisherige Untersuchungen) gegenüber einer Lagerung unter Lichteinfluss getestet. Dazu wurden die Antioxidantien α -Tocopherol (α -Tocopherol), Sinapinsäure, Kaffeesäure und Ferulasäure in einer Konzentration von 500 μ mol/l eingesetzt sowie ein Gemisch aus α - und γ -Tocopherol (α/γ -Tocopherol; 1:2,5), das dem natürlichen Verhältnis Tocopherolisomeren in Rapsöl entspricht. Die Lagerung unter Lichteinfluss erfolgte in einem Licht-

schrank in einem Tagesrhythmus von 11 Stunden Belichtung und 13 Stunden Dunkelheit bei einer Temperatur von 25°C (Abb. 8). Ein äquivalentes Oxidationsexperiment wurde gleichzeitig unter Lichtausschluss durchgeführt (Abb. 7). Der Vergleich der Oxidationsverläufe für die Bildung von Hydroperoxiden zeigt, dass durch die Lichteinwirkung die Lipidoxidation erwartungsgemäß wesentlich voranschritt. Während unter Lichteinwirkung das Modellöl ohne Zusatz von Antioxidantien (Kontrolle) bereits nach ca. 9 Tagen eine Hydroperoxidkonzentration von 100 mmol/kg Öl aufweist, war im Dunklen erst nach ca. 72 Tagen eine ähnliche Konzentration an primären Oxidationsprodukten messbar. Die eingesetzten Antioxidantien zeigten allerdings unter Lichteinwirkung und –ausschluss die gleiche Reihenfolge in ihrer Effizienz die Lipidoxidation zu reduzieren: Kaffeesäure > Sinapinsäure > α/γ -Tocopherol > α -Tocopherol > Ferulasäure. In reinem Öl sind daher die im Raps natürlich vorkommende Mischung aus α/γ -Tocopherol als auch die Sinapinsäure, welche durch die Spaltung des isolierten Sinapins aus dem Rapskuchen gewonnen werden kann, als sinnvolle Antioxidantien einzusetzen, um die Lipidoxidation effizient unter Lichtausschluss aber auch unter Einwirkung von Licht zu reduzieren.

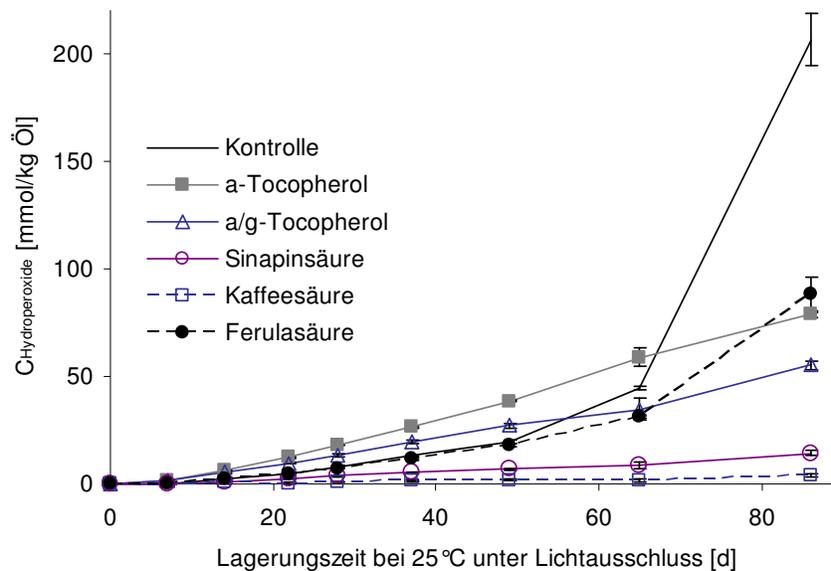


Abb. 7: Oxidationsverlauf von Rapsmodellöl (Kontrolle) in Anwesenheit verschiedener Antioxidantien bei einer Lagerung von 25°C unter Lichtausschluss

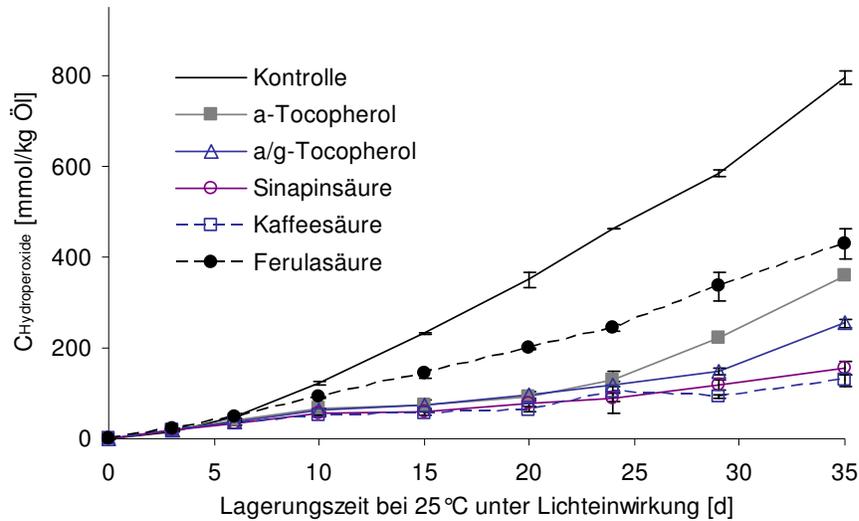


Abb. 8: Oxidationsverlauf von Rapsmodellöl (Kontrolle) in Anwesenheit verschiedener Antioxidantien bei einer Lagerung von 25°C unter Lichteinwirkung. Die Lichteinwirkung erfolgte im Lichtschrank in einem Tagesrhythmus von 11 Stunden Belichtung und 13 Stunden Dunkelheit.

Die Aktivität der Antioxidantien die sekundären Oxidationsprodukte zu reduzieren, ist in Abbildung 9 als ihre Inhibierung für Propanal (Leitsubstanz für ω -3 Fettsäuren) und für Hexanal (Leitsubstanz für ω -6 Fettsäuren) unter Lichtausschluss und Lichteinwirkung gegenübergestellt. Um die Inhibierung vergleichen zu können, wurden die Messtage verglichen, an denen die Hydroperoxidkonzentration (gemessen mittels Thiocyanatkomplex) sowohl für die Oxidation unter Lichteinwirkung als auch unter Lichtausschluss von 200 mmol/kg Öl erreicht war. Diese Konzentration entspricht einer Peroxidzahl von ca. 60 mmol/kg Öl (nach Wheeler) (s. 1.1.1). Mit der Ausnahme von Ferulasäure zeigten alle Tocopherolisomere und Hydroxyzimtsäure die gleiche Aktivität Propanal bzw. Hexanal zu inhibieren. Zwischen einer Lagerung unter Lichteinwirkung und einer Lagerung im Dunkeln gab es keine signifikanten Unterschiede. Ferulasäure hingegen zeigte ein wesentlich geringeres Vermögen die sekundären Oxidationsprodukte zu reduzieren, was bei einer Lichteinwirkung noch stärker vermindert war. Generell zeigten jedoch alle Antioxidantien eine mehr als doppelt so hohe Aktivität die Bildung von Hexanal zu reduzieren als die Bildung von Propanal. Das deutet darauf hin, dass die Stabilisierung von ω -3 Fettsäuren in Hinblick auf die sekundären Oxidationsprodukte weitaus problematischer ist, als eine Stabilisierung von ω -6 Fettsäuren. Erfolgt eine Stabilisierung des reinen Öls statt mit Tocopherolen mit Sinapinsäure, so zeigt sich dieser Vorteil nur für die Reduzierung der primären, nicht aber der sekundären Oxidationsprodukte.

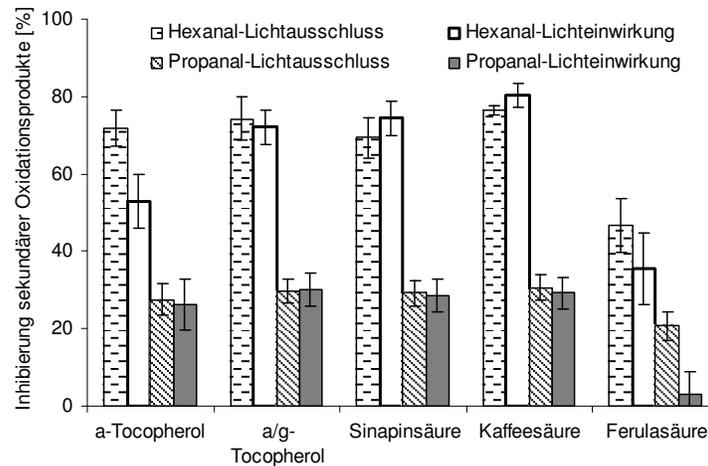


Abb. 9: Inhibierung von sekundären Oxidationsprodukten (Hexanal = Leitsubstanz für ω -6 Fettsäuren; Propanal = Leitsubstanz für ω -3 Fettsäuren) in einem Rapsmodellöl in Anwesenheit verschiedener Antioxidantien bei einer Lagerung von 25°C unter Lichteinwirkung und Lichtausschluss. Die Inhibierung wurde bei einer Hydroperoxidkonzentration von 200 mmol/kg Öl (gemessen als Thiocyanat) berechnet. Daher erfolgte die Berechnung für das Oxidationsexperiment unter Lichteinwirkung nach 15 Tagen, für das unter Lichtausschluss erst nach 86 Tagen.

1.2. Monitoring der Ölqualität während der Tier- und Humanstudien

1.2.1 Tierstudien

Begleitend zu den Tierstudien wurden von den Diäten die Fettsäurezusammensetzung, der Oxidationsstatus und der Resveratrolgehalt untersucht. Dabei wurden Proben aus den fünf Diäten direkt nach dem Anmischen gezogen und mit den Proben nach der letzten Fütterung (10 Tage) verglichen. Bei dem Einmischen der Öle in die Diäten sowie bei der Lagerung bei -40°C und anschließendem Auftauen zeigten sich keine Verschlechterungen im Hinblick auf den Oxidationsstatus und die Fettsäuregehalte.

Die Ergebnisse für eine Dotierung mit 5% LCPUFA sind beispielhaft für den empfindlichsten Parameter, die Bildung von Hydroperoxiden, in Tabelle 3 dargestellt, da alle anderen Parameter keinerlei Veränderungen nach Einmischen des Öls in das Tierfutter oder am Ende der Fütterungsperiode aufzeigten. Während der Fütterungsphase wurde erwartungsgemäß in allen Diäten ein geringfügiger Anstieg in der Hydroperoxidzahl festgestellt, lediglich bei Zusatz von Resveratrol war der Anstieg etwas stärker ausgeprägt. Allerdings ist trotz dieser geringfügigen Anstiege die Ölqualität als einwandfrei einzustufen, da lt. Leitsätzen ein Fettverderb erst ab Werten von > 16,5 mmol/kg einsetzt (siehe 1.1.3).

Tab. 3: Oxidationsverhalten des Tierfutters (5% LCPUFA) dargestellt für die Bildung von Hydroperoxiden (bestimmt über die Bildung des Thiocyanatkomplexes)

	Öl-Startwert [mmol/kg Öl]	Diät- Start [mmol/kg Öl]	Diät-Ende [mmol/kg Öl]
ALA	2,19	1,28	2,13
EPA	2,23	2,94	3,32
DHA	1,53	2,22	3,19
EPA/DHA	1,58	2,39	4,15
ALA+ Resveratrol	2,19	1,90	6,74

Öle mit einer Dotierung von 12% LCPUFA zeigten ebenfalls eine sehr gute Qualität in den eingearbeiteten Tierdiäten wie in Tabelle 4 für die Hydroperoxidbildung aufgeführt ist.

Tab. 4: Oxidationsverhalten des Tierfutters (12% LCPUFA) dargestellt für die Bildung von Hydroperoxiden (bestimmt über die Bildung des Thiocyanatkomplexes)

	Öl-Startwert [mmol/kg Öl]	Diät- Start [mmol/kg Öl]	Diät-Ende [mmol/kg Öl]
ALA	1,4	<1	1,3
EPA	2,7	2,0	2,3
DHA	2,4	1,6	2,7
EPA/DHA	3,0	3,4	3,4
ALA+ Resveratrol	1,4	<1	<1

Zusätzlich sind in Abbildung 10 die prozentualen Gehalte der empfindlichsten Fettsäuren dargestellt. Nach Anlieferung der Öle wurden die Startwerte bestimmt (T1). Anschließend wurden die Öle portioniert und bei -80°C tief gefroren. Nach dem Auftauen erfolgte ebenfalls eine Untersuchung (T2) sowie nach dem Einarbeiten in das Futter (T3) und am Tag der letzten Fütterung (T4). Eine Futtercharge vom Auftauen des Öls bis zur letzten Verfütterung umfasste jeweils eine Woche, so dass das Futter wöchentlich neu angemischt wurde.

Die relativen Fettsäuregehalte während der Verarbeitung und Lagerung unterliegen kleineren Schwankungen von 1-2 Prozentpunkten, sind jedoch als konstant zu bezeichnen. Die Qualität des Futters ist damit auch bei der doppelten Dotierung mit hoch ungesättigten Fettsäuren während der Verfütterung als gleichmäßig und stabil anzusehen. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass aufgrund des wöchentlichen Anmischens der Diäten und der tiefgekühlten Lagerung eine gleich bleibende Qualität der verfütterten Diät gesichert worden ist.

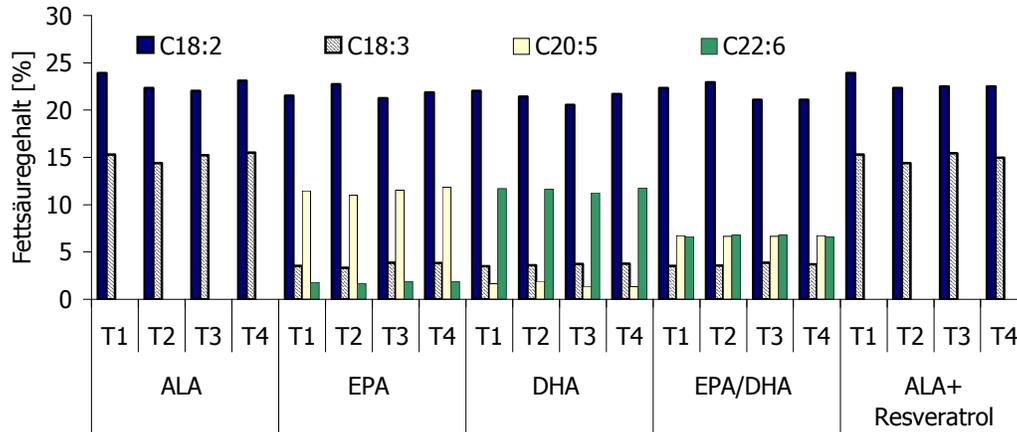


Abb. 10: Gehalte an empfindlichen Fettsäuren während der Verarbeitung und Fütterung von ALA, EPA, DHA, EPA/DHA und ALA+ Resveratrol (T1=nach Anlieferung der Öle, T2=nach Auftauen der Öle, T3= nach Einmischen der Öle ins Futter, T4= am Tag der letzten Verfütterung)

1.2.2. Humanstudien

Begleitend zur 1. Humanstudie wurden repräsentative Proben der angereicherten Margarinen und Öle mit jeweils ca. 4 % α -Linolensäure (ALA), Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) bei 10°C über sechs Wochen gelagert. Die Temperatur entsprach der Lagerung der Öle und Margarinen, die in Münster zur Verpflegung der Probanden eingesetzt wurden. Als Lagerungszeit wurde der doppelte Zeitraum der Studiendurchführung gewählt. Während der Lagerung wurden primäre und sekundäre Oxidationsprodukte, Tocopherole und die Fettsäurezusammensetzung bestimmt.

In Tabelle 5 sind beispielhaft die Hydroperoxidkonzentrationen und Gesamtocopherolgehalte der Margarinen und Öle am Beginn, am Ende des Humanversuchs (3 Wochen) und am Ende der Lagerungszeit (6 Wochen) dargestellt.

Die Untersuchungen ergaben für die *Margarinen* keine oxidativen Veränderungen sowie konstante Tocopherolgehalte während der sechswöchigen Lagerung.

Bei den gelagerten *Ölen* wiesen die ALA angereicherten Öle ebenfalls keine Veränderungen der Oxidationsprodukte oder der Tocopherole über den Zeitraum von 6 Wochen auf. Die mit EPA und DHA dotierten Öle zeigten in der dritten Woche leichte Anstiege im Hydroperoxidgehalt. Nach den Leitsätzen für Speisefette und Speiseöle lag für DHA angereichertes Öl nach 6 Wochen Lagerung bei 10°C ein beginnender oxidativer Fettverderb vor. Geruchlich waren jedoch noch keine Veränderungen wahrnehmbar. Die Tocopherolgehalte blieben in allen Ölen weitgehend konstant. Das Fettsäuremuster der Öle als auch der Margarinen zeigten keinerlei Veränderung während der doppelten Lagerungsdauer (ohne Abb.)

Aus den Ergebnissen ist ableitbar, dass die Qualität der nicht thermisch behandelten Ölprodukte für die Verpflegung der Probanden gesichert war. Der Einsatz erfolgte darüber hinaus chargenweise. D.h. die aufgetauten Ölprodukt-Chargen, die in der Küche verarbeitet wurden, wurden schnellstmöglich verbraucht und daher tatsächlich nur wenige Tage bei 10°C gelagert.

Tab. 5: Hydroperoxidkonzentrationen und Gesamttocopherolgehalte von Margarinen und Ölen während der Lagerung bei 10°C

	Lagerungsdauer bei 10°C					
	Start		3 Wochen ^a		6 Wochen	
	Peroxide ^b [mmol/kg Öl]	Toc ^c [mg/kg Öl]	Peroxide ^b [mmol/kg Öl]	Peroxide ^b [mmol/kg Öl]	Toc ^c [mg/kg Öl]	
Margarine						
ALA	< 1,0	940	< 1,0	< 1,0	933	
EPA	< 1,0	1229	< 1,0	< 1,0	1211	
DHA	< 1,0	1325	< 1,0	< 1,0	1394	
Öl						
ALA	< 1,0	1112	< 1,0	< 1,0	1113	
EPA	< 1,0	1223	2,3	11,0	1246	
DHA	< 1,0	1643	3,8	17,9	1692	

^a zu diesem Zeitpunkt wurden keine Tocopherolanalysen durchgeführt

^b Hydroperoxidkonzentration wurde über die Thiocyanatmethode bestimmt

^c Gesamttocopherole

Ergänzend zum Qualitätsmonitoring der 1. Humanstudie wurden repräsentative Proben der angereicherten Margarinen und Öle entsprechend der Temperatur-Zeit-Bedingungen der Kantinenverpflegung thermisch behandelt (Tab. 6) (z. B.: Herstellen von Soßen und deren Warmhaltung während der Zubereitung und der Ausgabe).

Tab. 6: Modellschema für die Erhitzung der Öle und Margarinen nach den Vorgaben der erhitzten Speisen während der Probandenverpflegung

Öl/Margarine	Probennahme nach [min]			Probennahme nach [min] bei 80°C		
100°C	10	20	45	60	120	180
170°C	10	20		60	120	180
220°C	10	20		60	120	180

Von den erhitzten Ölen und Margarinen wurden primäre und sekundäre Oxidationsprodukte, Tocopherole und die Fettsäurezusammensetzung bestimmt sowie die sensorische Veränderung dokumentiert. Die sensorische Beurteilung erfolgte anhand einer einfachen bewertenden Geruchsprüfung durch 5 Personen. Die Abweichungen des Aromas von erhitzten Ölprodukten (Off-Flavour) im Vergleich zu dem Aroma eines frischen Öls (neutral) oder eines margarinetypischen Aromas einer frischen Margarine (margarine) waren so erheblich, dass die Ergebnisse der sensorischen Beurteilung jeweils einstimmige Gruppenbewertungen hervorbrachten (Tab. 7). Bei einer

Erhitzung von 100°C - 220°C hatten die ALA- angereicherten Öle einen neutralen Geruch wie die nicht thermisch behandelten Öle, wohingegen die EPA- und DHA angereicherte Öle bereits nach einer 10-minütigen Erhitzung bei 100°C ein Off-Flavour ausbildeten. Bei den Margarinen zeigte sich hingegen für die dotierten Öle eine Verzögerung der Off-Flavour Ausbildung. Ursache dafür könnten Zusätze von Synergisten (z.B. Citronensäure und EDTA) in der Margarine sein, die katalytische Metallionen komplexieren und somit die Ausbildung von sekundären Oxidationsprodukten reduzieren.

Tab. 7: Sensorische Beurteilung der Ausbildung des Off-Flavours während der thermischen Behandlung von Ölen und Margarinen angereichert mit ALA, EPA und DHA

		Erhitzung				Warmhaltung	
		10 min	20 min	45 min	60 min	120 min	180 min
110°C	ALA Öl	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral	neutral
	EPA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	DHA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	ALA Marg.	margarine	margarine	margarine	margarine	margarine	margarine
	EPA Marg.	margarine	margarine	margarine	margarine	margarine	margarine
	DHA Marg.	margarine	margarine	margarine	Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
170°C	ALA Öl	neutral	neutral		neutral	neutral	neutral
	EPA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	DHA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	ALA Marg.	margarine	margarine		margarine	margarine	margarine
	EPA Marg.	margarine	margarine		margarine	margarine	margarine
	DHA Marg.	margarine	margarine		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
220°C	ALA Öl	neutral	neutral		neutral	neutral	neutral
	EPA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	DHA Öl	Off-Flavour	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	ALA Marg.	margarine	margarine		margarine	margarine	margarine
	EPA Marg.	margarine	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour
	DHA Marg.	Off-Flavour	Off-Flavour		Off-Flavour	Off-Flavour	Off-Flavour

neutral: Entspricht Aroma eines frischen Öls

margarine: Entspricht margarinetypischem Aroma einer frischen Margarine

Off-Flavour: Entspricht einer Abweichung des Aromas eines frischen Öls oder einer frischen Margarine

Bei der Untersuchung der primären Oxidationsprodukte wiesen Proben trotz starkem Off-Flavour keinen bis einen geringfügigen oxidativen Fettverderb auf (Tab. 8). Die thermische Behandlung von Margarinen zeigte eine geringere Ausbildung von Hydroperoxiden (Tab. 9), was auf den Zusatz von Synergisten zurückgeführt werden könnte.

Tab. 8: Hydroperoxidbildung während der thermischen Behandlung von angereicherten Ölen mit ALA, DHA und EPA

		Hydroperoxidkonzentration [mmol/kg Öl]					
		nach Erhitzen für			nach Warmhalten bei 80 °C für		
		10 min	20 min	45 min	60 min	120 min	180 min
110 °C	ALA	< 1,0	< 1,0	< 1,0	2,4	1,4	3,7
	EPA	< 1,0	< 1,0	< 1,0	3,6	7,4	14,8
	DHA	2,2	1,7	8,9	8,5	21,74 ^a	20,4 ^a
170 °C	ALA	3,3	6,6		11,7	17,2 ^a	17,9 ^a
	EPA	2,3	7,0		14,4	19,7 ^a	25,8 ^a
	DHA	5,4	12,1		13,7	23,6 ^a	24,8 ^a
220 °C	ALA	3,5	6,4		8,6	12,1	15,2
	EPA	5,5	7,6		16,3 ^a	20,1 ^a	22,3 ^a
	DHA	5,2	8,0		17,0 ^a	19,3 ^a	21,5 ^a

^aNach den Leitsätzen für Speisefette tritt der beginnende oxidative Fettverderb ab 16,5 mmol/kg Öl Hydroperoxide ein (s. 1.1.3).

Tab. 9: Hydroperoxidbildung während der thermischen Behandlung von angereicherten Margarinen mit ALA, DHA und EPA

		Hydroperoxidkonzentration [mmol/kg Öl]					
		nach Erhitzen für			nach Warmhalten bei 80 °C für		
		10 min	20 min	45 min	60 min	120 min	180 min
110 °C	ALA	< 1,0	< 1,0	< 1,0	1,1	1,2	1,4
	EPA	< 1,0	2,0	1,6	1,9	2,5	4,3
	DHA	1,7	< 1,0	1,3	2,3	3,4	4,0
170 °C	ALA	< 1,0	4,1		6,4	8,1	10,0
	EPA	< 1,0	3,2		7,1	9,7	13,1
	DHA	2,3	7,0		10,3	12,8	14,1
220 °C	ALA	1,3	7,1		9,4	10,1	11,6
	EPA	1,6	7,4		10,8	13,8	15,3
	DHA	2,6	6,7		10,1	12,3	23,1 ^a

^aNach den Leitsätzen für Speisefette tritt der beginnende oxidative Fettverderb ab 16,5 mmol/kg Öl Hydroperoxide ein (s. 1.1.3).

Sekundäre Oxidationsprodukte entstanden in ALA- und EPA angereicherten Ölen erst bei Temperaturen von 170 °C, während bei DHA angereichertem Öl bereits bei einer Erhitzung von 10 min bei 100 °C sekundäre Oxidationsprodukte nachweisbar waren. Die Peakgesamtflächen stiegen bei höherer Erhitzung kontinuierlich an (Fettdruck) (Tab. 10). Die Propanalgehalte (Kursivdruck), Leitsubstanz für ω -3 Fettsäuren, traten schlagartig auf und übertraten hier bereits die Aromaschwelle (nasal: 9,4 μ g/kg, retronasal: 68 μ g/kg). Die Hexanalbildung (Normaldruck), Leit-

substanz für den Abbau der ω -6 Fettsäuren, stieg langsamer als Propanal an und überschritt bei keiner Erhitzungstemperatur seine Aromaschwellen (nasal: 320 μ g/kg, retronasal: 75 μ g/kg)

Tab. 10: Bildung flüchtiger Verbindungen und sekundärer Oxidationsprodukte während der thermischen Behandlung in angereicherten Ölen mit ALA, EPA und DHA.

	Start	100 °C			170 °C			220 °C		
		10 min	20 min	45 min	10 min	20 min	45 min	10 min	20 min	45 min
ALA	212	51	53	120	275	381	1024	1293	2258	3244
	--	--	--	--	536	554	970	973	1804	1685
	--	--	--	--	26	23	91	103	228	224
EPA	82	45	151	97	285	592	1344	1589	2746	3547
	--	--	--	--	513	678	1081	1128	1773	2203
	--	--	--	--	--	--	93	117	201	307
DHA	102	74	120	181	379	635	1558	1457	3215	3611
	--	--	301	349	496	612	1050	969	1610	1978
	--	--	--	--	13	20	68	40	134	164

-- nicht nachweisbar

Gesamtflächen der flüchtigen Verbindungen

Propanalgehalte in μ mol/kg Öl: Leitsubstanz für ω -3-Fettsäuren

Hexanalgehalte in μ mol/kg Öl: Leitsubstanz für ω -6-Fettsäuren

Bei der Erhitzung der Öle können flüchtige Substanzen entstehen, die bereits in geringsten Konzentrationen für die Bildung des starken Off-Flavours vor dem Einsetzen des eigentlichen oxidativen Fettverderbs verantwortlich sind. Als charakteristische Geruchsbildner in Fischölen und Fischprodukten sind nachfolgende flüchtige Substanzen identifiziert worden: 2-Methylpropanal, 1-Penten-3-on, *cis*-3-Hexenal, *cis*-4-Heptenal, 1,5-*cis*-Octadien-3-on und *trans*, *cis*-2,6-Nonadienal (Hartvigsen et al., 2000).

Die Ketone 1-Penten-3-on und 1,5-*cis*-Octadien-3-on werden im Besonderen aus n-3 Fettsäuren gebildet. Letzteres könnte möglicherweise der stärkste Geruchsbildner des fischigen off-Flavours sein, da es eine extrem niedrige Aromaschwelle besitzt (nasal: 0,45 μ g/kg, retronasal: 0,03 μ g/kg) (Karahadian and Lindsay, 1989).

Diese NebenkompONENTEN der flüchtigen Fraktionen lassen sich analytisch nur mit hohem apparativen Aufwand nachweisen, da diese Komponenten nur in geringsten Konzentrationen auftreten und zum Nachweis stark angereichert werden müssen (Hartvigsen et al., 2000). Zur Erfassung der Lipidoxidation ist folglich die Quantifizierung der Lipidoxidationsprodukte über die mengenmäßig hervortretenden Hauptkomponenten (Propanal, Hexanal) am effizientesten. Für die gezielte Erfassung eines Off-Flavours bei der thermischen Behandlung von Margarine und Ölen wurde eine sensorische Beurteilung vorgenommen.

Für die Tocopherole sowie für die Fettsäurezusammensetzung ergaben sich keine Veränderungen während der thermischen Behandlung (ohne Abb.).

Repräsentative Proben der eingesetzten Margarinen sowie des Olivenöls aus der 2. Humanstudie wurden auf ihren oxidativen Status untersucht. Bei den Margarinen handelte es sich um verschie-

dene Anreicherungen mit hoch ungesättigten Fettsäuren, so dass sich für die Margarinegruppen folgende Gehalte ergaben: ca. 16% α -Linolensäure (ALA), ca. 8% Eicosapentaensäure (EPA) und ca. 10% Docosahexaensäure (DHA) (Tab. 11).

Die Probanden erhielten zur täglichen Ergänzung ihrer Ernährung entsprechend ihrer Gruppe Margarine in 30 g Portionseinheiten. Es sollte jeden Tag eine bestimmte Menge an Margarine verzehrt werden, die Ausgabe der Portionseinheiten erfolgte einmal wöchentlich. Zusätzlich erhielten die Probanden einen Liter handelsübliches Olivenöl, die alle anderen Fettquellen, z.B. zum Braten, einheitlich ersetzen sollten.

Tab. 11: Fettsäuremuster empfindlicher Lipide in angereicherten Margarinen bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen (n=6)

		nach Öffnen	nach 2 Tagen bei 4 °C	nach 7 Tagen bei 4 °C	nach 16h bei RT*
		[mg/kg \pm s]	[mg/kg \pm s]	[mg/kg \pm s]	[mg/kg \pm s]
ALA	C _{18:1}	40,08 \pm 0,77	40,36 \pm 0,87	38,81 \pm 1,78	39,38 \pm 0,58
	C _{18:2}	15,63 \pm 0,32	15,73 \pm 0,35	14,72 \pm 1,14	15,35 \pm 0,22
	C _{18:3}	13,58 \pm 0,30	13,63 \pm 0,28	12,76 \pm 0,99	13,32 \pm 0,19
EPA	C _{18:1}	39,08 \pm 2,67	38,81 \pm 1,68	40,26 \pm 1,77	41,09 \pm 0,27
	C _{18:2}	13,99 \pm 0,88	13,95 \pm 0,57	14,42 \pm 0,67	14,72 \pm 0,08
	C _{18:3}	2,43 \pm 0,14	2,60 \pm 0,90	2,51 \pm 0,14	2,56 \pm 0,01
	C _{20:5}	8,09 \pm 0,36	8,44 \pm 0,33	8,21 \pm 0,42	8,40 \pm 0,05
	C _{22:6}	1,47 \pm 0,16	1,58 \pm 0,57	1,53 \pm 0,12	1,55 \pm 0,16
DHA	C _{18:1}	39,59 \pm 0,95	38,57 \pm 2,57	38,98 \pm 1,14	40,57 \pm 1,45
	C _{18:2}	14,17 \pm 0,34	13,78 \pm 0,92	13,91 \pm 0,40	14,46 \pm 0,53
	C _{18:3}	2,16 \pm 0,78	2,37 \pm 0,17	2,40 \pm 0,07	2,48 \pm 0,10
	C _{20:5}	1,12 \pm 0,02	1,05 \pm 0,07	1,06 \pm 0,03	1,10 \pm 0,04
	C _{22:6}	9,43 \pm 0,44	9,28 \pm 0,63	9,34 \pm 0,29	9,77 \pm 0,40

* (n=3), RT= Raumtemperatur, s= Standardabweichung

Die Proben für das Qualitätsmonitoring wurden nach den Anweisungen, die die Probanden erhielten, gelagert. Die Margarinen wurden nach dem Auftauen im Kühlschrank bei + 4 °C gelagert. Eine Probe wurde direkt nach dem Auftauen gezogen und eine zweite von einer geöffneten Margarineprobe nach 2-tägiger Lagerung. Ebenfalls wurde ein Probe von einer verschlossenen Margarineprobe nach 7-tägiger Lagerung im Kühlschrank gezogen. Weiterhin wurden Proben nach 16h Lagerung bei Zimmertemperatur gezogen, um den oxidativen Status zu überprüfen, der entsteht, falls die Margarinen nicht nach Anweisungen gelagert worden wären. Das Olivenöl wurde bei Raumtemperatur und dunkel gelagert. Für jede Probe wurde eine Dreifachbestimmungen durchgeführt und die Probennahme fand zweifach statt, so dass die angegebenen Mittelwerte und Standardabweichungen auf jeweils 6 Werten basieren.

Während der Lagerung wurden primäre und sekundäre Oxidationsprodukte, Tocopherole und der Fettsäureanteil an oxidationsempfindlichen Lipiden verfolgt. Es wurden keine Veränderungen des Fettsäureanteils während der Lagerung festgestellt (Tab. 11), so dass davon ausgegangen werden

kann, dass die Probanden Margarinen mit einem konstanten Fettsäuremuster während der Studie zu sich genommen haben. Auch das Olivenöl zeigte keine Veränderung während der 6-wöchigen Lagerung (Tab. 12).

Die Bestimmung der Tocopherolisomere in den Margarinen (Tab. 13) sowie im Olivenöl (Tab. 14) hat gezeigt, dass sich der Gehalt der einzelnen Isomere während der Lagerung nicht verändert hat.

Tab. 12: Anteil der ungesättigten Fettsäuren im Olivenöl während einer 6-wöchigen Lagerung im Dunkeln (n=3)

Wochen	C_{18:1}	C_{18:2}	C_{18:3}
	[mg/kg ± s]	[mg/kg ± s]	[mg/kg ± s]
0	67,07 ± 1,16	6,10 ± 0,12	0,55 ± 0,03
3	70,36 ± 2,44	6,41 ± 0,22	0,59 ± 0,02
6	69,03 ± 1,64	6,28 ± 0,15	0,58 ± 0,03

s= Standardabweichung

Tab. 13: Tocopherolisomere in angereicherten Margarinen nach unterschiedlichen Lagerungsbedingungen (n=6)

		nach Öffnen	nach 2 Tagen bei 4°C	nach 7 Tagen bei 4°C	nach 16h bei RT*
		[mg/kg ± s]	[mg/kg ± s]	[mg/kg ± s]	[mg/kg ± s]
ALA	α-Toc	186,3 ± 4,06	190,4 ± 7,80	192,0 ± 9,26	186,3 ± 0,77
	γ-Toc	367,7 ± 5,4	378,0 ± 14,06	382,8 ± 26,82	370,1 ± 4,45
	δ-Toc	101,7 ± 2,13	102,9 ± 3,24	102,9 ± 0,65	102,7 ± 0,33
EPA	α-Toc	609,5 ± 26,5	631,7 ± 47,24	621,7 ± 16,01	602,9 ± 12,61
	γ-Toc	538,7 ± 58,5	526,8 ± 29,80	510,0 ± 6,77	498,5 ± 10,99
	δ-Toc	98,0 ± 2,6	106,1 ± 7,47	102,7 ± 2,19	99,8 ± 2,64
DHA	α-Toc	282,0 ± 8,4	275,8 ± 4,57	278,6 ± 17,44	266,1 ± 4,03
	γ-Toc	521,1 ± 17,5	511,8 ± 10,41	507,3 ± 25,34	496,4 ± 2,31
	δ-Toc	107,0 ± 2,81	107,2 ± 2,06	97,6 ± 28,21	103,5 ± 2,12

* (n=3), RT= Raumtemperatur, s= Standardabweichung

Tab. 14: Tocopherolisomere in Olivenöl während einer 6-wöchigen Lagerung im Dunkeln bei Raumtemperatur (n=3)

Wochen	α -Toc	γ -Toc	δ -Toc
	[mg/kg \pm s]	[mg/kg \pm s]	[mg/kg \pm s]
0	140,43 \pm 6,82	20,93 \pm 1,41	5,99 \pm 0,39
1	145,23 \pm 3,15	16,76 \pm 1,09	1,70 \pm 2,94
2	142,03 \pm 1,24	17,79 \pm 1,98	1,98 \pm 3,43
3	140,41 \pm 4,75	17,23 \pm 2,56	1,33 \pm 2,31
4	139,84 \pm 3,24	20,08 \pm 2,73	3,47 \pm 3,19
5	137,80 \pm 8,09	21,72 \pm 4,70	5,53 \pm 1,98
6	143,17 \pm 1,76	17,56 \pm 2,39	4,35 \pm 0,85

s= Standardabweichung

Die Untersuchung des oxidativen Status anhand primärer (Hydroperoxide) und sekundärer Oxidationsprodukte (Propanal) ergab, dass weder das Olivenöl (Tab. 16) noch die Margarinen (Tab. 15) unter den gewählten Bedingungen der Lagerung einem oxidativen Fettverderb unterliegen. Somit war eine konstante Qualität des Olivenöls und der Margarinen während der Durchführung der Humanstudie gewährleistet.

Die Margarinen enthielten ein sehr starkes margarinetypisches Aroma, so dass sensorische Veränderung nicht wahrgenommen werden konnten. Es kann daher auch nicht unterschieden werden, ob die Bildung eines Off-Flavours verhindert, oder durch die starke Aromatisierung maskiert wurde.

Tab. 15: Oxidativer Status der angereicherten Margarinen während der Lagerung angegeben in primären und sekundären Oxidationsprodukten (n=6)

	Lagerungsbedingungen	Hydroperoxide	Propanal	
		[mmol/kg Öl]	[μ g/kg Öl	\pm s]
ALA	nach öffnen	< 1,00	16,03	\pm 1,98
	2 Tage bei 4 °C (geöffnet)	< 1,00	17,00	\pm 2,43
	7 Tagen bei 4 °C	< 1,00	19,58	\pm 3,45
	16 h bei RT *	< 1,00	16,85	\pm 2,47
EPA	nach öffnen	< 1,00	27,74	\pm 3,96
	2 Tage bei 4 °C (geöffnet)	< 1,00	23,08	\pm 3,09
	7 Tagen bei 4 °C	< 1,00	20,78	\pm 3,89
	16 h bei RT *	< 1,00	16,52	\pm 1,94
DHA	nach öffnen	< 1,00	23,06	\pm 2,89
	2 Tage bei 4 °C (geöffnet)	< 1,00	19,08	\pm 1,92
	7 Tagen bei 4 °C	< 1,00	19,04	\pm 4,92
	16 h bei RT *	< 1,00	21,10	\pm 4,18

RT= Raumtemperatur, s= Standardabweichung

Tab. 16: Oxidativer Status des Olivenöls während einer 6 wöchigen Lagerung im Dunkeln bei Raumtemperatur (n=3)

Lagerung bei RT * [Wochen]	Hydroperoxide [mmol/kg Öl]	Propanal /Hexanal [µg/kg Öl ± s]
0	< 1,00	n.n./n.n.
1	< 1,00	n.n./n.n.
2	< 1,00	n.n./n.n.
3	< 1,00	n.n./n.n.
4	< 1,00	n.n./n.n.
5	< 1,00	n.n./n.n.
6	< 1,00	n.n./n.n.

RT = Raumtemperatur, s= Standardabweichung

1.3 Einsatz von antioxidativen Extrakten aus Rapspresskuchen und Rapsöl

Im Teilprojekt sollte ferner untersucht werden, ob die in Raps nativ vorkommenden Antioxidantien zur Stabilisierung der hochungesättigten Fettsäuren genutzt werden können, um auf eine weitere Anreicherung mit anderen Antioxidantien (auch synthetische) zu verzichten und so zur Nachhaltigkeit des Projekts beizutragen.

Hierzu wurden antioxidativ wirksame Extrakte vorläufig aus konventionellem Raps bzw. Rapskuchen gewonnen und fraktioniert. Anschließend wurde das antioxidative Potential der Extrakte gegenüber einem stabilen Radikal getestet (α,α -Diphenyl- β -Picrylhydrazyl, DPPH) und die Wirksamkeit der enthaltenen Antioxidantien über die Inhibierung von primären und sekundären Lipidoxidationsprodukten in Ölen geprüft.

1.3.1 Extraktion und Fraktionierung aus Rapspresskuchen

Die phenolischen Substanzen wurden mit verschiedenen Lösungsmittelgemischen aus dem Rapskuchen extrahiert, wobei für Extrakte mit 70% Alkohol die höchsten Gehalte erzielt werden konnten (Abb. 11). Der Gesamtphenolgehalt (berechnet als Sinapinsäureäquivalente) variierte von 5-18 mg/g des ölfreien Rapskuchens, der Gehalt an Sinapin und anderer Derivate der Hydroxymizsäuren (berechnet als Sinapinäquivalente) lag im Bereich von 15-29 mg/g. Die Bestimmung der Gehalte erfolgte durch photometrische Messungen am Absorptionsmaximum von 330 nm. Dabei ist der relativ hohe Gehalt an Hydroxymizsäuren im Gegensatz zu den Gesamtphenolgehalten auf die geringe Selektivität der Methoden zurückzuführen. Andere Substanzen können ebenfalls bei 330 nm absorbieren und zwischen den einzelnen Phenolen können Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber des Folin-Ciocalteu Reagenz auftreten. Jedoch eignen sich beide Methoden zum Screenen.

Für alle weiteren Untersuchungen wurden Extrakte, die mit 70% Methanol gewonnen wurden, eingesetzt.

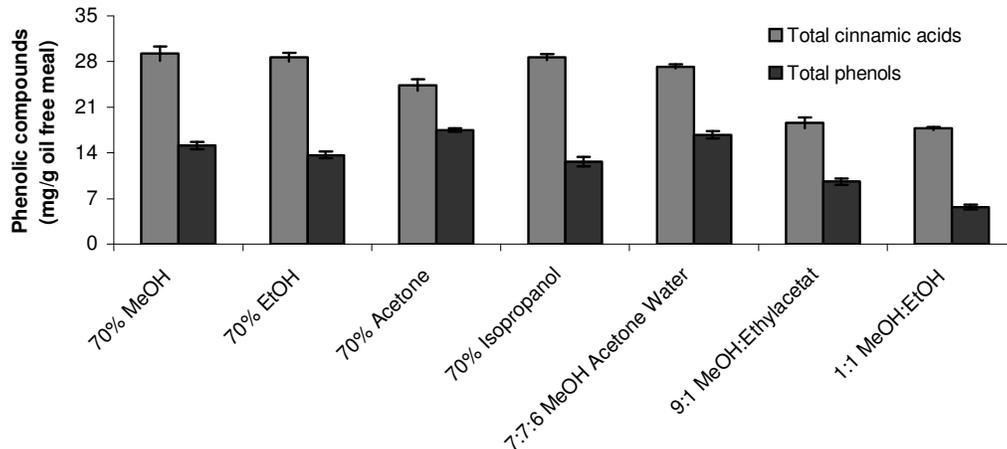


Abb. 11: Gesamtphenolgehalte in Rapskuchen-Extrakten extrahiert mit unterschiedlichen Lösungsmittelgemischen (Total cinnamic acids: Gesamtgehalte an Hydroxyzimtsäuren; Total phenols: Gesamtphenolgehalt) (Thiyam, 2005)

Nach der Extraktion erfolgte eine Fraktionierung der Extrakte, mit dem Ziel eine Aufkonzentrierung verschiedener Inhaltsstoffe zu bewirken (Abb. 12). Die 70%igen methanolischen Extrakte wurden in die drei Fraktionen freie Phenole, veresterte Phenole und freigesetzte Phenole unterteilt. Die Extrakte mit freien Phenolen enthielten 1,8 - 1,98 mg/g, mit gebundenen Phenolen 17-19 mg/g und die hydrolytisch freigesetzten Phenole 14 - 15 mg/g Sinapinsäureäquivalente. Unlösliche gebundene Phenole aus dem Rapskuchen lagen bei Gehalten von 0,3 - 0,5 mg/g. Um eine Vergleichbarkeit der stabilisierenden Wirkung zu erzielen, wurden die Extrakte bzw. die Fraktionen in gleicher Konzentration bezogen auf den Gehalt an Sinapinsäureäquivalenten (250 µmol/kg) einem Rapsöl, das zuvor von natürlichen Antioxidantien befreit wurde, zugesetzt.

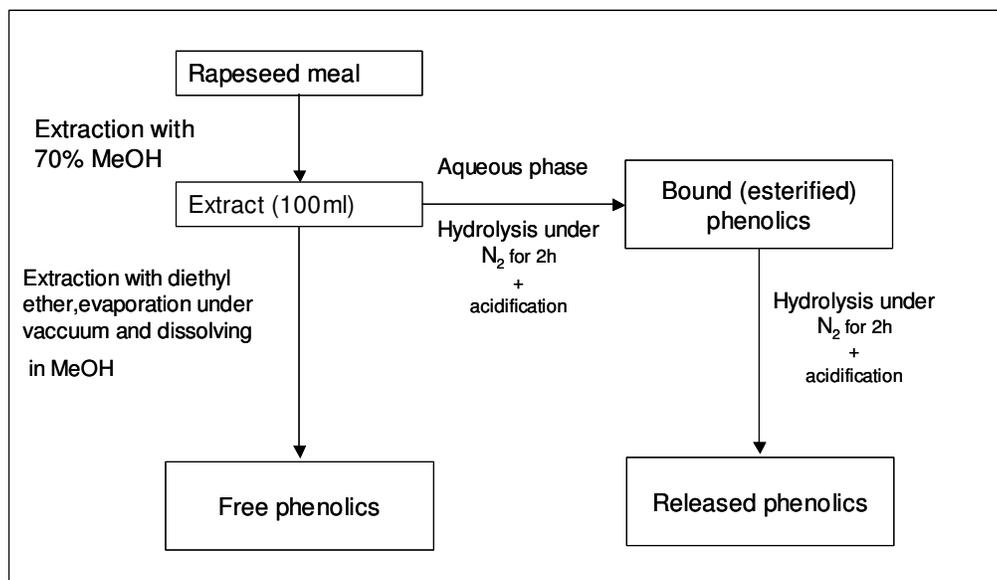


Abb. 12: Fraktionierung eines Extraktes (gewonnen mit 70%igem Methanol; 70% MeOH), der aus entfettetem Presskuchen (Rapeseed meal) gewonnen wurde (Thiyam, 2005)

1.3.2 Antioxidatives Potential der Extrakte aus Rapspresskuchen

Das antioxidative Potential der einzelnen Extrakte wurde gegenüber dem stabilen Radikal DPPH getestet. Extrakte mit einem 30 %igen Wasseranteil zeigten eine gute antioxidative Aktivität, während Extrakte ohne Wasseranteil deutlich geringere Aktivitäten ergaben (Abb. 13). Die Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit den Gehalten an Gesamtphenolen und Gesamt-Hydroxyzimtsäuren.

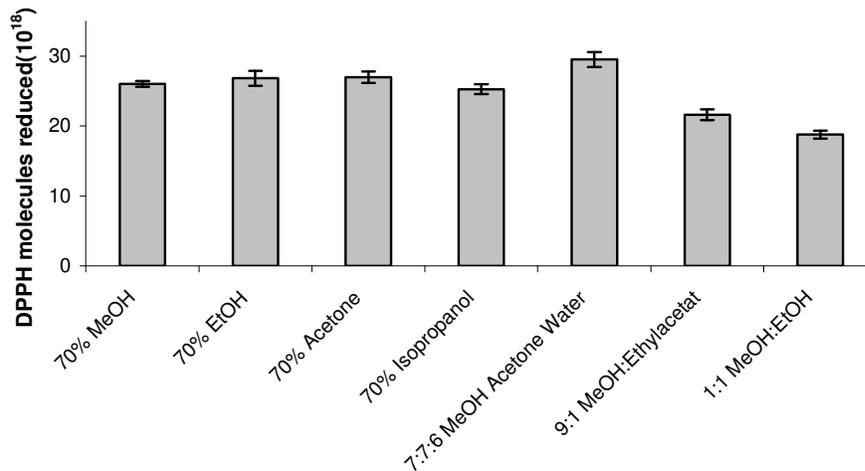


Abb. 13: Antioxidatives Potential einiger phenolhaltiger Rapskuchenextrakte gegenüber dem stabilen DPPH – Radikal (Thiyam, 2005)

1.3.3 Antioxidative Aktivität von phenolischen Substanzen in handelsüblichem Rapsöl

Die antioxidative Aktivität von Antioxidantien in lipidhaltigen Systemen wurde indirekt über die Inhibierung der Lipidoxidation bestimmt. Hierbei wurden primäre Oxidationsprodukte (Thiocyanatkomplex und konjugierte Diene) und sekundäre Oxidationsprodukte (Propanal und Hexanal) gemessen. Die Lagerung der Öle erfolgte im Dunklen bei 40°C über 4 Wochen. Um nur die Aktivität der addierten Antioxidantien zu messen, wurde das Rapsöl durch Säulenchromatographie über Aluminiumoxid von den nativen Antioxidantien (insbesondere Tocopherole) befreit (strip-pen). Anschließend wurde auf verbleibende Tocopherolgehalte geprüft und das Strippen ggf. wiederholt (s. 1.4.1).

1.3.3.1 Antioxidative Aktivität einzelner phenolischer Säuren in handelsüblichem Rapsöl

Die Antioxidantien wurden in den Konzentrationen 50 µmol und 500µmol pro kg Öl dem gestrippten Rapsöl zugesetzt. Als Antioxidantien wurden folgende phenolische Säuren eingesetzt: Sinapinsäure (SA), Kaffeesäure (CA), Ferulasäure (FA) und p-Cumarsäure (pCA) sowie als Referenzsubstanzen: α-Tocopherol (alpha-toco), Trolox und Butylhydroxyanisol (BHA) (Abb. 14-Abb. 17). Die Oxidationsverläufe sind als Zunahme des Gehaltes an konjugierten Dienen dargestellt, wobei der Startwert des Rapsöls von 8-9,7 mmol/kg auf die Anwesenheit von anderen Substanzen mit einem Absorptionsmaximum von 234 nm zurückzuführen ist.

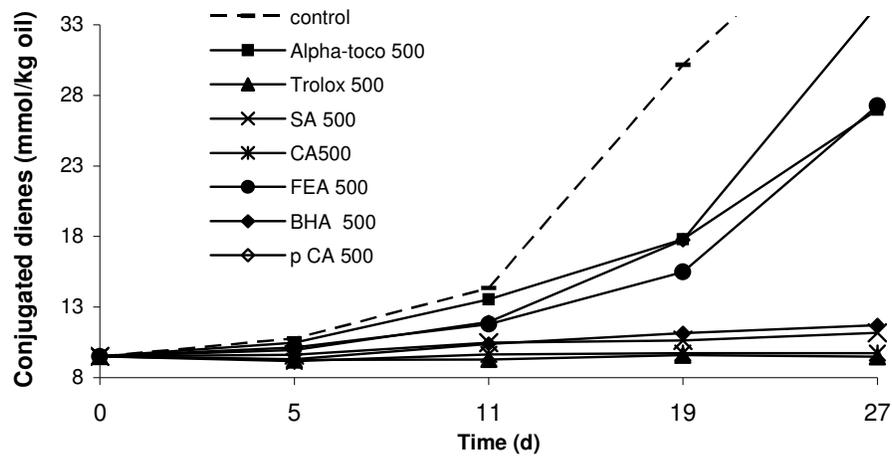
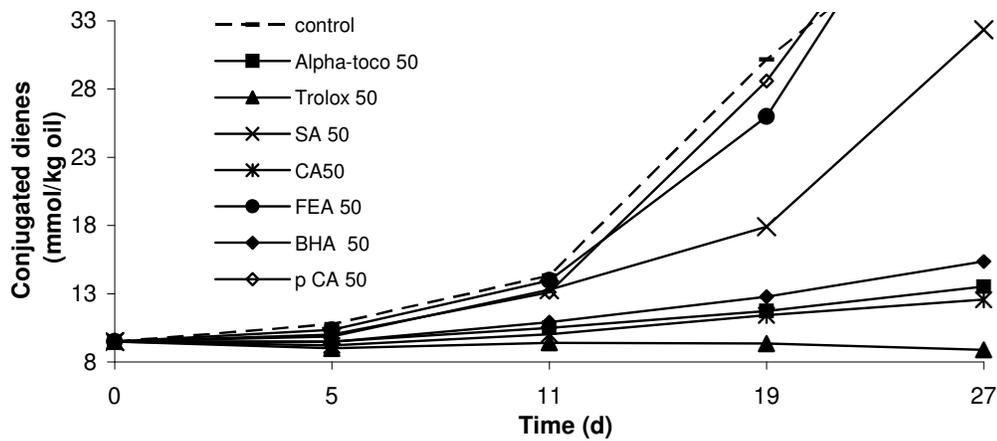


Abb. 14: Einfluss von phenolischen Säuren und kommerziellen Antioxidantien auf die Oxidation (Bildung von konjugierten Dienen) von Rapsöl bei 40°C im Dunklen. Sinapinsäure (SA), Kaffeesäure (CA), Ferulasäure (FA), p-Cumarsäure (p CA), Butylhydroxyanisol (BHA), Trolox und α -Tocopherol (alpha-toco) wurden dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration von 500 $\mu\text{mol/kg}$ Öl zugesetzt.



,k

Abb. 15: Einfluss von phenolischen Säuren und kommerziellen Antioxidantien auf die Oxidation (Bildung von konjugierten Dienen) von Rapsöl bei 40°C im Dunklen. Sinapinsäure (SA), Kaffeesäure (CA), Ferulasäure (FA), p-Cumarsäure (p CA), Butylhydroxyanisol (BHA), Trolox und α -Tocopherol (alpha-toco) wurden dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration von 50 $\mu\text{mol/kg}$ Öl zugesetzt.

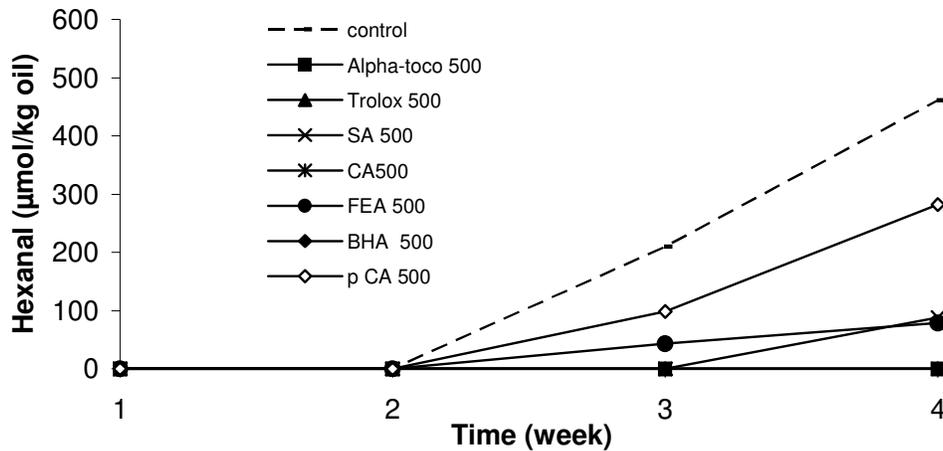


Abb. 16: Einfluss von phenolischen Säuren und kommerziellen Antioxidantien auf die Oxidation (Bildung von Hexanal) von Rapsöl bei 40°C im Dunklen. Sinapinsäure (SA), Kaffeesäure (CA), Ferulasäure (FA), p-Cumarsäure (p CA), Butylhydroxyanisol (BHA), Trolox und α -Tocopherol (alpha-toco) wurden dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration von 500 $\mu\text{mol/kg}$ Öl zugesetzt.

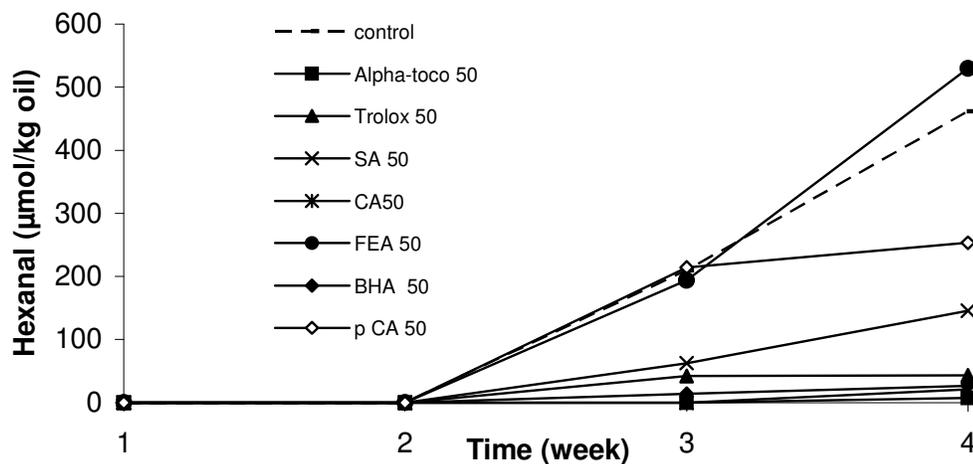


Abb. 17: Einfluss von phenolischen Säuren und kommerziellen Antioxidantien auf die Oxidation (Bildung von Hexanal) von Rapsöl bei 40°C im Dunklen. Sinapinsäure (SA), Kaffeesäure (CA), Ferulasäure (FA), p-Cumarsäure (p CA), Butylhydroxyanisol (BHA), Trolox und α -Tocopherol (alpha-toco) wurden dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration von 50 $\mu\text{mol/kg}$ Öl zugesetzt.

Im Vergleich zu den anderen Antioxidantien zeigte Sinapinsäure in einer Konzentration von 500 μmol eine bessere Aktivität als Trolox und BHA. Im Gegensatz dazu war α -Tocopherol in der niedrigeren Konzentration von 50 μmol wesentlich wirksamer (Abb. 14) als in der Konzentration von 500 μmol (Abb. 15). Diese Konzentrationsabhängigkeit von α -Tocopherol konnte für die Bildung der sekundären Oxidationsprodukte nicht gefunden werden. Beide Konzentrationen zeigten hier gleich hohe Wirksamkeiten (Abb. 16 und Abb. 17).

1.3.3.2 Antioxidative Aktivität von Extrakten aus Rapspresskuchen in handelsüblichem Rapsöl

Der 70%-ige methanolische Extrakt aus dem Rapskuchen wurde dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration zugesetzt, die 500 $\mu\text{mol/kg}$ Öl an Gesamtphenolgehalten entsprach (Abb. 18). Dieser Extrakt zeigte eine vergleichbare antioxidative Wirksamkeit wie Sinapinsäure in der Konzentration von 500 $\mu\text{mol/kg}$ Öl. Während einer Lagerung bei 40°C im Dunklen für zwei Wochen konnte gezeigt werden, dass alkoholische Extrakte aus dem Rapskuchen effektiv eingesetzt werden können, um die oxidative Stabilität von Rapsöl zu erhöhen (Thiyam et al. 2005).

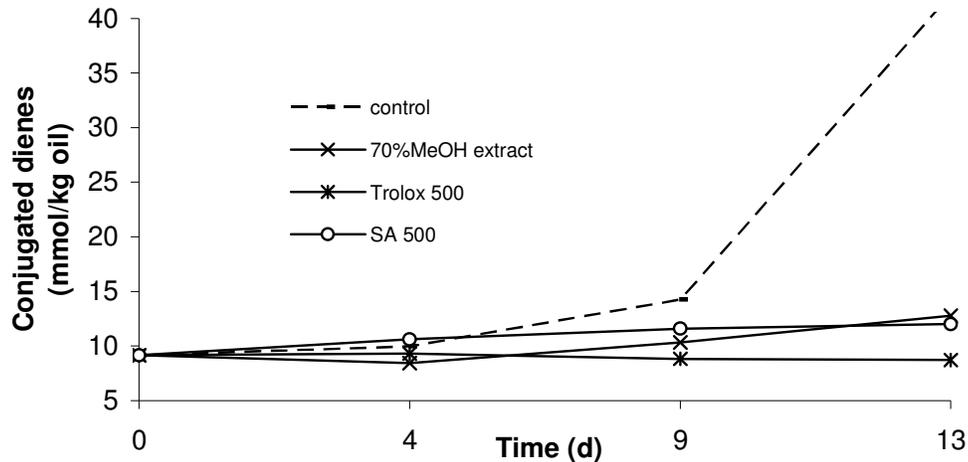


Abb. 18: Einfluss von 70%-igem methanolischen Extrakt aus Rapskuchen (MeOH) im Vergleich zu anderen phenolischen Substanzen auf die Oxidation (Bildung von konjugierten Dienen) von Rapsöl bei 40°C im Dunklen. Sinapinsäure (SA), Trolox und der 70%-ige methanolische Extrakt wurden dem gestrippten Rapsöl in einer Konzentration von 500 $\mu\text{mol/kg}$ Öl zugesetzt.

1.4. Stabilisierung von Rapsöl und Rapsölprodukten

In diesem Teilprojekt sollten Stabilisierungsstrategien für mit ω -3-Fettsäuren angereicherte Öle und lebensmittelrelevante Ölprodukte, wie Margarinen, gefunden werden. Die Untersuchung eines möglichen Einflusses von Lebensmitteladditiven wurde für das Produkt Margarine schrittweise aufgebaut. Zuerst wurde ein Modellöl aus Raps- und Fischöl entwickelt, das einen Gehalt von ca.6% LCPUFA (DHA und EPA) aufwies, um ein ähnliches Öl wie in den Tier- und Humanstudien zu verwenden. Es wurden rapstypische Antioxidantien und antioxidansreiche Fraktionen aus Rapspresskuchen in reinem Öl (Bulköl) sowie in verschiedenen Emulsionen getestet. Diesen Emulsionen wurden sowohl Hydrokolloide, Synergisten oder Salz hinzugefügt. Jedes System wurde bei 40°C mehrere Wochen gelagert und deren oxidativer Status bestimmt. Zusätzlich wurde der Einfluss der genannten Lebensmitteladditive auf die Freisetzung der sekundären Oxidationsprodukte untersucht, um mögliche Strategien zur Reduzierung des Off-Flavours zu entwickeln.

1.4.1 Entwicklung eines mit ω -3 Fettsäuren angereicherten Modellöls

Zur Herstellung eines Modellöls, angereichert mit ω -3-Fettsäuren, wurde raffiniertes Rapsöl (Ölmühle Ditzingen, Störzbach) und raffiniertes Fischöl (Lamotte GmbH, Bremen) im Verhältnis 70:30, (v%:v%) gemischt. Um ausschließlich die Wirksamkeit der zugesetzten Antioxidantien zu untersuchen, wurde das Ölgemisch durch Säulenchromatographie über Aluminiumoxid von den nativen Antioxidantien befreit (oil-stripping). Der Resttocopherolgehalte lag anschließend für alle Isomere unterhalb der Nachweisgrenze (α -Tocopherol < 6,08 μ g/ml, β -Tocopherol < 3,5 μ g/ml, γ -Tocopherol < 3,08 μ g/ml δ -Tocopherol < 0,4 μ g/ml).

Das durch das Strippen zugefügte Lösungsmittel Hexan musste nach dem Chromatographievorgang möglichst effektiv wieder entfernt werden, da das flüchtige Hexan bei der Bestimmung der sekundären Oxidationsprodukte die Freisetzung von Propanal beeinflussen kann (Tab. 17). Während sich die Peakfläche von Hexanal bei Zugabe von Hexan nicht änderte, zeigte eine Hexankonzentration ab ca. 7 mg/g eine vergrößerte Peakfläche für Propanal. Bei einer Hexankonzentration von ca. 36 mg/g stieg die Propanal-Peakfläche um fast das Doppelte an.

Erfahrungsgemäß konnte nach dem einfachen Abrotieren von Hexan und begasen mit Stickstoff bei 65°C eine Peakfläche von ungefähr 1.000000 FE/1000 mg gemessen und somit deutlich die Propanal-Messung beeinflusst werden. Daher musste eine Methode entwickelt werden, um die Hexankonzentration zu minimieren (Tab. 18).

Tab. 17: Veränderung der Propanalpeakflächen durch unterschiedliche Hexan-Konzentrationen

Hexan [mg/g]	Hexan [FE/1000 mg]	Propanal [FE/1000 mg]	Hexanal [FE/1000 mg]
Öl ohne Hexan	-	112	13
1,0	18776	118	12
1,7	31762	121	12
3,2	60815	119	11
6,9	126899	126	12
18,2	367331	170	12
27,1	539705	192	12
35,8	724745	217	12

Tab. 18: Methodenentwicklung für die Entfernung des Hexans aus dem Modellöl

Probe		CD	Thiocyanat	Hexan	Propanal	Hexanal
Vakuum bis 250mbar		[mmol/kg]	[mmol/kg]	[FE/500 mg]	[FE/500 mg]	[FE/500 mg]
Öl abrotiert	(65 °C)	ca. 10	0	ca. 90000		
1x abrotiert	(65 °C)	10,0	2,0	7379	295,4	n.n
2x abrotiert	(65 °C)	10,0	2,0	3176,0	114	n.n
Öl abrotiert	(65 °C)	9,5	0,9	148281	233,7	n.n
1x abrotiert	(80 °C)	9,0	1,0	3807	8,8	n.n
2x abrotiert	(80 °C)	9,3	1,6	210	2,2	n.n
3x abrotiert	(80 °C)	9,5	2,4	29	2,1	n.n
Öl abrotiert	(65 °C)	9,5	0,9	148281	233,7	n.n
1x abrotiert	(90 °C)	9,4	1,6	375	1,0	n.n
2x abrotiert	(90 °C)	9,5	2,3	23	2,1	n.n
3x abrotiert	(90 °C)	9,5	3,2	7	2,0	n.n

n.n.= nicht nachweisbar

Das mehrmalige Abrotieren bei unterschiedlichen Temperaturen übte einen deutlichen Einfluss auf die Hexan- und Propanal- Peakfläche aus, wobei das dreimalige Abrotieren bei 90°C die wirksamste Reduzierung des Hexans erbrachte. Um die Qualität des Öls während der thermischen Belastung zu überprüfen, wurde parallel der oxidative Status überprüft. Die Konzentration der Hydroperoxide stieg bei Temperaturerhöhung und Wiederholen des Abrotierens leicht an (Thiocyanat-Methode). Dieser Anstieg ist jedoch insgesamt vernachlässigbar, da die Hydroperoxidkonzentration vergleichbar ist mit der eines frischen Öls ($POZ < 1$, vergleiche 1.1.3). Das eingesetzte Modellöl wurde daher nach dem Abrotieren bei 65°C auf 90°C erwärmt und unter Vakuum weitere dreimal abrotiert. Um Sauerstoff auszuschließen wurde zwischendurch mit Stickstoff begast. Das Modellöl enthielt keinerlei oxidative Schädigungen sowie keine messbaren nativen Antioxidantien. Der Anteil der ungesättigten Fettsäuren ist in Tab. 19 aufgeführt.

Tab. 19: Anteil an ungesättigten Fettsäuren in einem n-3-Fettsäure angereicherten Modellöl

Fettsäuren		Anteil [%]
Ölsäure	C 18:1	35,2 ± 1,18
Linolsäure	C 18:2	15,3 ± 0,55
α-Linolensäure	C 18:3	4,6 ± 0,19
Arachidonsäure	C 20:4	0,8 ± 0,04
EPA	C 20:5	2,1 ± 0,05
DHA	C 22:6	3,8 ± 0,09
unges. Fettsäuren		61,7 ± 2,11
davon ω-3-Fettsäuren		10,5 ± 0,33
davon ω-6-Fettsäuren		16,1 ± 0,59

1.4.2 Aktivität von rapseigenen Antioxidantien und antioxidansreichen Extraktfraktionen im ω -3 Fettsäure angereicherten Modellöl

Um das mit ω -3-Fettsäuren angereicherte Modellöl (kurz Modellöl) zu stabilisieren, wurden die im Raps mengenmäßig am meisten vorkommenden Hydroxyzimtsäurederivate wie Ferulasäure, Kaffeesäure und Sinapinsäure sowie α -Tocopherol und ein Tocopherolmix eingesetzt. Als Referenz diente TROLOX, ein wasserlösliches Äquivalent von α -Tocopherol.

Die eingesetzten Antioxidantien zeigten eine unterschiedliche Wirksamkeit auf die Hemmung von primären (Abb. 19) und sekundären Oxidationsprodukten (Abb. 20 und Abb. 21). Für die Hemmung der primären Oxidationsprodukte zeigte sich am 17. Lagerungstag eine Wirksamkeit der Antioxidantien in folgender Reihenfolge: TROLOX > Kaffeesäure > Sinapinsäure > α -Tocopherol = Tocopherol Mix > Ferulasäure. Dabei wies TROLOX mit Abstand die höchste antioxidative Aktivität auf.

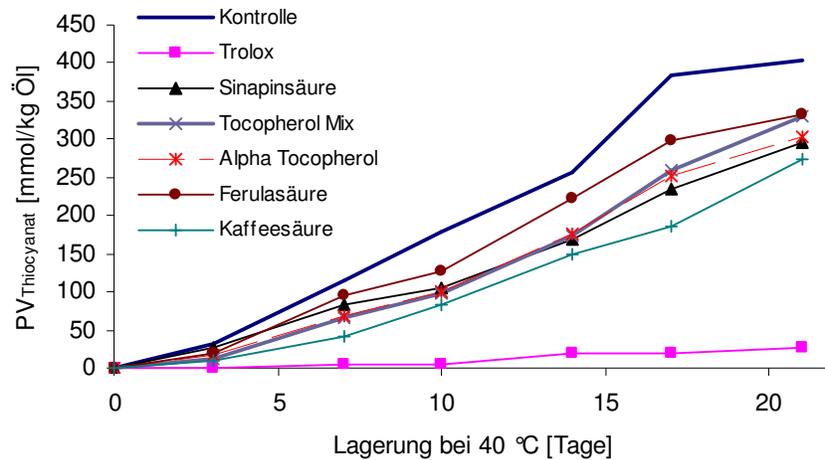


Abb. 19: Hydroperoxidbildung in ω -3 Fettsäure angereichertem Modellöl bei 40°C mit Zusatz von 250 μ M Hydroxyzimtsäurederivaten, 250 μ M Tocopherolen und 250 μ M TROLOX

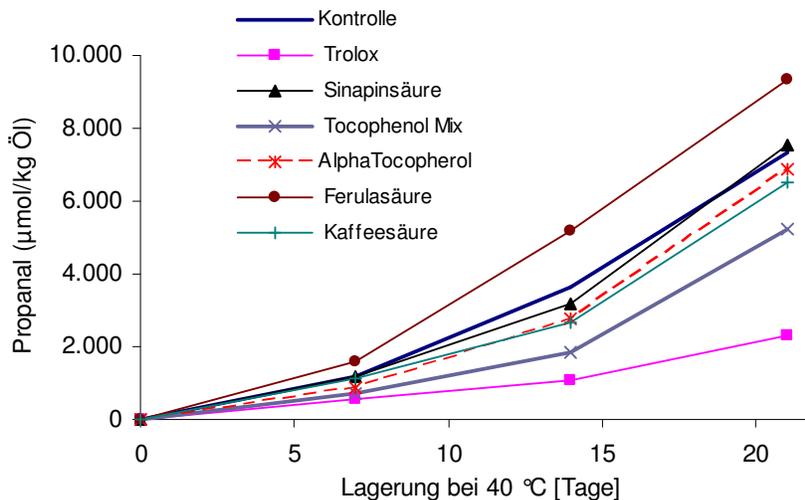


Abb. 20: Propanalbildung in ω -3 Fettsäure angereichertem Modellöl bei 40°C mit Zusatz von 250 μ M Hydroxyzimtsäurederivaten, 250 μ M Tocopherolen und 250 μ M TROLOX

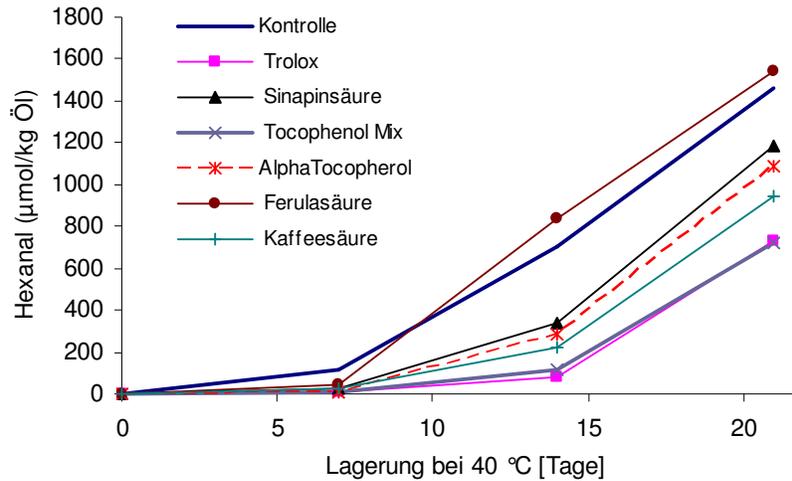


Abb. 21: Hexanalbildung in ω -3Fettsäure angereichertem Modellöl bei 40°C mit Zusatz von 250 μ M Hydroxyzimtsäurederivaten, 250 μ M Tocopherol und 250 μ M TROLOX

Ferulasäure wirkte auf die Hexanal- und Propanalbildung dagegen prooxidativ. Sinapinsäure zeigte vor α -Tocopherol und der Kaffeesäure die geringste Aktivität, während der Tocopherol Mix neben TROLOX die Aldehydbildung am effektivsten hemmen konnte. Die Propanalkonzentration lag um das fünffache höher als die Hexanal-Konzentration (Abb. 20 und Abb. 21).

Die Anzahl der Hydroxygruppen an den Hydroxyzimtsäurederivaten ist relevant für ihre antioxidative Aktivität im Öl. So ließe sich erklären, dass Kaffeesäure wirksamer ist als Ferulasäure und Sinapinsäure, zusätzlich ist die Aktivität der Sinapinsäure gegenüber der Ferulasäure durch die zwei zusätzlichen Methoxy-Gruppen erhöht.

Die bessere Wirksamkeit von TROLOX gegenüber Tocopherol wird auf die höhere Polarität von TROLOX zurückgeführt.

Die antioxidative Wirkung von Fraktionen des Rapspresskuchenextraktes (vergleiche auch 1.3.1: Free, Bound und Released) ist in Abbildung 22 im Vergleich zu Sinapinsäure (SA) dargestellt. Die Kontrollprobe zeigte innerhalb der ersten Woche bereits eine starke Bildung von Oxidationsprodukten auf. Der Gehalt an Hydroperoxiden stieg auf 157 mmol/kg an, was einer Peroxidzahl (nach Wheeler) von ca. 50 entspricht (s. 1.1.3). D.h. ein stark fortgeschrittenes Stadium der Oxidation ist bereits nach 7 Tagen erreicht worden. Der Zusatz von Fraktionen, die reich an freier Sinapinsäure sind (Free, Released), bewirkte gleichfalls wie Sinapinsäure (SA) eine deutlich verringerte Bildung von Oxidationsprodukten im Öl. Hingegen war nahezu keine antioxidative Wirkung der Fraktion, die Sinapinsäure in gebundener Form enthält (Bound), festzustellen.

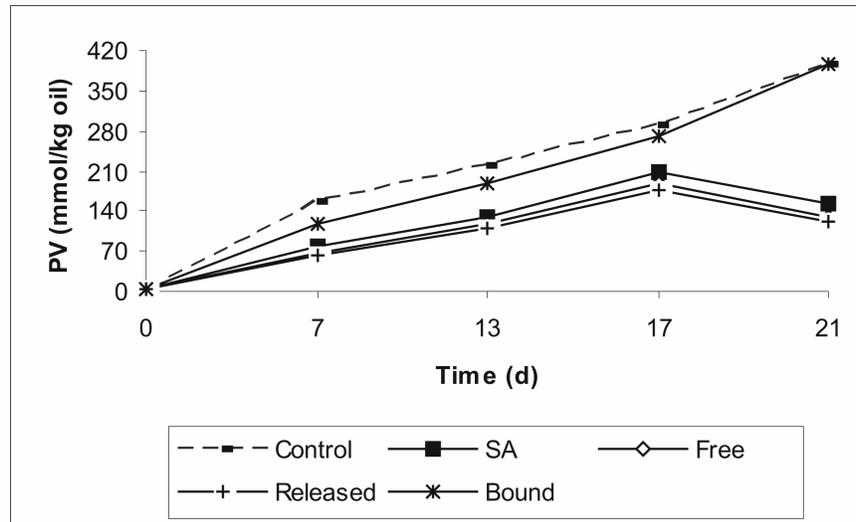


Abb. 22: Antioxidative Wirkung von Fraktionen des Rapspresskuchenextraktes (Free, Bound und Released) im Vergleich zu Sinapinsäure (SA) auf die Bildung von primären Oxidationsprodukten (PV, Hydroperoxide Thiocyanat) in Rapsöl, das mit n-3-Fettsäuren angereichert worden ist. Die Konzentration der Zusätze entsprach 250 $\mu\text{mol/kg}$ (Sinapinsäureäquivalente)

1.4.3 Aktivität von rapseigenen Antioxidantien und antioxidansreichen Extrakten in unterschiedlichen Emulsionen

1.4.3.1 Einfluss von Emulgatoren und Art der Emulsionen auf die Aktivität von Antioxidantien

Für die Auswahl geeigneter Emulgatoren wurde zunächst anstelle des Modellöles gestripptes Maiskeimöl eingesetzt. In diesem Vorversuch wurden neben verschiedenen Mono- und Diglyceridgemischen (MGDG) (unterschiedliche Monoglyceridgehalte, destillierte MGDG, unterschiedliche Fettsäurereste) auch unterschiedliche Lecithine (verschiedene Acetonlöslichkeit) getestet (ohne Abb.).

Dabei konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Monoglyceridgehalte keinen Einfluss auf die Reihenfolge der Wirksamkeit der Antioxidantien ausübten. Die Antioxidantien nahmen nach Höhe ihrer Wirksamkeit folgende Reihenfolge ein: TROLOX > Sinapinsäure > Tocopherol Mix. Jedoch waren deutliche Unterschiede in der Konzentration der Oxidationsprodukte beim Einsatz unterschiedlicher Mono- und Diglyceride zu beobachten. Die Kontrollproben von HP 40-1 und SV 45 mit dem Monoglycerid-Anteil von 40 bzw. 45 %, wiesen die geringste Bildung von Hydroperoxiden auf. Die Konzentration an Hydroperoxiden beim Einsatz der destillierten Monoglyceride lag deutlich höher. Beim Einsatz von unterschiedlichen Lecithinen konnte ebenfalls immer die gleiche Reihenfolge für die antioxidative Aktivität der Antioxidantien festgestellt werden, wobei auch hier die Konzentration der Oxidationsprodukte in Abhängigkeit vom Emulgator schwankte. Die Inhibierung der Lipidoxidation durch die Antioxidantien nahm wie folgt ab: Sinapinsäure > TROLOX > Ferulasäure > Tocopherol Mix. Die unterschiedlichen Mengen an gebildeten primären Oxidationsprodukten könnten auf unterschiedliche Tocopherolgehalte in den Lecithinen zurückzuführen sein.

Die weiteren Oxidationsversuche wurden mit dem ω -3 angereicherten Modellöl durchgeführt. Es wurden die folgenden Emulgatoren anhand der oben beschriebenen Vorversuche ausgewählt: EMULPUR N (Lecithin, Degussa Texturant), CITREM N 12 (MGDG verestert mit mind. 13% Citronensäure, Danisco) und HP 40-1 (MGDG auf der Basis gehärtetem Palmöl, mind. 40% MG, Danisco) für die Herstellung der Emulsionen eingesetzt. Lecithine bilden im Allgemeinen eine o/w-Emulsion aus, während das MGDG HP40 als typischer w/o-Emulgator eingesetzt wird. Für Citrem sind beide Emulsionstypen bekannt.

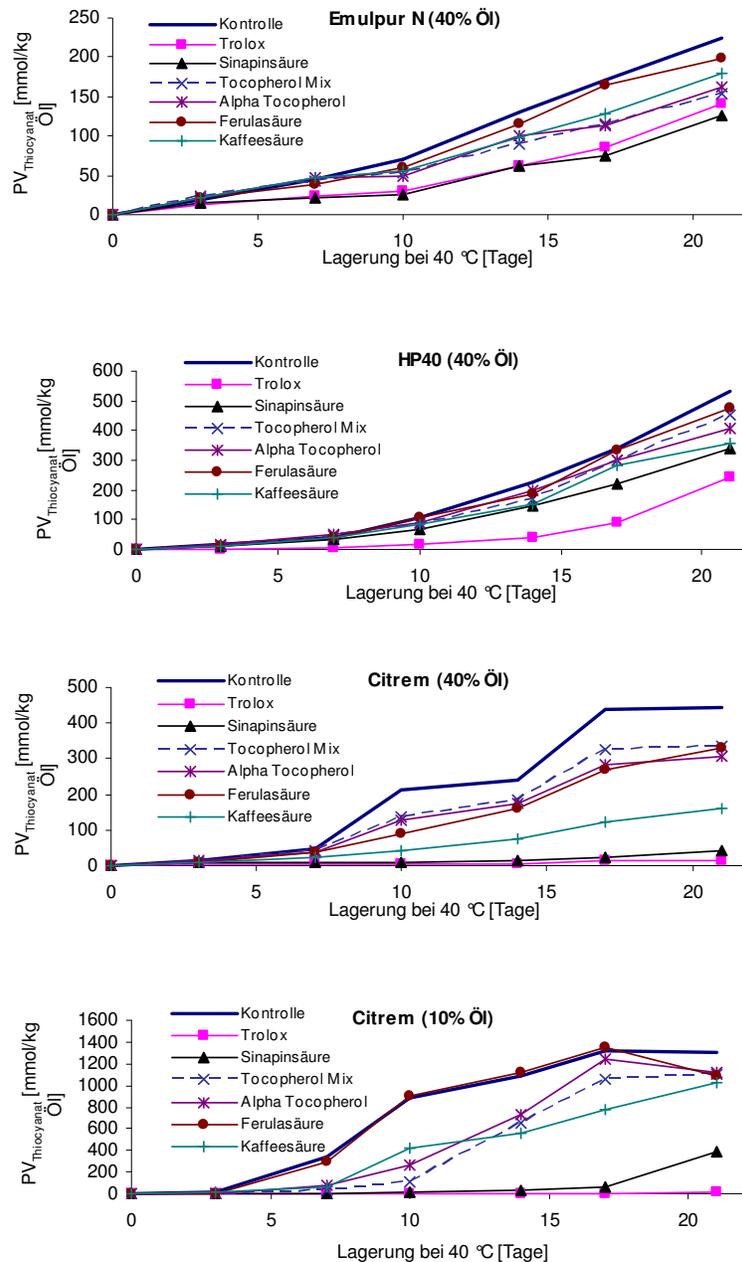


Abb. 23: Hydroperoxidbildung (PV Thiocyanat) in mit ω -3 Fettsäuren angereicherten Emulsionen mit unterschiedlichen Emulgatoren (5 %) unter Zusatz von 250 μ M Hydroxyzimtsäurederivaten, 250 μ M Tocopherol und 250 μ M TROLOX (n=3)

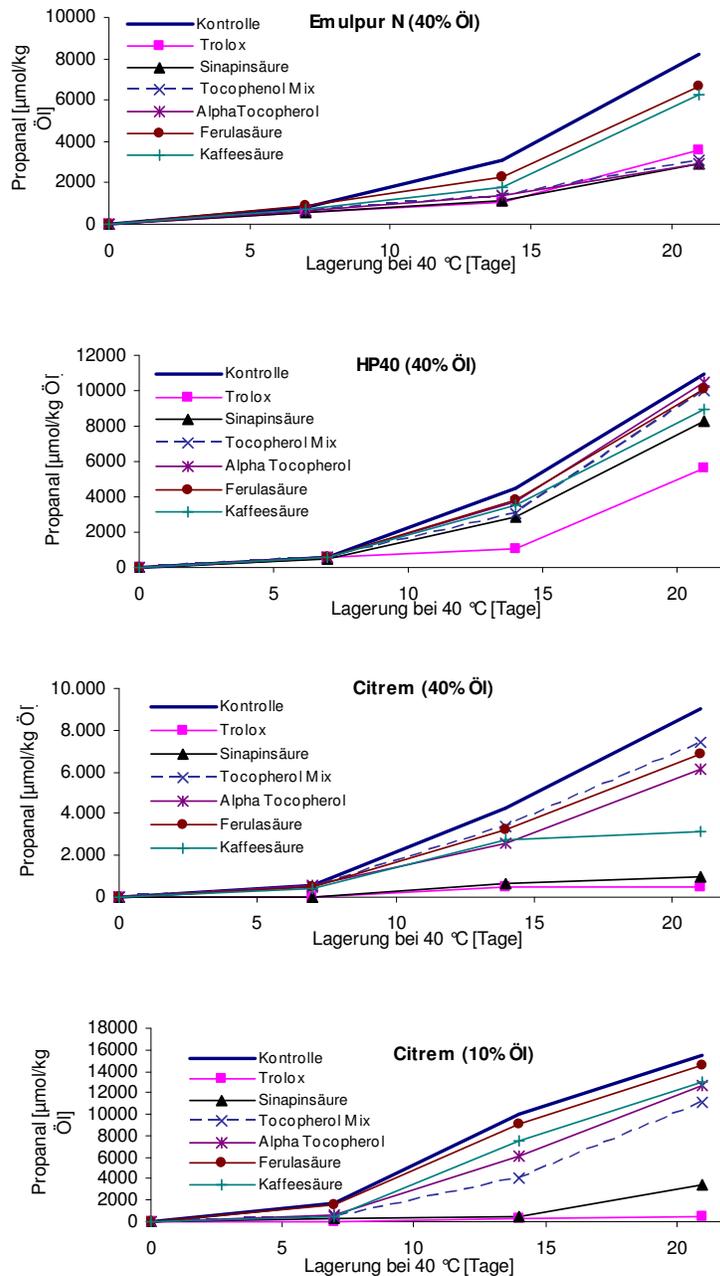


Abb. 24: Propanalbildung in mit ω -3 Fettsäuren angereicherten Emulsionen mit unterschiedlichen Emulgatoren (5 %) unter Zusatz von 250 μ M Hydroxyzimtsäurederivaten, 250 μ M Tocopherol und 250 μ M TROLOX (n=3)

In Abbildung 23 sind die Aktivitäten der Hydroxyzimtsäurederivate, Tocopherol und TROLOX gegenüber der Bildung von Hydroperoxiden in verschiedenen Emulsionen dargestellt. Dabei unterscheiden sich die Emulsionen durch die Art des Emulgators und des Anteils der Ölphase (Emulsionstyp). Abbildung 24 zeigt für die gleichen Systeme die Hemmung der Propanalbildung. In allen Emulsionen zeigten TROLOX und Sinapinsäure die beste antioxidative Wirksamkeit, dagegen konnten Ferulasäure und Tocopherol in keiner Emulsionen eine gute Aktivität aufwei-

sen. Dabei ist darauf hinzuweisen, dass die Zunahme an Hydroperoxiden in den einzelnen Emulsionen während der Lagerung sehr unterschiedlich ist.

Die antioxidative Aktivität von Fraktionen aus Extrakten aus Rapspresskuchen wurde in einer w/o-Emulsion getestet, deren Ölanteil (mit 5%igem MGDG Emulgator HP-40 Zusatz) 40% betrug. Die w/o-Emulsion (Abb. 25) wies im gleichen Zeitraum stärkere oxidative Veränderung auf als das Bulköl (vergleiche Abb. 22). Für die Fraktionen, die reich an freier Sinapinsäure sind (Free und Released) konnte eine sehr deutliche Verzögerung der Oxidation erreicht werden, die ähnlich wie im Bulköl mit der Aktivität von Sinapinsäure als Referenzsubstanz (SA) vergleichbar war. Im Gegensatz zum Bulköl zeigte auch die Fraktion mit hohen Gehalten an gebundener Sinapinsäure (Bound) eine deutliche antioxidative Aktivität in der w/o-Emulsion auf.

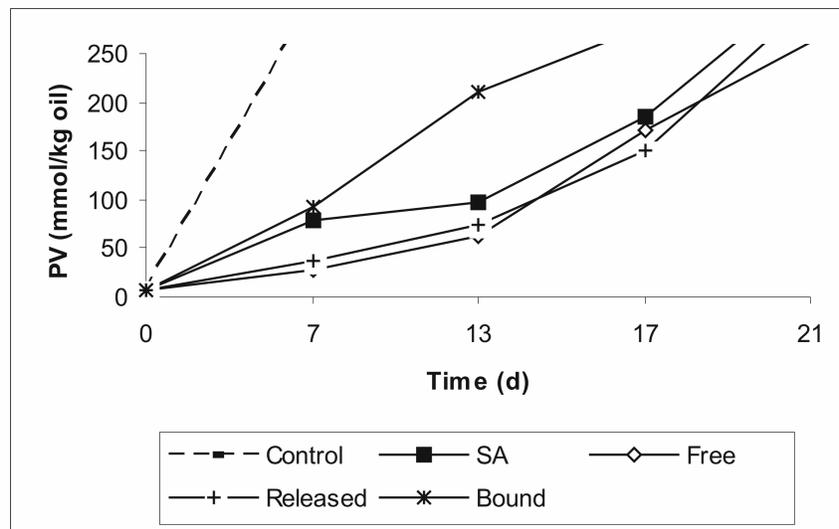


Abb. 25: Antioxidative Wirkung von Fraktionen des Rapspresskuchenextraktes (Free, Bound und Released) im Vergleich zu Sinapinsäure (SA) auf die Bildung von primären Oxidationsprodukten (Hydroperoxide, PV) in ein w/o-Rapsölemulsion, die mit n-3-Fettsäuren angereichert worden ist. Die Konzentration der Zusätze im Öl entsprach 250 $\mu\text{mol/kg}$ (Sinapinsäureäquivalente)

1.4.3.2 Einfluss von Hydrokolloiden auf die Aktivität von Antioxidantien in Emulsionen

Hydrokolloide werden zur Verbesserung der Textur von Lebensmitteln eingesetzt oder um Emulsionen zu stabilisieren. Von Interesse war, inwiefern Hydrokolloide eingesetzt durch Viskositätsänderungen oder andere Wechselwirkungen Einfluss auf die Aktivität der Antioxidantien ausüben. Um diesen Einfluss bewerten zu können, wurden Emulsionen mit dem Emulgator HP40 hergestellt, denen entweder der Gelbildner Pektin oder das Verdickungsmittel Guar zugesetzt wurden. Als Kontrolle diente eine Emulsion ohne jeglichen Zusatz von Hydrokolloiden oder Antioxidantien. Um auszuschließen, dass die Hydrokolloide selber bereits stabilisierend oder oxidierend wirkten, wurden die Hydrokolloide einzeln in den Emulsionen getestet. Als Antioxidans wurden Sinapinsäure und α -Tocopherol eingesetzt (Abb. 26 und Abb. 28)

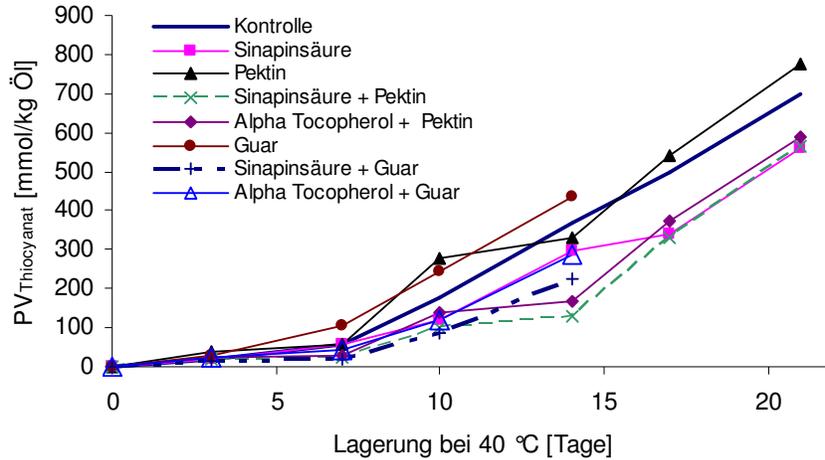


Abb. 26 Hydroperoxidbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP 40 (5 %) bei 40°C unter Zusatz von 250 μ M Sinapinsäure und 250 μ M α -Tocopherol und den Hydrokolloiden Pektin (1%) und Guar (0,5%) (n=2)

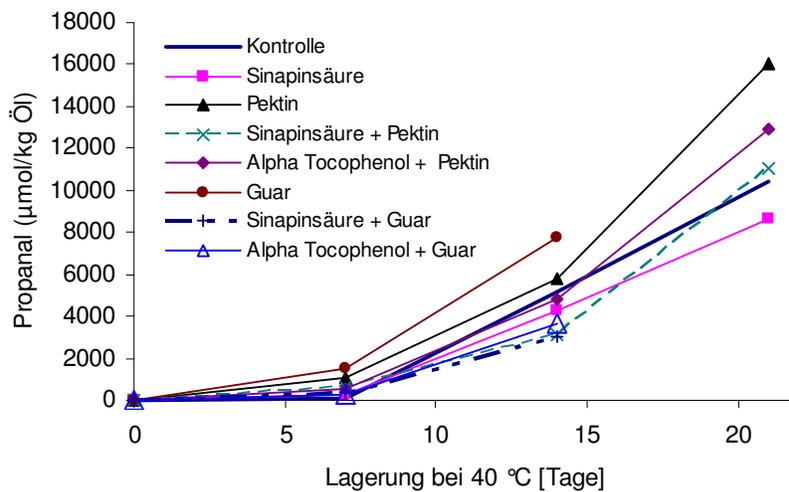


Abb. 27: Propanalbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP 40 bei 40 °C unter Zusatz von 250 μ M Sinapinsäure und 250 μ M α -Tocopherol und den Hydrokolloiden Pektin (1%) und Guar (0,5%) (n=2)

Der Zusatz der Hydrokolloide Guar und Pektin zeigte im Vergleich zur Kontrollprobe geringfügige prooxidative Effekte. Durch den Zusatz der Antioxidantien konnte in allen Emulsionen eine antioxidative Wirkung gegenüber der Kontrollprobe erreicht werden, wobei die Emulsionen mit Pektin keinen Einfluss auf die Aktivität der Antioxidantien ausübten. Emulsionen mit dem Hydrokolloid Guar konnten aufgrund der Instabilität nur 14 Tage gemessen werden (Abb. 26). Durch den Zusatz von Guar wurden die Antioxidantien bei der Hemmung der Propanalentwicklung nicht beeinflusst (Abb. 27). Durch den Zusatz von Pektin bildeten sowohl die Proben mit α -Tocopherol, als auch mit Sinapinsäure höhere Mengen an Propanal als die Kontrollprobe.

1.4.3.3 Einfluss von Synergisten auf die Aktivität von Antioxidantien in Emulsionen

Synergisten können die Aktivität von Antioxidantien unterstützen, indem sie Metallionen chelieren oder Antioxidansradikale regenerieren. Da Citronensäure und ihr Salz chelierende Wirkungen aufweisen ist anzunehmen, dass sie in den Emulsionen die Metallionen komplexieren, allerdings nicht eigenständig Radikale abfangen kann. Auf letzteres kann daher die geringe Aktivität des Citrats in einer HP40 Emulsion ohne Antioxidantien zurückgeführt werden, während Citrat mit α -Tocopherol, TROLOX und Sinapinsäure in Emulsionen wesentlich höhere Aktivitäten aufzeigt (Abb. 28).

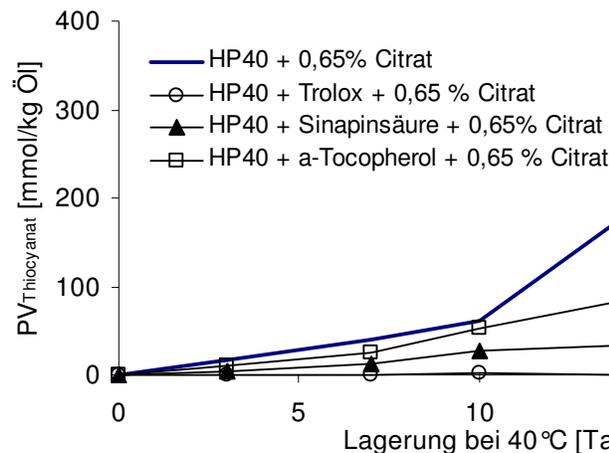


Abb. 28: Hydroperoxidbildung in mit ω -3 Fettsäuren angereicherten Emulsionen mit dem Emulgator HP40 (5 %) und mit 0,65 % Natriumcitrat und unter Zusatz von 250 μ M Sinapinsäure, α -Tocopherol und 250 μ M TROLOX (n=3)

Die Aktivitätssteigerung von Antioxidantien in Emulsionen durch einen Synergismus mit Natriumcitrat ist erheblich verglichen mit ihrer Aktivität ohne Citratzusatz (Abb. 29). Während die Aktivität von TROLOX von 78% auf nahezu 100% anstieg, zeigte Sinapinsäure die größte Zunahme von 12% auf 75%. Die Aktivität von α -Tocopherol konnte von 11% auf 50% erhöht werden. Grundlage für diese Berechnung ist die Inhibierung der Lipidoxidation an dem Tag, an dem die Hydroperoxid-Konzentration der Kontrollprobe bei 330 mmol/kg Öl, gemessen als Thiocyanat, lag. Dieser Wert entspricht für die jodometrische Analyse nach Wheeler einer Konzentration von etwa 100 mmol Hydroperoxide pro kg Öl (vergleiche 1.1.1).

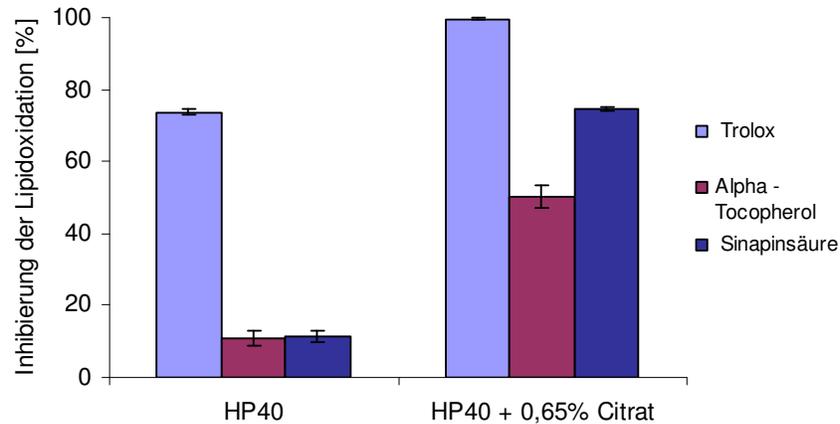


Abb. 29: Inhibierung der Hydroperoxidbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP40 mit und ohne Zusatz von 0,65 % Citrat am Beispiel der Antioxidantien TROLOX, α -Tocopherol und Sinapinsäure, gemessen als Thiocyanat. (n=3)
[Testung der statistischen Signifikanz über ANOVA (Bonferroni, $p < 0,05$)].

Von weiterem Interesse waren der Einfluss der Citratkonzentration sowie der Zusatz weiterer typischer Synergisten, wie EDTA und Ascorbylpalmitat. Als Citratkonzentrationen wurden 0,25%, 0,5% und 1% gewählt, EDTA wurde in einer Konzentration von 100 $\mu\text{g/g}$ und Ascorbylpalmitat von 500 μM eingesetzt. Als Beispiel ist die Hydroperoxidbildung (Abb. 30) und die Propanalentwicklung (Abb. 31) in einer Emulsion mit HP40 und dem Zusatz von Sinapinsäure dargestellt.

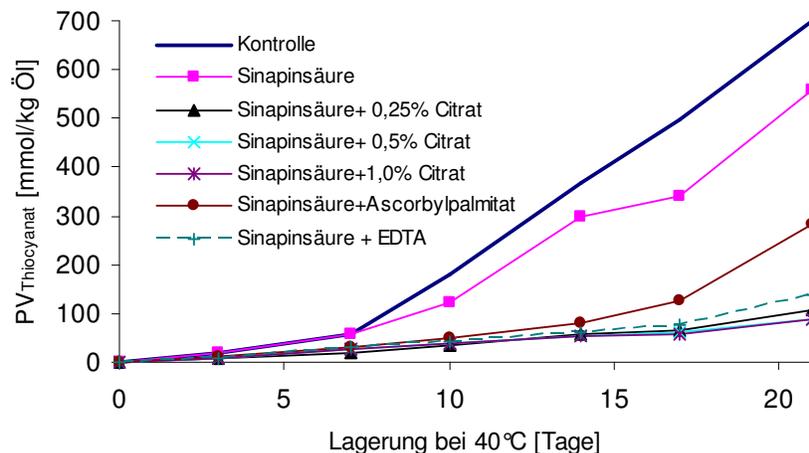


Abb. 30: Hydroperoxidbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP 40 bei 40°C mit Zusatz von 250 μM Sinapinsäure und Synergisten Citrat, 100 $\mu\text{g/g}$ EDTA und 500 μM Ascorbylpalmitat (n=3)

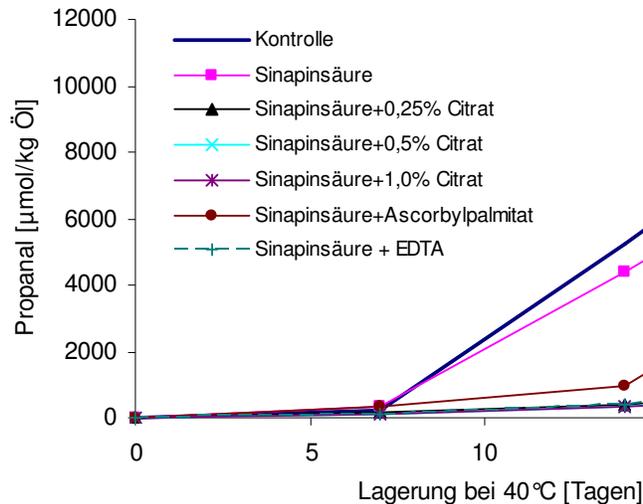


Abb. 31: Propanalbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP 40 bei 40°C mit Zusatz von 250 µM Sinapinsäure und den Synergisten Citrat, 100 µg/g EDTA und 500 µM Ascorbylpalmitat (n=2)

Alle eingesetzten Synergisten bewirkten eine deutliche Verbesserung der Wirksamkeit von Sinapinsäure. Am effektivsten erwiesen sich hierbei die Chelatbildner EDTA und Citrat, während Ascorbylpalmitat mit seiner regenerierenden Funktion nicht die gleiche Wirkung erreichen konnte. Die Darstellung über die Inhibierung am 14. Lagerungstag (bei 369 mmol Hydroperoxiden / kg Öl) verdeutlicht nochmals den enormen Effekt der Synergisten (Abb. 32).

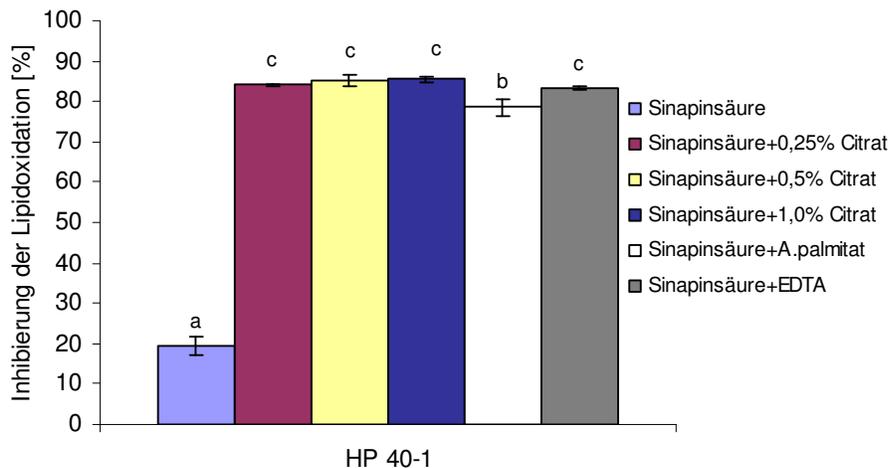


Abb. 32: Inhibierung der Hydroperoxidbildung in einer Emulsion mit HP 40 bei 40°C unter Zusatz von Sinapinsäure und den Synergisten Citrat in unterschiedlichen Konzentrationen, Ascorbylpalmitat und EDTA, gemessen als Thiocyanat. (n=3)
Balken mit gleichem Buchstaben sind nicht signifikant unterschiedlich (Bonferroni, $p < 0,05$)

Alle Kombinationen mit den unterschiedlichen Synergisten zeigten gegenüber der separat getesteten Sinapinsäure eine statistisch signifikante Verbesserung der antioxidativen Wirksamkeit. Die Effektivität von EDTA und der Citronensäure in verschiedenen Konzentrationen unterschieden sich nicht. Ein Zusatz von 0,25% Citronensäure erwies sich somit als ausreichend, um eine Emulsion mit hoch ungesättigten Fettsäuren und Sinapinsäure zu stabilisieren.

1.4.3.4 Einfluss von Kochsalz auf die Aktivität von Antioxidantien in Emulsionen

In Margarine wird als geschmacksgebende Komponente Kochsalz eingesetzt. Dabei können die Konzentrationen je nach Land sehr stark variieren. Am Beispiel einer Emulsion mit dem Emulgator HP40 und Sinapinsäure als Antioxidans wurde der Effekt unterschiedlicher Salzkonzentrationen auf die Bildung primärer (Abb. 33) und sekundärer Oxidationsprodukte (Abb. 34) getestet. Im Vergleich zur Kontrollprobe zeigten die Salzkonzentrationen 1,0% und 1,5% auf die Bildung von primären Oxidationsprodukten keinen Effekt, während sie die Bildung von sekundären Oxidationsprodukten förderten. Da die Probe mit 0,5% den gleichen Oxidationsverlauf wie die Probe, die nur Sinapinsäure enthielt, aufwies, ist davon auszugehen, dass diese niedrige Konzentration keine Auswirkung auf die Aktivität von Sinapinsäure hatte, während in höheren Salzkonzentration die antioxidative Wirkung von Sinapinsäure gänzlich aufgehoben worden ist.

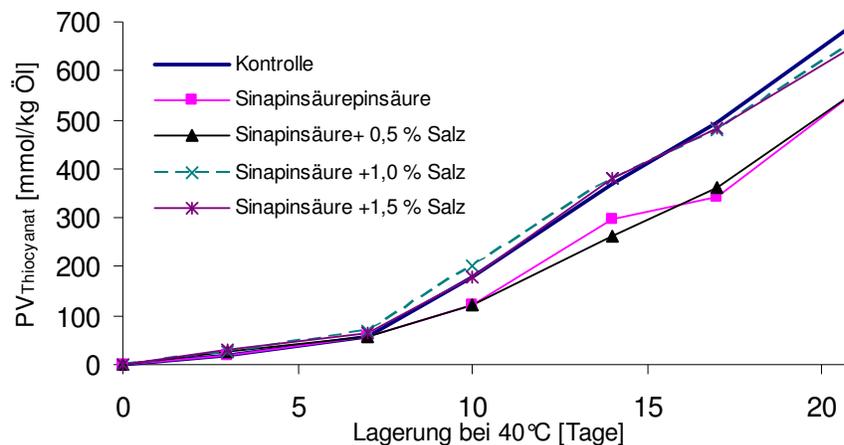


Abb. 33: Hydroperoxidbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP40 und 250 $\mu\text{mol/l}$ Öl Sinapinsäure bei 40°C und unterschiedlichen Salzkonzentration (0,5 %; 1,0 % und 1,5 %) (n=3)

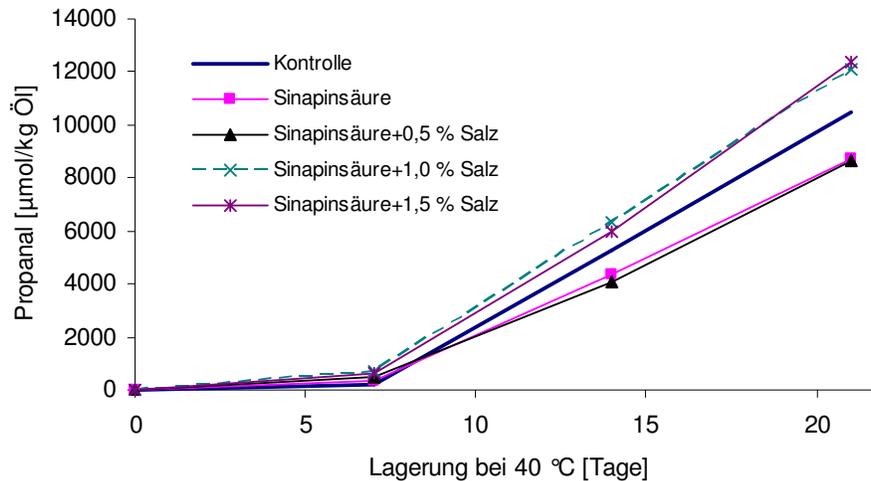


Abb. 34: Propanalbildung in einer Emulsion mit dem Emulgator HP 40 und 250 µmol/l Öl Sinapinsäure bei 40°C und unterschiedlichen Salzkonzentration (0,5 %; 1,0 % und 1,5 %) (n=2)

1.4.4 Freisetzung flüchtiger Oxidationsprodukte in Abhängigkeit der Systemzusammensetzung

Vorangegangene Untersuchungen in diesem Teilprojekt haben gezeigt, dass Öle und Ölprodukte, die mit hochungesättigten Fettsäuren angereichert worden sind, ein erhebliches Off-Flavours entwickeln können, bevor ein oxidativer Verderb anhand von Leitsubstanzen nachgewiesen werden kann. Da die Freisetzung flüchtiger Oxidationsprodukte im Besonderen durch die Zusammensetzung des Lebensmittels beeinflusst wird, war ein Ziel dieses Teilprojektes, eine Kombination von Lebensmitteladditiven zu finden, die die Freisetzung flüchtiger Komponenten weitgehend reduziert. Hierzu wurde der Einfluss der Lebensmitteladditive auf die Freisetzung untersucht, die im Wesentlichen bei der Margarineherstellung eingesetzt werden.

Dazu wurden bekannte Mengen typischer Leitsubstanzen für sekundäre Oxidationsprodukte in verschieden zusammengesetzte Systeme gegeben und mittels Headspace-GC deren Freisetzung bestimmt. Als Kontrolle wurde jeweils die Freisetzung dieser Substanzen, die in Form von Stammlösungen der Systeme zugesetzt wurden, in reinem Öl und in reinem Acetatpuffer verfolgt.

1.4.4.1 Einfluss der Ölkonzentration auf die Freisetzung sekundärer Lipidoxidationsprodukte

Abhängig von der Struktur der Verbindungen und der Kettenlänge der Moleküle wurden die Substanzen unterschiedlich aus der Ölphase freigesetzt (Abb. 35 und Abb. 36). Bei den Aldehyden wurden die längerkettigen und somit hydrophoberen Verbindungen stärker zurückgehalten (Propanal < Pentanal < Hexanal). Der Einfluss der Größe und Hydrophobizität auf die Freisetzung flüchtiger Verbindungen aus ölhaltigen Systemen wurde festgestellt. Pentan zählt zu den Alkanen und ist ein lipophiles Molekül. Obwohl hier die gleiche Kettenlänge wie bei Pentanal vorliegt, wurde Pentan ähnlich stark wie Propanal freigesetzt. So kann bestätigt werden, dass neben der Kettenlänge auch die Art der Verbindung eine Rolle bei der Freisetzung spielt.

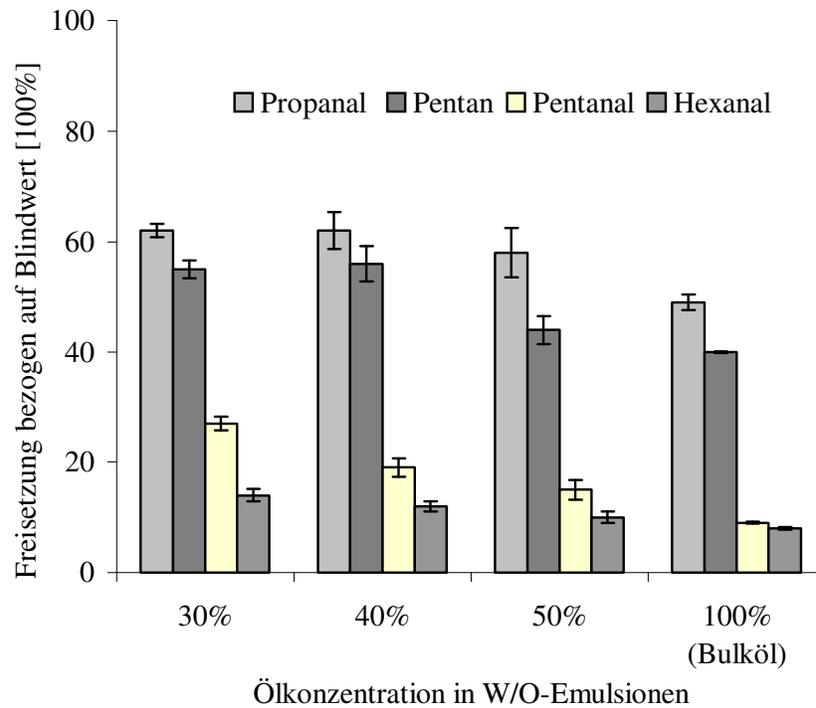


Abb. 35: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus W/O-Emulsionen in Abhängigkeit verschiedener Ölkonzentrationen im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

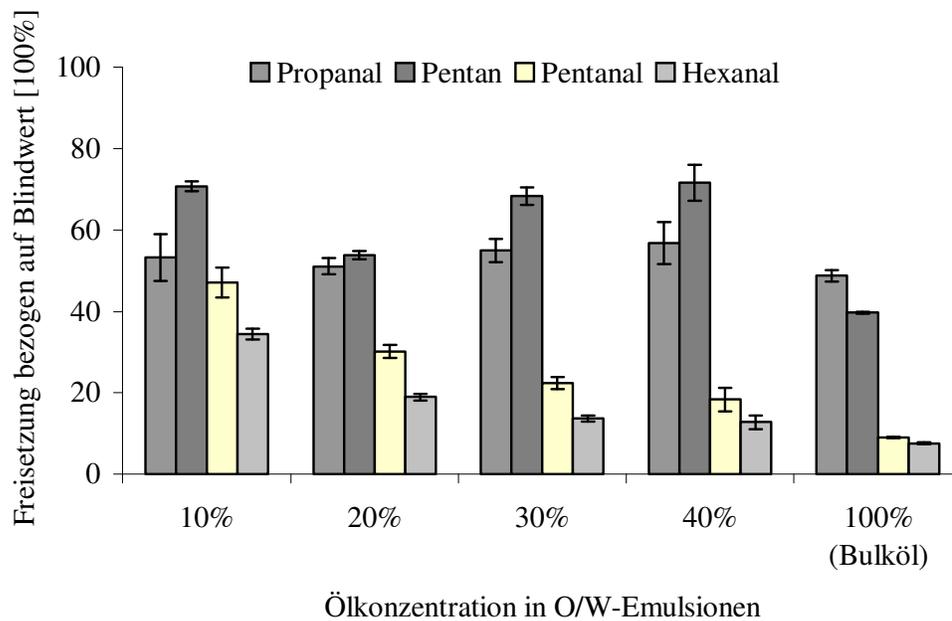


Abb. 36: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus O/W-Emulsionen in Abhängigkeit verschiedener Ölkonzentrationen im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

Ein Anstieg der Ölkonzentration in Emulsionen führte zu einer geringeren Freisetzung bei den hydrophoberen Verbindungen. Keinen Einfluss auf unterschiedliche Ölgehalte zeigten die hydrophileren Verbindungen. Der gleiche Effekt wurde sowohl bei W/O- (Abb. 35) als auch bei O/W-Emulsionen beobachtet (Abb. 36). Bei Propanal und Pentan kann angenommen werden, dass erst ab einer Ölkonzentration von 50% die Freisetzung aus den Emulsionen beeinflusst wird. Dies war tendenziell in W/O- Emulsionen zu bemerken (Abb. 35).

Eine niedrigere Freisetzung aus O/W- als aus W/O- Systemen mit gleichem Ölgehalt, Partikelgröße und Emulgator wurde von Salvador et al. (1994) festgestellt und durch unterschiedliche Raten des Massentransfers durch die Grenzflächen erklärt. In dieser Arbeit ergaben sich bei den Aldehyden annähernd identische Freisetzungen aus den verschiedenen Emulsionstypen mit gleichem Ölgehalt.

1.4.6.2 Einfluss des Emulgators auf die Freisetzung sekundärer Lipidoxidationsprodukte

Es konnten geringe Effekte durch den Einsatz verschiedener Emulgatoren auf die Freisetzung der untersuchten flüchtigen Verbindungen beobachtet werden. Die Emulgatoren, bestehend aus einem Mono- und Diglyceridgemisch von Speisefettsäuren, wie HP (GRINSTED Mono-Di HP 40-1: Mono- und Diglyceride, auf Basis gehärtetem Palmöl, Monoglyceridgehalt: min. 40 % Danisco), S6 (Dimodan 85-S6: (Mono- und Diglyceride, auf Basis gehärtetem Palmöl, Monoglyceridgehalt: min. 85 %, Danisco) und Citrem (GRINSTED CITREM N 12: Mono- und Diglyceride verestert mit min. 13 % Citronensäure, Danisco) zeigten höhere Freisetzungen aus den W/O- Systemen als der Emulgator Isolan GO (Polyglyceryl-3 Oleate, Degussa/Goldschmidt) (Abb. 37). Dabei wurden außer für Pentan für den neutralen Emulgator HP und den anionischen Emulgator Citrem gleiche Freisetzungen beobachtet. Eine Ausnahme zeigte hier allerdings der Einsatz des Emulgators S6, welcher im Vergleich zu den andern Emulgatoren höhere Freisetzungen bei allen vier flüchtigen Verbindungen bewirkte. Auffällig war die verringerte Freisetzung von Propanal und Pentan durch den Einsatz von Isolan GO aus W/O- Emulsionen. Hier wurde eine geringere Konzentration an freigesetztem Propanal als bei Bulköl festgestellt. Bei den O/W- Emulsionen konnte eine tendenziell geringere Freisetzung von Pentanal und Hexanal durch anionische Emulgatoren festgestellt werden (Abb. 38).

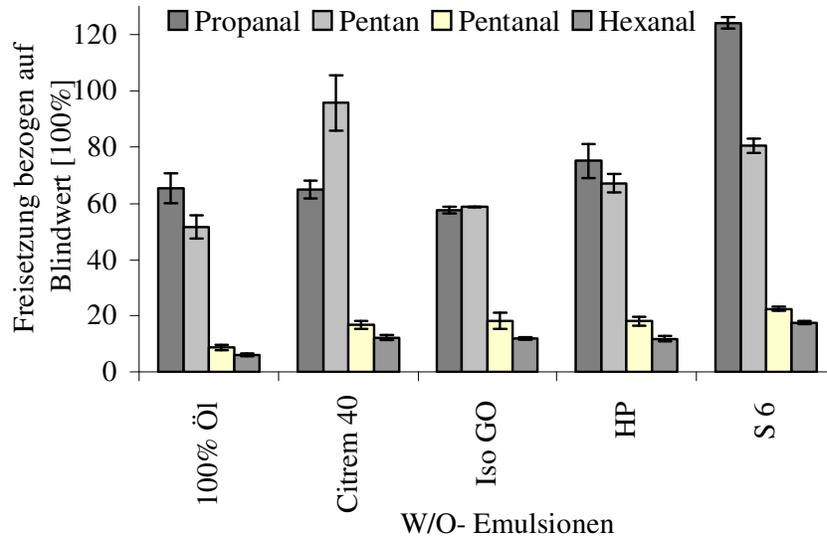


Abb. 37: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus 100% Öl und W/O-Emulsionen in Abhängigkeit verschiedener Emulgatoren (verschiedene Mono- und Diglyceride) im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

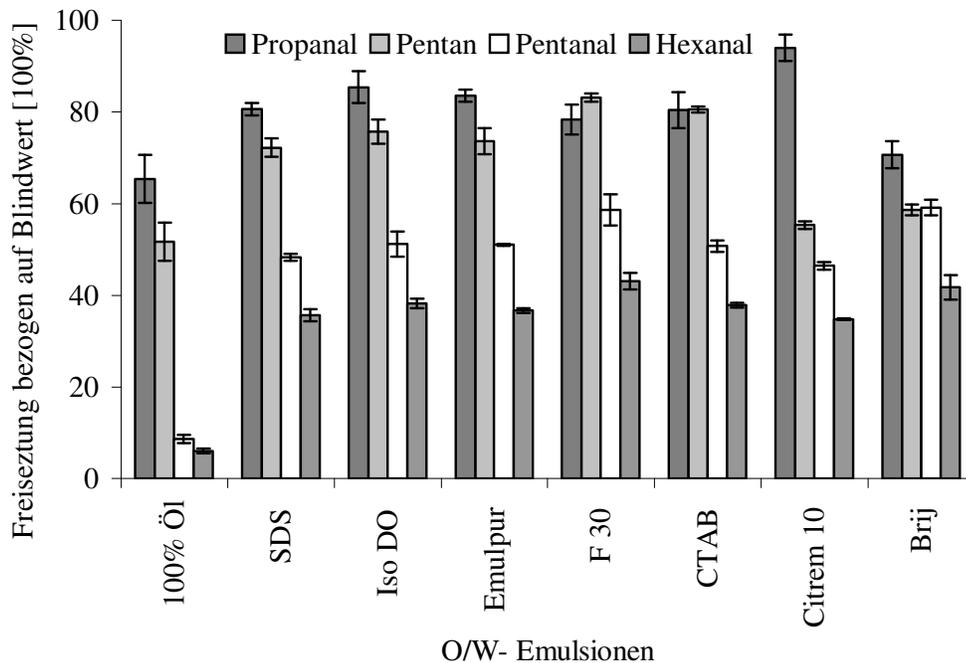


Abb. 38: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus reinem Öl und O/W-Emulsionen in Abhängigkeit verschiedener Emulgatoren im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

In O/W- Emulsionen konnte mit steigender Emulgatorkonzentration eine tendenziell geringere Freisetzung der flüchtigen Aldehyde erreicht werden (0,5% > 1% > 1,5% > 2%) (ohne Abb.). Ebenso konnte ein Unterschied zwischen einzelnen Verbindungsklassen und innerhalb homologer Reihen festgestellt werden. So wurde vor allem die Freisetzung von Propanal durch eine Konzentrationserhöhung an Emulgator verringert. Die verminderte Freisetzung von flüchtigen

Verbindungen mit ansteigender Emulgatorkonzentration könnte durch eine höhere Konzentration an Micellen in der wässrigen Phase, d.h. ein höheres Volumen der Pseudophase, verursacht werden (van Ruth et al., 2002).

Eine Erhöhung der Emulgatorkonzentration in W/O- Emulsionen (ohne Abb.) zeigte nicht den gleichen Effekt auf die Flüchtigkeit der Verbindungen, wie er in O/W- Emulsionen beobachtet werden konnte. Propanal wurde tendenziell bei einer Erhöhung der Emulgatorkonzentration vermehrt aus W/O- Emulsionen freigesetzt ($0,5\% < 1\% < 1,5\% < 2\%$), die größten Differenzen wurden auch hier zwischen höchster und niedrigster Emulgatorkonzentration beobachtet. Pentan, Pentanal und Hexanal wiesen erst ab einer Konzentration von 2% Emulgator eine verringerte Freisetzung auf. Da in W/O- Emulsionen die Ölkonzentration höher ist als in O/W- Emulsionen (40% : 10%), könnte angenommen werden, dass hier die Affinität der hydrophoberen Verbindungen an die Ölphase überwiegt, so dass keine Unterschiede erfassbar waren (Landy et al., 1996).

In den meisten Studien wurde bisher die Affinität flüchtiger Verbindungen an Proteine in wässriger Lösung untersucht (Cheftel et al., 1985; Jasinski et al., 1986; Rogacheva et al, 1998; Agboola and Dalgleish, 1995). Hier konnten diverse Wechselwirkungen zwischen Proteinen und flüchtigen Verbindungen festgestellt werden. Wurden Proteine als Emulgatoren verwendet, traten Wechselwirkungen mit den flüchtigen Verbindungen an der Grenzfläche auf. Ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Proteinarten auf die Freisetzung aus o/w-Emulsionen konnte jedoch nicht beobachtet werden (Abb. 39).

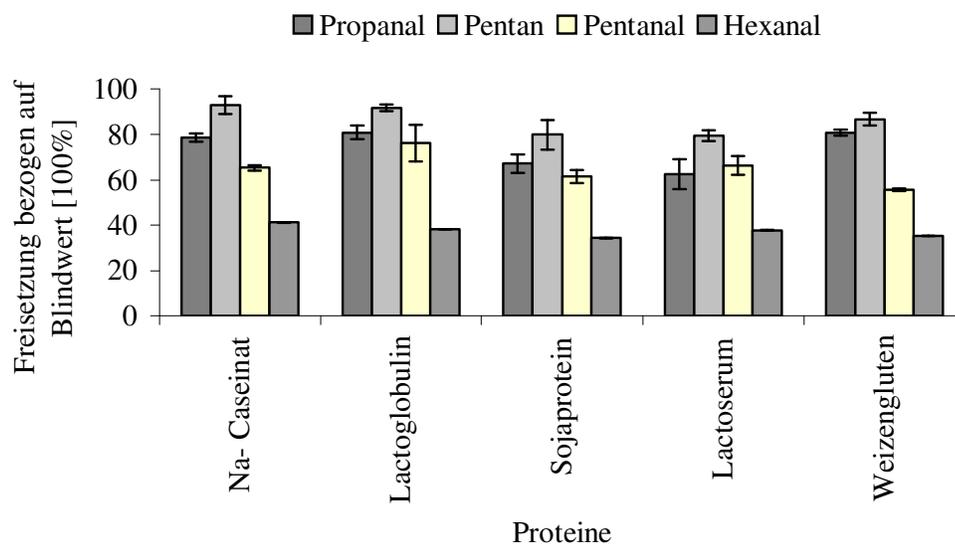


Abb. 39: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus O/W-Emulsionen in Abhängigkeit verschiedener Proteine im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

Wie schon für wässrige Lösungen festgestellt (Damodaran and Kinsella, 1981), wurden durch Sojaprotein und Weizengluten tendenziell geringere Mengen an sekundären Oxidationsprodukten aus O/W- Emulsionen freigesetzt. Bei einem Vergleich der Milchproteine untereinander konnte nicht bestätigt werden, dass β -Lactoglobulin auch in O/W- Emulsionen mehr Bindungsstellen für

Aldehyde besitzt als α -Lactoserum, da generell mit β -Lactoglobulin die größten Konzentrationen freigesetzt werden konnten (Abb. 39).

1.4.4.3 Einfluss der Viskosität auf die Freisetzung sekundärer Lipidoxidationsprodukte

Unterschiedliche Viskositäten der Systeme können ebenfalls einen Effekt auf die Aromafreisetzung haben (Rogacheva et al., 1999). Auffällig bei der Freisetzung aus O/W-Systemen war, dass durch eine Viskositätserhöhung mittels Hydrokolloide im Besonderen Hexanal weniger stark freigesetzt wurde (Abb. 40 und Abb. 41). Teilweise waren Unterschiede zwischen Gelier- und Verdickungsmitteln zu erkennen. Konnten diese Verbindungen in O/W-Emulsionen (Abb. 41) stärker durch Verdickungsmittel zurückgehalten werden, war in W/O-Emulsionen (Abb. 40) eine größer Rückhaltung durch gelierfähige Mittel zu erkennen. Da Xanthan und Guar hochviskose Lösungen ausbilden können, könnte somit ein höherer Viskositätsanstieg der kontinuierlichen Phase in O/W-Emulsionen Grund für die hier stärkere Rückhaltung sein.

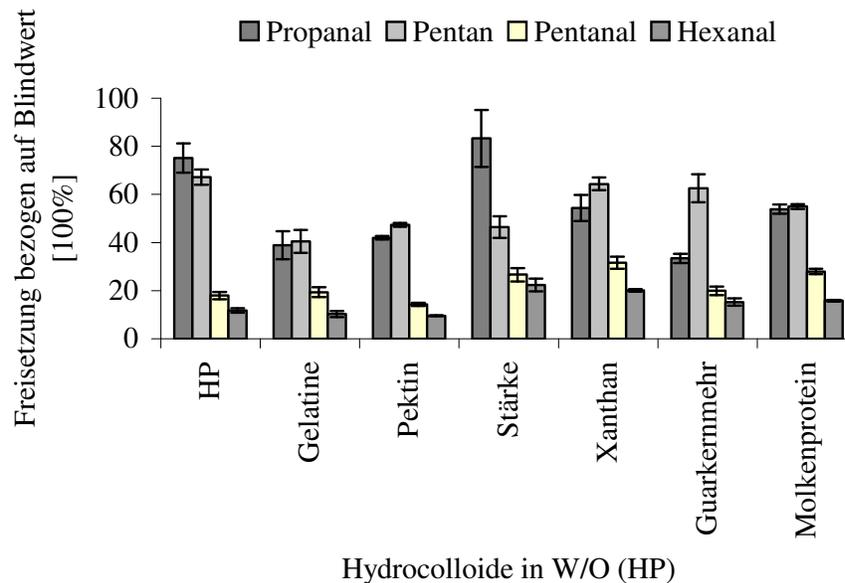


Abb. 40: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus W/O-Emulsionen (Emulgator: HP40 = Mono- und Diglycerid) in Abhängigkeit verschiedener Hydrokolloide im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

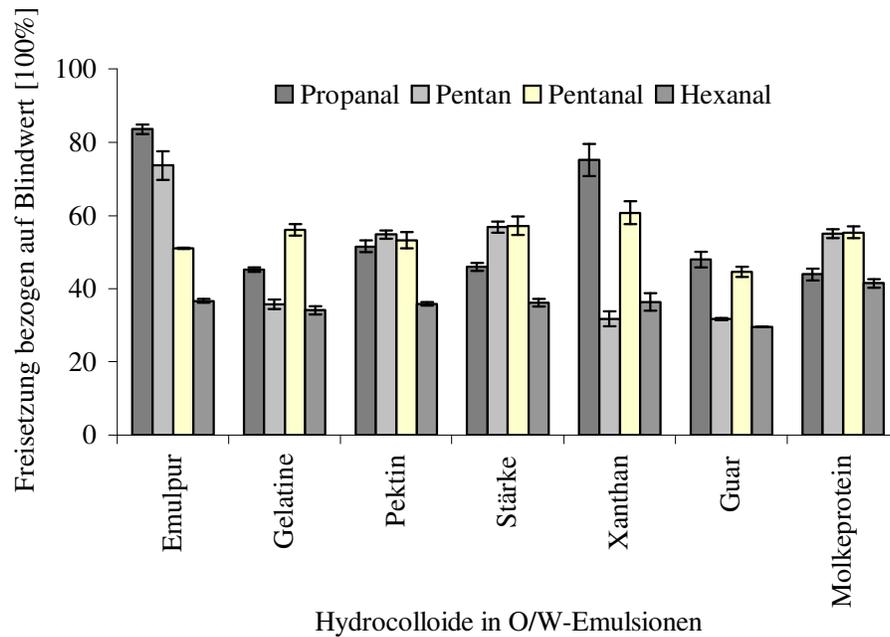


Abb. 41: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus O/W-Emulsionen (Emulgator: Emulpur = Lecithin) in Abhängigkeit verschiedener Hydrokolloide im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

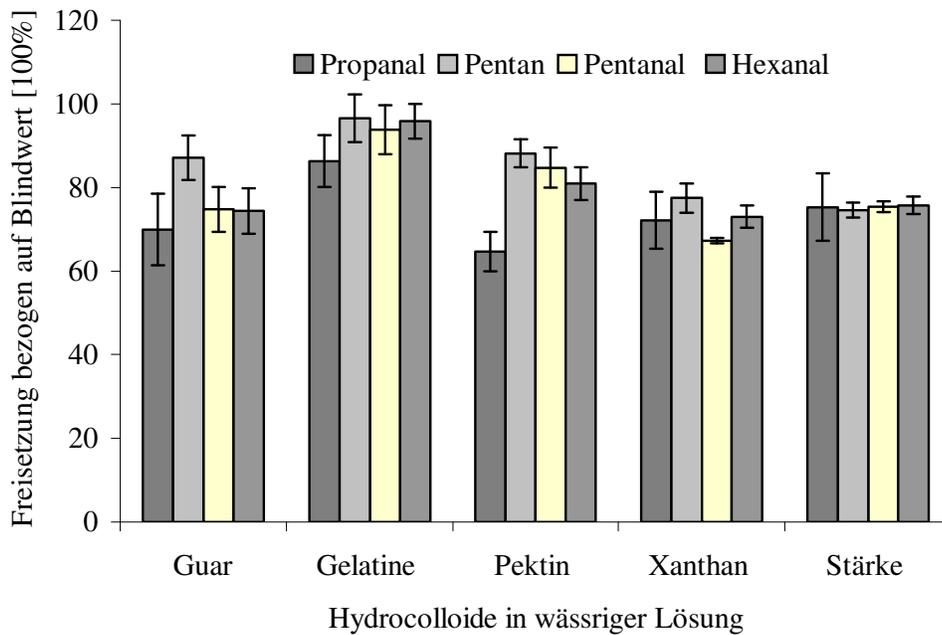


Abb. 42: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus wässrigen Lösungen in Abhängigkeit verschiedener Hydrokolloide im Vergleich zu reinem Acetatpuffer zum Blindwert (Acetatpuffer).

Je hydrophober die flüchtigen Verbindungen sind, desto geringer war der Einfluss von Hydrokolloiden auf ihre Freisetzung (Abb. 42). Hier konnte teilweise ein Anstieg der freigesetzten Konzentrationen beobachtet werden. Solange keine Ölphase in den Systemen vorhanden ist, tritt die

unterschiedliche Affinität der Verbindungen an diese in den Hintergrund (Otake et al., 1998). In den vorliegenden Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die Viskosität vor allem die Freisetzung von Propanal beeinflusst (Abb. 42). Aus Gelatine- Lösungen wurde generell am meisten freigesetzt. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass die Gelatinelösungen keine Gallerte ausgebildet hatte.

1.4.4.4 Einfluss des Salzgehaltes auf die Freisetzung sekundärer Lipidoxidationsprodukte

Für O/W- und W/O- Emulsionen wurde ein unterschiedlicher Einfluss der Salzkonzentration festgestellt. Es konnte eine verstärkte Freisetzung aus O/W- Emulsionen mit der Erhöhung der Salzkonzentration von 0,5 % auf 1 % gezeigt werden (Abb. 44), was auf die Fähigkeit des Salzes, den Gasdruck der flüchtigen Verbindungen zu erhöhen erklärt werden könnte und somit zu einer stärkeren Diffusion aus den Emulsionen in die Gasphase führt. Die Zugabe von 1 % Salz führt jedoch zu einer ähnlich hohe Freisetzung wie in einer Kontrollemulsion ohne Salzzugabe, so dass eine Salzzugabe bis zu 1 % keine signifikante Auswirkung auf die Freisetzung aus O/W- Emulsionen hat. Eine Erhöhung der Salzkonzentration in W/O- Emulsionen zeigte teilweise einen gegenläufigen Effekt (Abb. 43). Pentanal und Hexanal wurden nicht durch den Salzgehalt beeinflusst, wohingegen Propanal und Pentan stärker zurückgehalten wurden.

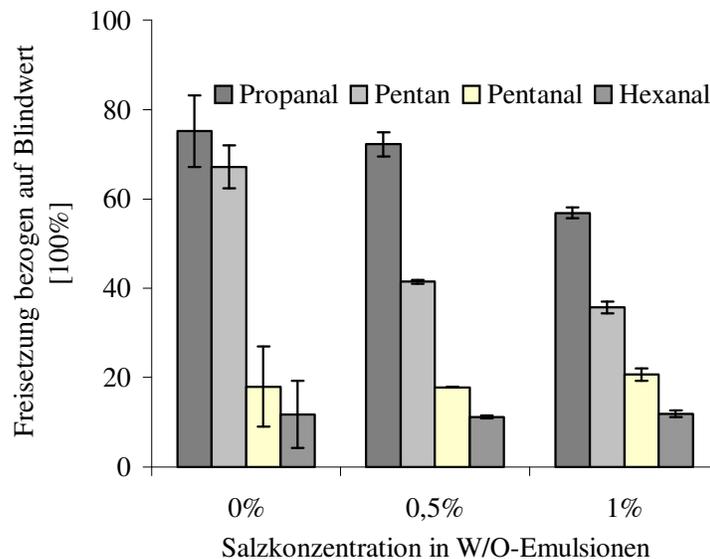


Abb. 43: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus W/O-Emulsionen (Emulgator: HP40 = Mono- und Diglycerid) in Abhängigkeit verschiedener Salzkonzentrationen im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

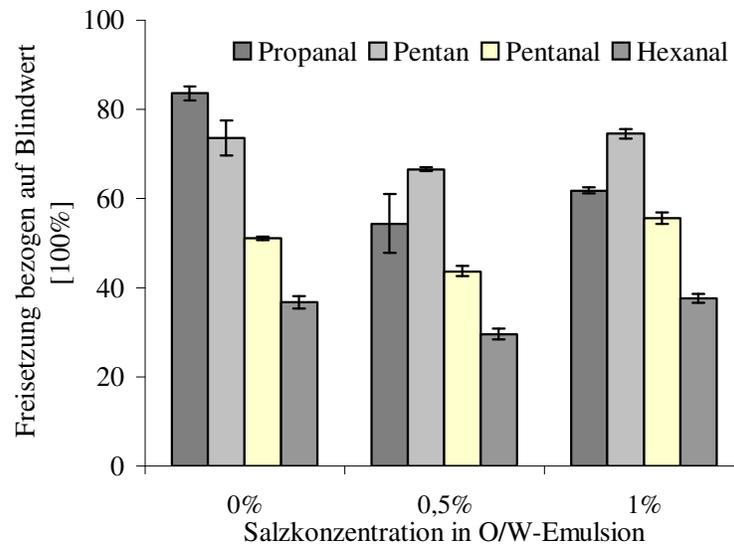


Abb. 44: Relative Freisetzung von flüchtigen Verbindungen aus O/W-Emulsionen (Emulgator: Emulpur = Lecithin) in Abhängigkeit verschiedener Salzkonzentrationen im Vergleich zum Blindwert (Acetatpuffer).

2 Eingehende Darstellung des voraussichtlichen Nutzens, Verwertbarkeit der Ergebnisse

Aus den erhaltenen Ergebnissen konnten zum einen Aussagen über die Qualität der angereicherten Öle während der Durchführung der Tier- und Humanstudien gemacht werden, zum anderen ist es gelungen Wege aufzuzeigen, mit Hilfe von rapeseigenen Antioxidantien erfolgreich ein mit LCPUFA angereichertes Modellöl und Modellemulsionen gegenüber der Lipidoxidation zu stabilisieren.

2.1 Ölstabilität von niedriger (5%) und höher (12%) mit LCPUFA angereicherten Rapsölen unter verschiedenen Lagerungsbedingungen

Die Stabilität von Ölen, dotiert mit hochungesättigten Fettsäuren (LC-PUFA), nimmt deutlich ab auch bei Lagerung unter Lichtabschluss und bei niedrigeren Temperaturen wie Kühlschranktemperaturen. Bei einer längeren Lagerung dieser Öle wäre im Hinblick auf die hohe Dotierung sowohl mit ca. 12% LCPUFA als auch mit 5% LCPUFA der bereits zugegebene sehr hohe Gehalt an Tocopherolen nicht ausreichend. Die Tocopherole wurden relativ schnell abgebaut, was einen Anstieg der Hydroperoxidkonzentrationen sowie der für den Off-Flavours verantwortlichen sekundären (flüchtigen) Oxidationsprodukte nach sich zog. Es konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zur niedrigeren Dotierung mit 5% LCPUFA eine 12%ige Dotierung auch in etwa eine doppelte Oxidationsgeschwindigkeit hervorrief. Eine Anreicherung von Ölen mit LCPUFA muss daher mit anderen bzw. in Kombination mit Antioxidantien vorgenommen werden, so erwiesen sich die Antioxidantien in der Reihenfolge TROLOX > Kaffeesäure > Sinapinsäure > α/γ -

Tocopherol > α -Tocopherol > Ferulasäure effektiver als die eingesetzte Tocopherol Mischung Covi-ox® T-70. In reinem Öl sind daher die im Raps natürlich vorkommende Mischung aus α/γ -Tocopherol als auch die Sinapinsäure, welche durch die Spaltung des isolierten Sinapins aus dem Rapskuchen gewonnen werden kann, als sinnvolle Antioxidantien einzusetzen, um die Lipidoxidation effizient unter Lichtausschluss aber auch unter Einwirkung von Licht zu reduzieren.

2.2 Qualitätsmonitoring der Öle und Ölprodukte während der Tier- und Humanstudien

Während der Tierstudien war eine gleich bleibende Qualität der Öle und des Tierfutters gewahrt. Für die kaltverzehrten Öle und Ölprodukte während der 1. Humanstudie war bei Einhaltung der vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen keine Veränderung des Oxidationsstatus festzustellen. Die *thermisch behandelten* dotierten Ölprodukte zeigten jedoch bereits bei geringer Hitzezufuhr eine starke Off-Flavour Bildung. Allerdings wiesen hier noch nicht alle Öle mit einem Off-Flavour auch einen oxidativen Verderb auf. Margarinen behielten während der Erhitzung länger ihren typischen Geruch als die vergleichbaren Öle. Daher könnte der Einsatz von Margarinen für die Zubereitung von erhitzten Lebensmitteln die Off-Flavours Problematik reduzieren.

2.3 Bedeutung rapseigener Phenole zur Stabilisierung gegen Lipidoxidation

Mit Zusatz von Fraktionen aus einem Rapspresskuchenextrakt konnte eine oxidative Stabilisierung von Rapsöl, das mit ω -3 Fettsäuren angereichert worden ist, erreicht werden. Die Untersuchungen bezogen sich sowohl auf Bulköl als auch auf W/O-Emulsion. Fraktionen, die reich an freier Sinapinsäure sind, wiesen höhere antioxidative Aktivitäten auf als die Fraktion, in der Sinapinsäure in gebundener Form vorkommt. Es wäre daher denkbar, mit Extrakten aus dem Rapskuchen verschiedene Lebensmittelsysteme (homogene Öle oder Emulsionssysteme) zu stabilisieren und somit synthetische Antioxidantien durch Antioxidantien natürlichen Ursprungs zu ersetzen.

2.4 Stabilisierung von Modellmargarinen durch gezielt eingesetzte, margarinetypische Lebensmittelinhaltsstoffe

2.4.1 Stabilisierung durch margarinetypische Lebensmittelinhaltsstoffe

Es konnte für ein selbstentwickeltes Modellöl mit ähnlicher Fettsäurezusammensetzung wie die Modellöle in den Tier- und Humanstudien gezeigt werden, dass die antioxidative Wirksamkeit der eingesetzten Antioxidantien systemabhängig ist (Bulköl vs. Emulsion) und dass Lebensmittelinhaltsstoffe einen Einfluss auf die Antioxidansaktivität ausüben. Es wurden Lebensmitteladditive untersucht, die bei der Margarineherstellung eingesetzt werden wie verschiedene Emulgatoren (Mono- und Diglyceriden und Lecithine), Antioxidantien (Hydroxyzimtsäuren und Tocopherol), Synergisten, (Citrat, EDTA, Ascorbinsäure, Ascorbylpalmitat) und Salz.

Im Besonderen erwies sich Sinapinsäure als reines Antioxidans aber auch Extrakte aus Rapspresskuchen reich an freier Sinapinsäure als wirksam in dotierten Emulsionen die Lipidoxidation zu reduzieren. Zusätzlich konnte in einer Emulsion mit dem Mono- und Diglycerid HP 40 die Wirksamkeit von Sinapinsäure in Bezug auf die Inhibierung von primären Oxidationsprodukten durch Citrat und EDTA um das vierfache erhöht werden. Da es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen 0,25 % - 1 % Citrat und EDTA gab, kann Citrat alternativ zu EDTA eingesetzt werden, da EDTA nicht in allen Ländern zur Herstellung von Margarine zugelassen ist. Für Guar, Pektin und Molkenproteinen konnte kein nachteiliger Effekt auf die Oxidation in low-fat-Emulsionen, die als Modelle für low-fat-Margarine dienten, festgestellt werden. Es ist daher möglich, nicht nur Vollfettmargarinen mit LCPUFA durch Sinapinsäure und Citronensäure zu stabilisieren sondern auch Halbfettmargarinen. Zudem können auch leicht gesalzene Margarinen stabilisiert werden, da bei einer Salzkonzentration von bis zu 0,5% die Aktivität der Sinapinsäure nicht beeinflusst wird.

2.4.2 Reduzierung der Freisetzung von sekundärer Lipidoxidationsprodukte in „low-fat“-Produkten

Anhand der erzielten Ergebnisse kann eine Empfehlung für die Herstellung für „low-fat“-Produkt gegeben werden, die die Freisetzung von sekundären Lipidoxidationsprodukte reduziert.

Wird der Ölgehalt eines Lebensmittels reduziert, hat dies unterschiedliche Auswirkungen auf die Freisetzung von flüchtigen Aromamolekülen. Je nach Hydrophobizität der Verbindung werden diese mehr oder weniger durch die Ölphase eines Systems zurückgehalten. So ist bei der Erstellung eines optimalen Systems die Art der Verbindung zu beachten. Ebenso muss die Struktur des Lebensmittels (W/O- oder O/W- System) in die Überlegung miteinbezogen werden.

Sollen vor allem hydrophobe Verbindungen in O/W- Systemen (10% Öl) zurückgehalten werden, empfiehlt sich ein Einsatz von anionischen Emulgatoren, ebenso können steigende Emulgatorkonzentrationen die Rückhaltung der flüchtigen Verbindungen positiv beeinflussen. Hydrophile Verbindungen könnten vor allem durch den Einsatz von Geliermitteln gezielt in O/W- Systemen zurückgehalten werden, hier wirkt sich ein Anstieg der Viskosität der wässrigen Phase positiv auf eine verringerte Freisetzung aus. Tendenziell kann sich der Einsatz von Pflanzenproteinen statt Milchproteinen günstiger auf die Rückhaltung der flüchtigen Verbindungen auswirken.

Bei einer Erhöhung des Ölgehaltes auf 40% in W/O- Systemen überwiegt der Einfluss der höheren Ölkonzentration alle anderen Effekte, die eine Auswirkung bei einem Ölgehalt von 10% aufweisen. Es kann keine weitere Reduktion der Freisetzung von sekundären Oxidationsprodukten, der über den Einfluss einer erhöhten Ölkonzentration hinausgeht, erreicht werden. Allerdings können hydrophilere Verbindungen auch bei einem Ölgehalt von 40% durch eine Viskositätserhöhung in den Systemen zurückgehalten werden, bevorzugt durch Verdickungsmittel.

Die Zugabe von Salz in 40%igen W/O-Systemen zeigte einen positiven Effekt auf eine verringerte Freisetzung, während durch eine Salzzugabe in 10%igen O/W-Emulsionen keine signifikante Beeinflussung der Freisetzung erfolgte.

3 Eingehende Darstellung der bekannt gewordenen Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Aus einem parallelen DAAD-Forschungsprojekt, das von Frau Dr. Usha Thiyam am Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde durchgeführt wurde, konnten Erkenntnisse zur Fraktionierung von Rapspresskuchen erzielt werden, die als Grundlage für dieses Projekt genutzt werden konnten. Die relevanten Ergebnisse sind im Rahmen dieses Berichtes genannt und als solche gekennzeichnet.

4 Eingehende Darstellung der erfolgten oder geplanten Veröffentlichung der Ergebnisse

4.1 Erfolgte Veröffentlichungen:

Es sind bisher keine Veröffentlichung in peer-reviewed Zeitschriften erfolgt.

4.1.2. Bachelor-, Master- und Doktorarbeiten

Voelkner, Kaija (2003) Freisetzung flüchtiger Lipidoxidationsprodukte aus Modellemulsionen in Abhängigkeit verschiedener Lebensmittelinhaltsstoffe. Bachelorarbeit am Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde der Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät Christian- Albrechts- Universität Kiel

Kiosz, Julia (2003): Auswirkung thermischer Behandlung auf die Stabilität von omega-3-Fettsäuren in Ölen und Magarinen. Bachelorarbeit am Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde der Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät Christian- Albrechts- Universität Kiel

Elbel, Cornelia (2004)

Masterarbeit, Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde der Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät Christian- Albrechts- Universität Kiel

Thiyam, Usha (2005): Antioxidative compounds of rapeseed oil by-products for stabilization of rapeseed bulk oil and emulsion. Dissertation an der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät, Christian- Albrechts- Universität Kiel

4.1.2. Tagungsbeiträge:

Heins, A.; McPhail, D.B.; Stöckmann, H. and Schwarz, K. (2005): Activity of Antioxidants as a Function of their Solubilization in Model Emulsions. Poster Presentation on the 26th World Congress and Exhibition of the ISF, 25-28. September 2005, Prague, Czech Republic

Schwarz, K., Stoeckmann, H., Thiyam, U., Heins, A., Ohm, V.A and K. Oehlke (2005). Antioxidant action of endogenous phenolic compounds in rapeseed oil products. Invited lecture on the 26th World Congress and Exhibition of the ISF, 25-28. September 2005, Prague, Czech Republic

4.2 Geplante Veröffentlichungen:

Heins, A; Stöckmann, H und Schwarz, K. Evaluation of analytical methods for lipid oxidation measurement, Eur J Lipid Science Technol

Elbel, C; Heins, A; Stöckmann, H und Schwarz, K. Activity of Hydroxycinnamic acids in W/O and O/W Emulsions, Eur J Lipid Science Technol

Literatur

Agboola, S. O.; Dalglish, D. G. (1995): Calcium induced destabilization of oil-in- water emulsions stabilized by caseinate or by β - lactoglobulin. J. Food Sci., 1995, 60(2), 399- 404

Barclay, L.R.C. and Vinqvist, M.R. (1994). Membran peroxidation: Inhibiting effects of water-soluble antioxidants on phospholipids of different charge types. Free Rad. Bio. Med., 16, 779-788.

Barclay, L.R.C., Artz, J.D. and Mowat, J.J. (1995). Partition and antioxidant action of the water-soluble antioxidant trolox between the aqueous and lipid phases of phosphatidylcholine membranes. ^{14}C tracer and product studies. Biochim. Biophys. Acta, 1237, 77-85.

Damodaran, Srinivasan; Kinsella, John E. (1981): Interaction of carbonyls with soy protein: thermodynamic effects. J. Agric. Food Chem., 1981, 29, 1249- 1253

Eberler, S.E.; Pangborn, R. M. and Jennings, W. G. (1987): Influence of dispersion medium on aroma intensity and headspace concentration of menthone and isoamyl acetate. J. Agric. Food Chem., 1988, 36: 791-796

Frankel, E.N., Parks, E.J., Xu, R., Schneemann, B.O., Davis, P.A. and German, J.B. (1994). Effect of n-3 fatty acid-rich fish oil supplementation on the oxidation of low density lipoproteins. Lipids, 29, 233-236.

Frankel, E.N. (1998). Lipid oxidation. The oily press LTD: Dundee.

Frankel, E.N., Satué-Gracia, T., Meyer, A.S. and German, B. (2002). Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. J. Agric. Food Chem., 50, 2094-2099

Hartvigsen, K., Lund, P., Hansen, L.F. and Holmer, G. (2000). Dynamic headspace gas chromatography/mass spectrometry characterization of volatiles produced in fish oil enriched mayonnaise during storage. J. Agric. Food Chem., 48, 4858-4867.

Iwatsuki, M., Tsuchiya, J., Komuro, E., Yamamoto, Y. and Niki, E. (1994). Effects of solvents and media on the antioxidant activity of α -tocopherol. Biochim. Biophys. Acta, 1200, 19-26.

Jasinski, E. and Kilara, A. (1985): Flavor binding by whey proteins. Milchwissenschaft, 1985, 40 (10): 596-599

Karahadian, C. and Lindsay, R.C. (1989). Evaluation of compounds contributing characterizing fishy flavors in fish oils. JAOCS, 66, 953-960.

Koski, A., Psomiadou, E., Tsimidou, M., Hopia, A.I., Kefalas, P., Wähälä, K. and Heinonen, M. (2002). Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. Euro. Food Res. Technol., 214, 294-298.

Landy, P.; Courthaudon, J.L.; Dubois, C.e and Voilley, A. (1995): Effect of Interface in Model Food Emulsions on the Volatility of Aroma Compounds. J. Agric. Food Chem., 1996, 44: 526-530

Odake, S.; Roozen, J.P. and Burger, J.J. (1998): Effect of salvia dilution on the release of diacetyl and 2- heptanone from cream style dressings. Nahrung, 1998, 42, 385- 391

Polewski, K., Kniat, S. and Slawinska, D. (2002). Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous and micellar environment: spectroscopic studies. *Curr. Top Biophys.*, 26, 217-227.

Pryor, W.A., Cornicelli, J.A., Devall, L.J., Tait, B., Trivedi, B.K., Witiak, D.T. and Wu, A. (1993). A rapid screening test to determine the antioxidant potencies of natural and synthetic antioxidants. *J. Org. Chem.*, 110, 2224-2229.

Pryor, W.A., Strickland, T. and Church, D.F. (1988). Comparisons of the efficiencies of several natural and synthetic antioxidants in aqueous sodium dodecyl sulfate micelle solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2224-2229.

Rogacheva, S.; Espinosa-Diaz, M.A.; Voilley, A. (1998): Transfer of Aroma Compounds in Water- Lipid Systems: Binding Tendency of β - Lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47:259-263

Schwarz, K.; Huang, S.W.; Tiersch, B.; Hartmann, J.; German, J.B. and Frankel, E.N.(2000) Colloidal properties of o/w and w/o emulsion affect the activity of antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 48:4874-4882

Stöckmann, H. and Schwarz, K. (1999). Partitioning of low molecular weight compounds in o/w emulsions. *Langmuir*, 15, 6142-6149

Stöckmann, H.; Schwarz, K. und Huynh-Ba, T. (2000) The influence of various emulsifiers on the partitioning and antioxidant activity of hydroxybenzoic acids and their derivatives in oil-in-water emulsions. *JAACS*, 77 (5):535-542

Thiyam, U., Kuhlmann, A., Stöckmann, H., Schwarz, K. (2004): Prospects of rapeseed oil by-products with respect to antioxidative potential. *Elsevier SAS , C. R. Chemie* 7, 2004, S. 611 - 616

van Ruth, S.M.; de Vries, G.; Geary, M.; Giannouli, P. (2002): Influence of composition and structure of oil-in-water emulsions on retention of aroma compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, 82: 1028-1035