



universität  
wien

# MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Optimierung der Produktion von kaltgepressten  
Speiseölen zur Steigerung der oxidativen Stabilität“

verfasst von / submitted by

Raphael Steinschaden, BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the  
degree of

Master of Science (MSc)

Wien, 2019 / Vienna 2019

Studienkennzahl lt. Studienblatt / degree programme  
code as it appears on the student record sheet: A 066 659

Studienrichtung lt. Studienblatt / degree programme  
as it appears on the student record sheet: Masterstudium Lebensmittelchemie

Betreut von / Supervisor:

Ass.-Prof. Mag. Dr. Marc Pignitter

---

## Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Univ.-Prof. Mag. Dr. Veronika Somoza, die meine Masterarbeit am Institut für Physiologische Chemie ermöglicht hat.

Ebenfalls möchte ich mich bei Familie Hoffmann von der Hagenthaler Ölmanufaktur für die gemeinsame Durchführung des Projekts und für die Bereitstellung des Probenmaterials bedanken. Mein Dank gilt auch der FFG für die Förderung dieser Forschungsarbeit (FFG 861530).

Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Ass.-Prof. Mag. Dr. Marc Pignitter für die Betreuung meiner Masterarbeit. Mir wurde dadurch neben einem spannenden und lehrreichen Einblick in die Forschung, auch ein selbstständiges Arbeiten ermöglicht, das mich jeden Tag aufs Neue motivierte das Forschungsprojekt voranzutreiben. Vielen Dank für den freundlichen Umgang und der raschen Problemlösung bei Fragen.

Ein großes Dankeschön gilt zudem Sarah Frühwirth, die sich stets Zeit genommen hat, meine Fragen zu beantworten und dadurch wesentlich zum Erfolg dieser Masterarbeit beigetragen hat. Zusätzlich möchte ich mich für das angenehme Arbeitsklima am Institut bedanken, zu dem alle MitarbeiterInnen beigetragen haben.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie, allen voran meinen Eltern, bedanken, die mein Studium erst ermöglicht und mich stets unterstützt haben.

---

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Danksagung</b> .....                                                       |           |
| <b>Inhaltsverzeichnis</b> .....                                               |           |
| <b>Abbildungsverzeichnis</b> .....                                            | <b>1</b>  |
| <b>Tabellenverzeichnis</b> .....                                              | <b>4</b>  |
| <b>Abkürzungsverzeichnis:</b> .....                                           | <b>5</b>  |
| <b>1 Einleitung und Hypothesen</b> .....                                      | <b>7</b>  |
| <b>2 Literaturübersicht</b> .....                                             | <b>9</b>  |
| 2.1 Produktion von kaltgepressten Ölen .....                                  | 9         |
| 2.2 Oxidative Stabilität.....                                                 | 11        |
| 2.2.1 Autoxidation.....                                                       | 11        |
| 2.2.2 Photooxidation.....                                                     | 13        |
| 2.2.3 Primäre und sekundäre Lipidoxidaionsprodukte .....                      | 13        |
| 2.3 Einflussfaktoren auf die oxidative Stabilität.....                        | 14        |
| 2.3.1 Temperatur .....                                                        | 14        |
| 2.3.2 Sauerstoff.....                                                         | 15        |
| 2.3.3 Licht .....                                                             | 15        |
| 2.3.4 Antioxidantien (Tocopherole und Polyphenole) .....                      | 16        |
| 2.3.5 Verminderung der Oxidation während der Produktion .....                 | 21        |
| 2.4 Aus den Hypothesen abgeleitete Ziele .....                                | 24        |
| 2.4.1 Optimierung während der Pressung .....                                  | 24        |
| 2.4.2 Röstung der Saat .....                                                  | 24        |
| 2.4.3 Extraktion der Polyphenole mit Öl .....                                 | 26        |
| <b>3 Material und Methoden</b> .....                                          | <b>28</b> |
| 3.1 Presssystem.....                                                          | 28        |
| 3.2 Probenmaterial und Lagerbedingungen .....                                 | 33        |
| 3.3 Chemikalien, Verbrauchsmaterialien, Geräte und Software .....             | 34        |
| 3.4 Detaillierte Beschreibungen der Methoden.....                             | 36        |
| 3.4.1 Bestimmung des Gesamtphenolgehalts mittels Folin-Ciocalteu-Assays ..... | 36        |
| 3.4.2 Extraktion des Öls aus dem Presskuchen .....                            | 40        |
| 3.4.3 Bestimmung der Peroxidzahl mittels Titrimetrie .....                    | 41        |
| 3.4.4 Bestimmung des Tocopherolgehaltes mittels RP-HPLC/UV.....               | 42        |

|          |                                                                                                               |            |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.5      | Extraktion mit Öl.....                                                                                        | 45         |
| 3.6      | Bestimmung der Induktionszeit mithilfe eines Rancimats .....                                                  | 46         |
| 3.7      | Statistische Auswertung der Ergebnisse .....                                                                  | 46         |
| <b>4</b> | <b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>                                                                         | <b>47</b>  |
| 4.1      | Optimierung der Pressung während der Produktion .....                                                         | 47         |
| 4.1.1    | Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Polyphenolgehalt in Speiseöl.                                      | 47         |
| 4.1.2    | Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Polyphenolgehalt in Presskuchen .....                              | 49         |
| 4.1.3    | Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Tocopherolgehalt in Speiseöl                                       | 50         |
| 4.1.4    | Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Tocopherolgehalt in Presskuchen .....                              | 53         |
| 4.1.5    | Einfluss eines optimierten Pressvorgangs auf die Peroxidzahl in Speiseöl und Presskuchen .....                | 56         |
| 4.1.6    | Auswirkung der Röstung auf den Polyphenolgehalt in Leinöl .....                                               | 58         |
| 4.1.7    | Auswirkung der Röstung auf den Tocopherolgehalt in Speiseöl .....                                             | 61         |
| 4.1.8    | Auswirkung der Röstung auf den Tocopherolgehalt in Presskuchen.....                                           | 63         |
| 4.1.9    | Auswirkung der Röstung auf die Peroxidzahl .....                                                              | 65         |
| 4.2      | Extraktion von natürlichen Antioxidantien aus dem Presskuchen mit Leinöl ..                                   | 68         |
| 4.2.1    | Einfluss von Zeitdauer einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt .....                                        | 68         |
| 4.2.2    | Einfluss von zugesetztem Ölvolumen einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt .....                            | 69         |
| 4.2.3    | Einfluss einer Ultraschallbehandlung einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt .....                          | 70         |
| 4.2.4    | Einfluss einer mehrfachen Extraktion auf den Polyphenolgehalt.....                                            | 72         |
| 4.2.5    | Einfluss der Dauer einer Extraktion auf den Tocopherolgehalt.....                                             | 73         |
| 4.2.6    | Einfluss von zugesetztem Ölvolumen einer Extraktion aus dem Presskuchen mit Öl auf den Tocopherolgehalt ..... | 75         |
| 4.2.7    | Einfluss einer Ultraschallbehandlung auf die Extraktion von Tocopherol...                                     | 76         |
| 4.2.8    | Einfluss vermehrter Extraktionen auf den Tocopherolgehalt.....                                                | 78         |
| 4.3      | Beurteilung der oxidativen Stabilität von Leinöl produziert unter optimierten Bedingungen.....                | 80         |
| <b>5</b> | <b>Schlussbetrachtung .....</b>                                                                               | <b>84</b>  |
| <b>6</b> | <b>Zusammenfassung.....</b>                                                                                   | <b>87</b>  |
| <b>7</b> | <b>Abstract.....</b>                                                                                          | <b>89</b>  |
| <b>8</b> | <b>Literaturverzeichnis .....</b>                                                                             | <b>90</b>  |
| <b>9</b> | <b>Anhang .....</b>                                                                                           | <b>100</b> |

## Abbildungsverzeichnis

|                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 1: Produktionsschritte zur Herstellung von kaltgepresstem Speiseöl .....                                                                                          | 9  |
| Abbildung 2: Schematische Darstellung einer Pflanzenölpresse .....                                                                                                          | 10 |
| Abbildung 3: Mechanismus der Autooxidation .....                                                                                                                            | 12 |
| Abbildung 4: Photooxidation .....                                                                                                                                           | 13 |
| Abbildung 5: Zeitabhängige Abnahme von Antioxidantien, ungesättigten Fettsäuren und<br>Bildung von primären und sekundären Lipidoxidaionsprodukten in<br>Pflanzenölen ..... | 14 |
| Abbildung 6: Chemische Struktur der Tocopherole und Tocotrienole .....                                                                                                      | 17 |
| Abbildung 7: Entstehung und weitere Reaktionen von Tocopherolradikalen .....                                                                                                | 18 |
| Abbildung 8: Chemische Struktur der Polyphenole .....                                                                                                                       | 19 |
| Abbildung 9: Strategien zur Verbesserung der oxidativen Stabilität während der<br>Produktion von kaltgepressten Ölen .....                                                  | 21 |
| Abbildung 10: Auswirkung von Röstung der Saat .....                                                                                                                         | 25 |
| Abbildung 11: Schneckenpressanlage zur Herstellung hochwertiger kaltgepresster<br>Pflanzenöle .....                                                                         | 29 |
| Abbildung 12: Pressdüsen in verschiedenen Größen für unterschiedliche Saaten(Anton<br>Fries Maschinenbau GmbH).....                                                         | 30 |
| Abbildung 13: Pflanzenölpresse Fries P240R mit zusätzlichem Anfertigungen zur<br>Verhinderung der Oxidation .....                                                           | 31 |
| Abbildung 14: Standardgerade Gesamtpolyphenolgehalt .....                                                                                                                   | 38 |
| Abbildung 15: Standardgerade der Gallussäure .....                                                                                                                          | 40 |
| Abbildung 16: Standardgeraden der Tocopherol Homologe .....                                                                                                                 | 44 |
| Abbildung 17: Polyphenolgehalt in Leinöl, Distelöl und Hanföl im offenen, geschlossenen<br>und mit Stickstoff begasten System. ....                                         | 47 |
| Abbildung 18: Polyphenolgehalt in Leinpresskuchen, Distelpresskuchen und<br>Hanfpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten<br>System. ....           | 49 |
| Abbildung 19: Tocopherolgehalt in Leinöl im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff<br>begasten System. ....                                                              | 50 |
| Abbildung 20: Tocopherolgehalt in Distelöl im offenen, geschlossenen und mit<br>Stickstoff begasten System. ....                                                            | 51 |
| Abbildung 21: Tocopherolgehalt in Leinöl, Distelöl und Hanföl im offenen,<br>geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.....                                          | 51 |

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 22: Tocopherolgehalt in Leinpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.....                                   | 53 |
| Abbildung 23: Tocopherolgehalt in Hanfpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.....                                   | 54 |
| Abbildung 24: Tocopherolgehalt in Distelpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.....                                 | 54 |
| Abbildung 25: Peroxidzahl in Leinöl, Distelöl und Hanföl im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.....                            | 56 |
| Abbildung 26: Peroxidzahl in Leinpresskuchen, Distelpresskuchen und Hanfpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System..... | 58 |
| Abbildung 27: Polyphenolgehalt im Leinöl nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                                 | 59 |
| Abbildung 28: Polyphenolgehalt im Leinpresskuchen nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                        | 60 |
| Abbildung 29: $\alpha$ -Tocopherolgehalt im Leinöl nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                       | 61 |
| Abbildung 30: $\gamma$ -Tocopherolgehalt im Leinöl nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                       | 62 |
| Abbildung 31: $\alpha$ -Tocopherolgehalt im Presskuchen nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                  | 63 |
| Abbildung 32: $\gamma$ -Tocopherolgehalt im Presskuchen nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                  | 64 |
| Abbildung 33: Peroxidzahl im Leinöl nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                                      | 65 |
| Abbildung 34: Peroxidzahl im Leinpresskuchen nach Röstung bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.....                                             | 67 |
| Abbildung 35: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion mit 30 ml Öl mit unterschiedlicher Zeitdauer.....                                            | 68 |
| Abbildung 36: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion mit unterschiedlichem Presskuchen/Öl Verhältnis bei 60 Minuten.....                          | 69 |
| Abbildung 37: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion bei 60 Minuten mit 30 ml Öl und anschließender Ultraschallbehandlung.....                    | 71 |
| Abbildung 38: Polyphenolgehalt in Leinöl nach mehrfacher Extraktion mit 30 ml Öl bei 30 Minuten.....                                                  | 72 |

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Abbildung 39: Polyphenolgehalt in Leinöl nach mehrfacher Extraktion unter Argon mit 30 ml Öl bei 30 Minuten.....                        | 73 |
| Abbildung 40: $\gamma$ -Tocopherol in Leinöl nach Extraktion mit 30 ml Öl mit unterschiedlicher Zeitdauer.....                          | 74 |
| Abbildung 41: $\alpha$ -Tocopherol in Leinöl nach Extraktion mit 30 ml Öl mit unterschiedlicher Zeitdauer.....                          | 75 |
| Abbildung 42: $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion mit unterschiedlichem Ölvolumen bei 60 Minuten. ....                       | 75 |
| Abbildung 43: $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion mit unterschiedlichem Ölvolumen bei 60 Minuten. ....                       | 76 |
| Abbildung 44: $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion bei 60 Minuten mit 30 ml Öl und anschließender Ultraschallbehandlung. .... | 77 |
| Abbildung 45: $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion bei 60 Minuten mit 30 ml Öl und anschließender Ultraschallbehandlung. .... | 77 |
| Abbildung 46: $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion mit 30 ml Öl bei 30 Minuten. ....                               | 78 |
| Abbildung 47: $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion mit 30 ml Öl bei 30 Minuten. ....                               | 79 |
| Abbildung 48: Gesamttocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion mit 30 ml Öl bei 30 Minuten. ....                                   | 80 |
| Abbildung 49: Induktionszeit der nicht optimiertem Leinölprobe .....                                                                    | 81 |
| Abbildung 50: Induktionszeit der bei 100°C und 5 Minuten lang gerösteten Leinölprobe                                                    | 81 |
| Abbildung 51: Induktionszeit der unter Sauerstoffausschluss hergestellten Leinölprobe                                                   | 82 |
| Abbildung 52: Induktionszeit der mithilfe der optimierten Extraktion hergestellten Leinölprobe .....                                    | 82 |

## Tabellenverzeichnis

|                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabelle 1: Herstellungsdaten* der Firma Hagen Thaler bei der Pressung der Lein-<br>(Chargennummer LE), Distel- (DI) und Hanfsaat (HA)..... | 32  |
| Tabelle 2: Bedingungen des RP-HPLC/UV-Systems .....                                                                                        | 43  |
| Tabelle 3: Gradientenverlauf der mobilen Phase .....                                                                                       | 43  |
| Tabelle 4: Retentionszeiten der Standards .....                                                                                            | 43  |
| Tabelle 5: Wiederfindungsrate für die Bestimmung von Tocopherol .....                                                                      | 45  |
| Tabelle 6: Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze der Tocopherole .....                                                                      | 45  |
| Tabelle 7: Polyphenolgehalt in optimierten Proben und Röstproben .....                                                                     | 100 |
| Tabelle 8: $\alpha$ -Tocopherolgehalt in optimierten Proben und Röstproben .....                                                           | 101 |
| Tabelle 9: $\gamma$ -Tocopherolgehalt in optimierten Proben und Röstproben .....                                                           | 102 |
| Tabelle 10: Peroxidzahl der optimierten Proben und Röstproben .....                                                                        | 103 |
| Tabelle 11: Polyphenolgehalt der unterschiedlichen Extraktionsbedingungen .....                                                            | 104 |
| Tabelle 12: Tocopherolgehalt der unterschiedlichen Extraktionsbedingungen .....                                                            | 105 |

Abkürzungsverzeichnis:

|              |                                                                                            |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ANOVA</b> | Einfaktorielle Varianzanalyse                                                              |
| <b>CAE</b>   | Kaffeesäureequivalent ( <i>caffeic acid equivalent</i> )                                   |
| <b>GAE</b>   | Gallussäureäquivalent (gallic acid equivalent)                                             |
| <b>HPLC</b>  | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ( <i>high performance liquid chromatography</i> ) |
| <b>LOD</b>   | Nachweisgrenze (limit of detection)                                                        |
| <b>LOQ</b>   | Quantifizierungsgrenze (limit of quantitation)                                             |
| <b>mAU</b>   | Milliabsorptionseinheiten (milli absorbance units)                                         |
| <b>ml</b>    | Milliliter                                                                                 |
| <b>n</b>     | Biologische Replikate                                                                      |
| <b>n.a.</b>  | nicht verfügbar (not available)                                                            |
| <b>p</b>     | Signifikanzniveau                                                                          |
| <b>POZ</b>   | Peroxidzahl                                                                                |
| <b>rpm</b>   | Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)                                            |
| <b>SD</b>    | Standardabweichung                                                                         |
| <b>UV</b>    | ultraviolett                                                                               |

---

# 1 Einleitung und Hypothesen

Kaltgepresste Öle gewinnen immer mehr an Beliebtheit, da die Nachfrage nach natürlichen und sicheren Produkten steigt. Der Konsument möchte Alternativen zu den herkömmlichen künstlich oder stark behandelten Produkten. Auch aus ernährungswissenschaftlicher Sicht sind kaltgepresste Speiseöle gegenüber den raffinierten Ölen zu bevorzugen (Siger et al. 2008). Sie unterlaufen nicht den Prozess der Raffination, sondern werden durch Kaltpressung von Saat, Nüssen und Früchten gewonnen (Halina Makala 2015). Heutzutage geschieht dies meist durch eine Schneckenpresse (Teh und Birch 2013). Derartig hergestellte Speiseöle weisen sowohl einen hohen Gehalt an Antioxidantien und bioaktiven Substanzen als auch an mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf (van Hoed et al. 2006; Yoon und Kim 1994). Letzteres führt allerdings dazu, dass diese Öle leichter anfällig für Oxidation sind. Dies generiert eine Vielzahl von Problemen. Während der Lagerung kommt es zur Bildung von potentiell toxischen Lipidoxidaionsprodukten, die wiederum diverse Krankheiten wie Leberentzündungen und infolgedessen Steatohepatitis begünstigen können (Kanazawa et al. 1985). Ebenfalls unattraktiv für den Konsumenten ist die Bildung von Fehlaromen, denn die geschmackliche Komponente ist für die Kaufentscheidung relevant.

Die oxidationsbedingten Probleme werden durch etliche Faktoren beeinflusst.

Zum Beispiel spielen Sauerstoff, Temperatur und vor allem Licht eine bedeutsame Rolle (Pignitter et al. 2014b). Auch diverse Inhaltsstoffe wie etwa Fettsäuren, Vitamin E und Polyphenole sollten unbedingt in Betracht gezogen werden.

Verglichen mit raffinierten Speiseölen weisen kaltgepresste Öle einen höheren anfänglichen Oxidationsgrad bei einer ähnlichen Fettsäurezusammensetzung auf. Jedoch sind kaltgepresste Öle robuster gegen Lipidoxidation. Aus diesem Grund sollten ein niedriger anfänglicher Oxidationsgrad und eine lange Haltbarkeit angestrebt werden, damit ein sicheres Produkt gewährleistet werden kann (Farhoosh et al. 2009).

Wege zu finden, wie die Lipidoxidation in kaltgepressten Ölen verhindert werden kann, sollte hohe Priorität haben. Speiseöle mit erhöhter oxidativer Stabilität führen zu einem geringeren Gehalt an Fehlaromen und dadurch zur höheren Akzeptanz beim Verbraucher. Außerdem würden aus ernährungsphysiologischer Sicht gesundheitliche Risiken minimiert werden. Nun stellt sich die Frage: Welche Strategien führen zur einer verbesserten Oxidationsbeständigkeit von Speiseölen?

Es wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

„Die Optimierung der Produktionsschritte unter Verringerung von Einflussfaktoren wie Sauerstoff, Licht und hoher Temperatur führen zu einer verbesserten oxidativen Stabilität von Speiseölen.“

„Nach Pressung des Öls führt eine Extraktion des Presskuchens mit dem Öl zu einer Freisetzung der Polyphenole und damit zur Erhöhung der oxidativen Stabilität.“

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Produktion von kaltgepressten Ölen

Kaltgepresste Öle werden durch mechanische Kaltpressung von Saatgut hergestellt. Typisch für die Kaltpressung sind zum Beispiel Arganöl, Distelöl, Hanföl, Kürbiskernöl, Leinöl und Traubenkernöl. Aber auch Nüsse (z.B. Cashewkerne, Walnuss) oder Keime (z.B. Weizenkeim) können für eine derartige Pressung verwendet werden. Ein wesentlicher Punkt ist, dass kaltgepresste Öle laut dem Codex Alimentarius der FAO (Codex Alimentarius Commission 2001) ohne Wärmezufuhr und nur durch ein mechanisches Verfahren hergestellt werden (Matthäus und Spener 2008). Die Hitzebehandlung wird allerdings unterschiedlich geregelt. Im österreichischen Lebensmittelbuch ist die Wärmebehandlung bis zu 140 °C bei nicht raffinierten Ölen zugelassen (Codex Alimentarius 2012). Somit darf das Öl mit hohen Temperaturen behandelt werden. Im Gegensatz zu raffinierten Speiseölen kommt es zu keiner Entfernung von Lipidoxidaionsprodukten. Stattdessen kann nach der Pressung mit Filtration, Sedimentation oder Zentrifugation gearbeitet werden. In folgender Abbildung werden die üblichen Herstellungsschritte von kaltgepresstem Öl dargestellt:

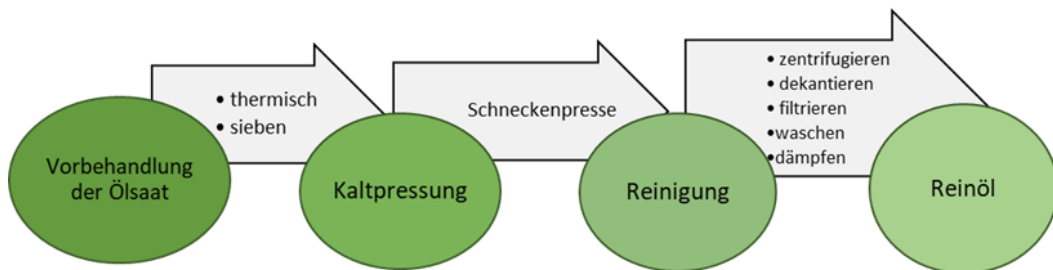


Abbildung 1: Produktionsschritte zur Herstellung von kaltgepresstem Speiseöl

Bevor die Saat gepresst wird, gibt es verschiedene Vorbehandlungen wie thermische Verfahren, Vorzerkleinerung der Saat und Siebvorgänge, um die Effizienz des gesamten Prozesses zu steigern. Die Wahl der diversen Methoden ist abhängig vom Pressgut und kann unterschiedliche Vorteile bieten. Zum Beispiel kann eine Vorzerkleinerung zur Beseitigung von Schalen genutzt werden, welche ohnehin nicht reich an extrahierbarem Öl sind und zu unerwünschten Begleitstoffen im Öl führen. Die Zerkleinerung der Ölsaart verursacht auch ein Aufbrechen der Samenstruktur und Zellen. Dadurch kommt es zu einer besseren Freisetzung des Öls (Varshney 2012). Danach findet eine Konditionierung bei 80°C bis 100°C statt, um die Viskosität des Öls zu senken. Im Anschluss erfolgt die mechanische Pressung mit einer

Stempel- oder Schneckenpresse. In Folge wird das Öl zentrifugiert, dekantiert, filtriert, gewaschen und gedämpft.

In Abbildung 2 ist eine schematische Darstellung einer Pflanzenölpresse zu sehen. Für die Produktion von kaltgepressten Ölen werden hauptsächlich Schneckenpressen verwendet, welche aus einer horizontalen und vertikalen Schnecke bestehen.

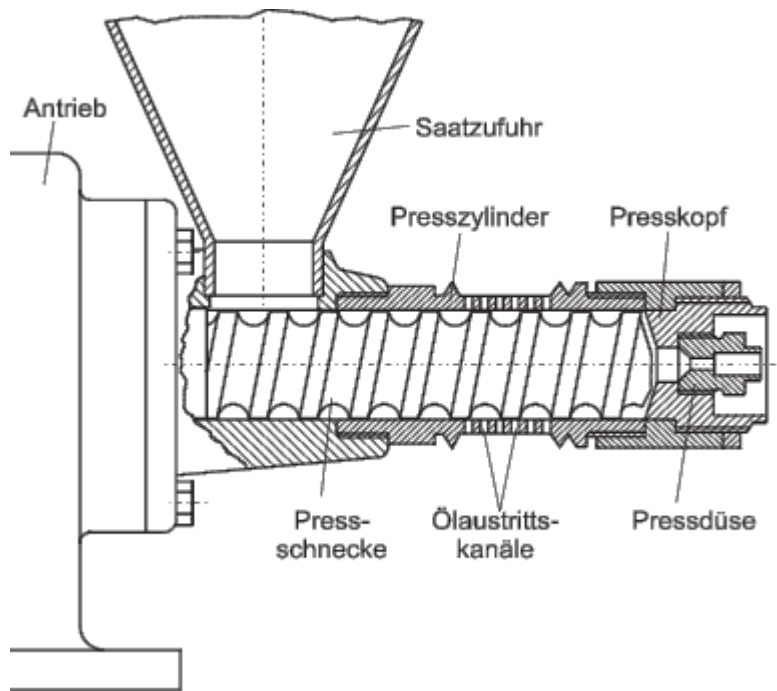


Abbildung 2: Schematische Darstellung einer Pflanzenölpresse (Kaltschmitt et al. 2016)

Nun führen mehrere Techniken zum notwendigen Druckaufbau in der Ölpresse. Wie in der Abbildung zu erkennen ist, rotiert die Schneckenpresse im Presszylinder, befördert die Saat Richtung Pressdüse und baut somit Druck auf. Zusätzlich kann die Geschwindigkeit der Schneckenrotation zum Druckaufbau variiert werden. Überdies ist die gesamte Konstruktion konusartig zur Auslassöffnung aufgebaut, wodurch der Druck weiter erhöht wird. Während das extrahierte Öl auf dem Weg durch die Austrittskanäle entweichen kann, wird der Rest durch die Pressdüsen gedrückt. Je nach gewünschtem Druck und Saatbedingungen, kann hier ebenfalls mit unterschiedlichen Größen der Pressdüsen Druck aufgebaut werden.

Neben dem Druck gibt es noch andere Parameter, die während der Ölpressung die Effizienz steigern können. Durch Erhöhung der Temperatur während der Pressung kann die Viskosität des Öls verringert werden. Dies sorgt für verbesserte Fließeigenschaften. Basierend auf den unterschiedlichen Ölsaaten müssen hier verschiedene Faktoren berücksichtigt werden. Während zwar die Ölausbeute steigt, kann es gleichzeitig durch strukturelle Veränderungen der Zellen in der Saat zu einer Freisetzung von unerwünschten Begleitstoffen kommen.

Abgesehen von den Betriebsparametern, spielen die Eigenschaften des Rohmaterials eine grundlegende Rolle. Sorte, Feuchtigkeitsgehalt und Vorbehandlungen der Saat müssen bei der Optimierung der Effizienz berücksichtigt werden (Savoire et al. 2013).

## **2.2 Oxidative Stabilität**

Die oxidative Stabilität von Öl kann als Widerstand gegenüber Oxidation während der Produktion und Lagerung betrachtet werden (Guillén und Cabo 2002). Sie beschreibt, wie lange der kritische Punkt verhindert werden kann, bei dem inakzeptable Geschmacksstoffe entstehen oder es zu einem raschen Anstieg der Oxidation kommt (Silva et al. 2001). In der Speiseölindustrie ist die oxidative Stabilität ein äußerst wichtiger Parameter. Sie ist aussagekräftig für Qualität, Haltbarkeit, Gesundheit und Schädlichkeit von Speiseölen. Durch die Oxidation werden essentielle Fettsäuren zerstört, toxische Lipidoxidsprodukte und Fehlaromen mit niedrigem Molekulargewicht gebildet (Allen und Hamilton 1999, 1994). Werden diese Parameter nicht berücksichtigt, kann das Speiseöl sehr schnell unattraktiv für den Konsumenten werden.

Für die Oxidation sind zwei verschiedene chemische Mechanismen verantwortlich: Autoxidation und Photooxidation.

### **2.2.1 Autoxidation**

Die Autoxidation folgt einem Radikalkettenmechanismus, der üblicherweise drei Stufen umfasst: Initiierung, Propagation und Termination. Die einzelnen Reaktionen werden in anschließender Abbildung 3 dargestellt.

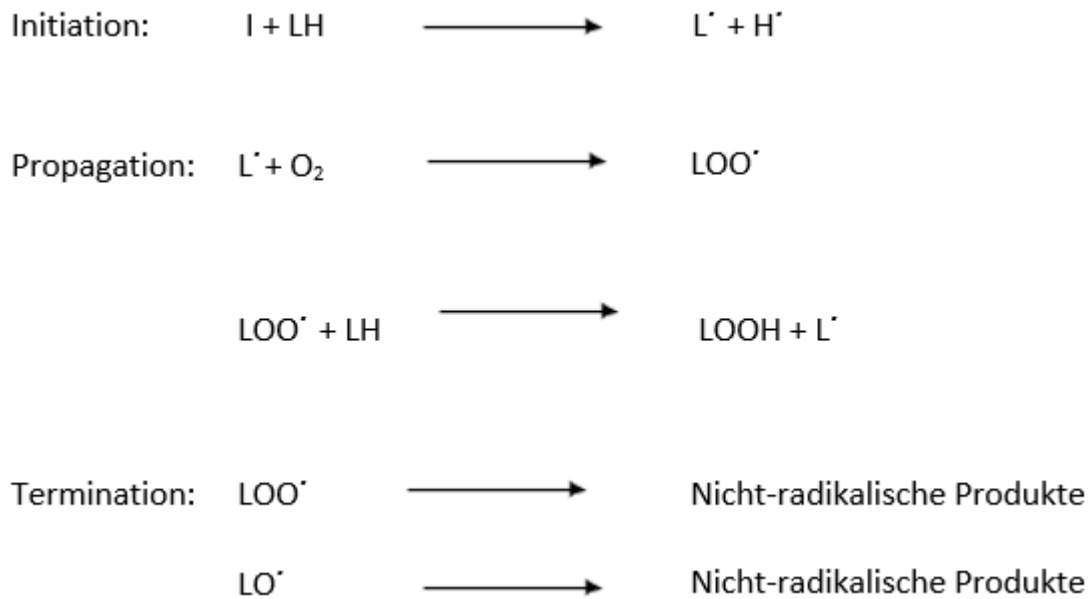


Abbildung 3: Mechanismus der Autoxidation (Kamal-Eldin und Appelqvist 1996)

In der ersten Stufe werden Radikale gebildet, die durch die Anwesenheit von Initiatoren (I) wie Metallen, Licht oder Wärme begünstigt werden und den Abzug von Wasserstoff aus ungesättigten Lipiden (LH) auslösen (Schaich 2005; Min und Boff 2002). Besonders ungesättigte Fettsäuren sind anfällig gegenüber oxidativen Veränderungen, denn zwischen Doppelbindungen können Wasserstoffatome aufgrund geringerer erforderlicher Energie leichter abstrahiert werden. Die Abhängigkeit vom Initiator macht die Oxidation zu einer langsamen Reaktion und ist daher der geschwindigkeits-bestimmende Schritt (Kamal-Eldin und Appelqvist 1996).

In der zweiten Stufe, der Propagation, fördern die gebildeten Radikale weitere Reaktionen. Zuerst reagiert das gebildete Alkyl-Radikal (L<sup>•</sup>) mit Sauerstoff und generiert Peroxyl-Radikale (LOO<sup>•</sup>). Das ungepaarte Elektron wird über die Kohlenstoffkette delocalisiert. Die Lipidradikale können Wasserstoffatome von anderen Lipidmolekülen abstrahieren und somit die Bildung weiterer Radikale initiieren (Frankel 1980). Wenn alle vorhandenen Lipide oxidiert sind, kommt es zur Termination.

Die letzte Stufe beschreibt die Kombination von zwei Lipidradikalen zur Erzeugung nichtradikalischer Verbindungen, womit die Radikalkettenreaktion zu Ende geht (Choe und Min 2006; Kamal-Eldin und Appelqvist 1996).

### 2.2.2 Photooxidation

In Gegenwart von Sauerstoff, Licht und Chlorophyll kommt es hauptsächlich zur Photooxidation (Choe und Min 2006). Photosensibilisatoren absorbieren sichtbares Licht innerhalb Pikosekunden und es kommt zur Anregung (siehe Abbildung 4, [1]). Durch Energietransfer wird dabei ein Triplett-Sauerstoff in den äußerst reaktiven Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ) überführt, während der Sensibilisator wieder in den Grundzustand übergeht (siehe Abbildung 4, [2]). Der elektrophile Sauerstoff wechselwirkt mit den elektronenreichen Doppelbindungen und bildet Hydroperoxide (siehe Abbildung 4, [3]). Es kommt dabei zur Umwandlung der Doppelbindungen und Trans-Fettsäuren entstehen.

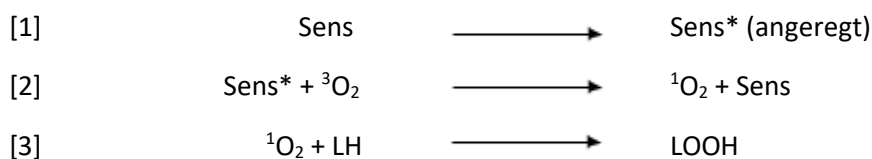


Abbildung 4: Photooxidation (Frankel 1984)

Hierbei entstehen sowohl konjugierte als auch nicht-konjugierte Hydroperoxide. Linolsäure reagiert mit Singulett-Sauerstoff 1.500-mal schneller als mit Sauerstoff im Triplett-Zustand, wodurch es auch in Öl eine entscheidende Rolle trägt.

Angeregte Photosensibilisatoren können allerdings auch anders reagieren: Sie können Wasserstoff oder Elektronen vom Substrat aufnehmen und Radikale bilden. Je nach Sensibilisatoren, Substrat und Konzentration des Substrates kann es zu den zwei unterschiedlichen Typen von Reaktionen kommen (Frankel 1984; Choe und Min 2006).

### 2.2.3 Primäre und sekundäre Lipidoxidationsprodukte

Mehrere Studien haben ergeben, dass eine erhöhte Photooxidation und Autoxidation eine Bildung von primären und sekundären Lipidoxidationsprodukten in Speiseöl beschleunigt (Gharby et al. 2011; Coutelieris und Kanavouras 2006; Caponio et al. 2005). Primäroxidationsprodukte sind Hydroperoxide, die während der Initiierung und Propagation gebildet werden. Während Raumtemperaturen und der Abwesenheit von Metallen sind diese Produkte relativ stabil. Kommt es allerdings zur Umkehr dieser Bedingungen, zerfallen sie zügig zu Alkoxyradikalen. Diese bilden wiederum Sekundärprodukte wie Aldehyde, Ketone, Ester, Furane, Lactone, Kohlenwasserstoffe und Alkohole durch Kondensations- und Abbaureaktionen. In Abbildung 5 wird die zeitabhängige Bildung von primären und sekundären Lipidoxidationsprodukten dargestellt.

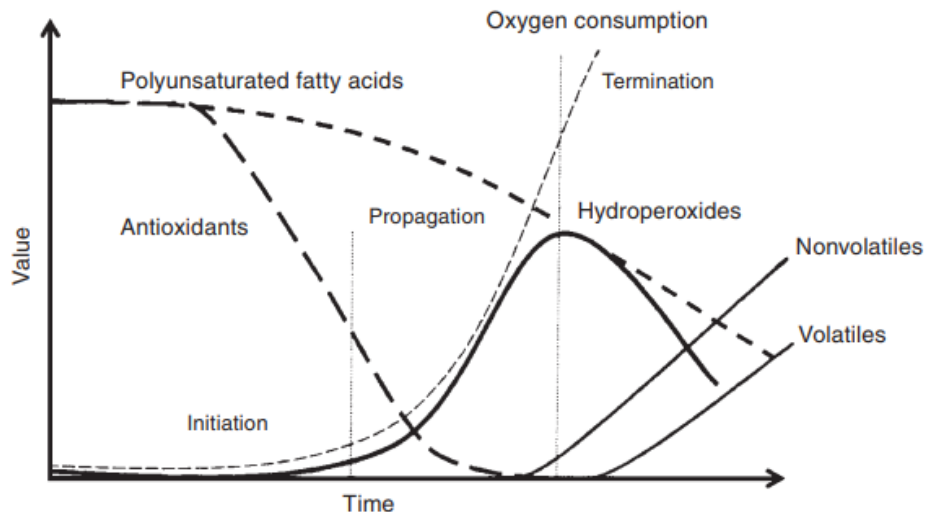


Abbildung 5: Zeitabhängige Abnahme von Antioxidantien, ungesättigten Fettsäuren und Bildung von primären und sekundären Lipidoxidationsprodukten in Pflanzenölen (Pignitter und Somoza 2012)

In Speiseöl führen diese Substanzen zu Fehlparomen und können für gesundheitliche Probleme verantwortlich sein (Choe und Min 2006; García-Hernández et al. 2013; Pignitter und Somoza 2012; Keller et al. 2004). Die Dauer des Zerfalls von primären in sekundäre Lipidoxidationsprodukte unterliegt großer Varianz und hängt stark vom Öl ab. Während beim Olivenöl der Zerfall äußerst rasant verläuft, beginnt der Prozess beim Distelöl erst wenn eine beträchtliche Konzentration an Hydroperoxiden vorhanden ist (Choe und Min 2006).

## 2.3 Einflussfaktoren auf die oxidative Stabilität

Die Oxidation von Speiseöl wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst, wie der Qualität der Ölsaaten, dem Extraktionsprozess, verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften des Öls, der Anzahl der Doppelbindungen in einer Fettsäure, Positionierung der Fettsäure im Triglycerid, oxidationsfördernden Umweltfaktoren und dem Vorhandensein von Antioxidantien.

### 2.3.1 Temperatur

Die Temperatur spielt eine wesentliche Rolle für die oxidative Stabilität des Öls. So können hohe Temperaturen oder Wärme die Oxidationskinetik beeinflussen und damit die Autooxidationsrate beschleunigen (Choe und Min 2006). Genauer gesagt kann es zum Abbau von Hydroperoxiden kommen und sowohl die Initiation als auch die Propagation beeinflussen. Dieser Prozess wird mit steigender Temperatur während der Produktion und Lagerung beschleunigt (Tawfik und Huyghebaert 1999).

### 2.3.2 Sauerstoff

Die Anwesenheit von Sauerstoff ist für die Lipidoxidation ebenfalls entscheidend. Sauerstoff ist der Reaktionspartner von Lipidradikalen, der die Bildung von Peroxylradikalen und damit auch die der Lipidoxidation beeinflusst. Worniak und Rekas (2015) analysierten unter anderem den Einfluss von Sauerstoff auf kaltgepresstes Rapsöl durch den Vergleich von Speiseölproben, welche abgefüllt in Braunglasflaschen einmal pro Monat geöffnet wurden und solchen, die nicht geöffnet wurden. Während die restlichen Bedingungen gleich blieben (Temperatur 20 °C, in Braunglasflaschen gelagert), stieg die Peroxidzahl ohne Öffnen von 2,9 mEq O<sub>2</sub>/kg auf 6,0 mEq O<sub>2</sub>/kg. Mit Öffnen kam es zu einem Anstieg auf 29,6 mEq O<sub>2</sub>/kg. Damit zählt Sauerstoff zu den kritischen Faktoren. Player et al. (2006) detektierten bei gelagertem Sojaöl eine Reduktion des Headspace-Sauerstoffs von 21% auf unter 10% nach 24 Tagen Lagerung bei 50°C. Mit der Verringerung des Sauerstoffs kam es zur Erhöhung der Peroxidzahl und einem Verlust von Vitamin E. Es konnte bestätigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen Kopfraum-Sauerstoffkonzentrationen und primären Lipidoxidationsprodukten herrscht. Das Volumen-Oberflächen-Verhältnis spielte dabei eine Schlüsselrolle (Cecchi et al. 2010; CHUNG et al. 2004; Roman et al. 2013; Kanavouras et al. 2005). Daher sollte das Öl während der Produktion nur einen möglichst geringen Kontakt mit Sauerstoff ausgesetzt sein.

### 2.3.3 Licht

Ultraviolettes (UV-)Licht löst die homolytische Spaltung von bereits vorhandenen Hydroperoxiden aus und ist dadurch ein indirekter Initiator der Lipidoxidation. Dabei entstehen reaktive Alkoxyl- und Hydroxylradikale, die als Initiatoren der Radikalkettenreaktion gelten. Pignitter et al. konnten zeigen, dass bei der haushaltsüblichen Lagerung von Sojaöl kalt fluoreszierendes Licht im Vergleich zu Sauerstoff und hohen Temperaturen am deutlichsten zum Anstieg der Lipidoxidation beitrug (Pignitter et al. 2014b). Die Peroxidzahl stieg bereits nach acht Wochen auf das 14,7-fache, womit der vom Codex Alimentarius festgelegte Grenzwert von 10 meq O<sub>2</sub>/kg überschritten wurde. Die Resultate zeigten, dass die Photooxidation den Großteil der Lipidoxidation ausmachte. Daher ist die Verwendung von nicht transparenten Flaschen während der Lagerung und die Vermeidung von Licht bereits während der Herstellung essentiell.

### 2.3.4 Antioxidantien (Tocopherole und Polyphenole)

Oxidation kann nicht nur durch Vermeidung pro-oxidativer Einflussfaktoren verhindert werden, sondern auch mit Hilfe von Antioxidantien verringert werden. Von besonderem Interesse sind Vitamin E und phenolische Verbindungen, denn diese kommen im kaltgepressten Öl sogar in deutlich höherer Menge als im raffinierten Öl vor (van Hoed et al. 2006; Yoon und Kim 1994; Yu et al. 2005). Dies kann für einen Großteil der Bevölkerung sehr relevant sein, denn Speiseöle sind die Hauptlieferanten für dieses Vitamin. Traber et al. stellten fest, dass 90 % der amerikanischen Bevölkerung an einem Vitamin E Mangel leidet (Traber 2014). Somit ist der Vitamin E Gehalt in Speiseölen von entscheidender Bedeutung.

#### Tocopherole

Vitamin E zählt zu den stärksten lipidlöslichen Antioxidantien. Die biologisch aktiven Verbindungen lassen sich in die Tocopherole und Tocotrienole gliedern. Die ersteren weisen eine gesättigte Kohlenwasserstoffkette mit 16 Kohlenstoff Atomen, während die Tocotrienole ungesättigt sind. Beide Klassen werden weiters anhand der Position der Methylgruppe am Chromanring (2-Methyl-6-Hydroxy-chroman) in  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherole und  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocotrienole eingeteilt (Niki und Traber 2012). Die Strukturen der Tocopherol-Homologe werden in Abbildung 6 aufgelistet. Unter den Tocopherolen besitzt das  $\alpha$ -Tocopherol die höchste biologische Aktivität (López Ortíz et al. 2006). Die biologische Aktivität von  $\gamma$ -Tocopherol und  $\delta$ -Tocopherol ist deutlich niedriger verglichen mit  $\alpha$ -Tocopherol. Bei den Tocotrienolen sorgt die ungesättigte Kette ebenfalls für eine schlechtere Bioverfügbarkeit. Zum Beispiel erreicht  $\alpha$ -Tocotrienol nur 30 % der biologischen Wertigkeit von  $\alpha$ -Tocopherol (Bunyan et al. 1961).

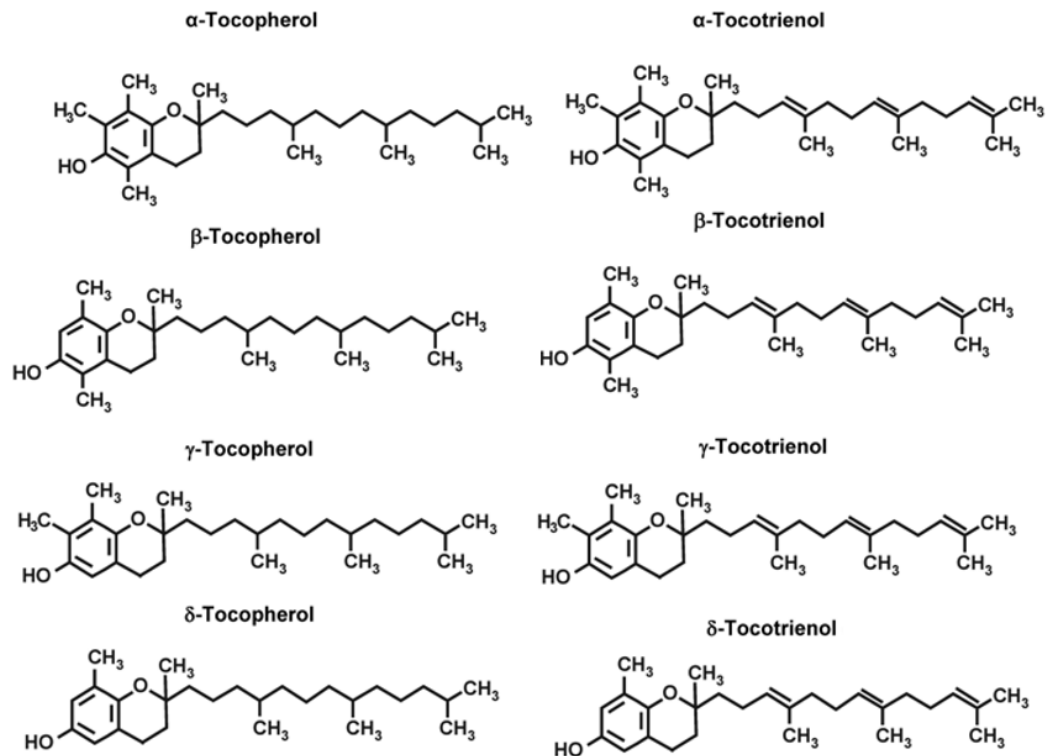


Abbildung 6: Chemische Struktur der Tocopherole und Tocotrienole (Singh et al. 2013)

Tocopherole wirken über zwei verschiedene Mechanismen als Antioxidantien (Choe und Min 2006; Kamal-Eldin und Appelqvist 1996). Durch die Freisetzung des phenolischen Wasserstoffatoms kann die Kettenreaktion als Radikalfänger unterbrochen werden. Tocopherole konkurrieren mit ungesättigten Fettsäuren um Lipidperoxyradikale. Erstere reagieren allerdings wesentlich schneller, wodurch sie einen Schutz für die Fettsäuren bewirken (Kamal-Eldin und Appelqvist 1996). Durch die Übertragung des Wasserstoffatoms der Hydroxygruppe an der Position sechs des Chromanrings der Tocopherole auf das Lipidperoxyradikal entstehen Lipidhydroperoxide und Tocopherolradikale (siehe Abbildung 7, [1]). Letztere erweisen sich allerdings stabiler als das Peroxylradikal, wodurch die Oxidationsrate auf Ebene der Propagation verringert werden kann. Je nach Oxidationsgeschwindigkeit können diese Tocopherolradikale untereinander oder mit anderen Verbindungen reagieren (siehe Abbildung 7, [2]). Wie in der Abbildung 7 zu sehen ist, können Tocopherylchinone und Tocopherol gebildet werden. Bei höheren Oxidationsraten können Tocopherolradikale mit Lipidperoxyradikalen reagieren und bilden Tocopherol-Lipidperoxy Komplexe, welche wiederum zu Tocopherylchinone und Lipidhydroperoxide hydrolysiert werden können (siehe Abbildung 7, [3]) (Choe und Min 2006).

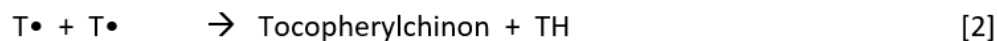


Abbildung 7: Entstehung und weitere Reaktionen von Tocopherolradikalen (Choe und Min 2006)

Der zweite antioxidative Mechanismus basiert auf der Tatsache, dass Tocopherole als Singulett-Sauerstoffquencher die Initiationsphase der Lipidoxidation hemmen können. Dabei kann es zum physikalischen oder chemischen Quenching kommen.

Beim physikalischen Quenching gibt das Tocopherol ein Elektron an  $^1\text{O}_2$  ab. Es kommt zu einer Komplexbildung und daraufhin zur Bildung eines weniger reaktiven  $^3\text{O}_2$  und Tocopherol.

Beim chemischen Quenching reagieren Tocopherole irreversibel mit  $^1\text{O}_2$  und bilden Hydroperoxydienone, Tocopherylchinone und Chinonepoxide (Mukai et al. 1991).

Hinsichtlich der antioxidativen Aktivität scheint  $\gamma$ -Tocopherol dem  $\alpha$ -Tocopherol überlegen zu sein. Denn ersteres bildet die Reaktionsprodukte Diphenylether-Dimer und Biphenyl-Dimer, welche weiterhin als Antioxidantien agieren und zusätzlich eine hohe Stabilität aufweisen (Akoh und Min 2002; Kamal-Eldin und Appelqvist 1996).

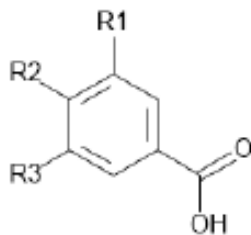
Es gibt jedoch widersprüchliche Ergebnisse, die sowohl antioxidative als auch pro-oxidative Wirkungen von Tocopherolen zeigen (Elisia et al. 2013). Roman et al. zeigten, dass Tocopherol-Konzentrationen von 700 mg/kg in Sonnenblumenöl während eines sechsständigen Erwärmungsprozesses bei 100°C antioxidative Wirkungen entfalten (Roman et al. 2013).  $\gamma$ -Tocopherol wurde als das wirksamste Antioxidans der Tocopherol-Homologe angesehen (Keller et al. 2004).

Andererseits wurden für  $\alpha$ -Tocopherol (Choe und Min 2006; Gharby et al. 2011) auch gegenteilige Daten gezeigt, die auf das polare Paradoxon und das Grenzflächenphänomen in den Wasser-in-Öl-Mikroemulsionen zurückzuführen sein könnten (Coutelieris und Kanavouras 2006; Caponio et al. 2005). Pro-oxidative Effekte von  $\alpha$ -Tocopherol wurden in Abhängigkeit von Faktoren wie Konzentration, Testsystem und analysierten Oxidationsparametern berichtet (Choe und Min 2006).

## Polyphenole

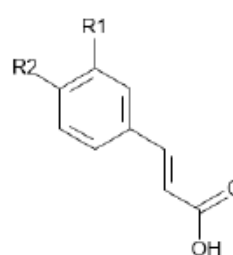
Phenolverbindungen gehören neben Tocopherolen zu den potenziellen Antioxidantien in kaltgepressten Speiseölen. Es handelt sich dabei um Sekundärmetaboliten von Pflanzen, welche mehrere Hydroxygruppen auf aromatischen Ringen aufweisen. Je nach Anzahl der Phenolringe und den Strukturelementen, an denen sie binden, werden sie in verschiedenen Gruppen unterteilt: Phenolsäuren, Flavonoiden, Stilbenen und Lignanen (Manach et al. 2004). Einige Polyphenole werden in Abbildung 8 aufgelistet:

### Hydroxybenzoesäure



$R1=R2=R3=OH$ : Gallussäure

### Hydroxyzimtsäure

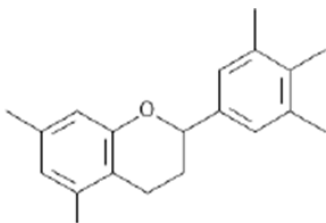


$R1=OH$ : *p*-Cumarsäure

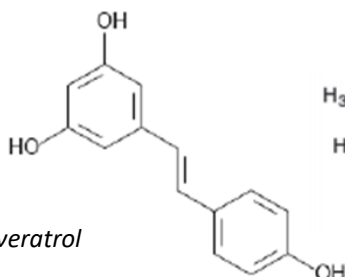
$R1=R2=OH$ : Kaffeesäure

$R1=OCH_3$ ,  $R2=OH$ : Ferulasäure

### Flavonoid

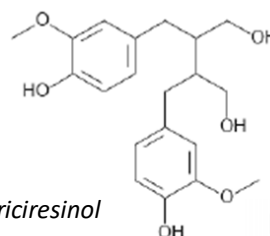


### Stilben

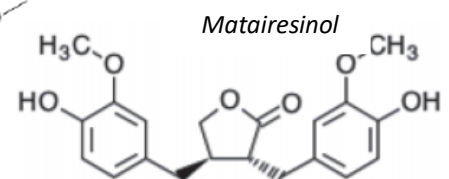


*Resveratrol*

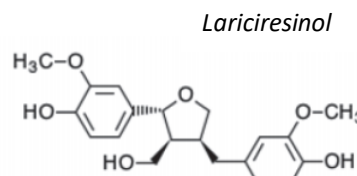
### Lignane



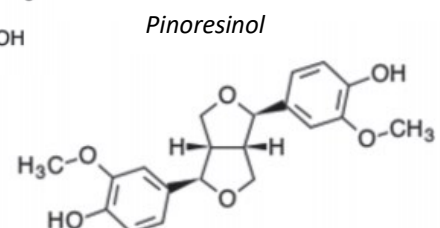
*Secoisolariciresinol*



*Matairesinol*



*Lariciresinol*



*Pinoresinol*

Abbildung 8: Chemische Struktur der Polyphenole (Manach et al. 2004; Herchi et al. 2014)

Ein hoher Gehalt an Polyphenolen findet sich in Früchten und Gemüse. Eine Ernährung, welche reich an diesen Lebensmitteln ist, wird mit einem niedrigeren Risiko an vielen chronischen Krankheiten wie Krebs, kardiovaskulären Krankheiten und chronischen Entzündungen assoziiert (Duthie und Brown 1994; Milner 1994). Viele dieser Krankheiten stehen in Verbindung mit oxidativem Stress. Polyphenole sind dahingehend äußerst relevant, denn sie machen einen Großteil der antioxidativen Wirkung von Früchten und Gemüse aus (Wang et al. 1996). Sie können durch Abgabe eines Elektrons oder Wasserstoffatoms freie Radikale neutralisieren. Dafür ausschlaggebend ist das stark konjugierte System mit mehreren Hydroxygruppen, welche die Polyphenole zu Elektron- und Wasserstoff Donatoren machen. Polyphenole unterdrücken die Bildung von Vorläufer von freien Radikalen und verringern somit die Oxidationsrate. Sie können auch als direkte Radikalfänger der Lipidoxidationskettenreaktion wirken, indem sie als Kettenbrecher dem Radikal ein Elektron spenden. Sowohl das Radikal als auch der Radikalfänger werden auf diese Weise abgefangen und verzögern die Kettenreaktion (Rice-Evans et al. 1996; Pietta 2000; Guo et al. 2009). Polyphenole bilden Chelatkomplexe mit Übergangsmetalle wie  $\text{Fe}^{2+}$ , die Geschwindigkeit der Fenton-Reaktion wird verringert und die Oxidation verhindert, welche durch hochreaktive Hydroxylradikale verursacht wird (Perron und Brumaghim 2009; Pietta 2000).

Der Gesamtpolyphenolgehalt lässt sich nicht für alle Öle gemeinsam festlegen und unterliegt starken Schwankungen aufgrund der Ölsaart selbst, Umwelteinflüssen und der Extraktionsmethode. Es besteht auch ein Unterschied zwischen kaltgepressten und raffinierten Ölen. Während sich hohe Temperaturen der Raffination negativ auf den Polyphenolgehalt auswirken, besitzen kaltgepresste Öle eine höhere Menge dieser Inhaltsstoffe. Besonders hohe Gehalte weisen extra natives Olivenöl (~340 mg GAE/100 g, kaltgepresstes Sonnenblumenöl (~190 mg GAE/100 g) und Rapsöl (~160 mg GAE/100 g) auf (Kostadinovic Velickovska und Mitrev 2013).

Leinöl weist hingegen eine geringere Menge an Polyphenolen auf: ~ 7,6 mg GAE/100 g (Zhang et al. 2011). In Leinsamen dominieren Lignane mit einem Gehalt von 323 mg/100g Secoisolariciresinol (Peñalvo et al. 2005), aber auch lipophile Lignane wie Pinoresinol und Matairesinol wurden quantifiziert (Herchi et al. 2011). Es wurden aber auch andere phenolische Verbindungen wie Hydroxyzimtsäuren, Ferulasäureglucosid und p-Coumarsäureglucosid nachgewiesen (Beejmohun et al. 2007). Distelöl enthält je nach Varietät bis zu 14 mg Polyphenole/100g (Ben Moumen et al. 2015). Aydeniz et al. detektierten zum Beispiel ~2,6 mg GAE/100 g, was ebenfalls für einen niedrigeren Gehalt spricht (Aydeniz

et al. 2014). Hanföl ist besonders reich an Polyphenolen (2780,4 mg Quercetin-Äquivalente pro 100 g Flavonoide) (Smeriglio et al. 2016). Da die Polyphenole eine wesentliche Rolle bei der Verhinderung der Oxidation von kaltgepressten Speiseölen spielen, müssen diese antioxidativ wirksamen Substanzen bei den Maßnahmen zur Vermeidung der Oxidation berücksichtigt werden.

### 2.3.5 Verminderung der Oxidation während der Produktion

Mögliche Strategien zur Verhinderung der Oxidation während der Produktion werden in folgender Grafik (Abbildung 9) demonstriert (Grosshagauer et al. 2019):

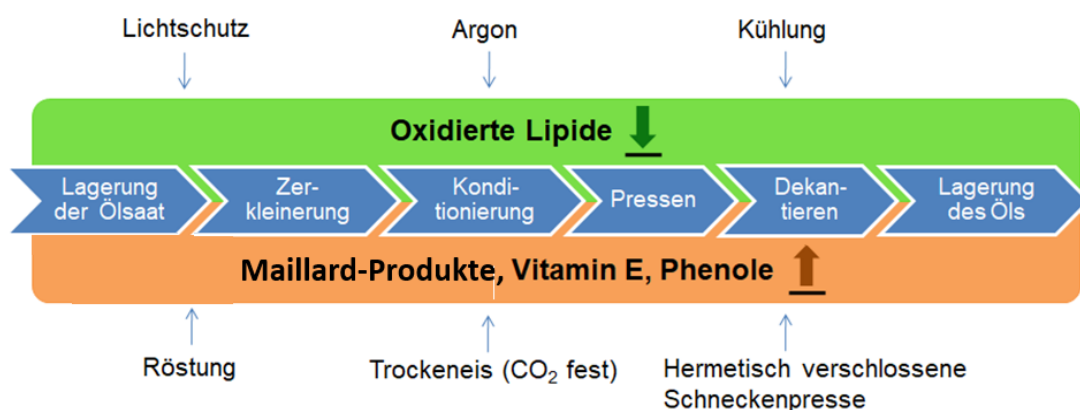


Abbildung 9: Strategien zur Verbesserung der oxidativen Stabilität während der Produktion von kaltgepressten Ölen (Grosshagauer et al. 2019)

Es sollte schon zu Beginn der Herstellung versucht werden, ein Presssystem zu entwickeln, welches durchgehend vor Oxidation schützt. Wie man in Abbildung 9 erkennen kann, startet ein industrieller Produktionsprozess für kaltgepresste Öle mit der Lagerung der Ölsaaten. Unterschiedliche Lagertemperaturen der Samen können die Oxidationsstabilität des Öls beeinflussen. Daher sollte bereits hier für niedrigere Temperaturen gesorgt werden. Im Anschluss werden die Samen zerkleinert, wodurch sie dem Luftsauerstoff ausgesetzt sind. Alternativ könnte dieser Schritt unter einer Argonatmosphäre stattfinden. Somit steht kein Sauerstoff für die Oxidation zur Verfügung. Dieselbe Maßnahme sollte bei der Konditionierung ebenfalls angewendet werden. Die hohen Temperaturen von 80°C bei diesem Schritt sind notwendig um die Ölgewinnung zu erleichtern. Allerdings verstärkt dies die Lipidoxidation. Auch hier könnte mithilfe einer Argonatmosphäre eine Abnahme der Oxidation erreicht werden.

Überdies wäre es auch eine äußerst vorteilhafte Veränderung technische Überarbeitungen der Schneckenpresse vorzunehmen. Wenn der gesamte Prozess unter Sauerstoffausschluss und kühlen Temperaturen stattfinden würde, könnte ein oxidativer Abbau der phenolischen

Verbindungen verhindert werden. Der Abfluss des gewonnen Öls soll unter optimalen Bedingungen gesammelt werden. Dies bedeutet, dass statt offenen Behältern geschlossene mit Argon begasten Behältern verwendet werden sollen. Diese Voraussetzungen gelten genauso für die Lagerung während des Batch-Verfahrens, welches je nach Sedimentationsgeschwindigkeit der Trübstoffe mehrere Tage dauern kann. Auch bei der Endlagerung sollten Maßnahmen wie Schaffung von Dunkelheit, niedrige Temperaturen und Sauerstoffausschluss vollzogen werden. Denn so könnte die Oxidation gegenüber einer branchentypischen Aufbewahrung, welche oftmals unter schlechten Lichtverhältnissen, Raumtemperatur und Anwesenheit von Sauerstoff verhindert werden.

### **Röstung der Saat**

In mehreren Studien konnte bereits gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen der Abnahme von Tocopherolen und der Lipidoxidation herrscht. (Ashida et al. 1987; Pignitter et al. 2016; Pignitter et al. 2014b; Pignitter et al. 2014a) Somit ist es äußerst wichtig, die Lipidoxidation zusätzlich durch Extraktion und Stabilisierung von antioxidativ wirksamen Substanzen zu verringern.

Dies kann nicht nur durch die bereits erwähnten Maßnahmen in Abbildung 9 passieren, sondern auch durch gezielte Extraktion aus der Saat erfolgen. Viele Studien haben gezeigt, dass die Ausbeute an Phenolen in Ölen durch thermische Behandlung der Ölsaaten signifikant erhöht werden kann (Choe und Min 2006; Wan et al. 2015; Siger et al. 2015; Siger und Józefiak 2016; Gracka et al. 2016). Durch Röstung der Ölsaaten vor der Öffnung würde dies den Sauerstoffkontakt reduzieren. Dabei kommt es zu einer erhöhten Freisetzung von Polyphenolen und Phospholipiden und dies führt wiederum zu einer höheren oxidativen Stabilität (Kamal-Eldin und Appelqvist 1996). Außerdem kann durch die hohen Temperaturen die Lipoxygenase und Phenoloxidase inaktiviert werden. Dies verhindert wiederum die enzymatische Oxidation von Lipiden und Polyphenolen (Wang und Hammond 2010).

Das allein könnte schon für die Verbesserung der oxidativen Stabilität sorgen. Für eine weitere Verbesserung könnte die durch Röstung stimulierte Maillard Reaktion sorgen. Es wird vermutet, dass es Ähnlichkeiten zwischen der Maillard Reaktion und der Lipidoxidation gibt. Diese dürfen nicht als komplett unabhängige Reaktionswege betrachtet werden (Kanavouras et al. 2005; Kamal-Eldin und Appelqvist 1996).

Grosshagauer et al. erläuterten, dass es bei der Maillard Reaktion zur Bildung von hoch- und niedermolekularen Lipidoxidationsprodukten (ALEs) kommt. Diese Carbonylamino-Addukte sind von besonderem Interesse, da sie eine Schlüsselrolle für antioxidative Prozesse und die

Ölstabilität spielen können. Dadurch ergibt sich zum einen eine verbesserte antioxidative Kapazität, zum anderen werden durch die Bildung dieser Verbindungen Aldehyde, welche Produkte der Lipidoxidation sind, aufgebraucht. Diese beiden Effekte könnten die oxidative Stabilität von Speiseöl weiter steigern (Grosshagauer et al. 2019).

Alkoxyradikale, die während des Prozesses der Lipid-Autooxidation gebildet werden, können zu reaktiven Carbonylverbindungen wie Aldehyden, Ketonen oder Ketosäuren abgebaut werden. Diese Verbindungen können weiter mit der Aminogruppe von Aminosäuren, Proteinen oder Aminophospholipiden reagieren, was zur Bildung der antioxidativ wirksamen ALEs führt (Kanavouras et al. 2005; Roman et al. 2013). Im Gegensatz zu Maillard-Reaktionsprodukten aus Aminosäuren und reduzierenden Kohlenhydraten besitzen Phospholipide einen hydrophoben Charakter. Dies erweist sich als äußerst vorteilhaft, denn die Extraktion aus dem Samen ins Öl könnte dadurch effizienter sein. Flavonoide mit hydrophilem Charakter hingegen werden nicht ausreichend transportiert (Koski et al. 2003).

## **2.4 Aus den Hypothesen abgeleitete Ziele**

Kaltgepresste Öle können positive Auswirkungen auf die Gesundheit haben. Allerdings sind sie durch den reichen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren anfällig für Oxidation (Parker et al. 2003; Siger et al. 2008).

Das primäre Ziel dieser Masterarbeit ist daher eine erhöhte oxidative Stabilität von kaltgepressten Speiseölen zu erreichen. Basierend auf den Einflussfaktoren sollen Maßnahmen entwickelt werden, welche während der Produktion zu einer Verringerung von Sauerstoff, hohen Temperaturen und Licht führen. Zusätzlich sollen Maßnahmen ergriffen werden, die zu einem hohen Gehalt bzw. zu einer besseren Stabilisierung von Tocopherolen und Polyphenolen führen, damit eine längere oxidative Stabilität gegeben ist.

### **2.4.1 Optimierung während der Pressung**

Für den Pressvorgang werden Systeme getestet, welche dafür sorgen, dass das Pressgut dem Luftsauerstoff weniger ausgesetzt ist. Zusätzlich soll die Oxidation durch Zufuhr von Stickstoff verhindert werden. Gleichzeitig soll während des Pressvorgangs das System gekühlt werden um hohe Temperaturen zu vermeiden. Der Schutz vor kaltfluoreszierenden Licht soll nicht nur während der Pressung stattfinden, sondern bis zum Probenbehälter des Öls garantiert sein.

### **2.4.2 Röstung der Saat**

Rösten könnte sowohl durch die vermehrte Freisetzung von natürlichen Antioxidantien und phenolischen Verbindungen einen positiven Beitrag leisten, als auch durch die Bildung von ALEs (siehe Abbildung 10) (Gracka et al. 2016; Huang et al. 1994). Es sollte aber berücksichtigt werden, dass die Rösttemperatur und -dauer eine entscheidende Rolle trägt (Lee 2004). Daher sollten unterschiedliche Röstbedingungen getestet werden um die optimalen Einflussfaktoren feststellen zu können.

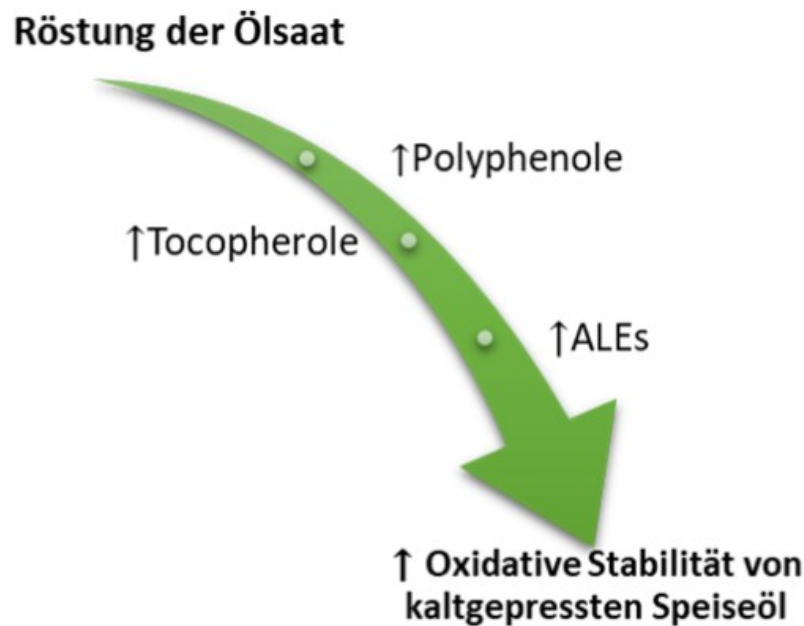


Abbildung 10: Auswirkung von Röstung der Saat

In Kooperation mit der Firma Hagenthaler sollen Temperaturen von 60°C, 100°C, 140°C und 180°C getestet werden. Zusätzlich wird die Saat bei jeder Temperatur bei unterschiedlichen Zeitdauern geröstet: 1 Minute, 5 Minuten, 10 Minuten. Ziel hierbei ist, jene Bedingungen zu erreichen, welche für die optimalste Extraktion von Polyphenolen aus der Saat und gleichzeitig für den geringsten Verlust von Vitamin E sorgen.

Für die Analyse der Optimierungsschritte wurde Lein-, Hanf- und Distelöl verwendet. Die Öle wurden aufgrund des hohen Gehalts an ungesättigten Fettsäuren ausgewählt. Aus ernährungswissenschaftlicher Perspektive haben sie dadurch positive physiologische Auswirkungen auf die Gesundheit. Leinöl hat einen außergewöhnlich hohen Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure mit ungefähr 60 % und auch Linolsäure ist zu 20 % enthalten. Hanföl ist genauso reich an diesen essentiellen Fettsäuren, allerdings im umgekehrten Muster: 60 % Linolsäure und 20 %  $\alpha$ -Linolensäure (Teh und Birch 2013). Distelöl hingegen ist primär reich an Linolsäure, welche zu 70 % enthalten ist (Bozan und Temelli 2008). Überdies weisen alle drei Öle einen niedrigen Gehalt an Polyphenolen auf, der sich zusätzlich untereinander noch unterscheidet: Distelöl (2,6 mg GAE/100 g), Leinöl (7,6 mg GAE/100 g) und Hanföl (44 mg GAE/100 g) (Aydeniz et al. 2014; Kaur et al. 2017; Janu et al. 2014).

Bei der Röstung wurde ausschließlich Leinöl untersucht, weil es durch den hohen Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure äußerst instabil ist. Die Röstung soll für eine erhöhte oxidative Stabilität sorgen.

### 2.4.3 Extraktion der Polyphenole mit Öl

Weiters soll eine Extraktion von Polyphenolen aus dem Presskuchen mit Öl zur Erhöhung der oxidativen Stabilität beitragen. Die Idee beruht darauf, dass sich weit mehr Polyphenole im Presskuchen als im Öl befinden. Zum Beispiel ermittelten Teh et al. für Leinpresskuchen einen Polyphenolgehalt von  $774,3 \pm 2,1$  mg GAE/100 g (Teh et al. 2014). Hingegen wurde im Leinöl ein Bereich von 6,2 mg bis 8,5 mg GAE/100g Öl gemessen (Kaur et al. 2017). Dasselbe Muster zeigt sich allerdings auch bei anderen Sorten. Im Distelpresskuchen wurden 452,5 - 677,3 mg GAE/100 g analysiert (NY und RAH 2016), während in einer anderen Studie im Öl nur  $2,6 \pm 0,2$  mg GAE/100 g nachgewiesen wurde (Aydeniz et al. 2014).

Somit gibt es noch sehr viel Potential hohe Mengen an phenolischen Substanzen aus dem Presskuchen zu extrahieren. Es muss also das Ziel sein, Strategien zu finden, die restlichen Verbindungen vom Presskuchen ins Öl zu transportieren. Gleichzeitig soll die Extraktion aber auch im praktischen Aspekt durchführbar sein.

Die meisten Polyphenole sind hydrophiler Natur. Somit legt die Kaltpressung keine optimalen Bedingungen für die Extraktion dar. Polyphenole würden sich mittels polaren Lösungsmittel am besten extrahieren lassen (Herchi et al. 2014; Tsao 2010). Erfolgt dies allerdings im industriellen Maßstab, ergeben sich folgende Probleme: Die Konsumentenakzeptanz würde drastisch sinken, nachdem Spuren von polaren Substanzen wie Methanol/Ethanol/Acetonitril enthalten sein könnten. Wird mit Wasser gearbeitet, entstehen praktische Hürden, denn es kommt zu einer Klumpenbildung im Presskuchen.

Eine andere Methode wäre mit dem bereits gepressten Öl zu extrahieren. Dies hätte den Vorteil, dass es sowohl kostengünstig im Industriemaßstab durchgeführt werden kann. Zusätzlich ist es möglich, derartige Experimente für diese Hypothese im Labor nachzuahmen. Für die Prüfung dieser Hypothese soll kaltgepresstes Leinöl herangezogen werden.

Nach der Pressung soll versucht werden, mit dem freigesetzten Öl antioxidativ wirksame Substanzen aus dem Presskuchen zu extrahieren. Dadurch könnten mehr hydrophobe phenolische Substanzen ins Öl gelangen. Die absolute Menge an Polyphenolen ist im Presskuchen so hoch, dass selbst wenn nur ein Bruchteil der geringen hydrophoben Verbindungen extrahiert wird, der Gehalt im Öl um ein Vielfaches gesteigert werden könnte. Leinöl enthält viele verschiedene phenolische Verbindungen. Unter anderem enthält die Leinsaat eine beträchtliche Menge an Lignane, welche antioxidative Wirkung besitzen und gesundheitsfördernde Eigenschaften aufweisen (Kajla et al. 2015; Adolphe et al. 2010). Darunter fallen viele verschiedene Verbindungen und es ist möglich, dass sie nach

Extraktion mit unterschiedlichen Lösungsmitteln sowohl in der polaren Fraktion als auch in der Lipidfraktion vorkommen. Leinsamen enthalten einige lipophile Lignane wie zum Beispiel Pinoresinol, Lariciresinol und Matairesinol (Setchell et al. 2014; Kezimana et al. 2018). So könnten durch die Extraktion mit Öl viele derartige Polyphenole ins Öl extrahiert werden und für eine erhöhte oxidative Stabilität im Speiseöl sorgen. In der Pharmazie sind Lignane von großem Interesse, da sie antitumorale, antivirale und hepatoprotektive Wirkungen aufweisen (Brenes et al. 2000; Zhang et al. 2014). Pinoresinol und Matairesinol führen zur Inhibition von Phosphodiesterase, was mit antiinflammatorischen Wirkungen assoziiert wird (Brenes et al. 2000).

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Presssystem

In Kooperation mit der Firma Hagenthaler wurde bei der Pressung versucht die Lipidoxidation zu verringern bzw. die Freisetzung von antioxidativ wirksamen Substanzen zu fördern. Durch eine spezielle Anfertigung einer Schneckenpresse soll dies ermöglicht worden sein. Dabei wurde zwischen dem ursprünglichen System und zwei optimierten Systemen unterschieden:

- Offenes System (branchentypisches ursprüngliches System: Sauerstoffkontakt, hohe Temperatur, siehe Abbildung 11)
- Geschlossenes System (verhindert das Eindringen von Sauerstoff in das System und wird zusätzlich gekühlt, siehe Abbildung 13)
- N<sub>2</sub> System (verhindert das Eindringen von Sauerstoff in das System, während es mit Stickstoff begast wird, zusätzlich wird es gekühlt, siehe Abbildung 13)

Seitens der Firma Hagenthaler wurde folgende Schneckenpresse verwendet: Fries P240R (siehe Abbildung 11, Tabelle 1).

Fries P240R, offenes System



*Abbildung 11: Schneckenpressanlage zur Herstellung hochwertiger kaltgepresster Pflanzenöle (Anton Fries Maschinenbau GmbH 2019)*

### Technische Daten der Presse

Eine Besonderheit dieser Schneckenpresse liegt darin, dass das Pressgut in der Pressschnecke lose nach vorne gefördert wird. Die Pressung und das Abscheiden des Öls erfolgt dadurch im vorderen Teil der Pressschnecke in einem Bereich von ca. 30-40 mm. Durch diese kurze Entölungszone wird die Vermischung zwischen dem Öl und den Schalenstoffen minimiert. Nur ein sehr geringer Teil der Fest-, Gerb- und Bitterstoffe sind in dem abgepressten Öl enthalten.

Auch die Entwicklung der unterschiedlichen Pressdüsen (siehe Abbildung 12) steigert die Effizienz der Schneckenpresse. Mithilfe von unterschiedlichen Größen der Düsen lässt sich der Gesamtdruck der Pflanzenölpresse variieren und auf die jeweilige Saat abstimmen. Faktoren wie Größe und Matrix der Saat können abhängig von der Düsengröße unterschiedliche Qualitäten an Öl liefern. Für die analysierten Speiseöle wurden daher verschiedene Pressdüsen verwendet.



*Abbildung 12: Pressdüsen in verschiedenen Größen für unterschiedliche Saaten (Anton Fries Maschinenbau GmbH 2019)*

### **Zusätzliche Anpassungen im Rahmen der Kooperation**

Die Schneckenpresse (siehe Abbildung 13) wurde mit einem zusätzlichen Gehäuse [1] so ausgestattet, dass es weder zu Sauerstoffkontakt noch zu Lichtbelastung kommt. Vergleicht man dies mit der ursprünglichen Presse (Abbildung 11) wird der Unterschied zwischen offenem und geschlossenem System deutlich. Im offenen System fließt das Öl ohne Abdeckung weiter. Im optimierten System kommt es zu einem durchgehenden Schutz bis zum Probenbehälter (siehe Abbildung 13, [2]). Zusätzlich wurde von Beginn der Pressung bis zum Sammeln des Öls gekühlt [3] und mit Stickstoff begast [4]. Die Kühlung erfolgte durch Kühlluft und wurde durch den erkennbaren schwarzen Schlauch transportiert [3].

Der Abfluss des extrahierten Öls wird in geschlossenen dunklen Behältern gesammelt. Im Gegensatz zu offenen Behältern kann das Öl vor Licht und Photooxidation geschützt werden.

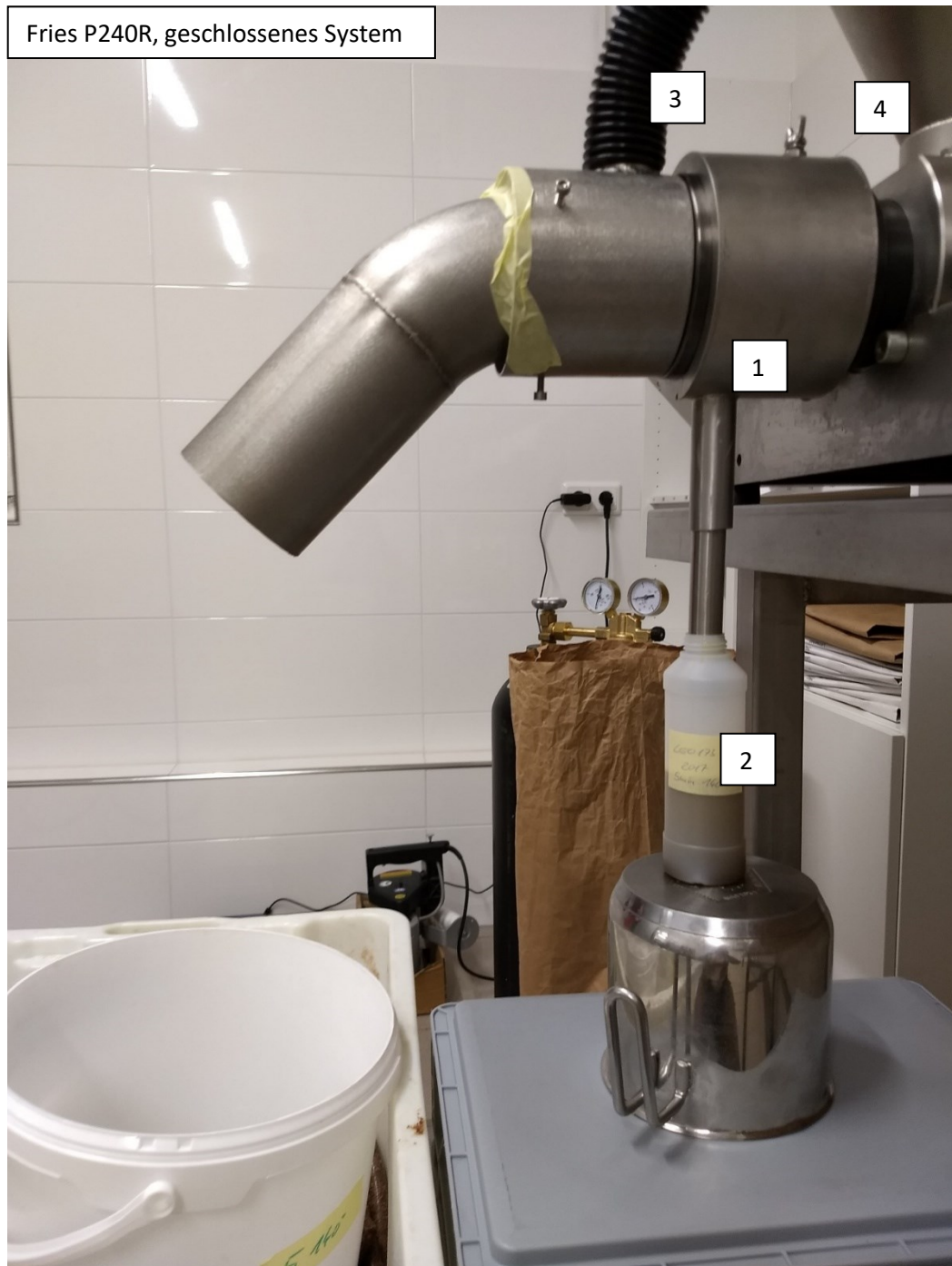


Abbildung 13: Pflanzenölpresse Fries P240R mit zusätzlichen Anfertigungen zur Verhinderung der Oxidation (Gehäuse [1], geschützte Probenüberführung [2], Kühlung [3], Stickstoffbegasung [4])

In der folgenden Tabelle 2 wurden die wichtigsten Parameter des verwendeten Geräts bei jeder Pressung der unterschiedlichen Saaten aufgezeichnet:

*Tabelle 1: Herstellungsdaten\* der Firma Hagen Thaler bei der Pressung der Lein- (Chargennummer LE), Distel- (DI) und Hanfsaat (HA).*

| Charge             | [U/min] | Spalt [mm] | Düse [mm] | Temp [°C] | Bemerkung                              |
|--------------------|---------|------------|-----------|-----------|----------------------------------------|
| LE0173             | 14      | 1          | 15        | 48,8      | ohne Kühlung/offen                     |
| HA0172             | 16      | 2,8        | 15        | 48,8      | ohne Kühlung/offen                     |
| DI0170             | 17      | 4,5        | 17,5      | 43        | ohne Kühlung/offen                     |
| LE0173             | 13      | 1,5        | 15        | 38        | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173             | 13      | 1,5        | 15        | 38        | mit Kühlung/geschlossen/N <sub>2</sub> |
| HA0172             | 14      | 3          | 15        | 42        | mit Kühlung/geschlossen                |
| HA0172             | 14      | 3          | 15        | 42        | mit Kühlung/geschlossen/N <sub>2</sub> |
| DI0170             | 17      | 4          | 17,5      | 43        | mit Kühlung/geschlossen                |
| DI0170             | 17      | 4          | 17,5      | 43        | mit Kühlung/geschlossen/N <sub>2</sub> |
| LE0173-60°C 2Min   | 13      | 1,5        | 15        | 60        | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-60°C 5Min   | 13      | 1,5        | 15        | 60        | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-60°C 10Min  | 13      | 1,5        | 15        | 60        | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-100°C 2Min  | 13      | 1,5        | 15        | 100       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-100°C 5Min  | 13      | 1,5        | 15        | 100       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-100°C 10Min | 13      | 1,5        | 15        | 100       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-140°C 2Min  | 13      | 1,5        | 15        | 140       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-140°C 5Min  | 13      | 1,5        | 15        | 140       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-140°C 10Min | 13      | 1,5        | 15        | 140       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-180°C 2Min  | 13      | 1,5        | 15        | 180       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-180°C 5Min  | 13      | 1,5        | 15        | 180       | mit Kühlung/geschlossen                |
| LE0173-180°C 10Min | 13      | 1,5        | 15        | 180       | mit Kühlung/geschlossen                |

\*Unter Bemerkung werden die Systeme angegeben, welche zur Pressung des jeweiligen Öls verwendet worden sind. Offen: nicht geschütztes System; Geschlossen: Ohne Sauerstoffkontakt; N<sub>2</sub>: mit Stickstoff begastetes System

### **3.2 Probenmaterial und Lagerbedingungen**

Die Firma Hagenthaler Ölmanufaktur stellte drei Probensorten zur Verfügung:

- Leinöl (Linum usitatissimum, Sorte: Lirina, Poysbrunn 2017)
- Hanföl (Cannabis sativa, Sorte: Finola, Drasenhofen 2016)
- Distelöl (Carthamus tinctorius, Sorte: n.a, Straning 2017)

Die Ölproben wurden mit Argon beschichtet und bei -40°C im Gefrierfach gelagert. Der Presskuchen wurde ebenfalls mit Argon beschichtet und in Plastikbeuteln bei 4°C gelagert.

### 3.3 Chemikalien, Verbrauchsmaterialien, Geräte und Software

Die nachstehende Auflistung enthält Informationen über die in der Forschungsarbeit verwendeten Proben, Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte sowie Software-Programme.

| <b>Chemikalien für die Analyse des Gesamtphenolgehaltes</b> | <b>Hersteller</b>         |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (2 N)                    | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |
| Natriumcarbonat ( $\geq 99,8\%$ , ACS, wasserfrei)          | Carl Roth GmbH & Co. KG   |
| Methanol, 99,8%, wasserfrei                                 | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |
| n-Hexan Emplura® ( $\geq 95,0\%$ )                          | Merck KGaA                |

| <b>Chemikalien für die Analyse der Tocopherole</b>                                   | <b>Hersteller</b>         |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 2-Propanol ROTISOLV® ( $\geq 99,95\%$ HPLC/LC-MS grade)                              | Carl Roth GmbH & Co. KG   |
| Methanol (HPLC gradient grade, suitable for UPLC/UHPLC instruments)                  | VWR International GmbH    |
| rac-Tocol, interner Standard, $>95\%$                                                | adcam                     |
| Bidestilliertes Wasser, Leitfähigkeit: 18,2 M $\Omega$ *cm aus Satorius arium 611 UF | Satorius Stedium Biotech  |
| $\alpha$ -Tocopherol (analytischer Standard: 100 mg/ml)                              | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |
| $\gamma$ -Tocopherol (analytischer Standard: 25mg/ml)                                | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |
| $\delta$ -Tocopherol (analytischer Standard: 100mg/ml)                               | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |

| <b>Chemikalien für die Analyse der Peroxidzahl</b>                         | <b>Hersteller</b>         |
|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Natriumthiosulfatlösung                                                    | Carl Roth GmbH & Co. KG   |
| Essigsäure ROTIPURAN® (100 %, p.a.)                                        | Carl Roth GmbH & Co. KG   |
| Chloroform ( $\geq 99\%$ , wasserfrei, enthält Amylene zur Stabilisierung) | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |
| Kaliumjodid ( $\geq 99\%$ )                                                | Carl Roth GmbH & Co. KG   |
| Stärke (puriss. p.a., reag. ISO)                                           | Sigma-Aldrich Chemie GmbH |

| <b>Allgemein verwendete Chemikalien</b> | <b>Hersteller</b> |
|-----------------------------------------|-------------------|
|-----------------------------------------|-------------------|

| Argon 5.0                                                                                | Linde Gas GmbH                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Verbrauchsmaterialien</b>                                                             | <b>Hersteller</b>              |
| 15-ml-Röhrchen                                                                           | Sarstedt AG & Co. KG           |
| 50-ml-Röhrchen                                                                           | Sarstedt AG & Co. KG           |
| 20 ml Headspace Vial, Braunglas                                                          | Shimadzu                       |
| Dichtscheibe/Septa N17, Sil. Blau transp. PTFE<br>weiß, 1,5 mm                           | Macherey-Nagel                 |
| Einmalinjektionskanülen, ø 0,80 x 40 mm,<br>21G x 1½                                     | Braun                          |
| Einmalspritzen 2 ml                                                                      | Braun                          |
| Kaffeemühlen                                                                             | SilverCrest, Breath 300105 CFR |
| Magnetische Schraubkappen                                                                | Shimadzu                       |
| Mikroeinsatz, Borosilikatglas, Klarglas, flacher<br>Boden, 0,2 ml                        | Roth                           |
| Nylon Membran Filters, 0,45µm, Diameter:<br>47 mm                                        | Whatman                        |
| Pipetten 2,5 µl, 100 µl, 200 µl, 1000µl, 5000µl                                          | Eppendorf                      |
| Rotilabo®-Makro-Präzisions-Glasküvette                                                   | Roth                           |
| Rotilabo®-Reaktionsgefäße (1,5 ml)                                                       | Carl Roth GmbH & Co. KG        |
| Rotilabo®-Spritzenfilter, PVDF<br>(unsteril, Porengröße 0,22 µm, Durchmesser<br>0,13 mm) | Carl Roth GmbH & Co. KG        |
| <b>Geräte</b>                                                                            | <b>Hersteller</b>              |
| Bürette; ±0,02 ml genau                                                                  | Braun                          |
| Centrifuge 5804 R                                                                        | Eppendorf AG                   |
| Centrifuge 5810 R                                                                        | Eppendorf AG                   |
| Advances VSM-C4 (Heizplatte mit<br>Magnetrührer)                                         | VWR International GmbH         |
| Advances VMS-C7 (Heizplatte mit<br>Magnetrührer)                                         | VWR International GmbH         |
| Photometer Infinite M200                                                                 | Tecan                          |
| Rotavapor R210                                                                           | Büchi                          |
| Rückflusskühler, DIN NS29/32; 400 mm                                                     | Lenz Laborglasinstrumente      |
| Rotator für Reagenz- und Probenröhrchen                                                  | VWR International GmbH         |

| 892 Professional Rancimat                                          | Metrohm                   |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Ultraschallbad USC TH                                              | VWR International GmbH    |
| (U)HPLC-DAD, UltiMate 3000RS                                       | Dionex                    |
| Vacuum Controller V-850                                            | Büchi                     |
| Vakuumpumpe V-700                                                  | Büchi                     |
| Vortex, RS-VA 10                                                   | Phoenix Instruments       |
| Waage Pioneer™ Serie; max. Kapazität 110 g                         | Ohaus                     |
| Ablesbarkeit: 0,0001 g                                             |                           |
| Waage Pioneer™ Serie; max. Kapazität: 2100 g; Ablesbarkeit: 0,01 g | Ohaus                     |
| Photometer Infinite M200                                           | Tecan                     |
| Rotavapor R210                                                     | Büchi                     |
| Rückflusskühler, DIN NS29/32; 400 mm                               | Lenz Laborglasinstrumente |
| Photometer Infinite M200                                           | Tecan                     |
| Verwendete Programme                                               | Hersteller                |
| Chromeleon Client Program 6.80 SR9                                 | Dionex Corp.              |
| SigmaPlot 12                                                       | Systat Software GmbH      |
| Excel 2016                                                         | Microsoft                 |

### 3.4 Detaillierte Beschreibungen der Methoden

In diesem Kapitel werden die einzelnen Methoden zur Bestimmung der unterschiedlichen Parameter detailliert beschrieben. Zur Überprüfung der verbesserten oxidativen Stabilität nach Optimierung der Produktionsschritte wurde der Gesamtphenolgehalt, der Tocopherolgehalt und die Peroxidzahl der Speiseöle bestimmt. Es werden somit oxidative und antioxidative Parameter zur Beurteilung der oxidativen Stabilität herangezogen.

Zur Beurteilung der antioxidativen Kapazität nach der Extraktion des Presskuchens mit Öl wurden ebenfalls die antioxidativen Parameter Gesamtphenolgehalt und Tocopherolgehalt gemessen.

#### 3.4.1 Bestimmung des Gesamtphenolgehalts mittels Folin-Ciocalteu-Assays

Der Gesamtphenolgehalt wird photometrisch bestimmt. Das Prinzip des Versuches beruht auf der reduzierenden Wirkung von phenolischen Substanzen wie Polyphenole und

Phenolsäuren. Diese fungieren als Antioxidantien, indem sie Wasserstoffatome oder einzelne Elektronen übertragen. Im Falle des verwendeten Folin-Ciocalteu-Assays wird die Übertragung von Elektronen ausgenutzt (Gülçin 2012).

Durch Schaffung eines alkalischen Milieus und Zugabe des Folin Ciocalteu-Reagenz, welches aus Phosphowolframsäure und Phosphomolybdänsäure besteht, bildet sich ein blau gefärbter Komplex. Während die Hydroxylgruppen der Polyphenole dabei zu Aldehyden oxidieren, wird der Phosphomolybdat-Komplex reduziert. Insgesamt entsteht ein neuer Komplex, dessen Absorption bei 765 nm photometrisch gemessen wird. Es muss in Betracht gezogen werden, dass Phenole abhängig von ihrer Struktur Elektronen in unterschiedlichem Ausmaß übertragen. Daher wird die Konzentration der gesuchten Verbindungen in Gallussäureäquivalenzen angegeben.

Der Folin-Ciocalteu-Assays erfasst allerdings nicht nur phenolische Substanzen, sondern alle reduzierenden Verbindungen. Unter Berücksichtigung dieser Limitation gilt diese Methode dennoch als geeignete Messung für den Gesamtphenolgehalt (Gülçin 2012; Singleton et al. 1999).

### **3.4.1.1 Probenvorbereitung und photometrische Messung von Öl**

Es wurden 2,5 g der unterschiedlichen Öle in ein 15ml-Röhrchen eingewogen und in 2,5 ml Hexan gelöst. Anschließend wurde 1 ml 80-%iges Methanol (v/v) zur Probe hinzu pipettiert und vier Minuten mittels einem Vortexer durchmischt. Danach wurde das Gemisch für fünf Minuten bei 4000 rpm (+21°C) zentrifugiert. Die wässrige Methanolphase wurde in einem neuen 15 ml-Röhrchen gesammelt. Diese Extraktionsschritte wurden zwei weitere Male durchgeführt. Die wässrige Phase wurde mit 2,5 ml Hexan gewaschen, 30 Sekunden gevortext und nochmals für fünf Minuten bei 4000 rpm (+21°C) zentrifugiert. Dann wurden 2,5 ml der wässrigen Methanolphase entnommen und mit 0,39 ml Folin-Ciocalteu-Reagenz und 0,39 ml einer 7,5-%igen Natriumcarbonatlösung (w/v) versetzt. Bei Raumtemperatur wurden die Proben für 30 Minuten im Dunkeln inkubiert und danach wurde bei 4000 rpm drei Minuten lang der gebildete Niederschlag abzentrifugiert. Trotz Zentrifugieren war der Überstand nicht klar. Daher wurde die Lösung durch einen Spritzenfilter (Porengröße 0,22 µm) filtriert und bei 765 nm beim Spektralphotometer gemessen. Dies erfolgte in Glasküvetten.

### **Auswertung**

Zur quantitativen Auswertung der Polyphenole wurde eine Kalibrationsgerade im Bereich von 5-125 µg Gallussäure/2,5 ml erstellt. Nach Umsetzung mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz wurden diese gemessen. Folgende Verdünnungen wurden hergestellt:

V1: 5 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V2: 25 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V3: 45 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V4: 65 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V5: 85 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V6: 105 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

V7: 125 µg GA in 2,5 mL MeOH (80 %)

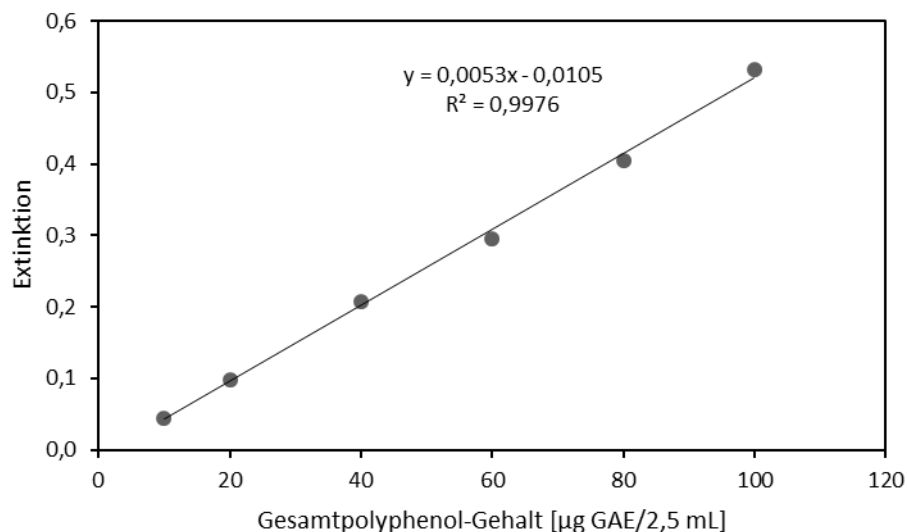


Abbildung 14: Standardgerade Gesamtpolyphenolgehalt

Basierend auf der Gleichung von Abbildung 14 wurde der Gesamtphenolgehalt in mg GAE/100 g Öl dargestellt. Zuerst wurden die Extinktionen in die Kalibriergerade eingesetzt. Dies ergab folgende Einheit: µg GAE/2,5 ml. Dann erfolgte eine Umrechnung auf µg GAE/3 ml, denn dies war die vollständig extrahierte Menge nach der 3-fach wiederholten Extraktion. Unter Berücksichtigung der Einwaage (2,5 g Öl) konnte auf mg GAE/100 g Öl umgerechnet werden.

### **3.4.1.2 Probenvorbereitung und photometrische Messung des Presskuchens**

#### **Extraktion der Polyphenole aus dem Presskuchen**

Teh et. al (2014) ermittelten, dass ein Methanol/Aceton/Wasser Gemisch aufgrund von unterschiedlichen Polaritäten zu der höchsten Extraktion von Polyphenolen führt. Basierend auf dieser Studie wurde diese Methode für die Extraktion gewählt. Zuerst wurden die Proben in einer Kaffeemühle gemahlen und davon 6 g in einen 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Von einem Methanol/Aceton/Wasser-Gemisch (7:7:6, v/v/v) wurden 50 ml hinzugefügt. Dann wurde den Proben ein Magnetührstab zugesetzt und für eine Stunde am Magnetrührer bei Raumtemperatur und 1000 rpm gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch einen Whatmanfilter 0,45 µm filtriert.

#### **Photometrische Messung der Polyphenole aus dem Presskuchen**

Vom Extrakt wurden 100 µl entnommen und in 15 ml Probenröhrchen überführt und auf fünf ml mit bidestillierten Wasser aufgefüllt. Es wurden 500 µl Folin-Ciocalteu-Reagenz ergänzt und drei Minuten später ein ml einer gesättigten Natriumcarbonatlösung (35%) hinzupipettiert. Anschließend wurden die Proben auf zehn ml mit bidestillierten Wasser aufgefüllt und eine Stunde im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Dem Leerwert wurde statt der Probe 100 µl des Lösungsmittel Methanol/Aceton/Wasser-Gemisches hinzugegeben.

#### **Auswertung**

Zur quantitativen Auswertung der Polyphenole wurde eine Kalibrationsgerade im Bereich von 0-400 µg Gallussäure/ml erstellt (Abbildung 15). Nach Umsetzung mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz wurden diese gemessen. Folgende Verdünnungen wurden hergestellt:

V1: 10 µg GA/ml Lösungsmittel

V2: 50 µg GA/ml Lösungsmittel

V3: 100 µg GA/ml Lösungsmittel

V4: 200 µg GA/ ml Lösungsmittel

V5: 300 µg GA/ml Lösungsmittel

V6: 400 µg GA/ml Lösungsmittel

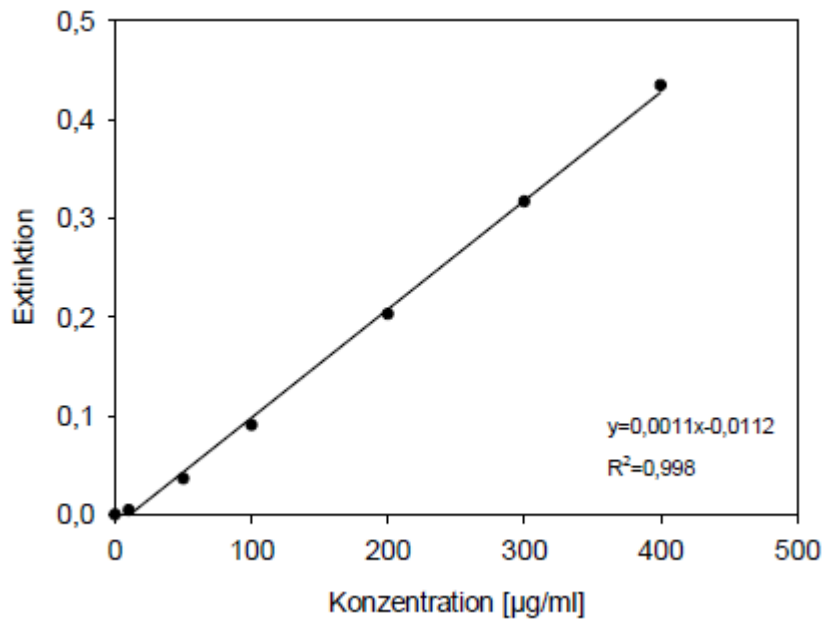


Abbildung 15: Standardgerade der Gallussäure

Die Ergebnisse wurden in mg GAE/100 g Saat dargestellt. 6 g Presskuchen wurden in 50 ml Lösungsmittel gelöst. 100 µl wurden entnommen. Dies entspricht 0,012 g Saat. Der Gehalt mithilfe der Gleichung in Abbildung 15 ermittelt wurde, wurde auf 100 g hochgerechnet.

### 3.4.2 Extraktion des Öls aus dem Presskuchen

Um die Peroxidzahl und den Tocopherolgehalt der Presskuchen zu bestimmen, muss zuerst das Öl extrahiert werden. Dies geschieht mit lipophilen organischen Lösungsmitteln wie Diethylether, Petrolether und Hexan. Um die gesamten Fette zu bestimmen, wird oft Diethylether verwendet, weil es sich hierbei um ein relativ unpolares Lösungsmittel handelt. Somit extrahiert es hauptsächlich unpolare Lipide wie Sterole und Tocopherole. Polare Lipide wie Glycolipide oder Phospholipide werden damit nur sehr schwach extrahiert. Petrolether und Hexan werden ebenfalls primär für die Extraktion von unpolaren Lipiden verwendet (Otles 2011).

#### Durchführung

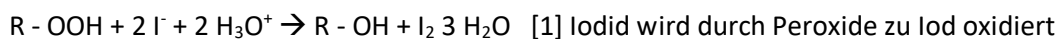
Mithilfe einer Kaffeemühle wurde der Presskuchen gemahlen und 16 g in 50 ml Probenröhrchen eingewogen. Um das Öl zu extrahieren wurden Petrolether und Diethylether im Verhältnis 90:10 mit Zusatz von 100 mg/L Pyrogallol verwendet. Davon wurden 20 ml in das Röhrchen pipettiert. Dann wurden die Proben 2 Minuten gevortext und

bei 4 °C und 2500 rpm zwei Minuten zentrifugiert. Danach wurde das Lösungsmittel in einem neuen Röhrchen gesammelt. Diese Extraktionsschritte wurden insgesamt dreimal in Folge durchgeführt. Das gesamte Lösungsmittel wurde in einen Rundkolben eingefüllt und mithilfe eines Rotationsverdampfer verdampft. Das extrahierte Öl wurde nun für die Analysen verwendet.

### 3.4.3 Bestimmung der Peroxidzahl mittels Titrimetrie

Für die Bestimmung der Peroxidzahl wurde die Methode nach Wheeler verwendet (Wheeler 1932). Bei der Peroxidzahl handelt es sich um eine Kennzahl zur Beurteilung des Oxidationsgrades einer Probe. Sie ist ein Maß für die beginnenden oxidativen Fettveränderungen und erfasst hauptsächlich Hydroperoxide (Fiebig und Godelmann 1997). Diese peroxidischen Verbindungen zählen zu den primären Lipidoxidationsprodukten, welche in den frühen Phasen der Initiation und Propagation entstehen (Pignitter und Somoza 2012). Die Peroxidzahl wird als die erfassbare Menge an aktivem Sauerstoff in einem Kilogramm Probe definiert und in Milli-Äquivalent aktivem Sauerstoff pro kg Öl angegeben (Matissek et al. 2010).

In einem Gemisch aus Essigsäure und Chloroform wird die Probe gelöst und mit gesättigter Kaliumiodidlösung versetzt. Dabei oxidiert Iodid durch Hydroperoxide und Peroxide zu Iod. Das freigesetzte Iod wird mit einer Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert (siehe Reaktionsgleichung [1] und [2]).



#### Durchführung

Fünf Gramm des extrahierten Öls vom Presskuchen bzw. des kaltgepressten Öls wurden in einen Rundkolben eingewogen. Dazu wurde 50 ml eines Essigsäure und Chloroform Gemisches im Verhältnis von 3:2 hinzugefügt. Dann wurden 0,5 ml einer gesättigten Natriumjodidlösung hinzugegeben und für 60 Sekunden stark geschüttelt. Gleich darauf wurde die Lösung mit Stärke versetzt und mit einer 0,1 N Natriumthiosulfatlösung bis zum Farbumschlag von violett-braun ins Farblose titriert.

#### Auswertung

Die POZ der Ölproben wurde mit folgender Formel berechnet:

$$POZ = (a - b) * N * 1000 / E$$

|          |                                                                |
|----------|----------------------------------------------------------------|
| <i>a</i> | <i>Verbrauch Natriumthiosulfatlösung im Hauptversuch in ml</i> |
| <i>b</i> | <i>Verbrauch Natriumthiosulfatlösung im Blindversuch in ml</i> |
| <i>E</i> | <i>Einwaage in Gramm</i>                                       |
| <i>N</i> | <i>Normalität der Natriumthiosulfatlösung in mol/l</i>         |

Die POZ wurde in Absolutwerten angegeben.

#### **3.4.4 Bestimmung des Tocopherolgehaltes mittels RP-HPLC/UV**

Tocopherole können mittels HPLC mit Normalphasenchromatographie (NP) oder Umkehrphasenchromatographie (RP) getrennt werden. Die Detektion erfolgt anhand UV- und/oder Fluoreszenzdetektor. Für die Analyse wurde die Methode der Reverse Phase und anschließender UV/VIS-Detektion gewählt. Die Vorgehensweise weist allerdings den Nachteil auf, dass  $\beta$ - und  $\gamma$ -Tocopherol nicht voneinander getrennt werden können. Allerdings beinhalten Pflanzenöle nur relativ kleine Mengen des  $\beta$ -Homologs und somit kommt es zu keiner signifikanten Fehlerquellen bei der Analyse von  $\gamma$ -Tocopherol (GLISZCZYNSKASWIGLO und SIKORSKA 2004).

##### **Durchführung**

Basierend auf der Methode von Gliszczynska-Swiglo und Sikorska wurden die Tocopherole folgendermaßen analysiert: Es wurden 50 mg Ölprobe oder extrahiertes Öl aus dem Presskuchen in ein Eppendorfer-Gefäß eingewogen. Danach wurde die Probe mit einem ml Isopropanol gelöst. Tocol wurde als interner Standard zugesetzt, sodass eine Konzentration von 5  $\mu\text{g/ml}$  enthalten war. Die Proben wurden gevortext und anschließend mittels eines Nylonfilters (0,2  $\mu\text{m}$ ) filtriert. Danach wurde ein Teil der Lösung in Braunglasflaschen mit Mikroinsatz pipettiert. Diese wurden dann mithilfe der RP-HPLC/UV analysiert. Die Bedingungen der HPLC-Analyse wurden in Tabelle 6 und 7 dargestellt. Alle Proben wurden im Dreifachansatz bestimmt. Zusätzlich wurde von jedem biologischen Replikat ein technisches Replikat analysiert.

Tabelle 2: Bedingungen des RP-HPLC/UV-Systems

| System                       |                                                |
|------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>HPLC-System</b>           | Dionex UltiMate 3000                           |
| <b>Detektor</b>              | Dionex Diodenarraydetektor, DAD-3000           |
| <b>Säule</b>                 | Kinetex 5 µm EVO C18, 150 x 4,6 mm             |
| <b>mobile Phase</b>          | Laufmittel A: bidest. H <sub>2</sub> O (100 %) |
|                              | Laufmittel B: Methanol (100 %)                 |
| <b>Flussrate</b>             | 0,5 ml/min                                     |
| <b>Injektionsvolumen</b>     | 20 µl                                          |
| <b>Detektionswellenlänge</b> | 295 nm                                         |

Tabelle 3: Gradientenverlauf der mobilen Phase

| Zeit [min] | Methanol [%] | dd. H <sub>2</sub> O [%] |
|------------|--------------|--------------------------|
| <b>0</b>   | 95           | 5                        |
| <b>4</b>   | 100          | 0                        |
| <b>14</b>  | 100          | 0                        |
| <b>16</b>  | 95           | 5                        |
| <b>18</b>  | 95           | 5                        |

### Auswertung

Zur Auswertung der Proben wurde die Software Chromeleon 6.80 SR9, Dionex verwendet. Damit wurden die Peaks vollständig und gleichmäßig markiert, integriert und berechnet. Mithilfe von Standardsubstanzen ( $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol) konnte durch den Vergleich der Retentionszeiten ein qualitativer Nachweis geschehen (Tabelle 8).

Tabelle 4: Retentionszeiten der Standards

| Standard                  | Retentionszeit [min] |
|---------------------------|----------------------|
| $\alpha$ -Tocopherol      | 10,5                 |
| $\gamma$ -Tocopherol      | 9,7                  |
| $\delta$ -Tocopherol      | 8,7                  |
| Tocol (interner Standard) | 7,8                  |

Zur quantitativen Auswertung wurden Kalibrationsgeraden mit unterschiedlichen Konzentrationen der jeweiligen Tocopherole hergestellt und gemessen. Die hergestellten Standards betrugen: 500 µg/ml - 250 µg/ml - 100 µg/ml - 50 µg/ml – 5 µg/ml. Die Konzentrationen wurden mit der Software Chromeleon 6.80 SR9, Dionex berechnet und für die Bildung einer Standardgeraden herangezogen, die in folgender Abbildung 16 dargestellt sind:

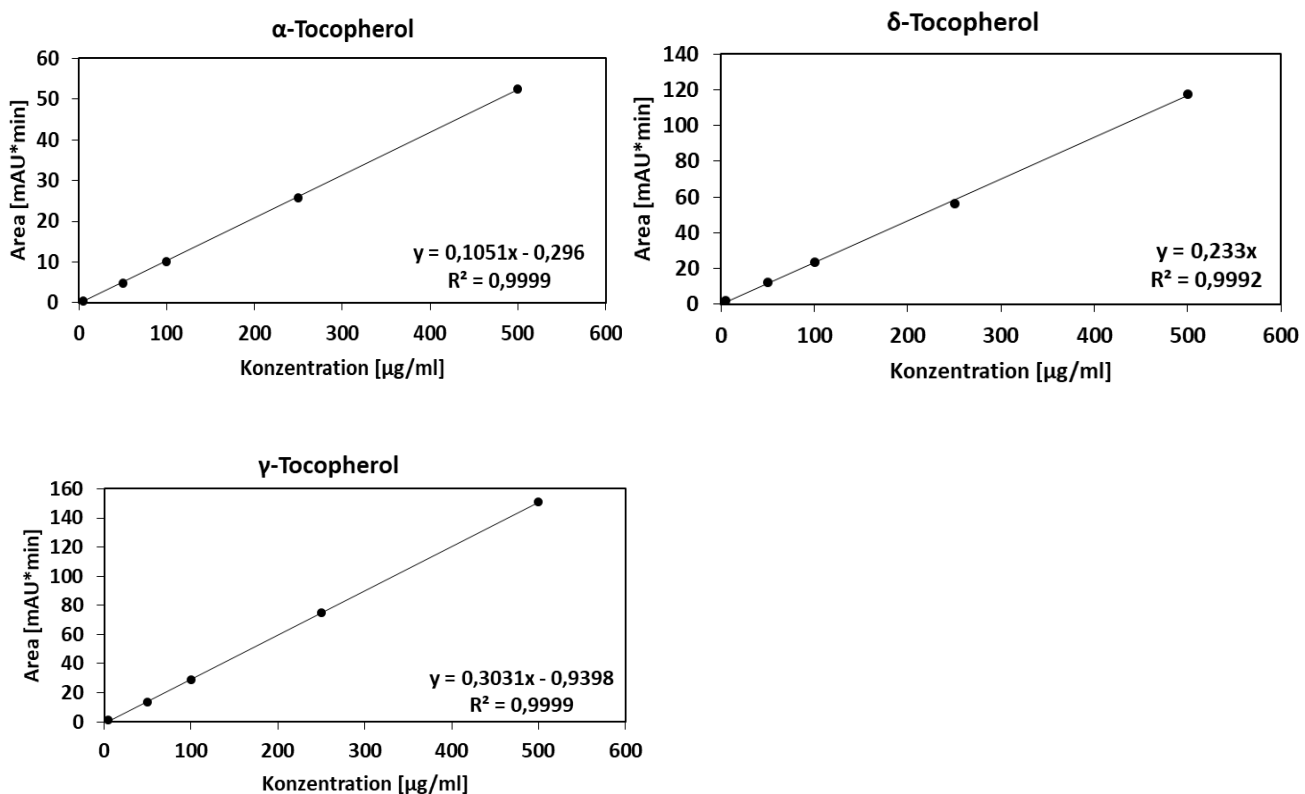


Abbildung 16: Standardgeraden der Tocopherol Homologe

### Ermittlung der Wiederfindungsrate

Um mögliche Verluste des Analyten während des gesamten analytischen Verfahrens zu berücksichtigen, wurde die Wiederfindungsrate von Öl und Presskuchen ermittelt (siehe Tabelle 9). Durch Zusatz von Tocol zur Probe und Tocol zu reinem Isopropanol wurde die Wiederfindungsrate berechnet.

Tabelle 5: Wiederfindungsrate für die Bestimmung von Tocopherol

| Sorte             | Wiederfindungsrate [%] |
|-------------------|------------------------|
| Leinpresskuchen   | 74,5                   |
| Leinöl            | 74,0                   |
| Hanfpresskuchen   | 116,7                  |
| Hanföl            | 83,7                   |
| Distelpresskuchen | 37,8                   |
| Distelöl          | 77,7                   |

### Ermittlung der Nachweis- und Quantifizierungsgrenze

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol wurde die Methode der linearen Regression mit  $LOD = 3.3 \sigma / m$  herangezogen.  $\sigma$  entspricht der Standardabweichung der Response und  $m$  der Steigung der Geraden. Die Bestimmungsgrenze wurde mit der Methode der Residualvarianz der Regression mit  $LOQ = 10 \cdot SDr / m$  berechnet.  $SDr$  entspricht der Standardabweichung der Residuen und  $m$  der Steigung der Geraden. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 8.

Tabelle 6: Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze der Tocopherole

| Tocopherole          | LOD [ $\mu\text{g/ml}$ ] | LOQ [ $\mu\text{g/ml}$ ] |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|
| $\alpha$ -Tocopherol | 6,4                      | 16,8                     |
| $\gamma$ -Tocopherol | 7,0                      | 18,4                     |
| $\delta$ -Tocopherol | 20,8                     | 53,5                     |

## 3.5 Extraktion mit Öl

### Probenvorbereitung

Der Presskuchen wurde mit einer Kaffeemühle gemahlen und 15 g in einen 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Je nach Analyse wurde eine bestimmte Menge an kaltgepresstem Leinöl mithilfe eines Messzylinders hinzugegeben. Es muss sich allerdings mindestens um ein Verhältnis von 1:2 (15 g Presskuchen: 30 ml Leinöl) handeln, damit es zu keiner Klumpenbildung kommt. Es wurden Verhältnisse von 1:2, 1:5 und 1:10 für die Analyse verwendet. Anschließend wurde das Gemisch bei Raumtemperatur 5, 10, 30, 60 und 240 Minuten je nach Analyse am Magnetrührer gerührt. Dann wurde der gesamte Inhalt des

Erlenmeyerkolbens in ein 50 ml Röhrchen überführt. Das Gemisch wurde bei 4 °C und 4000 rpm zentrifugiert. Die flüssige Phase wurde für die bereits beschriebenen Tocopherol- und Polyphenolbestimmung weiterverwendet.

### **Mehrfachextraktion**

Unter den optimierten Bedingungen wurde eine Mehrfachextraktion durchgeführt. Dafür wurde der Presskuchen nach der Zentrifugation weiterverwendet. Der Überstand des zentrifugierten Öls wurde in 50 ml Tubes überführt und mit Argon begast. Der im Tube verbliebene Presskuchen wurde wieder in einen Erlenmeyerkolben überführt und neues Öl hinzugegeben. Das Öl wurde nach jeder Extraktion photometrisch auf phenolische Substanzen untersucht. Rechnerisch konnte bestimmt werden, wie hoch der Polyphenolgehalt nach jeder Extraktion war.

### **3.6 Bestimmung der Induktionszeit mithilfe eines Rancimats**

Die Induktionszeit dient als Indikator für die Oxidationsstabilität. Ein Messgefäß wurde mit 60 ml deionisiertem Wasser gefüllt und am Rancimat platziert. In das Reaktionsgefäß wurden 3 g der Probe eingewogen und durch den Rancimat auf 120 °C erhitzt und mit Luft (20 L/h) durchgeströmt. Die Oxidation wurde so beschleunigt und die Zeit bis zur Entstehung von Oxidationsprodukten bestimmt. Die Oxidationsprodukte lösen sich im deionisiertem Wasser und durch Messung der Leitfähigkeit konnte damit die Induktionszeit gemessen werden (Anwar et al. 2003).

### **3.7 Statistische Auswertung der Ergebnisse**

Die statistische Auswertung erfolgte mit SigmaPlot 12 (Systat Software). Die Aufbereitung der Daten und Erstellung aller Graphiken wurden mittels Microsoft Excel 2016 ausgeführt. Die Ausreißer wurden mittels Nalimov-Tests identifiziert und ausgeschlossen. Für jede Analyse wurde ein Dreifach-Ansatz durchgeführt. Somit ergeben sich pro Öl und Presskuchen 3 Replikate für den jeweiligen Versuch. Zusätzlich wurde bei jeder Messung, außer der Peroxidzahlbestimmung, ein technisches Replikat gemessen und in die Auswertung miteinbezogen. Bei allen Grafiken wurden signifikante Unterschiede mithilfe verschiedener Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Die statistische Überprüfung erfolgte auf Basis des Signifikanzniveaus von  $\alpha \leq 5\%$ . Signifikante Unterschiede zur Kontrolle wurden zusätzlich mit einem Asterisk \* markiert.

Jede Analyse wurde mittels einfaktorieller Varianzanalyse und Holm-Sidak post-hoc Test ausgewertet. Wenn die Normalverteilung nach Shapiro-Wilk nicht erfüllt wurde, wurde die Kruskal-Wallis einfaktorielle Varianzanalyse und Dunn's post-hoc Test herangezogen. Der Spearman-Korrelationskoeffizient  $r$  wurde für Auswertung von Zusammenhängen zwischen zwei Variablen verwendet.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Optimierung der Pressung während der Produktion

Die Optimierung der Pressung zeichnete sich durch die Verringerung von Luftsauerstoff, Licht und hohen Temperaturen aus. Dabei wurden zwei Systeme unterschieden:

- Geschlossenes System, welches den Eindrang von Sauerstoff verhinderte
- $N_2$  System, welches mit Stickstoff begast wurde

Beide Systeme wurden gekühlt und vor Licht geschützt. Es wurden die Proben miteinander verglichen, welche mit dem offenen System (branchenüblich) hergestellt wurden und jene, welche unter optimierten Bedingungen gepresst worden sind.

#### 4.1.1 Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Polyphenolgehalt in Speiseöl

Die ermittelten Ergebnisse für den Polyphenolgehalt in Leinöl, Distelöl und Hanföl nach optimierter Pressung werden in Abbildung 17 dargestellt.

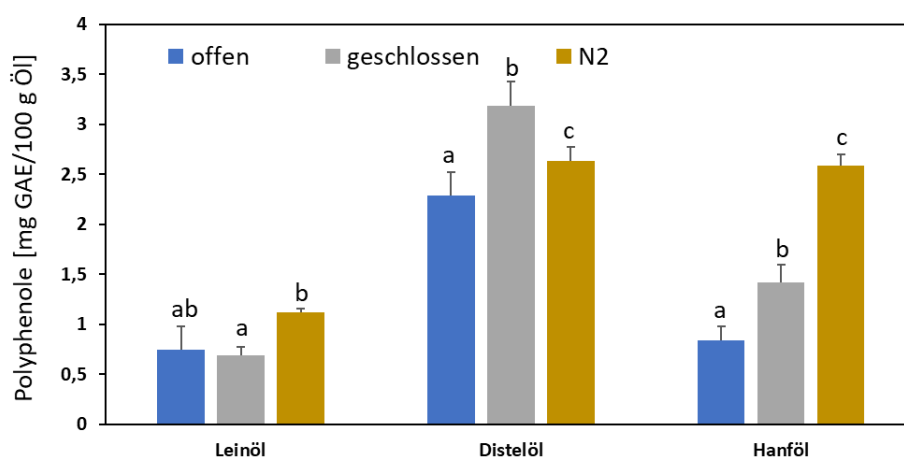


Abbildung 17: Polyphenolgehalt in Leinöl, Distelöl und Hanföl produziert im offenen, geschlossenen und  $N_2$  System. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Ölprobe zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ).

Deutlich zu erkennen ist der statistisch signifikante starke Anstieg der Polyphenole im Hanföl im Vergleich zum offenen System ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 17). Mit einem gemessenen Wert von  $0,8 \pm 0,1$  mg GAE/100 g Öl im offenen System kam es zur einer 3-fachen Steigerung der Polyphenole im Stickstoffsystem mit  $2,6 \pm 0,1$  mg GAE/100 g Öl. Liang et al. ermittelten für Hanföl einen Bereich von 44-188 mg/100 g Öl. Somit liegt der im Rahmen der Masterarbeit erhaltene Wert weit unter diesem Literaturwert. Hingegen ermittelten Siger et al. einen Gehalt von  $2,5 \pm 0,1$  mg CAE/100 g (Siger et al. 2008). Die Menge der phenolischen Substanzen variiert allerdings stark aufgrund der verschiedenen Erntebedingungen der Sorten. Unterschiede in klimatischen Bedingungen wie Gesamtniederschlag, Durchschnittstemperatur, Trockenheit und Licht haben einen wesentlichen Einfluss auf den Anteil der Inhaltsstoffe (Bajoub et al. 2016). Zusätzlich tragen agronomische Faktoren wie der Einsatz von Düngemittel (Flüssigdünger auf Blätter) und die Bestandsdichte zur qualitativen und quantitativen Veränderung des Polyphenolgehalts bei (Faugno et al. 2019). Im Zuge des Projekts wurden die gleichen Saaten für die Pressung herangezogen, wodurch die Ergebnisse der unterschiedlichen Systeme vergleichbar sind.

Beim Leinöl zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen offenen ( $0,7 \pm 0,2$  mg GAE/100 g Öl) und N<sub>2</sub> System ( $1,1 \pm 0,04$  mg GAE/100 g Öl) ( $p < 0,05$ ). Verglichen mit der Literatur wurden hier erneut niedrigere Werte (6,2 mg bis 8,5 mg GAE/100 g Öl) gemessen (Kaur et al. 2017).

Beim Distelöl zeigten sich signifikant unterscheidbare Werte zwischen allen Pressbedingungen ( $p > 0,05$ ). Der Polyphenolgehalt steigte allerdings nicht wie im Muster von Hanföl. In Fall von Distelöl wurde nach der Pressung im geschlossenen System der größte Polyphenolgehalt ( $3,2 \pm 0,2$  mg GAE/100 g Öl) gemessen. In der Literatur variieren die Ergebnisse für den Gesamtpolyphenolgehalt sehr stark. Zum Beispiel ermittelten Ben Moumen et al. zwischen 9,8 mg und 14,4 mg GAE/100 g Öl (Ben Moumen et al. 2013) und Janu et al. 0,5 mg GAE/100 g Öl (Janu et al. 2014)

Basierend auf den Ergebnissen ist der Einfluss von Stickstoff matrixabhängig. Im Fall von Distelöl und Hanföl kommt es zu einer Steigerung der Polyphenole im Vergleich zum offenen System. Zusätzlich könnte die antioxidative Wirksamkeit und Stabilität unterschiedlicher Polyphenole eine entscheidende Rolle spielen. Aus Werten aus der Literatur ist erkennbar, dass nicht nur der Gesamtphenolgehalt variieren kann, sondern dass sich auch die unterschiedlichen phenolischen Substanzen unterscheiden können (Bozan und Temelli 2008; Tovar et al. 2001). So könnte es unter den verschiedenen Pressbedingungen zu unterschiedlicher Stabilität und antioxidativen Aktivität dieser Verbindungen kommen.

#### 4.1.2 Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Polyphenolgehalt in Presskuchen

Die Auswertung des Gesamtpolyphenolgehaltes der Presskuchen folgte keinem einheitlichen Ergebnis (Abbildung 18). Die Werte des Leinpresskuchen unterscheiden sich nicht signifikant innerhalb der unterschiedlichen Systeme. Der Gehalt im Distelpresskuchen verringert sich vom offenen System mit  $633,3 \pm 16,3$  mg GAE/100 g auf  $545,6 \pm 11,8$  mg GAE/100 g im geschlossenen System. Beim Hanfpresskuchen kommt es wie im Hanföl zu einer signifikanten Steigerung der phenolischen Substanzen im optimierten mit Stickstoff begasten System ( $p < 0,05$ ).

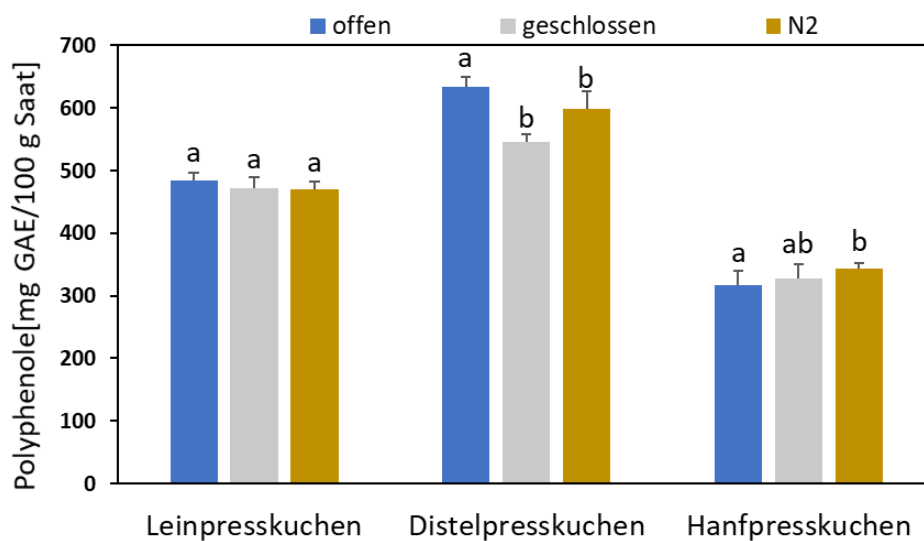


Abbildung 18. Polyphenolgehalt in Leinpresskuchen, Distelpresskuchen und Hanfpresskuchen produziert im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Presskuchenprobe zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ).

Einerseits zeigt die Abbildung 18, dass die Optimierung des Systems matrixabhängig ist, gleichzeitig zeigt sich aber insgesamt keine starke relative Änderung im Gehalt der Polyphenole. Die polyphenolischen Verbindungen scheinen im Presskuchen geschützt zu sein. Vergleicht man den Gesamtphenolgehalt des Presskuchens mit jenem im Öl, bleibt der Großteil der Polyphenole bei der Pressung im Presskuchen zurück. Dies ist vor allem für eine Extraktion von Polyphenolen aus dem Presskuchen ein entscheidendes Kriterium. Das zeigte sich auch im Vergleich des Leinpresskuchens mit dem optimierten Leinöl, wo im Leinpresskuchen im optimierten System ( $470,6 \pm 12,7$  mg GAE/100 g Saat) um ein ~1000-faches verglichen mit  $0,4 \pm 0,01$  mg GAE/100 g Saat im optimierten Leinöl detektiert wurde.

Die GAE im Leinöl wurden auf 100 g Saat umgerechnet, um ein vergleichbares Ergebnis darzustellen.

#### 4.1.3 Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Tocopherolgehalt in Speiseöl

Die Messergebnisse des Tocopherolgehalts in den Ölproben unter den unterschiedlichen Bedingungen wurden in Abbildung 19 bis 21 dargestellt.

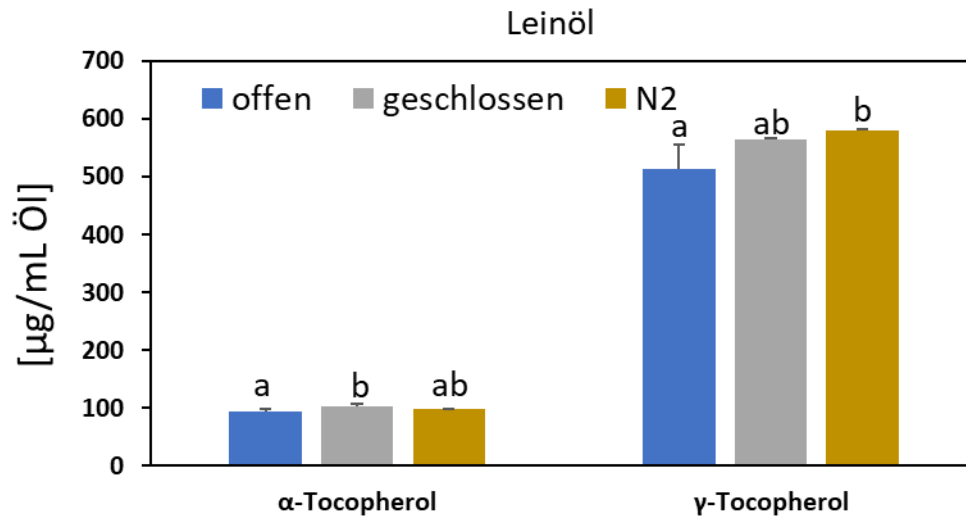


Abbildung 19: Tocopherolgehalt in Leinöl im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.

Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p < 0,05).

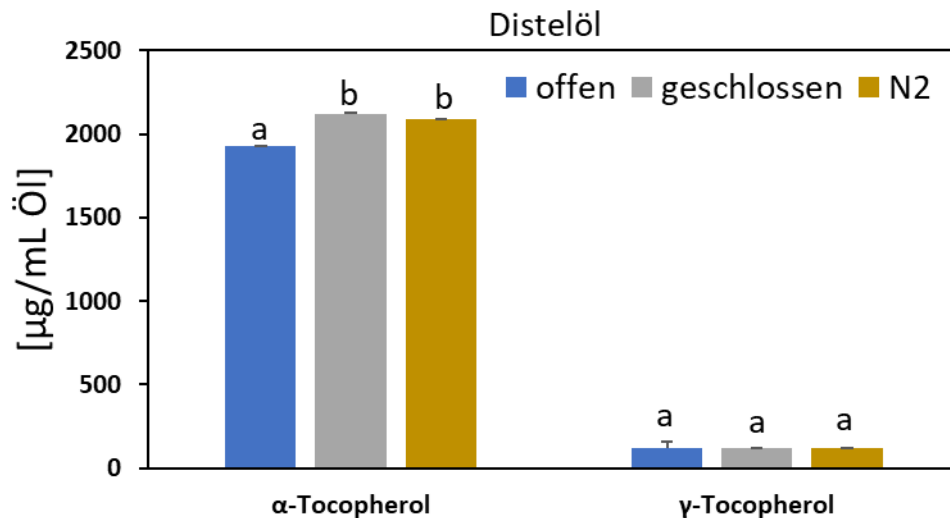


Abbildung 20: Tocopherolgehalt in Distelöl im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.

Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p<0,05).

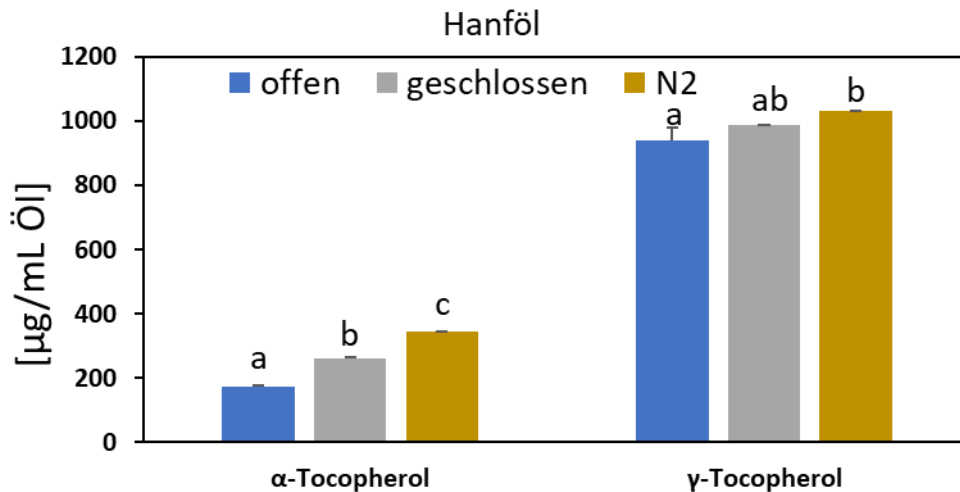


Abbildung 21: Tocopherolgehalt in Hanföl im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.

Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p<0,05).

### α-Tocopherol

Für α-Tocopherol zeigte sich bei allen drei Sorten im geschlossenen System eine bessere Erhaltung im Vergleich zum offenen System (Abbildung 19). Besonders markant ist die Verbesserung des Hanföls. Hier konnte mithilfe des mit Stickstoff optimierten System eine Steigerung von 97,0 % erzielt werden (offen: MW 174,3 ± 24,9 µg/ml Öl, N<sub>2</sub>: MW 343,3 ± 5,3 µg/ml). Vergleicht man diese Werte mit den ermittelten Ergebnissen von Oomah et al. (31,6 µg/ml Öl) und Teh und Birch (25,9 ± 0,09 µg/ml Öl), liegen die gemessenen Werte des eigenen Projekts weitaus höher (Oomah et al. 2002; Teh und Birch 2013).

Der besonders hohe Gehalt im N<sub>2</sub> System und die gleichzeitig stark abweichenden Werten von der Literatur könnten an der Verringerung der Oxidation liegen. Durch die Optimierung mittels Stickstoffs bzw. dem verhinderten Eindringen von Sauerstoff und der Kühlung während der Pressung könnte der Abbau des  $\alpha$ -Tocopherols verhindert worden sein. In der Studie von Player et al. wurde gezeigt, dass  $\alpha$ -Tocopherol im Sojaöl unter den Tocopherol Homologen signifikant ( $p < 0,05$ ) schneller abgebaut wurde. In diesem Fall war die Stabilität des  $\alpha$ -Tocopherols, welche durch die Oxidation beeinflusst wurde, am geringsten (Player et al. 2006).

Beim  $\alpha$ -Tocopherol des Distelöls wurden folgende Werte ermittelt. Im offenen System konnte ein Wert von  $1926,5 \pm 68,9 \mu\text{g/ml}$  Öl detektiert werden, während im geschlossenes System  $2119,4 \pm 11,6 \mu\text{g/ml}$  Öl und im Stickstoffsystem  $2088,6 \pm 5,7 \mu\text{g/ml}$  Öl ermittelt wurden. Hier konnte ebenfalls im Vergleich des offenen mit beiden optimierten Systemen eine signifikante Steigerung um 10,0 % erzielt werden ( $p < 0,05$ ). In der Literatur finden sich sehr widersprüchliche Werte. Zum Beispiel wurden sehr niedrige Werte wie  $410 \pm 19,5 \mu\text{g/ml}$  und  $612,9 \pm 14,0 \mu\text{g/ml}$  angegeben (Bozan und Temelli 2008; Franke et al. 2010). Gleichzeitig wurden aber auch Ergebnisse mit  $1.888,7 \pm 15,4 \mu\text{g/ml}$  für kaltgepresstes Distelöl ermittelt (Aydeniz et al. 2014). Die Unterschiede im Tocopherol Verhalten könnten einerseits wie bei den Polyphenolen von den klimatischen Bedingungen verursacht werden, andererseits wurden in den verschiedenen Studien auch andere Extraktionsmethoden verwendet. Beide Faktoren können die Abweichung zur Literatur wesentlich erklären.

Beim Leinöl kam es im geschlossenen System zu einer signifikanten Steigerung von  $\alpha$ -Tocopherol mit einem Messwert von  $102 \pm 4,9 \mu\text{g/ml}$  ( $p < 0,05$ ). Diese hält sich allerdings in einem niedrigeren Ausmaß von 8,2 %. Ähnlich wie bei den anderen Sorten haben Bozan und Temelli ebenfalls einen geringeren Gehalt von  $5,49 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$  detektiert (Bozan und Temelli 2008).

### **$\gamma$ -Tocopherol**

Dieses Homolog blieb bei Lein- und Hanföl unter optimierten Bedingungen besser erhalten. Bei Leinöl konnte ein bis zu 13,3 % erhöhter Gehalt im Vergleich zum offenen System gemessen werden, gefolgt von Hanföl mit 9,8 %. Beim Distelöl konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Der Messwert für Leinöl unter Stickstoffbegasung betrug  $580,79 \pm 1,9 \mu\text{g/ml}$ . Auch hier finden sich in der Literatur unterschiedliche Messwerte für kaltgepresstes Öl, wie

703,7 ± 12,1 µg/ml (Bozan und Temelli 2008), 344,1 ± 0,19 µg/ml (Teh und Birch 2013) und 363,0 ± 7,0 µg/ml (Gliszczynska-Świgło et al. 2007).

Etwas auffallender ist der ermittelte Gehalt von 120,0 ± 1,7 µg/ml im Distelöl. Denn Bozan und Temelli konnten kein γ-Tocopherol im Distelöl nachweisen (Bozan und Temelli 2008). Franke et al. (2010) konnten diesen Wert zwar mit 6,5 µg/ml nachweisen, dennoch deutlich weniger als der Wert, der im Rahmen der Masterarbeit gemessen wurde.

Gesamt betrachtet führt ein System, welches Einflussfaktoren wie Licht, Temperatur und Sauerstoff reduziert, zu einer besseren Erhaltung beider Tocopherole und könnte somit für eine erhöhte oxidative Stabilität sorgen.

#### 4.1.4 Einfluss optimierter Pressvorgänge auf den Tocopherolgehalt in Presskuchen

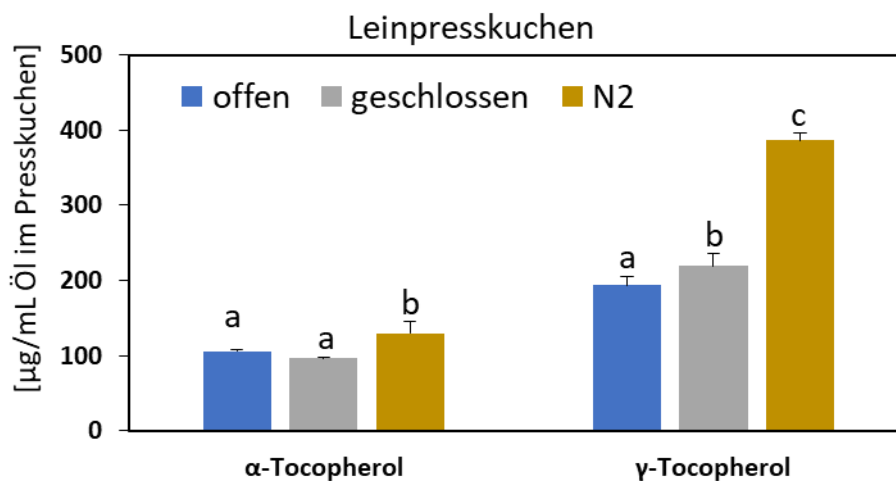


Abbildung 22: Tocopherolgehalt in Leinpresskuchen im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> begasten System. Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p < 0,05).

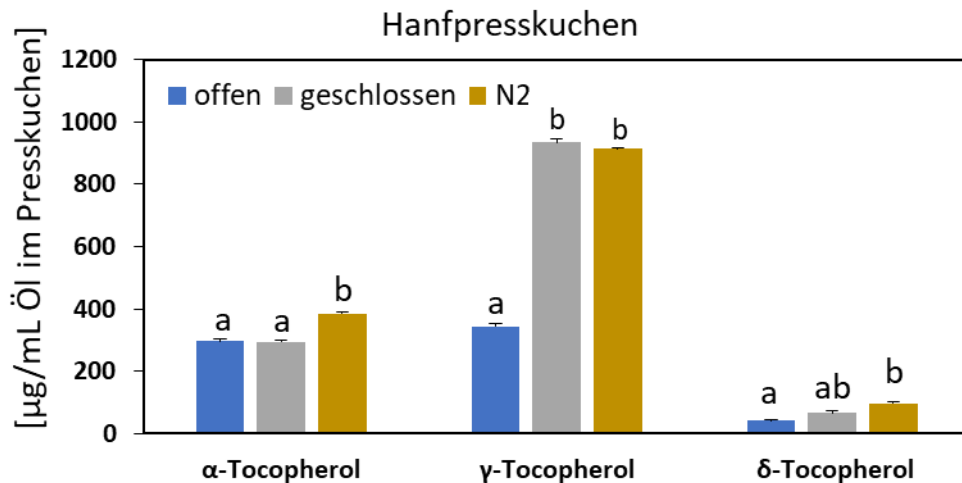


Abbildung 23: Tocopherolgehalt in Hanfpresskuchen im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.  
Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p<0,05).

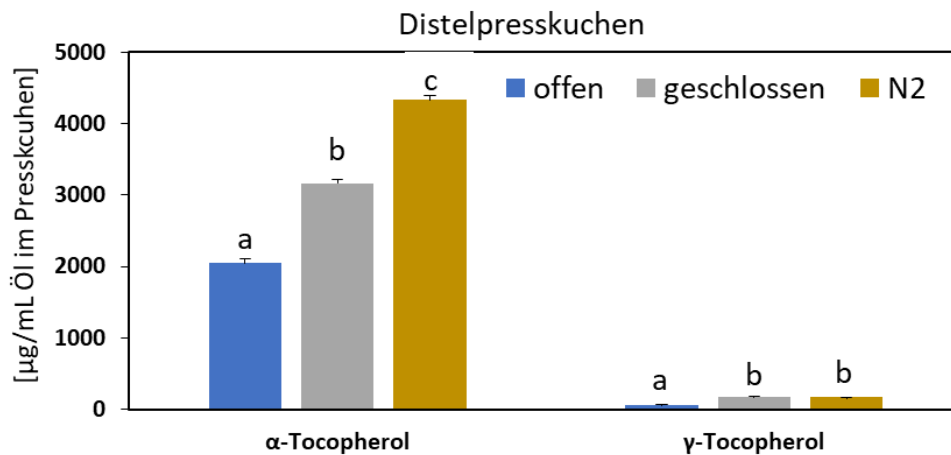


Abbildung 24: Tocopherolgehalt in Distelpresskuchen im offenen, geschlossenen und N<sub>2</sub> System.  
Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Tocopherol-Homologs zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p<0,05).

### α-Tocopherol

Im Lein- und Distelpresskuchen konnte im N<sub>2</sub>-System eine signifikant höhere Menge an α-Tocopherol im Vergleich zum offenen System erhalten werden (Abbildung 22 bis 24) (p < 0,05). Beim Distelpresskuchen handelte es sich um eine Steigerung von 112,0 %, während beim Leinpresskuchen 23,0 % erzielt wurden. Beim Hanfpresskuchen kam es im N<sub>2</sub>-System zu einer signifikanten Abnahme im Vergleich zum offenen System (p < 0,05). Werden die Ergebnisse mit dem zugehörigen gepressten Öl verglichen, konnten insgesamt unter der Stickstoffatmosphäre sowohl im Öl als auch im Presskuchen mehr Tocopherole vor Verlust geschützt werden. Eine Ausnahme stellt der Hanfpresskuchen dar, wo es allerdings im Hanföl zu einer Steigerung um 97,0 % kam.

### **$\gamma$ -Tocopherol**

Das  $\gamma$ -Tocopherol konnte unter Stickstoffatmosphäre bei allen drei Sorten wesentlich besser als im offenen System erhalten bleiben. Prozentuell kam es zu einer Steigerung im N<sub>2</sub>-System von 168,9 % beim Distelpresskuchen, 100,2 % beim Leinpresskuchen und 68,2 % beim Hanfpresskuchen verglichen mit dem offenen System. Vergleicht man diese Daten mit den vorherigen Graphen der Öle in Abbildung 19 bis 21, so wurde sowohl im Presskuchen als auch im Öl eine Erhöhung von  $\gamma$ -Tocopherol im Zuge der Optimierung des Pressvorgangs beobachtet. Es handelte sich also weder um einen besseren Transfer von Presskuchen ins Öl noch um einen Schutz nur für das Öl, denn sonst würde sich der Tocopherolgehalt im Presskuchen nicht erhöhen. Unter Stickstoffatmosphäre bzw. Sauerstoffausschluss könnte es also für Öl und Presskuchen zu einer Minimierung der Oxidation kommen. Auffällig ist der Distelpresskuchen, welcher sich ähnlich wie das zugehörige Öl verhält. Es wurde nur eine sehr geringe Menge an  $\gamma$ -Tocopherol detektiert (N<sub>2</sub>-System MW 165,2  $\pm$  1,7  $\mu\text{g/ml}$ ). Franke et al. konnten das  $\gamma$ -Tocopherol im Distelpresskuchen nicht nachweisen (Franke et al. 2010). Die Nachweisbarkeit ist allerdings nicht auf die Optimierung zurückzuführen, denn auch im offenen System wurden 61,4  $\pm$  1,7  $\mu\text{g/ml}$  festgestellt. Somit könnte es sich um eine Distelsorte mit überdurchschnittlich hohem Gehalt an  $\gamma$ -Tocopherol handeln.

Basierend auf den Ergebnissen, blieben bei der Pressung im optimierten System unter Stickstoffatmosphäre mehr Tocopherole im Presskuchen als beim nicht optimierten Pressvorgang erhalten. Allerdings sollte der Kosten-Nutzen-Faktor für die Industrie ermittelt werden. Die Zufuhr von Stickstoff ist mit mehr Kosten verbunden als ein System unter Sauerstoffausschluss.

#### 4.1.5 Einfluss eines optimierten Pressvorgangs auf die Peroxidzahl in Speiseöl und Presskuchen

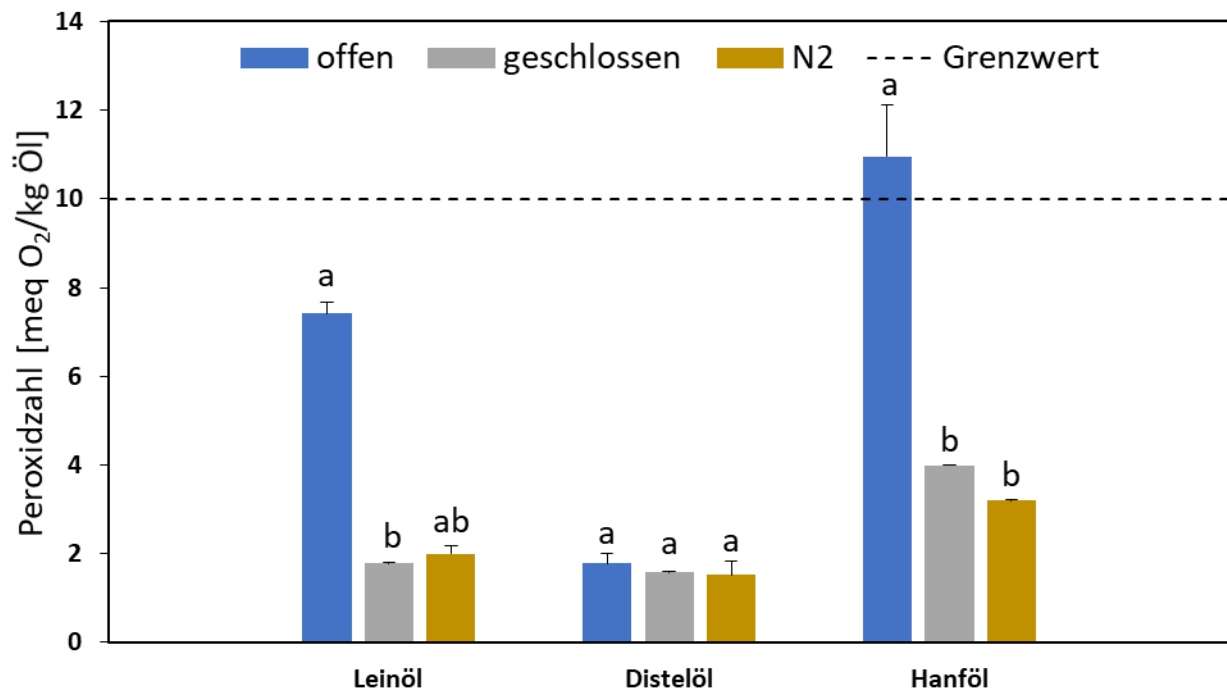


Abbildung 25: Peroxidzahl in Leinöl, Distelöl und Hanföl produziert im offenen, geschlossenen N<sub>2</sub> System.

Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Ölprobe zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Grenzwert entspricht dem vom Codex Alimentarius geregelten Höchstwert von 10 mEq O<sub>2</sub>/kg.

Die Peroxidzahlen von Leinöl, Distelöl und Hanföl im offenen System betrugen  $7,4 \pm 0,3$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl,  $1,8 \pm 0,2$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl bzw.  $11,0 \pm 1,2$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl. Hierbei ist auffallend, dass die Peroxidzahl des Hanföls über dem Grenzwert des Codex Alimentarius liegt. Somit dürfte diese Sorte nicht verkauft werden. Im N<sub>2</sub> System kam es allerdings zu einer Reduktion um 71 %, womit sich ein Wert von  $3,2 \pm 0,3$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl ergab (Abbildung 21). Damit lag die Peroxidzahl weit unter dem Grenzwert und dürfte verkauft werden. Im geschlossenen System ergab sich ebenfalls eine Reduktion, die sich allerdings vom N<sub>2</sub> System nicht signifikant unterschied. Beim Leinöl konnte eine noch höhere Reduktion auf  $1,8 \pm 0,01$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl beobachtet werden. Dies entsprach einer Verringerung um 76 %. Wie beim Hanföl gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den im N<sub>2</sub> System und geschlossenen System produzierten Ölen hinsichtlich der Peroxidzahl. Symoniuk et al. (Symoniuk et al. 2016) ermittelten die Peroxidzahl von 5 verschiedenen Leinölproben. Es handelte sich dabei um die Sorte Szafir, wovon alle 5 in unterschiedlichen Gebieten Pollens angebaut wurden. Diese wurden alle optimal in Braunglasflaschen bei kühlen Temperaturen gelagert. Bei der

Pressung wurden Temperaturen von  $\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$  erreicht, das austretende Öl hatte  $\sim 38^{\circ}\text{C}$ . Dies entspricht dem Standardverfahren für die Leinsaat. Die Messungen der fünf Proben der Studie von Symoniuk et al. betrugen  $2,2 \pm 0,04\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ ,  $2,1 \pm 0,05\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ ,  $2 \pm 0,03\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ ,  $1,6 \pm 0,07\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ ,  $2,3 \pm 0,04\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ . Bis auf eine Probe mit  $1,6 \pm 0,07\text{ mEq O}_2/\text{kg}$ , konnte mithilfe der Optimierung mit  $1,8 \pm 0,01\text{ mEq O}_2/\text{kg}$  ein niedrigerer Wert als in den Proben von Symoniuk et al. erreicht werden. Diverse klimatische und agronomische Einflussfaktoren auf die Saat, ermöglichen einen direkten Vergleich nur annäherungsweise (Faugno et al. 2019; Bajoub et al. 2016).

Beim Distelöl war die Peroxidzahl bereits im offenen System sehr niedrig und konnte nicht signifikant reduziert werden. Andhale et al. (2018) konnten ebenfalls einen geringen Wert von  $2,8\text{ mEq O}_2/\text{kg}$  für Distelöl messen. Folglich handelte es sich beim Distelöl bereits ohne Optimierung um ein äußerst oxidativ stabiles Öl.

Insgesamt konnte die Hypothese zur Erhöhung der oxidativen Stabilität durch Reduktion maßgebender Faktoren bestätigt werden. Die oxidative Stabilität hängt unter anderem von Licht, Sauerstoff und Temperatur ab. Durch den Einfluss dieser Faktoren während der Pressung konnten die Oxidation in dem Ausmaß minimiert werden, dass es zu einer drastischen Senkung der Peroxidzahl kam. Besaß das Öl allerdings von Beginn an eine sehr hohe oxidative Stabilität, wie beim Distelöl, konnte der Effekt nicht gezeigt werden.

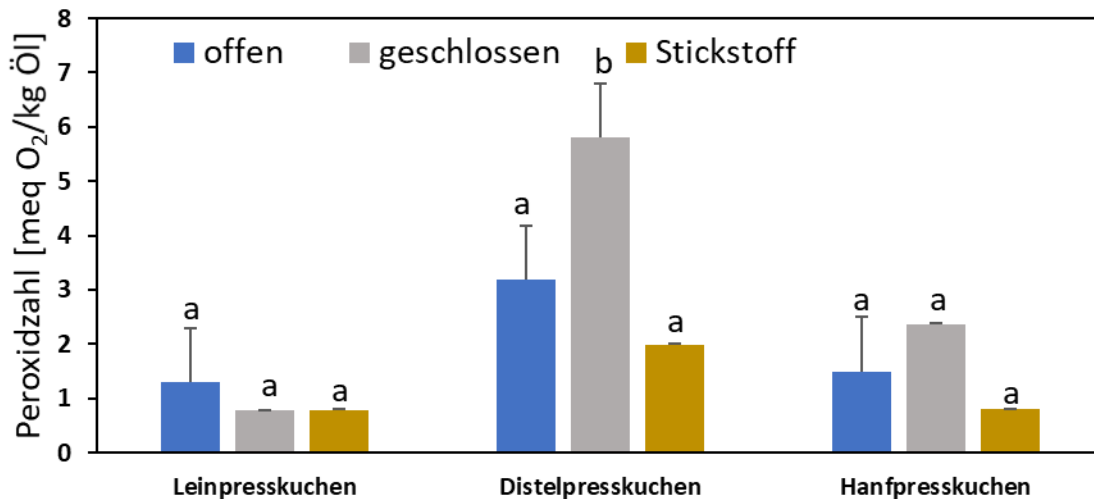


Abbildung 26: Peroxidzahl in Leinpresskuchen, Distelpresskuchen und Hanfpresskuchen im offenen, geschlossenen und mit Stickstoff begasten System.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Presskuchenprobe zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ).

Im Gegensatz zum Öl konnte beim Presskuchen kein signifikanter Unterschied zwischen offenen und optimierten Systemen gezeigt werden (Abbildung 26). Die einzige Ausnahme stellt der Distelpresskuchen im geschlossenen System dar, wo es zu einer signifikanten Erhöhung der Peroxidzahl kam ( $p < 0,05$ ). Die sonst nicht signifikant abweichenden Werte zwischen den System könnten daran liegen, dass die Peroxidzahl des aus dem Presskuchen extrahierten Öls bereits sehr niedrig war (Leinpresskuchen  $1,3 \pm 0,6$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl, Hanfpresskuchen  $1,5 \pm 0,7$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl). Der Presskuchen weist generell eine sehr kompakte Form auf, durch welche die Matrix vor Sauerstoff und anderen Einflüssen, wie Licht und Temperatur geschützt wird.

#### 4.1.6 Auswirkung der Röstung auf den Polyphenolgehalt in Leinöl

Der Polyphenolgehalt in Leinöl wurde auch nach diversen Röstbedingungen der Saat bestimmt, denn dies könnte einen positiven Effekt auf die Freisetzung der antioxidativ wirksamen Substanzen haben (Choe und Min 2006; Wan et al. 2015; Siger und Józefiak 2016; Siger et al. 2015; Gracka et al. 2016). Die geröstete Saat wurde im geschlossenen System gepresst. Es wurde sowohl die Dauer als auch die Temperatur der Röstung variiert.

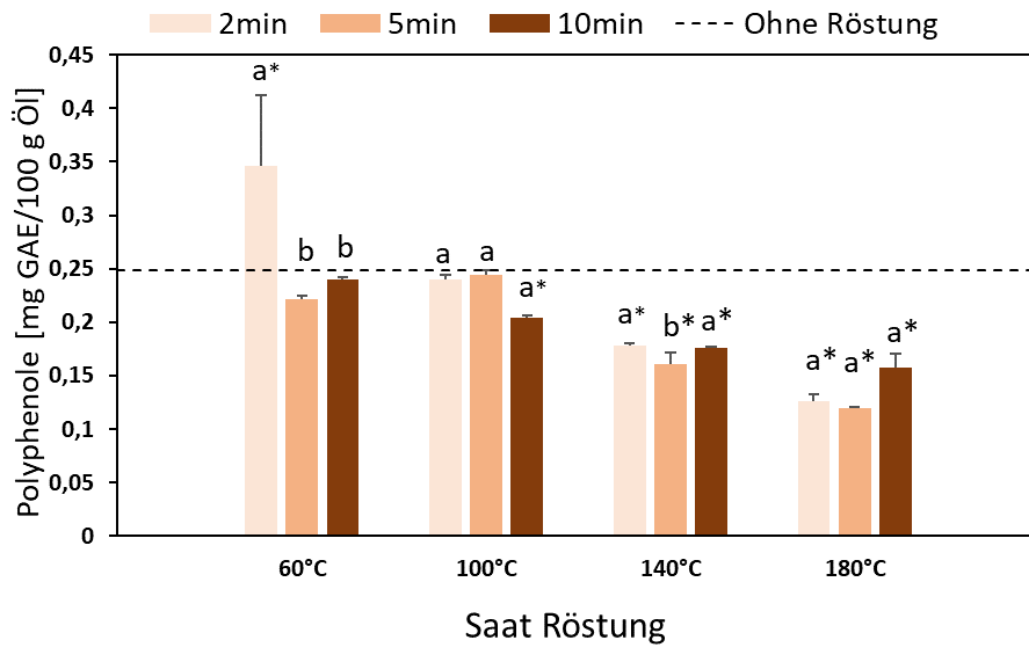


Abbildung 27: Polyphenolgehalt im Leinöl nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den Polyphenolgehalt ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Der Polyphenolgehalt im Leinöl im geschlossenen System ohne Röstung beträgt  $0,2 \pm 0,08$  mg GAE/100 g Öl (Abbildung 27). Bei einer Röstung mit 100 °C für zwei und fünf Minuten konnte kein signifikanter Unterschied im Polyphenolgehalt im Vergleich zur ohne Röstung festgestellt werden. Ab zehn Minuten Röstung bei 100 °C und jeder weiteren Erhöhung der beiden Parameter wurde eine signifikante Abnahme im Polyphenolgehalt im Vergleich zur Kontrolle beobachtet ( $p < 0,05$ ). Der vor der Öffnung der Saat durchgeführte Röstvorgang wurde zur Verringerung des Sauerstoffkontakts im Gegensatz zu nach der Öffnung und besserer Freisetzung der Polyphenole durchgeführt (Choe und Min 2006; Wan et al. 2015; Siger und Józefiak 2016; Gracka et al. 2016; Kamal-Eldin und Appelqvist 1996). Der Schutz der Polyphenole durch die Saathülle könnte bei derartigen Temperaturen nicht ausreichend sein und sorgt für die Abnahme der phenolischen Verbindungen. Dies steht allerdings in Widerspruch mit den Beobachtungen von Ross et al. und Kim et al., welche die Stabilität von Polyphenolen in anderer Matrix (Traubenkernmehl, Traubenkerne), ermittelt haben. Hier konnte eine derartige thermische Degradation erst bei Temperaturen von 180 °C und mehr beobachtet werden (Ross et al. 2011; Kim et al. 2006). Weiters zeigten die Resultate von Jeong et al., dass die Röstung von Sesamsaat bei 200 °C und 60 Minuten sogar zur

signifikanten Erhöhung des Gesamtphenolgehalts im Öl führte. Gleichzeitig konnten neue phenolische Verbindungen freigesetzt werden, welche ohne Röstung nicht detektiert wurden (Jeong et al. 2004). In der vorliegenden Masterarbeit konnte die angenommene Hypothese der verbesserten Freisetzung der Polyphenole durch die Röstung vor der Öffnung der Saat nicht bestätigt werden. Die Matrix der Leinsaat lässt die phenolischen Komponenten durch die Röstung nicht vermehrt freisetzen.

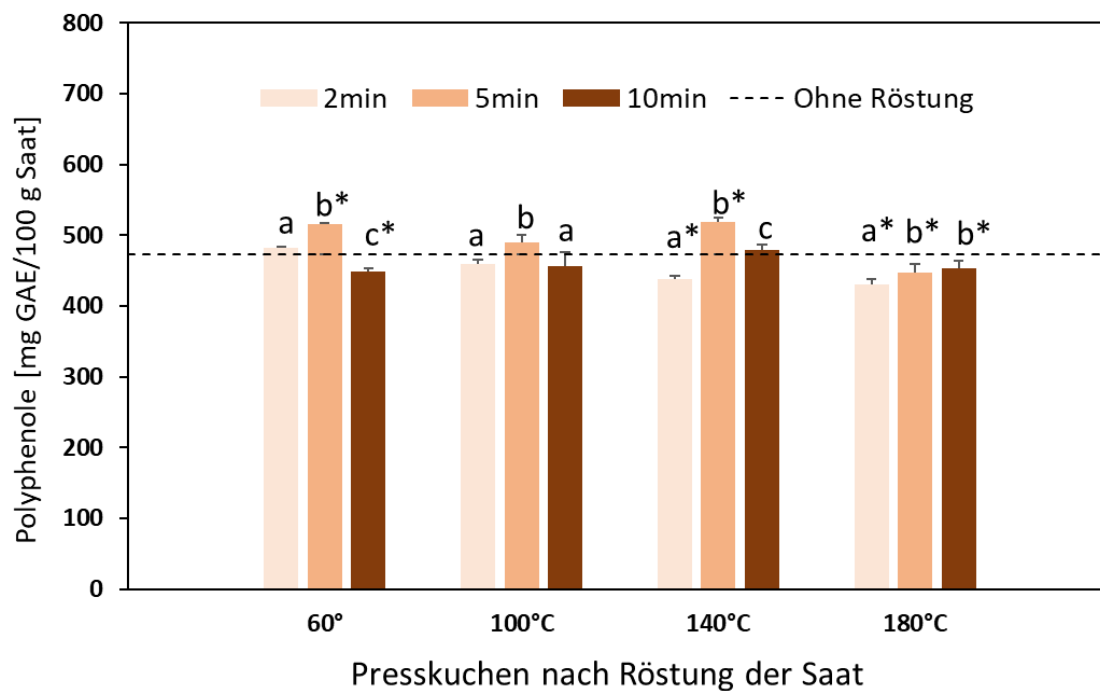


Abbildung 28: Polyphenolgehalt im Leinpresskuchen nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den Polyphenolgehalt ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Die Polyphenole im Leinpresskuchen blieben bei der Röstung der Saat bei 100 °C stabil (Abbildung 28). Bei 140 °C scheint sich kein einheitliches Muster zu ergeben. Denn bei 2-minütiger Röstung erfolgte zuerst eine Abnahme des Polyphenolgehaltes ( $p < 0,05$ ). Anschließend kam es bei einer Röstung von fünf Minuten zu einer signifikanten Steigerung ( $p < 0,05$ ). Eine 10-minütige Röstung bei 140 °C resultierte in keinem signifikanten Unterschied. Der Presskuchen dürfte bis 140 °C imstande sein, die Abnahme der Polyphenole zu verhindern. Dies steht im Gegensatz zum Öl, wo bei 140 °C bei allen Temperaturen bereits eine signifikante Abnahme beobachtet werden konnte.

Erst bei einer Röstung der Saat bei 180 °C zeigte sich dieser Effekt im Presskuchen, obwohl sich auch hier unter den verschiedenen Röstdauern ein signifikanter Unterschied zeigte. Während es keinen Unterschied zwischen der Röstung der Saat bei fünf und zehn Minuten gab, resultierte das Ergebnis bei zwei Minuten als signifikant niedriger. Prozentuell erreicht die Abnahme allerdings bei Weitem nicht das Ausmaß wie bei der Testung von Öl. Die stärkste Abnahme von Polyphenole beim Presskuchen beträgt 9,0 % (180 °C, 2 min), während beim Öl eine Reduktion um 52,2 % stattfand (180 °C, 5 min).

#### 4.1.7 Auswirkung der Röstung auf den Tocopherolgehalt in Speiseöl

$\alpha$ -Tocopherols und  $\gamma$ -Tocopherol blieben über dem gesamten Temperaturspektrum bis auf die 60°C Röstung stabil und es kam zu keinem signifikanten Unterschied zur Kontrolle ohne Röstung (Abbildung 29 und Abbildung 30). Ausnahmen stellten die signifikante Abnahme des  $\alpha$ -Tocopherols im Öl unter fünf Minuten Röstung der Saat bei 140 °C und 180 °C dar ( $p < 0,05$ ). Beim  $\gamma$ -Tocopherol wurde dies bei einer Röstung bei 180 °C und fünf Minuten ebenfalls beobachtet. Eine 10-minütige Röstung bei 140 °C resultierte in einer Erhöhung des  $\gamma$ -Tocopherolgehalts ( $p < 0,05$ ).

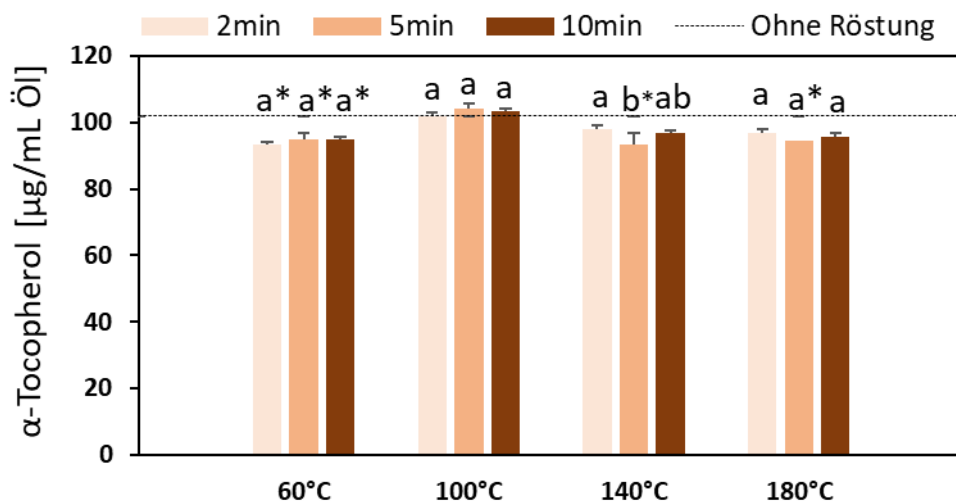


Abbildung 29:  $\alpha$ -Tocopherolgehalt im Leinöl nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den  $\alpha$ -Tocopherolgehalt ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

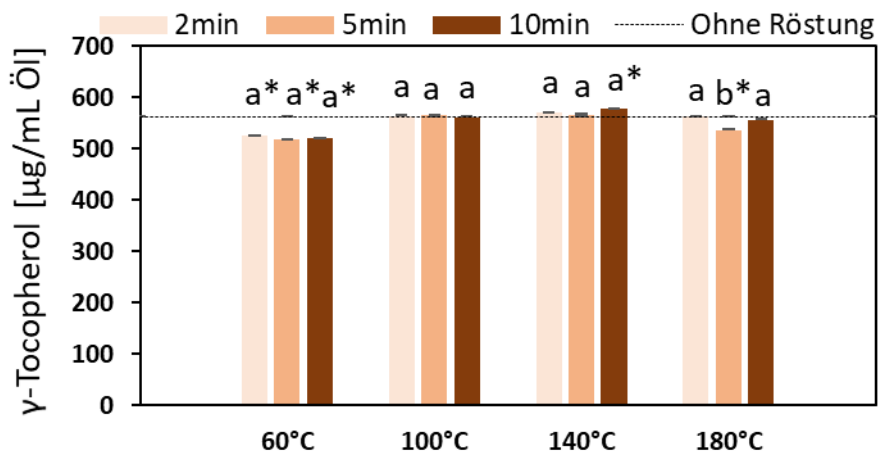


Abbildung 30:  $\gamma$ -Tocopherolgehalt im Leinöl nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den  $\gamma$ -Tocopherolgehalt ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Das Muster der Ergebnisse charakterisierte primär eine ausgeprägte Stabilität der Tocopherole im Öl gegenüber den hohen Temperaturen beim Rösten der Saat. Bei 60 °C kam es zu einer signifikanten Abnahme bei allen Röstdauern ( $p < 0,05$ ). Bei zwei Minuten wurde der Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol um 8,6 % und bei  $\gamma$ -Tocopherol um 6,9 % verringert. Shrestha et al. analysierten Tocopherole in Rapsöl nachdem die Saat bei 140 °C bis 180 °C geröstet wurde und konnten eine ungefähre Abnahme von 6-7 % beim  $\gamma$ -Tocopherol und eine Zunahme von 10 % beim  $\alpha$ -Tocopherol feststellen. Das Öl wurde allerdings mit einem Lösungsmittel extrahiert (Shrestha und Meulenaer 2014). Siger et. al (2015) konnten das Gegenteil mit Gewinnung durch Kaltpressung von Rapsöl zeigen. Ein erhöhter Gehalt beim  $\gamma$ -Tocopherol und eine Abnahme beim  $\alpha$ -Tocopherol wurde ermittelt. Die Ergebnisse dieser Masterarbeit konnten diese bestehenden Daten nicht bestätigen, allerdings wurde Leinöl verwendet. Ein möglicher Verlust der Tocopherole bei den hohen Temperaturen könnte eventuell durch die Pressung im geschlossenen System verhindert werden.

#### 4.1.8 Auswirkung der Röstung auf den Tocopherolgehalt in Presskuchen

Im Gegensatz zum Öl, verblieb beim Presskuchen durch die Röstung der Saat ein signifikant erhöhter Gehalt an beiden Tocopherolen ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 31 und Abbildung 32). Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt von Leinpresskuchen mit Pressung im geschlossenen System herangezogen.

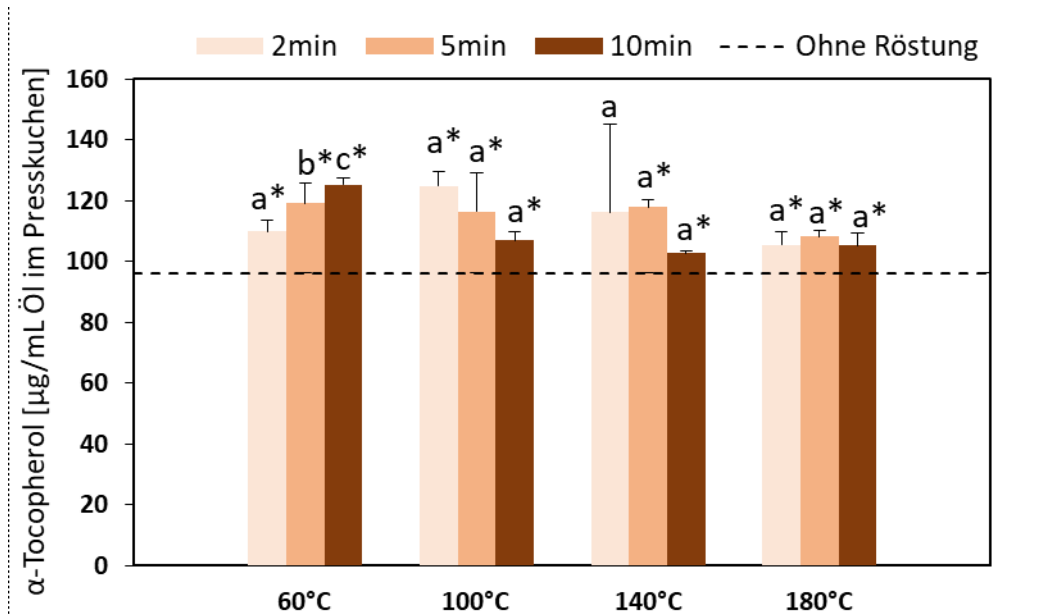


Abbildung 31:  $\alpha$ -Tocopherolgehalt im Presskuchen nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den  $\alpha$ -Tocopherolgehalt im Öl des Leinpresskuchen ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

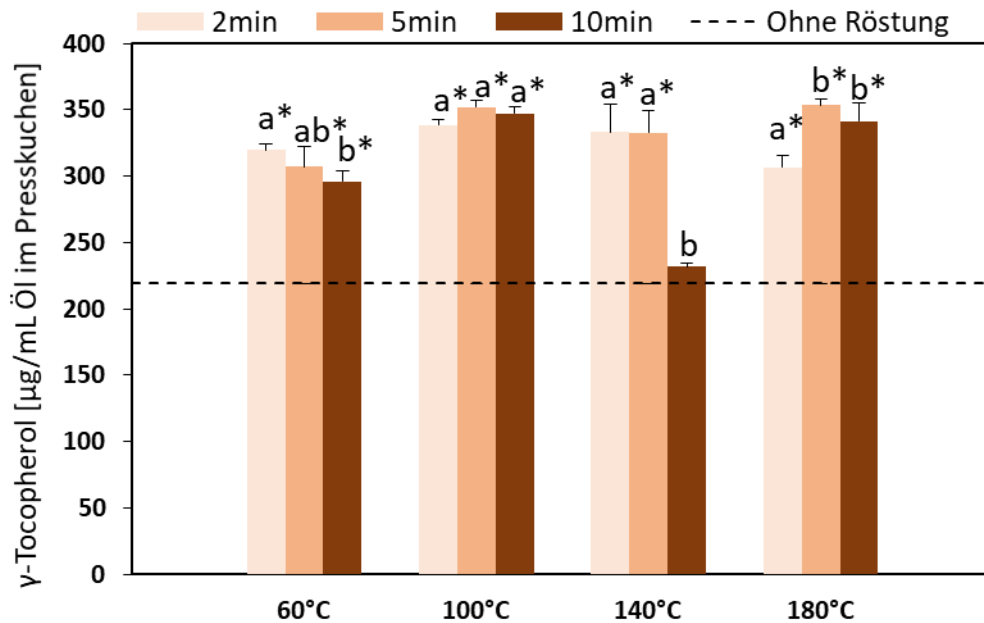


Abbildung 32:  $\gamma$ -Tocopherolgehalt im Presskuchen nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied in der jeweiligen Temperaturkategorie an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt den  $\gamma$ -Tocopherolgehalt im Öl des Leinpresskuchen ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Zwischen den diversen Inkubationszeiten innerhalb einer Temperaturgruppe gab es kaum signifikante Unterschiede, welche einem eindeutigen Schema folgen könnten. Nur beim  $\gamma$ -Tocopherol unterschied sich bei 140 °C die 10-minütige Röstung von den Werten bei zwei und fünf Minuten. Gleichzeitig kam es auch zu keinem signifikanten Unterschied von einer Röstung bei 140 °C und zehn Minuten zur Kontrollprobe ohne Röstung der Saat. Dies ist allerdings die einzige Probe bei der dies zugetroffen hatte. Beim  $\alpha$ -Tocopherolgehalt kam es nur bei einer Röstung von 140 °C und zwei Minuten zu keinem signifikanten Unterschied.

Die stärkste Erhöhung von beiden Tocopherolen wurde bei 100 °C gemessen. Es handelte sich dabei um eine relative Steigerung von 29,8 % beim  $\alpha$ -Tocopherol (100 °C, zwei Minuten,  $124 \pm 4,7 \mu\text{g/ml}$  Öl) und 54,5 % beim  $\gamma$ -Tocopherol (100 °C, zwei Minuten, MW:  $338,7 \pm 3,8 \mu\text{g/ml}$  Öl) verglichen zur Probe ohne Röstung. Die Kontrollprobe ohne Röstung betrug bei  $\alpha$ -Tocopherol  $96,3 \pm 1,5 \mu\text{g/ml}$  Öl und bei  $\gamma$ -Tocopherol  $219,2 \pm 15,8 \mu\text{g/ml}$  Öl. Zwischen den verschiedenen Röstdauern bei 100°C wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Bei der Röstung wurden mehr Tocopherole freigesetzt, welche jedoch nicht in die Ölphase übergingen. Hier besteht Potential zur Optimierung, indem Wege gefunden werden, wie die

zusätzlichen Tocopherole besser ins Öl transferiert werden können. Möglicherweise könnte der Tocopherolgehalt im Öl des Presskuchens durch die längere Verweilzeit im Presskuchen zustande gekommen sein.

#### 4.1.9 Auswirkung der Röstung auf die Peroxidzahl

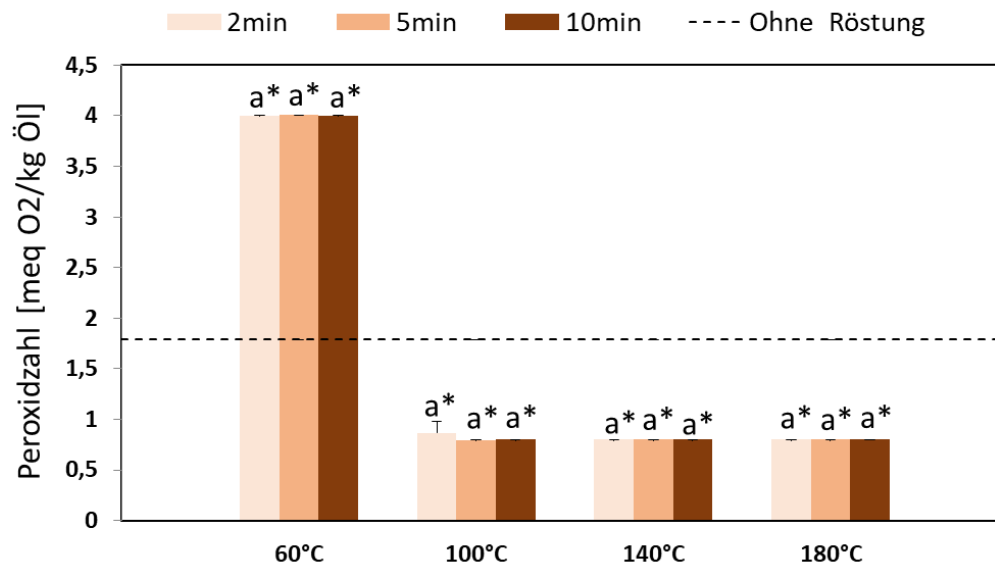


Abbildung 33: Peroxidzahl im Leinöl nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer. Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt die Peroxidzahl ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

Die Peroxidzahl der Röstproben wurde mit dem bereits nach Optimierung hergestellten Leinöl im geschlossenen System verglichen, da die Pressung nach der Röstung ebenfalls im geschlossenen System stattgefunden hat (Abbildung 33). Das Ergebnis der Kontrolle betrug  $1,8 \pm 0,01$  mEq O<sub>2</sub>/kg Öl. Durch die Röstung kam es in allen Kategorien bis auf die Röstung bei 60 °C zu einer signifikanten Reduktion der Peroxidzahl um 55,36 % ( $p < 0,05$ ). Zwischen den unterschiedlichen Rösttemperaturen von 100 °C bis 180 °C konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Hierbei ist allerdings wichtig zu erwähnen, dass die Nachweisgrenze der Methode bei 0,8 meq O<sub>2</sub>/kg Öl lag. Die Ergebnisse lagen bei allen Temperaturen über 60 °C unter der Nachweisgrenze. Geringe Variationen sind auf minimale Unterschiede in der Einwaage zurückzuführen. Somit könnte es sein, dass es zu einer noch stärkeren Reduktion der Peroxidzahl gekommen wäre, hätte man unterhalb dem LOD

messen können. Zusätzlich wäre es eventuell möglich gewesen zwischen den Gruppen Unterschiede festzustellen.

Im Gegensatz zur Veränderung des Polyphenolgehaltes nach der Röstung (Abbildung 27), haben die Resultate der Röstung auf die Peroxidzahl positive Wirkung gezeigt. Die markante Reduktion der Peroxidzahl durch die Röstung der Saat könnte auf mehrere Theorien zurückzuführen sein. Es könnte zur Bildung von ALEs gekommen sein. Diese Verbindungen könnten durch ihre antioxidativen Eigenschaften für eine verbesserte oxidative Stabilität sorgen. Gleichzeitig würden durch die Bildung von ALEs Alkoxyradikale (Lipidoxidationsprodukte) aufgebraucht werden. Auffällig ist allerdings die gleichzeitige Verschlechterung des Polyphenolstatus, welcher durch die Röstung verursacht worden ist. Dies könnte auf die hohen Temperaturen zurückzuführen sein. Derartige Temperaturen könnten die Peroxidzahl positiv beeinflusst haben. Denn so könnte es zusätzlich zu einer Inaktivierung der Lipoxygenase kommen und die enzymatische Oxidation verringert werden (Wang und Hammond 2010; Baysal und Demirdöven 2007). Diese Reduktion der Peroxidzahl konnte aber erst bei Temperaturen von 100°C beobachtet werden. Dies steht im Einklang mit der Studie von Ya-Jane Wang et al. (Wang et al. 1991), in welcher gezeigt worden ist, dass die thermische Inaktivierung des Enzyms verstärkt über Temperaturen ab 60 °C stattfindet. Die Zunahme der Lipidoxidationsprodukte bei 60 °C könnte aus einer verbesserten Freisetzung des Enzyms resultieren, während die Temperatur und Zeitdauer nicht ausreichen um die Lipoxygenase ausreichend zu inaktivieren.

Weiters variiert die Menge an Lipoxygenase beachtlich zwischen verschiedenen Saaten (Oomah et al. 1997). So kann es sein, dass es sich in diesem Fall um eine dementsprechend enzymreiche Saat handelte und somit der markante Unterschied zwischen der 60 °C Röstung, der Kontrollgruppe ohne Röstung sowie Röstungen ab 100 °C durch einen äußerst hohen Gehalt an Lipoxygenase in dieser Saat verstärkt worden ist. Umso mehr Enzyme inaktiviert werden bzw. besser extrahiert werden, ist der Unterschied deutlicher.

Beim Leinpresskuchen kam es weder innerhalb der Gruppen noch im Vergleich zur Kontrolle ohne Röstung zu einem signifikanten Unterschied (Abbildung 34). Die Matrix des Presskuchens scheint vor der Lipidoxidation zu schützen.

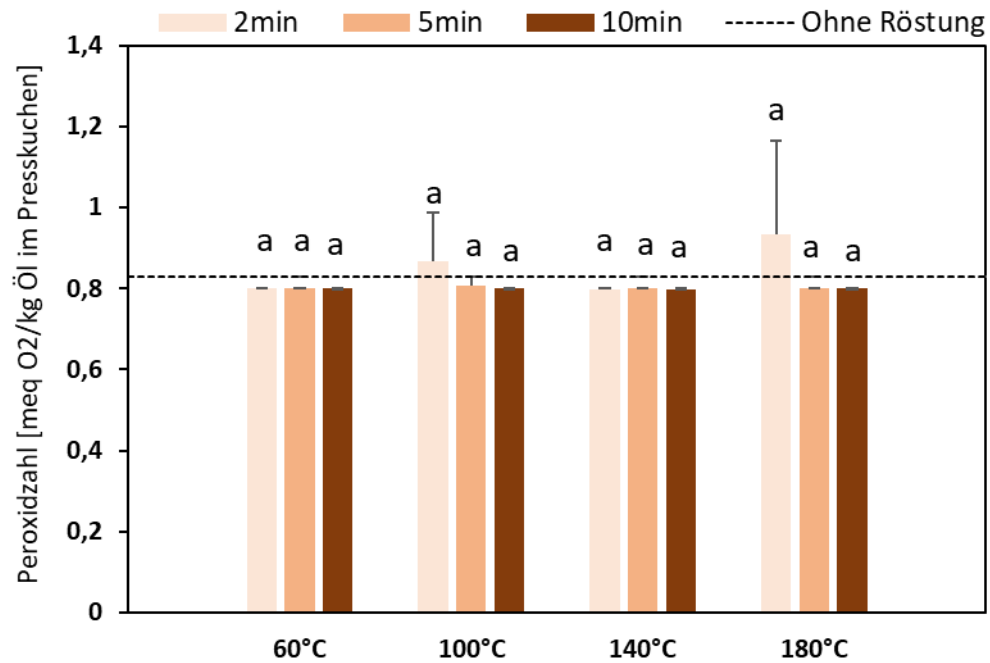


Abbildung 34: Peroxidzahl im Leinpresskuchen nach Röstung der Saat bei unterschiedlicher Temperatur und Dauer. Es handelt sich dabei um eine optimierte Pressung im geschlossenen System. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Rösttemperatur zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Die Kontrolle zeigt die Peroxidzahl ohne Röstung bei Pressung im geschlossenen System. Der Asterisk kennzeichnet einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle.

## 4.2 Extraktion von natürlichen Antioxidantien aus dem Presskuchen mit Leinöl

Bei der Extraktion von Antioxidantien aus dem Presskuchen mit Öl wurden die Einflüsse verschiedenen Bedingungen, Zeitdauer, Presskuchen/Öl Verhältnis und Ultraschallbehandlung, auf die Extraktion gemessen. Die Ergebnisse beziehen sich jeweils auf das Leinöl, mit dem extrahiert wurde. Die optimalsten Vorraussetzungen wurden dann für eine Mehrfachextraktion herangezogen.

### 4.2.1 Einfluss von Zeitdauer einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt

Der Polyphenolgehalt im Öl wurde nach der Extraktion mit Öl untersucht (Abbildung 35). Es wurde für 5, 15, 30, 60 und 240 Minuten extrahiert. Jeder Ansatz konnte einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle, welche den Polyphenolgehalt desselben Öles ohne Extraktion zeigt, aufweisen ( $p < 0,05$ ). Der Messwert der Kontrollgruppe fällt in den Bereich des von Kaur et al. ermittelten Polyphenolgehalts für kaltgepresstes Leinöl mit 6,2 mg bis 8,5 mg GAE/100 g Öl (Kaur et al. 2017).

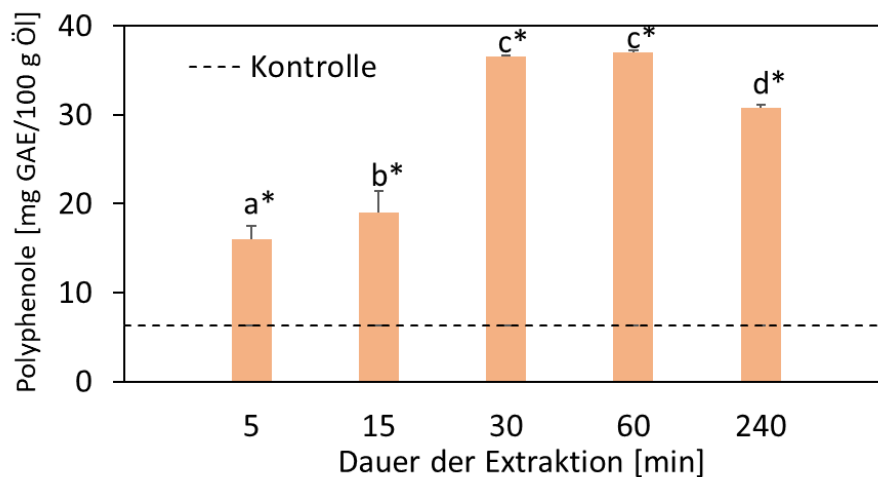


Abbildung 35: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Leinöl mit 5 bis 240 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Bereits durch fünf Minuten konnte der Polyphenolgehalt von  $6,4 \pm 0,2$  mg GAE/100 g Öl auf  $16 \pm 1,5$  mg GAE/100 g Öl gesteigert werden. Dies entspricht einer Erhöhung um 151,2 %. Bei

15 und 30-minütiger Extraktion ( $18 \pm 2,4$  mg GAE/100 g Öl und  $36,5 \pm 0,1$  mg GAE/100 g Öl) konnte jeweils zur kürzeren Extraktionsdauer ein signifikanter positiver Unterschied gemessen werden ( $p < 0,05$ ). Nach 30-minütiger Extraktion wurde eine relative Steigerung von 473,9 % im Vergleich zur Kontrolle erzielt.

Im Vergleich von einer 30-minütigen zu einer 60-minütigen Extraktion zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Bei einer 240 Minuten langen Extraktion kam es zu einer Verringerung im Vergleich zur Extraktion bei 30 und 60 Minuten, aber im Vergleich zur Kontrolle sowie der Extraktion nach fünf und 15 Minuten war der Gehalt an Polyphenolen dennoch höher. Aufgrund von längerer Aussetzung an Sauerstoff und Licht während der Extraktion, könnte es bei 240 Minuten zu fortschreitender Oxidation gekommen sein. Gleichzeitig wurde von Minute 30 auf 60 kein Unterschied festgestellt. Dies könnte bedeuten, dass nach 30 Minuten keine weiteren Polyphenole extrahiert wurden und es nach 60 Minuten zu einem Abbau der phenolischen Verbindungen kam.

Die 30-minütige Extraktion erwies sich als die optimalste Methode, denn hier konnte der höchste Polyphenolgehalt bei kürzester Extraktionszeit gemessen werden.

#### 4.2.2 Einfluss von zugesetztem Ölvolumen einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt

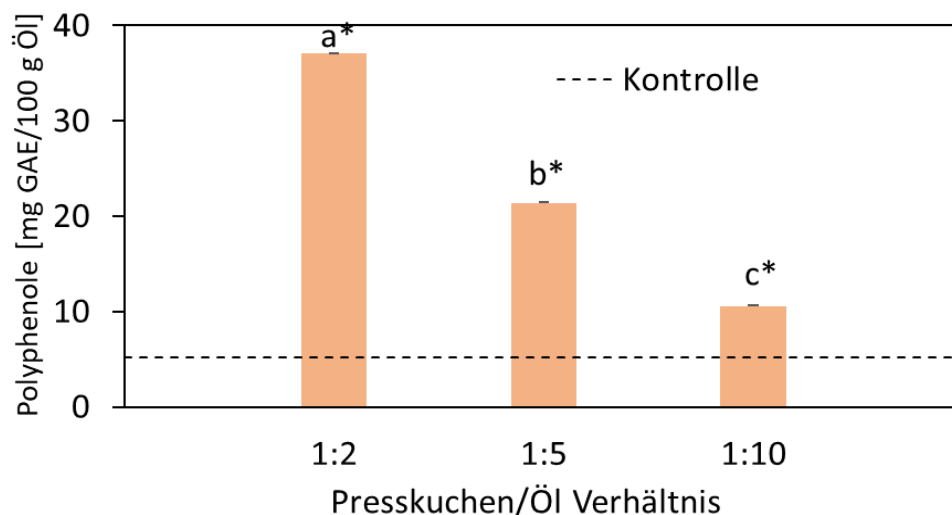


Abbildung 36: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion mit unterschiedlichem Presskuchen/Öl Verhältnis für 60 Minuten.

Die Volumina betragen 30 ml, 75 ml und 150 ml Leinöl bei jeweils 15 g Presskuchen. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Der Rückgang des Polyphenolgehalts bei einem erhöhten Presskuchen/Öl Verhältnis ist in Abbildung 32 auf den ersten Blick erkennbar. Anfangs wurde mit einem 1:2 Verhältnis eine Steigerung von 482,6 % (MW  $37,1 \pm 0,2$  mg GAE/100g Öl) im Vergleich zur Kontrollgruppe erzielt. Durch Extraktion mit einem erhöhten Ölvolumen wurden weniger Polyphenole extrahiert. Bei einem Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:5 wurde eine Erhöhung von 311,2 % erzielt, während bei einem Verhältnis von 1:10 nur 102,6 % erreicht wurden. In beiden Fällen lag der Wert zwar höher als die Kontrolle, allerdings handelte es sich bei einem geringeren Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:2 um das beste Ergebnis. Die drei Messwerte ergaben eine lineare Abnahme mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9887$ . Eine Erhöhung des Ölvolumens resultierte in eine geringere Extraktion der Polyphenole und erwies sich als nachteilig für die Methode.

Ein Verhältnis von 1:1 ergab ein zu geringes Ölvolumen um eine Extraktion durchführen zu können. Erst bei einem Verhältnis von 1:2 konnte die Extraktion durchgeführt werden.

### **4.2.3 Einfluss einer Ultraschallbehandlung einer Extraktion auf den Polyphenolgehalt**

Die Ultraschallbehandlung verursacht molekulare Bewegungen in der Probe und bietet verschiedene Vorteile wie erhöhte Extraktion von Verbindungen, verkürzte Extraktionszeit und leichte kostengünstige Automatisierbarkeit. Die Methode wird für viele Verbindungen in Boden-, Tier- und Pflanzengeweben eingesetzt (Babić et al. 1998; Cooper et al. 1998; Evans et al. 1998; Li et al. 2004; Song et al. 2000; Wu et al. 2001). An der Extraktion von Polyphenolen mithilfe von Ultraschall wurde ebenfalls geforscht (Wong Paz et al. 2015). Daher könnte die Behandlung auch bei der Extraktion von Vorteil sein. Ultraschall kann die Freisetzung von gesuchten Verbindungen während der Extraktion erhöhen. Die Frequenz des Ultraschalls kann die Mizellen der Probe bzw. Matrix aufbrechen und somit den Zugang vom Lösungsmittel zu den gesuchten hydrophoben Verbindungen erhöhen. Unerwünschte chemische Reaktionen, welche die phenolischen Verbindungen abbauen würden, treten nicht auf (Chen et al. 2007).

Im Rahmen des Projekts wurde eine Frequenz von 45 kHz verwendet. Die 1 bis 30-minütige Ultraschallbehandlung zeigte keinen positiven Effekt auf den Polyphenolgehalt im Vergleich zu einer 30-minütigen Extraktion mit einem Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:2 ohne Ultraschallbehandlung (Abbildung 37). Im Gegenteil, es kam zu einer signifikanten Abnahme der phenolischen Verbindungen ( $p < 0,05$ ).

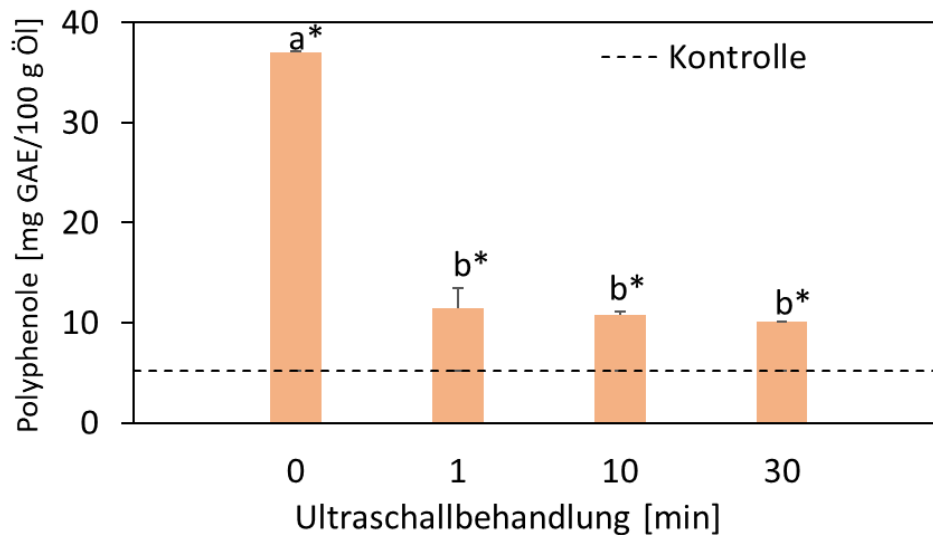


Abbildung 37: Polyphenolgehalt in Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen für 60 Minuten mit 30 ml Leinöl und anschließender Ultraschallbehandlung.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Die Dauer der Ultraschallbehandlung hatte keinen Einfluss auf den Polyphenolgehalt. Der Einfluss von unterschiedlichen Ultraschallfrequenzen konnte aufgrund von Limitationen im Labor nicht untersucht werden. Dies könnte allerdings von entscheidender Bedeutung sein (Chukwumah et al. 2009). Chukwumah et al. konnten bei der Extraktion von diversen sekundären Pflanzenstoffen aus Erdnüssen unterschiedliche Ergebnisse erzielen. Es konnten bei 80 kHz Ultraschall höhere Konzentrationen an Biochanin A sowie trans-Resveratrol und bei 25 kHz höhere Konzentrationen an Genistein und Daidzein extrahiert werden.

Die Ultraschallbehandlung führte dennoch zu einer signifikanten Steigerung des Polyphenolgehaltes im Vergleich zur Kontrolle, welche den Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen darstellt ( $p < 0,05$ ). Allerdings resultierte eine Extraktion ohne Ultraschallbehandlung zu einem höheren Polyphenolgehalt. Somit erwies sich die Ultraschallbehandlung bei dieser Extraktion als nachteilig.

#### 4.2.4 Einfluss einer mehrfachen Extraktion auf den Polyphenolgehalt

Die Mehrfachextraktion erfolgte pro Extraktion mit einer Zeitdauer von 30 Minuten und einem Ölvolumen von 30 ml. Diese Bedingungen entsprachen den bisher ermittelten Analysen mit dem höchsten Polyphenolgehalt.

Von der ersten ( $36,5 \pm 0,1$  mg GAE/100 g Öl) zur dritten ( $82,1 \pm 0,8$  mg GAE/100 g Öl) Extraktion konnte der Polyphenolgehalt um 125,0 % gesteigert werden (Abbildung 38).

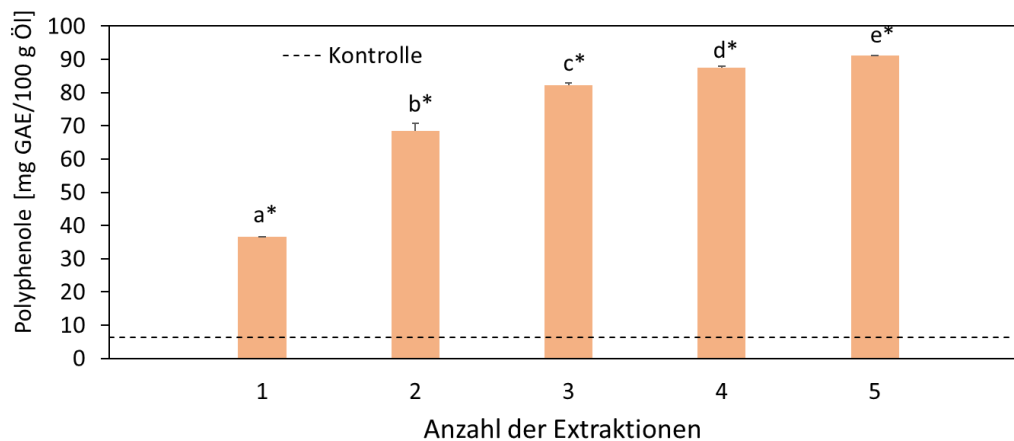


Abbildung 38: Polyphenolgehalt in Leinöl nach mehrfacher Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Leinöl für 30 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Insgesamt wurde der Polyphenolgehalt verglichen mit der Kontrolle nach der 3ten Extraktion um das ~12-fache gesteigert (1.189,4 %). Durch mehrmaliges Extrahieren kam es zu einer deutlichen Steigerung des Polyphenolgehalts im Vergleich zum durchgehenden Extrahieren im selben Zeitraum. Selbst nach der vierten und fünften Extraktion kam es weiterhin zu einer signifikanten Steigerung, allerdings begann die Zunahme abzuflachen ( $p < 0,05$ ). Von der zweiten zur dritten Extraktion wurde eine relative Steigerung von 19,8 % gemessen. Bei den darauffolgenden Extraktionen wurden Steigerungen des Polyphenolgehaltes im Ausmaß von zuerst 6,5 % und dann 4,2 % ermittelt.

Die Mehrfachextraktion beruht auf der Anwendung des Nernst-Verteilungsgesetzes. Das mehrmalige Extrahieren einer Substanz kann demnach zu einer besseren Ausbeute führen als das einmalige Extrahieren mit mehr Lösungsmittel (Guha und Guha 1992).

Die Mehrfachextraktion wurde unter Argonatmosphäre mit den gleichen Bedingungen durchgeführt (Abbildung 39).

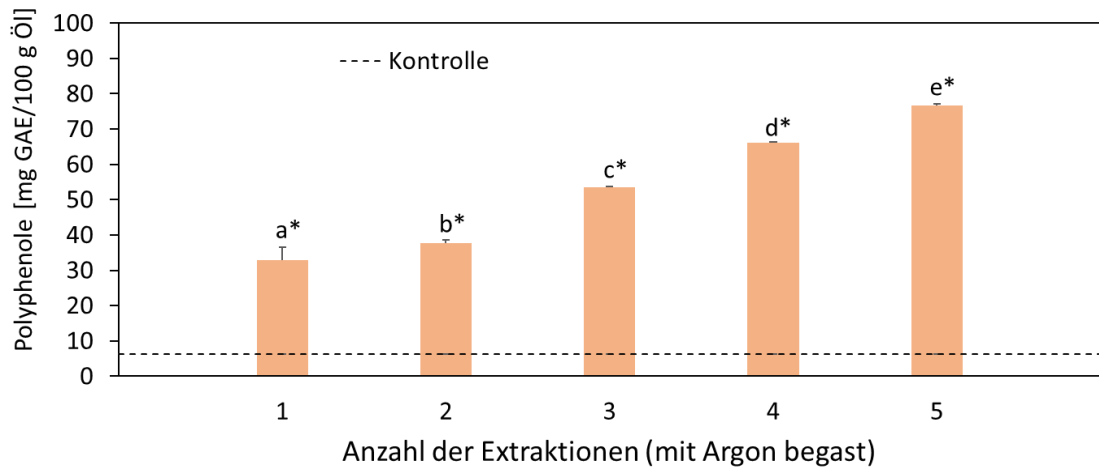


Abbildung 39: Polyphenolgehalt in Leinöl nach mehrfacher Extraktion aus dem Presskuchen unter Argonatmosphäre mit 30 ml Leinöl für 30 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD (n = 3). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an (p < 0,05). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Polyphenolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Polyphenole unter Argonatmosphäre verglichen mit der Mehrfachextraktion ohne Argonatmosphäre nicht stabiler sind. Es kam zwar weiterhin zu einer signifikanten Steigerung im Vergleich zur Kontrolle und nach jeder Extraktion gab es ebenfalls eine signifikante Steigerung (p < 0,05), allerdings resultierte die Extraktion nicht in einen höheren Gehalt an Polyphenolen im Vergleich zu Mehrfachextraktion ohne Argonatmosphäre. Im Hinblick auf die Produktionsschritte seitens des Projektpartners ist daraus zu schließen, dass die Zufuhr von Stickstoff nicht relevant ist und für zusätzliche Kosten sorgen würde.

#### 4.2.5 Einfluss der Dauer einer Extraktion auf den Tocopherolgehalt

Bei den 5 und 15-minütigen Extraktionen mit Leinöl kam es zu keinen Abweichungen bei  $\alpha$ -Tocopherol und  $\gamma$ -Tocopherol im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 40 und 41). Erst nach einer 30-minütigen Extraktion zeigten sich Abweichungen. Beim  $\alpha$ -Tocopherol wurde ein Wert von  $90,59 \pm 2,58 \mu\text{g/ml}$  Öl ermittelt, womit es sich signifikant von der Kontrolle mit  $82,4 \pm 2 \mu\text{g/ml}$  unterschied (p < 0,05). Wie bereits im Kapitel 4.1.3 „Einfluss eines optimierten Pressvorgangs auf den Tocopherolgehalt in Speiseöl“ erläutert, wurden um ein Vielfaches höhere Werte als in der Literatur ermittelt. Beim  $\gamma$ -Tocopherol zeigte sich der gegenteilige

Effekt, nämlich eine signifikante Reduktion von  $583,8 \pm 5,9 \mu\text{g/ml}$  auf  $562,9 \pm 1,7 \mu\text{g/ml}$  nach einer 30-minütigen Extraktion mit Öl ( $p < 0,05$ ). Bei beiden Tocopherolen konnte allerdings kein eindeutiger Trend hinsichtlich der Extraktionszeit verfolgt werden, denn bei einer 60-minütigen Extraktion resultierte jeweils der gegenteilige Effekt. Beim  $\gamma$ -Tocopherol kam es sogar zu einer signifikanten Steigerung verglichen mit einer 30-minütigen Extraktion ( $p < 0,05$ ). Insgesamt war allerdings kein Muster erkennbar. Für die Optimierung wurden die 30-minütige Extraktion herangezogen, da die Erhöhung der Polyphenole wesentlich stärker ausgeprägt war als die Verminderung des  $\gamma$ -Tocopherols. Gleichzeitig konnte beim  $\alpha$ -Tocopherol eine leichte Verbesserung festgestellt werden.

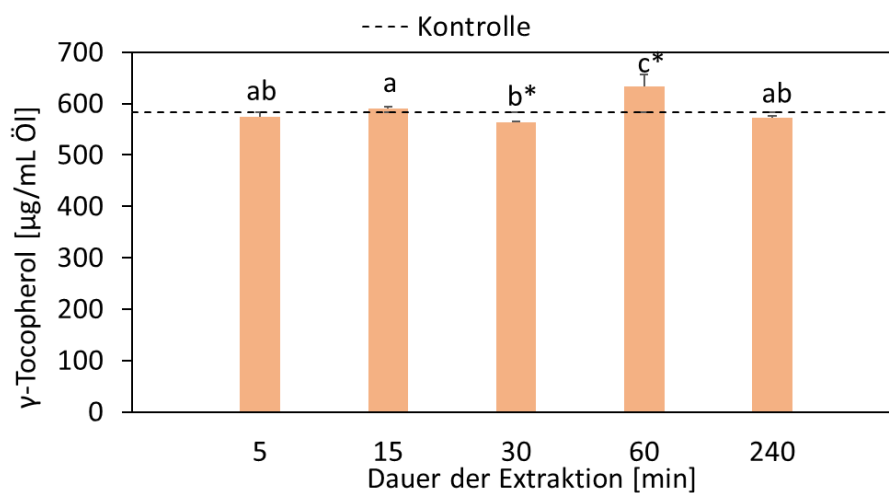


Abbildung 40:  $\gamma$ -Tocopherol in Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Leinöl für 5 bis 240 Minuten. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

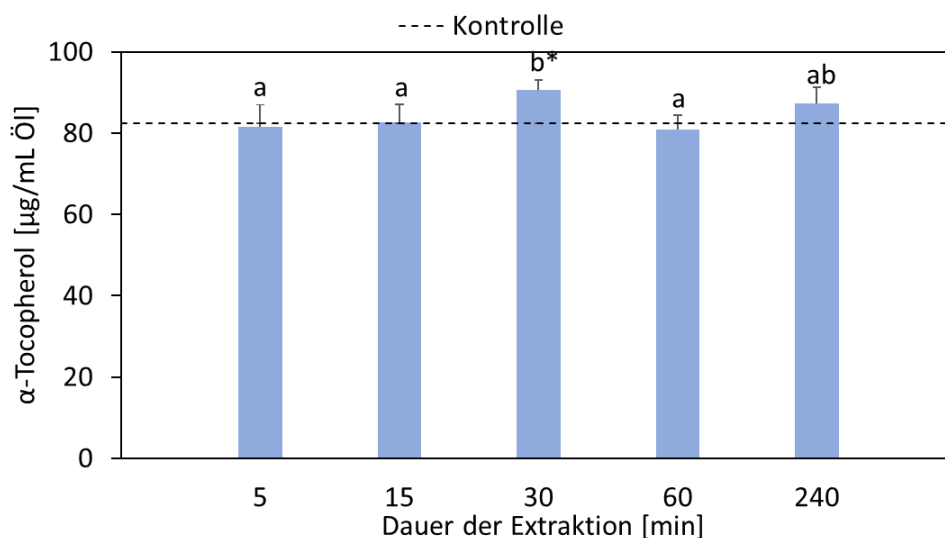


Abbildung 41:  $\alpha$ -Tocopherol in Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Leinöl für 5 bis 240 Minuten. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

#### 4.2.6 Einfluss von zugesetztem Ölvolumen einer Extraktion aus dem Presskuchen mit Öl auf den Tocopherolgehalt

Im Gegensatz zum Polyphenolgehalt hatte das Presskuchen/Öl Verhältnis während der Extraktion keinen signifikanten Einfluss auf den Tocopherolgehalt im Vergleich zum Kontrollwert, welcher den Tocopherolgehalt ohne Extraktion darstellte (Abbildung 42 und 43). Unter den Ansätzen selbst, erwies sich das 1:2 Verhältnis bei  $\gamma$ -Tocopherol als das optimalste. Dabei kam es zu einem signifikanten Verlust von  $\gamma$ -Tocopherol bei Zugabe von 75 ml Öl ( $p < 0,05$ ). Das Ergebnis bei 150 ml betrug  $575,1 \pm 5,6 \mu\text{g/ml}$  Öl. Dies ist zwar ein geringerer Wert als bei 30 ml Öl mit  $633,9 \pm 22,1 \mu\text{g/ml}$  Öl, allerdings wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Beim  $\alpha$ -Tocopherol wurden keine unterschiedlichen Werte gemessen. Somit wird für die Optimierung das Ergebnis des Polyphenolgehaltes (Kapitel 4.2.3) vorgezogen, welches die höchsten Werte mit 30 ml Öl erzielte.

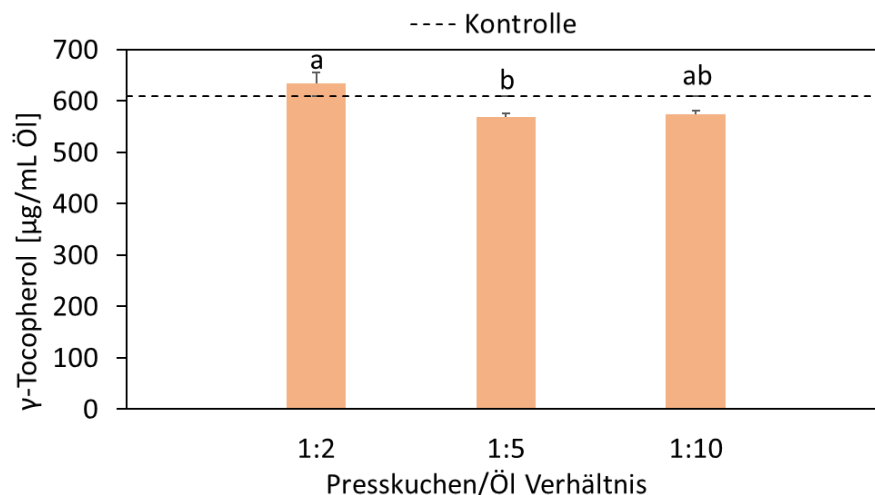


Abbildung 42:  $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen mit unterschiedlichem Ölvolumen für 60 Minuten.

Die Volumina betrugen 30 ml, 75 ml und 150 ml Leinöl bei jeweils 15 g Presskuchen. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

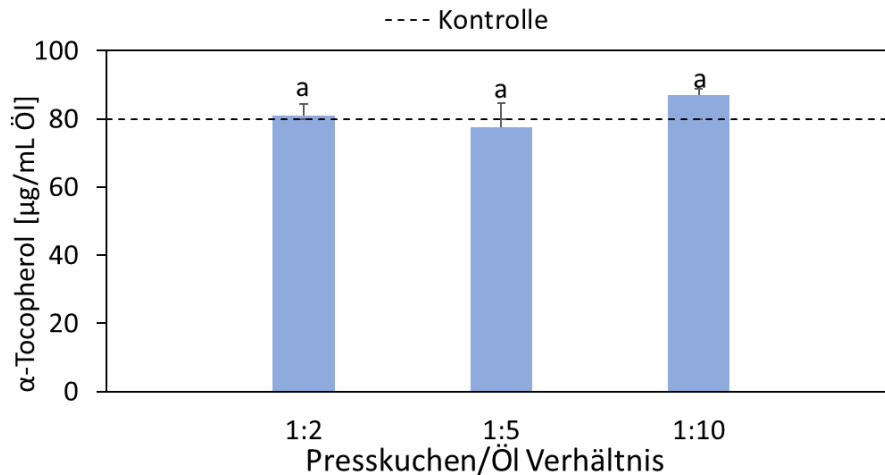


Abbildung 43:  $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion mit unterschiedlichem Ölvolumen bei 60 Minuten.

Die Volumina betrugen 30 ml, 75 ml und 150 ml Leinöl bei jeweils 15 g Presskuchen. Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt desselben Öls ohne Extraktion im Presskuchen verwendet.

#### 4.2.7 Einfluss einer Ultraschallbehandlung auf die Extraktion von Tocopherol

Beim  $\gamma$ -Tocopherol waren die Ergebnisse der 1- und 30-minütigen Ultraschallbehandlung ( $559,1 \pm 11,8 \mu\text{g/ml Öl}$ ,  $555,1 \pm 7,1 \mu\text{g/ml Öl}$ ) signifikant niedriger als eine Extraktion ohne Ultraschallbehandlung mit  $609,4 \pm 6,2 \mu\text{g/ml Öl}$  (Abbildung 44). Bei einer 10-minütigen Ultraschallbehandlung wurde keine Veränderung gemessen. Beim  $\alpha$ -Tocopherol betrug die Kontrolle ohne Ultraschallbehandlung  $79,8 \pm 6,2 \mu\text{g/ml Öl}$  (Abbildung 45). Nach einer 1-minütigen Ultraschallbehandlung kam es zu keiner signifikanten Verbesserung. Bei einer 10-minütigen Extraktion wurde der höchste  $\alpha$ -Tocopherolgehalt mit  $96,6 \pm 3,9 \mu\text{g/ml Öl}$  ermittelt und erwies sich als ein signifikanter Unterschied zur einer 1-minütigen Extraktion und zum Kontrollwert ( $p < 0,05$ ).

Sowohl beim  $\alpha$ -Tocopherol als auch beim  $\gamma$ -Tocopherol lässt sich kein eindeutiges Muster erkennen. Unter Berücksichtigung beider Tocopherole zeigten die Ergebnisse, dass die Verwendung von Ultraschall für die Extraktion von keinem Vorteil ist.

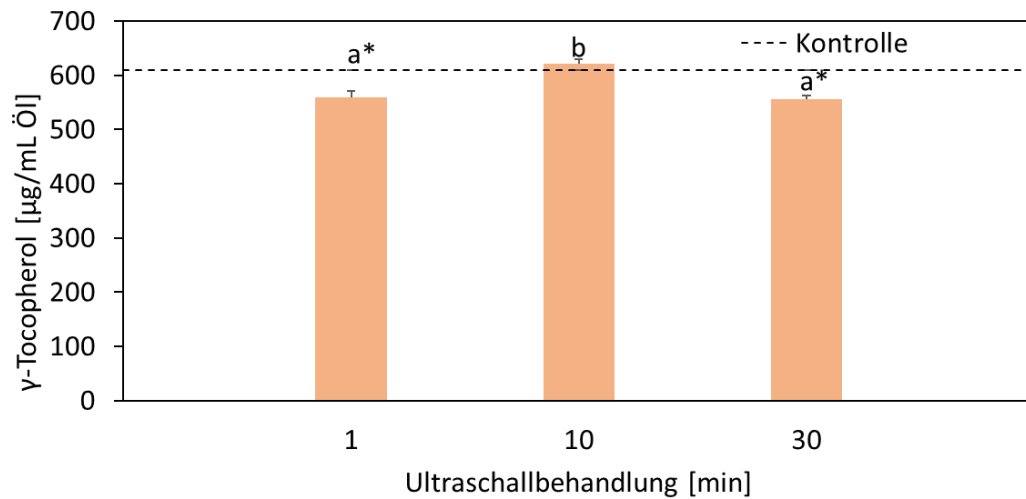


Abbildung 44:  $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen für 30 Minuten mit 30 ml Leinöl und anschließender Ultraschallbehandlung.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). \* zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

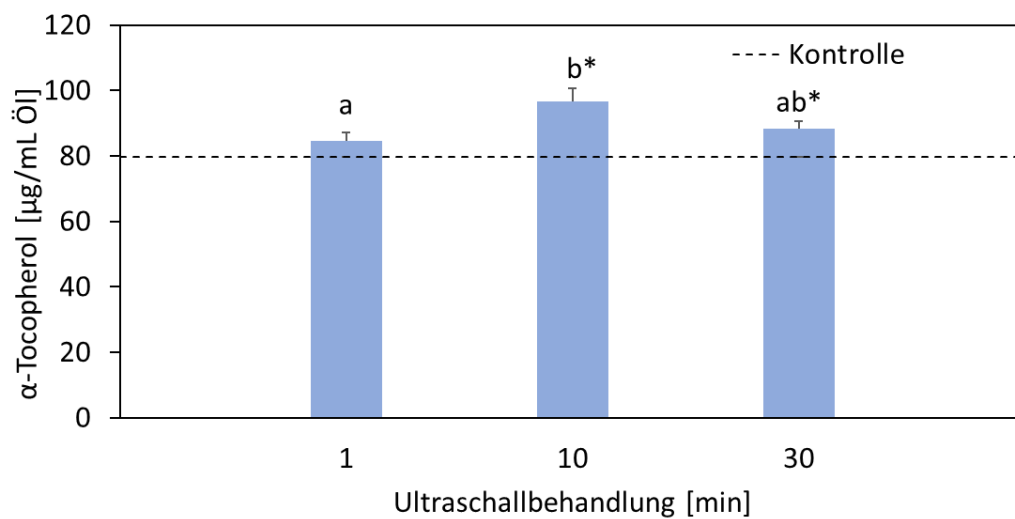


Abbildung 45:  $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach Extraktion aus dem Presskuchen für 30 Minuten mit 30 ml Leinöl und anschließender Ultraschallbehandlung.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt desselben Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

#### 4.2.8 Einfluss vermehrter Extraktionen auf den Tocopherolgehalt

Beruhend auf den bisherigen Analysen wurde die Mehrfachextraktion unter optimalen Bedingungen durchgeführt. Dies bedeutet, dass für jede Extraktion 30 ml Öl hinzugegeben wurden und 30 Minuten lang mithilfe eines Magnetrührers extrahiert wurde. Die Mehrfachextraktion wird in Abbildung 46 und 47 dargestellt.

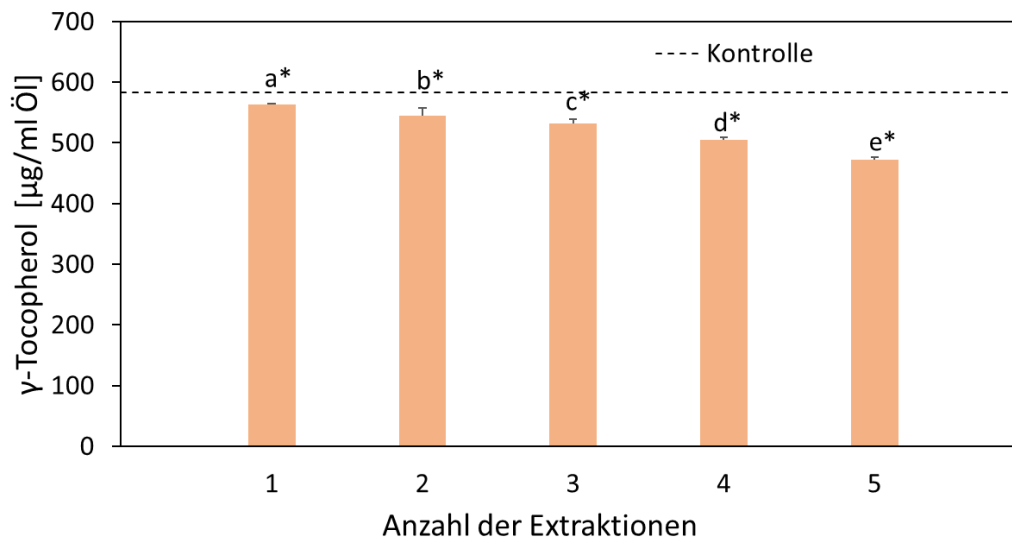


Abbildung 46:  $\gamma$ -Tocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion aus dem Presskuchen mit je 30 ml Leinöl für 30 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

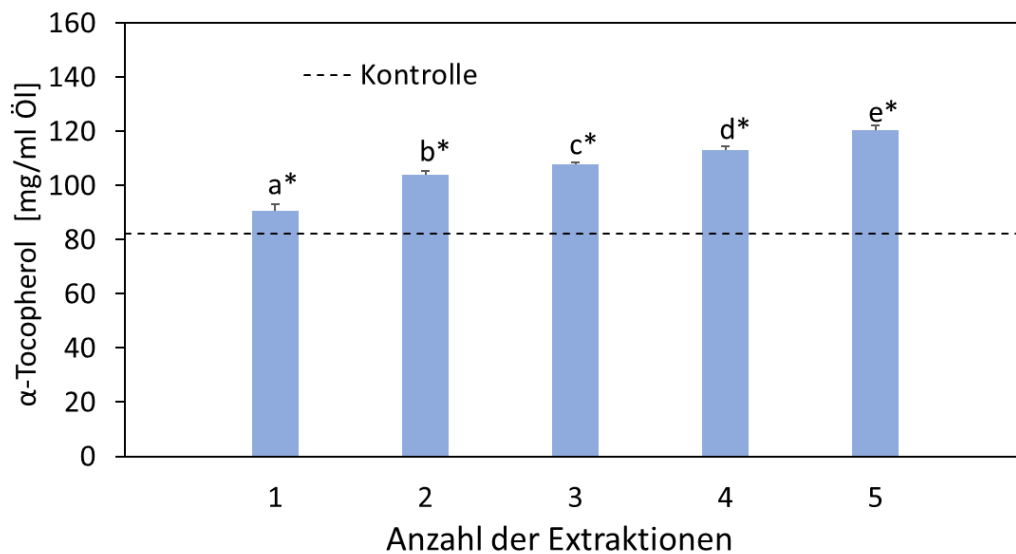


Abbildung 47:  $\alpha$ -Tocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion aus dem Presskuchen mit je 30 ml Leinöl für 30 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt des gleichen Öls ohne Extraktion aus dem Presskuchen verwendet.

Für  $\alpha$ -Tocopherol kam es zu einer signifikanten Zunahme nach jeder einzelnen Extraktion ( $p < 0,05$ ). Verglichen zum Kontrollwert, wurde bereits bei der ersten Extraktion eine signifikante Verbesserung erzielt ( $p < 0,05$ ). Im Gegensatz zur Polyphenolextraktion nahm die Zunahme an  $\alpha$ -Tocopherol nach der dritten Extraktion nicht sofort ab. Von der ersten zur dritten Extraktion konnte der Gehalt um 18,9 % gesteigert werden, während von der dritten zur fünften Extraktion weitere 12 % Steigerung erzielt wurden. Insgesamt konnte der  $\alpha$ -Tocopherol Gehalt vom Öl (Kontrollwert:  $82,4 \pm 2 \mu\text{g/ml Öl}$ ) auf  $120,6 \pm 1,5 \mu\text{g/ml Öl}$  erhöht werden. Dies entspricht einer Zunahme von 46,4 %. Aus Kosten- und zeitlichen Gründen wird eine 5-fach Extraktion im Firmenmaßstab nicht in Betracht gezogen, daher sind die Ergebnisse bis zur 3-fach Extraktion im praktischen Aspekt relevanter. Bis zur dritten Extraktion konnte insgesamt eine Steigerung von 24,9 % erreicht werden. Dies entspricht einem  $\alpha$ -Tocopherol Gehalt von  $107,71 \pm 0,7 \mu\text{g/ml Öl}$ .

Dem gegenüber steht der abnehmende Trend des  $\gamma$ -Tocopherol Gehaltes. Auch hier zeigte sich nach jeder einzelnen Extraktion eine signifikante Abnahme ( $p < 0,05$ ). Insgesamt kam es zu einer Abnahme von 19 % von  $583,8 \pm 5,9 \mu\text{g/ml Öl}$  auf  $472,7 \pm 4,4 \mu\text{g/ml Öl}$ . Nach der dritten Extraktion wurde ein Gehalt von  $531 \pm 7,8 \mu\text{g/ml Öl}$  gemessen. Dies entspricht einer Reduktion von 8,9 %.

In Abbildung 48 wurde der Gesamttocopherolgehalt ( $\alpha$ -Tocopherol und  $\gamma$ -Tocopherol) dargestellt.

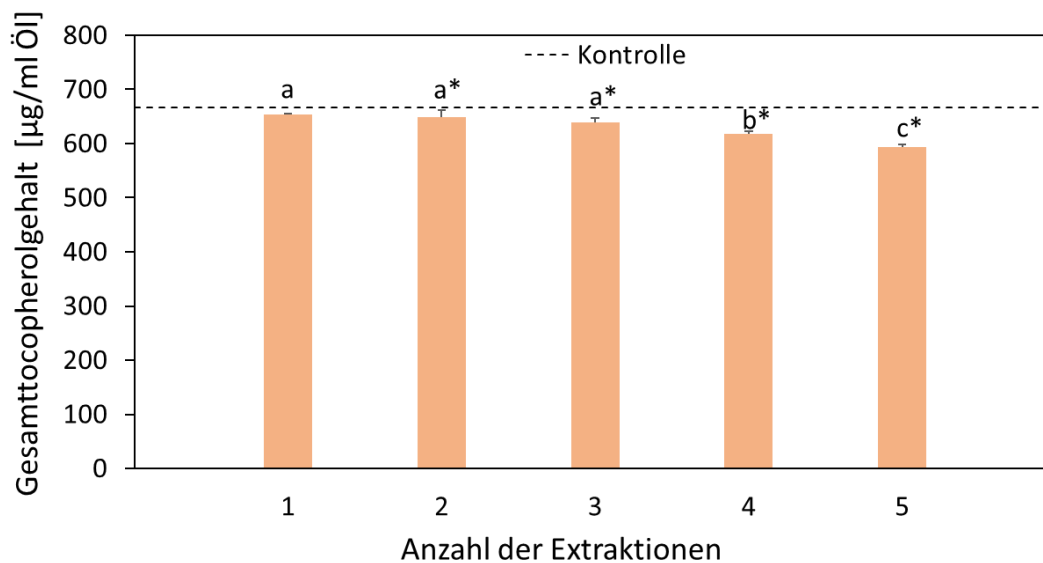


Abbildung 48: Gesamttocopherol im Leinöl nach mehrfacher Extraktion mit 30 ml Öl bei 30 Minuten.

Darstellung der Daten in MW + SD ( $n = 3$ ). Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied an ( $p < 0,05$ ). Der Asterisk zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Als Kontrolle wurde der Tocopherolgehalt desselben Öls ohne Extraktion im Presskuchen verwendet.

Bis zur dritten Extraktion wurde der Gesamttocopherolgehalt um 3,9% reduziert. Basierend auf Abbildung 46 und Abbildung 47 ist ersichtlich, dass der Verlust vom Gesamttocopherol durch das  $\gamma$ -Tocopherol entstand. Zwar handelt es sich hier um das antioxidativ wirksamere Tocopherol Homolog, allerdings müssen alle Auswertungen für die optimale Extraktion von natürlichen Antioxidantien herangezogen werden. Unter Berücksichtigung einer 12-fachen Steigerung des Polyphenolgehaltes und einer Zunahme des  $\alpha$ -Tocopherols um 24,9 %, kann die Abnahme des  $\gamma$ -Tocopherol um 8,9 % als sehr gering angesehen werden. Somit zeigte sich eine 3-fach-Extraktion mit einem Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:2 und einer Dauer von 30 Minuten als die optimale Extraktion von Antioxidantien aus dem Presskuchen.

#### 4.3 Beurteilung der oxidativen Stabilität von Leinöl produziert unter optimierten Bedingungen

Mithilfe von Rancimatmessungen wurde die Induktionszeit gemessen, welche ein Indikator für die Oxidationsstabilität ist. Somit dient sie als Nachweis für die mögliche erhöhte oxidative Stabilität von Leinöl durch Herstellung mit Röstung, Optimierung der Pressung und optimierter Extraktion.

Für die Messung wurden nicht optimiertes Leinöl, unter Röstung (5 Minuten, 100 °C) hergestelltes Leinöl, im geschlossenen System hergestelltes Leinöl und Leinöl nach optimierter Extraktion verwendet. Die Abbildungen 49 bis 52 zeigen die Ergebnisse.

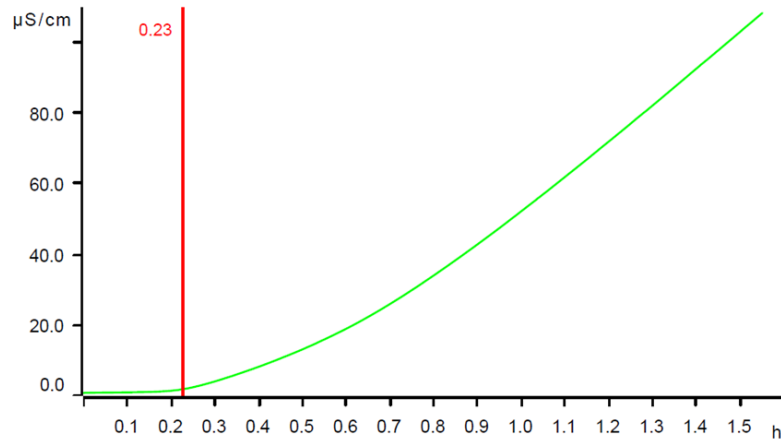


Abbildung 49: Induktionszeit der Leinölprobe, welche im offenen System hergestellt wurde.

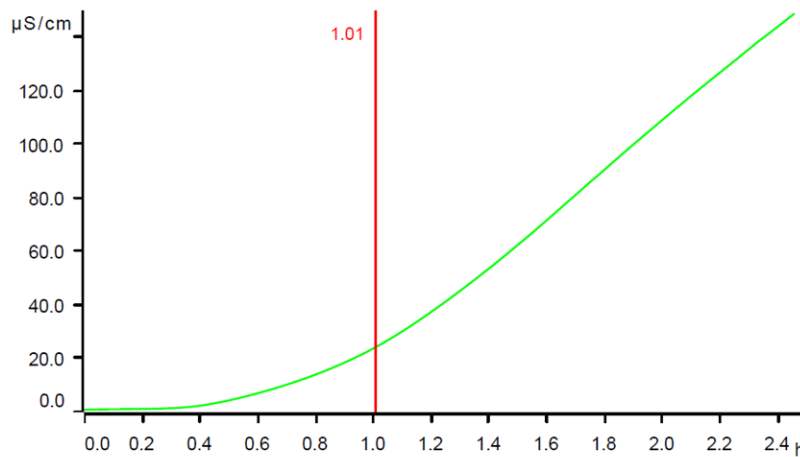


Abbildung 50: Induktionszeit der Leinölprobe, dessen Saat bei 100°C für 5 Minuten geröstet wurde.

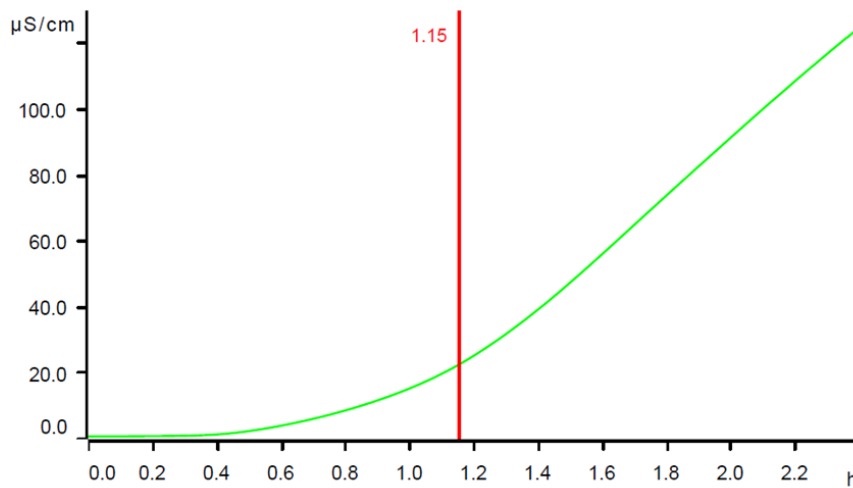


Abbildung 51: Induktionszeit der Leinölprobe, welche im geschlossenen System hergestellt wurde.

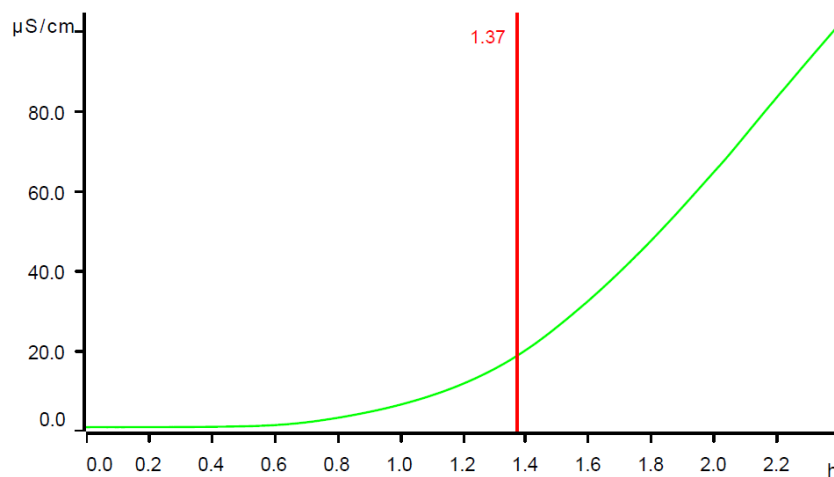


Abbildung 52: Induktionszeit der Leinölprobe, welche nach 3-fach-Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Öl bei 30 Minuten hergestellt wurde.

Für die Leinölprobe im offenen System wurde eine Induktionszeit von  $0,21 \pm 0,002$  h bestimmt. Eine Steigerung der Induktionszeit um 352,0 % und 400,0 % wurde bei der Röstprobe und der Probe, welche im geschlossenen System hergestellt wurde, festgestellt. Dies entsprach Werte von  $1,05 \pm 0,23$  h und  $1,15 \pm 0,00$  h. Die größte Steigerung wurde mithilfe der mithilfe der Mehrfachextraktion hergestellten Leinölprobe erreicht, nämlich eine Steigerung um 535,0 % mit  $1,46 \pm 0,12$  h. Diese Ergebnisse zeigen, dass die oxidative Stabilität durch die drei Maßnahmen, Röstung, Pressung im geschlossenen System und Mehrfachextraktion aus dem Presskuchen verbessert wurde. Speziell im Fall der 3-fach-Extraktion aus dem Presskuchen mit 30 ml Leinöl bei 30 Minuten wurde ersichtlich, dass die 12-fache Zunahme der Polyphenole mehr Einfluss auf die oxidative Stabilität hat als die Abnahme der Tocopherole um 8,9 %.

Daher wurde im Rahmen der Zusammenarbeit mit dem Projektpartner ein Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:2 und eine Zeitdauer von 30 Minuten für die optimale Extraktion verwendet.

## 5 Schlussbetrachtung

Es wurden mehrere Maßnahmen zur Verbesserung der oxidativen Stabilität von kaltgepressten Speiseölen untersucht. (1) Zuerst wurden Prozessschritte bei der Herstellung von kaltgepresstem Leinöl, Distelöl und Hanföl durch Verhinderung von Sauerstoffeindrang ins System, Kühlung auf niedrige Temperaturen und Einführung von inertem Stickstoff optimiert. (2) Beim Leinöl wurde der Einfluss von der Röstung der Saat analysiert. (3) Danach gelang es durch eine Extraktion von phenolischen Substanzen aus dem Presskuchen mit Leinöl die oxidative Stabilität von Leinöl zu erhöhen.

Im Zuge der ersten Maßnahme wurde im N<sub>2</sub>-System eine Verbesserung des Tocopherol- und Polyphenolgehalts erzielt. Der Polyphenolgehalt stieg unter Verwendung eines geschlossenen Presssystem mit Zufuhr von Stickstoff im Hanföl um 209 %, im Distelöl unter Sauerstoffausschluss um 5 %. Bei Leinöl hingegen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen einem offenen System und N<sub>2</sub>-System. Ein ähnliches Bild wurde bei den Tocopherolen beobachtet, wo es ebenfalls bei im N<sub>2</sub>-System produziertem Hanföl zur markantesten Erhöhung um 97 % bei  $\alpha$ -Tocopherol und 9,8 % bei  $\gamma$ -Tocopherol kam. Beim Leinöl blieb das  $\alpha$ -Tocopherol um 8,2 % und das  $\gamma$ -Tocopherol um 13,2 % besser erhalten. Beim Distelöl ergaben sich bei  $\alpha$ -Tocopherol eine Erhöhung um 10,0 %, während beim  $\gamma$ -Tocopherol kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte.

Die Ergebnisse der Peroxidzahl bestätigten bei Leinöl und Hanföl die Hypothese, dass unter optimierten Pressbedingungen, die eine Luftzufuhr unterbanden, ein oxidativ stabileres Öl entsteht, denn es kam zu einer Senkung der Peroxidzahl von 76 % und 71 %. Bei Hanföl bedeutete dies eine erfolgreiche Senkung weit unter den Grenzwert des Codex Alimentarius, welcher beim ursprünglich hergestellten Öl überschritten wurde. Bei Distelöl kam es zwar zu einer Erhöhung der antioxidativen Substanzen, die oxidative Stabilität war allerdings vor der Optimierung bereits äußerst gering. Die zusätzlichen Maßnahmen bewirkten bei der Peroxidzahl keine signifikante Senkung.

Die neuen Maßnahmen zur Verringerung von Sauerstoff und hohen Temperaturen im Presssystem zeigten insgesamt eine Verbesserung der oxidativen Stabilität. Aufgrund von Matrixeffekten war die Auswirkung des neu implementierten Produktionsablaufs unterschiedlich stark. Welches der beiden Systeme, geschlossenes System oder N<sub>2</sub>-System, sich als das Optimum für die oxidative Stabilität des Speiseöls herausstellt, ist matrixabhängig. Während bei der Produktion von Hanföl die Zufuhr von Stickstoff zu einem

signifikant besseren Ergebnis um 82,1 % beim Polyphenolgehalt führte, kam es beim Lein- und Distelöl zu nicht signifikant unterschiedlichen Werten. Beim Leinöl konnte kein signifikanter Unterschied zwischen einem offenen System und N<sub>2</sub>-System festgestellt werden. Beim Distelöl resultierte das geschlossene System als das System mit dem größten Polyphenolgehalt. Hier müsste auf Basis von wirtschaftlichen Aspekten entschieden werden, ob die Zufuhr von N<sub>2</sub> während der Ölpressung von einzelnen Saaten durchgeführt werden sollte.

Eine weitere Maßnahme zur Erhöhung der oxidativen Stabilität, welche für Leinöl herangezogen wurde, stellte die Röstung der Saat bei Temperaturen von 60 °C, 100 °C, 140 °C und 180 °C dar. Es konnte festgestellt werden, dass es zu keiner verbesserten Freisetzung der antioxidativ wirksamen Substanzen gekommen ist. Im Öl resultierte die Röstung ab 100 °C in einer Reduktion der Polyphenole, während beim Presskuchen eine Senkung erst bei 180 °C beobachtet wurde. Im Gegensatz dazu waren die Tocopherole sowohl im Öl als auch im Presskuchen, welcher aus gerösteter Saat entnommen wurde, äußerst stabil. Trotz des geringen Einflusses der Röstung auf die natürlichen Antioxidantien wurde bei der Röstung der Saat ab 100 °C eine drastische Senkung der Peroxidzahl um 55,4 % verglichen mit dem aus nicht gerösteter Saat entnommenen Öl erzielt. Diese Verbesserung der oxidativen Stabilität könnte auf eine Inaktivierung der Lipoxygenase zurückzuführen sein, welche bei Temperaturen über 60°C ausreichend erreicht wird. Außerdem könnte es einerseits zur Bildung von ALEs gekommen sein, während gleichzeitig Lipidoxidaionsprodukte aufgebraucht worden sind.

Die Extraktion von Antioxidantien aus dem Presskuchen mit Öl zeigte eine erstaunliche Erhöhung der Polyphenole. Es konnte gezeigt werden, dass eine 30-minütige Extraktion mit einem Presskuchen/Öl Verhältnis von 1:2 die besten Voraussetzungen für die Extraktion von Polyphenolen darstellte. Diese Bedingungen wurden für eine 3-fache Extraktion verwendet, wo es zum 12-fachen Anstieg an Polyphenolen im Vergleich zum Öl ohne Extraktion aus dem Presskuchen kam. Die Tocopherole blieben im Zuge der Extraktion mit Öl zum Großteil unbeeinflusst, während nach der mehrfachen Extraktion der  $\alpha$ -Tocopherol Gehalt im Öl anstieg und der  $\gamma$ -Tocopherol Gehalt sank. Die Reduktion des  $\gamma$ -Tocopherol betrug allerdings nur 8,9 %. Mithilfe von Rancimatmessungen wurde aber eine Erhöhung der Induktionszeit durch die eine Extraktion aus dem Presskuchen mit Öl um 535,0 % im Vergleich zum Öl ohne Extraktion festgestellt. Somit wurde die oxidative Stabilität von Leinöl, welches durch Extraktion von Antioxidantien aus dem Presskuchen mit Leinöl hergestellt wurde, wesentlich

erhöht. Die Behandlung mit Ultraschall des Öls nach der Extraktion wirkte sich negativ auf den Polyphenolgehalt im Vergleich zu einer 30-minütigen Extraktion ohne Ultraschall aus.

Insgesamt konnten in Kooperation mit dem Unternehmenspartner Hagenthaler Ölmanufaktur die Prozessschritte zur Herstellung von kaltgepressten Speiseölen mit hohem Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren derart optimiert werden, dass Speiseöle reich an  $\alpha$ -Linolensäure und Linolsäure mit erhöhter oxidativer Stabilität und wertvollen ernährungsphysiologischen Substanzen gewonnen werden konnten. Die Verringerung von Sauerstoff, Temperatur und Licht während der Herstellung spiegelte sich im erhöhten Gehalt an Antioxidantien und in der Senkung der Peroxidzahl wider.

Zusätzlich wurde die zweite Hypothese, nämlich die Extraktion von Polyphenolen aus dem Presskuchen mit Öl, im Labormaßstab ebenfalls bestätigt. Ein Teil der Polyphenole im Presskuchen ließ sich mithilfe des Öls extrahieren und diente zur Erhöhung der oxidativen Stabilität von Speiseöl. Für weitere Analysen wäre es von Interesse, ob nach Umsetzung der Methode im Firmenmaßstab ähnliche Ergebnisse erzielt werden können. Vorausgesetzt es kommt zu keinen sensorischen Einschränkungen, könnte diese Methode zukünftig zur Produktion von qualitativ noch hochwertigeren Ölen verwendet werden.

## 6 Zusammenfassung

Kaltgepresste Speiseöle erfreuen sich heutzutage hoher Beliebtheit bei den KonsumentInnen. Sie weisen im Gegensatz zu raffinierten Ölen einen hohen Anteil an natürlichen Antioxidantien auf. Dies ist aus ernährungsphysiologischer Sicht zu bevorzugen. Allerdings weisen kaltgepresste Speiseöle einen höheren anfänglichen Oxidationsgrad auf. Durch den erhöhten Anteil an Lipidoxidationsprodukten kommt es allerdings zu Einschränkungen in der Haltbarkeit und der gesundheitsförderlichen Faktoren.

Daher wurde in Kooperation mit dem Unternehmenspartner Hagenthaler Ölmanufaktur versucht, die Herstellung von kaltgepressten Speiseölen (Lein-, Distel- und Hanföl) so zu optimieren, dass eine erhöhte oxidative Stabilität von Speiseölen mit hohem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren erzielt werden kann. Die Optimierung der Produktionsschritte inkludierte die Verhinderung vom Eindringen von Sauerstoff, Vermeidung von Licht, Kühlung und Zufuhr von Stickstoff während der Pressung. Die Peroxidzahl konnte bei Lein- und Hanföl im Zuge der optimierten Produktion um 76,0 % bzw. 71,0 % gesenkt werden. Gleichzeitig stieg der Polyphenolgehalt im Hanföl um 209,0 % und im Distelöl um 15,0 % im Vergleich zu herkömmlich produzierten Ölen an. Der Tocopherolgehalt konnte bei allen Ölsorten durch die Pressoptimierung gesteigert werden. In Bezug auf  $\alpha$ -Tocopherol wurde bei Hanföl ein bis zu 97,0 % höherer Wert erreicht, während beim  $\gamma$ -Tocopherol eine Steigerung von 9,8 % bis 13,3 % durch eine Pressung im geschlossenen System erzielt werden konnte. Die Untersuchungen des Presskuchens blieben zu einem Großteil unbeeinflusst durch diese Maßnahmen.

Im Zuge der Optimierung wurde auch das Ausmaß einer Röstung von Leinsaat untersucht. Diese wurde bei 60 °C, 100 °C, 140 °C und 180 °C geröstet und anschließend unter optimierten Bedingungen gepresst. Hinsichtlich der antioxidativ wirksamen Substanzen zeigten sich kaum bedeutende Veränderungen. Hingegen kam es allerdings zu einer beachtlichen Senkung der Peroxidzahl um 55,4 % ab Temperaturen von 100 °C.

Weiters wurde versucht, mehr Polyphenole aus dem Presskuchen mithilfe von Öl zu extrahieren. Eine 30-minütige Extraktion und ein Presskuchen/Öl-Verhältnis von 1:2 erzielten die besten Ergebnisse, während eine Ultraschallbehandlung sich negativ auf die Polyphenolextraktion auswirkte. Im Zuge einer Dreifach-Extraktion wurde eine 12-fache Erhöhung des Polyphenolgehaltes im Leinöl festgestellt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass eine Optimierung der Produktionsschritte durch die Reduktion der Einflussfaktoren auf die Oxidation sowie einer Extraktion von Polyphenolen aus dem Presskuchen mit Öl zu einer erhöhten oxidativen Stabilität führte. Ersteres wurde im Rahmen der Masterarbeit bereits im Firmenmaßstab ausgeführt, während zweiteres im Labormaßstab getestet wurde. Daher sollte die Polyphenolextraktion mit Öl ebenfalls im Produktionsmaßstab getestet werden.

## 7 Abstract

Cold pressed oils are very popular with consumers. In contrast to refined oils, they contain a high proportion of natural antioxidants, which are preferable from a nutritional point of view. However, they show a higher initial degree of lipid oxidation, leading to restrictions in shelf life and health benefits.

In cooperation with the company partner, Hagenthaler Ölmanufaktur, an attempt was made to optimize the production of cold-pressed edible oils (flaxseed oil, safflower oil, hempseed oil) to increase the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids rich oils. The optimization included the limitation of oxygen contact, avoidance of light, cooling and supply of nitrogen during pressing. The peroxide value was reduced by 76 % and 71 % in the course of optimized production for linseed and hemp oil, respectively. The polyphenol concentration increased by 209 % in hemp oil and by 15 % in safflower oil compared to conventionally-produced oils. The tocopherol concentration was increased in all oil types through the optimized press system. Regarding  $\alpha$ -tocopherol concentration, the highest increase of 123 % was measured in hemp oil, while the increase of  $\gamma$ -tocopherol remained between 5.3 % to 24.2 %. The antioxidants of the press cake remained to a large extent unaffected by these measures.

Regarding optimization, the effect of roasting of flaxseed was analyzed too. Flaxseeds were roasted at 60 °C, 100 °C, 140 °C and 180 °C and then pressed under optimized conditions. Regarding the natural antioxidants, hardly any significant changes were measured. However, there was a remarkable reduction of the peroxide value by 55.4 % at temperatures of 100 °C and above.

In addition, attempts were made to extract more polyphenols from the press cake using oil. A 30-minute extraction and a press cake/oil ratio of 1:2 proved to deliver the best results. The ultrasound treatment had a negative effect on the extraction of polyphenols. In the optimized procedure, a threefold extraction was performed, thereby obtaining a 12-fold increase in the polyphenol concentration in the oil.

In summary, it can be stated that an optimization of the production steps to reduce influencing factors of oxidation as well as to extract polyphenols from presscake with oil lead to an increased oxidative stability of PUFA-rich oils. The former was carried out on large scale, while the latter was mimicked on laboratory scale. Therefore, the extraction of polyphenols from presscake with oil should be extracted on large scale as well.

## 8 Literaturverzeichnis

Adolphe, J. L.; Whiting, S. J.; Juurlink, B. H. J.; Thorpe, L. U.; Alcorn, J. (2010): Health effects with consumption of the flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. In: *The British journal of nutrition* 103 (7), S. 929–938. DOI: 10.1017/S0007114509992753.

Akoh, C.; Min, D. (Hg.) (2002): Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology. Hoboken: Marcel Dekker Inc (Food Science and Technology).

Allen, J.; Hamilton, R. (1999, 1994): Rancidity in foods. 3rd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen.

Andhale, R.; Katkade Hm Syed Md Sontakke (2018): Fatty acid profile and quality assessment of safflower (*Carthamus tinctorius*) oil (7(2)).

Anton Fries Maschinenbau GmbH (2019): Pflanzenölpresse. Online verfügbar unter <https://www.anton-fries.de/%C3%96lpresen/de/10801/index.php>, zuletzt aktualisiert am 19.07.2019.

Anwar, F.; Bhanger, M. I.; Kazi, T. G. (2003): Relationship between rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80 (2), S. 151–155. DOI: 10.1007/s11746-003-0668-2.

Ashida, H.; Kanazawa, K.; Minamoto, S.; Danno, G.-I.; Nataka, M. (1987): Effect of orally administered secondary autoxidation products of linoleic acid on carbohydrate metabolism in rat liver. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics* 259 (1), S. 114–123. DOI: 10.1016/0003-9861(87)90476-0.

Aydeniz, B.; Güneşer, O.; Yilmaz, E. (2014): Physico-chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 91 (1), S. 99–110. DOI: 10.1007/s11746-013-2355-4.

Babić, S.; Petrović, M.; Kaštelan-Macan, M. (1998): Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil. In: *Journal of Chromatography A* 823 (1-2), S. 3–9. DOI: 10.1016/S0021-9673(98)00301-X.

Bajoub, A.; Medina-Rodríguez, S.; Olmo-García, L.; Ajal, E. A.; Monasterio, R. P.; Hanine, H. et al. (2016): In-Depth Two-Year Study of Phenolic Profile Variability among Olive Oils from Autochthonous and Mediterranean Varieties in Morocco, as Revealed by a LC-MS Chemometric Profiling Approach. In: *International journal of molecular sciences* 18 (1). DOI: 10.3390/ijms18010052.

Baysal, T.; Demirdöven, A. (2007): Lipxygenase in fruits and vegetables: A review. In: *Enzyme and Microbial Technology* 40 (4), S. 491–496. DOI: 10.1016/j.enzmtec.2006.11.025.

Beejmohun, V.; Fliniaux, O.; Grand, E.; Lamblin, F.; Bensaddek, L.; Christen, P. et al. (2007): Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. In: *Phytochemical analysis : PCA* 18 (4), S. 275–282. DOI: 10.1002/pca.973.

- Ben Moumen, A.; Mansouri, F.; L, Z.; Malika, A.; Nabloussi, A.; Fauconnier, M.-L. et al. (2013): Comparative study of four safflower (*Carthamus tinctorius*) oils varieties grown in eastern of Morocco.
- Ben Moumen, A.; Mansouri, F.; Richard, G.; Fauconnier, M.-L.; Sindic, M.; Nabloussi, A. et al. (2015): Variations in the phytosterol and tocopherol compositions and the oxidative stability in seed oils from four safflower (*Carthamus tinctorius* L) varieties grown in north-eastern Morocco. In: *International Journal of Food Science & Technology* 50 (10), S. 2264–2270. DOI: 10.1111/ijfs.12879.
- Bozan, B.; Temelli, F. (2008): Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. In: *Bioresource technology* 99 (14), S. 6354–6359. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.12.009.
- Brenes, M.; Hidalgo, F. J.; García, A.; Rios, J. J.; García, P.; Zamora, R.; Garrido, A. (2000): Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77 (7), S. 715–720. DOI: 10.1007/s11746-000-0115-4.
- Bunyan, J.; d. McHale; Green, J.; Marcinkiewicz, S. (1961): Biological potencies of  $\epsilon$ - and  $\zeta$ -1-tocopherol and 5-methyltol. In: *British Journal of Nutrition* 15 (02), S. 253. DOI: 10.1079/BJN19610030.
- Caponio, F.; Bilancia, M. T.; Pasqualone, A.; Sikorska, E.; Gomes, T. (2005): Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. In: *European Food Research and Technology* 221 (1-2), S. 92–98. DOI: 10.1007/s00217-004-1126-8.
- Cecchi, T.; Passamonti, P.; Cecchi, P. (2010): Study of the quality of extra virgin olive oil stored in PET bottles with or without an oxygen scavenger. In: *Food Chemistry* 120 (3), S. 730–735. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.11.001.
- Chen, F.; Sun, Y.; Zhao, G.; Liao, X.; Hu, X.; Wu, J.; Wang, Z. (2007): Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. In: *Ultrasonics sonochemistry* 14 (6), S. 767–778. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2006.12.011.
- Choe, E.; Min, D. B. (2006): Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. In: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5 (4), S. 169–186. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x.
- Chukwumah, Y. C.; Walker, L. T.; Verghese, M.; Ogutu, S. (2009): Effect of frequency and duration of ultrasonication on the extraction efficiency of selected isoflavones and trans-resveratrol from peanuts (*Arachis hypogaea*). In: *Ultrasonics sonochemistry* 16 (2), S. 293–299. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2008.07.007.
- CHUNG, H. J.; COLAKOGLU, A. S.; Min, D. B. (2004): Relationships among Headspace Oxygen, Peroxide Value, and Conjugated Diene Content of Soybean Oil Oxidation. In: *Journal of Food Science* 69 (2), fct83-fct88. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb15507.x.
- Codex Alimentarius (2012): Österreichisches Lebensmittelbuch IV. Auflage, Codexkapitel / B 30 / Speisefette, Speiseöle, Streichfette und andere Fetterzeugnisse, BMG-75210/0007-II/B/13.

Codex Alimentarius Commission (2001): Fats, oils and related products. 2. ed. (rev. 2001). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Codex alimentarius, / Joint FAO-WHO Food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission ; Vol. 8).

Cooper, A. D.; Tarbin, J. A.; Farrington, W. H.; Shearer, G. (1998): Aspects of extraction, spiking and distribution in the determination of incurred residues of chloramphenicol in animal tissues. In: *Food additives and contaminants* 15 (6), S. 637–644. DOI: 10.1080/02652039809374692.

Coutelieris, F. A.; Kanavouras, A. (2006): Experimental and theoretical investigation of packaged olive oil: Development of a quality indicator based on mathematical predictions. In: *Journal of Food Engineering* 73 (1), S. 85–92. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.01.008.

Duthie, G. G.; Brown, K. M. (1994): Reducing the Risk of Cardiovascular Disease. In: Israel Goldberg (Hg.): Functional Foods. Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals, Bd. 3. Boston, MA, s.l.: Springer US, S. 19–38.

Elisia, I.; Young, J. W.; Yuan, Y. v.; Kitts, D. d. (2013): Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. In: *Food Research International* 52 (2), S. 508–514. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.02.013.

Evans, J.; Kaake, R. H.; Orr, M.; Watwood, M. (1998): A Comparison of Ultrasonication and Soxhlet Methods for DDT Extraction from Soil. In: *Journal of Soil Contamination* 7 (5), S. 589–597. DOI: 10.1080/10588339891334483.

Farhoosh, R.; Einafshar, S.; Sharayei, P. (2009): The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. In: *Food Chemistry* 115 (3), S. 933–938. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.01.035.

Faugno, S.; Piccolella, S.; Sannino, M.; Principio, L.; Crescente, G.; Baldi, G. M. et al. (2019): Can agronomic practices and cold-pressing extraction parameters affect phenols and polyphenols content in hempseed oils? In: *Industrial Crops and Products* 130, S. 511–519. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.12.084.

Fiebig, H.-J.; Godelmann, R. (1997): Bestimmung der Peroxidzahl (Methode nach Wheeler) - Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen: Analyse von Fetten XXXVII. In: *Fett/Lipid* 99 (5), S. 194–196. DOI: 10.1002/lipi.19970990508.

Franke, S.; Fröhlich, K.; Werner, S.; Böhm, V.; Schöne, F. (2010): Analysis of carotenoids and vitamin E in selected oilseeds, press cakes and oils. In: *European Journal of Lipid Science and Technology* 112 (10), S. 1122–1129. DOI: 10.1002/ejlt.200900251.

Frankel, E. N. (1980): Lipid oxidation. In: *Progress in Lipid Research* 19 (1-2), S. 1–22. DOI: 10.1016/0163-7827(80)90006-5.

Frankel, E. N. (1984): Lipid oxidation: Mechanisms, products and biological significance. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61 (12), S. 1908–1917. DOI: 10.1007/BF02540830.

García-Hernández, V. M.; Gallar, M.; Sánchez-Soriano, J.; Micol, V.; Roche, E.; García-García, E. (2013): Effect of omega-3 dietary supplements with different oxidation levels in the lipidic profile of women: a randomized controlled trial. In: *International journal of food sciences and nutrition* 64 (8), S. 993–1000. DOI: 10.3109/09637486.2013.812619.

- Gharby, S.; Harhar, H.; Guillaume, D.; Haddad, A.; Matthäus, B.; Charrouf, Z. (2011): Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study. In: *LWT - Food Science and Technology* 44 (1), S. 1–8. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.07.003.
- Gliszczynskaswigło, A.; Sikorska, E. (2004): Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. In: *Journal of Chromatography A* 1048 (2), S. 195–198. DOI: 10.1016/S0021-9673(04)01211-7.
- Gliszczyńska-Świgło, A.; Sikorska, E.; Khmelinskii, I.; Sikorski, M. (2007): Tocopherol content in edible plant oils. In: *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57 (4A), S. 157–161.
- Gracka, A.; Jeleń, H. H.; Majcher, M.; Siger, A.; Kaczmarek, A. (2016): Flavoromics approach in monitoring changes in volatile compounds of virgin rapeseed oil caused by seed roasting. In: *Journal of chromatography. A* 1428, S. 292–304. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.10.088.
- Grosshagauer, S.; Steinschaden, R.; Pignitter, M. (2019): Strategies to increase the oxidative stability of cold pressed oils. In: *LWT - Food Science and Technology* 106, S. 72–77. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.02.046.
- Guha, P. K.; Guha, R. (1992): Principle of extraction of solute by solvent. In: *Journal of Chemical Education* 69 (1), S. 73. DOI: 10.1021/ed069p73.
- Guillén, M. d.; Cabo, N. (2002): Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. In: *Food Chemistry* 77 (4), S. 503–510. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00371-5.
- Gülçin, İ. (2012): Antioxidant activity of food constituents: an overview. In: *Archives of toxicology* 86 (3), S. 345–391. DOI: 10.1007/s00204-011-0774-2.
- Guo, J.-J.; Hsieh, H.-Y.; Hu, C.-H. (2009): Chain-breaking activity of carotenes in lipid peroxidation: a theoretical study. In: *The journal of physical chemistry. B* 113 (47), S. 15699–15708. DOI: 10.1021/jp907822h.
- Halina Makala (2015): Cold-pressed oils as functional food. In: *Plant Lipids Science, Technology, Nutritional Value and Benefits to Human Health*, S. 185–200.
- Herchi, W.; Trabelsi, H.; Bouali, I. et al. (2014): Phenolic Compounds in Flaxseed: a Review of Their Properties and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade. In: *Journal of Oleo Science* 63 (1), S. 7–14. DOI: 10.5650/jos.ess13135.
- Herchi, W.; Sawalha, S.; Arráez-Román, D.; Boukhchina, S.; Segura-Carretero, A.; Kallel, H.; Fernández-Gutierrez, A. (2011): Determination of phenolic and other polar compounds in flaxseed oil using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. In: *Food Chemistry* 126 (1), S. 332–338. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.10.070.
- Huang, S.-W.; Frankel, E. N.; German, J. B. (1994): Antioxidant activity of alpha.- and gamma.-tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42 (10), S. 2108–2114. DOI: 10.1021/jf00046a007.
- Janu, C.; Kumar, D. S.; Reshma, M. V.; Jayamurthy, P.; Sundaresan, A.; Nisha, P. (2014): Comparative Study on the Total Phenolic Content and Radical Scavenging Activity of Common Edible Vegetable Oils. In: *Journal of Food Biochemistry* 38 (1), S. 38–49. DOI: 10.1111/jfbc.12023.

- Jeong, S.-M.; Kim, S.-Y.; Kim, D.-R.; Nam, K. C.; Ahn, D. U.; Lee, S.-C. (2004): Effect of Seed Roasting Conditions on the Antioxidant Activity of Defatted Sesame Meal Extracts. In: *Journal of Food Science* 69 (5), C377-C381. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10701.x.
- Kajla, P.; Sharma, A.; Sood, D. R. (2015): Flaxseed-a potential functional food source. In: *Journal of food science and technology* 52 (4), S. 1857–1871. DOI: 10.1007/s13197-014-1293-y.
- Kaltschmitt, M.; Müller-Langer, F.; Neuling, U.; Remmele, E.; Thüneke, K. (2016): Produktion und Nutzung von Pflanzenölkraftstoffen. In: Martin Kaltschmitt, Hans Hartmann und Hermann Hofbauer (Hg.): *Energie aus Biomasse. Grundlagen, Techniken und Verfahren*, Bd. 9. 3., aktualisierte und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Vieweg, S. 1339–1445.
- Kamal-Eldin, A.; Appelqvist, L. A. (1996): The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. In: *Lipids* 31 (7), S. 671–701.
- Kanavouras, A.; Cert, A.; Hernandez, R. J. (2005): Oxidation of Olive Oil under Still Air. In: *Food Science and Technology International* 11 (3), S. 183–189. DOI: 10.1177/1082013205055001.
- Kanazawa, K.; Kanazawa, E.; Nataka, M. (1985): Uptake of secondary autoxidation products of linoleic acid by the rat. In: *Lipids* 20 (7), S. 412–419.
- Kaur, R.; Kaur, M.; Gill, B. S. (2017): Phenolic acid composition of flaxseed cultivars by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities: Effect of sand roasting and microwave heating. In: *Journal of Food Processing and Preservation* 41 (5), e13181. DOI: 10.1111/jfpp.13181.
- Keller, U.; Brandsch, C.; Eder, K. (2004): Supplementation of vitamins C and E increases the vitamin E status but does not prevent the formation of oxysterols in the liver of guinea pigs fed an oxidised fat. In: *European journal of nutrition* 43 (6), S. 353–359. DOI: 10.1007/s00394-004-0481-3.
- Kezimana, P.; Dmitriev, A. A.; Kudryavtseva, A. V.; Romanova, E. V.; Melnikova, N. V. (2018): Secoisolariciresinol Diglucoside of Flaxseed and Its Metabolites: Biosynthesis and Potential for Nutraceuticals. In: *Frontiers in genetics* 9, S. 641. DOI: 10.3389/fgene.2018.00641.
- Kim, S.-Y.; Jeong, S.-M.; Park, W.-P.; Nam, K. C.; Ahn, D. U.; Lee, S.-C. (2006): Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. In: *Food Chemistry* 97 (3), S. 472–479. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.027.
- Koski, A.; Pekkarinen, S.; Hopia, A.; Whl, K.; Heinonen, M. (2003): Processing of rapeseed oil: effects on sinapic acid derivative content and oxidative stability. In: *European Food Research and Technology* 217 (2), S. 110–114. DOI: 10.1007/s00217-003-0721-4.
- Kostadinovic Velickovska, S.; Mitrev, S. (2013): Characterization of fatty acid profile, polyphenolic content and antioxidant activity of cold pressed and refined edible oils from Macedonia. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1.
- Lee, Y. (2004): Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. In: *Food Chemistry* 84 (1), S. 1–6. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00158-4.

- Li, H.; Pordesimo, L.; Weiss, J. (2004): High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. In: *Food Research International* 37 (7), S. 731–738. DOI: 10.1016/j.foodres.2004.02.016.
- López Ortíz, C. M.; Prats Moya, M. S.; v. Berenguer Navarro (2006): A rapid chromatographic method for simultaneous determination of  $\beta$ -sitosterol and tocopherol homologues in vegetable oils. In: *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (2-3), S. 141–149. DOI: 10.1016/j.jfca.2005.06.001.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. (2004): Polyphenols: food sources and bioavailability. In: *The American journal of clinical nutrition* 79 (5), S. 727–747. DOI: 10.1093/ajcn/79.5.727.
- Matissek, R.; Steiner, G.; Fischer, M. (2010): Lebensmittelanalytik. 4., vollst. überarb. Aufl. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Matthäus, B.; Spener, F. (2008): What we know and what we should know about virgin oils - a general introduction. In: *European Journal of Lipid Science and Technology* 110 (7), S. 597–601. DOI: 10.1002/ejlt.200800118.
- Milner, J. A. (1994): Reducing the Risk of Cancer. In: Israel Goldberg (Hg.): *Functional Foods. Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*, Bd. 36. Boston, MA, s.l.: Springer US, S. 39–70.
- Min, D.; Boff, J. (2002): Lipid Oxidation of Edible Oil. In: Casimir Akoh und David B. Min (Hg.): *Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, Bd. 117. Hoboken: Marcel Dekker Inc (Food Science and Technology).
- Mukai, K.; Daifuku, K.; Okabe, K.; Tanigaki, T.; Inoue, K. (1991): Structure-activity relationship in the quenching reaction of singlet oxygen by tocopherol (vitamin E) derivatives and related phenols. Finding of linear correlation between the rates of quenching of singlet oxygen and scavenging of peroxy and phenoxy radicals in solution. In: *The Journal of Organic Chemistry* 56 (13), S. 4188–4192. DOI: 10.1021/jo00013a021.
- Niki, E.; Traber, M. G. (2012): A history of vitamin E. In: *Annals of nutrition & metabolism* 61 (3), S. 207–212. DOI: 10.1159/000343106.
- NY, A. S.; RAH, E. D. (2016): Chemical and Nutritional Aspects of Some Safflower Seed Varieties. In: *Journal of Food Processing & Technology* 07 (05). DOI: 10.4172/2157-7110.1000585.
- Oomah, B. D.; Kenaschuk, E. O.; Mazza, G. (1997): Lipxygenase Enzyme in Flaxseed †. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (7), S. 2426–2430. DOI: 10.1021/jf960950x.
- Oomah, B.D.; Busson, M.; Godfrey, D. V.; Drover, J. C.G. (2002): Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. In: *Food Chemistry* 76 (1), S. 33–43. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00245-X.
- Otles, S. (2011): *Methods of Analysis of Food Components and Additives*: CRC Press.
- Parker, T. D.; Adams, D. A.; Zhou, K.; Harris, M.; Yu, L. (2003): Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. In: *Journal of Food Science* 68 (4), S. 1240–1243. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x.

- Peñalvo, J. L.; Haajanen, K. M.; Botting, N.; Adlercreutz, H. (2005): Quantification of lignans in food using isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (24), S. 9342–9347. DOI: 10.1021/jf051488w.
- Perron, N. R.; Brumaghim, J. L. (2009): A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. In: *Cell biochemistry and biophysics* 53 (2), S. 75–100. DOI: 10.1007/s12013-009-9043-x.
- Pietta, P.-G. (2000): Flavonoids as Antioxidants. In: *Journal of Natural Products* 63 (7), S. 1035–1042. DOI: 10.1021/np9904509.
- Pignitter; Somoza (2012): Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils. In: *Journal of Food and Drug Analysis*.
- Pignitter, M.; Dumhart, B.; Gartner, S.; Jirsa, F.; Steiger, G.; Kraemer, K.; Somoza, V. (2014a): Vitamin A is rapidly degraded in retinyl palmitate-fortified soybean oil stored under household conditions. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (30), S. 7559–7566. DOI: 10.1021/jf502109j.
- Pignitter, M.; Hernler, N.; Zaunschirm, M.; Kienesberger, J.; Somoza, M. M.; Kraemer, K.; Somoza, V. (2016): Evaluation of Palm Oil as a Suitable Vegetable Oil for Vitamin A Fortification Programs. In: *Nutrients* 8 (6). DOI: 10.3390/nu8060378.
- Pignitter, M.; Stolze, K.; Gartner, S.; Dumhart, B.; Stoll, C.; Steiger, G. et al. (2014b): Cold fluorescent light as major inducer of lipid oxidation in soybean oil stored at household conditions for eight weeks. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (10), S. 2297–2305. DOI: 10.1021/jf405736j.
- Player, M. E.; Kim, H. J.; Lee, H. O.; Min, D. B. (2006): Stability of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, or  $\gamma$ -Tocopherol during Soybean Oil Oxidation. In: *Journal of Food Science* 71 (8), C456–C460. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2006.00153.x.
- Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. (1996): Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. In: *Free Radical Biology and Medicine* 20 (7), S. 933–956. DOI: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.
- Roman, O.; Heyd, B.; Broyart, B.; Castillo, R.; Maillard, M.-N. (2013): Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils subjected to heat treatment, under controlled conditions. In: *LWT - Food Science and Technology* 52 (1), S. 49–59. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.12.011.
- Ross, C. F.; Hoyer, C.; Fernandez-Plotka, V. C. (2011): Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. In: *Journal of food science* 76 (6), C884–90. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02280.x.
- Savoire, R.; Lanoisellé, J.-L.; Vorobiev, E. (2013): Mechanical Continuous Oil Expression from Oilseeds: A Review. In: *Food and Bioprocess Technology* 6 (1), S. 1–16. DOI: 10.1007/s11947-012-0947-x.
- Schaich, K. M. (2005): Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. In: Fereidoon Shahidi und Alton Edward Bailey (Hg.): *Bailey's industrial oil and fat products*, Bd. 58. 6. ed. New York: Wiley-Interscience, S. 125.

- Setchell, K. D. R.; Brown, N. M.; Zimmer-Nechemias, L.; Wolfe, B.; Jha, P.; Heubi, J. E. (2014): Metabolism of secoisolariciresinol-diglycoside the dietary precursor to the intestinally derived lignan enterolactone in humans. In: *Food & function* 5 (3), S. 491–501. DOI: 10.1039/c3fo60402k.
- Shrestha, K.; Meulenaer, B. de (2014): Effect of seed roasting on canolol, tocopherol, and phospholipid contents, Maillard type reactions, and oxidative stability of mustard and rapeseed oils. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (24), S. 5412–5419. DOI: 10.1021/jf500549t.
- Siger, A.; Józefiak, M. (2016): The effects of roasting and seed moisture on the phenolic compound levels in cold-pressed and hot-pressed rapeseed oil. In: *European Journal of Lipid Science and Technology* 118 (12), S. 1952–1958. DOI: 10.1002/ejlt.201500249.
- Siger, A.; Kaczmarek, A.; Rudzińska, M. (2015): Antioxidant activity and phytochemical content of cold-pressed rapeseed oil obtained from roasted seeds. In: *European Journal of Lipid Science and Technology* 117 (8), S. 1225–1237. DOI: 10.1002/ejlt.201400378.
- Siger, A.; Nogala-kalucka, M.; Lampart-szczapa, E. (2008): The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. In: *Journal of Food Lipids* 15 (2), S. 137–149. DOI: 10.1111/j.1745-4522.2007.00107.x.
- Silva, F. A. M.; Borges, F.; Ferreira, M. A. (2001): Effects of Phenolic Propyl Esters on the Oxidative Stability of Refined Sunflower Oil. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (8), S. 3936–3941. DOI: 10.1021/jf010193p.
- Singh, V. K.; Beattie, L. A.; Seed, T. M. (2013): Vitamin E: tocopherols and tocotrienols as potential radiation countermeasures. In: *Journal of Radiation Research* 54 (6), S. 973–988. DOI: 10.1093/jrr/rrt048.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. (1999): [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: Lester Packer (Hg.): *Oxidants and antioxidants*, Bd. 299. San Diego, Calif.: Acad. Press (Methods in Enzymology, 299), S. 152–178.
- Smeriglio, A.; Galati, E. M.; Monforte, M. T.; Lanuzza, F.; D'Angelo, V.; Circosta, C. (2016): Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of Cannabis sativa L. In: *Phytotherapy research : PTR* 30 (8), S. 1298–1307. DOI: 10.1002/ptr.5623.
- Song, Y. S.; Park, H. J.; Komolprasert, V. (2000): Analytical Procedure for Quantifying Five Compounds Suspected as Possible Contaminants in Recycled Paper/Paperboard for Food Packaging. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (12), S. 5856–5859. DOI: 10.1021/jf000512x.
- Symoniuk, E.; Ratusz, K.; Krygier, K. (2016): Comparison of the oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil by pressure differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. In: *Journal of food science and technology* 53 (11), S. 3986–3995. DOI: 10.1007/s13197-016-2398-2.
- Tawfik, M.S.; Huyghebaert, A. (1999): Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. In: *Food Chemistry* 64 (4), S. 451–459. DOI: 10.1016/S0308-8146(97)00202-1.

- Teh, S.-S.; Bekhit, A. E.-D.; Birch, J. (2014): Antioxidative Polyphenols from Defatted Oilseed Cakes: Effect of Solvents. In: *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 3 (1), S. 67–80. DOI: 10.3390/antiox3010067.
- Teh, S.-S.; Birch, J. (2013): Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils. In: *Journal of Food Composition and Analysis* 30 (1), S. 26–31. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.01.004.
- Tovar, M. J.; Motilva, M. J.; Romero, M. P. (2001): Changes in the Phenolic Composition of Virgin Olive Oil from Young Trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) Grown under Linear Irrigation Strategies. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (11), S. 5502–5508. DOI: 10.1021/jf0102416.
- Traber, M. G. (2014): Vitamin E Inadequacy in Humans: Causes and Consequences. In: *Advances in Nutrition* 5 (5), S. 503–514. DOI: 10.3945/an.114.006254.
- Tsao, R. (2010): Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. In: *Nutrients* 2 (12), S. 1231–1246. DOI: 10.3390/nu2121231.
- van Hoed, V.; Depaemelaere, G.; Ayala, J. V.; Santiwattana, P.; Verhe, R.; Greyt, W. de (2006): Influence of chemical refining on the major and minor components of rice brain oil. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 83 (4), S. 315–321. DOI: 10.1007/s11746-006-1206-y.
- Varshney, R. K. (2012): Technological Innovations in Major World Oil Crops, Volume I: Breeding. Edited by S. K. Gupta. Heidelberg, Germany: Springer (2011), pp. 405, £153.00. ISBN 978-1-4614-0355-5. In: *Experimental Agriculture* 48 (3), S. 470. DOI: 10.1017/S0014479712000361.
- Wan, Y.; Li, H.; Fu, G.; Chen, X.; Chen, F.; Xie, M. (2015): The relationship of antioxidant components and antioxidant activity of sesame seed oil. In: *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95 (13), S. 2571–2578. DOI: 10.1002/jsfa.7035.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R. L. (1996): Total Antioxidant Capacity of Fruits. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (3), S. 701–705. DOI: 10.1021/jf950579y.
- Wang, T.; Hammond, E. G. (2010): 5 - Lipoxygenase and lipid oxidation in foods. In: David Julian McClements, Eric Decker und Ryan J. Elias (Hg.): *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications*. Volume 1: Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity. Oxford, Philadelphia: Woodhead Pub (Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition, no. 199), S. 105–121. Online verfügbar unter <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845696481500058>.
- Wang, Y.-J.; Miller, L. A.; Addis, P. B. (1991): Effect of heat inactivation of lipoxygenase on lipid oxidation in lake herring (*coregonus artedii*). In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68 (10), S. 752–757. DOI: 10.1007/BF02662166.
- Wheeler, D. H. (1932): Peroxide formation as a measure of autoxidative deterioration. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 9 (4), S. 89–97. DOI: 10.1007/BF02553782.
- Wong Paz, J. E.; Muñiz Márquez, D. B.; Martínez Ávila, G. C. G.; Belmares Cerda, R. E.; Aguilar, C. N. (2015): Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert. In: *Ultrasonics sonochemistry* 22, S. 474–481. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.06.001.

Wroniak, M.; Rękas, A. (2015): Nutritional value of cold-pressed rapeseed oil during long term storage as influenced by the type of packaging material, exposure to light & oxygen and storage temperature. In: *Journal of food science and technology* 53 (2), S. 1338–1347. DOI: 10.1007/s13197-015-2082-y.

Wu, J.; Lin, L.; Chau, F. T. (2001): Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. In: *Ultrasonics sonochemistry* 8 (4), S. 347–352.

Yoon, S. H.; Kim, S. K. (1994): Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. In: *Journal of the American Oil Chemists' Society* 71 (2), S. 227–229. DOI: 10.1007/BF02541562.

Yu, L. L.; Zhou, K. K.; Parry, J. (2005): Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. In: *Food Chemistry* 91 (4), S. 723–729. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.06.044.

Zhang, J.; Chen, J.; Liang, Z.; Zhao, C. (2014): New Lignans and Their Biological Activities. In: *Chemistry & Biodiversity* 11 (1), S. 1–54. DOI: 10.1002/cbdv.201100433.

Zhang, Z.-S.; Wang, L.-J.; Li, D.; Li, S.-J.; Özkan, N. (2011): Characteristics of Flaxseed Oil from Two Different Flax Plants. In: *International Journal of Food Properties* 14 (6), S. 1286–1296. DOI: 10.1080/10942911003650296.

## 9 Anhang

Tabelle 7: Polyphenolgehalt in optimierten Proben und Röstproben

|                  |      | Polyphenolgehalt<br>(mg GAE/100g Öl) |        |       | Polyphenolgehalt<br>(mg GAE/100g Saat) |        |  |
|------------------|------|--------------------------------------|--------|-------|----------------------------------------|--------|--|
|                  |      | Öl                                   |        |       | Presskuchen                            |        |  |
| Sorte            | MW   | SD                                   | VK (%) | MW    | SD                                     | VK (%) |  |
| LEO 173-B        | 0,3  | 0,01                                 | 3,8    | 472,3 | 17,9                                   | 3,8    |  |
| LEO 173-B N2     | 0,4  | 0,01                                 | 3,2    | 470,6 | 12,7                                   | 2,7    |  |
| DIO 170-B        | 1,01 | 0,1                                  | 7,5    | 545,6 | 11,8                                   | 2,2    |  |
| DIO 170-B N2     | 0,83 | 0,04                                 | 4,7    | 598,4 | 28,9                                   | 4,8    |  |
| HAO 172-B        | 0,53 | 0,05                                 | 10,3   | 327,7 | 22,6                                   | 6,9    |  |
| HAO 172-B N2     | 0,96 | 0,01                                 | 1,1    | 344,1 | 8,7                                    | 2,5    |  |
| LEO 2 Min 60°C   | 0,35 | 0,07                                 | 19,2   | 482,1 | 2,0                                    | 0,4    |  |
| LEO 5 Min 60°C   | 0,22 | 0,00                                 | 1,3    | 515,6 | 1,7                                    | 0,3    |  |
| LEO 10 Min 60°C  | 0,24 | 0,00                                 | 1,1    | 449,1 | 3,7                                    | 0,8    |  |
| LEO 2 Min 100°C  | 0,24 | 0,00                                 | 1,7    | 456,5 | 20,0                                   | 4,4    |  |
| LEO 5 Min 100°C  | 0,24 | 0,00                                 | 1,8    | 489,0 | 11,4                                   | 2,3    |  |
| LEO 10 Min 100°C | 0,20 | 0,00                                 | 0,81   | 459,8 | 5,0                                    | 1,1    |  |
| LEO 2 Min 140°C  | 0,18 | 0,00                                 | 1,2    | 438,1 | 4,0                                    | 0,9    |  |
| LEO 5 Min 140°C  | 0,16 | 0,01                                 | 7,10   | 518,3 | 5,9                                    | 1,2    |  |
| LEO 10 Min 140°C | 0,18 | 0,00                                 | 0,47   | 479,2 | 7,0                                    | 1,5    |  |
| LEO 2 Min 180°C  | 0,13 | 0,01                                 | 5,24   | 429,8 | 8,1                                    | 1,9    |  |
| LEO 5 Min 180°C  | 0,12 | 0,00                                 | 1,5    | 447,1 | 11,6                                   | 2,6    |  |
| LEO 10 Min 180°C | 0,16 | 0,01                                 | 8,1    | 453,6 | 9,9                                    | 2,2    |  |

Tabelle 8:  $\alpha$ -Tocopherolgehalt in optimierten Proben und Röstproben

| Sorte            | $\alpha$ -Tocopherol ( $\mu\text{g/mL}$ ÖL) |      |        |             |       |        |
|------------------|---------------------------------------------|------|--------|-------------|-------|--------|
|                  | Öl                                          |      |        | Presskuchen |       |        |
|                  | MW                                          | SD   | VK (%) | MW          | SD    | VK (%) |
| LEO 173-B        | 102,0                                       | 4,9  | 4,8    | 96,3        | 1,5   | 1,6    |
| LEO 173-B N2     | 97,72                                       | 0,56 | 0,58   | 129,9       | 16,2  | 12,5   |
| DIO 170-B        | 2119,4                                      | 11,6 | 0,6    | 3163,41     | 55,34 | 1,75   |
| DIO 170-B N2     | 2088,6                                      | 5,8  | 0,3    | 4326,92     | 71,00 | 1,64   |
| HAO 172-B        | 260,0                                       | 2,6  | 1,0    | 186,99      | 2,39  | 1,28   |
| HAO 172-B N2     | 343,3                                       | 5,3  | 1,6    | 244,96      | 3,72  | 1,52   |
| LEO 2 Min 60°C   | 93,2                                        | 1,91 | 2,1    | 110,1       | 3,8   | 3,4    |
| LEO 5 Min 60°C   | 95,0                                        | 0,62 | 0,66   | 119,3       | 6,6   | 5,5    |
| LEO 10 Min 60°C  | 94,8                                        | 1,07 | 1,1    | 125,3       | 2,4   | 1,92   |
| LEO 2 Min 100°C  | 101,8                                       | 1,5  | 1,4    | 125,0       | 4,7   | 3,8    |
| LEO 5 Min 100°C  | 104,1                                       | 1,8  | 1,7    | 116,6       | 12,7  | 10,9   |
| LEO 10 Min 100°C | 103,2                                       | 1,2  | 1,2    | 107,1       | 2,6   | 2,4    |
| LEO 2 Min 140°C  | 98,1                                        | 3,3  | 3,3    | 116,2       | 28,9  | 24,8   |
| LEO 5 Min 140°C  | 93,2                                        | 1,50 | 1,6    | 118,0       | 2,5   | 2,1    |
| LEO 10 Min 140°C | 96,7                                        | 3,2  | 3,3    | 103,0       | 1,0   | 0,99   |
| LEO 2 Min 180°C  | 97,0                                        | 2,2  | 2,3    | 105,5       | 4,5   | 4,2    |
| LEO 5 Min 180°C  | 94,6                                        | 3,5  | 3,     | 108,4       | 1,8   | 1,7    |
| LEO 10 Min 180°C | 95,7                                        | 1,6  | 1,7    | 105,3       | 4,3   | 4,1    |

Tabelle 9:  $\gamma$ -Tocopherolgehalt in optimierten Proben und Röstproben

| Sorte            | $\gamma$ -Tocopherol ( $\mu\text{g/ml}$ ÖL) |      |        |             |      |        |
|------------------|---------------------------------------------|------|--------|-------------|------|--------|
|                  | Öl                                          |      |        | Presskuchen |      |        |
|                  | MW                                          | SD   | VK (%) | MW          | SD   | VK (%) |
| LEO 173-B        | 563,3                                       | 2,3  | 0,4    | 219,2       | 15,8 | 7,2    |
| LEO 173-B N2     | 580,8                                       | 1,9  | 0,3    | 386,6       | 10,1 | 2,6    |
| DIO 170-B        | 125,94                                      | 2,35 | 1,9    | 172,11      | 0,26 | 0,15   |
| DIO 170-B N2     | 126,0                                       | 1,8  | 1,4    | 165,20      | 3,30 | 2,00   |
| HAO 172-B        | 1115,7                                      | 9,3  | 0,8    | 592,12      | 7,72 | 1,30   |
| HAO 172-B N2     | 1165,9                                      | 16,4 | 1,4    | 580,00      | 1,94 | 0,34   |
| LEO 2 Min 60°C   | 524,6                                       | 12,1 | 2,3    | 319,6       | 5,1  | 1,6    |
| LEO 5 Min 60°C   | 518,3                                       | 8,9  | 1,7    | 307,4       | 14,7 | 4,8    |
| LEO 10 Min 60°C  | 519,7                                       | 7,0  | 1,4    | 295,9       | 7,7  | 2,6    |
| LEO 2 Min 100°C  | 563,7                                       | 9,1  | 1,6    | 338,7       | 3,8  | 1,1    |
| LEO 5 Min 100°C  | 564,8                                       | 3,4  | 0,6    | 352,4       | 4,9  | 1,4    |
| LEO 10 Min 100°C | 561,9                                       | 9,2  | 1,6    | 347,4       | 5,4  | 1,6    |
| LEO 2 Min 140°C  | 570,5                                       | 4,5  | 0,8    | 333,5       | 20,4 | 6,1    |
| LEO 5 Min 140°C  | 567,1                                       | 17,2 | 3,0    | 332,8       | 16,9 | 5,1    |
| LEO 10 Min 140°C | 562,5                                       | 5,6  | 0,99   | 231,8       | 2,8  | 1,2    |
| LEO 2 Min 180°C  | 537,1                                       | 1,8  | 0,34   | 306,6       | 9,3  | 3,0    |
| LEO 5 Min 180°C  | 557,1                                       | 6,5  | 1,2    | 353,9       | 4,1  | 1,2    |
| LEO 10 Min 180°C | 562,5                                       | 5,6  | 0,99   | 341,8       | 13,8 | 4,0    |

Tabelle 10: Peroxidzahl der optimierten Proben und Röstproben

| Peroxidzahl (meq O <sub>2</sub> /kg Öl) |      |        |        |      |             |        |
|-----------------------------------------|------|--------|--------|------|-------------|--------|
| Sorte                                   | MW   | Öl     |        | MW   | Presskuchen |        |
|                                         |      | SD     | VK (%) |      | SD          | VK (%) |
| LEO 173-B                               | 1,8  | 0,012  | 0,7    | 0,79 | 0           | 0      |
| LEO 173-B N <sub>2</sub>                | 2,0  | 0,19   | 9,7    | 0,79 | 0,0078      | 0,99   |
| DIO 170-B                               | 1,6  | 0,0045 | 0,3    | 5,8  | 0,99        | 17,0   |
| DIO 170-B N <sub>2</sub>                | 1,5  | 0,31   | 20,2   | 2,0  | 0,028       | 1,4    |
| HAO 172-B                               | 4,0  | 0      | 0      | 2,4  | 0,020       | 0,84   |
| HAO 172-B N <sub>2</sub>                | 3,2  | 0,0045 | 0,14   | 0,80 | 0,0024      | 0,30   |
| LEO 2 Min 60°C                          | 4,0  | 0,0056 | 0,14   | 0,8  | 0           | 0      |
| LEO 5 Min 60°C                          | 4,0  | 0      | 0      | 0,8  | 0           | 0      |
| LEO 10 Min 60°C                         | 4,0  | 0,0056 | 0,14   | 0,8  | 0           | 0      |
| LEO 2 Min 100°C                         | 0,80 | 0,0011 | 0,14   | 0,80 | 0,0023      | 0,28   |
| LEO 5 Min 100°C                         | 0,80 | 0      | 0      | 0,80 | 0,0022      | 0,28   |
| LEO 10 Min 100°C                        | 0,80 | 0      | 0      | 0,80 | 0,0024      | 0,31   |
| LEO 2 Min 140°C                         | 0,8  | 0      | 0      | 0,80 | 0           | 0      |
| LEO 5 Min 140°C                         | 0,80 | 0      | 0      | 0,8  | 0           | 0      |
| LEO 10 Min 140°C                        | 0,8  | 0      | 0      | 0,80 | 0           | 0      |
| LEO 2 Min 180°C                         | 0,8  | 0      | 0      | 0,80 | 0,0011      | 0,14   |
| LEO 5 Min 180°C                         | 0,8  | 0      | 0      | 0,8  | 0           | 0      |
| LEO 10 Min 180°C                        | 0,8  | 0      | 0      | 0,8  | 0           | 0      |

Tabelle 11: Polyphenolgehalt der unterschiedlichen Extraktionsbedingungen

| Extraktion mit Öl                  |       |      |        |
|------------------------------------|-------|------|--------|
| Polyphenolgehalt (mg GAE/100 g Öl) |       |      |        |
| Extraktionsmethode                 | MW    | SD   | VK (%) |
| 30 ml 60 min                       | 37,1  | 0,23 | 0,62   |
| 30 ml 30 min                       | 36,5  | 0,13 | 0,36   |
| 30 ml 5 min                        | 16,0  | 1,5  | 9,4    |
| 30ml 15 min                        | 19,0  | 2,4  | 12,5   |
| 30 ml 240 min                      | 30,8  | 0,4  | 1,2    |
| 75 ml 60min                        | 21,3  | 0,9  | 4,1    |
| 150 ml 60min                       | 10,5  | 0,85 | 8,1    |
| Ultraschall 1 min                  | 11,5  | 2,0  | 17,1   |
| Ultraschall 10 min                 | 10,8  | 0,4  | 3,5    |
| Ultraschall 30 min                 | 10,1  | 0,09 | 0,85   |
| LEO 213-B 062                      | 5,2   | 0,03 | 0,60   |
| LEO 213-B 072                      | 6,4   | 0,15 | 2,3    |
| 1 Extraktion                       | 36,5  | 0,13 | 0,36   |
| 2 Extraktion                       | 38,4  | 2,1  | 5,5    |
| 3 Extraktion                       | 19,95 | 0,81 | 4,0    |
| 4 Extraktion                       | 11,7  | 0,40 | 3,4    |
| 5 Extraktion                       | 10,0  | 0,02 | 0,18   |
| 1 Extraktion (Argon)               | 33,0  | 3,6  | 11,0   |
| 2 Extraktion (Argon)               | 11,0  | 1,05 | 9,6    |
| 3 Extraktion (Argon)               | 22,3  | 0,11 | 0,51   |
| 4 Extraktion (Argon)               | 19,0  | 0,19 | 0,99   |
| 5 Extraktion (Argon)               | 16,8  | 0,42 | 2,5    |

Tabelle 12: Tocopherolgehalt der unterschiedlichen Extraktionsbedingungen

| Extraktionsmethode   | Extraktion mit Öl                           |     |        |                                             |      |        |
|----------------------|---------------------------------------------|-----|--------|---------------------------------------------|------|--------|
|                      | $\alpha$ -Tocopherol ( $\mu\text{g/mL}$ Öl) |     |        | $\gamma$ -Tocopherol ( $\mu\text{g/mL}$ Öl) |      |        |
|                      | MW                                          | SD  | VK (%) | MW                                          | SD   | VK (%) |
| 30 ml 60 min         | 80,9                                        | 3,4 | 4,2    | 633,9                                       | 22,1 | 3,5    |
| 30 ml 30 min         | 89,8                                        | 3,8 | 4,2    | 580,7                                       | 13,5 | 2,3    |
| 30 ml 5 min          | 81,6                                        | 5,3 | 6,5    | 574,2                                       | 8,5  | 1,5    |
| 30ml 15 min          | 82,6                                        | 4,5 | 5,4    | 590,5                                       | 2,8  | 0,47   |
| 30 ml 240 min        | 87,2                                        | 4,1 | 4,7    | 571,8                                       | 4,4  | 0,77   |
| 75 ml 60min          | 77,7                                        | 7,0 | 9,0    | 568,3                                       | 7,0  | 1,2    |
| 150 ml 60min         | 87,0                                        | 1,8 | 2,0    | 575,1                                       | 5,6  | 0,97   |
| Ultraschall 1 min    | 84,6                                        | 2,5 | 2,9    | 559,1                                       | 11,8 | 2,1    |
| Ultraschall 10 min   | 96,6                                        | 3,9 | 4,1    | 621,1                                       | 9,3  | 1,5    |
| Ultraschall 30 min   | 88,4                                        | 2,3 | 2,6    | 555,8                                       | 7,1  | 1,3    |
| LEO 213-B 062        | 79,8                                        | 6,2 | 7,7    | 609,4                                       | 6,2  | 1,0    |
| LEO 213-B 072        | 82,4                                        | 2,0 | 2,4    | 583,8                                       | 5,9  | 1,0    |
| 1 Extraktion         | 90,6                                        | 2,6 | 2,9    | 562,9                                       | 1,7  | 0,31   |
| 2 Extraktion         | 95,9                                        | 1,5 | 1,5    | 565,2                                       | 13,8 | 2,5    |
| 3 Extraktion         | 86,0                                        | 0,7 | 0,8    | 571,6                                       | 7,8  | 1,4    |
| 4 Extraktion         | 87,7                                        | 1,4 | 1,6    | 557,1                                       | 4,1  | 0,7    |
| 5 Extraktion         | 89,9                                        | 1,5 | 1,6    | 551,2                                       | 4,4  | 0,8    |
| 1 Extraktion (Argon) | 95,0                                        | 2,4 | 2,5    | 532,9                                       | 4,8  | 0,9    |
| 2 Extraktion (Argon) | 89,3                                        | 2,9 | 3,3    | 544,4                                       | 6,0  | 1,1    |
| 3 Extraktion (Argon) | 89,5                                        | 1,4 | 1,5    | 535,1                                       | 6,4  | 1,2    |
| 4 Extraktion (Argon) | 88,3                                        | 2,6 | 2,9    | 533,5                                       | 11,5 | 2,2    |
| 5 Extraktion (Argon) | 87,2                                        | 1,0 | 1,2    | 549,5                                       | 2,7  | 0,48   |

### **EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG**

Ich erkläre eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet und alle aus ungedruckten Quellen, gedruckter Literatur oder aus dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen und Konzepte gemäß den Richtlinien wissenschaftlicher Arbeiten mit genauer Quellenangabe zitiert.

Wien, August 2019