



# MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren  
Bereich und Luftsauerstoff auf den oxidativen Status  
und die Vitamin A-Stabilität in Speiseöl

Verfasserin

Christiane Stoll, Bakk. rer.nat.

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

Univ.-Prof. Mag. Dr. Veronika Somoza



# Danksagung

---

Ich möchte mich bei Frau Univ.-Prof. Mag. Dr. Veronika Somoza bedanken, dass Sie mir mein Masterarbeitsthema zur Verfügung gestellt hat und mir die Möglichkeit gegeben hat, meine Masterarbeit am Institut für Ernährungsphysiologie und physiologischer Chemie durchzuführen. Auch möchte ich Herrn Dr. Marc Pignitter ein herzliches Dankeschön aussprechen, dass er mich während meiner langen Zeit im Labor und auch beim Schreiben mit Rat und Tat unterstützt hat. Die Durchführung der ESR-Messungen war dank des kompetenten Fachwissens und der Unterstützung von Univ.-Prof. Dr.rer.nat. Klaus Stolze und Dr. Pignitter möglich, wofür ich mich sehr bedanken möchte. Ohne Unterstützung meiner Arbeitskollegen des Instituts für Ernährungsphysiologie und physiologischer Chemie und meiner Praktikanten wäre das erfolgreiche Abschließen dieses umfangreichen Masterarbeitprojektes nicht möglich gewesen. Deshalb danke ich euch für die Zeit, den Einsatz und die vielen lieben positiven Worte, die ihr für mich gefunden habt.

Ein besonderer Dank gilt Bianca, Christina, Karin, Nina und Sandra, die mich durch die Höhen und Tiefen des ganzen Studiums begleitet haben und gute Freundinnen geworden sind. Bei Lisi konnte ich darauf vertrauen, dass sie immer ein offenes Ohr hatte, wofür ich mich bedanken möchte. Julia, dir möchte ich Danke sagen, dass du mir gelehrt hast, was die wesentlichen Dinge des Lebens sind und, dass ich mit Ehrgeiz und Zielstrebigkeit viel erreichen kann, aber Lebensfreude und Gesundheit immer das Wichtigste bleiben sollen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir durch ihre finanzielle Unterstützung mein Studium überhaupt erst ermöglicht haben. Sie und meine Geschwister Katharina und David waren während des Studiums und der Masterarbeit immer für mich da, wofür ich mich herzlichst bedanken möchte.



## Inhalt

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>2</b>
2.1	Lipidoxidation .....	2
2.1.1	Autooxidation.....	2
2.1.1.1	Initiation.....	3
2.1.1.2	Propagation und Branching .....	4
2.1.1.3	Termination .....	5
2.1.1.3.1	Spaltung von Alkoxyradikalen .....	5
2.1.1.3.2	Kooxidation .....	6
2.1.1.3.3	Gruppenelimination .....	6
2.1.2	Photooxidation.....	6
2.2	Primäre und sekundäre Oxidationsprodukte.....	8
2.2.1	Primäre Oxidationsprodukte .....	8
2.2.2	Sekundäre Oxidationsprodukte.....	9
2.2.3	Einflussfaktoren der Lipidoxidation .....	11
2.2.3.1	Fettsäurezusammensetzung .....	11
2.2.3.2	Licht .....	12
2.2.3.2.1	UV-Licht .....	12
2.2.3.2.2	Sichtbares Licht.....	12
2.2.3.3	Sauerstoff.....	12
2.3	Bedeutung von Sojaöl und Palmöl als Speiseöle .....	13
2.3.1	Sojaöl .....	13
2.3.2	Palmöl .....	14
2.4	Vitamin A .....	15
2.4.1	Chemie und Struktur von Vitamin A.....	15
2.4.2	Vorkommen von Vitamin A .....	16
2.4.3	Biologische Funktion von Vitamin A.....	16
2.4.4	Vitamin A-Zufuhrempfehlungen der WHO/FAO .....	16
2.4.5	Vitamin A-Mangel .....	17
2.4.6	Vitamin A-Anreicherung.....	18
2.5	Tocopherole.....	20

2.5.1	Struktur der Tocopherole .....	20
2.5.2	Vorkommen von Tocopherolen .....	20
2.5.3	Antioxidative Funktion und Wirksamkeit von Tocopherolen .....	21
<b>3</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>25</b>
4.1	Verwendete Materialien und Geräte .....	25
4.2	Methoden .....	27
4.2.1	Durchführung und Studiendesign .....	27
4.2.2	Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in PBN-angereicherten Flaschen ..	29
4.2.3	Anreicherung mit Retinylpalmitat .....	30
4.2.4	Probenahme und Analysetage .....	30
4.2.5	Titrimetrische Bestimmung der Peroxidzahl .....	31
4.2.5.1	Definition .....	31
4.2.5.2	Prinzip der Methode .....	31
4.2.5.3	Durchführung .....	31
4.2.5.4	Auswertung .....	32
4.2.6	Bestimmung konjugierter Diene mit Photometer .....	32
4.2.6.1	Prinzip der Methode .....	32
4.2.6.2	Durchführung .....	32
4.2.6.3	Auswertung .....	33
4.2.7	Elektronenspinresonanz-Spektroskopie zur Bestimmung freier Radikale ...	33
4.2.7.1	Allgemeines zu ESR .....	33
4.2.7.2	ESR-Bedingungen für die Studie .....	35
4.2.8	Bestimmung von Retinol in Sojaöl .....	36
4.2.8.1	Prinzip der Methode .....	36
4.2.8.2	Durchführung .....	36
4.2.8.3	Auswertung .....	38
4.2.9	Bestimmung der Tocopherole in Sojaöl .....	39
4.2.9.1	Prinzip der Methode .....	39
4.2.9.2	Durchführung .....	40
4.2.9.3	Auswertung .....	41
4.3	Statistische Analyse .....	43

---

<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>45</b>
5.1	Einfluss von Bestrahlung auf den oxidativen Status von Speiseöl bei konstantem Kopfvolumen .....	45
5.1.1	Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Palmöl .....	45
5.1.2	Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Sojaöl .....	47
5.2	Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich und Luftsauerstoff auf den oxidativen Status in Speiseöl bei ansteigendem Kopfvolumen ..	49
5.2.1	Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierten Diene in Palmöl .....	50
5.2.2	Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Sojaöl .....	52
5.2.3	Korrelationsanalyse: Peroxidzahl und konjugierte Diene .....	54
5.2.4	Bestimmung freier Radikale in Speiseöl mittels ESR .....	55
5.2.5	Korrelation von Intensität des PBN-Adduktes und Luftsauerstoff .....	56
5.3	Retinol und Tocopherole in Sojaöl.....	57
5.3.1	Einfluss des oxidativen Status auf den Retinolgehalt in Sojaöl .....	57
5.3.2	Einfluss des oxidativen Status auf den Tocopherolgehalt in Sojaöl.....	58
5.3.2.1	Korrelation von Retinol mit Peroxidzahl und konjugierten Dienen in Sojaöl abgefüllt in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen .....	59
5.3.2.2	Korrelation des Gesamtocopherolgehaltes mit konjugierten Dienen und Peroxidzahl in Sojaöl abgefüllt in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen .....	60
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>61</b>
6.1	Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich auf den oxidativen Status von Speiseöl.....	61
6.2	Einfluss von Luftsauerstoff und Bestrahlung mit Licht im sichtbarem Bereich auf den oxidativen Status von Speiseöl .....	68
6.3	Stabilität von Vitamin A in Sojaöl.....	75
6.4	Einfluss der Lipidoxidation auf den Tocopherolgehalt in Sojaöl .....	78
<b>7</b>	<b>Schlussbetrachtung</b>	<b>82</b>
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>86</b>
<b>9</b>	<b>Abstract</b>	<b>87</b>

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Empfohlene Zufuhr von Vitamin A .....	17
Tabelle 2: Messtage und Sauerstoffvolumen von Palm- und Sojaöl aus Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen.....	29
Tabelle 3: Bedingungen für die Messung mit ESR .....	35
Tabelle 4: Bedingungen der HPLC-Anlage für die Bestimmung von Retinol.....	37
Tabelle 5: Bedingungen der HPLC für die Bestimmung der Tocopherole.....	40
Tabelle 6: Gehalt an $\alpha$ -, $\gamma$ -, $\delta$ -Tocopherol und Gesamttocopherolen in Sojaöl.....	59
Tabelle 7: Peroxidzahl von Olivenöl in klaren PET-Flaschen, PET-Flaschen mit UV-Blocker und PET-Flaschen mit Aluminiumfolie.....	62
Tabelle 8: Peroxidzahl und Luftsauerstoffaufnahme von Sojaöl .....	64
Tabelle 9: Peroxidzahl von dunkel gelagertem Sonnenblumen- und Palmöl .....	66

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Elektronenkonfiguration von $^3\text{O}_2$ .....	3
Abbildung 2: Schematischer Ablauf einer Radikalkettenreaktion der Autooxidation ....	3
Abbildung 3: Energieaufwand zur Entfernung eines allylischen Wasserstoffes .....	4
Abbildung 4: Elektronenkonfiguration von Sauerstoff im Grundzustand und Singulettzustand .....	6
Abbildung 5: Haber-Weiss-Reaktion .....	7
Abbildung 6: Oxidative Bildung der beiden unterschiedlichen Formen von konjugierten Dienen .....	9
Abbildung 7: Sekundäre Abbauprodukte aus Hydroperoxiden .....	10
Abbildung 8: Struktur von Retinol .....	15
Abbildung 9: Struktur von Retinylpalmitat .....	19
Abbildung 10: Struktur der Tocopherol (RRR)-Isomere.....	20
Abbildung 11: Antioxidative Wirkung von $\alpha$ -Tocopherol .....	21
Abbildung 12: Antioxidative Wirkung von $\gamma$ -Tocopherol.....	22
Abbildung 13: Lagerung der Sojaölf Flaschen und Palmölf Flaschen .....	27
Abbildung 14: Studiendesign zur Bestimmung des oxidativen Status in Palm- und Sojaöl .....	28
Abbildung 15: Analysetage zur Bestimmung von Peroxidzahl, konjugierte Diene und PBN-Addukt in Palm- und Sojaöl, für Retinol und Tocopherole von Sojaöl.....	31
Abbildung 16: Repräsentatives ESR-Spektrum von bestrahltem Palmöl .....	36
Abbildung 17: Repräsentatives Chromatogramm von Retinol in bestrahltem Sojaöl ...	38
Abbildung 18: Kalibriergerade von Retinol .....	38
Abbildung 19: Repräsentatives Chromatogramm von Tocol und der einzelnen Tocopherole.....	40
Abbildung 20: Kalibriergeraden für die Tocopherole alpha, gamma und delta.....	41
Abbildung 21: Peroxidzahl von bestrahltem und dunkel gelagertem Palmöl ohne und mit RP .....	46
Abbildung 22: Konjugierten Diene von bestrahltem und dunkel gelagertem Palmöl ohne und mit RP, Vergleich von Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen Kontrolle .....	47

Abbildung 23: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von bestrahltem und dunkel gelagertem Sojaöl ohne und mit RP, Vergleich von bestrahltem Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen dunkelgelagerten Kontrolle .....	48
Abbildung 24: Konjugierten Diene von bestrahltem und dunkel gelagertem Sojaöl ohne und mit RP, Vergleich von Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen Kontrolle .....	49
Abbildung 25: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von mit Licht im sichtbarem Bereich bestrahltem Palmöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 42.....	50
Abbildung 26: Peroxidzahl von mit Licht im sichtbaren Bereich bestrahltem Palmöl, Darstellung als $\Delta$ AUC.....	51
Abbildung 27: Prozentualer Anstieg der konjugierten Diene von bestrahltem Palmöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 42, Darstellung als $\Delta$ AUC.....	51
Abbildung 28: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von mit Licht im sichtbaren Bereich bestrahltem Sojaöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 21 .....	52
Abbildung 29: Peroxidzahl von Sojaöl bei konstantem Kopfvolumen (mit und ohne RP) und ansteigendem Kopfvolumen .....	53
Abbildung 30: Prozentualer Anstieg der konjugierten Diene von mit Licht im sichtbaren Bereich bestrahltem Sojaöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen .....	53
Abbildung 31: Konjugierte Diene von Sojaöl bei konstantem Kopfvolumen (mit und ohne RP) und ansteigendem Kopfvolumen .....	54
Abbildung 32: Korrelationsanalyse mit den Parametern Peroxidzahl und konjugierte Diene von bestrahltem Sojaöl und Palmöl mit ansteigendem Kopfvolumen .....	55
Abbildung 33: Intensität des PBN-Adduktes für Sojaöl und Palmöl .....	56
Abbildung 34: Korrelationsanalyse mit den Parametern Luftsauerstoffgehalt und Intensität des PBN-Adduktes für Sojaöl und Palmöl .....	57
Abbildung 35: Retinolgehalt [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] in bestrahltem Sojaöl an Tag 21, 49 und 70 .....	58
Abbildung 36: Gehalt an $\alpha$ -, $\gamma$ -, $\delta$ -Tocopherol [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] in Sojaöl .....	59
Abbildung 37: Korrelationsanalyse mit den Parametern Gesamttocopherolgehalt und Peroxidzahl, Gesamttocopherolgehalt und konjugierte Diene.....	60
.....	

## Akürzungsverzeichnis

Abb.	<u>Ab</u> bildung
a.u.	Amplitudeneinheiten ( <u>a</u> mplitude <u>u</u> nits)
AUC	Fläche unter der Kurve ( <u>A</u> rea <u>u</u> nder the <u>c</u> urve)
°C	Grad Celcius
DAD	<u>D</u> ioden <u>a</u> r <u>r</u> ay <u>d</u> etektor
bidest.	<u>b</u> idestilliert
ESR	<u>E</u> lektronen <u>s</u> pin <u>r</u> esonanz
FAO	<u>F</u> ood and <u>A</u> griculture <u>O</u> rganization
G	<u>G</u> auss
GHz	<u>G</u> igahertz
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ( <u>H</u> igh <u>P</u> erformance <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography)
I.E.	<u>I</u> nternationale <u>E</u> inheiten
kHz	<u>K</u> ilo <u>h</u> ertz
kJ	<u>K</u> ilojoule
M	<u>M</u> olarität
mAU*min	Fläche unter dem Signal ( <u>m</u> illi <u>a</u> bsorbance <u>u</u> nits pro <u>M</u> inute)
mÄq	<u>m</u> illi <u>Ä</u> quivalent
mW	<u>m</u> illi <u>W</u> att
MW	<u>M</u> ittel <u>w</u> ert
n	Stichprobenumfang, biologische Replikate
N	<u>N</u> ormalität
nm	<u>N</u> anome <u>t</u> er
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie ( <u>N</u> uclear <u>M</u> agnetic <u>R</u> esonance)
p-Anisidinwert	<u>p</u> ara-Anisidinwert
PET	<u>P</u> olyethylen <u>t</u> erephthalat
PBN	$\alpha$ - <u>P</u> henyl- <u>t</u> ert- <u>B</u> utylnitron
ppm	<u>p</u> arts <u>p</u> er <u>m</u> illion
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure ( <u>P</u> oly <u>U</u> nsaturated <u>F</u> atty <u>A</u> cid)
RE	Retinoläquivalente ( <u>R</u> etinol <u>E</u> quivalents)
RP	<u>R</u> etiny <u>l</u> palmitat
RP	Umkehrphase ( <u>R</u> eversed <u>p</u> hase)

SEM	Standardfehler des Mittelwerts ( <u>S</u> tandard <u>E</u> rror of the <u>M</u> ean)
SD	Standardabweichung ( <u>S</u> tandard <u>D</u> eviation)
TBA	Thiobarbitursäuretest ( <u>t</u> hiob <u>a</u> rbituric <u>a</u> cid)
TEMPO	(2,2,6,6- <u>T</u> etram <u>e</u> thylpiperidin-1-yl) <u>o</u> xyl
USAID	<u>U</u> nited <u>S</u> tates <u>A</u> gency for <u>I</u> nternational <u>D</u> evelopment
UV	<u>u</u> ltraviolett
WHO	<u>W</u> orld <u>H</u> ealth <u>O</u> rganization
WHO-EMRO	<u>W</u> orld <u>H</u> ealth <u>O</u> rganization <u>E</u> astern <u>M</u> editerranean <u>R</u> egional <u>O</u> ffice
z.B.	zum <u>B</u> eispiel





## 1 EINLEITUNG

Vitamin A-Mangel ist weltweit die häufigste Ursache für Erblindung, Morbidität und Mortalität von Kindern in Entwicklungsländern [Bagriansky und Ranum, 1998; WHO, 2009]. Global leiden 33,3 % der Kinder unter fünf Jahren und 15,3 % der schwangeren Frauen an einem Vitamin A-Mangel. Am höchsten ist die Prävalenz bei Kindern in Afrika mit 44,4 % und in Südost-Asien mit 49,9 % [WHO, 2009].

Durch eine ausreichende Versorgung mit Vitamin A kann das Kindersterblichkeitsrisiko um 23 % reduziert werden [USAID's Vitamin A Program, 1998]. Zur Bekämpfung des Mangels werden Speiseöle zur Anreicherung von Vitamin A eingesetzt, weil es darin besonders stabil ist [Allen et al., 2006; Bagriansky und Ranum, 1998; Loveday und Singh, 2008; WHO, 2009]. Werden Öle mit unterschiedlichem Fortschritt der Lipidoxidation mit Retinylpalmitat angereichert, so zeigt sich bei Ölen mit höheren Peroxidzahlen eine geringere Stabilität von Retinylpalmitat als bei niedrigen Peroxidzahlen [Laillou et al., 2012a]. Die Qualität des Öles beeinflusst somit die Stabilität des angereicherten Vitamin A und ist deshalb ein entscheidendes Kriterium für die Wirksamkeit der Anreicherung [Bagriansky und Ranum, 1998; Laillou et al., 2012a]. Es ist bekannt, dass sich Fettsäurezusammensetzung, erhöhte Temperaturen, Luftsauerstoff und Licht auf die oxidative Stabilität eines Speiseöls und damit auf dessen Qualität auswirken [Pignitter und Somoza, 2012a; Schaich et al, 2013].

Es wäre jedoch interessant zu wissen, inwieweit die Fettsäurezusammensetzung tatsächlich den oxidativen Status verschiedener Speiseöle beeinflusst? Wie wirken sich die direkte Bestrahlung mit Sonnenlicht und der Einfluss von Luftsauerstoff auf die Stabilität eines Öles über einen Zeitraum von mehreren Wochen oder Monaten aus? Wie stabil sind die im Öl enthaltenen antioxidativ wirksamen Tocopherole und angereichertes Retinylpalmitat?

Um den oxidativen Status eines Öles zu bestimmen, eignen sich die titrimetrische Bestimmung der Peroxidzahl und die spektrophotometrische Messung der konjugierten Diene. Zur quantitativen Erfassung der Tocopherole und Vitamin A werden Flüssigchromatographie-Verfahren eingesetzt [Übersicht bei Pignitter und Somoza, 2012a].

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Lipidoxidation

Lipide können durch den Einfluss von Licht, Luftsauerstoff, erhöhter Temperatur, Enzymen und Metallen oxidiert werden. In der Gruppe der Lipide kann es bedingungsabhängig zu Autooxidation, Photooxidation, thermischer und enzymatischer Oxidation kommen [Shahidi, 2000; Shahidi und Zhong, 2005; Vercellotti et al, 1992]. Durch die Lipidoxidation kommt es durch die Reaktion von Sauerstoff an der Doppelbindung einer ungesättigten Fettsäure zur oxidativen Degradation des Lipids. Für den Verbraucher am bedeutendsten ist die Lipidoxidation von Fetten, Ölen und öligen Phasen von Emulsionen [Schaich et al., 2013].

Ob es zu einer Autooxidation oder einer Photooxidation des Öles während Verarbeitung und Lagerung kommt, hängt von der Art des Sauerstoffes ab. Es existieren zwei Typen von Sauerstoff, die mit Speiseölen reagieren können. Es gibt atmosphärischen Triplett-Sauerstoff  $^3\text{O}_2$  und Singulett-Sauerstoff  $^1\text{O}_2$  [Choe und Min, 2006].

#### 2.1.1 Autooxidation

Wenn  $^3\text{O}_2$  mit Lipidradikalen reagiert, kommt es zur Autooxidation, welche eine freie radikalische Kettenreaktion ist. Der Grund für diese Reaktion liegt in der Elektronenkonfiguration von Triplett-Sauerstoff (Abb. 1).  $^3\text{O}_2$  hat im Grundzustand zwei ungepaarte Elektronen in den  $2p\pi^*$  antibindenden Orbitalen und eine Spinmultiplizität von  $2s + 1$ .  $^3\text{O}_2$  ist daher ein Biradikal mit zwei ungepaarten Elektronen [Choe und Min, 2006].

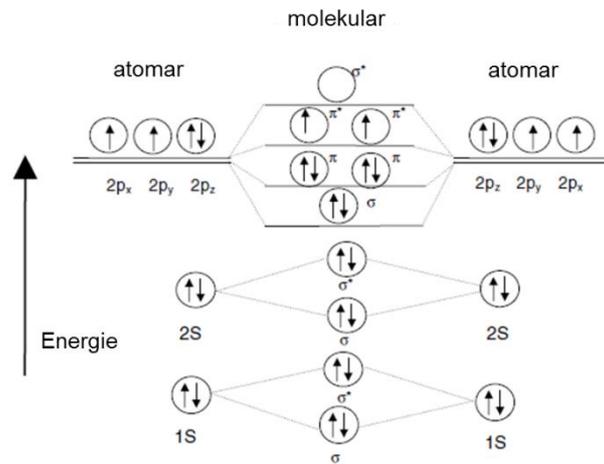


Abbildung 1: Elektronenkonfiguration von  $^3\text{O}_2$ , modifiziert nach Choe und Min [Choe und Min, 2006]

Bei der Autooxidation von Lipiden spricht man von einem in Abbildung 2 dargestellten mehrstufigen Radikalkettenmechanismus, bei dem Initiation, Propagation und Termination eine Abfolge bilden [Schaich, 2005].

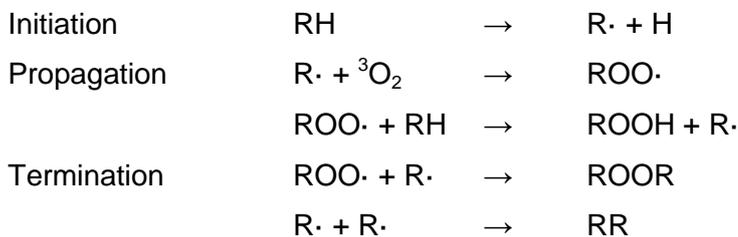


Abbildung 2: Schematischer Ablauf einer Radikalkettenreaktion der Autooxidation, R = Lipidalkyl

### 2.1.1.1 Initiation

Sauerstoff kann nicht direkt mit einer Doppelbindung reagieren, weil der Spinstatus unterschiedlich ist. Atmosphärischer Sauerstoff befindet sich im Ausgangszustand im Triplettzustand, in dem zwei freie Elektronen in getrennten Orbitalen die gleiche Spinrichtung haben. Die Doppelbindung hingegen ist im Singulettzustand, in dem keine ungepaarten Elektronen vorhanden sind und gepaarte Elektronen desselben Orbitals den entgegengesetzten Spin aufweisen. Die Doppelbindung muss in einen Duplettzustand angeregt werden, um eine Reaktion in Gang zu setzen. Die Anregung in den Duplettzustand erfordert einen hohen Energieaufwand von 35-65 kcal/Mol. Um

diese Spinbarriere zu überwinden und den Start einer Lipidoxidation zu ermöglichen, sind Initiatoren oder Katalysatoren notwendig. Als Katalysator können redoxaktive Metalle, Licht, Hitze, das Enzym Lipoxygenase, Hämproteine und Porphyrine, Ozon und freie Radikale fungieren [Schaich, 2005]. Unabhängig von der Art des Katalysators wird ein allylischer Wasserstoff entfernt und ein initiales Lipidalkylradikal gebildet, welches mit Tripletsauerstoff reagiert und den Oxidationsprozess startet [Schaich et al., 2013]. Die Energie, die zur Entfernung des allylischen Wasserstoffes erforderlich ist, hängt von der Position des Wasserstoffes im Molekül ab. Befindet sich diese Position an einem Kohlenstoff zwischen zwei und in Nachbarschaft zu einer weiteren Doppelbindung, wie bei Linolensäure (18:3) sind 171 kJ/Mol notwendig. Zur Entfernung des Wasserstoffes zwischen zwei Doppelbindungen, wie bei Linolsäure zwischen C17 und C18, sind 272 kJ/Mol notwendig. Hängt das Wasserstoffatom angrenzend zu einer Doppelbindung an einem Kohlenstoffatom, dann bedeutet das einen Energieaufwand von 322 kJ/Mol. Für die homolytische Spaltung von Wasserstoff in einer gesättigten Fettsäure werden 410 kJ/Mol benötigt, (Abb. 3) [Pignitter und Somoza, 2012b].

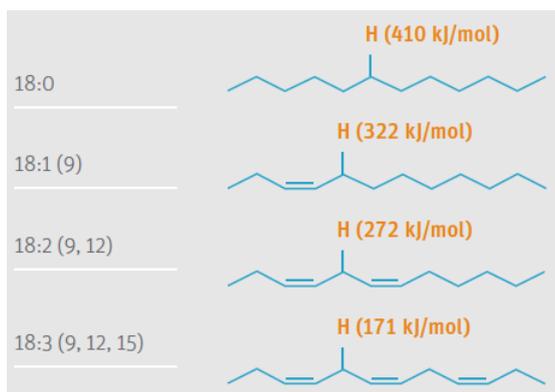


Abbildung 3: Energieaufwand zur Entfernung eines allylischen Wasserstoffes [Übersicht bei Pignitter und Somoza, 2012b]

Nach Bildung eines Alkylradikales lagern sich Doppelbindungen zum nächsten stabileren Kohlenstoff um und bilden aus einer *cis* eine *trans* Doppelbindung. Diese Reaktion erfolgt sogar in isolierten Doppelbindungen wie bei Ölsäure [Choe und Min, 2006; Farmer et al., 1943; Porter, 1990; Porter et al., 1995; Schaich et al., 2013].

### 2.1.1.2 Propagation und Branching

Propagation ist das Kernstück eines Oxidationsprozesses [Kochi, 1973; Schaich et al., 2013]. Während der Propagation kommt es durch Bindung von  $^3\text{O}_2$  an relativ

unreaktiven Lipidalkylradikalen ( $R\cdot$ ) zur Bildung reaktiver Peroxylradikale ( $ROO\cdot$ ). Diese bilden den Grundstein für eine freie radikalische Kettenreaktion und halten diese aufrecht [Choe und Min, 2006; Ingold, 1969; Schaich et al., 2013]. Peroxylradikale entziehen angrenzenden Lipidmolekülen Wasserstoff, bilden Hydroperoxide ( $ROOH$ ) und generieren neue  $R\cdot$ -Radikale im Prozess. Jedes neue  $R\cdot$ -Radikal kann in Folge mit Sauerstoff oder einem Peroxylradikal reagieren, Wasserstoff eines anderen Lipids entziehen oder wieder ein anderes Hydroperoxid bilden und ein neues  $R\cdot$ -Radikal generieren. Dieser Vorgang der Kettenreaktion bleibt solange aufrecht, bis keine Wasserstoffquelle mehr zur Verfügung steht oder die Kettreaktion unterbrochen wird. Für das Aufrechterhalten der Kettenreaktion im früheren Oxidationsstadium sind hauptsächlich Peroxylradikale verantwortlich. Wenn sich mehrere Hydroperoxide ansammeln, beschleunigt dies die Reaktion und Hydroperoxide werden durch Metalle, Hitze und ultraviolettes Licht zu Alkoxyradikalen, Peroxylradikalen und Hydroxylradikalen abgebaut [Schaich et al., 2013].

Der zweite wichtige Teil der Propagation wird Branching (Verzweigung) genannt. In diesem Abschnitt breitet sich die radikalische Kettenreaktion aus und neue Ketten mit schnelleren Raten werden gebildet [Schaich et al., 2013].

### **2.1.1.3 Termination**

Der Begriff Termination ist in Bezug auf Lipidoxidation eigentlich eine Fehlbezeichnung, weil Lipidoxidation in der Praxis niemals vollständig endet. Ein spezifisches Radikal kann aufgelöst und ein anderes Produkt gebildet werden, aber für gewöhnlich ist immer ein weiteres Radikal vorhanden, sodass die Kettenreaktion weiter fortgesetzt wird [Schaich et al., 2013].

Es gibt vier Mechanismen, wie aus freien Lipidradikalen nicht radikalische Produkte gebildet werden: Radikalische Rekombination,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Spaltungsreaktionen von Alkoxyradikalen, Kooxidation nicht-lipider Moleküle und Gruppenelimination oder Disproportionierung. Bei der radikalischen Rekombination reagieren entweder reaktive Peroxylradikale ( $ROO\cdot$ ) mit Lipidalkylradikalen ( $R\cdot$ ) zu Alkylperoxiden ( $ROOR$ ) oder zwei Lipidalkylradikale ( $R\cdot$ ) zu einem Alkanpolymer. Limitierende Faktoren für diesen Vorgang sind Temperatur und Sauerstoffdruck [Schaich et al., 2013].

#### **2.1.1.3.1 Spaltung von Alkoxyradikalen**

Die Spaltung von Alkoxyradikalen hat wahrscheinlich die größten praktischen Konsequenzen für die Lipidoxidation, weil die entstehenden Produkte für die

unverwechselbaren flüchtigen Fehlgerüche und Fehl aroma verantwortlich und diese starke Marker für Ranzigkeit sind [Grosch, 1987; Schaich et al., 2013]. Lipidalkoxyradikale unterliegen der Spaltung der C-C-Bindung an einer Seite der Alkoxygruppe, wodurch eine Mischung aus Carbonylprodukten und freien Alkyradikalen entsteht, die die Kettenreaktion fortsetzt [Schaich et al., 2013].

### 2.1.1.3.2 Kooxidation

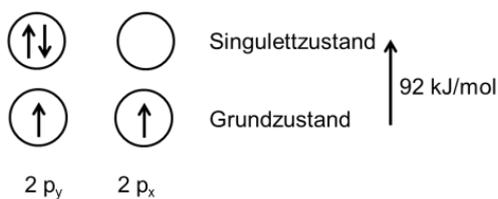
Bei der Kooxidation nicht lipider Moleküle, wie Proteine, Vitamine, Antioxidantien u.a. findet der Radikalübergang zu einem dieser Moleküle über Wasserstoffentzug oder Addition von ROO· oder RO· an eine Doppelbindung statt [Schaich et al., 2013].

### 2.1.1.3.3 Gruppenelimination

Bei der Gruppenelimination sind am häufigsten OH- und OOH-Gruppen betroffen, welche von ROOH eliminiert werden. Es kommt zur Bildung eines Ketons mit einem internen Carbonyl und einem ungesättigten Produkt mit einer zusätzlichen Doppelbindung. Durch die Bildung des Ketons wird dem Hydroperoxidabbau zu reaktiven Alkoxyradikalen vorgebeugt und der Vorgang der Kettenreaktion unterbrochen [Schaich et al., 2013].

## 2.1.2 Photooxidation

Photooxidation oder photosensibilisierte Oxidation von essbaren Lipiden führt in Anwesenheit von Licht, Sensibilisatoren (z.B. Chlorophyll) und atmosphärischem Sauerstoff zur Entstehung von  $^1\text{O}_2$



$\Pi^*$  - Molekülorbital

Abbildung 4: Elektronenkonfiguration von Sauerstoff im Grundzustand und im Singulettzustand, modifiziert nach Belitz et al. [Belitz et al., 2012]

Eines der beiden Orbitale der  $2p\pi^*$  antibindenden Orbitale von  $^1\text{O}_2$  hat gepaarte Elektronen, das andere ist unbesetzt (Abbildung 4). Der nichtradikale elektrophile

Singulett-Sauerstoff kann mit Komponenten mit einer hohen Elektronendichte, wie den Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren, reagieren [Choe und Min, 2006].

Photosensibilisatoren sind Moleküle, die niedrig-energetische Lichtenergie absorbieren und diese in chemische Energie umwandeln, um Reaktionen zu steuern [Schaich et al., 2013]. Sie absorbieren im Singulettzustand sehr schnell Lichtenergie und werden dadurch angeregt. Diese angeregten Sensibilisatoren im Triplettzustand können z.B. durch Lichtemission in den Grundzustand zurückkehren. Angeregte Sensibilisatoren im Triplettzustand können auf zwei Wegen die Bildung von ROOH begünstigen. Ein Weg führt über die Aufnahme eines Wasserstoffes oder Elektrons des Substrates zur Bildung von Radikalen. Der angeregte Sensibilisator im Triplettzustand reagiert mit  $^3\text{O}_2$  und produziert das Superoxid-Anion ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) durch Elektronentransfer. Dieses Superoxid-Anion führt zur Bildung von Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Die Reaktion von  $\text{H}_2\text{O}_2$  mit Superoxiden resultiert in der Entstehung von Singulett-Sauerstoff. Dieser Vorgang wird bei Anwesenheit von Übergangsmetallen wie Eisen und Kupfer als Haber-Weiss-Reaktion (Abb. 5) bezeichnet [Choe und Min, 2006; Kellogg und Fridovich, 1972].

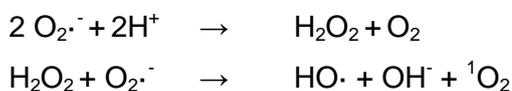


Abbildung 5: Haber-Weiss-Reaktion [Choe und Min, 2006]

Der zweite Weg, der die Entstehung von ROOH in Gegenwart von Triplett-Sauerstoff begünstigt, führt über Bildung von  $^1\text{O}_2$  durch Triplett-Triplett-Annihilierung und die Rückkehr in den Singulett-Ausgangszustand. Das Ausmaß der Entstehung von Singulett-Sauerstoff hängt von der Art der Sensibilisatoren und dem Substrat [Choe und Min, 2006; Chen et al., 2001] und der Konzentration des Substrates und des Sauerstoffes ab [Choe und Min, 2006; Foote, 1976].

Der Vorgang der Lipidhydroperoxidbildung im Rahmen der Photooxidation entspricht dem der Autooxidation. Wenn Hydroperoxide gebildet werden, kommt es wie bei der Autooxidation zur Umlagerung der Doppelbindung, zur Entstehung von trans-Fettsäuren, konjugierten Hydroperoxiden, aber auch nicht-konjugierten Hydroperoxiden. Die Produktion nicht-konjugierter Hydroperoxide wurde bei der

Autooxidation nicht beobachtet. Die beiden Arten der Oxidation unterscheiden sich in den aus Hydroperoxiden entstehenden Abbauprodukten [Choe und Min, 2006].

## 2.2 Primäre und sekundäre Oxidationsprodukte

### 2.2.1 Primäre Oxidationsprodukte

Im Zuge der Lipidoxidation werden stetig instabile und abbauanfällige Hydroperoxide als primäre Oxidationsprodukte gebildet [Schaich et al., 2013], welche geruch- und geschmacklos sind [Belitz et al., 2012]. Lipidhydroperoxide sind bei Raumtemperatur und in Abwesenheit von Metallen relativ stabil. Sind jedoch Metalle anwesend und liegen hohe Temperaturen vor, werden sie leicht zu sekundären Oxidationsprodukten abgebaut [Choe und Min, 2006].

Für das Messen der primären Produkte der Lipidoxidation eignet sich die titrimetrische Bestimmung der Peroxidzahl. Sie ist ein Maß für den Gehalt eines Fettes oder Öles an peroxidisch gebundenen Sauerstoff, insbesondere an Hydroperoxiden. Die Peroxidzahl gibt die in einem Kilogramm der Probe enthaltene Anzahl an Milliäquivalenten (mÄq) aktivem Sauerstoff an und wird in 1/8 mmol/kg angegeben [Wheeler, 1932; Matissek et al., 2010].

Neben der Peroxidzahl finden die Ermittlung der konjugierten Diene mit Spektrophotometrie, Refraktometrie oder Infrarotspektrometrie, die spektrophotometrische Messung von konjugierten Trienen, die Erfassung von Eisenionkomplexen und ESR zur Semiquantifizierung Kohlenstoff-zentrierter freier Radikale Anwendung zur Messung primärer Lipidoxidationsprodukte [Pignitter und Somoza, 2012; Shahidi und Zhong, 2005].

Einer der ersten Schritte bei der Oxidation von Linolsäure oder anderer mehrfach ungesättigter Fettsäuren in einem Öl ist die Verschiebung der Position der Doppelbindung. Die Verschiebung entsteht durch den Verlust eines Wasserstoffatoms von der Methylengruppe zwischen den beiden Doppelbindungen der ursprünglichen 1,4-Pentadien-Konfiguration. Die höchste Elektronendichte herrscht im Zentrum, an der die C-H-Bindung am schwächsten ist. Dadurch sind die äußeren Positionen relativ elektronenarm und bieten eine gute Voraussetzung für die Bindung von Sauerstoff. Je nach Position der Sauerstoffbindung können zwei verschiedene Strukturen konjugierter Diene entstehen (Abb. 6). Durch die Reaktion mit molekularem Sauerstoff entstehen so

konjugierte Hydroperoxide [Choe und Min, 2006; Schaich et al., 2013; Warner und Eskin, 1995].

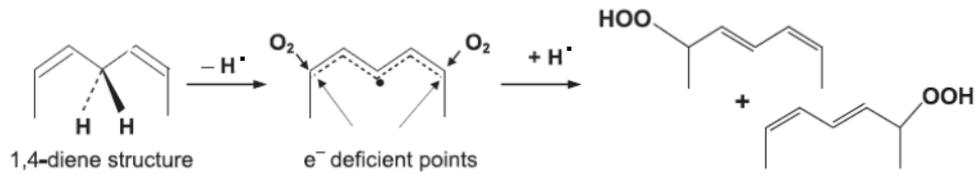


Abbildung 6: Oxidative Bildung der beiden unterschiedlichen Formen von konjugierten Dienen [Schaich et al., 2013]

### 2.2.2 Sekundäre Oxidationsprodukte

Aus den primären Oxidationsprodukten, den Lipidhydroperoxiden, werden Alkoxyradikale [Choe und Min, 2006], welche wiederum durch Abbaureaktionen zu einer komplexen Mischung aus flüchtigen, nicht flüchtigen und polymeren sekundären Oxidationsprodukten gebildet werden [Kamal-Eldin et al., 2003; Shahidi und Zhong, 2005]. Der Zeitpunkt des Abbaus von primären zu sekundären Oxidationsprodukten ist unter anderem von der Fettsäurezusammensetzung abhängig [Guillen und Cabo, 2002].

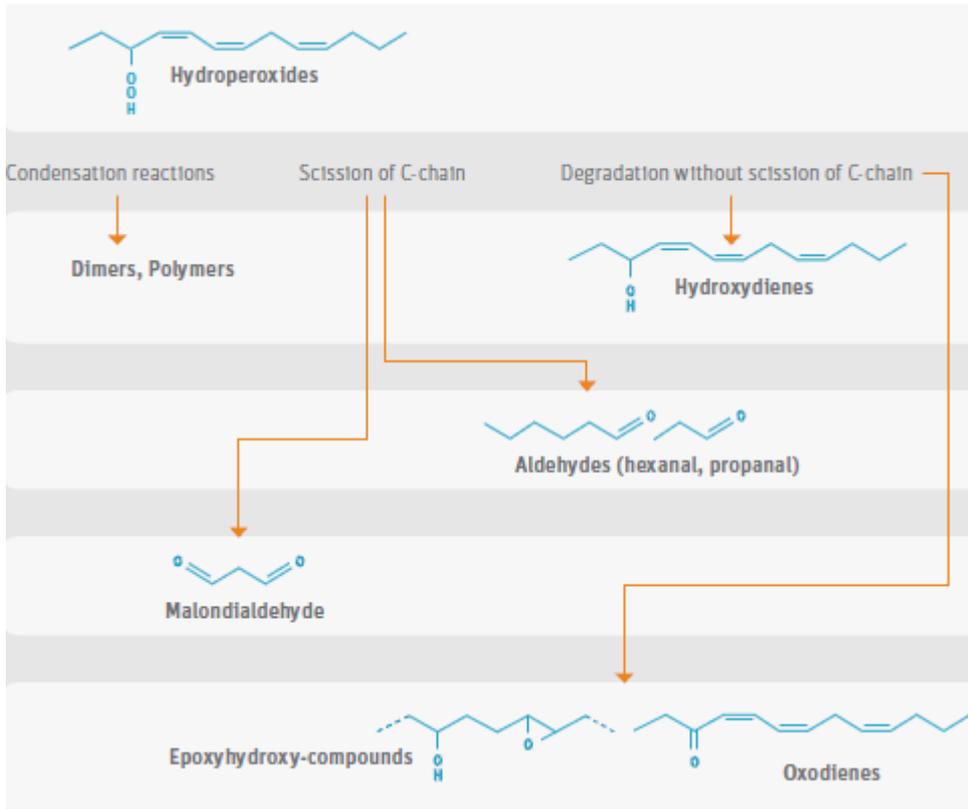


Abbildung 7: Sekundäre Abbauprodukte aus Hydroperoxiden [Übersicht bei Pignitter und Somoza, 2012a]

Lipidhydroperoxide können außerdem zu Epoxyhydroperoxiden, Oxohydroperoxiden, Bihydroperoxiden, zyklischen Hydroperoxiden und bityklischen Endoperoxiden abgebaut werden (Abb. 7) [Frankel, 1984]. Bei den flüchtigen Verbindungen handelt es sich häufig um eine Vielzahl aromaaktiver Verbindungen, die schon in geringen Konzentrationen sehr stark den Geruch und Geschmack beeinflussen. Durch diese Produkte wird ein Lebensmittel erstmals sensorisch verändert [Belitz et al., 2012]. Sekundäre Oxidationsprodukte können weiter in Monohydroperoxide zerfallen und im Folgenden zur Bildung flüchtiger Produkte führen [Übersicht bei Pignitter und Somoza, 2012a].

Zur Detektion sekundärer Oxidationsprodukte eignen sich unter anderem der Thiobarbitursäuretest (TBA-Test), die Bestimmung des p-Anisidinwertes der Karbonyle und die gaschromatographische Ermittlung von flüchtigen Substanzen wie z.B. Aldehyden [Shahidi und Zhong, 2005].

### 2.2.3 Einflussfaktoren der Lipidoxidation

Aufgrund der komplexen strukturellen Zusammensetzung von Lebensmitteln spielen mehrere Faktoren im Prozess der Lipidoxidation eine Rolle. So kommen in Öl mehrere Katalysatoren, Oxidationsangriffspunkte und Antioxidantien vor, die miteinander interagieren und Kinetik, Abfolge und Ausmaß der Lipidoxidation beeinflussen [Schaich et al., 2013].

Die wichtigsten Einflussfaktoren der Lipidoxidation sind Fettsäurezusammensetzung des Lipids, Hitze, Licht, Konzentration und Typ des Sauerstoffes, Nebenkomponenten und Anwesenheit von Prooxidantien und Antioxidantien im Öl, Ölverarbeitung, Oberflächen, Milieu und Lösungsmittel [Choe und Min, 2006; Schaich et al., 2013].

Da in dieser Arbeit der Einfluss von Licht und Sauerstoff im Mittelpunkt der Untersuchungen liegt, wird im Folgenden auf diese beiden Faktoren und auch auf die Fettsäurezusammensetzung eingegangen. Die bedeutende Rolle von Antioxidantien wie Tocopherole wird in einem eigenen Kapitel besprochen.

#### 2.2.3.1 Fettsäurezusammensetzung

Die Zahl der allylischen Wasserstoffatome, die für den Start der Lipidoxidation verantwortlich sind, erhöht sich mit der Anzahl an Doppelbindungen. Das bedeutet, je mehr ungesättigte Fettsäuren in einem Öl vorkommen, desto mehr steigt die Oxidationsanfälligkeit der Fettsäuren und damit auch des Öls an. Der Grad der Oxidation steigt jedoch nicht mit der Anzahl der Doppelbindungen, weil jede Doppelbindung eine Knickstelle in der Fettsäurenkette bildet [Schaich et al., 2013]. Werden Öle mit unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung verglichen, so zeigt sich, dass die Oxidationsanfälligkeit mit Zunahme ungesättigter Fettsäuren steigt. Die Studie von Elisia et al. (2013) ergab, dass die oxidative Stabilität nach Erhitzen bei 95°C für einen Tag und anschließende Lagerung bei 4°C für zwei Tage bei Flachssamenöl und Hanföl am längsten und bei Makadamiaöl am kürzesten war. Sojaöl hatte eine längere Induktionszeit als Olivenöl, jedoch eine kürzere als Flachssamen- und Maisöl [Elisia et al., 2013]. Auch Velasco et al. detektierten mit 12,9 Stunden für Sojaöl eine signifikant ( $p < 0,05$ ) kürzere Induktionszeit als für Rapsöl mit 19,1 Stunden. In dieser Studie wurde die oxidative Stabilität mittels Ranzimat bei 100°C ermittelt [Velasco et al.; 2004].

### 2.2.3.2 Licht

#### 2.2.3.2.1 UV-Licht

Ultraviolettes Licht mit einer Wellenlänge bei etwa 200 nm ist zu schwach, um Bindungen zu brechen und die Aktivierungsenergie für die Ionisation zu liefern, wodurch keine direkte Initiation der Lipidoxidation erfolgt. Die UV-absorbierenden Gruppen von Lipiden sind Karbonyle, Doppelbindungen und Peroxidbindungen (O-O). Durch die homolytische Spaltung von Hydroperoxiden zu den Initiatoren wie RO· und HO·, welche durch UV-Licht indirekt vermittelt wird, kommt es zur Abspaltung von Wasserstoff vom Lipid, um die freie Radikalkettenreaktion zu starten. Die Tatsache, dass Licht zwei reaktive Radikale (RO· und HO·) und folglich zwei Lipidoxidationsketten für jede Hydroperoxidspaltung generiert, macht es zu einem einflussreichen indirekten Initiator [Schaich et al., 2013].

Zahlreiche Studien zeigen, dass der Einfluss von Licht in Form von diffusem Licht [Cecchi et al., 2010], Bestrahlung mit einer Halogenglühbirne [Chung et al., 2004] oder Tageslicht [Pristouri et al., 2010] zu einer Steigerung der Lipidoxidation führt. Die zusätzliche Anwesenheit von UV-Blockern und Aluminiumfolie in PET-Flaschen führte bei Bestrahlung zu signifikant ( $p < 0,05$ ) niedrigeren Peroxidzahlen und konjugierten Dienen in Olivenöl als bei entsprechenden Kontrollen ohne Lichtschutz [Pristouri et al., 2010]. Chung et al. (2004) fanden heraus, dass durch Bestrahlung mit einer Lampe die Sauerstoffaufnahme aus dem Kopfraum signifikant ( $p < 0,01$ ) höher ist als bei gleichen Lagerungsbedingungen im Dunkeln [Chung et al., 2004]. Die Lagerung von extra nativem Olivenöl bei diffusem Licht führte zu einem signifikant höheren Anstieg an primären Oxidationsprodukten als Dunkellagerung [Cecchi et al., 2010].

#### 2.2.3.2.2 Sichtbares Licht

Licht mit einer Wellenlänge von 400 bis 800 nm ist sichtbar. Obwohl die Energie fehlt, um Radikale direkt zu produzieren, kann die Lipidoxidation indirekt über Photosensibilisatoren initiiert werden. Die Konzentration an Sensibilisatoren ist dafür verantwortlich, wieviele Hydroperoxide gebildet werden und wie rasch die Lipidoxidation voranschreitet [Schaich et al., 2013].

#### 2.2.3.3 Sauerstoff

Lipidoxidation und Sauerstoff stehen in unmittelbarem Zusammenhang, denn Sauerstoff bildet durch die Anlagerung an R·-Radikale Peroxylradikale, wodurch

Lipidoxidation abhängig von Sauerstoff und proportional zum Sauerstoffgehalt ist [Schaich et al., 2013]. Die Lipidoxidation wird sowohl von der Konzentration als auch von der Art des Sauerstoffes beeinflusst. Lee und Choe (2011) zeigten, dass die Peroxidzahl durch Oxidation unter Einfluss von Singulett-Sauerstoff in Rapsöl bei 10°C ansteigt und der Sauerstoff im Kopfraum abnimmt [Lee und Choe; 2011]. Dies zeigt, dass Sauerstoff für die zunehmende Produktion von Hydroperoxiden im Laufe der Oxidation im Kopfraum der Probe verbraucht wird und daher im Kopfraum sinkt [Lee und Choe, 2011].

Die Sauerstoffkonzentration in Öl ist abhängig vom partiellen Sauerstoffdruck ( $pO_2$ ) im Kopfraum des Öles [Andersson, 1998; Choe und Min, 2006]. Bei einem hohen  $pO_2$  im Kopfraum ist mehr Sauerstoff im Öl gelöst, und je mehr Sauerstoff gelöst ist, desto stärker kann das Öl oxidiert werden [Min und Wen, 1983; Choe und Min, 2006].

Mit steigender Temperatur und der Anwesenheit von Licht und Metallen steigt der Effekt der Sauerstoffkonzentration auf die Lipidoxidation [Andersson, 1998]. Naz et al. (2004) konnten zeigen, dass der Effekt von Sauerstoff auf die Lipidoxidation durch zusätzlichen Einfluss von Tageslicht in Olivenöl, Maisöl und Sojaöl hinsichtlich Peroxidzahl und p-Anisidinwert verstärkt wird [Naz et al., 2004]. Die Anwesenheit des Sauerstofffängers Amosorb® von PB Amoco Chemicals als Sauerstoffbarriere in PET-Flaschen führte in extra nativem Olivenöl mit  $7,70 \pm 1,00$  mÄq  $O_2$ /kg Fett zu einer signifikant niedrigeren Produktion von Peroxiden als ohne Sauerstofffänger mit  $9,40 \pm 0,50$  mÄq  $O_2$ /kg Fett [Cecchi et al.; 2010].

## 2.3 Bedeutung von Sojaöl und Palmöl als Speiseöle

### 2.3.1 Sojaöl

Die Gewinnung von Sojaöl erfolgt durch Extraktion aus Sojabohnensamen (*Glycine max.* L.). Bei diesem Prozess entstehen im Mittel 18 % Öl und 79 % Pflanzenprotein [Gunstone, 2004]. Das Verhältnis dieser beiden Komponenten wird jedoch von Genotyp und Umwelteinflüssen beeinflusst [Clemente und Cahoon, 2009]. Sojabohnen werden unter anderem in Afrika, aber hauptsächlich in den USA, Brasilien, Argentinien und China angebaut [FAOSTAT, 2011] und in diesen Ländern und innerhalb der EU zu Sojaöl weiter verarbeitet. Rohes Sojaöl ist reich an Phospholipiden (Lecithin), Tocopherolen und Phytosterolen, die nach dem Raffinationsprozess teilweise wieder

zugefügt werden [Gunstone, 2004]. Raffiniertes Sojaöl zeichnet eine hellgelbe Farbe und ein milder Geschmack aus. Es enthält geringe Konzentrationen an verzweigten Furanfettsäuren, die bei Lichteinwirkung sehr schnell oxidiert werden [Belitz et al., 2012].

Die Fettsäurezusammensetzung von Sojaöl ergibt sich aus 10 % Palmitinsäure (16:0), 4 % Stearinsäure (18:0), 18 % Ölsäure (18:1), 55 % Linolsäure (18:2) und 13 % Linolensäure (18:3) zusammen. Hervorzuheben ist der beträchtliche Gehalt an den mehrfach ungesättigten Fettsäuren Linolsäure und Linolensäure. Dieses Fettsäureprofil resultiert in einer niedrigen oxidativen Stabilität und führt zu Ranzigkeit und zur Bildung von Fehlgerüchen [Clemente und Cahoon, 2009].

### 2.3.2 Palmöl

Die Ölpalme, welche zur Gattung der *Elaeis* gehört, dient als Grundlage zur Produktion von zweierlei Arten von Öl. Aus Palmkernen wird Palmkernöl und aus fleischigem Mesokarp Palmöl gewonnen, das hauptsächlich als Lebensmittel Verwendung findet. Der Gattung *Elaeis* gehören zwei Arten an, *E. guineensis* aus Westafrika und *Elaeis oleifera* aus Südamerika. Palmöl von *Elaeis oleifera* zeichnet sich durch einen hohen Ölsäuregehalt aus. Zu den Produktionsländern von Palmöl zählen Malaysia, Indonesien, Nigeria und Elfenbeinküste [Sambanthamurthi et al., 2000]. Im Jahr 2011 deckten allein Malaysia und Indonesien 80 % der weltweiten Palmölproduktion [FAOSTAT, 2011].

Palmöl wird durch Pressen und Zentrifugieren des zerkleinerten Fruchtfleisches gewonnen. Das rohe Öl erhält aufgrund des enthaltenen  $\beta$ -Carotins (50-70 mg/100 g) seine charakteristische orange bis rote Färbung, die an der Luft infolge von Oxidation schnell ausbleicht [Ebermann und Elmadfa, 2011]. Der Schmelzbereich liegt zwischen 21 und 27°C [Gunstone, 2004], wodurch Palmöl schon bei niedrigeren Raumtemperaturen eine halb feste bis feste Konsistenz erhält.

Das zur Gewinnung von Palmöl genutzte Fruchtfleisch besteht zu 35 bis 45 % aus Fett [Ebermann und Elmadfa, 2011]. Den Hauptbestandteil des Öles bildet zu 95 % ein Gemisch aus Triacylglyceriden. Gesättigte und ungesättigte Fettsäuren kommen in Palmöl in etwa gleichen Anteilen vor [Sambanthamurthi et al., 2000].

Die Fettsäuren setzen sich für Palmöl wie folgt zusammen: 44,8 % Palmitinsäure, 4,60 % Stearinsäure, 38,9 % Ölsäure, 9,50 % Linolsäure und 0,40 % Linolensäure [Van Niekerk und Burger, 1985; Yoshida et al., 1990; Kamal-Eldin und Andersson, 1997]. 2013 untersuchten Tres et al. die Fettsäurezusammensetzung von Palmöl aus Südostasien (n = 55), Afrika (n = 28) und Südamerika (n = 10) und erhielten

vergleichbare Werte [Tres et al., 2013]. Neben den Hauptbestandteilen kommen Phosphate, Sterole, Pigmente, Tocopherole und Spurenmetalle vor [Sambanthamurthi et al., 2000]. Der Vitamin E-Gehalt in rohem Palmöl bewegt sich zwischen 600 und 1000 ppm [Tan und Oh, 1981; Sambanthamurthi et al., 2000] und ist ein Gemisch aus Tocopherolen (18–22 %) und Tocotrienolen (78–82 %). Beachtlich ist der Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol (20 mg/ 100 g) [Ebermann und Elmadfa, 2011], hauptsächlich kommen aber  $\alpha$ -Tocotrienole (22 %),  $\gamma$ -Tocotrienole (46 %) und  $\delta$ -Tocotrienole (12 %) vor [Gapor und Ong, 1982; Sambanthamurthi et al., 2000].

## 2.4 Vitamin A

### 2.4.1 Chemie und Struktur von Vitamin A

Unter dem Vitamin A-Gehalt wird der ermittelte Gehalt an all-trans- und 13-cis-Retinol verstanden. Der Gehalt an Vitamin A wird häufig auch in Internationalen Einheiten (I.E.) ausgedrückt. Eine I.E. Vitamin A entspricht der Aktivität von 0,300  $\mu\text{g}$  all-trans-Vitamin A-Alkohol, 0,344  $\mu\text{g}$  all-trans-Vitamin A-Acetat oder 0,550  $\mu\text{g}$  all-trans-Vitamin A-Palmitat [Bognar; 1986].

Vitamin A und seine Derivate leiten sich chemisch vom aktiven Isopren ab. Manche Carotinoide sind Vorläufersubstanzen (Provitamine) Vitamin A-aktiver Verbindungen. Provitamin A zeichnet aus, dass aus ihnen durch Spaltung Retinal (Vitamin A-Aldehyd) entsteht, welches durch Reduktion wiederum zu Retinol (Abbildung 8) reagiert [Ebermann und Elmadfa, 2011].

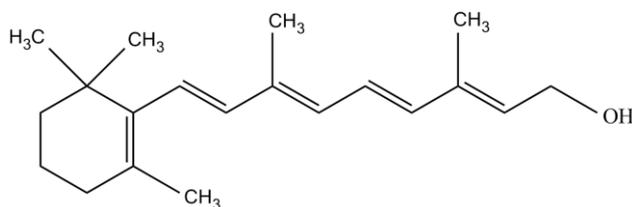


Abbildung 8: Struktur von Retinol

Vitamin A ist ein gelbes, in Öl lösliches Kristall und kann bei Anreicherung in Öl sehr gut absorbiert werden. In Anwesenheit von Licht, besonders UV-Licht, Luft, oxidierenden Agenzien und Hitze weist es jedoch eine hohe Instabilität auf. Schon geringe Spuren an Schwermetallen und Säuren können den Abbau beschleunigen. [Bagriansky und Ranum, 1998]. Dieser Vorgang wurde schon im Kapitel „Photooxidation“ als Haber-Weiss-Reaktion beschrieben.

#### **2.4.2 Vorkommen von Vitamin A**

Vitamin A kommt fast ausschließlich in tierischen Lebensmitteln wie Fischleberöl, Säugetierleber, Milchfett und Eidotter vor. Carotinoide sind in diversen Gemüsesorten wie Karotten, Spinat, Kresse, Grünkohl, Paprika, Tomaten und Früchten wie Hagebutten, Kürbis, Aprikosen und Orangen enthalten [Belitz et al., 2012].

#### **2.4.3 Biologische Funktion von Vitamin A**

Vitamin A zählt zu den fettlöslichen Vitaminen und ist ein essentieller Nährstoff, der für das visuelle System, die Aufrechterhaltung der Zellfunktionen für das Wachstum, die Produktion von Erythrozyten, die Immunität und die Reproduktion verantwortlich ist [Allen et al., 2006].

Der lateinische Name von Vitamin A (Retinol) leitet sich von seiner Bedeutung für den Sehvorgang an der Retina (Netzhaut) ab [Ebermann und Elmadfa, 2011]. Das 11-cis-Retinal ist Bestandteil der Chromoproteine von Zapfen und Stäbchen der Retina, die für den Sehvorgang wichtig sind. In der Dunkelheit werden Chromoproteine aus den entsprechenden Proteinen (Opsine) und 11-cis-Retinal aufgebaut und wandeln sich bei Belichtung zu all-trans-Retinal und Opsine um. Bei diesem Vorgang kommt es zur Abgabe eines Nervenimpulses, wodurch all-trans-Retinal direkt oder indirekt über all-trans-Retinol und 11-cis-Retinol in 11-cis-Retinal überführt wird [Belitz et al., 2012].

#### **2.4.4 Vitamin A-Zufuhrempfehlungen der WHO/FAO**

Die Empfehlungen für eine wünschenswerte Zufuhr von Vitamin A sind vom Alter, Geschlecht und davon abhängig, ob eine Frau stillt oder schwanger ist [Tabelle 1]. Für Kinder von ein bis drei Jahren liegt die Empfehlung der WHO/FAO bei 400 µg RE/Tag, von vier bis sechs Jahren bei 450 µg RE/Tag. Erwachsene Frauen und Männer sollen 500 bzw. 600 400 µg RE/Tag aufnehmen. Bei schwangeren Frauen ab dem zweiten Trimester erhöht sich die empfohlene Zufuhrmenge von Retinoläquivalenten (RE) auf

800 µg pro Tag. Bei Stillenden Frauen ist die empfohlene Aufnahmemenge von Vitamin A mit 850 µg RE/Tag am höchsten [FAO, 2004; Allen, 2006].

Tabelle 1: Empfohlene Zufuhr von Vitamin A für verschiedene Bevölkerungsgruppen, adaptiert nach [FAO, 2004; Allen, 2006]

Alter	Empfohlene Vitamin A-Zufuhr [µg RE/Tag]	
	Frauen	Männer
1 – 3 Jahre		400
4 – 6 Jahre		450
19 -50 Jahre	500	600
Schwangere ab dem 4. Monat	800	
Stillende	850	

Zahlreiche Studien untersuchten die tatsächliche Aufnahme von Vitamin A vor allen bei jungen Frauen und Kindern in Ländern mit erhöhtem Risiko für Vitamin A-Mangel.

In einer Studie wurde die Vitamin A-Aufnahme von vietnamesischen Frauen im gebärfähigen Alter mittels Umfrage erfasst. In ländlichen Gebieten betrug die Zufuhr an Vitamin A  $383,4 \pm 16,9$  µg RE/Tag und in städtischen Gebieten  $400,8 \pm 15,7$  µg RE/Tag [Laillou et al., 2012b].

In einer Studie mit Kindern in Südafrika konnte gezeigt werden, dass der prozentuale Anteil an Kindern zwischen sechs und zehn Jahren, die unter dem RDA (Recommended Dietary Allowance) -Wert lagen, in den Jahren von 1995 bis 2000 stark zunahm. Der RDA war jedoch mit 500 µg RE/Tag für Kinder von vier bis 6 Jahren und mit 700 µg RE/Tag für Kinder von sieben bis zehn Jahren festgelegt. Waren es im Jahre 1995 noch 33 % der Kinder, die unter dem RDA lagen, so verdreifachte sich der Wert fünf Jahre später auf 98%. [McKewon et al., 2002].

#### 2.4.5 Vitamin A-Mangel

Da essenzielle Nährstoffe wie Vitamin A vom Körper nicht selbst synthetisiert werden können, müssen sie über die Nahrung aufgenommen werden. Ist die Aufnahme über die Ernährung jedoch zu gering, kommt es zu einer chronisch unzureichenden Versorgung des Körpers mit Vitamin A [WHO, 2009]. Vitamin A-Mangel ist ein weit verbreitetes ernährungsbezogenes Problem in armen Bevölkerungsgruppen mit geringem Einkommen und Ländern der Dritten Welt. Bei Vitamin A-Mangel wird

zwischen klinischen und biochemischen Parametern unterschieden. Zu den klinischen Parametern zählen Xerophthalmie (Nachtblindheit), welche Hauptgrund für die Erblindung von Kindern ist, Anämie und schwache Resistenz gegenüber Infektionen, was zu einem erhöhten Risiko gegenüber schweren Infektionskrankheiten und einem höheren Sterberisiko führt. Mangelhafte Ernährung und Infektionen beeinflussen sich in Populationen mit Vitamin A-Mangel häufig gegenseitig [Allen et al., 2006]. Aus biochemischer Sicht wird bei einer Serumkonzentration von  $<0,70\mu\text{mol/l}$  von moderaten Vitamin A-Mangel und bei  $<0,35\mu\text{mol/l}$  von einem schweren Mangel gesprochen [Palafox et al., 2003; West und Darnton-Hill, 2001; WHO, 2011]. Eine weitere wichtige physiologische Eigenschaft des Retinols ist sein Einfluss auf den Bindegewebsstoffwechsel. Vitamin A-Mangel führt zur Verhornung (Keratinisierung) des Bindegewebes und zur Degeneration der Schleimhäute [Ebermann und Elmadfa, 2011].

Im Jahre 2006 fasste die WHO Resultate von insgesamt 683 Umfragen zwischen 1995 und 2005 zum Thema "Globale Prävalenz von Vitamin A-Mangel in gefährdeten Populationen" zusammen. Im Speziellen wurde bei der Auswertung auf die Prävalenz von Nachtblindheit infolge des Vitamin A-Mangels bei Schwangeren und Kindern im Vorschulalter Wert gelegt. Es zeigte sich, dass 5,2 Millionen aller Vorschulkinder und 9,8 Millionen aller Schwangeren weltweit an Nachtblindheit erkrankt waren. Die höchste Prävalenz wurde in Südost-Asien mit 82,4 % und im West-Pazifik mit 87,3 % ermittelt. Währenddessen lagen die Werte für Europa und Amerika bei 1 und 0 %. Im Jahr 2006 lagen die Schätzungen für einen Serum-Retinol-Level von  $< 0,70\mu\text{mol/l}$  weltweit bei 190 Millionen Kindern im Vorschulalter und 19,1 Millionen Schwangere [WHO, 2009].

#### **2.4.6 Vitamin A-Anreicherung**

Es gibt drei Interventionsmöglichkeiten, um Vitamin A-Mangel zu bekämpfen [Allen et al., 2006 und Atwood et al., 1995]. Die erste besteht darin, Menschen in gefährdeten Regionen aufzuklären, wie sie eine höhere Vitamin A-Aufnahme durch Ändern der Ernährungsgewohnheiten erreichen können. Außerdem sollten diesen Menschen regionale, Vitamin A-reiche Lebensmittel, wie Mangos, Papaya oder dunkelgrünes Blattgemüse, zur Verfügung gestellt werden. Der zweite Ansatz bezieht sich auf die Anreicherung von Grundnahrungsmitteln oder Gewürzen mit Vitamin A. Die am



## 2.5 Tocopherole

### 2.5.1 Struktur der Tocopherole

Die Summe aller Tocopherole und Derivate von Tocotrienol werden allgemein als Vitamin E bezeichnet. Tocopherole bestehen aus einer gesättigten C13-Kette und einem Chromanring (Abb. 10). Tocotrienole unterscheiden sich von den Tocopherolen durch eine Kette mit drei Doppelbindungen an den Positionen 3', 7' und 11'. Sowohl Tocopherole als auch Tocotrienole haben vier Isomere, die als  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -bezeichnet werden, und sich durch die Anzahl und die Position der Methylgruppen am Chromanring unterscheiden [Machlin, 1991]

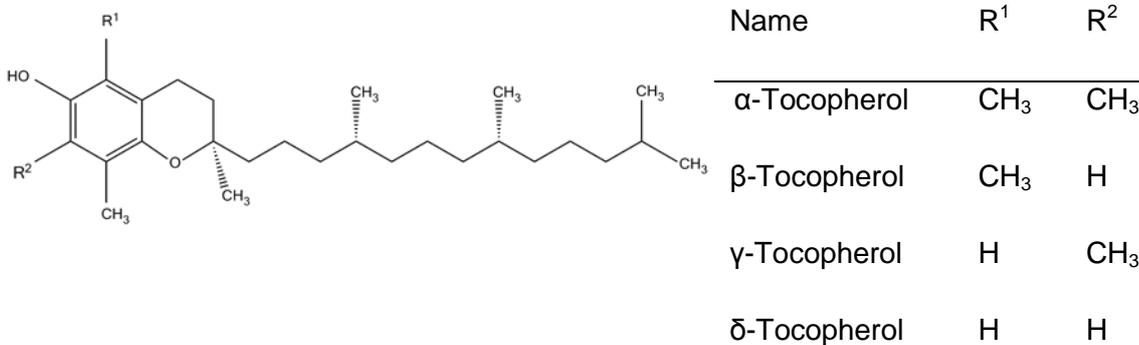


Abbildung 10: Struktur der Tocopherol (R,R,R)-Isomere

### 2.5.2 Vorkommen von Tocopherolen

Tocopherole kommen in pflanzlichen Ölen, im Speziellen in Samenölen [Sambanthamurthi et al., 2000], und in den Keimen von Getreidekörnern vor. Tocotrienole hingegen sind in den Subaleuronschichten von Getreidekörnern, in Palmöl [Yoshida et al., 2003] und in Getreideölen von z.B. Hafer und Reiskleie enthalten [Sambanthamurthi et al., 2000]. Bei der Fettraffination gehen die Tocopherole beim Schritt der Alkalibehandlung verloren, werden in vielen Fällen jedoch nachträglich wieder zugesetzt [Ebermann und Elmadfa, 2011]. Im Fall von raffiniertem, gebleichtem und desodoriertem Palmöl wurde berichtet, dass durch den Verarbeitungsprozess nur 69 % des ursprünglichen Vitamin E-Gehaltes von rohem Palmöl erhalten blieben [Sambanthamurthi et al., 2000].

### 2.5.3 Antioxidative Funktion und Wirksamkeit von Tocopherolen

Tocopherole wirken durch die Reaktion mit Hydroperoxidzwischenprodukten und das Aufhalten der Kettenreaktion der Autooxidation von Lipiden als Antioxidantien. Es gibt jedoch Unterschiede in der Wirkung der unterschiedlichen Tocopherole [Silva et al., 2010].

Die antioxidative Wirksamkeit von Tocopherolen und Tocotrienolen gegenüber Peroxylradikalen nimmt in der Reihenfolge  $\alpha < \beta < \gamma < \delta$  zu und verhält sich umgekehrt zur Vitamin E-Aktivität [Belitz et al., 2012]. Es gibt jedoch Studien, welche zeigen, dass bei sehr hohen Gehalten an  $\gamma$ -Tocopherol, wie sie in Samenölen vorkommen, die Reihenfolge  $\gamma > \alpha > \delta$  hinsichtlich der antioxidativen Wirksamkeit ist [Huang et al., 2004, 2005; Silva et al., 2010]. Die daraus folgende antioxidative Kapazität in organischen Lösungen hängt von den Methylgruppen am Chromanring und nicht von der Seitenkette ab [Yoshida et al., 2003].  $\gamma$ -Tocopherol hat im Vergleich zu  $\alpha$ -Tocopherol aufgrund der größeren Stabilität die größere antioxidative Wirksamkeit. Nach Öffnung des Chromanringes entsteht aus  $\alpha$ -Tocopherol ein Alkylradikal, welches zu einem Hydroperoxyalkylchinon oxidiert wird. Es fängt dadurch schneller entstehende Peroxylradikale ab, wird aber selbst zum Alkylradikal, das im Gegensatz zum reaktionsträgen Chromanoxyradikal die Autoxidation ungesättigter Fettsäuren starten kann (Abb. 11). Deshalb nimmt die Hydroperoxidbildung aus einer ungesättigten Fettsäure mit steigender  $\alpha$ -Tocopherolkonzentration zu. Beim  $\gamma$ -Tocopherol findet keine Öffnung des Chromanringes statt, sondern die Bildung von Diphenylether- und Biphenyldimeren (Abb. 12) [Belitz et al., 2012].

Oxydierte Tocopherole werden meist durch Ascorbinsäure wieder reduziert. Eine Alternative dazu stellt reduziertes Ubichinon dar.

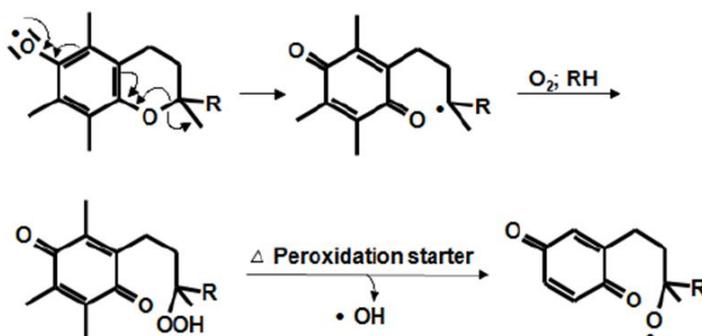


Abbildung 11: Antioxidative Wirkung von  $\alpha$ -Tocopherol

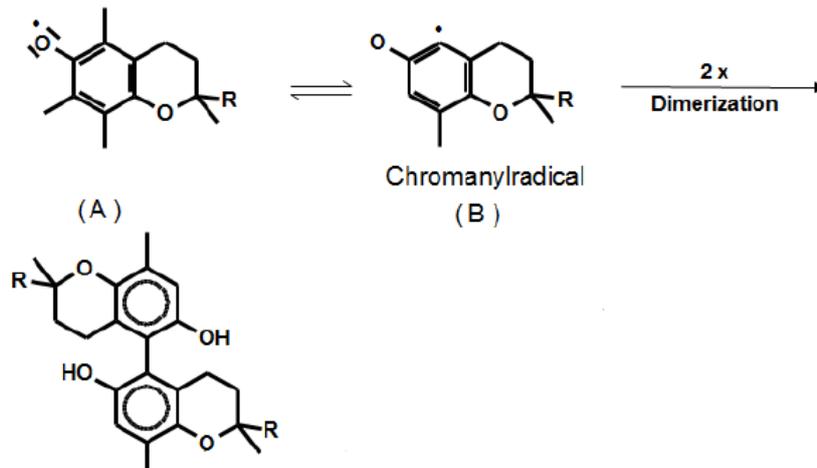


Abbildung 12: Antioxidative Wirkung von  $\gamma$ -Tocopherol

Bei Reaktion des Tocopherylradikals mit molekularem Sauerstoff entstehen Peroxidradikale oder Hydroperoxide des Tocopherols als reaktionsfreudige, prooxidative Zwischenprodukte. Diese Verbindungen wirken daher nicht mehr antioxidativ, sondern können selbst Lipidoxidation induzieren. Ob aus Tocopherolen Prooxidantien gebildet werden, hängt von der Tocopherol-, Ascorbinsäure- und Sauerstoffkonzentration und anderen Rahmenbedingungen ab [Ebermann und Elmadfa, 2011].

### 3 FRAGESTELLUNG

Die Ergebnisse aus der Literatur zeigen, dass das Ausmaß der Lipidoxidation stark vom Sättigungsgrad der im Speiseöl enthaltenen Fettsäuren abhängt. Je mehr ungesättigte und vor allem mehrfach ungesättigte Fettsäuren in einem Öl vorkommen, desto anfälliger ist dieses gegenüber Einflüssen der Lipidoxidation [Elisia et al., 2013; Pignitter und Somoza, 2012a; Silva et al., 2012; Velasco et al., 2005].

Es gibt zahlreiche Studien, die den Einfluss erhöhter Temperatur auf die oxidative Stabilität von Pflanzenölen unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung gezeigt haben.

Die Erhitzung von Sojaöl für 60 Minuten bei 180°C führte, verglichen mit Sonnenblumen- und Rapsöl, zu einem geringeren Anstieg der Konzentrationen an konjugierten Dienen als Indikatoren einer Lipidoxidation [Silva et al., 2010]. Der zusätzliche Einfluss von Bestrahlung mit einer Lampe, die das gesamte Lichtspektrum abdeckte, führte neben erhöhter Temperatur (55°C) in Sojaöl nach einer Lagerung von 24 Stunden mit 13,4 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl zu einem höheren Anstieg der Peroxidzahl als die Lagerung im Dunkeln, nach der 1,80 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl ermittelt wurden [Chung et al., 2004]. Der Einfluss von Luftsauerstoff und Licht auf den oxidativen Status wurde in zahlreichen Langzeitstudien im Temperaturbereich von 20 bis 30°C untersucht. Eine 30-tägige Lagerung von Sojaöl bei 30°C führte unter Luft- und Lichteinfluss zu einem stärkeren Anstieg der Peroxidzahl als bei gleichen Lagerbedingungen im Dunkeln [Naz et al., 2005]. Pristouri et al. (2010) konnten zeigen, dass die Peroxidzahl von extra nativem Olivenöl bei 22°C unter dem Einfluss von Luft innerhalb von 12 Monaten um 24,3 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl anstieg. Die Ermittlung der Peroxidzahl von Olivenöl, welches in einem 12-Stunden-Rhythmus dem Tageslicht exponiert worden war, ergab bei Anwesenheit eines UV-Blockers im Flaschenmaterial mit 6,32 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl niedrigere Peroxidwerte als Olivenöl in einer PET-Flasche ohne UV-Schutz mit 9,06 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl [Pristouri et al., 2010].

Diese Ergebnisse aus der Literatur weisen darauf hin, dass der Einfluss von erhöhter Temperatur über einen kurzen Studienzeitraum besonders in Kombination mit Licht- und Lufteinflüssen über die Zeit zu einer Oxidation von Speiseöl führen. Es ist bekannt, dass Luftsauerstoff einen größeren Einfluss auf den oxidativen Status in Speiseöl nimmt als Bestrahlung. Besonderes Augenmerk muss jedoch auf die Art der Bestrahlung und das Sauerstoff-Headspace-Volumen gelegt werden. Bisherige Studien

untersuchten den Einfluss von UV-Licht oder anderen nicht definierten Lichtquellen auf die Lipidoxidation.

Es wird angenommen, dass Sojaöl aufgrund des hohen Gehalts an PUFAs instabiler gegenüber Luftsauerstoff und Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich über einen Zeitraum von drei Monaten ist als Palmöl.

Ziel dieser Studie war deshalb, herauszufinden, ob sich Licht, welches zum größten Teil aus elektromagnetischer Strahlung im sichtbaren Bereich besteht, und Luftsauerstoff im gleichen Ausmaß auf den oxidativen Status von Palm- und Sojaöl, wurde, auswirken. In der hier vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal die Auswirkung der Kombination der Einflussfaktoren Licht im sichtbaren Bereich und Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation in Palm- und Sojaöl, welchem teilweise Retinylpalmitat zugesetzt wurde, bei  $25\pm 1^\circ\text{C}$  untersucht.

Zudem ist bisher nicht bekannt, welche Konsequenzen diese Einflüsse bei Raumtemperatur auf die Stabilität von Vitamin A und Tocopherolen in Sojaöl haben.

## 4 MATERIAL UND METHODEN

Der folgende Abschnitt gibt Auskunft über Chemikalien, Geräte sowie Materialien, welche während der praktischen Arbeiten im Labor verwendet wurden. Bidestilliertes Wasser mit einer Leitfähigkeit von 18,2 M $\Omega$ \*cm wurde kurz vor der Verwendung aus dem Sartorius arium 611 UF (Sartorius Stedim Biotech) genommen.

### 4.1 Verwendete Materialien und Geräte

Chemikalien	Hersteller
Acetonitril, ROTISOLV® HPLC-Gradient Grade	Carl Roth
Chloroform, $\geq 99,5\%$ , enthält 100-200 ppm Amylasen als Stabilisator	Sigma-Aldrich
Ethanol, 96%, Emprove® exp	Merck
Essigsäure, ROTIPURAN®	Carl Roth
Hexan, wasserfrei, 95 %	Sigma-Aldrich
Isooktan, SeccoSolv®, max. 0,003 %	Merck
Wasser	
Kaliumiodid, $\geq 99,5\%$	Sigma-Aldrich
Kaliumhydroxid, $\geq 85\%$ , in Plätzchen	Carl Roth
Methanol, ROTISOLV® HPLC	Carl Roth
Natriumsulfid	Aldrich Chemistry
Natriumthiosulfat	Sigma Aldrich, 0,1 mol, Fixanal, Fluka Analytical
2-Propanol	Carl Roth, ROTISOLV® HPLC
PBN ( $\alpha$ -Phenyl- <i>tert</i> -Butylnitrone)	Enzo Life Sciences
Retinol	Sigma Aldrich
Retinylpalmitat, 1 700 000 I.U/g, mit Tocopherolen	DSM
Stärke	Sigma-Aldrich
$\alpha$ -Tocopherol	Supelco, Analytischer Standard
$\delta$ -Tocopherol	Supelco, Analytischer Standard
$\gamma$ -Tocopherol	Supelco, Analytischer Standard
rac-Tocol, 50mg/mL, in Hexan gelöst	Matreya

Raffiniertes Palm- und Sojaöl wurde kommerziell von der Firma Henry Lamotte Oils GmbH in acht jeweils geschlossenen 25-kg-Behältnissen zu je zwei Chargen erworben. Die Ergebnisse der chemischen Analyse wurden von der Firma nur für Sojaöl bekannt gegeben. Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure waren mit 10.5, 3.13, 26.9, 51.6 und 6.02 % für Charge 1 und 10.8, 3.13, 25.2, 53.4 und 5.96 % für Charge 2 die charakteristischen Fettsäuren. Der Schwermetallgehalt, der einen Einfluss auf den oxidativen Status haben kann, wurde mit < 0,001 % angegeben.

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
Bürette ( $\pm 0,02$ mL Genauigkeit)	Braun
ESR-Spektrometer	Bruker ESP300E
HPLC-DAD	Dionex, UltiMate 3000
Photometer	Tecan, Infinite M200
Rotavapor	Büchi

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
Einmalinjektionskanülen, $\varnothing$ 0,80 x 40mm, 21G x 1½	Braun, Sterican
Einmalinjektionskanülen, $\varnothing$ 1,20 x 50mm, 18G x 2	BD Microlance™
Filterpapier, Größe: 125 mm, Partikelretention: 12-15 $\mu$ m	VWR
Flaschendrehverschluss	Radlberger
Lampe (Tornado 1400 lm cool daylight, 100W 6500K CDL865 Xsmall; UV-Spektrum: 400 – 650 nm)	Philips
PET-Flasche (Glattwand, klar, 23 $\pm$ 0.3 g)	Varioform
Rotilabo®-Makro-Präzisions-Glasküvette	Roth
2 mL-Spritze (Luer Solo)	Braun
20 mL-Spritze (Luer Solo)	Braun
Spritzenfilter (Membranfilter) , Nylon, unsteril, 0,2 $\mu$ m Porengröße, $\varnothing$ 15 mm	Carl Roth

## 4.2 Methoden

### 4.2.1 Durchführung und Studiendesign

Ziel der vorliegenden Studie war, den Einfluss von Bestrahlung mit dem sichtbarem Anteil von Sonnenlicht und Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation in Palm- und Sojaöl über einen Zeitraum von drei Monaten zu untersuchen. Zusätzlich wurde die Stabilität von Vitamin A in Sojaöl, welches teilweise mit Retinylpalmitat angereichert wurde, ermittelt. Für die Untersuchungen wurden raffiniertes Palm- und Sojaöl kommerziell erworben und jeweils  $470 \pm 1$  g in 0,5 L PET-Flaschen gefüllt.

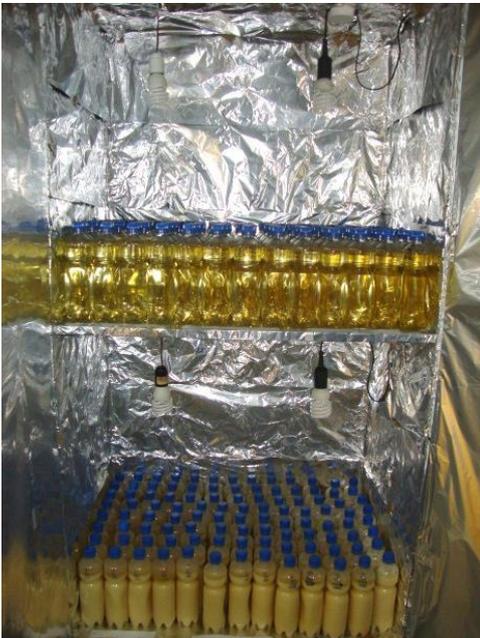


Abbildung 13: Lagerung der Sojaölflaschen (oben) und Palmölflaschen (unten), die mit jeweils 2 Glühbirnen bestrahlt wurden. Auskleidung des Schrankes mit Aluminiumfolie zur Reflexion der Lichtstrahlen

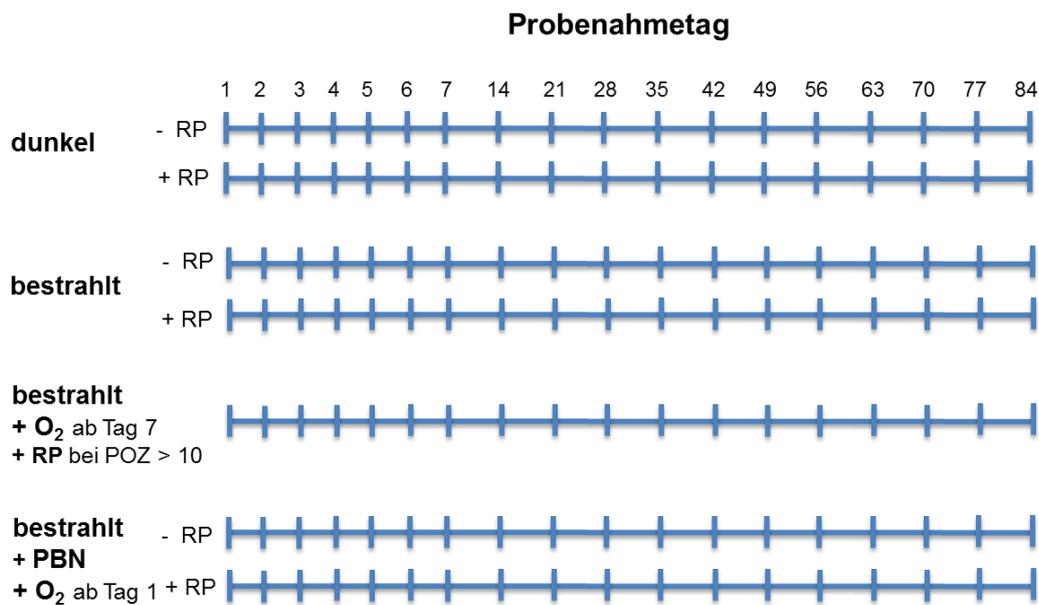


Abbildung 14: Studiendesign zur Bestimmung des oxidativen Status in Palm- und Sojaöl mit jeweils sieben Versuchsansätzen über einen Zeitraum von 84 Tagen; RP = Retinylpalmitat, n = 4, n = 1 bei „bestrahlt + PBN + O<sub>2</sub>“

Die Flaschen wurden bei  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  entweder im Dunkeln gelagert, oder waren in einem 12-h-Rhythmus einer Bestrahlungsquelle (Philips Tornado 1400 lm cool daylight 100W 6500K CDL865 Xsmall) mit sichtbarem Sonnenlicht ausgesetzt, um den Tag-Nacht-Rhythmus nachzuahmen (Abb. 14). Um den ausschließlichen Einfluss von Bestrahlung zu erhalten, wurde das Kopfvolumen in der Flasche bei den vier Versuchsansätzen mit und ohne Retinylpalmitat pro Öl bei Dunkellagerung und Bestrahlung konstant gehalten und für jeden Probenahmetag eine eigene Flasche angesetzt. Bei insgesamt 18 Probenahmetagen, in der ersten Woche täglich, danach in wöchentlichen Abständen, und vier Replikaten, ergab das eine Flaschenanzahl von 720. Zur Ermittlung des Einflusses von Luftsauerstoff und der Zugabe von Retinylpalmitat in einem Öl mit der Peroxidzahl von mindestens zehn erfolgte die Probenahme in einem separaten Versuchsansatz mit vier Replikaten ab Tag sieben immer aus derselben Flasche, wodurch das Kopfvolumen und damit auch der Luftsauerstoff in der Ölfflasche anstiegen.

Ein weiterer Versuchsansatz war für die Semiquantifizierung der freien Radikale mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie erforderlich, weil das eingesetzte Spintrap-Reagenz, PBN ( $\alpha$ -Phenyl-*tert*-Butylnitrone), antioxidative Eigenschaften besitzt [Velasco et al., 2005] und dadurch die Bildung primärer Oxidationsprodukte verzögert wird. Für diesen Versuchsansatz wurden je zwei Palm- und Sojaflaschen mit 20 mM

PBN versetzt, und davon eine mit Retinylpalmitat angereichert. In diesem Ansatz wurde ausschließlich der Einfluss von Luftsauerstoff und Vitamin A auf die Produktion freier Radikale bei Bestrahlung untersucht (Abb. 14).

#### 4.2.2 Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in PBN-angereicherten Flaschen

Für die Ermittlung des Sauerstoffgehaltes wurde das Kopfvolumen in der Flasche vor und nach jeder Probenahme ermittelt. Zu Beginn der Studie wurde die Flasche randvoll mit Öl aufgefüllt und abgewogen. Die Einwaage von 522 g entspricht bei einer Dichte von Palm- und Sojaöl von 0,92 g/mL einem Ölvolumen von 536 mL. Anschließend wurde wieder Öl aus der Flasche entnommen, bis eine Einwaage von  $470 \pm 1$  g erreicht war. Die Differenz der Einwaage betrug 52,7 g bzw. 56,9 mL. Da der Sauerstoffgehalt in der Luft mit 20,95 % bekannt ist [Möller, 2003], konnte der tatsächliche Sauerstoffgehalt (mL) berechnet werden. Für die Probenaufbewahrung nach Abschluss des Lagerversuchs wurden Behältnisse unterschiedlichen Volumens ausgewählt. Es gab 15- und 10-mL Röhren und Zentrifugenröhren mit 1,5 mL. Je nach Ölmenge im Behältnis variierte das Entnahmevermögen zwischen 3,80 mL und 24,1 mL pro Probenahmetag.

Tabelle 2: Messtage und Sauerstoffvolumen von Palm- und Sojaöl aus Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen

Messtag	Sauerstoffvolumen (mL)
1	11,9
3	13,5
7	16,7
14	17,5
21	18,3
28	23,3
35	28,4
56	43,5
84	63,7

Von Studienstart bis Tag 21 wurden an 9 Tagen jeweils 3,80 mL Öl aus einer Flasche entnommen, danach erfolgten weitere 9 Probenahmetage mit jeweils 24,1 mL Öl. Die

Entnahme von Öl führte zur Reduktion des Ölvolumens in der Flasche, das Sauerstoffvolumen hingegen stieg an. In Tabelle 2 sind die ermittelten Werte der Sauerstoffvolumina an den jeweiligen Messtagen dargestellt. Die Messungen der entnommenen Proben erfolgten an den in Abb.15 dargestellten Tagen.

#### **4.2.3 Anreicherung mit Retinylpalmitat**

Zur Testung der Stabilität von Vitamin A in Sojaöl und der Ermittlung des Einfluss von Vitamin A in Palm- und Sojaöl auf die Lipidoxidation wurden die Öle mit öligem Retinylpalmitat angereichert. Der empfohlene Bereich der Anreicherung mit Vitamin A liegt laut WHO-EMRO zwischen 40 bis 80 I.E./g [Allen et al., 2004]. In den Flaschen wurden jeweils 60 I.E. oder 36,26 µg Retinylpalmitat pro Gramm Öl durch Pipettieren vorgelegt. Nach langsamen Zufließen des Öles und anschließendem kräftigen Schütteln konnte eine gute Mischung der beiden öligen Komponenten in Sojaöl erzielt werden. Durch die halbfeste Konsistenz von Palmöl bei Raumtemperatur konnte eine vollständige Mischung nicht gewährleistet werden, weshalb die Bestimmung des Retinolgehaltes nur in Sojaöl durchgeführt wurde.

#### **4.2.4 Probenahme und Analysetage**

Die Probenahme erfolgte an den Studientagen 1 - 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 und 84 (Abb. 14) für die jeweilige Bedingung immer zur gleichen Uhrzeit. Wie in Abbildung 15 erkennbar ist, variiert die Analysenanzahl der entnommenen Proben zwischen den Methoden. Während Peroxidzahl und konjugierte Diene an 13 Probennahmetagen gemessen wurden, erfolgte die Ermittlung des PBN-Adduktes an neun Tagen. Retinol und Tocopherole wurden an drei beziehungsweise fünf Tagen quantifiziert.

Die Bestimmung der Peroxidzahl erfolgte am Tag der Probenahme, für alle anderen Methoden wurden die Ölproben bei -80°C in Zentrifugenröhrchen oder 15-mL-Röhrchen bis zur Untersuchung mit zusätzlichem Rückstellmuster gelagert. Die Proben für die ESR-Messungen wurden direkt nach den Probenahmen und vor dem Einfrieren in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

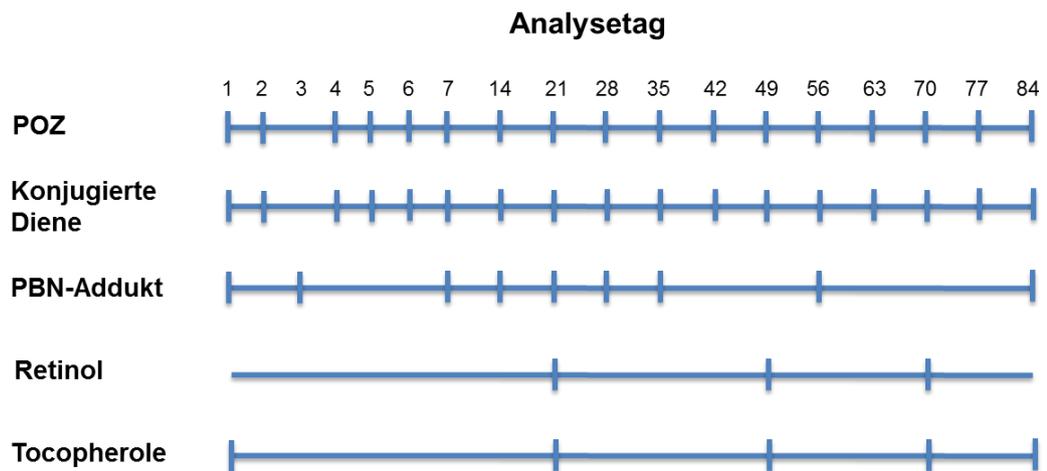


Abbildung 15: Analysetage zur Bestimmung von Peroxidzahl (POZ), konjugierte Diene und PBN-Addukt in Palm- und Sojaöl, für Retinol und Tocopherole von Sojaöl

## 4.2.5 Titrimetrische Bestimmung der Peroxidzahl

### 4.2.5.1 Definition

Die hier durchgeführte Bestimmung der Peroxidzahl erfolgte gemäß Wheeler [Wheeler, 1932]. Die Peroxidzahl ist ein Maß für den Gehalt eines Fettes oder Öles an peroxidisch gebundenen Sauerstoff, insbesondere an Hydroperoxiden. Die Peroxidzahl gibt die in einem Kilogramm der Probe enthaltene Anzahl an Milliäquivalenten (mÄq) aktivem Sauerstoff an und wird in 1/8 mmol/kg angegeben [Wheeler, 1932; Matissek et al., 2010].

### 4.2.5.2 Prinzip der Methode

Die Probe wird in einem Gemisch aus Chloroform und Eisessig gelöst und mit einer Kaliumiodid-Lösung versetzt. Durch Reaktion mit den Peroxidgruppen wird Iod freigesetzt, welches anschließend durch Titration mit Natriumthiosulfat-Lösung bestimmt wird [Matissek et al., 2010].

### 4.2.5.3 Durchführung

Mit einer Pasteurpipette wurden 5 g Probe eingewogen, in einem 100 mL Erlenmeyerkolben in 30 mL Eisessig-Chloroform-Gemisch (3:2) gelöst und 0,5 mL einer gesättigten Kaliumiodid-Lösung zugesetzt. Nach dem Schließen des Kolbens

wurde genau eine Minute geschüttelt und 30 mL dest. Wasser zugefügt. Ausgeschiedenes Jod wurde mit 0,1 N Natriumthiosulfatlösung mit ca. zwei Tropfen Stärkelösung als Indikator titriert. Auf gleiche Weise wurde ein Blindversuch angesetzt (Titration mit 0,02 N Natriumthiosulfat).

#### 4.2.5.4 Auswertung

$$POZ = \frac{(a - b) \times N \times 1000}{E}$$

- a verbrauchte mL Thiosulfat-Lösung im Hauptversuch
- b verbrauchte mL Thiosulfat-Lösung im Blindversuch
- N Normalität der Thiosulfat-Lösung
- E Einwaage

$$POZ \text{ von Tag } y (\%) = \frac{POZ (\text{Tag } y) \times 100 \%}{POZ (\text{Tag } 1)}$$

Tag y... jeweiliger Studientag

Die Ergebnisse der Peroxidzahlbestimmungen wurden in Prozent berechnet und dargestellt. Der Ausgangswert von Tag 1 wurde auf 100% gesetzt, die darauffolgenden Messwerte stiegen entweder an (> 100 %) oder ab (< 100 %).

## 4.2.6 Bestimmung konjugierter Diene mit Photometer

### 4.2.6.1 Prinzip der Methode

Die durch Oxidation entstandenen konjugierten Diene weisen ihr Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 232 bis 234 nm auf, wodurch sie spektrophotometrisch gemessen werden können [Warner und Eskin, 1995].

### 4.2.6.2 Durchführung

Die Probenmessung wurde in Anlehnung an Pegg durchgeführt [Pegg, 2001]. Mit einer Pipette wurden 0,01 g Ölprobe in einen 10-mL Messkolben eingewogen. Zum Lösen des Öls wurde der Messkolben mit Isooktan (2,2,4-Trimethylpentan) aufgefüllt und gut gevortext. Die Messung der gelösten Ölprobe erfolgte mittels eines Spektrophotometers bei einer Wellenlänge von 233 nm in Quarzküvetten. Vor der

ersten Probenmessung wurde der Lösungsmittel-Leerwert gemessen und von den folgenden Proben abgezogen [Pegg, 2001].

#### 4.2.6.3 Auswertung

$$c_{CD} = \frac{A_{233}}{\varepsilon \times l}$$

$$CD - \text{Wert} = \frac{c_{CD} \times 10^4}{W}$$

$c_{CD}$  Konzentration konjugierter Diene in mmol/mL

$A_{233}$  Absorption einer Fettlösung bei 233 nm

$\varepsilon$  Absorptionskoeffizient von Linolsäurehydroperoxid ( $2,525 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

$l$  Weglänge durch die Küvette in cm

$10^4$  Volumen von Isooktan, das zur Lösung der Ölprobe verwendet wird [ $\mu\text{L}$ ]

$W$  Einwaage der Ölprobe in g

$$CD \text{ von Tag } y (\%) = \frac{CD (\text{Tag } y) \times 100 \%}{CD (\text{Tag } 1)}$$

Tag y... jeweiliger Studientag

Die Ergebnisse der Bestimmung der konjugierten Diene wurden in Prozent berechnet und dargestellt. Der Ausgangswert von Tag 1 wurde auf 100% gesetzt, die darauffolgenden Messwerte stiegen entweder an ( $> 100 \%$ ) oder ab ( $< 100 \%$ ).

## 4.2.7 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie zur Bestimmung freier Radikale

### 4.2.7.1 Allgemeines zu ESR

Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR) ist eine verbreitete Methode zur direkten Messung von freien Radikalen. Die Funktionsweise ähnelt der von NMR-Spektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance). Mit Hilfe der ESR wird unter Resonanzbedingung die Mikrowellenabsorption einer Probe in einem äußeren Magnetfeld gemessen. Dies macht sie zu einer geeigneten Methode zur Untersuchung von paramagnetischen Proben, die über ein paramagnetisches Moment (ungepaarte Elektronen) verfügen.

Wird eine Probe mit ungepaarten Elektronen in ein Magnetfeld gebracht, so spalten sich die entarteten Energiezustände auf, was auch als Zeeman-Effekt bezeichnet wird. Mit ESR werden Übergänge zwischen Energieniveaus gleicher Hauptquantenzahl beobachtet: Durch Bestrahlung der Probe mit einer Mikrowellenfrequenz, deren Energie der Aufspaltung der Energieniveaus entspricht, kommt es zur Absorption. Die zu untersuchende Probe wird mit einer Mikrowelle konstanter Frequenz in einem variablen Magnetfeld bestrahlt. Das aufgezeichnete Absorptionsspektrum erlaubt Rückschlüsse auf die elektronische Umgebung [Berliner und Reuben, 1989]. Aufgrund der hohen Reaktivität und kurzen Lebenszeit sind diese freien Radikale sehr instabil. Um das Problem der Instabilität zu lösen, wurde in den 1970er Jahren die sogenannte Spin-trapping-Methode entwickelt. Die freien Radikale können mit dem Spin-trapping-Reagenz, das eine Nitro- oder Nitrosoverbindung ist, reagieren und ein stabileres paramagnetisches Spin-Addukt bilden, welches mittels ESR direkt nachgewiesen werden kann. Je nach Radikalspezies gibt es verschiedene Spin-Trap-Reagenzien, wie zum Beispiel PBN, welches sich besonders zur Quantifizierung Kohlenstoff-zentrierter freier Radikale eignet [Janzen und Blackburn, 1969; Janzen und Gerlock, 1969; Janzen, 1971; Pignitter und Somoza, 2012a; Xu et al., 2012]. Die molare Sensitivität von ESR für die Detektion freier Radikale in einem biologischen System liegt bei  $10^{-10}$  M [Mason und Fann, 2012]. Im Jahr 2005 kamen Velasco et al. zum Erkenntnis, dass mittels ESR-Spektroskopie eine signifikante Entwicklung von Radikalen zu messen ist, bevor ein signifikanter Anstieg der Peroxidzahl erreicht wird. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass die ESR eine sehr sensitive Methode darstellt und die entstehenden Radikale vor der Bildung von Hydroperoxiden t.

ESR-Spektroskopie eignet sich, um frühe Stadien und den Beginn (Initiation) der Lipidoxidation zu ermitteln. Mit der sogenannten Spin-Trapping-Technik wird die Bildung freier Radikale gemessen, um die oxidative Stabilität verschiedener Nahrungslipide zu bestimmen [Velasco et al., 2004].

Die Auswertung erfolgt über Kopplungskonstanten, welche charakteristisch für die jeweiligen Nitroxylradikale sind und durch die Kopplung von ungepaarten Elektronen mit dem Stickstoffkern ( $^{14}\text{N}$ ,  $I = 1$ ) und dem Wasserstoffkern ( $^1\text{H}$ ,  $I = \frac{1}{2}$ ) am benachbarten Kohlenstoff hervorgerufen werden [Velasco et al., 2005].

Im Fall der hier vorliegenden Studie würde dies bedeuten, dass es zu einer Aufzeichnung von sechs Signalen kommen müsste. Aufgrund der Linienverbreiterung, die durch die Matrix Öl entsteht, sind nur drei Signale sichtbar. Die Amplitude des mittleren Signals wird bei  $\sim 3487$  G zur Semiquantifizierung herangezogen.

#### 4.2.7.2 ESR-Bedingungen für die Studie

Die ESR-Experimente wurden mit einem Spektrometer der Firma Bruker und einer X-Band Brücke bei ca. 9 GHz, ausgestattet mit einem TM 110-Hohlraumresonator mit einer Frequenzmodulation von 100 kHz, durchgeführt. Die Mikrowellen wurden durch eine Gunndiode erzeugt. Die Messungen der Proben mit je einem Volumen von 500  $\mu$ l mit 20 mM PBN wurden bei Raumtemperatur unter Ausschluss von Licht in einer Quarz-Flachzelle (TE 102) durchgeführt. Die Einstellungsparameter (Tabelle 3) wurden für jede Bestimmung immer konstant gehalten, nur die Signalverstärkung wurde bei jeder Messung angepasst.

Tabelle 3: Bedingungen für die Messung mit ESR, G = Gauss

Modulation Frequency	100 kHz
Modulation Amplitude	1,32 G
Conversion Time	81,92 msec
Time Constant	81,92 msec
Resolution	1024
Sweep time	83,89 sec
Center field	3490.62 G
Sweep width	71,3 G
Microwave power	20 mW

Die Simulierung des Spektrums zur Berechnung der hyperfeinen Kopplungskonstanten erfolgte mit Public EPR Software Tools (PEST) des National Institutes of Environmental Health Sciences, welche auf [www.epr.niehs.nih.gov](http://www.epr.niehs.nih.gov) im Internet frei verfügbar sind. Der Korrelationskoeffizient zwischen aufgezeichnetem und simuliertem Spektrum betrug 0,89. Die Kopplungskonstanten waren 14,81 G und 2,00 G. Für jede Probe wurden fünf Scans durchgeführt und deren Ergebnisse summiert.

Abbildung 16 zeigt ein repräsentatives Spektrum von bestrahltem mit Retinylpalmitat angereichertem Palmöl an Tag 28.

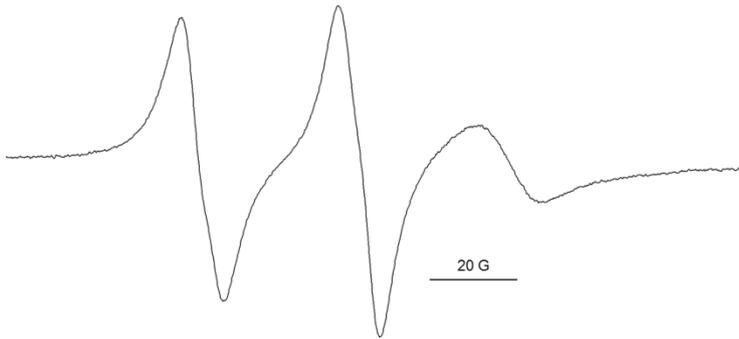


Abbildung 16: Repräsentatives ESR-Spektrum von bestrahltem Palmöl mit Retinylpalmitat von Tag 28

## 4.2.8 Bestimmung von Retinol in Sojaöl

### 4.2.8.1 Prinzip der Methode

Da Retinol bei einer Wellenlänge von 325 nm sein Absorptionsmaximum aufweist, kann es mit einer UV-Detektion nachgewiesen werden [Gleize et al., 2012; Rodas Mendoza et al., 2003]. Die Detektion von Retinol wird aber erst durch Umwandlung von Retinylpalmitat durch Verseifung und Neutralisation ermöglicht [Lailou et al., 2012a].

### 4.2.8.2 Durchführung

Die Bestimmung erfolgte gemäß Bognar [Bognar; 1986]. Die Empfindlichkeit gegenüber Luftsauerstoff und Licht erforderte ein Arbeiten unter Ausschluss von Licht und Sauerstoff (Stickstoffspülung). Im Mittel  $1,0 \pm 0,2$  g der Ölprobe wurde in einen 250 mL Dreihalsrundkolben mit Hahn eingewogen. Durch Zugabe von 20 mL einer 10,7 M Kaliumhydroxid-Lösung, 100 mL Ethanol (reinst. 96 %), 30 mL dest. Wasser,  $1,0 \pm 0,05$  g Natriumascorbat und 2 mL 0,51 M Natriumsulfid-Lösung, welches mit  $N_2$  begast wurde, erfolgte eine Verseifung des Öles. Die Reaktionsmischung wurde im auf  $80^\circ\text{C}$  vorgeheizten Wasserbad am Rückflusskühler unter ständigem Rühren zum Sieden erhitzt und unter einem langsamen Stickstoffstrom 30 min am Sieden gehalten. Nach Beendigung der Verseifung musste der Kühler mit 20 mL bidest. Wasser gespült und der Kolbeninhalt unter fließendem kaltem Wasser auf etwa  $15^\circ\text{C}$  abkühlt werden.

Die Verseifungslösung wurde mit 28 mL kaltem Wasser (max. 15°C) und 100 mL Hexan in einen 500-mL-Scheidetrichter überführt. Durch kräftiges Schütteln (etwa zwei Minuten) kam es zur Extraktion. Nach Abwarten der Phasentrennung (etwa zwei Minuten) wurde die untere wässrige Phase in einen zweiten 500-mL-Scheidetrichter abgelassen. In den Scheidetrichter mit wässriger Phase wurden 100 mL Hexan zugefügt und wieder geschüttelt und extrahiert. Dieser Extraktionsvorgang erfolgte nochmals mit 100 mL Hexan, danach wurde mit zweimal 50 mL Hexan extrahiert, wobei die Hexanphasen im Scheidetrichter gesammelt wurden. Die vereinigten Hexanextrakte wurden im Scheidetrichter durch viermaliges Ausschütteln mit je 100 mL kaltem (etwa 15°C) bidest. Wasser gewaschen. Zur Entfernung von eventuell suspendierten Wassertropfen wurde Natriumsulfat zugefügt und über einen Faltenfilter in einen 500 mL-Rundhalskolben filtriert. Mit 50 mL Hexan spülte man Scheidetrichter, Filter und Trichter. Am Rotationsverdampfer wurde das Lösungsmittel bei einem Druck von 190 mbar und 35°C bis zur Trockene eingedampft und das Restlösungsmittel durch Ausblasen mit Stickstoff entfernt. Der Rückstand wurde in 5 mL Methanol gelöst [Bognar; 1986].

Die Bestimmung von Retinol erfolgte mittels HPLC mit UV-Detektion nach der Anleitung von Bognar (Tabelle 4) [Bognar; 1986].

Tabelle 4: Bedingungen der HPLC-Anlage für die Bestimmung von Retinol

HPLC-System	Dionex UltiMate 3000 Standard LC System
Pumpe	Dionex UltiMate 3000 Binary Pump, Hochdruckpumpe
Detektor	Dionex Diodenarraydetektor, DAD-3000
Stationäre Phase	C18(2) Luna®, 100 A, 250 x 3,00 mm, 5 µm, Phenomenex
Mobile Phase	Methanol/ bidest. Wasser (98/2) v,v, isokratisch
Flussrate	0,5 mL/min
Injektionsvolumen	20 µL
Detektionswellenlänge	325 nm

Retinol eluierte nach 4,7 Minuten.

Ein repräsentatives Chromatogramm von Retinol in Sojaöl wird in Abb. 17 dargestellt. Die Fläche des Peaks wurde nach manueller Integration mit Hilfe der Software Chromeleon 6.80 SR9, Dionex berechnet.

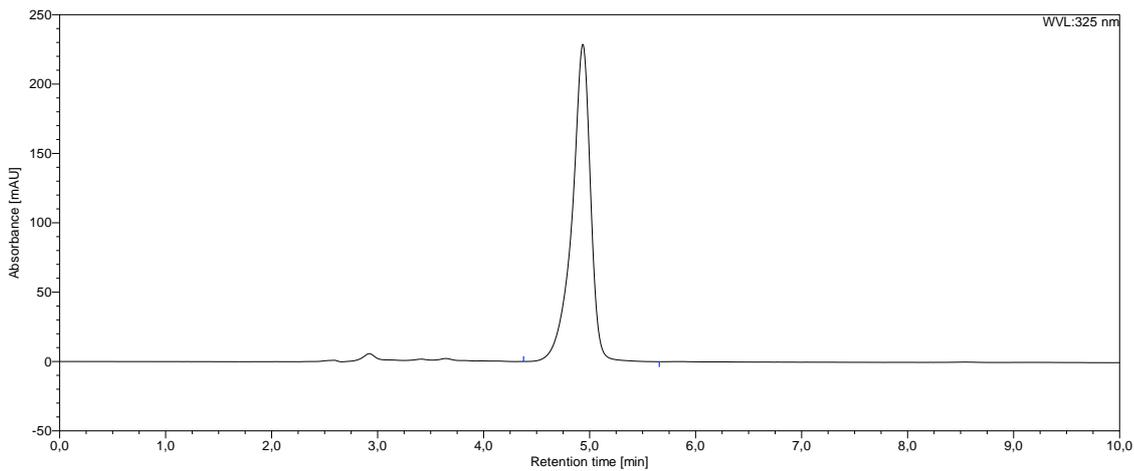


Abbildung 17: Repräsentatives Chromatogramm von Retinol in bestrahltem Sojaöl aus einer Flasche mit ansteigendem Kopfvolumen von Tag 49

#### 4.2.8.3 Auswertung

Zur Quantifizierung von Retinol in Sojaöl wurde eine Kalibriergerade erstellt. Dazu wurden Standardlösungen von Retinol in Methanol gelöst, in unterschiedlichen Konzentrationen (0,01–25 µg/mL) hergestellt und jeweils zweimal in die HPLC-Anlage injiziert. Die errechnete Peakfläche [mAU\*min] für die Retinol-Standardlösungen wurde gemittelt und dann auf die Ordinatenachse und die Konzentrationen [µg/mL] auf die Abszissenachse aufgetragen. Auf diese Weise konnte die Kalibriergerade mit Retinol erstellt werden (Abbildung 18).

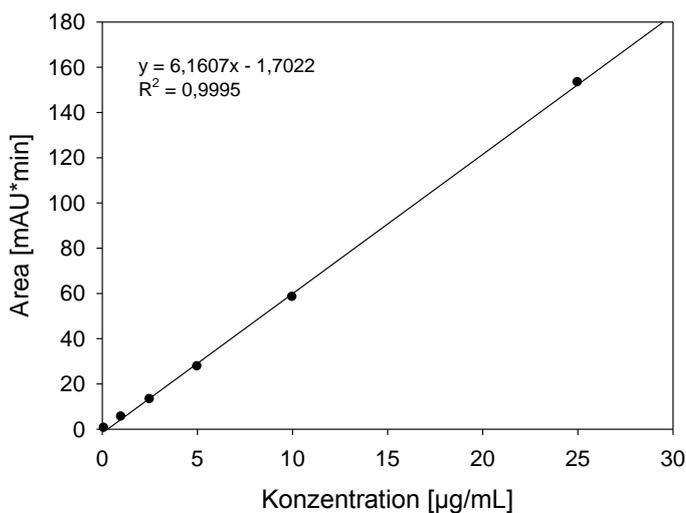


Abbildung 18: Kalibriergerade von Retinol

Die Wiederfindung von Retinol wurde berechnet, indem nach Zugabe einer bekannten Menge Retinylpalmitat (39,41 µg/mL Öl) das Öl aufgearbeitet wurde. Im Zuge der Verseifung kam es zu einer Umwandlung von Retinylpalmitat in Retinol, welches mithilfe der Kalibriergerade quantifiziert werden konnte. Die Wiederfindungsrate betrug  $88,5 \pm 8,15$  %. Dieser Wert wurde für die nachfolgenden Bestimmungen von Retinol berücksichtigt.

#### **4.2.9 Bestimmung der Tocopherole in Sojaöl**

##### **4.2.9.1 Prinzip der Methode**

Für die Detektion von Vitamin E-Homologen und Isomeren gibt es eine Vielzahl an Methoden [Galeano Diaz et al., 2007; Gimeno et al., 2000; Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004]. Die Trennung kann sowohl über Normal- als auch über Umkehrphasen (Reversed phase – RP)- Flüssigkeitschromatographie erfolgen [Galeano Diaz et al., 2007]. Zur Detektion eignen sich UV (295 nm)- und/oder Fluoreszenzspektroskopie [Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004]. Mit Normalphasen-Säulen lassen sich alle Tocopherole trennen, mit RP-Säulen hingegen kann eine Trennung von  $\beta$ - und  $\gamma$ -Tocopherol nicht gewährleistet werden [Galeano Diaz et al., 2007; Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004]. Ist eine Trennung von  $\beta$ - und  $\gamma$ -Tocopherol nicht unbedingt erforderlich, werden RP-Säulen bevorzugt [Gimeno et al., 2000; Tasioula-Margari et al., 2001]. Weil Tocopherole licht- und luftempfindlich sind, wird von zeitintensiven Ölaufbereitungsmethoden, die Verseifung und mehrfache Extraktions-, Trocknungs- und Aufkonzentrierungsschritte beinhalten, abgeraten [Dionisi et al., 1995]. Eine lange Expositionszeit im basischen Milieu führt ebenso zu signifikanten Abnahmen an  $\alpha$ -Tocopherol [Lietz et al., 1997; Rupérez et al., 1998]. Um den Verlust an Tocopherolen im Rahmen der Aufarbeitung für die HPLC-Analyse möglichst gering zu halten, werden schnelle Methoden gewählt, bei denen die Matrix nur in einem organischen Lösungsmittel gelöst und danach injiziert wird.

Da  $\beta$ -Tocopherol in Sojaöl nur in sehr geringem Ausmaß enthalten, und daher quantitativ vernachlässigbar ist, wurde eine Methode mit einer RP-Säule gewählt [Yoshida et al., 1998].

#### 4.2.9.2 Durchführung

Es wurden 0,05 g Sojaöl in 1 mL 2-Propanol gelöst und gut gevortext. Die Proben wurden wie von Gliszcyńska-Świgło und Sikorska beschrieben, direkt in die HPLC injiziert [Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004]. Um die HPLC-Säule jedoch nicht mehr als nötig zu belasten, werden die Proben vor der Injektion mit Nylonfilter (0,2 µm) filtriert. Die Bedingungen für die Detektion der Tocopherole werden in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Bedingungen der HPLC für die Bestimmung der Tocopherole

HPLC-System	Dionex UltiMate 3000 Standard LC System
Pumpe	Dionex UltiMate 3000 Binary Pump, Hochdruckpumpe
Detektor	Dionex Diodenarraydetektor, DAD-3000
Stationäre Phase	C18(2) Luna®, 100 Å, 250 x 3,00 mm, 5 µm, Phenomenex
Mobile Phase	Methanol/ bidest. Wasser (98/2), isokratisch
Flussrate	0,5 mL/min
Injektionsvolumen	20 µL
Detektionswellenlänge	295 nm

Ein repräsentatives Chromatogramm der Tocopherole in Sojaöl ist in Abbildung 19 dargestellt. Nach manueller Integration wurden die Flächen der einzelnen Peaks mit der Software Chromeleon 6.80 SR9, Dionex berechnet.

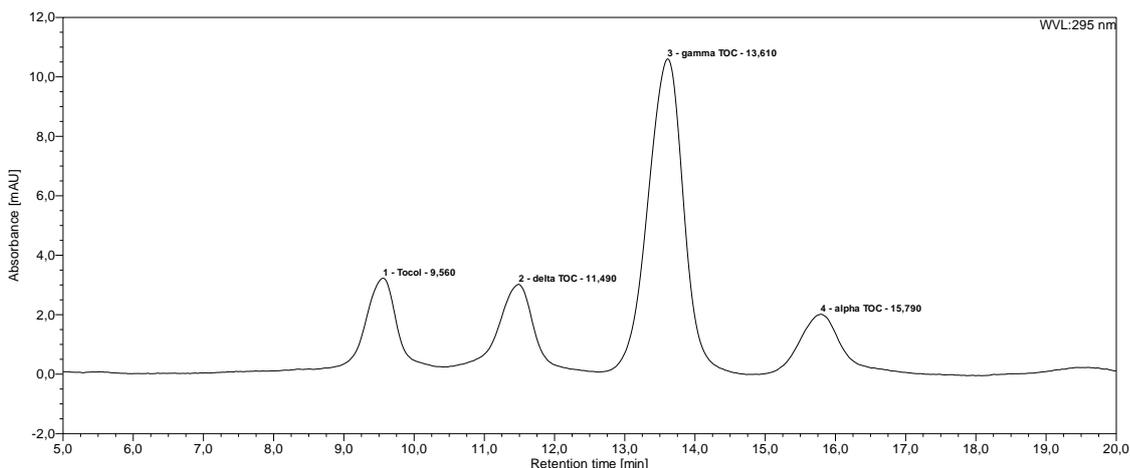


Abbildung 19: Repräsentatives Chromatogramm von Tocol und der einzelnen Tocopherole in bestrahltem Sojaöl aus einer Flasche mit ansteigendem Kopfvolumen von Tag 21. Tocol eluierte nach 9,56 Minuten, δ-Tocopherol nach 11,2 Minuten, α-Tocopherol nach 13,2 Minuten und γ-Tocopherol nach 15,8 Minuten

### 4.2.9.3 Auswertung

Nach Identifizierung der einzelnen Tocopherolpeaks mit Standards erfolgte die Quantifizierung der einzelnen Tocopherole über Kalibriergeraden. Dazu wurden verschiedene Konzentrationen (1-1000 µg/mL) mit Methanol als Lösungsmittel hergestellt und je zweimal in die HPLC-Anlage injiziert. Die errechneten Flächen [mAU\*min] für α-, γ- und δ-Tocopherol Standardlösungen wurden gemittelt und dann auf die Ordinatenachse und die Konzentrationen [µg/mL] auf die Abszissenachse aufgetragen. Auf diese Weise konnten die Kalibriergeraden der einzelnen Tocopherole ermittelt werden (Abbildung 20).

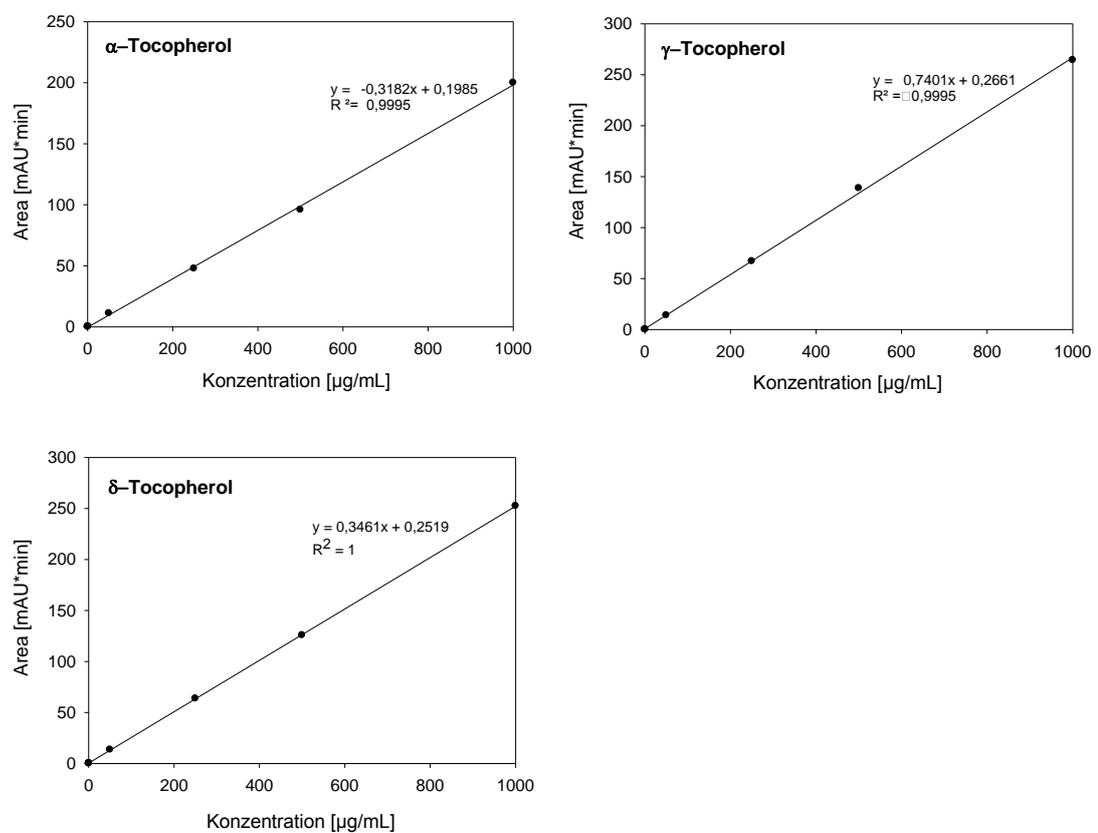


Abbildung 20: Kalibriergeraden für die Tocopherole alpha (α), gamma (γ) und delta (δ)

Die Gesamttocopherole wurden, wie in der Literatur beschrieben, durch Addition der Einzeltocopherole berechnet [Carpenter, 1979; Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004; Souci-Fachmann-Kraut, 2009].

Die Berechnung der Wiederfindung der Tocopherole erfolgte über Tocol als internen Standard. Es wurde eine Tocolstandardlösung hergestellt und zweimal in die HPLC

injiziert. Vor jeder Ölaufbereitung wurden dem Öl 8 µg/mL Tocolstandard zugegeben. Da die Tocolkonzentration sowohl in der reinen Standardlösung als auch im Öl gleich waren, konnte über den Vergleich der Peakflächen eine Wiederfindungsrate von  $124 \pm 11,2$  % ermittelt werden.

### 4.3 Statistische Analyse

Vor jeder statistischen Analyse kam zur Überprüfung der Daten auf Normalverteilung der Shapiro-Wilk-Test zum Einsatz.

Um die Messergebnisse der Peroxidzahl und der konjugierten Diene zwischen den Behandlungen vergleichbar zu machen, wurde bei jeder einzelnen Behandlung der erhaltene Messwert des ersten Tages auf 100 % gesetzt. Somit konnte ein gemeinsamer Ausgangswert gewährleistet und die darauffolgenden Veränderungen verglichen werden.

Für beide Öle wurde der Unterschied zwischen der jeweiligen Behandlung und der Kontrolle überprüft. Als behandelte Ölproben galten jene Ölfaschen, welche einer Bestrahlung mit sichtbarem Licht ausgesetzt waren, oder welche durch die Entnahme von Öl aus der gleichen Flasche einen ansteigenden Luftsauerstoffgehalt im Kopfraum vorweisen konnten. Als Kontrollproben wurden Ölproben bezeichnet, die im Dunkeln gelagert wurden, oder die aus Ölfaschen mit konstantem Kopfvolumen entnommen wurden. Zusätzlich wurde zwischen mit Retinylpalmitat angereicherten Ölen und nicht angereicherten unterschieden. Um den Verlauf über die Studienzeit zu berücksichtigen, wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) ermittelt und mit einem t-Test überprüft, ob es Unterschiede zwischen der jeweiligen Behandlung und Kontrolle gibt. Die Differenz zwischen der AUC einer Behandlung und der jeweiligen Kontrolle wurde als  $\Delta$  AUC abgebildet.

In der Arbeit wurden die Ergebnisse für Peroxidzahl und konjugierte Diene im Text und in den Abbildungen als Mittelwert $\pm$ Standardfehler des Mittelwerts (SEM) (%) dargestellt.

Die Intensität des Signals der PBN-Addukte bei ~3487 G diente als Grundlage zur Berechnung und Darstellung der Resultate der ESR-Messungen. Die Darstellung von Retinol und Tocopherolen erfolgte in  $\mu\text{g/mL}$ .

Die Stichprobengröße war, wenn nicht anders angegeben, für die angewendeten Analysemethoden 4.

Die Mittelwertvergleiche innerhalb einer Behandlungsart bei Peroxidzahl und konjugierten Dienen, sowie bei Retinol und Tocopherolen wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen ANOVA mit der Holm-Sidak-Methode festgestellt.

Statistisch signifikante Unterschiede wurden in den Abbildungen mit den Buchstaben a bis c, oder wenn nur auf die Kontrolle Bezug genommen wurde mit \* gekennzeichnet.

Für die statistischen Tests wurde, wenn nicht anders angegeben, ein Signifikanzniveau von 5 % gewählt.

Die Abbildungen wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SigmaPlot 11 (Firma Systat Software GmbH) erstellt.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Einfluss von Bestrahlung auf den oxidativen Status von Speiseöl bei konstantem Kopfvolumen

#### 5.1.1 Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Palmöl

Im Zuge der hier vorliegenden Studie wurde die Peroxidzahl mit der Methode nach Wheeler [Wheeler, 1932] über einen Zeitraum von drei Monaten titrimetrisch bestimmt. Ziel dieses Versuchsansatzes war, zum ersten Mal den Einfluss von Sonnenlicht im sichtbaren Bereich in An- und Abwesenheit von Retinylpalmitat zu ermitteln. Wie in Abbildung 21 A erkennbar ist, kam es bei Palmöl ohne Zusatz von Retinylpalmitat durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht zu einem stärkeren Anstieg der Peroxidzahl im Vergleich zu dunkel gelagertem Palmöl. Im Gegensatz dazu zeigte Palmöl, das mit Retinylpalmitat angereichert wurde, eine geringere Entwicklung der primären Lipidoxidationsprodukte durch Bestrahlung als bei Dunkellagerung (Abb. 21 B). Bei bestrahltem Palmöl ohne Retinylpalmitatzugabe kam es schon am zweiten Tag zu einer Zunahme der Peroxidzahl um  $248 \pm 56,5$  %, in Vergleich zu Palmöl in Anwesenheit von Retinylpalmitat in dunkel gelagerten Flaschen, welches am Tag 84 die maximale Zunahme der Peroxidzahl mit  $122 \pm 10,7$  % erreichte. Abbildung 21 C zeigt, dass bei Palmöl ohne und mit Retinylpalmitatzugabe ein signifikanter Unterschied zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung erkennbar ist. Es war ebenso zu erkennen, dass zwischen Palmöl mit und ohne Retinylpalmitat hinsichtlich der Peroxidzahl eine signifikante Differenz vorlag.

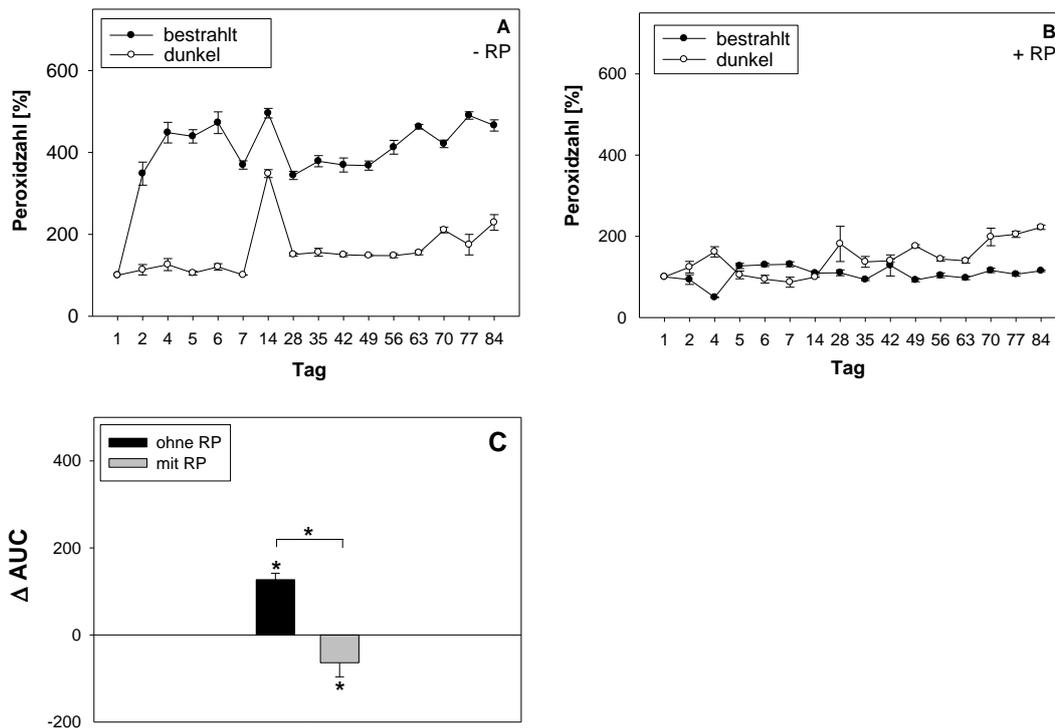


Abbildung 21: Peroxidzahl [%] von bestrahltem und dunkel gelagertem Palmöl ohne (A) und mit Retinylpalmitat (RP) (B),  $n = 4$ . Vergleich von Palmöl mit und ohne RP zur jeweiligen Kontrolle(C), Darstellung als  $\Delta AUC$  = Differenz zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung, signifikanter Unterschied mit \* gekennzeichnet (t-Test)

Eine weitere Methode zur Ermittlung des oxidativen Status von Palmöl bietet die spektrometrische Messung der konjugierten Diene. Die Ergebnisse zeigen, dass Bestrahlung von Palmöl sowohl in An- als auch in Abwesenheit von Retinylpalmitat keinen beschleunigenden Effekt auf die Lipidoxidation hatte (Abb. 22). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen bestrahltem und dunkel gelagertem Palmöl, sowie zwischen Palmöl mit und ohne Retinylpalmitat bezüglich der konjugierten Diene (Abbildung 22 C).

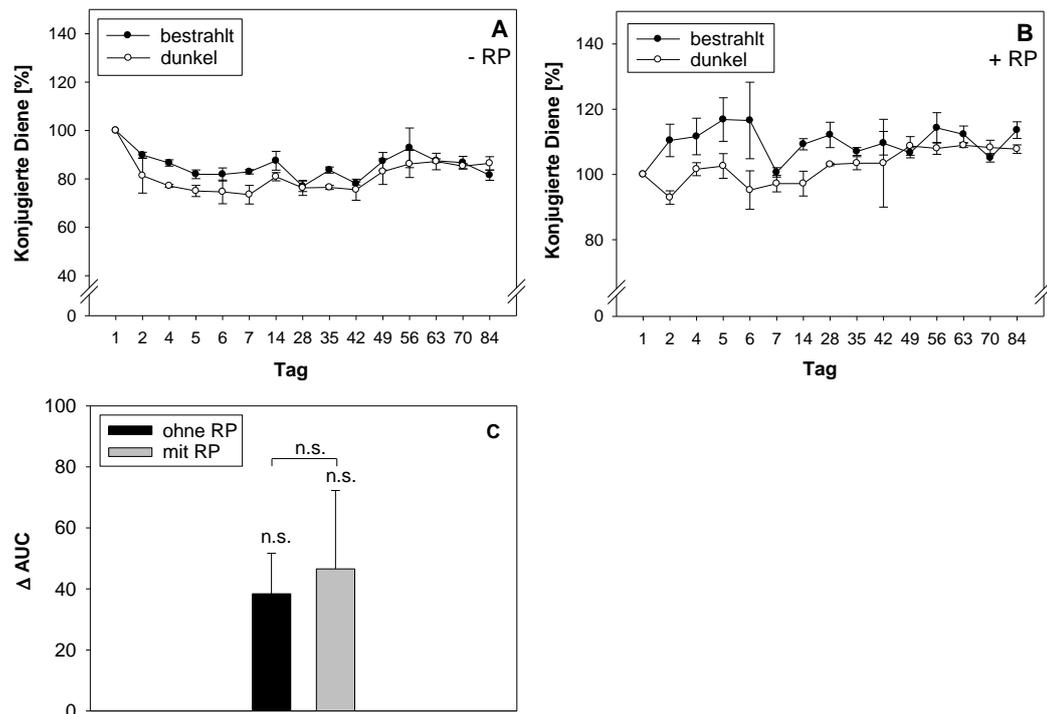


Abbildung 22: Konjugierten Diene [%] von bestrahltem und dunkel gelagertem Palmöl ohne (A) und mit RP (B), Vergleich von Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen Kontrolle (C). Darstellung als  $\Delta$  AUC = Differenz zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung, t-Test

### 5.1.2 Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Sojaöl

Um einen Vergleich zwischen verschiedenen Ölen mit unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzungen ziehen zu können, wurde zusätzlich zu Palmöl die Peroxidzahl von Sojaöl bestimmt. Hier zeigte sich, dass Bestrahlung bei Sojaöl ohne Zugabe von Retinylpalmitat die Lipidoxidation signifikant stärker beschleunigt als Dunkellagerung (Abbildung 23 A und B). Bei Sojaöl mit Retinylpalmitat konnte zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, im Gegensatz zu Sojaöl ohne Retinylpalmitat. Zwischen Sojaöl mit und ohne Retinylpalmitat lag ein signifikanter Unterschied vor (Abbildung 23 C).

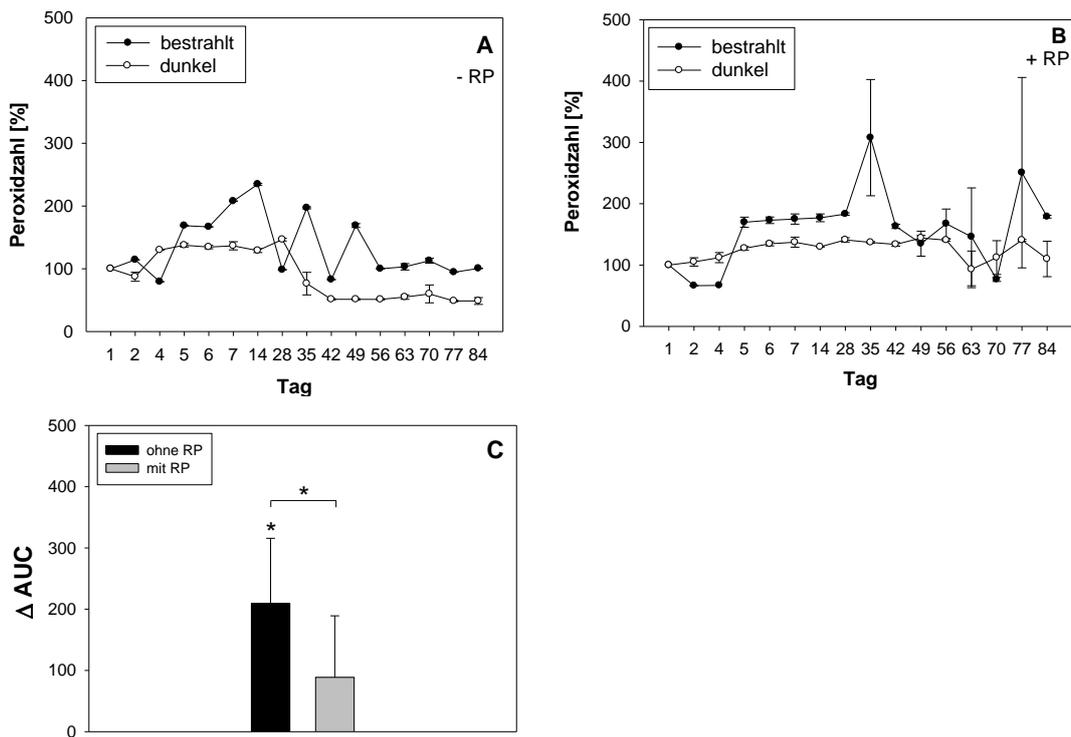


Abbildung 23: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von bestrahltem und dunkel gelagertem Sojaöl ohne (A) und mit RP (B),  $n = 4$ . Vergleich von bestrahltem Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen dunkelgelagerten Kontrolle, Darstellung als  $\Delta AUC$  = Differenz zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung, signifikanter Unterschied mit \* gekennzeichnet (t-Test)

Auch bei Sojaöl wurden die konjugierten Diene mit dem Photometer gemessen, um Informationen über den Verlauf der Lipidoxidation zu erhalten. Die Ergebnisse, welche in Abbildung 24 (A-C) dargestellt sind, zeigen, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen bestrahltem und dunkel gelagertem Sojaöl, sowohl in An- als auch in Abwesenheit von Retinylpalmitat, gab. Auch zwischen Sojaöl mit und ohne Retinylpalmitat konnte kein signifikanter Unterschied gemessen werden.

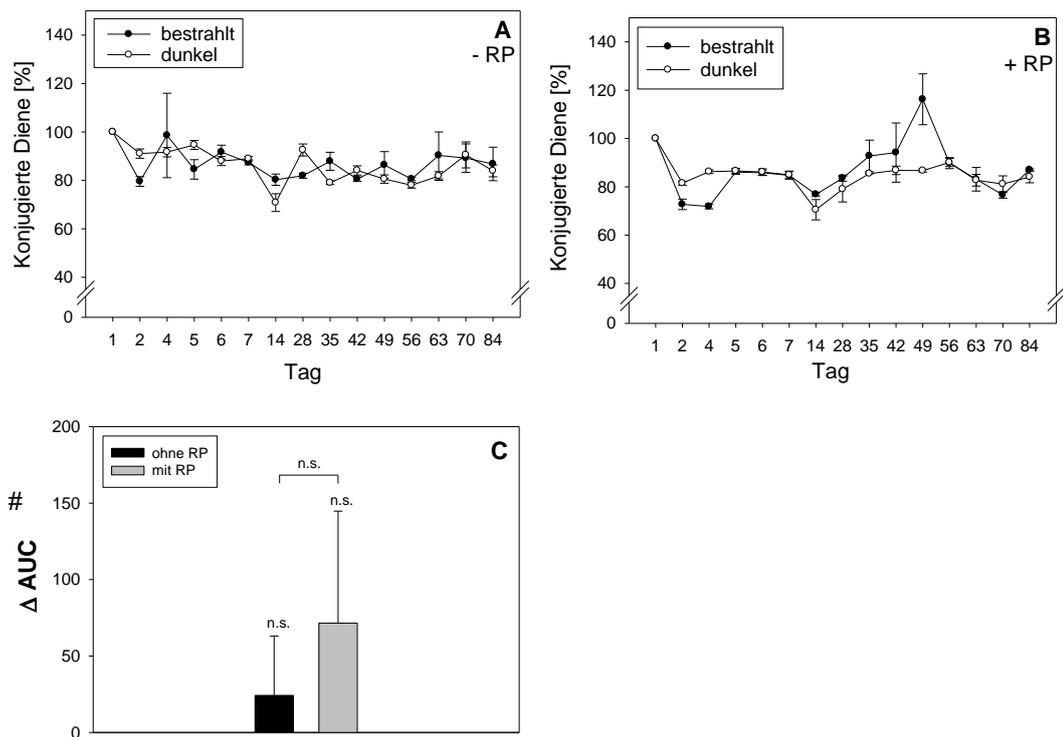


Abbildung 24: Konjugierten Diene [%] von bestrahltem und dunkel gelagertem Sojaöl ohne (A) und mit Retinylpalmitat (B), Vergleich von Sojaöl mit und ohne RP zur jeweiligen Kontrolle (C). Darstellung als  $\Delta AUC$  = Differenz zwischen Bestrahlung und Dunkellagerung (t-Test)

## 5.2 Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich und Luftsauerstoff auf den oxidativen Status in Speiseöl bei ansteigendem Kopfvolumen

In der vorliegenden Studie wurde neben dem Einfluss der Bestrahlung mit sichtbarem Sonnenlicht bei konstantem Kopfvolumen auch der Einfluss von Luftsauerstoff bei gesteigertem Kopfvolumen ermittelt. Es wurden jeweils vier Flaschen mit Palm- und Sojaöl gefüllt und über einen Zeitraum von drei Monaten bestrahlt. Ab Tag 7 der Lagerungszeit wurden in regelmäßigen Abständen Proben zur Peroxidzahlbestimmung entnommen, wodurch das Kopfvolumen in der Ölfflasche anstieg. Bei Erreichen einer Peroxidzahl von 10 wurden dem Öl 60 I.E. Retinylpalmitat/g Öl zugesetzt. Ziel war, den Einfluss von bereits oxidiertem Öl auf die Stabilität von Retinylpalmitat zu ermitteln.

### 5.2.1 Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierten Diene in Palmöl

Um den Einfluss von Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation zu ermitteln, wurden Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen bezüglich ihrer Peroxidzahl verglichen.

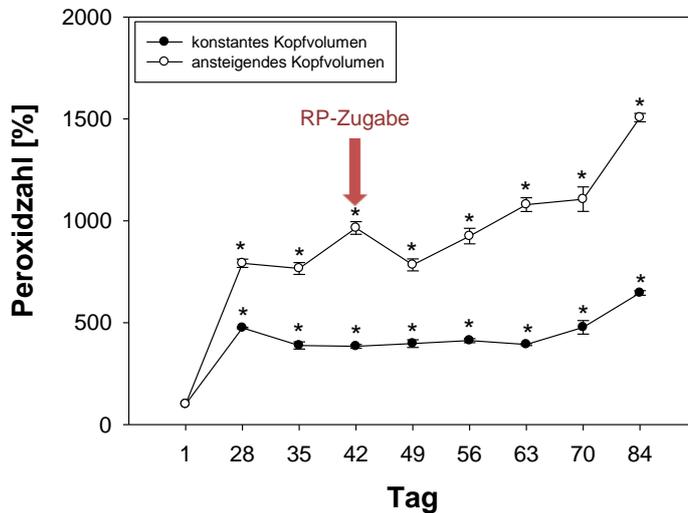


Abbildung 25: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von mit sichtbarem Licht bestrahltem Palmöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 42,  $n = 4$ , signifikanter Unterschied zu Tag 1 mit \* gekennzeichnet (ANOVA)

In Abbildung 25 wird der Verlauf der Peroxidzahl von Palmöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, welches am Tag 42 mit Retinylpalmitat angereichert wurde, dargestellt. Es zeigte sich sowohl in Flaschen mit konstantem als auch mit ansteigendem Kopfvolumen zu allen Zeitpunkten ein signifikanter Unterschied zum Studienstart. Außerdem gab es zwischen den Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen einen signifikanten Unterschied ( $p < 0,001$ ), wodurch der Einfluss von Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation ersichtlich wurde (Abb. 26).

Um den Einfluss des Luftsauerstoffes mit dem Einfluss der Bestrahlung zu vergleichen, wurden die unterschiedlich angewandten Behandlungsarten (Bestrahlung, ansteigendes Kopfvolumen) des Öls abzüglich ihrer jeweiligen Kontrolle in Abb. 25 dargestellt und berechnet. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Palmöl mit und ohne Retinylpalmitat bezüglich Peroxidzahl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen. Außerdem unterschieden sich Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen (Einfluss von Luftsauerstoff) signifikant von Flaschen mit konstantem Kopfvolumen, unabhängig von Retinylpalmitat.

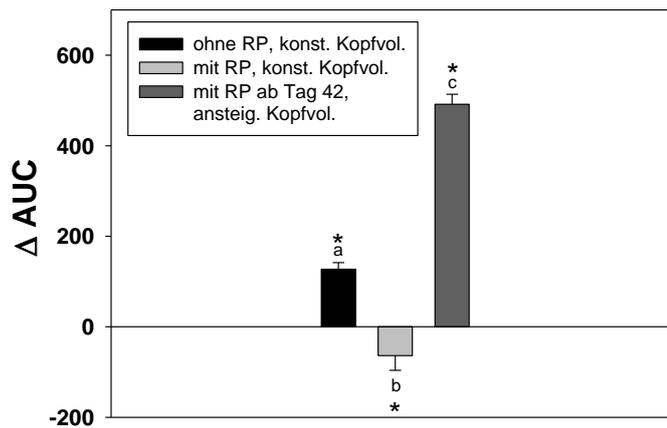


Abbildung 26: Peroxidzahl von mit sichtbarem Licht bestrahltem Palmöl. Darstellung als  $\Delta$  AUC = Differenz zwischen Behandlung und Kontrolle; Signifikanter Unterschied zwischen Behandlung und Kontrolle als \* dargestellt (t-Test). Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf einen signifikanten Unterschied hin ( $p < 0,05$ )

In Flaschen mit konstantem Kopfvolumen konnte zu jedem Messzeitpunkt ein signifikanter Unterschied zu Tag 1 gemessen werden ( $p < 0,05$ ). In Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen unterschieden sich alle Messergebnisse zu Tag 1 nicht (Abb. 27 A). Die Messung der konjugierten Diene von bestrahltem retinylpalmitatreichem Palmöl ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ) zwischen konstantem und ansteigendem Kopfvolumen (Abb. 27 B).

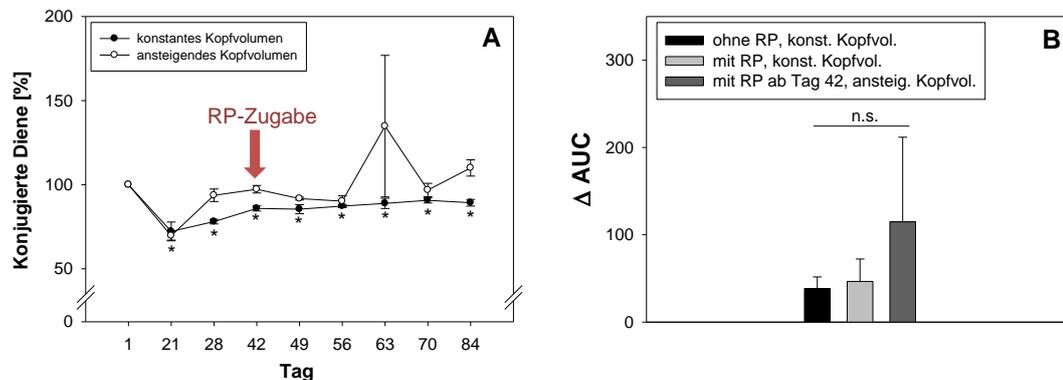


Abbildung 27: Prozentualer Anstieg der konjugierten Diene von mit sichtbarem Licht bestrahltem Palmöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 42,  $n = 4$  (A); signifikanter Unterschied zu Tag 1 mit \* gekennzeichnet (ANOVA). Konjugierte Diene von Palmöl bei konstantem Kopfvolumen (mit und ohne RP) und ansteigendem Kopfvolumen. Darstellung als  $\Delta$  AUC = Differenz zwischen Behandlung und Kontrolle, ANOVA (B)

### 5.2.2 Ergebnisse der Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierte Diene von Sojaöl

Eine weitere Untersuchung bezüglich des Einflusses von Luftsauerstoff auf den Verlauf des oxidativen Status von Sojaöl bezog sich auf die Bestimmung der Peroxidzahl. Der Vergleich von Sojaöl, das entweder in Flaschen mit konstantem oder ansteigendem Kopfvolumen gelagert worden war, zeigte, dass Luftsauerstoff im Luftraum der Flasche einen signifikanten Einfluss auf die Lipidoxidation hatte und diese beschleunigte (Abb. 28). Die maximale Steigerung der Peroxidzahl zu Tag 1 ist sowohl bei Flaschen mit konstantem ( $199 \pm 62,3\%$ ) als auch mit ansteigendem Kopfvolumen ( $1487 \pm 58,0\%$ ) an Tag 77. Bei Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen zeigte sich zu allen Messzeitpunkten ein signifikanter Unterschied zum Studienstart, bei Flaschen mit konstantem Kopfvolumen hingegen nur an den letzten drei Studienzeitpunkten.

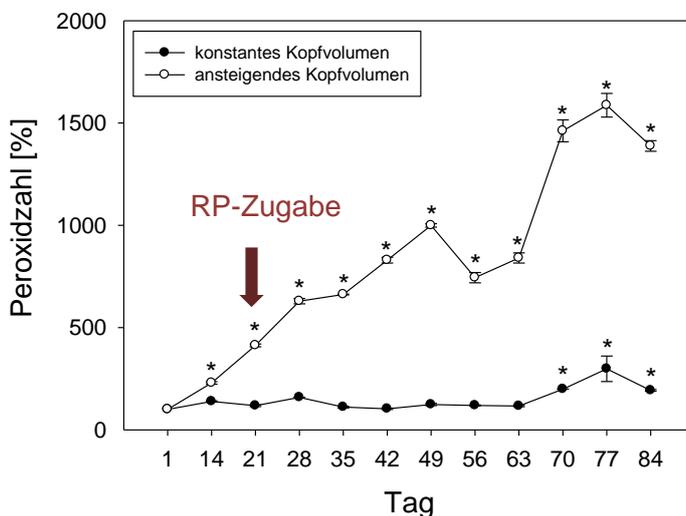


Abbildung 28: Prozentualer Anstieg der Peroxidzahl von mit sichtbarem Licht bestrahlten Sojaöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, Zugabe von RP am Tag 21,  $n = 4$ . Mit \* wird ein signifikanter Unterschied zu Tag 1 dargestellt (ANOVA)

Die Lipidoxidation hatte einen signifikant geringeren Effekt auf Sojaöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen verglichen mit Sojaölflaschen mit ansteigendem Kopfvolumen ( $p < 0,05$ ). Luftsauerstoff, der mit dem ansteigenden Kopfvolumen miteinhergeht, hatte hinsichtlich der Peroxidzahl in bestrahltem Sojaöl einen signifikanten Einfluss auf die Lipidoxidation ( $p < 0,001$ ) (Abb. 29). Das Ergebnis der Messung der Peroxidzahl konnte durch die Ermittlung der konjugierten Diene bestätigt werden. Wie in Abbildung 30 dargestellt, kam es bei Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen ab Tag 28 zu einem Anstieg der konjugierten Diene

verglichen mit dem Studienstart. Es herrschte jedoch nur an den Tagen 42, 70 und 84 ein signifikanter Unterschied zu Tag 1 vor. Bei Flaschen mit konstantem Kopfvolumen zeigte sich mit Ausnahme an den Tagen 70 und 77 ein signifikanter Unterschied zu Tag 1.

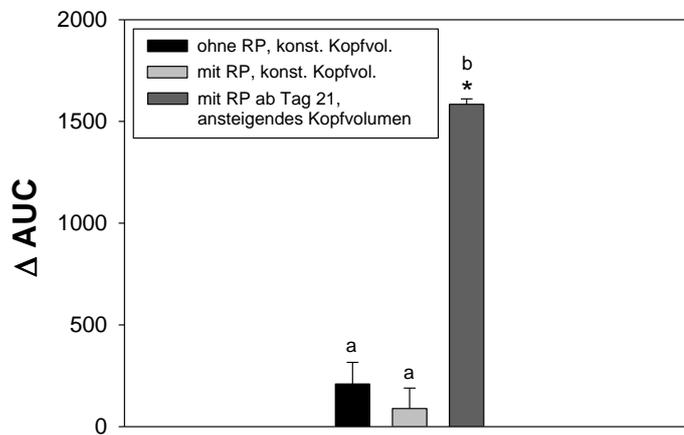


Abbildung 29: Peroxidzahl von mit sichtbarem Licht bestrahlten Sojaöl bei konstantem Kopfvolumen (mit und ohne RP) und ansteigendem Kopfvolumen. Darstellung als  $\Delta$  AUC = Differenz zwischen Behandlung und Kontrolle; Kleinbuchstaben weisen auf signifikanten Unterschied hin (ANOVA)

Bei der Gegenüberstellung von Behandlung (ansteigendes Kopfvolumen) und Kontrolle (konstantes Kopfvolumen) zeigte sich, dass Behandlung und der damit einhergehende Luftsauerstoff einen signifikanten Einfluss auf die Lipidoxidation bei bestrahltem Sojaöl hatte ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 29).

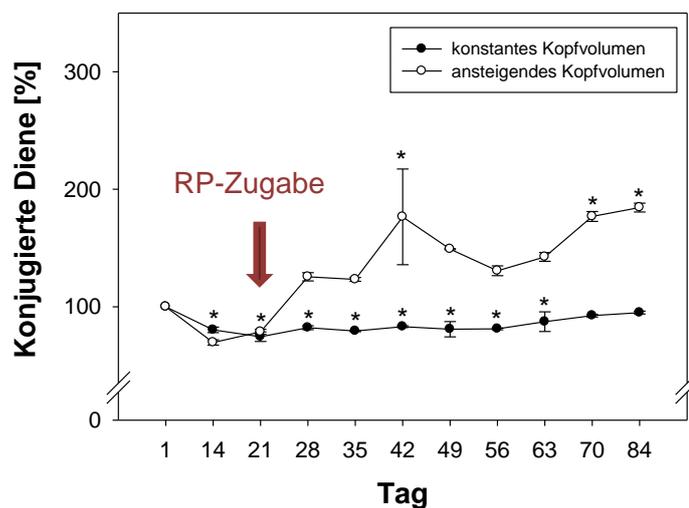


Abbildung 30: Prozentualer Anstieg der konjugierten Diene von mit sichtbarem Licht bestrahlten Sojaöl bei konstantem und ansteigendem Kopfvolumen,  $n = 4$ ; signifikanter Unterschied zu Tag 1 mit \* dargestellt (ANOVA)

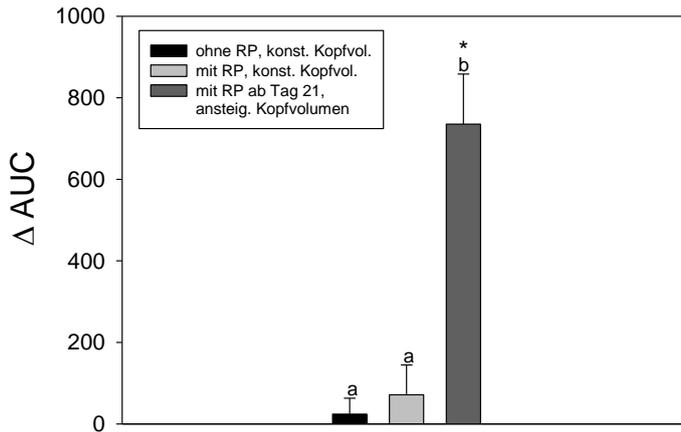


Abbildung 31: Konjugierte Diene von Sojaöl bei konstantem Kopfvolumen (mit und ohne RP) und ansteigendem Kopfvolumen. Darstellung als  $\Delta$  AUC = Differenz zwischen Behandlung und Kontrolle, Kleinbuchstaben weisen auf einen signifikanten Unterschied hin (ANOVA)

In Abbildung 31 ist erkennbar, dass sich Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen hinsichtlich der konjugierten Diene signifikant von Sojaöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen unterschied ( $p < 0,001$ ). Ebenso zeigte sich, dass zwischen bestrahltem Sojaöl mit und ohne Retinylpalmitat und Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen bezüglich der konjugierten Diene ein signifikanter Unterschied vorlag ( $p < 0,001$ ).

### 5.2.3 Korrelationsanalyse: Peroxidzahl und konjugierte Diene

Die Korrelationsanalyse zwischen Peroxidzahl und konjugierten Dienen von bestrahltem Sojaöl aus Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen zeigte einen positiven Zusammenhang ( $r^2 = 0,761$ ;  $p < 0,05$ ) (Abbildung 32 A). Für Palmöl (Abb. 32 B) konnte keine Korrelation zwischen Peroxidzahl und konjugierten Dienen berechnet werden ( $r^2 = 0,189$ ;  $p > 0,05$ ).

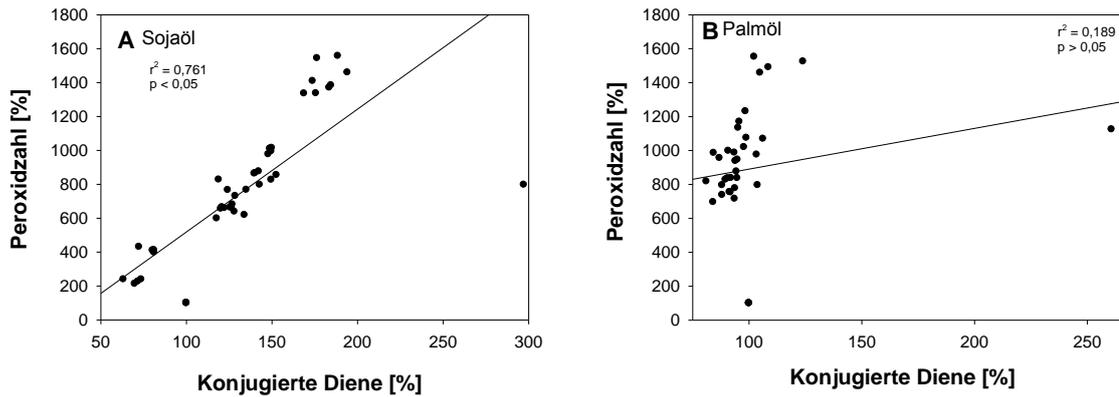


Abbildung 32: Korrelationsanalyse mit den Parametern Peroxidzahl und konjugierte Diene von bestrahltem Sojaöl (A) und Palmöl (B) mit ansteigendem Kopfvolumen. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson wurde mit den prozentuellen Werten berechnet.  $n = 44$  (A),  $n = 36$  (B), getestet wurde zum 5%-Niveau

#### 5.2.4 Bestimmung freier Radikale in Speiseöl mittels ESR

In der vorliegenden Studie wurde die Semiquantifizierung von Radikalen mit der ESR-Methode unter Einsatz des Spin-Traps PBN durchgeführt. Wie bereits erwähnt, hat dieses Spin-Trap-Reagenz selbst antioxidative Eigenschaften, weshalb für diese Messungen ein eigener Ansatz von jeweils einer Soja- und Palmölfflasche mit und ohne Retinylpalmitat erforderlich war. Da bei diesem Versuchsansatz aus Kostengründen nur jeweils ein Replikat vorlag, konnte keine statistische Auswertung erfolgen. Diese Ergebnisse hatten den Zweck, einen Hinweis auf die Veränderung der Öle hinsichtlich des oxidativen Status zu geben.

Mittels ESR wurden die PBN-Addukte über einen Zeitraum von 84 Tagen aus Soja- und Palmöl mit ansteigendem Kopfvolumen gemessen. Der stetige Anstieg dieser PBN-Addukte wird für Soja- und Palmöl in Abbildung 33 dargestellt. An den ersten beiden Messtagen (Tag 1 und 3) konnten keine PBN-Addukte erfasst werden, ab Tag 7 befanden sich die Werte bereits über dem Detektionslimit. Sowohl bei Soja- als auch bei Palmöl kann kein Unterschied zwischen dem Öl mit und ohne Retinylpalmitat festgestellt werden. Der maximale Wert des PBN-Adduktes von Palmöl mit Retinylpalmitat liegt mit 21,6 % über dem maximalen Wert von Sojaöl. Die maximalen Werte der PBN-Addukte für Palm- und Sojaöl ohne Retinylpalmitat liegen bei 1 103 524 a.u. und 799 532 a. u.

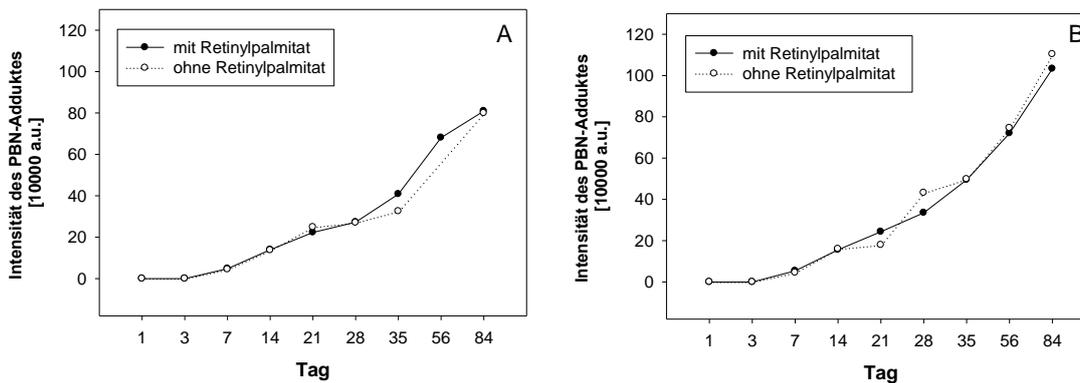


Abbildung 33: Intensität des PBN-Adduktes [10000 a.u.] für Sojaöl (A) und Palmöl (B) über einen Zeitraum von 84 Tagen, n = 1

### 5.2.5 Korrelation von Intensität des PBN-Adduktes und Luftsauerstoff

Ziel der Korrelationsanalyse war, den Zusammenhang zwischen Luftsauerstoffgehalt und der Intensität des PBN-Adduktes in Speiseöl in PET-Flaschen herauszufinden. Dazu wurde eine Korrelationsanalyse mit den Parametern Luftsauerstoffgehalt und Intensität des PBN-Adduktes durchgeführt. Das Ergebnis der Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson ergab für Sojaöl mit RP ( $r^2 = 0,976$ ;  $p < 0,05$ ) und ohne RP ( $r^2 = 0,975$ ;  $p < 0,05$ ) eine positive Korrelation (Abb. 35 A+B). Zur gleichen Aussage kam auch die Korrelationsanalyse mit Palmöl. Sowohl in Anwesenheit ( $r^2 = 0,984$ ;  $p < 0,05$ ) als auch in Abwesenheit von RP ( $r^2 = 0,982$ ;  $p < 0,05$ ) bestand ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Luftsauerstoffgehalt und der Intensität des PBN-Adduktes (Abb. 34 C und D).

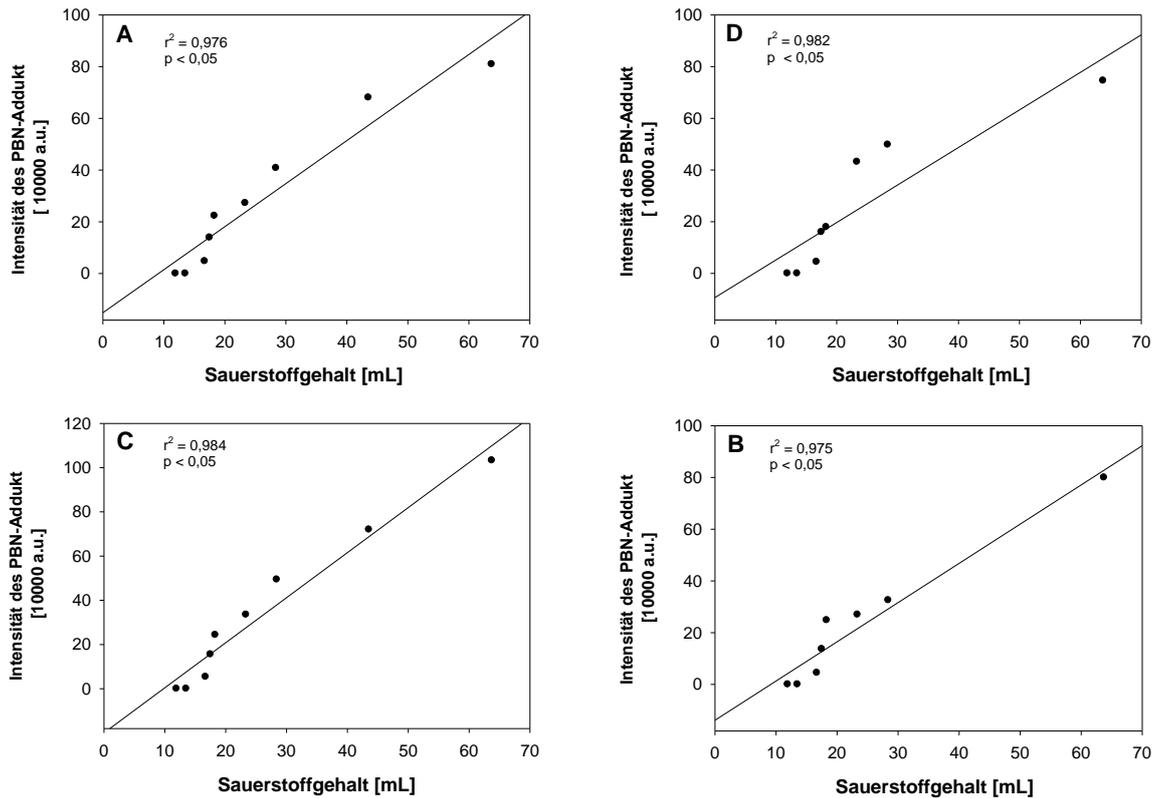


Abbildung 34: Korrelationsanalyse mit den Parametern Luftsauerstoffgehalt [mL] und Intensität des PBN-Adduktes [a.u.] für Sojaöl mit (A) und ohne Retinylpalmitat (B) und für Palmöl mit (C) und ohne Retinylpalmitat (D).  $n = 9$  (A, C, D),  $n = 8$  (B), getestet wurde zum 5%-Niveau

## 5.3 Retinol und Tocopherole in Sojaöl

### 5.3.1 Einfluss des oxidativen Status auf den Retinolgehalt in Sojaöl

Sojaöl wurde bei Erreichen einer Peroxidzahl von  $12,4 \pm 0,41$  mÄq  $O_2$ /kg Fett mit 60 I.E. Retinylpalmitat/g Öl angereichert. Nach der Verseifung und Extraktion des Öles wurde die quantitative Bestimmung von Retinol mittels HPLC-UV durchgeführt. Um die Stabilität von Retinylpalmitat in Sojaöl zu messen, wurden drei Messtage gewählt. Der Ausgangsgehalt von Retinol lag bei  $39,4 \pm 3,63$   $\mu\text{g/mL}$  ( $100 \pm 0,00$  %). Achtundzwanzig Tage später betrug diese Konzentration  $37,8 \pm 4,36$   $\mu\text{g/mL}$  ( $96,9 \pm 19,2$  % des Ausgangswertes), was einer Abnahme von  $3,09 \pm 19,2$  % entsprach. Neunundvierzig Tage nach der Zugabe von Retinylpalmitat betrug der Gehalt  $23,5 \pm 8,38$   $\mu\text{g/mL}$  ( $64,0 \pm 27,5$  % des Ausgangswertes), das einen signifikanten Verlust an Retinol bedeutete. Die Abnahme von Tag 21 bis Tag 70 war  $36,0 \pm 27,5$  % (Abb. 35).

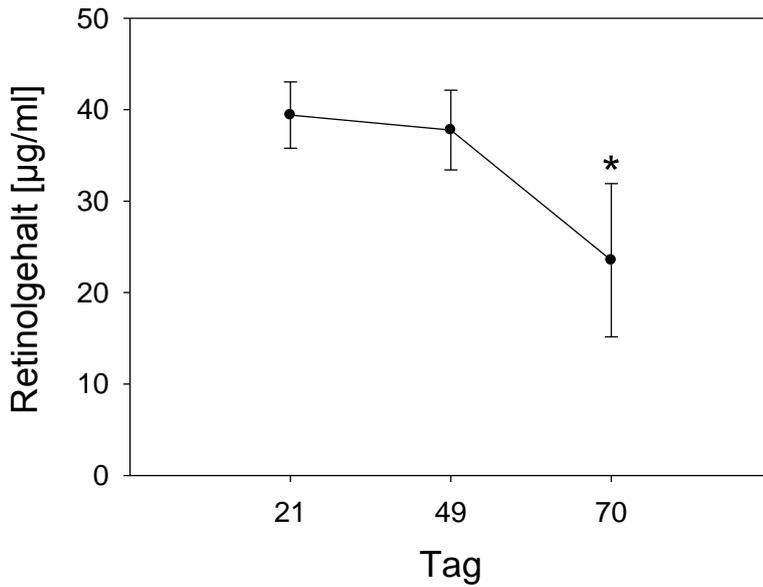


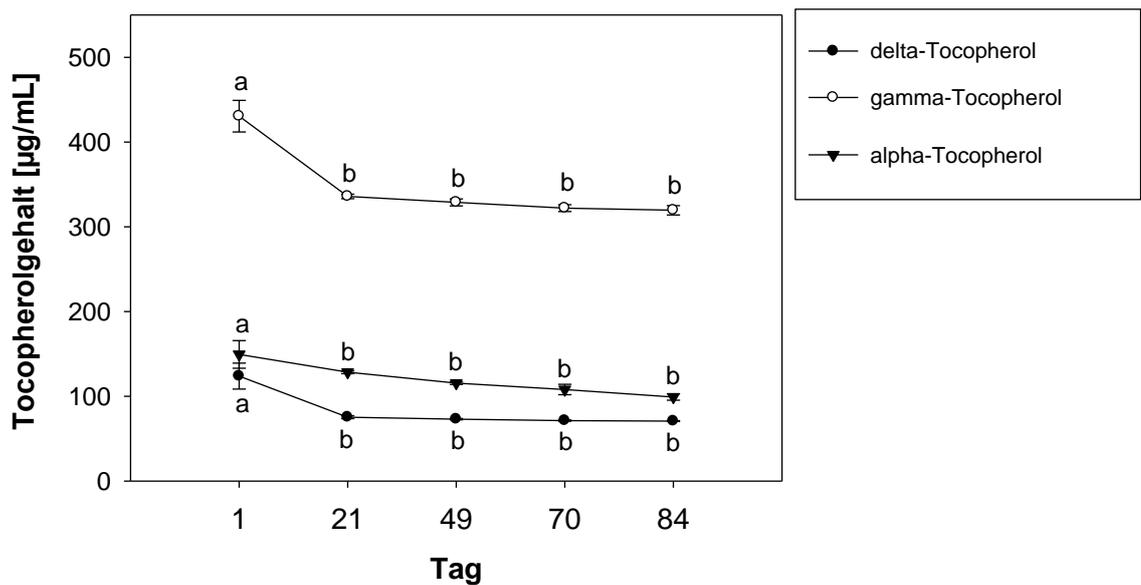
Abbildung 35: Retinolgehalt [µg/mL] in mit sichtbarem Licht bestrahlten Sojaöl an Tag 21, 49 und 70, n = 3, t-Test, p < 0,05

### 5.3.2 Einfluss des oxidativen Status auf den Tocopherolgehalt in Sojaöl

Der Gehalt an  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Sojaöl, welches durch Luftsauerstoffeinfluss stark oxidierte, wurde mit der HPLC-UV gemessen. Die Ergebnisse der Gesamttocopherole aller Messzeitpunkte werden in Tabelle 6 dargestellt. Abbildung 36 zeigt die Entwicklung der Gehalte der einzelnen Tocopherole von Tag 1 bis Tag 84. Jedes Tocopherol nahm ab Tag 21 signifikant gegenüber Tag 1 ab. Die darauffolgenden Messzeitpunkte unterschieden sich nicht mehr signifikanter voneinander. Am größten war der Verlust an  $\gamma$ -Tocopherol zwischen Tag 1 und 21 mit  $94,7 \pm 21,2$  µg/mL, wodurch die Abnahme an Gesamttocopherolen maßgeblich beeinflusst wurde. Die prozentuelle Abnahme der Gesamttocopherole vom Studienstart bis zum Studienende betrug  $32,4 \pm 0,81$  %.

Tabelle 6: Gehalt an  $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocopherol [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] und Gesamttocopherolen [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] bzw. [%] in Sojaöl

	Tag 1	Tag 21	Tag 49	Tag 70	Tag 84
Gesamttocopherole [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	704 $\pm$ 23,4	540 $\pm$ 3,60	517 $\pm$ 5,66	501 $\pm$ 10,8	489 $\pm$ 5,83
Gesamttocopherole [%]	100 $\pm$ 0,00	76,7 $\pm$ 2,59	71,5 $\pm$ 0,78	69,3 $\pm$ 1,50	67,6 $\pm$ 0,81

Abbildung 36: Gehalt an  $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocopherol [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] in Sojaöl,  $n = 3$ , Kleinbuchstaben weisen auf signifikanten Unterschied innerhalb der Tocopherolisomere hin (ANOVA),  $p < 0,05$ 

### 5.3.2.1 Korrelation von Retinol mit Peroxidzahl und konjugierten Dienen in Sojaöl abgefüllt in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen

Um den Zusammenhang zwischen beschleunigter Lipidoxidation, dargestellt anhand der Indikatoren Peroxidzahl und konjugierte Diene, und dem Retinolgehalt in Sojaöl zu ermitteln, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt und der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Zwischen der Peroxidzahl und dem Retinolgehalt besteht ein negativer Zusammenhang ( $r^2 = 0,937$ ;  $p < 0,05$ ). Die Korrelation zwischen dem Gehalt an konjugierten Dienen und dem Retinolgehalt war ebenfalls negativ ( $r^2 = 0,982$ ;  $p < 0,05$ ).

### 5.3.2.2 Korrelation des Gesamttocopherolgehaltes mit konjugierten Dienen und Peroxidzahl in Sojaöl abgefüllt in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen

Ein weiteres Ziel dieser Studie war, den Zusammenhang zwischen der Entwicklung des Tocopherolgehaltes und des Oxidationsstatus des Öles zu untersuchen. Die Korrelationsanalyse erfolgte mit den Parametern Gesamttocopherolgehalt und Peroxidzahl bzw. konjugierten Dienen. Nach Berechnung des Korrelationskoeffizienten mit den prozentuellen Werten nach Pearson ergab sich eine negative Korrelation zwischen dem Gesamttocopherolgehalt und der Peroxidzahl ( $r^2 = 0,860$ ;  $p < 0,05$ ) bzw. den konjugierten Dienen ( $r^2 = 0,674$ ;  $p < 0,05$ ) (Abb. 37).

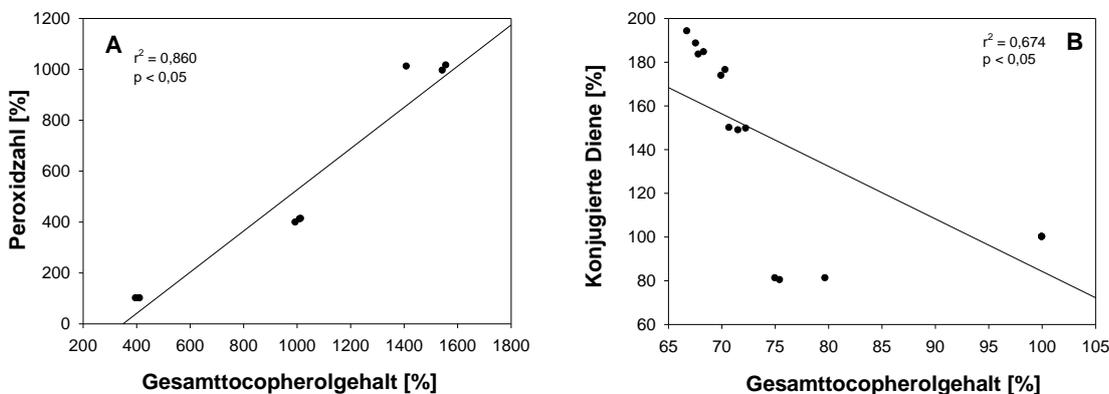


Abbildung 37: Korrelationsanalyse mit den Parametern Gesamttocopherolgehalt und Peroxidzahl (A), sowie Gesamttocopherolgehalt und konjugierte Diene (B). Der Korrelationskoeffizient nach Pearson wurde mit den Prozentwerten berechnet.  $n = 15$ ; getestet wurde zum 5%-Niveau

## 6 DISKUSSION

In der hier vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbarem Bereich und Luftsauerstoff auf Palm- und Sojaöl untersucht, die sich maßgeblich durch ihre Fettsäurezusammensetzung voneinander unterscheiden. Es wurde erwartet, dass Palmöl mit einem geringen Anteil von 9,9 % an PUFAs stabiler gegenüber Lipidoxidation ist und der hohe Anteil mehrfach ungesättigter Fettsäuren von 68 % in Sojaöl dazu führt, dass es durch Einflussfaktoren wie Licht und Luftsauerstoff schneller oxidiert. Ein entscheidender Faktor von Sojaöl ist der hohe Anteil an der mehrfach ungesättigten Fettsäure Linolensäure mit 13 % [Clemente und Cahoon, 2009]. Es konnte bereits gezeigt werden, dass geringe Konzentrationen an Linolensäurehydroperoxiden die Oxidation der Linolsäure, welche die dominierende Fettsäure in Sojaöl ist, katalysieren und so die Produktion von Hydroperoxiden während längerer Lagerzeiten fördern [Frankel, 1980; Wanasundara et al., 1994]. Da zum ersten Mal der Einfluss von Bestrahlung in Form von sichtbarem Sonnenlicht in Palm- und Sojaöl mit Anreicherung von Retinylpalmitat untersucht wurde, fehlen vergleichende Literaturdaten, um Rückschlüsse auf das Verhalten von Palm- und Sojaöl bei Bestrahlung, Dunkellagerung und Lufteinfluss bei Raumtemperatur in An- und Abwesenheit von Retinylpalmitat zu ziehen.

### 6.1 Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich auf den oxidativen Status von Speiseöl

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigten, dass es durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht sowohl in Palmöl als auch in Sojaöl in Abwesenheit von Retinylpalmitat anhand der ermittelten Peroxidzahlen zu einem signifikanten Anstieg der Lipidoxidation kam. Entgegen der Erwartungen kam es nach Bestrahlung bei Palmöl ohne RP zu einem Anstieg der Peroxidzahl um bis zu maximal  $398 \pm 23,5$  %, bei Sojaöl ohne RP hingegen nur um  $135 \pm 91,5$  %.

Pristouri et al. (2010) erfassten ebenso den Einfluss von Licht auf die Lipidoxidation mittels Peroxidzahl messen. Die Autoren verglichen die Lagerung von Olivenöl in klaren PET-Flaschen, klaren PET-Flaschen mit einem von den Autoren nicht definierten UV-Blocker und klaren PET-Flaschen mit Aluminiumfolie um den Einfluss von UV-Licht zu untersuchen. Die Lagerung der Flaschen mit einem Volumen von 500 mL erfolgte bei 22°C in einem 12-h-Rhythmus von Bestrahlung mit natürlichem

Tageslicht und Dunkellagerung für 12 Monate. Die Messung der Peroxidzahl wurde jeden dritten Monat durchgeführt.

Tabelle 7: Peroxidzahl in [mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl] und [%] von Olivenöl in klaren PET-Flaschen, PET-Flaschen mit UV-Blocker und PET-Flaschen mit Aluminiumfolie über einen Zeitraum von 12 Monaten. %-Werte beziehen sich auf die Mittelwerte [Pristouri et al., 2010]

POZ in [mÄq O <sub>2</sub> /kg Öl] und [%]						
Monat	PET klar		PET + UV-Blocker		PET + Aluminiumfolie	
0	12,9±0,44	100	12,9±0,44	100	12,9±0,44	100
3	14,7±0,5	114	15,5±0,50	120	14,0±0,20	109
6	16,5±0,52	128	17,4±0,20	135	16,3±0,20	126
9	17,5±0,10	136	19,2±0,20	149	17,5±0,10	136
12	22,0±0,31	171	19,2±0,30	149	18,8±0,59	146

Der Ausgangswert für alle drei Bedingungen lag bei 12,9±0,44 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl. Die Entwicklung der Peroxidzahl stieg bei allen stetig, aber in unterschiedlichem Ausmaß, an. Bei den Flaschen ohne zusätzlichem UV-Schutz wurde am Studienende der Maximalwert von 22,0±0,31 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl erreicht, gefolgt von 19,2±0,30 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl bei Flaschen mit UV-Blocker und 18,8±0,59 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl bei Flaschen mit Aluminiumfolie, welche somit die stärkste Abschirmung bewirkte. Besonders hervorzuheben ist, dass nach neun Monaten die Peroxidzahl von klaren PET-Flaschen und klaren PET-Flaschen mit Aluminiumfolie mit ca. 17,5 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl beinahe ident war, ohne UV-Schutz aber in den letzten drei Monaten viel stärker anstieg [Pristouri et al., 2010].

Vergleichsweise dazu lagen die Ausgangswerte der hier vorliegenden Studie für Sojaöl bei 2,91±0,11 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl und für Palmöl bei 2,50±1,60 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl, welche für die grafische Darstellung und weitere Berechnungen jeweils als 100 % angegeben wurden. Nach der dreimonatigen Bestrahlung mit sichtbarem Licht wurde bei Sojaöl mit RP ein Anstieg der Peroxidzahl um 79 % und bei dunkel gelagertem Sojaöl mit RP um 10 % ermittelt. Bei Sojaöl ohne RP führte sowohl Bestrahlung als auch Dunkellagerung zu einer Abnahme der Peroxidzahl. Palmöl ohne RP hatte nach drei Monaten Bestrahlung mit sichtbarem Licht einen Anstieg der Peroxidzahl von 366 %, dunkel gelagertes mit und ohne RP 122 % bzw. 119 %. Bei Palmöl, welches mit RP angereichert worden war, änderte sich die Peroxidzahl auch nach dreimonatiger Bestrahlung nicht wesentlich (4%). Um einen direkten Vergleich durchführen zu

können, wurden die gemessenen Mittelwerte von Pristouri et al. (2010) auch in % umgerechnet (Tabelle 7). Es wurde dadurch deutlich, dass nach dreimonatiger Bestrahlungszeit die Peroxidzahl von Olivenöl um maximal 20 % anstieg.

Diese Ergebnisse geben Anlass zur Vermutung, dass das verwendete Sojaöl gegenüber Bestrahlung mit sichtbarem Licht oxidativ stabiler war als das verwendete Palmöl. In Ölen mit einem höheren Anteil mehrfach ungesättigter Fettsäuren zeigte sich eventuell eine schnellere Weiterreaktion der Peroxide. Die Annahme, dass der Grad des Lipidoxidationsfortschrittes allein von der Fettsäurezusammensetzung abhängt, spricht jedoch gegen diese Ergebnisse; denn im Öl befindliche Fettbegleitstoffe, wie z.B. Antioxidantien, haben auch einen Einfluss. Sojaöl wäre mit 18,0 % einfach und 63,0 % mehrfach ungesättigten Fettsäuren [Clemente und Cahoon, 2009] am oxidationsanfälligsten, gefolgt von Olivenöl mit 76,3 % und 7,3 % [Silva et al., 2010]. Palmöl hat im Vergleich dazu nur 38,9 % einfach und 9,9 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren und wäre damit am stabilsten [Van Niekerk und Burger, 1985; Yoshida et al., 1990; Kamal-Eldin und Andersson, 1997]. Dass Olivenöl gegenüber Bestrahlung scheinbar stabiler war als Sojaöl, kann auf die unterschiedlichen Lichtquellen von zurückgeführt werden. Während Olivenöl von Pristouri et al. (2010) natürlichem Tageslicht ohne direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt wurde, welches den Ergebnissen zufolge die Lipidoxidation weniger stark beeinflusste, wurden Palm- und Sojaöl in der hier beschriebenen Studie mit einer kontrollierten Lichtquelle, die das Sonnenlicht im sichtbaren Bereich nachahmt, bestrahlt.

Da die Studie von Chung et al. (2004) bei höherer Temperatur als bei der hier dargelegten Studie durchgeführt wurde, zeigte sich der Einfluss der Bestrahlung noch stärker [Chung et al., 2004]. Dem Studiendesign zufolge untersuchten die Autoren Sojaöl, welches bei 55°C für 96 Stunden im Dunkeln gelagert oder für 24 Stunden bestrahlt wurde, hinsichtlich Luftsauerstoffaufnahme aus dem Kopfraum und Peroxidzahl. Die Ermittlung des Luftsauerstoffkopfraumvolumens erfolgte durch Injektion von 100 µl Kopfraumgas und anschließender Berechnung des gesamten Kopfraumvolumens [Chung et al., 2004].

Tabelle 8: Peroxidzahl [mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl] und Luftsauerstoffaufnahme [µmol] von Sojaöl, das bei 55°C gelagert wurde [Chung et al., 2004]

Lagerzeit (h)	POZ [mÄq O <sub>2</sub> /kg Öl]		Luftsauerstoffaufnahme [µmol]	
	bestrahlt	dunkel	bestrahlt	dunkel
	0,00	0,00	0,00	0,00
24	13,4	1,8	54,6	7,66
72	-	15,2	-	
96	-	13,2	-	68,6

Die Ergebnisse von Chung et al. (2004) zeigten, dass bei bestrahlten Proben die Luftsauerstoffaufnahme aus dem Kopfraum stark anstieg und nach 24 Stunden bei 54,6 µmol lag, bei dunkel gelagerten jedoch nur bei 7,66 µmol. Nach 96 Stunden im Dunkeln erreichte die Luftsauerstoffaufnahme aus dem Kopfraum mit 68,6 µmol ihren Maximalwert. Die Peroxidzahl von Sojaöl im Dunkeln betrug nach 24 Stunden 1,8 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl, nach 72 Stunden 15,2 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl und nahm nach 96 Stunden auf 13,2 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl ab. Bei bestrahltem Sojaöl erreichte die Peroxidzahl nach 24 Stunden den höchsten Wert mit 13,4 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl, wie in Tabelle 8 dargestellt wird [Chung et al., 2004]. Diese Ergebnisse von Chung et al. (2004) gaben zu erkennen, dass durch Bestrahlung der Luftsauerstoff im Kopfraum der Flasche im Laufe der Zeit stetig abnahm und dadurch die Lipidoxidation schneller fortschritt als bei dunkel gelagerten Proben [Chung et al., 2004]. Auch in der hier vorliegenden Studie wurde eine oxidationsfördernde Wirkung der Bestrahlung bei Palm- und Sojaöl ohne RP gemessen.

Die photometrischen Messungen der konjugierten Diene in der hier vorliegenden Studie ergaben, dass Bestrahlung von Palm- und Sojaöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen keinen signifikanten Einfluss auf diesen Indikator der Lipidoxidation hat. Die Ermittlung der Peroxidzahl zeigte jedoch einen signifikanten Anstieg der Lipidoxidation. Dies deutet daraufhin, dass die Bestimmung der Peroxidzahl im Vergleich zu der der konjugierten Diene zur Beurteilung des Fortschrittes der Lipidperoxidation sensitiver ist. Farhoosh et al. (2012) erkannten jedoch, dass die Bestimmung der konjugierten Diene eine schnelle Methode darstellte, die die

Ergebnisse der Peroxidzahlbestimmung bei Olivenöl zusätzlich unterstützte [Farhoosh et al., 2012]. Sie untersuchten die oxidative Entwicklung von Olivenöl über 12 Stunden bei 180°C durch Ermittlung der Peroxidzahl und der konjugierten Diene und konnten im Gegensatz zur hier vorliegenden Studie mit beiden Methoden den Fortschritt der Lipidoxidation messen [Farhoosh et al. 2012].

Im Vergleich zur hier vorliegenden Studie wurden in der Studie von Chung et al. (2004) mit 55°C eine höhere Temperatur und Messzeitpunkte im Stundenbereich gewählt. Der Wert der konjugierten Diene von bestrahlten Proben lag nach 24 Stunden bei 0,239 % und von dunkel gelagerten bei 0,042 %. Nach 96 Stunden kam es im Dunkeln zu einem Anstieg auf 0,227 %. Bei beiden Lagerungen kam es zu einer kontinuierlichen Steigerung der konjugierten Diene, bei bestrahlten Proben erfolgte dieser aber viel steiler, wodurch der Einfluss von Bestrahlung gezeigt werden konnte. Es zeigte sich, dass durch diese Studienbedingungen und zusätzlicher Bestrahlung die konjugierten Diene kontinuierlich zunahm [Chung et al., 2004]. In der Studie von Chung et al. (2004) wurden jedoch keine Angaben zur statistischen Signifikanz angegeben.

Die Ergebnisse der Ermittlung der Peroxidzahl von Palmöl in der vorliegenden Studie ergaben, dass es mit Zunahme der Lagerungszeit auch bei dunkel gelagerten Flaschen zu einem Anstieg der primären Lipidoxidationsprodukte kam. Eine Studie von Tawfik und Huyghebaert (1999) zeigte ebenso, dass es durch Lagerung im Dunkeln zur Oxidation von Öl und damit zu einem Anstieg der Peroxidzahl kam [Tawfik und Huyghebaert, 1999]. Der Lagerversuch wurde mit raffiniertem Palm- und Sonnenblumenöl in PET-Flaschen für 60 Tage bei 24°C im Dunkeln durchgeführt. Nach Öffnung der Flaschen für die Probenahme und der Messung der Peroxidzahl wurden diese vom Lagerversuch ausgeschlossen, um den Einfluss von Luftsauerstoff und Temperaturschwankungen auszuschließen. Zur Beurteilung des oxidativen Status ermittelten die Autoren die Peroxidzahl zu Studienbeginn, nach 20 und 60 Tagen [Tawfik und Huyghebaert, 1999].

Tabelle 9: Peroxidzahl von dunkel gelagertem Sonnenblumen- und Palmöl [Tawfik und Huyghebaert, 1999], Soja- und Palmöl in [mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl] und [%].

Peroxidzahl in [mÄq O <sub>2</sub> /kg Öl] und [%]									
Tag	Sonnenblumenöl [Tawfik und Huyghebaert, 1999]		Palmöl [Tawfik und Huyghebaert, 1999]		Tag	Sojaöl		Palmöl	
1	14,88	100 %	0,56	100 %	1	3,98±0,01	100 %	1,98±0,02	100 %
21	16,00	108 %	0,76	136 %	28	5,84±0,19	146 %	2,98±0,16	151 %
61	26,00	175 %	1,72	307 %	63	2,19±0,28	55 %	3,06±0,20	155 %

Um eine bessere Vergleichbarkeit der Studienergebnisse zu gewährleisten, wurden die Resultate der Peroxidzahlbestimmungen von Tawfik und Huyghebaert (1999) in Prozentzahlen umgerechnet (Tabelle 9). Der Ausgangswert für Sonnenblumenöl lag mit 14,88 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (100%) schon sehr hoch, steigerte sich nach 20 Tagen auf 16,00 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (108 %) und nach 60 Tagen auf 26,0 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (175 %). Bei Palmöl ergab die Messung der Peroxidzahl anfangs 0,56 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (100 %), am Tag 20 0,76 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (136 %) und am Ende 1,72 mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl (307 %) [Tawfik und Huyghebaert, 1999]. Es konnte somit auch gezeigt werden, dass der Anstieg der Peroxidzahl in Palmöl stärker war als in Sonnenblumenöl, das auf die Fettsäurezusammensetzung zurückzuführen war. Im Vergleich dazu zeigten die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie, dass auch bei Palmöl nach 63 Tagen Lagerung im Dunkeln die Peroxidzahl auf 155 % angestiegen war. Bei Sojaöl hingegen wurde nach 28 Tagen ein Anstieg um 46 % verzeichnet, gefolgt von einer Abnahme auf 55 %. Dies weist daraufhin, dass diese instabilen Hydroperoxide, welche mit der Peroxidzahl gemessen werden, weiter abgebaut werden und im Öl weiter reagieren. Das hier verwendete Sojaöl könnte jedoch auch aufgrund des hohen Gehaltes an antioxidativ wirksamen Tocopherolen [Silva et al., 2010] stabiler gegenüber oxidative Einflüsse sein als das in dieser Studie verwendete Palmöl.

In der hier vorliegenden Studie zeigte sich, dass Bestrahlung von Sojaöl zu einem tendenziell höheren Anstieg der Peroxidzahl führte als Bestrahlung von Palmöl. Dies wird vor allem durch die  $\Delta$  AUC der Peroxidzahl ersichtlich. Mittels der  $\Delta$  AUC wurde der zwischen bestrahlten Ölen und deren Kontrollen, welche im Dunkeln gelagert wurden, verglichen. Bei bestrahltem Palmöl ohne RP ergab sich für  $\Delta$  AUC ein Wert von 127±14,7 und bei Sojaöl 209±106. Hier konnte gezeigt werden, dass Palmöl aufgrund seiner Fettsäurezusammensetzung vermutlich stabiler gegenüber

Bestrahlung ist als Sojaöl. Obwohl in der Studie von Roman et al. (2013) mit stark erhöhter Temperatur (100, 120 und 150°C) ein anderer Einflussfaktor auf die Lipidoxidation untersucht wurde, können die Ergebnisse zum Vergleich herangezogen werden [Roman et al., 2013]. Bei den Studienölen handelte es sich um zwei Sonnenblumenöle unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung und Rapsöl in An- und Abwesenheit von zugesetztem  $\alpha$ -Tocopherol, welche für 6 Stunden hitzebehandelt wurden. Es kam zu einem signifikanten, linearen Anstieg der konjugierten Diene und Hydroperoxide, jedoch beeinflusst von hohen Temperaturen. Bemerkenswert war jedoch die stetig starke Zunahme konjugierter Diene im Gegensatz zu Hydroperoxiden. Die Autoren konnten zeigen, dass sich Hydroperoxide zu sekundären Oxidationsprodukten wie dem Aldehyd 2,4-Decadienal abbauten, während konjugierte Diene durch die Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren gebildet wurden, welche die Lipidoxidationskette aufrechterhielten [Roman et al., 2013].

Die soeben erwähnte Studie von Roman et al. (2013) zeigte, dass der Einfluss von Bestrahlung und zusätzlich erhöhter Temperatur sowohl zu einer Steigerung der Peroxidzahl als auch der konjugierten Diene führte. Die hier vorliegende Studie wurde jedoch bei Raumtemperatur ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) und somit mildereren Studienbedingungen durchgeführt. Trotzdem zeigten die Ergebnisse der Bestimmung der Peroxidzahl und der konjugierten Diene, dass Bestrahlung zu einer Zunahme der Lipidoxidationsprodukte führte.

In der hier vorliegenden Studie führte die Lagerung von Palmöl mit Retinylpalmitat im Dunkeln zu einer höheren Peroxidzahl im Vergleich zu entsprechend behandelten jedoch mit sichtbarem Licht bestrahlten Ölen. Eine Studie von Cecchi et al. (2010), welche bei Raumtemperatur ( $20\text{-}22^\circ\text{C}$ ) durchgeführt wurde, zeigte auch, dass die Peroxidzahl bei Lagerung von extra nativem Olivenöl in PET-Flaschen im Dunkeln mit  $13,4\pm 0,80$  mÄq  $\text{O}_2/\text{kg}$  Öl höher war als bei Lagerung in Anwesenheit von sichtbarem Licht ( $9,40\pm 0,50$  mÄq  $\text{O}_2/\text{kg}$  Öl). Es wurde vermutet, dass Licht den Grad des Abbaus von Hydroperoxiden erhöhte und daher niedrigere Peroxidzahlen erreicht wurden [Cecchi et al., 2010]. Auch die Ergebnisse der konjugierten Diene konnte dieser Effekt der Bestrahlung unterstrichen werden [Cecchi et al., 2010].

Dass die Peroxidzahl in Palmöl aus Dunkellagerung in der hier vorliegenden Studie höher war als die von bestrahltem Palmöl könnte damit erklärt werden, dass dieses aufgrund seiner halbflüssigen Konsistenz sehr schwierig mischbare Palmöl

unterschiedliche Ausgangswerte hatte und somit die nachfolgenden Messergebnisse stark beeinflusste.

Obwohl die Probenahme und die Ermittlung der Peroxidzahl immer direkt nach der Bestrahlungszeit erfolgte, können zwischen diesen beiden Zeitpunkten Schwankungen im Bereich von zehn Minuten liegen. Aus der Literatur ist nicht bekannt, ob und welchen Einfluss die Zeitspanne zwischen Bestrahlungsende und Messung auf die Ergebnisse der Peroxidzahl haben.

## **6.2 Einfluss von Luftsauerstoff und Bestrahlung mit Licht im sichtbarem Bereich auf den oxidativen Status von Speiseöl**

Bei der im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Studie wurde neben der Bestrahlung auch der Einfluss des ansteigenden Kopfvolumens und dem damit verbundenen Luftsauerstoff berücksichtigt. Es zeigte sich in beiden Studienölen bei ansteigendem Kopfvolumen über den Studienverlauf eine signifikante Zunahme der Peroxidzahl im Vergleich zum Studienstart und ein signifikanter Unterschied zu den Flaschen mit konstantem Kopfvolumen. Hinsichtlich der konjugierten Diene wurde bei Sojaöl ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ) zwischen Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen und Flaschen mit konstantem Kopfvolumen gemessen, womit der Einfluss von Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation gezeigt werden konnte. Im Vergleich dazu führte die Ermittlung der konjugierten Diene von Palmöl zu keinem signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ). Dies lässt sich damit erklären, dass Palmöl aufgrund seiner Fettsäurezusammensetzung oxidativ stabiler ist. Denn je höher der Grad an ungesättigte Fettsäuren in einem Öl ist, desto empfindlicher ist das Öl gegenüber Lipidoxidation [Schaich et al., 2013; Roman et al., 2013]. Wanasundara et al. (1994) untersuchten Raps- und Sojaöl während eines 30-tägigen Lagerversuchs bei 65°C im Dunkeln. Sie zeigten, dass bei Sojaöl in den ersten 15 Tagen eine geringere Zunahme der konjugierten Diene erreicht wurde als bei Rapsöl. In der zweiten Studienhälfte kam es aber bei Sojaöl zu einem steileren Anstieg als bei Rapsöl [Wanasundara et al., 1994]. Die anfänglich höheren Werte von Rapsöl während der initialen Phase sind vermutlich auf den höheren Gehalt an Linolensäuren, welche zwei innere allylische Methylengruppen besitzen, die die Basis für die Bildung konjugierter Diene sind, zurückzuführen [Frankel, 1980; Wanasundara et al., 1994]. Dass die Werte der konjugierten Diene von Sojaöl gegenüber Rapsöl in den letzten 15 Tagen höher waren, könnte daran gelegen haben, dass die Verschiebung der Doppelbindungen der

Linolensäure zu konjugierten Dienen beendet war [Liu und White, 1992; Wanasundara et al., 1994].

Auch Pristouri et al. (2010) beschrieben den großen Einfluss des Kopfvolumens auf den oxidativen Status in Öl [Pristouri et al., 2010]. In deren Studie wurde der Einfluss des Kopfvolumens mit Olivenöl in klaren 1L-PET-Flaschen untersucht. Die Flaschen wurden für 12 Monate bei 22°C im Dunkeln gelagert. Bei jedem der fünf Messzeitpunkte, welche alle drei Monate stattfanden, wurden Peroxidzahl und konjugierte Diene gemessen. Zu Studienbeginn und nach drei Monaten blieb das Kopfvolumen konstant. Ab sechs Monaten wurden an jedem Messtag jeweils 200 mL Olivenöl entfernt, wodurch nach 12 Monaten ein Kopfvolumen von 600 mL entstand. Der Verlauf der Peroxidzahl zeigte, dass sich der oxidative Status zwischen Studienstart ( $12,9 \pm 0,44$  mÄq O<sub>2</sub>/kg), nach drei Monaten ( $15,6 \pm 0,20$  mÄq O<sub>2</sub>/kg) und sechs Monaten ( $18,5 \pm 0,22$  mÄq O<sub>2</sub>/kg) nicht so stark veränderte, wie zwischen dem ersten und dem zweiten Messtag. Nach neun Monaten betrug die Peroxidzahl  $32,2 \pm 0,20$  mÄq O<sub>2</sub>/kg, am Ende der Studie  $37,3 \pm 0,50$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl. Im Gegensatz zur Peroxidzahl kam es bei konjugierten Dienen in den ersten 6 Monaten zur stärksten Veränderung. Bei Studienstart betrug der Wert  $2,25 \pm 0,05$ , nach 3 Monaten  $2,50 \pm 0,20$  und nach 6 Monaten  $3,14 \pm 0,10$ . In den darauffolgenden 6 Monaten, in denen es zur Zunahme des Kopfvolumens kam, änderte sich der Wert der konjugierten Diene nur mehr auf  $3,26 \pm 0,10$  [Pristouri et al., 2010].

Da es in der aktuellen 84-tägigen Studie mit Palm- und Sojaöl nach Zunahme des Kopfvolumens zum stärksten Anstieg der Peroxidzahl kam, kann ein Einfluss des Kopfvolumens und die damit verbundene hohe Konzentration an Luftsauerstoff postuliert werden. Auch in der Studie von Pristouri et al. (2010) nahm die Qualität des Olivenöls, gemessen anhand der Peroxidzahl, mit Zunahme des Kopfvolumens drastisch ab [Pristouri et al., 2010]. Es muss jedoch angemerkt werden, dass in der Studie von Pristouri et al. (2010) Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen im Dunkeln gelagert wurden und somit deren Resultate mit den hier vorliegenden Studienergebnissen nicht direkt verglichen werden können.

Die Detektion der oxidativen Veränderung von Sojaöl durch Luft und Licht waren Teil des Studienziels von Naz et al. (2005). Im Lagerungsversuch dieser Autoren wurden 250 mL raffiniertes Sojaöl in bernsteinfarbenen Glasflaschen mit einem Volumen von 500 mL mit einer Oberfläche von 44 cm<sup>2</sup> gefüllt und in unverschlossenem Zustand für 30 Tage bei 30°C im Dunkeln gelagert. Die Lagerung dieser Ölproben erfolgte in einer unverschlossenen belüfteten Kammer mit Glasfenstern. Um den Faktor Licht

einzu beziehen, waren die Proben dem Tageslicht für 10-12 h ausgesetzt. Die Bestimmung der Peroxidzahl erfolgte für beide Einflussfaktoren nach 1, 5, 10, 15, 20, 25 und 30 Tagen. Es zeigte sich, dass der stärkste Anstieg der Peroxidzahl bei Lagerung unter Licht- und Lufteinfluss war und sich signifikant von der Lagerbedingung mit Lufteinfluss ohne Beleuchtung unterschied ( $p < 0,01$ ) [Naz et al., 2005]. Die Ergebnisse von Naz et al. (2005) können aufgrund des ähnlichen Studiendesigns mit denen in der hier vorliegenden Studie gut verglichen werden und bestätigten, dass die Lagerung von raffiniertem Sojaöl unter Einfluss von Licht und Luft zu einem signifikanten Anstieg der Peroxidzahl führte.

In einer 13-monatigen Studie wurde der Einfluss von Luft in nativem Olivenöl, welches in 300-mL-PET-Flaschen abgefüllt war, untersucht [Cecchi et al., 2010]. Alle Flaschen lagerten bei Raumtemperatur (20-22°C) im Dunkeln, ein Teil der Flaschen enthielt zusätzlich den Luftsauerstofffänger Amosorb®, der die Permeation von Sauerstoff in und CO<sub>2</sub> aus der Flasche verhindern soll. Die Analyse des Öls erfolgte bei Studienstart und nach 1, 2, 4 und 13 Monaten Lagerzeit. Bei Gegenüberstellung der Peroxidzahlen zeigte sich, dass die Messwerte von Öl in Flaschen ohne Luftsauerstoffabsorber höher waren im Vergleich zu den PET-Flaschen mit dem Luftsauerstoffabsorber. Der Ausgangswert für beide Flaschen lag bei  $10,1 \pm 0,00$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl. Der Peroxidwert ohne Sauerstofffänger betrug am Studienende  $13,4 \pm 0,80$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl und mit Sauerstoffabsorber  $10,1 \pm 2,40$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl. Besonders auffallend war jedoch, dass es zu einem anfänglichen Anstieg, gefolgt von einem Abfall und nach 4 Monaten wieder zu einer Steigerung der Peroxidzahl kam. Diese Erkenntnisse weisen darauf hin, dass PET in den ersten Stadien der Oxidation mehr Hydroperoxide absorbiert als durch die Oxidation ungesättigter Fettsäuren gebildet werden, und somit den Peroxidwert senken. Auch bei spektrophotometrischer Ermittlung der konjugierten Diene konnte gemessen werden, dass es zu einem anfänglichen Anstieg, gefolgt von einem Abfall und einem anschließenden Anstieg kam [Cecchi et al., 2010]. Cecchi et al. (2010) stellten außerdem fest, dass sowohl die Ergebnisse der Peroxidzahlbestimmungen als auch die der konjugierten Diene für einen schützenden Einfluss des Luftsauerstoffscavengers sprechen [Cecchi et al., 2010]. Der soeben genannte Einfluss des Flaschenmaterials könnte somit einen Beitrag zu Erklärung der Schwankungen der konjugierten Diene und Peroxidzahlen in PET-Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen in der hier vorliegenden Studie leisten.

Die Korrelationsanalyse zwischen Peroxidzahl und konjugierten Dienen in bestrahlten Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen ergab in der hier vorliegenden Studie in Palmöl keinen Zusammenhang ( $r^2 = 0,189$ ;  $p > 0,05$ ), in Sojaöl jedoch einen positiven Zusammenhang ( $r^2 = 0,941$ ;  $p < 0,05$ ). Der Grund lag darin, dass es bei Sojaöl bei beiden Oxidationsparametern zu einem stetigen Anstieg kam. Bei Palmöl jedoch konnte dieser Anstieg nur bei Ermittlung der Peroxidzahl, nicht aber nach Detektion der konjugierten Diene gezeigt werden. Eine Erklärung, warum es bei Palmöl zu keiner Korrelation zwischen den Parametern kam, liegt vermutlich in der Fettsäurezusammensetzung von Palmöl und der damit verbundenen höheren Stabilität des Öles [Frankel et al., 1980].

Das Ergebnis der Oxidationsstudie von Farhoosh et al. (2012) unterstützte die Untersuchungsergebnisse in der hier vorliegenden Arbeit von Sojaöl ( $r^2 = 0,998$ ). Hierzu wurden elf verschiedene Olivenöle bei 180°C für 16 Stunden im Dunkeln erhitzt [Farhoosh et al., 2012]. Auch Wanasundara et al. (1994) konnten zeigen, dass sowohl die Bestimmung der Peroxidzahl und die der konjugierten Diene geeignete Parameter zur Erfassung primärer und initialen Oxidationsprodukte der Lipidoxidation war. Die Autoren untersuchten Raps- und Sojaöl über einen Zeitraum von 30 Tagen bei 65°C und erhielten Korrelationskoeffizienten von 0,997 für Rapsöl und 0,989 für Sojaöl [Wanasundara et al. 1994]. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit und aus der Literatur zeigten, dass die beiden Oxidationsmarker gut zu vergleichen sind.

In der hier vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal ein stärkerer Einfluss der Kombination aus Luftsauerstoff und Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich im Vergleich zu Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich allein beobachtet. Es fehlen derzeit jedoch vergleichende Studien, die beide Einflussfaktoren gleichzeitig bei den gleichen Studienbedingungen untersucht haben. Dadurch konnten nur Teilergebnisse gegenübergestellt werden.

Neben der Ermittlung der Peroxidzahl und der konjugierten Diene in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen wurden erstmals freie Radikale mittels ESR in Palm- und Sojaöl unter Einfluss von Licht im sichtbarem Bereich und Luftsauerstoff mit und ohne RP bestimmt. Es wurde ein linearer Anstieg der Intensität des PBN-Adduktes ( $n = 1$ ) und damit ein stetiger Fortschritt der Lipidoxidation in beiden Ölen detektiert. Entgegen der Ergebnisse von Peroxidzahl und konjugierten Dienen führte der Einfluss von

Bestrahlung und Luftsauerstoff in Palmöl mit PBN als Spintrap zu höheren Werten der PBN-Adduktbildung als in Sojaöl mit PBN. Dies würde bedeuten, dass Palmöl stabiler gegenüber Lipidoxidation war als Sojaöl. Dafür spricht, dass weniger antioxidativ wirksame Tocopherole in Palmöl enthalten sind, welche der Bildung freier Radikale in Speiseölen entgegen wirken. Dementgegen spricht jedoch die Fettsäurezusammensetzung, welche Palmöl stabiler gegen Oxidation macht als Sojaöl. Es scheint des Weiteren, als würde es durch den Einfluss von Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich und Luftsauerstoff zu einem von Retinylpalmitat unabhängigen Anstieg des PBN-Adduktes kommen. Aufgrund der Tatsache, dass für diese Messungen nur Ergebnisse eines Replikates vorliegen und keine statistische Analyse möglich war, dienten diese nur bedingt zur Ermittlung des oxidativen Status von Speiseöl. Wenn auch die Datenlage zu dünn war, um statistisch abgesicherte Ergebnisse zu erhalten und Unterschiede hinsichtlich der beiden Studienöle zu erfassen, konnten die ESR-Ergebnisse der hier durchgeführten Studie zeigen, dass mit Zunahme des Luftsauerstoffvolumens im Kopfraum der Flasche und der Bestrahlungszeit die Lipidoxidation stetig anstieg. Es konnte ein Zusammenhang zwischen Intensität des PBN-Adduktes und des Luftsauerstoffvolumens festgestellt werden. Auch hier muss daraufhin gewiesen werden, dass die Berechnungen der Korrelationen mit einem Stichprobenumfang von eins durchgeführt wurden.

In der Studie von Velasco et al. (2005) wurden Rapsöl, Sojaöl und Fischöl während einer Lagerzeit von 70 Tagen bei 40°C im Dunkeln bezüglich ihres oxidativen Status untersucht. Zu Beginn der Studie wurde dem Öl unter Rühren bei Raumtemperatur PBN mit einer Konzentration von 1 mg/g (5,64 mmol/kg Öl) als Spintrap zugegeben. Die Quantifizierung der Radikale erfolgte über eine externe Kalibriergerade mit einem stabilen Radikal, TEMPO ((2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1yl)oxyl), das in einem gesättigten nicht oxidationsanfälligen Öl gelöst wurde. Die PBN-Addukte von Rapsöl und Sojaöl konnten schon am ersten Tag, bei Fischöl erst am zweiten Tag detektiert werden. Alle drei Proben zeigten anfänglich einen raschen Anstieg der PBN-Addukte, dem aber eine Phase langsamerer Bildung folgte. Im Gegensatz zu Raps- und Sojaöl konnte bei Fischöl eine Abnahme der Radikalbildung ab Mitte der Studiendauer gemessen werden. Im Vergleich mit Kontrollproben führte die Anwesenheit von PBN zu einer ausgeprägten Senkung der Peroxidwerte im Studienverlauf. Die Peroxidzahl war zusätzlich von der Ölart abhängig. Es zeigte sich, je geringer die Ölstabilität aufgrund der Fettsäurezusammensetzung (Rapsöl > Sojaöl > Fischöl) war, desto größer war die Peroxidzahl und der Effekt des PBN auf die Peroxidzahl nahm zu. Es

zeigte sich außerdem, dass Ölproben mit PBN einen signifikanten Effekt auf die Abnahme von natürlich enthaltenem Tocopherol hatten. Proben mit PBN erreichten über die Studienzeit hinweg höhere Tocopherolkonzentrationen als Kontrollproben ohne Spintrap [Velasco et al., 2005]. Diese Studienergebnisse bezüglich des Effektes von PBN auf den oxidativen Status waren der Grund, dass in der hier vorliegenden Studie für die Bestimmung der freien Radikale mit ESR ein eigener Versuchsansatz mit PBN angelegt wurde.

Yi et al. (2011) untersuchten in einer Studie rotes und gelbes Palmöl, welches 1 mg PBN/g Öl enthielt und bei 60°C im Dunkeln gelagert wurde. Die Ergebnisse der Studie zeigten ebenso eine stetige Zunahme der Intensität des PBN-Adduktes mit Zunahme der Autooxidation innerhalb von 4 Stunden. Rotes Palmöl oxidierte schneller als gelbes, vermutlich weil gelbes einen höheren Grad der Raffination und damit einen geringeren Gehalt an Carotinoiden aufweist. Der Gehalt an  $\alpha$ -Tocopherol und Tocotrienolen war in beiden Ölen annähernd gleich [Yi et al., 2011].

Die ESR-Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit diskutierten Lagerstabilitätsstudie mit Sojaöl zeigen, dass mit ESR die Detektion der Radikale in den ersten Tagen nicht möglich war. Auch Papadimitrou et al. (2006) untersuchten mittels ESR die oxidative Stabilität von nativem Olivenöl bei 70°C. Sie konnten, wie auch in der hier dargelegten Studie, in der Anfangsphase der Datenerfassung mit ESR keine freien Radikale als PBN-Addukte aus nativem Olivenöl detektieren. Erst mit Zunahme der Inkubationszeit konnte ein steiler Anstieg des ESR-Signals gemessen werden [Papadimitrou et al., 2006]. Es existieren mehrere Vermutungen, warum es erst ab einem gewissen Zeitpunkt zur Detektion der freien Radikale mittels ESR kommt. Ein Grund könnte sein, dass die Intensität des PBN-Adduktes unter dem Detektionslimit lag [Yi et al., 2011]. Es ist außerdem bekannt, dass Spin-Addukte nicht nur mit der Zeit gebildet, sondern auch abgebaut werden. Liegt das Verhältnis von Spin-Addukt-Bildung und -abbau auf der Seite des Abbaus, dann führt das vor allem zu Beginn der Lipidoxidation zu nicht detektierbaren freien Radikalen. Eine weitere Erklärung hängt mit der oxidativen Stabilität des Öles zusammen. Wenn das Öl aufgrund der Fettsäurezusammensetzung [Papadimitrou et al., 2006], oder der Anwesenheit von Antioxidantien wie zum Beispiel Tocopherole [Velasco et al., 2004] vor Lipidoxidation geschützt ist, kann mit ESR kein PBN-Addukt gemessen werden. Tatsächlich ist die Sensitivität von ESR mit  $\sim 10^{-10}$  M sehr hoch [Mason und Fann, 1998].

Raitio et al. (2012) untersuchten die durch erhöhte Temperatureinwirkung hervorgerufene Lipidoxidation in Palmöl. Frisches Palmöl ( $82,0 \pm 4,00$  a.u.) führte zu

einer signifikant niedrigeren Intensität des PBN-Adduktes als erhitztes Palmöl ( $120 \pm 13,0$  a.u.). Unterstützend dazu analysierten sie die Fettsäurezusammensetzung und die Peroxidzahl zu Beginn und am Ende der zwölfwöchigen Studie. Die Bestimmung der Fettsäuren erfolgte als Fettsäuremethylester mittels Gaschromatografie. Im Gegensatz zum signifikanten Anstieg des PBN-Adduktes wurde keine wesentliche Veränderung der Fettsäurezusammensetzung des Palmöls gemessen. Die Peroxidzahl betrug bei frischem  $0,013 \pm 0,000$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl und bei erhitztem Palmöl  $0,033 \pm 0,002$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl [Raitio et al., 2012].

Auch die Ergebnisse der Ermittlung der verschiedenen Lipidoxidationsmarker der hier vorliegenden Studie unterstrichen diese Aussage. Während in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen die konjugierten Diene keine einheitlich statistisch signifikanten Ergebnisse lieferten, kam es bezüglich Peroxidzahl und Intensität des PBN-Adduktes zu einem deutlichen Anstieg. Ob die Messung der freien Radikale mit ESR sensitiver als die Bestimmung der Peroxidzahl war, konnte aufgrund der zu geringen Stichprobenzahl nicht statistisch getestet und bewiesen werden.

Velasco et al. (2004) untersuchten mit ESR 270 min lang die oxidative Stabilität bei 60°C von Raps- und Sonnenblumenöl, welches teilweise mit  $\alpha$ -Tocopherol angereichert war. Die Öle wurden mit PBN in einer Konzentration von 1 mg/g versetzt, in Aliquoten mit je  $1,00 \pm 0,05$  g in einem heißen Wasserbad im Dunkeln gelagert und alle 30 min gemessen. Die Entwicklung der PBN-Spin-Addukte war für Rapsöl am geringsten, gefolgt von Sonnenblumenöl ohne Zusatz von  $\alpha$ -Tocopherol. Eine etwas stärkere Bildung von Spin-Addukten konnte bei Rapsöl mit 400 ppm  $\alpha$ -Tocopherol festgestellt werden. Mit großem Abstand am meisten freie Radikale enthielt Sonnenblumenöl mit 100 ppm  $\alpha$ -Tocopherol. Bei genauerer Untersuchung der verschiedenen Konzentrationszugaben von  $\alpha$ -Tocopherol stellte sich heraus, dass je höher die Konzentration des enthaltenen  $\alpha$ -Tocopherols war, desto langsamer war die Bildung von Spin-Addukten. Bezogen auf die Ölspezifität war Rapsöl mit etwa 62 % einfach und 30 % mehrfach ungesättigten Fettsäuren stabiler gegenüber Lipidoxidation als Sonnenblumenöl mit etwa 27 % einfach und 62 % mehrfach ungesättigten Fettsäuren [Velasco et al., 2004]. Dies zeigt wieder, je höher der Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Öl ist, desto mehr freie Radikale werden gebildet und die oxidative Stabilität sinkt. Die Ergebnisse von Velasco et al. (2004) lassen darauf schließen, dass der Grad der Spin-Addukt-Bildung nach der Induktionszeit einerseits von der Fettsäurezusammensetzung der untersuchten Öle, andererseits

auch von der Konzentration an  $\alpha$ -Tocopherol abhing [Velasco et al., 2004]. Das bedeutete wiederum, dass mit zeit- und oxidationsabhängiger Abnahme der Tocopherole die Bildung der PBN-Spin-Addukte stärker zunahm und Öl schneller an Qualität verlor.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigten, dass es bei Palmöl zu einer stärkeren Entstehung der PBN-Spin-Addukte kam. Wenngleich die Fettsäurezusammensetzung dagegen spricht, dass Palmöl weniger oxidativ stabil ist als Sojaöl, könnte die Erklärung im Tocopherolgehalt des Öles liegen. Obwohl sich der Vitamin E-Gehalt in rohem Palmöl zwischen 600 und 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  bewegt und davon durchschnittlich 20 % Tocopherole sind [Tan und Oh, 1981; Sabanthamurthi et al., 2000], gehen durch die Raffination bis zu 69 % verloren [Sabanthamurthi et al., 2000]. Daher kann angenommen werden, dass zu Beginn der hier vorliegenden Studie der Tocopherolgehalt von Palmöl in einem unbestimmten Ausmaß geringer war als der von Sojaöl. Der Gesamttocopherolgehalt von Sojaöl in der hier vorliegenden Studie lag zu Beginn bei  $704 \pm 23,4 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Dies bedeutete, dass Sojaöl durch den höheren Tocopherolgehalt stabiler war und daher weniger PBN-Addukte bildete als Palmöl mit einem niedrigerem Vitamin E-Gehalt. Neben der Fettsäuresammensetzung und dem Tocopherolgehalt spielen noch weitere Fettbegleitstoffe eine wichtige Rolle bezüglich der oxidativen Stabilität eines Öles.

Die Ergebnisse aus der Literatur bezogen sich immer auf die Lagerung von Öl im Dunkeln im Temperaturbereich von 40 bis 90°C. In der hier vorliegenden Studie waren Palm- und Sojaöl mit und ohne Retinylpalmitat dem Einfluss von sichtbarem Licht und Luftsauerstoff bei Raumtemperatur ausgesetzt. Trotzdem zeigten die Resultate der hier für diese Arbeit durchgeführten Studie die gleiche Tendenz der Entstehung von PBN-Addukten.

### **6.3 Stabilität von Vitamin A in Sojaöl**

Die hier durchgeführte Studie ergab, dass die Retinylpalmitatstabilität in Sojaöl in mit sichtbarem Licht bestrahlten Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen mit fortschreitender Lipidoxidation signifikant abnahm. Dadurch ergab sich eine negative Korrelation zwischen dem ansteigenden Peroxidwert und dem abnehmenden Retinolgehalt ( $r^2 = 0,937$ ;  $p < 0,05$ ). Nachdem bereits oxidiertem Öl mit einer Peroxidzahl von  $12,4 \pm 0,41 \text{ mÄq O}_2/\text{kg Öl}$  mit 60 I.E. Retinylpalmitat/ g Öl angereichert

worden war, wurde auch nach 28 Tagen kein signifikanter Abfall gemessen. Wurde das Öl 49 Tage dem Einfluss von Bestrahlung und Luftsauerstoff ausgesetzt, kam es von ursprünglichen  $39,4 \pm 3,63 \mu\text{g/mL}$  zu einer signifikanten Abnahme auf  $23,5 \pm 8,38 \mu\text{g/mL}$  um  $36,0 \pm 27,5 \%$

Laillou et al. (2012a) hatten ähnliche Studienbedingungen wie in der hier vorliegenden Studie und erhielten ein sehr ähnliches Ergebnis. Ziel dieser Studie war, den limitierenden Erfolg der Vitamin A-Anreicherung einer 50:50-Mischung aus Soja- und Sonnenblumenöl mit erhöhter Peroxidzahl zu testen. Das zu untersuchende Pflanzenöl wurde ebenso mit 60 I.E. RP pro g Öl angereichert. Die Vitamin A-Lösung enthielt neben RP (1 000 000 I.E./g), Vitamin D (50 000 IU/g) und zur Stabilisation als Antioxidans  $\alpha$ -Tocopherol (10 mg/1 000 000 IU/g). Zur Lagerung der Öle wurden PET-Flaschen mit einem Volumen von einem Liter abgefüllt. Die Temperatur betrug während der vierwöchigen Studie  $30 \pm 5^\circ\text{C}$ . Die geschlossenen Flaschen wurden entweder im Halbdunklen in einem Schrank oder in einem Regal, dem Tageslicht ausgesetzt, gelagert. Die Ermittlung der Vitamin A-Konzentration wurde während eines Monats einmal wöchentlich durchgeführt. Um den Einfluss des Luftsauerstoffes unter natürlichen Umständen, wie sie in der Küche vorkommen, miteinzubeziehen, wurden halbdunkel gelagerte Flaschen zu Studienbeginn und am dritten Tag für kurze Zeit geöffnet und nach Entnahme von 300 mL Öl wieder verschlossen. Vor und nach der Anreicherung wurden die Peroxidzahlen der zwei verschiedenen Ölmischungen (A und B) getestet. Es ergab sich, dass Öl B nach der Anreicherung wesentlich höhere Ausgangswerte ( $p < 0,001$ ) mit  $6,03 \pm 0,01$  und  $5,81 \pm 0,19 \text{ mÄq/kg}$  im Vergleich zu Öl A mit  $0,42 \pm 0,01$  und  $0,41 \pm 0,01 \text{ mÄq/kg}$  hatte. Für beide Ölmischungen, sowohl mit als auch ohne Anreicherung mit Retinylpalmitat, zeigte der oxidative Status einen graduellen Anstieg mit fortlaufender Lagerzeit. In Öl B änderte sich die Peroxidzahl von 6 auf ca. 15 mÄq/kg in der ersten Woche, und war in angereichertem Öl signifikant niedriger als in nicht angereichertem Öl am Tag 6 ( $14,04 \pm 0,23$  vs.  $14,82 \pm 0,14 \text{ mÄq/kg}$ ,  $p < 0,05$ ). Bei Öl A lagen die Werte bei ca. 2 an Tag sechs und bei ca. 6 - 8 in angereichertem und nicht angereichertem Öl nach 30 Tagen, wobei angereichertes Öl signifikant niedrigere Peroxidwerte ( $6,18 \pm 0,05$  und  $7,30 \pm 0,10 \text{ mÄq/kg}$ ,  $p < 0,001$ ) erzielte. Die Ermittlung der Retinolkonzentration ergab, dass 51,7 % des ursprünglichen Retinylpalmitats innerhalb von acht Tagen als Verlust zu verzeichnen waren. Von Öl A gingen innerhalb derselben Zeit nur 4,2 % des Vitamin A verloren. Bei Betrachtung aller Ergebnisse und Berechnung der Zusammenhänge für Öl A ergibt sich erst nach fünf Tagen eine signifikante Korrelation zwischen Peroxidzahl und

Vitamin A-Verlust. Nachdem das Öl vier Wochen dem Tageslicht ausgesetzt war, betrug der Vitamin A-Verlust 19,7 % in Öl A und 31,1 % in Öl B ( $p < 0,001$ ). Bei Lagerung im Halbdunklen war der Verlust in Öl A wesentlich geringer als in Öl B (0,7 % und 26,1 %,  $p < 0,001$ ). Bei zusätzlicher Betrachtung des Einflusses von Luftsauerstoff kam es zu einer Vitamin A-Abnahme von 7,3 % in Öl A und 23,1 % in Öl B ( $p < 0,001$ ). Im Halbdunkeln betrug der Verlust von Vitamin A für die Öle A und B 5,6 % und 11,8% ( $p < 0,001$ ). Eine wichtige Erkenntnis dieser Studie von Laillou et al. (2012a) war, dass die Stabilität von Retinylpalmitat vom oxidativen Status des Öles abhing [Laillou et al., 2012a]. Auch in der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass mit Zunahme des Oxidationsgrades, gemessen an der Peroxidzahl und den konjugierten Dienen, der Gehalt an Retinylpalmitat in bestrahltem Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen abnahm. Laillou et al. (2012a) zeigten außerdem, dass die Stabilität mehr vom oxidativen Status zu Studienbeginn als von Luftsauerstoff und Licht beeinflusst wurde. In Ölen, welche bei der Anreicherung eine niedrigere Peroxidzahl hatten, war Retinylpalmitat länger stabil und nahm langsamer ab. Bei Vergleich aller möglichen Lagerbedingungen bewirkten Licht- und Luftsauerstoffeinfluss den größten Verlust an Retinylpalmitat in Öl, gefolgt von Licht und zuletzt Luftsauerstoff [Laillou et al., 2012a]. Eine brasilianische Studie von Favaro et al. [1991] zeigte, dass Retinylpalmitat in Sojaöl über einen Zeitraum von sechs Monaten in geschlossenen Metallbehältern bei einer Raumtemperatur von 23°C zu 99,5 % stabil ist. Auch nach neun Monaten Lagerzeit blieb die Retinylpalmitatkonzentration mit 99 % des ursprünglichen Gehaltes stabil. Nach 18 Monaten kam es jedoch zu einem starken Verlust von 67 % [Favaro et al., 1991]. Weitere Studien zeigten, dass die Stabilität von Retinylpalmitat nach sechs Monaten Lagerung bei 91 % [Bauernfeind, 1953] und 90-95 % [Nagy, 1995] lag. Favaro et al. verglichen im Jahr 1991 die Öllagerung bei 23°C in geöffneten Behältnissen im Dunkeln und bei Bestrahlung von 10 Stunden täglich. Nach sechs Monaten konnte bei beiden Lagerbedingungen keine markante Abnahme von Vitamin A festgestellt werden. Erst nach drei weiteren Monaten Dunkellagerung in offenen Behältnissen betrug die Abnahme 27 %, und 52 % mit zusätzlicher Bestrahlung [Favaro et al., 1991]. Atwood et al. [1995] hatten nach 30 Tagen Lagerung von Öl, welches Licht, Luft und einer Temperatur von 35°C ausgesetzt war, 70-88 % der ursprünglichen Vitamin A-Konzentration gemessen [Atwood, 1995].

Dass der Einfluss von Luftsauerstoff in Kombination mit Bestrahlung durch Sonnenlicht im sichtbaren Bereich zu einem Abbau von RP in Sojaöl führte, konnte in der hier vorliegenden Studie erstmals gezeigt werden. Es ist bekannt, dass der Grund für die

chemische Instabilität von Vitamin A und seinen Isoformen am konjugierten Doppelbindungssystem liegt. Diese elektronenreichen Regionen sind bevorzugte Angriffspunkte elektronenarmer Spezies, vor allem Radikale. Durch Katalysatoren wie Licht kommt es zum Abbau dieser Retinoide [Frankel; 2005; Loveday und Singh, 2008]. Luftsauerstoff beschleunigt den photo-katalysierten Abbau unter gewissen Umständen. Der Abbau in Anwesenheit von Luftsauerstoff ohne Katalysator wie Licht oder chemisch generierter freier Radikale ist relativ gering [Failloux et al., 2004, Loveday und Singh, 2008].

#### **6.4 Einfluss der Lipidoxidation auf den Tocopherolgehalt in Sojaöl**

Der Tocopherolgehalt in Sojaöl in der hier vorliegenden Studie betrug für  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol  $149 \pm 16,3 \mu\text{g/mL}$ ,  $431 \pm 18,6 \mu\text{g/mL}$  und  $124 \pm 15,3 \mu\text{g/mL}$ , in Summe ein Gesamttocopherolgehalt von  $704 \pm 23,4 \mu\text{g/mL}$  zu Studienbeginn. Der Vergleich mit anderen Studienergebnissen zeigt, dass die ermittelten Werte im gleichen Bereich lagen. Carpenter (1979) hatte die Tocopherolgehalte zweier verschiedener Sojaöle gemessen und erhielt Werte von  $64,4 \mu\text{g/mL}$  und  $35,9 \mu\text{g/mg}$  für  $\alpha$ -,  $850 \mu\text{g/mL}$  und  $552 \mu\text{g/mL}$  für  $\gamma$ - und  $340 \mu\text{g/mL}$  und  $216 \mu\text{g/mL}$  für  $\delta$ -Tocopherol. In Summe waren das  $1251$  und  $800 \mu\text{g/mL}$  an Gesamttocopherolen, die mittels HPLC detektiert wurden [Carpenter, 1979]. Die von Gliszcyńska-Świgło und Sikorska (2004) gemessenen durchschnittlichen Gehalte der jeweiligen Tocopherole waren für Sojaöl  $141 \mu\text{g/mL}$  ( $\alpha$ ),  $464 \mu\text{g/mL}$  ( $\beta+\gamma$ ),  $173 \mu\text{g/mL}$  ( $\delta$ ) und  $778 \mu\text{g/mL}$  für den Gesamtgehalt an Tocopherolen [Gliszcyńska-Świgło und Sikorska, 2004]. Silva et al. (2010) erhielten für  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol  $31,1 \mu\text{g/mL}$ ,  $321 \mu\text{g/mL}$ ,  $153 \mu\text{g/mL}$ , die in Summe  $505 \mu\text{g/mL}$  einen Gesamttocopherolgehalt ergaben [Silva et al., 2010].

In der vorliegenden Studie nahm der Gehalt an  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol mit Zunahme der Lipidoxidation durch Licht- und Luftsauerstoffeinfluss in Sojaöl zu allen Messzeitpunkten im Vergleich zum Studienbeginn signifikant ab. Die Abnahme des Gesamttocopherolgehaltes betrug nach drei Monaten Studienzeit  $32,4 \pm 0,81 \%$ . Das im Speiseöl antioxidativ am wenigsten wirksame Tocopherol,  $\alpha$ -Tocopherol, nahm von  $149 \pm 16,3 \mu\text{g/mL}$  auf  $99,2 \pm 3,83 \mu\text{g/mL}$  ab. Bei  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol, welche in Speiseölen stärker antioxidativ wirksam sind, kam es zwischen Studienstart und Tag 21 zu einem signifikanten starken Abfall und danach zu keiner signifikanten Reduktion der Konzentration der einzelnen Tocopherolisomere. Auch Silva et al. (2010) zeigten

die starke Abnahme von  $\gamma$ -Tocopherol. Sie untersuchten die oxidative Stabilität verschiedener Pflanzenöle nach der Lebensmittelverarbeitung und ermittelten den Tocopherolgehalt. Sojaöl zählte neben Sonnenblumen- und Maisöl zu den tocopherolreichsten Ölsorten. Ein hoher Tocopherolgehalt wird mit einem hohen Gehalt an PUFAs assoziiert, welcher vor allem in Sojaöl vorliegt [Silva et al., 2010]. Silva et al. [2010] konnten eine stärkere Abnahme von  $\gamma$ -Tocopherol verglichen mit der Abnahme von  $\alpha$ -Tocopherol feststellen. Sie erklärten das mit der größeren antioxidativen Aktivität von  $\gamma$ -Tocopherol in diesem Konzentrationsbereich. Da die Fettsäurezusammensetzung von Sonnenblumenöl (3,7 % 18:0, 33,7% 18:1, 56,6 % 18:2) [Gustafsson et al., 1993; Nagao und Yamazaki, 1983; Kamal-Eldin und Andersson, 1997; Van Niekerk und Burger, 1985] der von Sojaöl ähnelt, können die Ergebnisse von Tawfik und Huyghebaert aus dem Jahre 1999 mit der hier vorliegenden Studie verglichen werden. Der Gehalt an Tocopherolen in Sonnenblumenöl der 60-tägigen Lagerstudie in PET-Flaschen bei 24°C lag zu Beginn bei 50,69 mg/100 mL Öl, nach 20 Tagen bei 47,89 mg/100 mL Öl und nach 60 Tagen bei 46,78 mg/100 mL Öl. Für raffiniertes Palmöl waren die Werte 25,93 mg/100 mL Öl am Studienstart, an Tag 20 22,58 mg/100 mL Öl und am Studienende 20,39 mg/100 mL Öl. Die Peroxidzahlen von Palmöl waren zu allen drei Messzeitpunkten niedriger als jene von Sojaöl, was vermutlich auf den niedrigeren Gehalt an ungesättigten Fettsäuren in Palmöl zurückzuführen war. In beiden Ölen konnte gezeigt werden, dass der Anstieg der Peroxidzahl mit einem Verlust an Tocopherolen verbunden war [Tawfik und Huyghebaert, 1999]. In einer Studie von Chu und Lin (1993) wurde die Veränderung des Tocopherolgehaltes von rohem Sojaöl und raffiniertem Sojaöl bei einer Lagertemperatur von 60°C über einen Zeitraum von 600 Stunden untersucht. Der anfängliche Gesamttocopherolgehalt lag bei ca. 1450 und ca. 1250 ppm für rohes und raffiniertes Sojaöl. Nach 100 Stunden war der Gehalt bei beiden Ölen weitgehend unverändert, nach 200 Stunden hingegen kam es bei raffiniertem Sojaöl zu einer signifikanten Abnahme, die sich bei den folgenden Messzeitpunkten fortsetzte. Nach 500 Stunden war der Gehalt nur mehr bei ca. 850 ppm. Bei rohem Sojaöl kam es erst nach 500 Stunden zu einer signifikanten Abnahme mit einem Gehalt von ca. 1300 ppm [Chu und Lin, 1993]. Der oxidationsbedingte Abfall von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Sojaöl konnte auch in einer aktuellen Studie von Elisia et al. (2013) festgestellt werden. Die initialen Konzentrationen an  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Sojaöl waren 4,13 mg/100 g Öl, 53,4 mg/100 g Öl und 19,2 mg/100 g Öl. Nach einer sieben-tägigen Hitzebehandlung

bei 56°C oder 95°C kam es bei beiden Temperaturen zu einem rasanten Abbau der einzelnen Tocopherole. Der größte Abfall wurde bei  $\alpha$ -Tocopherol, gefolgt von  $\gamma$ -Tocopherol, gemessen [Elisia et al., 2013].

Die angeführten Studien konnten die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit bezüglich des Verlustes an Tocopherolen infolge fortschreitender Lipidoxidation bestätigen.

In der hier durchgeführten Studie konnte eine Korrelation zwischen dem Tocopherolabbau und dem Anstieg der Hydroperoxide ( $r^2 = 0,860$ ;  $p < 0,05$ ) bzw. den konjugierten Dienen ( $r^2 = 0,674$ ;  $p < 0,05$ ) festgestellt werden. Dies lässt darauf schließen, dass die Konzentration an Tocopherolen mit Zunahme der Lipidoxidation und den damit einhergehenden Lipidoxidationsprodukten abnahm. Nach drei Monaten Studienzeit konnten noch  $67,6 \pm 0,81$  % der ursprünglichen Konzentration an Gesamtocopherolen gemessen werden. Besonders stark von dieser Abnahme betroffen waren die im Speiseöl antioxidativ wirksamsten Tocopherole,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol. Elisia et al. (2013) quantifizierten ebenfalls neben den Tocopherolen konjugierte Diene und Hydroperoxide in Sojaöl. Auch hier ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen  $\alpha$ -Tocopherol und konjugierten Dienen ( $r^2 = 0,696$ ;  $p < 0,05$ ). Bei der Korrelationsanalyse zwischen den Hydroperoxiden und  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol konnte jedoch kein Zusammenhang festgestellt werden [Elisia et al., 2013].

In der im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Stabilitätsstudie mit Palm- und Sojaöl über drei Monate führte Luftsauerstoff zu einer Beschleunigung der Lipidoxidation, was aus den Ergebnissen der Bestimmung der Peroxidzahl und der Intensität der PBN-Addukte für beide Öle hervorging. Die Hypothese, dass Bestrahlung mit sichtbarem Sonnenlicht den oxidativen Status von Palm- und Sojaöl über 3 Monate beeinflusste, konnte genau für diese Bedingungen zum ersten Mal durch die Ergebnisse der Peroxidzahl und der PBN-Addukte bestätigt werden. Die Ergebnisse der Ermittlung der konjugierten Diene stimmten mit den anderen Lipidoxidationsmarkern überraschenderweise jedoch nicht überein. Der Einfluss der Anreicherung von Palm- und Sojaöl mit Retinylpalmitat auf die Lipidoxidation wurde bisher in anderen Studien noch nicht untersucht. In der hier vorliegenden Studie hatte die Anreicherung zu Beginn der Studie keinen Einfluss auf die Entwicklung der untersuchten Lipidoxidationsmarker während der drei Monate Studiendauer. Der Gehalt von Retinylpalmitat, welches bereits oxidiertem Sojaöl mit einer Peroxidzahl von  $12,4 \pm 0,40$  mÄq O<sub>2</sub>/kg Öl zugesetzt wurde, nahm auch 28 Tage nach Anreicherung nicht signifikant ab. Nach 49 Tagen Lagerung dieses Sojaöls kam es mit Fortschritt der

Lipidoxidation zu einem signifikanten Verlust des Retinylpalmitatgehaltes um  $43,0 \pm 16,1$  %. Die Analysen von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Sojaöl ergaben, dass es bei  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol, welche in Speiseölen antioxidativ am wirksamsten sind, zwischen Studienstart und Tag 21 zu einem signifikanten starken Abfall kam und danach keine signifikante Veränderung der Konzentration der einzelnen Tocopherolisomere gemessen werden konnte. Daraus resultierte, dass es mit Zunahme primärer Lipidoxidationsprodukte zu einer signifikanten Abnahme des Gesamttocopherolgehaltes kam, besonders in den ersten drei Studienwochen.

## 7 SCHLUSSBETRACHTUNG

Vitamin A zählt zu den fettlöslichen essentiellen Vitaminen und wird in Speiseölen angereichert, um Vitamin A-Mangel in Entwicklungsländern entgegenzuwirken. In Studien wurde bereits gezeigt, dass die Stabilität von Vitamin A in Form von Retinylpalmitat in oxidiertem Öl geringer ist als in frischem Öl. Der oxidative Status kann mit verschiedenen chemischen Parametern wie Peroxidzahl, konjugierten Dienen und der Intensität des PBN-Adduktes ermittelt werden. Den Einfluss von Bestrahlung und Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation unterschiedlicher Speiseöle bei stark erhöhter Temperatur und auch Raumtemperatur konnte in zahlreiche Studien bisher gezeigt werden.

Ziel der hier vorliegenden Studie war, erstmals den Einfluss von Licht im sichtbaren Bereich und Luftsauerstoff auf den oxidativen Status von raffiniertem Palm- und Sojaöl über einen Zeitraum von drei Monaten zu ermitteln. Dazu wurden Palm- und Sojaöl der Firma Lamotte GmbH in 0,5 L-PET-Flaschen abgefüllt. Um den Einfluss von Sonnenlicht über einen längeren Zeitraum genau mit diesen Ölen zu ermitteln, war ein Teil der Ölfaschen mit konstantem Kopfvolumen einer täglichen Beleuchtung in einem 12-Stunden-Rhythmus ausgesetzt. Um das Sonnenlicht nachzuahmen, wurde eine Bestrahlungsquelle gewählt, die dem sichtbaren Bereich des Sonnenlichtes ähnelt. Als Kontrolle dienten Ölfaschen, die unter Lichtausschluss gelagert waren. Es zeigte sich bei Ermittlung der Peroxidzahl, dass eine 12-stündige Bestrahlung mit sichtbarem Licht die Lipidoxidation von Palmöl und Sojaöl ohne RP-Zusatz erhöht. Die Dunkellagerung von Palmöl, angereichert mit RP, führte entgegen aller Erwartungen zu höheren Peroxidzahlen im Gegensatz zur Bestrahlung. Es könnte sein, dass Licht den Grad des Abbaus von Hydroperoxiden erhöhte. Bei Sojaöl mit RP wurde keine signifikante Erhöhung der Peroxidzahl durch Bestrahlung hervorgerufen. Es ist bekannt, dass die Abbaurate der Hydroperoxide der Bildungsrate der Hydroperoxide gegenübersteht und das Ergebnis kein Nettoanstieg der Peroxidzahl ist. Dies könnte einerseits darauf hinweisen, dass RP den Fortschritt der Lipidoxidation durch antioxidative Wirkung verzögerte und andererseits Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich auf Sojaöl einen nicht so großen Einfluss auf die Lipidoxidation hatte. Obwohl Sojaöl aufgrund des hohen Gehaltes an ungesättigten Fettsäuren eine geringere oxidative Stabilität aufweist, ist die Konzentration an antioxidativ wirksamen Tocopherolen höher als bei Palmöl. Dadurch wird Sojaöl insgesamt wieder relativ stabil gegenüber Einflussfaktoren wie Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich. Sowohl bei Palmöl als auch bei Sojaöl

fürte Bestrahlung zu keiner signifikanten Steigerung konjugierten Diene. Die Resultate der hier vorliegenden Studie zeigten, dass die Ermittlung der konjugierten Diene im Vergleich zur Peroxidzahl eine weniger sensitive Methode darstellte.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass vor allem Speiseöle mit einem hohen Anteil ungesättigter Fettsäuren, wie Sojaöl, vor dem Einfluss von sichtbarem Licht geschützt werden müssen.

Der prognostizierte Einfluss von Luftsauerstoff auf die Lipidoxidation konnte durch die Ergebnisse der titrimetrischen Ermittlung der Peroxidzahl bestätigt werden. Zur Untersuchung des Einflusses von Luftsauerstoff wurde die Probenahme nach einer siebentägigen Lagerzeit immer aus derselben Ölfflasche durchgeführt, wodurch es zum stetigen Anstieg des Kopfvolumens in der Flasche kam. Sowohl bei bestrahltem Sojaöl als auch bei Palmöl führte dieser Einfluss des Luftsauerstoffes zu einer stärkeren Zunahme der Lipidoxidationsprodukte als bei Proben aus Flaschen mit konstantem Kopfvolumen. Die Korrelationsanalyse von Peroxidzahl und konjugierten Dienen von Sojaöl unter Einfluss von sichtbarem Licht und Luftsauerstoff zeigte auch, dass es einen Zusammenhang zwischen den beiden Lipidoxidationsmarkern gab. Einzig die Messung der konjugierten Diene von Palmöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen konnte den Einfluss von Sauerstoff nicht bestätigen. Dies wies darauf hin, dass Palmöl aufgrund des geringen Gehalts an mehrfach ungesättigten Fettsäuren stabiler gegenüber Lipidoxidation ist und, dass die Ermittlung der konjugierten Diene eine weniger sensitive Methode darstellt. Bei der spektrophotometrischen Messung wird die Absorption bei einer bestimmten Wellenlänge gemessen. Bei dieser Wellenlänge absorbieren verschiedene Substanzen und daher kann kein strukturspezifischer Nachweis gewährleistet werden. Diese analytische Grenze ist vermutlich der Grund, dass anhand der Ermittlung der konjugierten Diene keine Veränderung des oxidativen Status gemessen werden konnte.

Die Ergebnisse der beiden untersuchten Einflussfaktoren gaben jedoch Anlass zur Annahme, dass Luftsauerstoff einen größeren Einfluss auf die Lipidoxidation hatte als Bestrahlung. Es kann nun daraus geschlossen werden, dass mit Zunahme des Kopfvolumens in einer Ölfflasche die Lipidoxidation rasch fortschreitet und die Qualität des Öles sank. Dies bedeutet für die Praxis, dass handelsübliche Speiseöle für den Privathaushalt in dunklen Flaschen in kleinen Einheiten und nicht in Containern oder Flaschen mit ein bis fünf Litern verkauft und gelagert werden, und so schnell wie möglich konsumiert werden sollen.

Für die Bestimmung der freien Radikale mit ESR wurde Palm- und Sojaöl mit dem Spintrap PBN versetzt, um die Intensität der Radikal-PBN-Addukte zu semiquantifizieren. In beiden Ölen, sowohl mit als auch ohne Anreicherung mit RP, führte der Einfluss von Luftsauerstoff zu einem stetigen Anstieg der freien Radikale. Die Korrelationsanalyse mit den Parametern Peroxidzahl und Intensität des PBN-Adduktes ergab nur für Sojaöl und Palmöl ohne RP einen positiven Zusammenhang. Die Korrelation des Sauerstoffgehaltes im Kopfraum der Ölflasche und der Intensität des PBN-Adduktes unterstrich die Vermutung, dass Luftsauerstoff einen Einfluss auf die Bildung freier Radikale hat.

Um die Stabilität von Vitamin A in Speiseöl zu ermitteln, wurde der Retinolgehalt in Sojaöl nach Anreicherung mit 60 I.E. Retinylpalmitat/g Öl mittels HPLC-UV ermittelt. Der Einfluss von Bestrahlung und Luftsauerstoff führte nach einer 28-tägigen Stabilitätsphase zu einer signifikanten Abnahme von Retinol nach 49 Tagen. Die Korrelationsanalyse der Lipidoxidationsmarker Peroxidzahl und konjugierte Diene mit dem Retinolgehalt zeigte einen negativen Zusammenhang. Dies weist daraufhin, dass die Zunahme der Lipidoxidation die Stabilität von Vitamin A in Sojaöl negativ beeinflusst. Für die Vitamin A-Anreicherung von Speiseöl in Afrika bedeutet dies nun, dass die Wirksamkeit der Anreicherung mit fortgeschrittener Lipidoxidation nicht gewährleistet werden kann. Aufgrund dieser Studienergebnisse kann empfohlen werden, dass für eine anhaltende Stabilität von Vitamin A über einen Zeitraum von mehreren Monaten das angereicherte Öl vor dem Einfluss von sichtbarem Licht und Luftsauerstoff geschützt werden sollte. Es muss daher auf die Lagerung des Speiseöls in kleinen Flaschen geachtet werden, sodass das Kopfvolumen möglichst gering gehalten wird.

Auch die Resultate der Tocopherolmessungen in Sojaöl unterstrichen die Auswirkungen von Bestrahlung durch sichtbares Licht und Luftsauerstoff auf den oxidativen Status. Diese Einflussfaktoren führten in der hier vorliegenden Studie bereits nach drei Wochen zu einer signifikanten Abnahme von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol. Besonders auffallend war der rapide Abfall des antioxidativ wirksamsten  $\delta$ -Tocopherol in dieser Zeit. In den anschließenden neun Wochen kam es durch Zunahme der Lipidoxidation zu einer weiteren, jedoch nicht signifikanten Reduktion der einzelnen Tocopherolisomere. Dass es einen negativen Zusammenhang zwischen den Lipidoxidationsprodukten und dem Gesamttocopherolgehalt gab, konnte mit einer Korrelationsanalyse erwiesen werden. Die Vermutung, dass im Anfangsstadium der Lipidoxidation Antioxidantien der Entstehung von Lipidoxidationsmarkern eher

entgegenwirken können als zu späteren Zeitpunkten, wenn schon ein Großteil abgebaut worden ist, liegt nahe.

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zeigten, dass der Einfluss von Luftsauerstoff und Bestrahlung mit einer Lichtquelle, die dem sichtbaren Bereich des Sonnenlichtes ähnelt, zu einem Anstieg der Lipidoxidationsmarker führte. Für zukünftige Untersuchungen wäre jedoch interessant, ob Luftsauerstoff diesen Einfluss auch unter Ausschluss von Licht im sichtbaren Bereich besitzt, weil der Transport und die Lagerung von Ölfaschen auch in lichtgeschützten Behältnissen und Räumlichkeiten praxisrelevant ist.

Wie aus zahlreichen Studien hervorgeht, hat auch eine erhöhte Temperatur einen starken Einfluss auf die Lipidoxidation. Es wäre deshalb in weiteren Studien notwendig, neben dem Bestrahlungs- und Luftsauerstoffeinfluss auch den Einfluss der Temperatur in Speiseöl zu untersuchen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass erstmals gezeigt werden konnte, dass Bestrahlung mit Tageslicht im sichtbarem Bereich und Luftsauerstoff über einen Zeitrahmen von drei Monaten in Palm- und Sojaöl zu einem Anstieg der Lipidoxidation führen. Die Stabilität von Vitamin A, welches in Form von Retinylpalmitat zur Anreicherung von Sojaöl eingesetzt wurde, nimmt mit ansteigendem Grad der Lipidoxidation ab. Die Konzentration an  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Tocopherol in Sojaöl sinkt besonders im Anfangsstadium der Lipidoxidation.

## 8 ZUSAMMENFASSUNG

Speiseöle eignen sich für die Anreicherung von Vitamin A in Form von Retinylpalmitat, weil es darin gut lösbar ist und eine hohe Stabilität aufweist. Diese Stabilität hängt vom oxidativen Status des Öles ab. Erhöhte Temperaturen und die Anwesenheit von Luftsauerstoff und Licht begünstigen den Prozess der Lipidoxidation, der zur Bildung charakteristischer Fehlgerüche und ungenießbaren Speiseölen führt. Außerdem ist bekannt, je mehr ungesättigte Fettsäuren in einem Öl vorkommen, desto höher ist dessen Oxidationsanfälligkeit. Ziel der hier vorliegenden Arbeit war deshalb, Palm- und Sojaöl bezüglich ihrer Lagerstabilität bei  $25\pm 1^\circ\text{C}$  über einen Zeitraum von drei Monaten zu untersuchen. Die beiden Öle wurden in 0,5 L-PET-Flaschen abgefüllt und teilweise mit 60 I.E. Retinylpalmitat/g Öl angereichert. Um erstmals den Einfluss von Licht im sichtbaren Bereich zu ermitteln, war ein Teil der Ölfaschen mit konstantem Kopfvolumen einer täglichen Bestrahlung im 12-Stunden-Rhythmus ausgesetzt. Als Kontrolle dienten Ölfaschen, die im Dunkeln gelagert wurden. Der Einfluss von Luftsauerstoff wurde in Flaschen gemessen, bei welchen durch wöchentliche Probenahme das Ölvolumen abnahm und somit das Kopfvolumen in der Flasche anstieg. Die Ermittlung der Peroxidzahl zeigte, dass Bestrahlung von Palm- und Sojaöl ohne Zusatz von Retinylpalmitat die Lipidoxidation signifikant erhöhte. Es zeigte sich, dass die spektrophotometrische Messung der konjugierten Diene bei einer Wellenlänge von 234 nm nicht substanzspezifisch genug war, um einen Anstieg der Lipidoxidation zu detektieren. Der Einfluss von Luftsauerstoff führte bei Palmöl zu einem maximalen Anstieg der Peroxidzahl um  $1407\pm 20,5\%$  und bei Sojaöl um  $1587\pm 58,0\%$ , womit die höhere oxidative Instabilität von Sojaöl gezeigt werden konnte. Mittels ESR konnte gezeigt werden, dass mit Zunahme der Lagerzeit und Einfluss von Luftsauerstoff und Bestrahlung die Intensität der PBN-Addukte bei beiden Ölen stetig zunahm. Achtundzwanzig Tage nachdem Sojaöl mit einer Peroxidzahl von  $12,4\pm 0,40$  mÄq  $\text{O}_2/\text{kg}$  Öl mit Retinylpalmitat angereichert worden war, wurden noch  $96,9\pm 19,2\%$ , nach neunundvierzig Tagen noch  $64,0\pm 27,5\%$  des Ausgangswertes an Retinylpalmitat gemessen. Die Konzentration von  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ - Tocopherol nahm in Sojaöl nur zwischen Studienstart und Tag 21 signifikant ab. Danach wurde kein signifikanter Unterschied zu Tag 21 und zwischen den Messzeitpunkten innerhalb der Tocopherolisomere gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus Bestrahlung mit Licht im sichtbaren Bereich, Lagerung bei  $25\pm 1^\circ\text{C}$  und Luftsauerstoffeinfluss die oxidativen Stabilität der Speiseöle beeinflusst und dadurch ein limitierender Faktor für die Vitamin A-Anreicherung ist.

## 9 ABSTRACT

Edible oils are commonly used for the fortification of Vitamin A in form of retinyl palmitate. Elevated temperatures, the presence of oxygen and light favour the process of lipid oxidation which results in the formation of characteristic off-flavours. It can be assumed that there is a direct relationship between the stability of vitamin A and the oxidation status of the oil. The aim of this study was to determine the oxidative stability of palm and soybean oil stored at  $25\pm 1^\circ\text{C}$  for a period of three months. Aliquots of each oil were transferred into 0.5 L PET- bottles, and partially fortified with 60 I.U. of retinyl palmitate/g oil. To investigate the influence of visible light, some bottles were irradiated with visible light in a daily 12-h-rhythm, while controls were stored in darkness. The influence of air oxygen was analysed in bottles with increasing headspace volume and decreasing oil volume due to weekly sampling from the same bottle. The results of the measurement of the peroxide value showed that irradiation of palm and soybean oil with visible light without addition of retinyl palmitate significantly increased lipid oxidation. It revealed that the spectrophotometric measurement of conjugated dienes at a wavelength at 234 nm was not specific enough to indicate an increase in lipid oxidation. The influence of air oxygen led to a maximum increase of the peroxide value by  $1407\pm 20.5\%$  in palm oil and by  $1587\pm 58.0\%$  in soybean oil. Results obtained by electron resonance spectroscopy (ESR) revealed an increase for carbon-centred radicals for both oils with increasing storage time, headspace volume, and irradiation. Twenty eight days after fortification of soybean oil with retinyl palmitate, the mean recovery of retinyl palmitate was  $96.9\pm 19.2\%$ , whereas, after 49 days,  $64.0\pm 27.5\%$  of the retinyl palmitate added was recovered. The concentration of the substantial antioxidants  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ - tocopherols significantly decreased in soybean oil during the first three weeks of the study. In conclusion, the combination of irradiation with visible light, storage at  $25\pm 1^\circ\text{C}$  and influence of air oxygen in the head space significantly affected the oxidative stability of soybean and palm oil, and is verified to be a limiting factor for the fortification with vitamin A.

## Literatur

- Allen, L.; de Benoist, B.; Dary, O.; Hurrell, R. Guidelines on food fortification with micronutrients. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006.
- Atwood, S.J.; Sanghvi, T.G.; Sharma, V.; Carolan, N. Stability of Vitamin A in Fortified Vegetable Oil and Corn Soy Blend Used in Child Feeding Programs in India. *Journal of Food Composition and Analysis* 8, 32-44; 1995.
- Atwood, S.J., et al. Stability of vitamin A in fortified vegetable oil and corn soy blend (CSB) used in child feeding programs in India. Washington, DC, U.S. Agency for International Development, 1994.
- Baccouri, O.; Bendini, A.; Cerretani, L.; Guerfel, M.; Baccouri, B.; Lercker, G.; Zarrouk, M.; Miled, D.D.B. Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils. *Food Chemistry* 111, 322-328; 2008.
- Bagriansky, J.; Ranum, P. Vitamin A Fortification of P.L. 480 Vegetable Oil. SUSTAIN, Washington D.C.; 1998.
- Bauernfeind, J.C., et al. Synthetic vitamin A and food fortification. *Food Engineering* 81; 1953.
- Belitz, H.D.; Grosch, W., Schieberle, P. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 6.Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg; 2012.
- Berliner, L. J.; Reuben, J. Spin Labelling, Theory and Applications Biological Magnetic Resonance, Plenum Press 8; 1989.
- Bognar, A. Bestimmung von Vitamin A in Lebensmitteln mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC). *Z. Lebensm Unters Forsch* 182, 492-497; 1986.
- Carpenter, A.P. Determination of Tocopherols in Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56. 668-671; 1979.
- Cavalli, J-F.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L.; Loiseau, A-M. Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry* 88, 151-157; 2004.

- Cecchi, T.; Passamonti, P.; Cecchi, P. Study of the quality of extra virgin olive oil stored in PET bottles with or without an oxygen scavenger. *Food Chemistry* 120(3),730-735; 2010.
- Choe, E.; Min, D.B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5(4), 169–186, 2006.
- Chu, YH.; Lin, JY. Factors affecting the content of tocopherol in soybean oil. *JAOCS*, 70, 1263-1268, 1993.
- Chung, H.J.; Colakoglu, A.S., Min, D.B. Relationship among Headspace Oxygen, Peroxide Value, and Conjugated Diene Content of Soybean Oil Oxidation. *Journal of Food Science* 69(2), 83-88; 2004.
- Clemente, T.E.; Chahoon, E.B. Soybean Oil: Genetic Approaches for Modification of Functionality and Total Content. *Plant Physiology* 151, 1030-1040; 2009.
- Contini, M; Esti, M. Effect of matrix volatile composition in the headspace solid-phase microextraction analysis of extra virgin olive oil. *Food Chemistry* 94, 143-150; 2006.
- Dary, O.; Mora, J.O. Food fortification to reduce vitamin A deficiency: International vitamin A consultative Group recommendations. *J. Nutr* 132, 2927-2933; 2002.
- Del Nobile, M.A.; Bove, S.; La Notte, E.; Sacchi, R. Influence of packaging geometry and material properties on the oxidation kinetic of bottled virgin olive oil. *Journal of Food Engineering* 57, 189-197; 2003.
- Dionisi, F., Prodoliet, J., and Tagliaferri, E. Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high-performance liquid chromatography/amprometric detection of tocopherols and tocotrienols. *J. AOAC* 72,1505-1511; 1995.
- Ebermann, R.; Elmadfa, I. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie und Ernährung*. 2.Auflage, Springer Verlag Wien New York; 2010.
- Elisia, I.; Young, J.W.; Yuan, Y.V.; Kitts, D.D. Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. *Food Research International* 52(2), 508-514; 2013.

- Failloux, N.; Bonnet, I.; Perrier, E.; Baron, M.H. Effects of light, oxygen and concentration of vitamin A1. *Journal of Raman Spectroscopy* 35(2), 140-147; 2004.
- FAO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements, Bangkok, Thailand, September 1998. 2nd ed. Geneva, World Health Organization, 2004.
- FAOSTAT Online Statistical Service. FAO. Online unter: <http://faostat.fao.org>. 2011 (25.4.2013)
- Farhoosh, R.; Khodaparast, M.H.H.; Sharif, A.; Rafiee, S.A. Olive oil oxidation: Rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values; *Food Chemistry* 131, 1385-1390; 2012.
- Farmer, E.H.; Koch, H.Ü.; Sutton, D.A. The course of autoxidation reactions in polyisoprenes and allied compounds. IV. The Isolation and constitution of photochemically-formed methyl oleate peroxide. *J.Chem.Soc.*; 119-122; 1943.
- Favaro, R.M.D. et al. Studies on fortification of refined soybean oil with all-trans-retinyl palmitate in Brazil: stability during cooking and storage. *J Food Compos Anal.* 4(3), 237-244; 1991.
- Favaro, R.M.D. Evaluation of the effect of heat treatment on the biological value of vitamin A fortified soybean oil. *Nutr. Res.* 12(11), 1357-1363; 1992.
- Frankel, E.N. Lipid oxidation: a review. *Prog. Lipid Res.* 19, 1-22; 1980.
- Frankel, E.N. Chemistry of autoxidation mechanism, products and flavour significance. In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, ed. Min, D.B.; Smous, T.H. American Oil Chemists' Society, Champaign, 1-37; 1985.
- Frankel, E.N. *Lipid oxidation*, (2.Auflage), Bridgwater, UK: Oily Press; 2005.
- Galeano Díaz, T.; Rodríguez Cáceres, M.I.; Roldán Murillo, B. Chemometrics for the resolution of co-eluting peaks of  $\beta$ - and  $\gamma$ -tocopherols in RP-HPLC: Determination in edible oils and dietary supplements Original Research Article. *Food Chemistry* 105(4), 1583-1590; 2007.

- Gapor, M.T.; Ong, A.S.H. Protection of oils and fats against oxidative deterioration with special reference to palm oil. *PORIM Bulletin*, No 5, 39-46; 1982.
- Gimeno, E.; Castellote, A.I.; Lamuela, -Raventós, R.M.; de la Torre, M.C.; López-Sabater, M.C. Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 881; 251-254; 2000.
- Gleize, B.; Steib, M.; Andre, M.; Rebloul, E. Simple and fast HPLC method for simultaneous determination of retinol, tocopherols, coenzyme Q(10) and carotenoids in complex samples. *Food Chemistry* 134, 2560-2564; 2012.
- Gliszczyńska-Swigło, A.; Sikorska, E. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. *J Chromatogr A*. 10,1048(2),195-198; 2004.
- Grosch, W. Reactions of hydroperoxides – products of low molecular weight. In: Chan, H.W.-S. (Ed). *Autoxidation of Unsaturated Lipids*. Academic Press, London; 95-139; 1987.
- Guillen, M.D., Cabo, N. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chem* 77; 503-510; 2002.
- Gunstone, F. *The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses*. Blackwell Publishing Ltd, UK; 2004.
- Gustafsson, I.B.; Haglund, A.; Johansson, L. The taste of dietary fat based on rapeseed oil was superior to that based on sunflower oil when used for frying and baking. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62, 273–281; 1993.
- Huang, S.-W.; Frankel, E.N.; German, J.B. Antioxidant activity of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 2108-2114; 1994.
- Huang, S.-W.; Frankel, E.N.; German, J.B. Effects of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 2345-2350; 1995.
- Ingold, K.U. Peroxy radicals. *Acc. Chem. Res.* 2(1), 1-9; 1969.

- Janzen, E.G. Spintrapping. *Accounts Chem. Res.* 4, 31-40; 1971.
- Janzen, E.G.; Blackburn, B.J. Detection and identification of short-lived free radicals by electron spin resonance trapping techniques (Spintrapping). Photolysis of organolead, -tin, and -mercury compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, 91 (16), 4481–4490; 1969.
- Janzen, E.G.; Gerlock, J.L. Substituent effects on the photochemistry and nitroxide radical formation of nitro aromatic compounds as studied by electron spin resonance spin-trapping techniques. *J. Am. Chem. Soc.* 91, 3108-3109; 1969.
- Kamal-Eldin, A.; Andersson, R. A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 74(4), 375-380; 1997.
- Kamal-Eldin, A.; Mäkinen, M.; Lampi, A.M. In: *Lipid Oxidation Pathways*, Kamal-Eldin, A. (Ed.), AOCS Press, Champaign, Illinois, 1-36; 2003.
- Kellogg, W.; Fridovich, I. Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen. *Biol Chem* 250, 8812-8817; 1975.
- Kochi, J.K. Oxygen radicals. In: Kochi, J.K. (Ed.), *Free Radicals*, Vol. 2. John Wiley, New York, 665-710; 1973.
- Laillou, A.; Hafez, S.A.; Mahmoud, A.H.; Mansour, M.; Rohner, F.; Fortin, S. Berger, J.; Ibrahim, N.A.; Moench-Pfanner, R. Vegetable oil of poor quality is limiting the success of fortification with vitamin A in Egypt. *Food Nutr Bull* 33(3),186-93; 2012a.
- Laillou, A.; Berger, J.; Le, B.M.; Pham, V.T.; Le, T.H.; Nguyen, C.K.; Panagides, D.; Rohner, F.; Wieringa, F.; Moench-Pfanner, R. Improvement of the Vietnamese Diet for Women of Reproductive Age by Micronutrient Fortification of Staples Foods and Condiments. *PLoS One.* 7(11); 2012.
- Lietz, G.; Henry, C.J.K. A modified method to minimise losses of carotenoids and tocopherols during HPLC analysis of red palm oil. *Food Chemistry* 60, 109-117; 1997.
- Loveday, S.M., Singh, H. Recent advances in technologies for vitamin A protection in foods. *Trends in Food Science & Technology* 19, 657-668; 2008.

- J.M. MacKeown, J.M.; Cleaton-Jones, P.E.; Norris, S.A. Nutrient intake among a longitudinal group of urban black South African children at four interceptions between 1995 and 2000 (Birth-to-Ten Study). *Nutrition Research* 23, 185–197; 2003.
- Mason, R.P.; Fann, Y.C. Public Test of ESR Sensitivity. Online unter <http://www.niehs.nih.gov/research/resources/epresr/sensitivity/index.cfm>; 1998 (31.05.2013)
- Matissek, R.; Steiner, G.; Fischer, M. Charakterisierung von Fetten und Ölen. In: *Lebensmittelanalytik*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; S.49. 2010.
- Möller, D. *Luft: Chemie, Physik, Biologie, Reinhaltung, Recht*. Walter de Gruyter; 2003.
- Nagao, A.; Yamazaki, M. Lipid of sunflower seeds produced in Japan. *Journal of the American Oil Chemists Society* 60, 1654-1658; 1983.
- Nagy, K. *Fortification of Edible Fats and Oils with Vitamin A and D*, Hoffman LaRoche, 1995.
- Naz, S.; Siddiqi, R.; Sheikh, H.; Sayeed, S.A. Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying. *Food Res. Int.* 38, 127–134; 2005.
- Ohm, V.A.; Stöckmann, H.; Schwarz, K. The more - the better? Estimating the inhibitory activity of alpha-tocopherol towards lipid oxidation. *J Plant Physiol.* 162(7), 785-789; 2005.
- Palafox, N.A.; Gamble, M.V.; Danchecks, B. Vitamin A Deficiency, Iron Deficiency, and Anemia Among Preschool Children in the Republic of the Marshall Islands. *Nutrition* 19, 405-408; 2003.
- Papadimitriou, V.; Sotiroidis, T.G.; Xenakis, A.; Sofikiti, N.; Stavyiannoudaki, V.; Chaniotakis, N.A. Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. *Analytica Chimica Acta* 573, 453-458; 2006.
- Patterson, L.K.; Hasegawa, K. *Per. Bunsenges. Phys. Chem.*, 82, 951-956; 1978.
- Pegg, R.B. Measurement of Primary Lipid Oxidation Products. *Food Analytical Chemistry* D2.1.1; 2001.

- Pignitter, M.; Somoza, V. Are Vegetable Oils Always a Reliable Source of Vitamin A ? A Critical Evaluation of Analytical Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity. *Sight and Life* Vol 26(1), 18-27; 2012(1).
- Pignitter, M.; Somoza, V. A Critical Evaluation of Analytical Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils, *Journal of Food and Drug Analysis* 20(4), 772 – 777; 2012(2).
- Porter, N.A. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids: initiation, propagation, and product distribution (basic chemistry). In: *Membrane Lipid Oxidation 1*, C. Vigo-Pelfrey. CRC Press, Boca Raton, F.L., 33-62; 1990.
- Porter, N.A.; Caldwell, S.E.; Mills, K.A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30(4), 277-290; 1995.
- Pristouri, G.; Badeka, A.; Kontominas, M.G. Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil. *Food Control* 21, 412–418; 2010.
- Raitio, R.; Orlien, V.; Skibsted, L.H. Electron spin resonance spectroscopy for evaluation of early oxidative events in semisolid palm oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113( 2), 208–213; 2011.
- Raitio, R.; Orlien, V.; Skibsted, L.H. Effects of palm oil quality and packaging on the storage stability of dry vegetable bouillon paste. *Food Chemistry* 132, 1324-1332; 2012.
- Ribeiro, L.H.; Freitas, A.M.C.; Gomes da Silva, M.D.R. The use of headspace solid phase microextraction for the characterization of volatile compounds in olive oil matrices. *Talanta* 77, 110-117; 2008.
- Rodas Mendoza, B.; Morera Pons, S.; Castellote Bargalló; A.I. López-Sabater, M.C. Rapid determination by reversed-phase high-performance liquid chromatography of Vitamins A and E in infant formulas. *Journal of Chromatography A* 1018, 197-202; 2003.
- Roman, O.; Heyd, B.; Broyart, B.; Castillo, R.; Maillard, M.-N. Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils

- subjected to heat treatment, under controlled conditions. *LWT – Food Science and Technology* 52 (1), 49-59; 2013.
- Rupérez, F.J.; Barbas, C; Castro, M, Martínez, S.; Herrera, E. Simplified method for vitamin E determination in rat adipose tissue and mammary glands by high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography. A*,823(1-2),483-7; 1998.
- Sablah, M.; Klopp, J.; Steinberg, D.; Touaoro, Z.; Lailou, A. Thriving public-private partnership to fortify cooking oil in the West African Economic and Monetary Union (UEMOA) to control vitamin A deficiency: Faire Tache d'Huile en Afrique de l'Ouest. *Food and Nutrition Bulletin* 33(4), 310-320; 2012.
- Samanthamurthi, R.; Sundram, K.; Tan, Y.-A. Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research* 39, 507-538; 2000.
- Schaich, K.M.; Shahidi, F.; Zhong, Y.; Eskin, M.N.A. Lipid Oxidation. In: *Biochemistry of Foods* (3. Ausgabe), 419-478; 2013.
- Shahidi, F. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung* 44(3), 158-193; 2000.
- Shahidi, F.; Zhong, Y. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: *Baley's Industrial Oil and Fat Products*, 6.Auflage, Vol.6, John Wiley & Sons, Shahidi, F. (Ed), 357-385; 2005.
- Silva, L; Pinto, J.; Carrola, J.; Paiva-Martins, F. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry* 121, 1177-1187; 2010.
- Souci-Fachmann-Kraut. *Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwerttabellen*. 7. Auflage, MedPharm Scientific Publishers (Imprint of Wissenschaftlicher Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart), Taylor & Francis A CRC Press Book, Stuttgart, Germany, 2008.
- Tan, B.K; Oh, F.C.H. *PORIM Technol. Palm Oil Research Institute of Malaysia* No.3; 1981.
- Tasioula-Margari, M.; Okogeri, O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chemistry*, 74, 377; 2001.

- Tawfik, M.S.; Huyghebaert, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. *Food Chemistry* 64, 452-459; 1999.
- Tres, A.; Ruiz-Samblas, C.; van der Veer, G.; van Ruth, S.M. Geographical provenance of palm oil by fatty acid and volatile compound fingerprinting techniques. *Food Chemistry* 137, 142-150; 2013.
- USAID's Vitamin A Program: Ending vitamin A Deficiency Worldwide 1965-1998. Washington DC, United States Agency for International Development, 1998.
- Van Niekerk, P.J.; Burger, A.E.C. The Estimation of the Composition of Edible oil Mixtures, *J.Am.Oil Chem.Soc.* 62:531-53; 1985.
- Velasco, J.; Andersen, M.L.; Skibsted, L.H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry* 85(4), 623–632; 2004.
- Velasco, J.; Andersen, M.L.; Skibsted, L.H. Electron spin resonance Spintrapping for analysis of lipid oxidation in oils: inhibiting effect of the Spintrap alpha-phenyl-N-tert-butylNitrone on lipid oxidation. *J Agric Food Chem.* 53(5),1328-36; 2005.
- Vercellotti, J.R., St. Angelo, A.J., and Spanier, A.M. Symposium on lipid oxidation in foods - an overview. A.J. St. Angelo (Ed.). In: *Lipid Oxidation in Foods*. ACS Symposium Series 500. American Chemical Society, Washington, D.C. 1-11; 1992.
- Yi, J.; Andersen, M.L.; Skibsted, L.H. Interactions between tocopherols, tocotrienols and carotenoids during autoxidation of mixed palm olein and fish oil. *Food Chemistry* 127, 1792-1797; 2011.
- Yoshida, H.; Hirooka, N.; Kajimoto, G. Microwave Energy Effects on Quality of Some Seed Oils, *J.Food Sci.* 55:1412-1416; 1990.
- Yoshida, H., Takagi, S., Ienaga, H., & Tsuchiya, C. Regional distribution of tocopherols and fatty acids within soybean seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(7), 767–774; 1998.

- Yoshida, Y.; Niki, E.; Noguchi, N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chemistry and Physics of Lipids* 123, 63-75; 2003.
- Wanasundara,, U.N.; Shahidi, F.; Jablonski, C.R. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry*, 52, 249-253; 1994.
- Warner, K.; Eskin, M. In: *Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods*. AOCS Press; 1995.
- West, K.P.Jr. Vitamin A deficiency as a preventable cause of maternal mortality in undernourished societies: plausibility and next steps. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 85(1), 24-27; 2004.
- West, K.P. Jr; Gernand, A.; Sommer, A. Vitamin A in nutritional anemia. In: Kraemer K, Zimmermann MB,eds. *Nutritional anemia*. Basel, Sigh and Life Press, 133–153; 2007.
- Wheeler, D.H. *Oil Soap* 9, 89; 1932.
- WHO. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva, World Health Organization, WHO/NUT/96.10; 1996.
- WHO. Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency. Geneva, World Health Organization; 2009.
- WHO. Serum retinol concentrations for determining the prevalence of vitamin A deficiency in populations. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization. WHO/NMH/NHD/MNM/11.3. Online unter: <http://www.who.int/vmnis/indicators/retinol.pdf>. 2011 (02.11.2013)
- Wu, Y.; Gu, Y.; Qian, S.Y. An Advanced Electron Spin Resonance (ESR) Spin-Trapping and LC/(ESR)/MS Technique for the Study of Lipid Peroxidation. *Int J Mol Sci*.13(11): 14648–14666; 2012.

## Daten der Studie

### Peroxidzahl (POZ) in [1/8 mmol O<sub>2</sub>/kg Fett] oder in [%] von Palmöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen

P = Palmöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	P, bestrahlt, - RP		P, dunkel, - RP		P, bestrahlt, +RP		P, dunkel, + RP	
	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]
1	1	100	1,99	100	3,99	100	2	100
	1	100	1,96	100	4	100	2	100
	1	100	1,99	100	3,99	100	2	100
	1	100	1,96	100	4	100	2	100
2	2,99	299	2,99	151	4	100	2,96	148
	3,98	398	1,99	101	2,99	75	2,98	149
	3,96	396	2	101	2,99	75	1,99	100
	2,99	299	1,99	101	4,96	124	1,99	100
4	5,18	518	1,99	101	1,99	50	2,95	147
	4,4	440	2	101	2	50	3	150
	4,38	438	2,99	151	1,97	49	2,99	150
	3,98	398	2,99	151	1,98	49	3,99	200
5	4,38	438	1,98	100	5,14	129	2,4	120
	4	400	1,98	100	4,38	110	2,4	120
	4,8	480	1,99	101	5,6	140	2	100
	4,39	439	2,39	121	5,18	130	1,6	80
6	5	500	2	101	5,6	140	2,39	120
	5	500	2,39	121	5,17	129	1,99	99
	4,98	498	2,39	121	5,19	130	1,6	80
	3,93	393	2,75	139	4,79	120	1,58	79
7	3,6	360	1,99	101	4,99	125	1,99	100
	4	400	1,98	100	5	125	2	100
	3,6	360	1,99	101	4,99	125	1,98	99
	3,59	359	2	101	5,96	149	1	50
14	4,76	476	6,39	323	4,36	109	2	100
	5,15	515	7,17	363	4,74	119	1,99	100
	5,18	518	7,19	364	4,37	109	1,98	99
	4,75	475	6,79	343	4	100	1,99	100
28	3,6	360	2,96	150	3,86	97	6,19	310
	3,18	318	3,18	161	3,97	99	3,2	160
	3,39	339	2,99	151	4,99	125	2,59	129
	3,6	360	2,79	141	4,78	120	2,52	126
35	3,79	379	3,38	171	3,99	100	1,98	99
	4,17	417	2,59	131	3,55	89	2,99	149
	3,59	359	2,98	151	3,6	90	3,19	160

	3,6	360	3,39	172	3,78	95	2,8	140
42	3,99	399	2,98	151	3,59	90	2,98	149
	3,79	379	3,18	161	8,16	204	2,8	140
	3,8	380	2,73	138	4,59	115	2,79	140
	3,2	320	2,99	151	4,16	104	2,59	130
49	3,35	335	2,96	150	3,97	99	3,32	166
	3,77	377	2,99	151	3,4	85	3,56	178
	3,81	381	2,8	142	3,4	85	3,58	179
	3,8	380	2,98	151	4	100	3,6	180
56	3,99	399	2,79	141	3,99	100	2,76	138
	3,78	378	2,98	151	4,8	120	3,18	159
	4,57	457	2,75	139	3,8	95	2,79	140
	4,17	417	3,18	161	3,99	100	2,77	139
63	4,58	458	2,95	149	4,19	105	2,99	150
	4,58	458	2,98	151	3,99	100	2,59	130
	4,8	480	2,96	150	3,4	85	2,99	150
	4,57	457	3,37	170	3,99	100	2,59	130
70	3,98	398	3,88	196	4,98	125	5,16	258
	4,15	415	4,38	221	4,78	120	3,16	158
	4,32	432	4,4	223	4,8	120	3,56	178
	4,39	439	3,98	201	3,99	100	3,99	200
77	4,97	497	1,97	100	3,79	95	4,56	228
	5,13	513	3,99	202	4,33	108	3,95	198
	4,77	477	3,95	200	4,33	108	3,93	197
	4,74	474	3,92	198	4,57	114	3,94	197
84	4,77	477	3,6	182	4,66	117	4,15	208
	4,35	435	4,32	218	4,39	110	4,64	232
	4,98	498	5,38	272	4,58	115	4,56	228
	4,53	453	4,8	243	4,75	119	4,41	221

## Deskriptive Statistik

### *Palmöl, bestrahlt, - RP (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,0	0,0
2	348	56,5	28,2
4	448	50,3	25,1
5	439	32,7	16,3
6	473	53,2	26,6
7	370	20,3	10,1
14	496	23,5	11,8
28	344	20,1	10,1
35	379	27,3	13,7
42	370	34,4	17,2

49	368	22,4	11,2
56	413	33,5	16,7
63	463	11,2	5,58
70	421	18,4	9,20
77	490	18,3	9,17
84	466	27,4	13,7

***Palmöl, dunkel, - RP (n = 4)***

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	114	25,3	12,6
4	126	29,3	14,6
5	106	10,3	5,13
6	121	15,6	7,80
7	101	0,29	0,14
14	348	19,3	9,64
28	151	8,09	4,05
35	156	19,4	9,70
42	150	9,34	4,67
49	148	4,49	2,24
56	148	10,0	5,02
63	155	10,2	5,09
70	210	13,5	6,75
77	175	50,1	25,1
84	229	38,2	19,1

***Palmöl, bestrahlt, + RP (n = 4)***

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	93,5	23,7	11,9
4	49,7	0,33	0,16
5	127	12,7	6,34
6	130	8,29	4,15
7	131	12,2	6,08
14	109	7,60	3,80
28	110	14,3	7,13
35	93	4,95	2,47
42	128	51,7	25,9
49	92,4	8,49	4,25
56	104	11,2	5,58

63	97,5	8,61	4,30
70	116	11,0	5,51
77	107	8,24	4,12
84	115	3,88	1,94

***Palmöl, dunkel, + RP (n = 4)***

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	124	28,3	14,2
4	162	25,4	12,7
5	105	19,2	9,61
6	95	19,2	9,62
7	87	24,8	12,4
14	100	0,51	0,25
28	181	86,8	43,4
35	137	26,7	13,3
42	140	7,96	3,98
49	176	6,63	3,32
56	144	10,2	5,10
63	140	11,6	5,80
70	199	43,2	21,6
77	205	15,5	7,74
84	222	10,7	5,37

**Peroxidzahl (POZ) in [1/8 mmol O<sub>2</sub>/kg Fett] oder in [%] von Sojaöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen**

S = Sojaöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	S, bestrahlt, - RP		S, dunkel, - RP		S, bestrahlt, +RP		S, dunkel, + RP	
	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]
1	2,78	100	3,98	100	2,99	100	4,00	100
	2,78	100	3,99	100	2,99	100	4,00	100
	2,99	100	3,98	100	2,99	100	4,00	100
	2,77	100	3,99	100	2,99	100	4,00	100
2	2,98	105	3,98	100	1,98	66,3	3,94	98,4
	3,00	106	2,99	75	1,99	66,5	3,98	99,4
	3,97	140	2,97	75	1,98	66,3	4,92	123
	2,99	106	3,97	100	1,99	66,6	3,99	99,8
4	2,40	85	5,16	129	2,00	66,9	5,00	125
	2,00	71	5,18	130	2,00	66,9	3,99	99,8
	2,20	78	5,16	130	2,00	66,9	3,99	99,8
	2,40	85	5,19	130	2,00	66,9	4,96	124
5	5,56	196	5,14	129	5,18	173	4,79	120
	6,38	225	5,58	140	4,40	147	5,20	130
	4,00	141	5,60	141	5,58	186	5,19	130
	3,18	112	5,59	140	5,17	173	5,20	130
6	4,98	176	5,59	140	5,58	187	5,20	130
	4,98	176	5,18	130	5,16	172	5,57	139
	4,96	175	5,51	138	5,18	173	5,18	129
	3,98	141	5,18	130	4,80	160	5,60	140
7	5,16	182	5,00	125	4,98	167	5,98	149
	6,40	226	5,00	125	4,99	167	4,99	125
	5,19	183	6,00	151	4,98	167	5,00	125
	6,79	240	5,77	145	5,99	200	6,00	150
14	5,34	189	5,40	135	5,60	187	5,19	130
	10,51	371	5,19	130	5,59	187	5,19	130
	5,59	197	5,18	130	4,80	160	5,19	130
	5,15	182	4,79	120	5,20	174	5,19	130
28			5,60	140	5,60	187	5,99	150

	2,79	99	5,79	145	5,58	186	5,60	140
	2,78	98	5,98	150	5,36	179	5,56	139
	2,79	98	5,99	150	5,40	180	5,41	135
35	8,57	303	5,20	130	17,7	591	5,59	140
	2,80	99	2,19	55	6,76	226	5,55	139
	7,96	281	2,39	60	5,60	187	5,40	135
	3,00	106	2,39	60	6,79	227	5,37	134
42	2,40	85	2,00	50	4,78	160	5,40	135
	2,20	78	1,99	50	4,76	159	5,58	139
	2,39	85	2,20	55	5,19	173	5,33	133
	2,39	84	2,00	50	4,79	160	5,09	127
49	8,38	296	2,00	50	4,97	166	5,37	134
			1,99	50	5,19	174	6,00	150
	2,99	105	1,99	50	2,80	93,5	5,98	150
	2,99	106	2,20	55	3,19	107	5,72	143
56	2,80	99	1,99	50	3,40	114	5,59	140
	2,76	98	2,00	50	5,18	173	5,54	139
	2,78	98	1,99	50	6,85	229	5,59	140
	2,99	105	2,19	55	4,60	154	5,79	145
63	2,99	105	2,20	55	2,00	66,7	4,95	124
	2,79	98	2,00	50	11,5	386	1,77	44,2
			2,58	65	1,98	66,2	2,17	54,3
	2,99	106	1,98	50	1,97	65,9	5,99	150
70	3,00	106	2,36	59	2,40	80,1	2,00	50,1
			1,59	40	1,99	66,6	5,99	150
	3,99	141	1,60	40	2,39	79,8	5,97	149
	2,60	92	4,00	100	2,40	80,1	3,99	100
77	2,79	99	1,99	50	3,20	107	5,59	140
	2,39	84	1,99	50	21,4	716	5,54	139
	2,76	98	2,00	50	2,78	92,9	5,59	140
	2,77	98	1,78	45	2,60	86,8	5,79	145
84			2,57	65	5,20	174	5,35	134
	2,78	98	1,79	45	5,51	184	5,38	135
	2,99	105	1,80	45	5,30	177	1,40	34,9
	2,77	98	1,60	40	5,39	180	5,47	137

## Deskriptive Statistik

Sojaöl, bestrahlt,  
- RP (n = 4)

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	114	17,2	0,28
4	79,4	6,76	0,10
5	169	51,4	0,73
6	167	17,5	0,29
7	208	29,5	0,48
14	235	91,2	1,49
28	98,4	0,17	0,06
35	197	109,8	1,56
42	82,8	3,51	0,05
49	169	109,8	3,08
56	100	3,63	0,05
63	103	4,09	5,04

70	113	25,2	3,83
77	94,6	6,86	0,10
84	101	4,24	0,22

**Sojaöl, dunkel, - RP (n = 4)**

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	87,3	14,4	7,20
4	130	0,35	0,18
5	137	5,61	2,80
6	135	5,49	2,74
7	137	13,0	6,52
14	129	6,35	3,17
28	147	4,65	2,32
35	76,4	36,1	18,0
42	51,4	2,50	1,25
49	51,3	2,58	1,29
56	51,3	2,53	1,26
63	54,9	7,00	3,50
70	59,9	28,4	14,2
77	48,7	2,67	1,33
84	48,7	10,8	5,42

**Sojaöl, bestrahlt, + RP (n = 4)**

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	66,4	0,13	0,06
4	66,9	0,00	0,00
5	170	16,5	8,24
6	173	10,7	5,34
7	175	16,8	8,38
14	177	12,7	6,35
28	183	4,08	2,04
35	308	189	94,7
42	163	6,84	3,42
49	135	40,8	20,4
56	167	48,0	24,0
63	146	160	79,8
70	76,7	6,70	3,35
77	251	310	155
84	179	4,40	2,20

**Sojaöl, dunkel, + RP (n = 4)**

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	105	11,9	6,88
4	112	14,3	8,24
5	127	5,08	2,93
6	135	5,70	3,29
7	137	14,3	8,28
14	130	0,09	0,05
28	141	6,11	3,53
35	137	2,77	1,60
42	134	5,02	2,90
49	144	7,39	4,27
56	141	2,70	1,56
63	93,0	51,8	29,9
70	112	47,7	27,5
77	141	2,70	1,56
84	110	50,1	28,9

**Peroxidzahl (POZ) in [1/8 mmol O<sub>2</sub>/kg Fett] oder in [%] von Palmöl in Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen; bestrahlt; ab Tag 42 mit Retinylpalmitat**

P = Palmöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	konstantes Kopfvol.		ansteigendes Kopfvol.	
	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]
1	1,00	100	1,00	100
	1,00	100	1,00	100
	1,00	100	1,00	100
	1,00	100	1,00	100
28	4,63	463	7,38	738
	4,76	476	7,96	796
	4,80	480	7,95	795
	4,78	478	8,38	838
35	3,37	337	6,96	696
	3,99	399	7,55	755
	3,97	397	8,36	836
	4,19	419	7,78	778
42	3,97	397	9,76	976
	4,00	400	9,87	987
	3,60	360	10,2	1020
	3,80	380	8,76	876
49	3,79	379	7,16	716
	3,80	380	8,28	828
	3,76	376	7,53	753
	4,54	454	8,38	838
56	4,38	438	8,18	818
	3,98	398	9,46	946
	4,18	418	9,38	938
	3,95	395	9,98	998
63	3,99	399	9,86	986
	3,97	397	11,3	1134
	3,97	397	11,2	1124
	3,79	379	10,8	1075
70	4,77	477	9,56	956
	3,95	395	10,7	1069
	4,79	479	12,3	1231
	5,59	559	11,70	1170
77	4,79	479	12,4	1240
	4,73	473	12,3	1230
	4,13	413	12,8	1275
	4,57	457	13,2	1316
84	6,65	665	14,6	1458
	6,56	656	15,3	1525
	6,50	650	15,5	1553
	6,13	613	14,9	1491

## Deskriptive Statistik

### *Palmöl, bestrahlt, + RP ab Tag 42, konstantes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
28	474	7,50	3,75
35	388	35,4	17,7
42	384	18,5	9,25
49	397	38,0	19,0
56	412	19,7	9,86
63	393	9,24	4,62
70	477	66,9	33,4
84	646	22,8	11,4

### *Palmöl, bestrahlt, + RP ab Tag 42, ansteigendes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	%MW	% STD	SEM
1	100	0	0
28	792	40,8	20,4
35	766	58,0	29,0
42	965	62,0	31,0
49	784	59,0	29,5
56	925	76,4	38,2
63	1080	67,5	33,8
70	1106	121	60,3
84	1507	41,0	20,5

**Peroxidzahl (POZ) in [1/8 mmol O<sub>2</sub>/kg Fett] oder in [%] von Sojaöl in Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen; bestrahlt; ab Tag 21 mit Retinylpalmitat**

S = Sojaöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	konstantes Kopfvol.		ansteigendes Kopfvol.	
	POZ	POZ [%]	POZ	POZ [%]
1	3,00	100	3,00	100
	3,00	100	3,00	100
	3,00	100	3,00	100
	3,00	100	3,00	100
14	4,00	133	6,39	213
	3,98	133	7,17	239
	4,31	144	7,19	240
	4,39	146	6,79	226
21	3,59	120	12,4	412
	3,18	106	11,9	398
	3,59	120	12,3	410
	3,80	127	12,9	431
28	4,80	160	17,96	599
	4,78	159	19,17	639
	4,76	159	19,79	660
	4,74	158	18,57	619
35	2,99	100	19,95	665
	3,39	113	19,87	662
	3,40	113	19,90	663
	3,60	120	19,68	656
42	2,99	100	23,92	797
	2,99	100	25,98	866
	2,99	100	24,83	828
	3,40	113	24,80	827
49	3,36	112	30,44	1015
	3,99	133	29,84	995
	3,57	119	30,31	1010
	3,97	132	29,32	977
56	3,78	126	20,43	681
	3,39	113	23,93	798
	3,59	120	22,99	766
	3,59	120	21,94	731
63	3,38	113	23,02	767
	3,40	113	26,28	876
	3,38	113	25,90	863
	3,79	126	25,65	855
70	5,97	199	46,71	1557
	5,95	198	46,33	1544
	5,99	200	42,29	1410
	5,98	199	40,08	1336
77	12,76	425	52,81	1760
	11,37	379	46,19	1540
	6,92	231	45,64	1521

	4,77	159	45,77	1526
84	5,76	192	41,12	1371
	5,51	184	43,79	1460
	6,13	204	41,52	1384
	5,76	192	40,11	1337

## Deskriptive Statistik

### *Sojaöl, bestrahlt, + RP ab Tag 21, konstantes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
14	139	7,02	3,51
21	118	8,60	4,30
28	159	0,79	0,39
35	111	8,47	4,24
42	103	6,79	3,40
49	124	10,4	5,21
56	120	5,37	2,68
63	116	6,78	3,39
70	199	0,53	0,26
77	298	125	62,3
84	193	8,52	4,26

### *Sojaöl, bestrahlt, + RP ab Tag 21, ansteigendes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
14	230	12,7	6,35
21	413	13,8	6,89
28	629	26,2	13,1
35	662	3,91	1,95
42	829	28,1	14,0
49	999	17,0	8,52
56	744	50,0	25,0
63	840	49,6	24,8
70	1462	107	53,6
77	1587	116	58,0
84	1388	51,8	25,9

### Konjugierte Diene (CD) in [ $\mu\text{mol/L}$ ] oder in [%] von Palmöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen

P = Palmöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	P, bestrahlt, - RP		P, dunkel, - RP		P, bestrahlt, +RP		P, dunkel, + RP	
	CD	CD [%]	CD	CD [%]	CD	CD [%]	CD	CD [%]
1	19,7	100	19,7	100	11,4	100	11,4	100
	15,4	100	15,4	100	10,5	100	10,5	100
	9,11	100	9,1	100	34,0	100	34,0	100
	10,2	100	10,2	100	9,75	100	9,75	100
2	12,1	89,3	10,1	74,5	10,6	101	9,59	90,9
	12,3	90,4	10,1	74,5	11,3	107	10,4	98,8
	11,8	87,1	10,0	73,5	13,1	124	9,43	89,3
	12,6	92,7	14,0	103	11,6	110	9,78	92,7
4	12,0	88,3	10,6	77,7	11,2	106	10,3	97,6
	12,1	89,1	10,7	78,5	10,6	101	11,0	104
	11,3	83,3	10,4	76,2	11,9	113	11,2	106
	11,7	85,7	10,4	76,1	13,4	127	10,5	99,1
5	11,4	83,8	10,3	75,7	12,6	120	11,9	113
	10,5	76,9	9,4	68,8	10,9	103	10,3	98,0
	11,6	85,1	10,3	75,6	11,6	110	10,1	95,6
	11,1	82,0	10,9	80,0	14,2	134	11,0	104
6	11,2	82,7	8,2	60,4	11,6	110	10,3	98,0
	10,6	77,9	11,0	80,8	15,9	151	8,22	77,9
	10,6	77,7	11,0	81,0	11,2	106	11,0	104
	12,1	89,1	10,4	76,3	10,4	99	10,7	101
7	11,1	81,9	9,1	66,8	10,8	102	9,73	92,2
	11,2	82,5	11,4	83,9	10,9	103	9,87	93,6
	11,6	85,6	10,1	74,6	10,2	97	10,7	102
	11,1	81,7	9,4	68,8	10,6	100	10,7	101
14	10,6	78,3	11,4	84,0	11,1	106	9,43	89,4
	12,7	93,7	10,6	77,6	12,0	114	9,76	92,5
	11,4	83,8	11,4	83,6	11,5	109	11,2	106
	12,8	94,2	10,7	78,5	11,4	108	10,7	101
28	10,6	77,8	9,1	67,2	12,2	116	10,8	102
	10,2	74,9	10,6	77,9	12,4	117	10,9	103
	9,9	72,6	10,7	78,8	12,2	115	10,9	103
	11,2	82,5	11,1	81,3	10,6	101	11,0	104
35	11,2	82,4	10,6	77,9	11,7	110	11,1	106
	11,4	83,7	10,5	77,3	11,1	105	10,3	97,5
	11,1	81,3	10,4	76,6	11,1	105	11,1	105
	11,9	87,2	10,1	74,2	11,3	107	11,2	106
42	10,7	78,6	9,6	70,7	10,9	103	10,9	103
	10,7	78,8	9,8	72,2	11,2	106	11,0	104
	10,7	78,8	12,1	88,6	12,6	120	7,44	70,5
	10,4	76,2	9,6	70,7	11,5	109	14,4	136
49	13,1	96,0	11,2	82,5	11,1	105	10,8	103
	11,0	80,8	11,4	84,1	11,5	109	12,3	116
	11,1	81,8	13,0	95,8	10,9	103	11,6	110
	12,3	90,5	9,5	69,8	11,6	110	11,2	107
56	11,3	83,3	10,7	78,6	12,3	117	11,6	110

	11,5	84,8	11,1	82,0	12,6	119	10,8	103
	16,0	117	11,1	81,3	10,6	101	11,6	110
	11,7	86,0	14,0	103	12,7	121	11,5	109
63	12,1	88,8	11,6	85,6	12,3	116	11,5	109
	12,1	88,7	10,7	78,4	11,7	111	11,6	110
	11,8	86,9	12,3	90,7	11,2	106	11,6	110
	11,6	85,5	12,8	94,1	12,3	116	11,3	107
70	11,4	83,9	11,6	85,1	11,1	105	10,8	102
	11,1	81,3	11,4	83,6	11,1	105	11,9	113
	12,7	93,1	12,0	88,5	11,4	108	11,4	108
	12,1	88,6	11,4	84,0	10,7	102	11,6	110
84	10,7	78,5	10,9	80,3	12,0	114	11,1	105
	10,9	80,0	11,4	84,0	11,8	112	11,5	109
	11,9	87,7	12,1	88,6	11,4	108	11,2	106
	10,9	79,9	12,6	92,9	12,7	120	11,7	111

## Deskriptive Statistik

### *Palmöl, bestrahlt, - RP (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	92,9	4,16	2,08
4	102	3,98	1,99
5	103	7,59	3,79
6	95,2	11,8	5,90
7	97,2	5,04	2,52
14	97,2	7,61	3,80
28	103	0,76	0,38
35	103	4,01	2,01
42	103	26,9	13,5
49	109	5,71	2,85
56	108	3,66	1,83
63	109	1,36	0,68
70	108	4,53	2,27
84	108	2,59	1,30

### *Palmöl, dunkel, - RP (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	81,3	14,4	7,18
4	77,1	1,16	0,58
5	75,0	4,64	2,32
6	74,6	9,75	4,87
7	73,5	7,66	3,83

14	80,9	3,38	1,69
28	76,3	6,24	3,12
35	76,5	1,66	0,83
42	75,6	8,72	4,36
49	83,0	10,6	5,30
56	86,2	11,2	5,60
63	87,2	6,81	3,41
70	85,3	2,21	1,11
84	86,4	5,46	2,73

***Palmöl, bestrahlt, + RP (n = 4)***

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	110	9,96	4,98
4	112	11,2	5,61
5	117	13,4	6,68
6	117	23,5	11,7
7	101	2,85	1,43
14	109	3,42	1,71
21	107	6,31	3,16
28	112	7,80	3,90
35	107	2,39	1,19
42	110	7,24	3,62
49	107	3,14	1,57
56	114	9,30	4,65
63	112	5,12	2,56
70	105	2,61	1,31
84	114	5,12	2,56

***Palmöl, dunkel, + RP (n = 4)***

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0	0
2	92,9	4,16	2,08
3	141	12,2	6,12
4	102	3,98	1,99
5	103	7,59	3,79
6	95,2	11,8	5,90
7	97,2	5,04	2,52
14	97,2	7,61	3,80
21	49,4	36,7	18,4
28	103	0,76	0,38
35	103	4,01	2,01

---

42	103	26,9	13,5
49	109	5,71	2,85
56	108	3,66	1,83
63	109	1,36	0,68
70	108	4,53	2,27
84	108	2,59	1,30

### Konjugierte Diene (CD) in [ $\mu\text{mol/L}$ ] oder in [%] von Sojaöl in Flaschen mit konstantem Kopfvolumen

S = Sojaöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	S, bestrahlt, - RP		S, dunkel, - RP		S, bestrahlt, +RP		S, dunkel, + RP	
	CD	CD [%]	CD	CD [%]	CD	CD [%]	CD	CD [%]
1	17,5	100	17,5	100	16,5	100	16,5	100
	22,1	100	22,1	100	18,1	100	18,1	100
	12,8	100	12,8	100	19,7	100	19,7	100
	22,8	100	22,8	100	24,8	100	24,8	100
2	14,2	75,5	17,1	90,7	15,2	76,7	15,65	79,2
	16,0	85,2	16,6	88,0	13,1	66,5	16,4	83,1
	14,7	78,4	18,2	96,6	14,6	73,9	16,15	81,7
	14,9	79,2	16,7	89,0	14,6	73,9	16,2	82,0
4	14,4	76,8	17,9	95,3	13,9	70,5	17,2	86,9
	15,5	82,6	17,3	92,1	13,9	70,4	16,7	84,7
	28,3	151	16,2	86,2	14,8	74,7	16,9	85,5
	15,9	84,2	17,5	93,1	14,2	71,8	17,4	88,1
5	17,5	92,7	17,2	91,2	16,7	84,7	17,5	88,6
	17,0	90,1	17,6	93,4	17,1	86,5	17,5	88,3
	14,5	77,1	18,8	99,9	17,5	88,5	16,7	84,6
	14,7	78,3	17,7	94,0	16,8	84,8	16,7	84,7
6	16,3	86,8	15,5	82,6	16,8	85,0	17,8	90,0
	17,0	90,1	16,7	88,9	16,5	83,4	16,9	85,5
	16,9	89,9	16,9	89,8	17,6	88,9	16,8	85,2
	18,8	99,9	17,1	90,7	17,0	86,0	16,5	83,7
7	15,9	84,5	16,3	86,8	17,5	88,4	16,2	81,9
	16,6	88,1	16,6	88,4	16,0	80,8	16,4	82,8
	16,5	87,7	16,8	89,3	16,6	84,3	17,2	87,2
	16,8	89,5	17,2	91,2	16,9	85,5	17,4	88,0
14	14,0	74,3	15,1	80,3	15,0	75,7	12,9	65,4
	16,1	85,4	12,7	67,5	15,4	78,0	14,0	70,8
	15,4	81,9	13,6	72,3	15,0	75,7	16,2	82,2
	15,0	79,5	11,9	63,2	15,4	78,0	12,6	63,7
28	15,2	80,6	16,2	86,2	15,9	80,7	18,1	91,8
	15,4	81,9	18,5	98,2	16,3	82,3	13,2	67,0
	15,1	80,5	17,3	92,2	17,0	86,0	16,2	82,2
	15,9	84,8	17,6	93,7	16,9	85,3	14,9	75,2
35	18,3	97,4	14,5	77,1	22,2	112	16,9	85,6
	16,2	86,2	15,1	80,2	17,2	87,2	16,9	85,4
	16,7	88,6	14,8	78,6	16,8	85,2	16,9	85,5
	14,9	79,4	15,1	80,3	17,1	86,4	16,9	85,3
42	15,3	81,4	15,0	79,9	16,3	82,7	17,2	87,2
	14,7	77,9	15,7	83,3	16,3	82,7	16,8	85,0
	15,3	81,1	16,8	89,2	15,9	80,4	16,5	83,5
	15,4	81,7	15,8	84,1	25,9	131	18,1	91,6
49	17,1	90,9	16,0	85,0	25,5	129	16,9	85,4
	18,8	99,9	14,8	78,7	23,9	121,1	17,4	88,0
	14,5	76,9	15,3	81,4	16,8	85,2	17,3	87,4
	14,6	77,8	14,5	77,2	25,6	130	17,0	86,1

56	15,1	80,1	15,3	81,4	17,3	87,8	17,8	90,3
	15,0	79,6	14,3	76,0	17,0	86,1	16,8	85,3
	15,5	82,5	14,6	77,6	19,1	96,4	18,2	92,3
	15,1	80,1	14,5	77,1	17,6	89,1	18,3	92,5
63	15,5	82,6	14,8	78,9	15,6	78,8	16,6	84,1
	14,9	79,2	15,6	82,7	19,3	97,8	15,8	80,0
	22,5	119	16,3	86,5	15,6	79,0	15,4	78,0
	15,1	80,1	14,9	79,3	15,2	77,1	17,6	88,9
70	15,3	81,2	18,2	96,9	15,0	75,7	16,5	83,6
	20,0	106,4	15,2	80,7	15,0	75,8	14,3	72,5
	16,4	87,0	19,2	102	14,7	74,5	17,5	88,5
	15,5	82,2	15,5	82,2	15,9	80,5	15,8	80,1
84	20,2	107	15,6	83,0	17,0	86,2	16,9	85,7
	15,2	80,5	14,7	78,3	17,1	86,6	17,2	86,9
	14,5	77,3	15,9	84,3	17,3	87,4	15,2	76,9
	15,4	82,0	17,0	90,3	17,4	88,0	17,2	87,0

## Deskriptive Statistik

### *Sojaöl, bestrahlt, - RP (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	79,6	4,06	2,03
4	98,6	34,9	17,4
5	84,6	8,03	4,01
6	91,7	5,70	2,85
7	87,4	2,09	1,05
14	80,3	4,65	2,33
28	81,9	2,00	1,00
35	87,9	7,42	3,71
42	80,5	1,76	0,88
49	86,4	11,0	5,52
56	80,6	1,29	0,64
63	90,3	19,4	9,70
70	89,2	11,8	5,88
84	86,8	13,8	6,92

### *Sojaöl, dunkel, - RP (n = 4)*

Tag	MW%	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	91,1	3,87	1,94
4	91,7	3,88	1,94
5	94,6	3,68	1,84
6	88,0	3,69	1,85

7	89,0	1,82	0,91
14	70,8	7,33	3,66
28	92,6	4,94	2,47
35	79,1	1,51	0,75
42	84,1	3,81	1,90
49	80,6	3,43	1,71
56	78,0	2,36	1,18
63	81,8	3,57	1,78
70	90,5	10,7	5,35
84	84,0	4,96	2,48

**Sojaöl, bestrahlt, + RP (n = 4)**

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	72,8	4,35	2,18
4	71,9	2,02	1,01
5	86,1	1,78	0,89
6	85,8	2,30	1,15
7	84,8	3,12	1,56
14	76,9	1,34	0,67
28	83,6	2,52	1,26
35	92,8	13,1	6,53
42	94,2	24,5	12,3
49	116	21,1	10,5
56	89,8	4,57	2,29
63	83,2	9,78	4,89
70	76,6	2,64	1,32
84	87,0	0,79	0,39

**Sojaöl, dunkel, + RP (n = 4)**

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
2	81,5	1,62	0,81
4	86,3	1,53	0,76
5	86,6	2,19	1,10
6	86,1	2,71	1,35
7	85,0	3,09	1,55
14	70,5	8,36	4,18
28	79,0	10,5	5,26
35	85,5	0,13	0,06
42	86,8	3,51	1,75
49	86,7	1,16	0,58

---

56	90,1	3,37	1,68
63	82,7	4,83	2,42
70	81,2	6,73	3,37
84	84,1	4,87	2,43

**Konjugierte Diene (CD) in [ $\mu\text{mol/L}$ ] oder in [%] von Palmöl in Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, bestrahlt, ab Tag 42 mit Retinylpalmitat**

P = Palmöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	konstantes Kopfvol.		ansteigendes Kopfvol.	
	CD	CD [%]	CD	CD [%]
1	19,7	100	19,7	100
	15,4	100	15,4	100
	9,11	100	9,11	100
	10,2	100	10,2	100
21	9,27	68,1	8,60	63,2
	11,7	86,0	10,3	76,1
	8,10	59,5	9,38	69,0
	10,2	75,2	9,57	70,3
28	10,3	75,9	12,0	88,1
	10,5	77,0	14,1	104
	10,5	77,1	12,0	88,1
	11,2	82,2	12,9	94,8
35	11,2	82,4	11,4	84,1
	11,0	81,1	12,4	91,4
	11,3	83,3	12,3	90,5
	10,6	78,0	12,8	93,8
42	11,4	84,1	14,1	103
	12,3	90,4	12,7	93,5
	11,5	84,8	13,3	97,8
	11,5	84,2	12,8	94,4
49	11,5	84,6	12,7	93,6
	11,5	84,2	12,2	89,6
	10,9	80,0	12,5	91,8
	12,6	93,0	12,5	92,0
56	12,2	89,7	11,0	81,1
	11,9	87,6	12,9	94,9
	11,7	85,8	12,8	94,0
	11,7	86,0	12,4	90,8
63	11,2	82,0	11,5	84,3
	11,7	85,7	13,0	95,2
	13,0	95,4	35,5	261
	12,6	92,4	13,4	98,9
70	12,4	90,9	11,8	86,9
	12,9	94,7	14,5	106
	11,9	87,2	13,4	98,4
	12,2	90,0	13,0	95,7
84	11,4	84,1	14,3	105
	12,6	92,6	16,9	124
	12,0	88,1	13,9	102
	12,5	92,1	14,8	109

## Deskriptive Statistik

### *Palmöl, bestrahlt, + RP ab Tag 42, konstantes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
21	72,2	11,2	5,60
28	78,1	2,79	1,39
35	81,2	2,31	1,16
42	85,9	3,00	1,50
49	85,4	5,43	2,71
56	87,3	1,83	0,91
63	88,9	6,10	3,05
70	90,7	3,13	1,56
84	89,3	3,96	1,98

### *Palmöl, bestrahlt, + RP ab Tag 42, ansteigendes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW %	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
21	69,7	5,27	2,64
28	93,7	7,46	3,73
35	89,9	4,13	2,07
42	97,3	4,48	2,24
49	91,8	1,66	0,83
56	90,2	6,32	3,16
63	135	84,2	42,1
70	96,8	7,97	3,99
84	110	9,72	4,86

**Konjugierte Diene (CD) in [ $\mu\text{mol/L}$ ] oder in [%] von Sojaöl in Flaschen mit konstantem und ansteigendem Kopfvolumen, bestrahlt, ab Tag 21 mit Retinylpalmitat**

S = Sojaöl, +/- RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	konstantes Kopfvol.		ansteigendes Kopfvol.	
	CD	CD [%]	CD	CD [%]
1	17,5	100	17,5	100
	22,1	100	22,1	100
	12,8	100	12,8	100
	22,8	100	22,8	100
14	14,0	74,3	13,1	69,8
	16,1	85,4	13,9	73,7
	15,4	81,9	11,9	63,2
	15,0	79,5	13,5	71,7
21	16,1	85,4	15,3	81,1
	13,9	73,7	15,3	81,1
	12,4	65,8	15,1	80,3
	13,7	73,0	13,6	72,3
28	15,5	82,5	22,2	118
	15,2	80,9	24,1	128
	16,3	86,5	23,0	122
	14,8	78,9	25,2	134
35	15,0	79,5	22,7	121
	14,7	78,3	23,8	127
	15,2	80,8	23,6	126
	14,8	78,7	22,6	120
42	15,2	80,9	55,9	297
	15,8	83,8	26,4	140
	15,6	83,2	22,4	119
	15,9	84,5	28,1	150
49	16,5	87,4	28,2	150
	11,6	61,6	28,1	150
	16,7	88,8	28,0	149
	16,1	85,7	27,8	148
56	15,2	80,9	23,9	127
	14,9	79,4	26,9	143
	15,4	81,6	23,4	124
	15,6	82,8	24,2	129
63	14,8	78,5	25,4	135
	14,6	77,5	26,8	142
	15,2	80,9	26,3	140
	21,1	112	28,7	153
70	17,9	94,9	35,5	189
	17,1	90,8	33,2	176
	17,6	93,7	32,7	174
	17,0	90,3	31,8	169
84	17,8	94,8	34,5	183
	17,3	92,0	36,5	194

	17,9	95,3	34,7	185
	18,4	97,9	33,1	176

## Deskriptive Statistik

### *Sojaöl, bestrahlt, + RP ab Tag 21, konstantes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW 5	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
14	80,3	4,65	2,33
21	74,5	8,12	4,06
28	82,2	3,24	1,62
35	79,3	1,11	0,55
42	83,1	1,57	0,78
49	80,9	12,9	6,47
56	81,2	1,44	0,72
63	87,3	16,7	8,34
70	92,4	2,23	1,12
84	95,0	2,44	1,22

### *Sojaöl, bestrahlt, + RP ab Tag 21, ansteigendes Kopfvolumen (n = 4)*

Tag	MW 5	STD %	SEM %
1	100	0,00	0,00
14	69,6	4,53	2,27
21	78,7	4,27	2,13
28	126	7,05	3,52
35	123	3,25	1,62
42	176	81,5	40,7
49	149	0,92	0,46
56	131	8,33	4,16
63	142	7,42	3,71
70	177	8,39	4,20
84	184	7,55	3,77

**Intensität des PBN-Adduktes [a.u.] zur Semiquantifizierung freier Radikale mit ESR von bestrahltem Palmöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen (n = 1)**

-/+ RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	Intensität des PBN-Adduktes [a.u.]	
	- RP	+ RP
1	n.d.	n.d.
3	n.d.	n.d.
7	53845	44992
14	155510	159871
21	243464	179124
28	334928	431562
35	494220	497946
56	719828	745878
84	1032680	1103524

**Intensität des PBN-Adduktes [a.u.] zur Semiquantifizierung freier Radikale mit ESR von bestrahltem Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen (n = 1)**

-/+ RP = ohne/mit Retinylpalmitat

Tag	Intensität des PBN-Adduktes [a.u.]	
	- RP	+ RP
1	n.d.	n.d.
3	n.d.	n.d.
7	44514	47800
14	136652	139238
21	248282	223023
28	269918	272508
35	325301	408051
56		680604
84	799532	809344

**Retinolgehalt in [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] und in % in bestrahltem Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen**

Retinolgehalt [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]			Retinolgehalt in %		
Tag 21	Tag 49	Tag 70	Tag 21	Tag 49	Tag 70
36,2	42,8	16,7	100	118	38,9
43,3	35,2	32,9	100	81,1	93,5
38,7	35,3	21,1	100	91,3	59,7

**Deskriptive Statistik**

	Retinolgehalt [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]			Retinolgehalt in %		
	Tag 21	Tag 49	Tag 70	Tag 21	Tag 49	Tag 70
<b>MW</b>	41,0	35,3	27,0	100	86,2	76,6
<b>SD</b>	3,29	0,13	8,33	0	7,22	23,9
<b>n</b>	3	3	3	3	3	3

**Gehalt an  $\delta$ -,  $\gamma$ - und  $\alpha$ -Tocopherol in [ $\mu\text{g/mL}$ ] in bestrahltem Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen**

Tag	$\delta$ -Tocopherol [ $\mu\text{g/mL}$ ]	$\gamma$ -Tocopherol [ $\mu\text{g/mL}$ ]	$\alpha$ -Tocopherol [ $\mu\text{g/mL}$ ]
1	141	414	168
	113	427	139
	118	451	141
21	77,3	339	127
	74,4	336	130
	74,3	333	128
49	72,8	325	114
	74,0	333	116
	72,5	328	117
70	70,5	317	101
	71,9	325	113
	71,6	324	110
84	70,8	316	104
	70,1	316	96,7
	71,3	326	97,3

**Deskriptive Statistik**

(n = 3)

Tag	$\delta$ -Tocopherol		$\gamma$ -Tocopherol		$\alpha$ -Tocopherol	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
1	124	15,3	431	18,6	149	16,3
21	75,3	1,72	336	2,61	128	1,63
49	73,1	0,79	329	4,13	116	1,48
70	71,3	0,72	322	4,04	108	6,11
84	70,8	0,59	320	5,51	99,2	3,83

**Gesamttocopherolgehalt in [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] und in % in bestrahltem Sojaöl in Flaschen mit ansteigendem Kopfvolumen**

Tag	Gesamttocopherole	
	[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	%
1	724	100
	678	100
	710	100
21	543	75,0
	540	79,7
	536	75,4
49	512	70,7
	523	72,3
	518	71,5
70	489	67,6
	509	70,3
	506	70,0
84	491	67,8
	483	66,8
	494	68,3

**Deskriptive Statistik**

**Gesamttocopherole [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]**

Tag	1	21	49	70	84
<b>MW</b>	704	540	517	501	489
<b>STD</b>	23,4	3,60	5,66	10,8	5,83
<b>n</b>	3	3	3	3	3

**Gesamttocopherole [%]**

<b>Tag</b>	<b>1</b>	<b>21</b>	<b>49</b>	<b>70</b>	<b>84</b>
<b>MW</b>	100	76,7	71,5	69,3	67,6
<b>STD</b>	0	2,59	0,78	1,50	0,81
<b>n</b>	3	3	3	3	3

## Lebenslauf

### Christiane Stoll

#### Persönliche Angaben

---

Geburtsort	Scheibbs
Staatsbürgerschaft	Österreich
Religion	römisch-katholisch
Familienstand	ledig

#### Ausbildung

---

2010-2013	Masterstudium Ernährungswissenschaften an der Universität Wien, Schwerpunkt Food Quality and Food Safety
2006-2010	Bachelorstudium Ernährungswissenschaften an der Universität Wien
2002-2006	BORG Scheibbs mit bildnerischem Zweig
1998-2002	Hauptschule Scheibbs
1994-1998	Volksschule Scheibbs

#### Arbeitserfahrung

---

seit August 2013	Prozessanalytik, Sandoz GmbH, Kundl-Schaftenau
Oktober 2012- Juni 2013	Chemisch technische Assistentin (CTA) am Institut für Ernährungsphysiologie und Physiologische Chemie, Universität Wien, Univ. Prof. Mag. Dr. Veronika Somoza
August u. September 2011	Labor für Rückstandsanalytik der LVA (Lebensmittelversuchsanstalt), Wien
Juni 2010	Labor für Rückstandsanalytik der LVA, Wien
August 2009	Sozialreferat der Wien Energie, Wien
Juli 2009	Mikrobiologisches Labor der LVA, Wien

#### Praktische Erfahrungen und Kenntnisse

---

### Praktische Erfahrungen

Analytische Chemie (HPLC-MS, HPLC-UV, SPME-HS-GC, GC-MS)

Präparative Chemie (HPLC)

Synthesechemie

Photometrie

QuECHERS-Methode (Rückstandsanalytik)

Mikrobiologische Methoden

### Kenntnisse

Computerkenntnisse (MS Office, Sigma-Plot, SPSS)

Englisch in Wort und Schrift (Sehr gut)