



# Antioxidantien

1

**VORKOMMEN, ANWENDUNG, TRENDS**

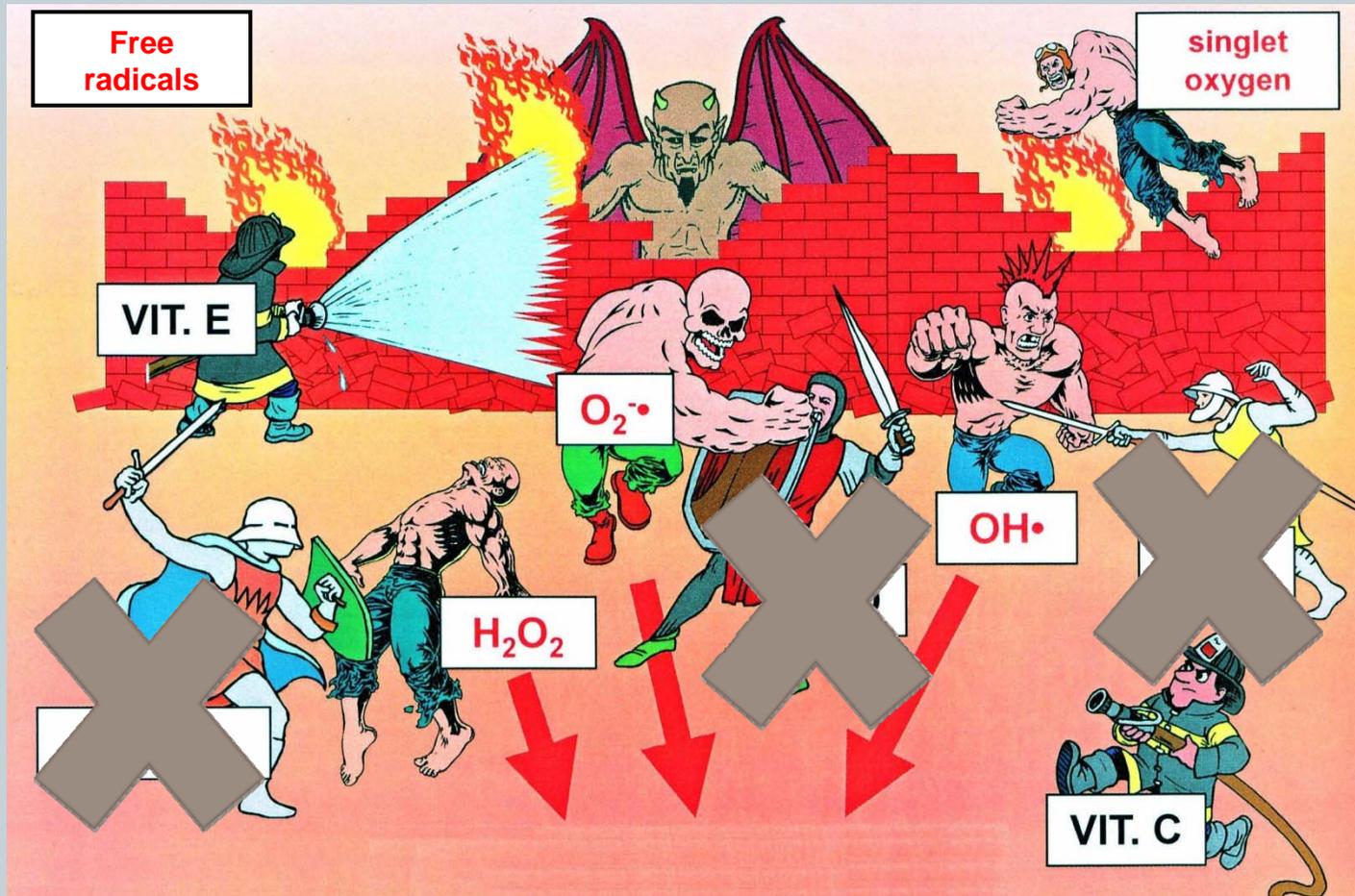
# Arten von Antioxidantien

2

- **Reduktionsmittel**
  - Ascorbinsäure
  - $\text{SO}_3^{2-}$
- **Radikalfänger**
  - Phenolische AO
  - Tocopherole (Vit. E)
  - Carotinoide
  - Synthetische AO (BHT, BHA)
- **Indirekte (synergistische ) AO**
  - Citrate
  - EDTA

# Antioxidative Mechanismen

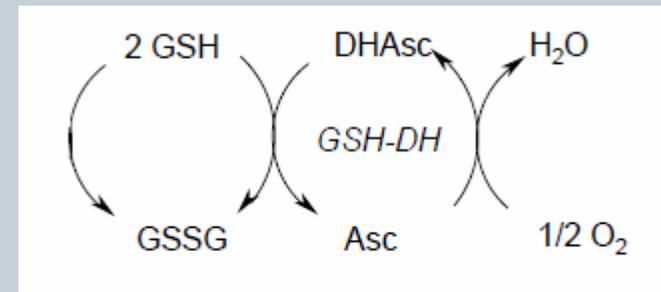
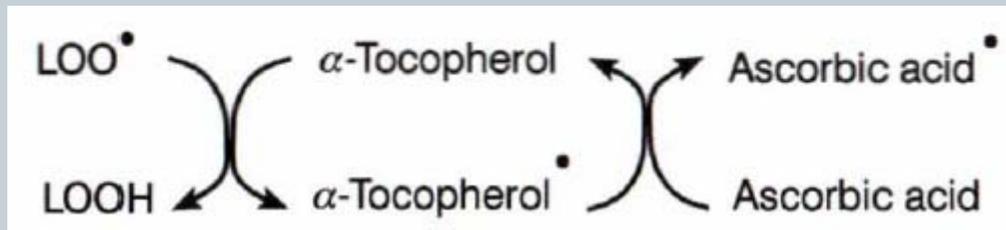
3



# Antioxidative Mechanismen

4

Antioxidative Systeme sind in Lebensmitteln nur zum Teil funktionsfähig

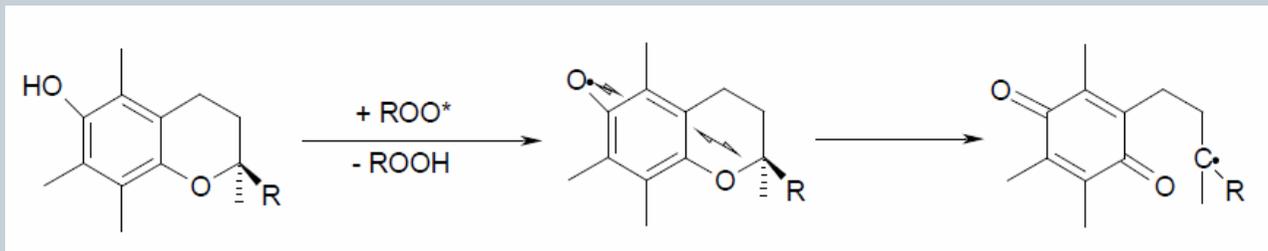


# Antioxidative Mechanismen

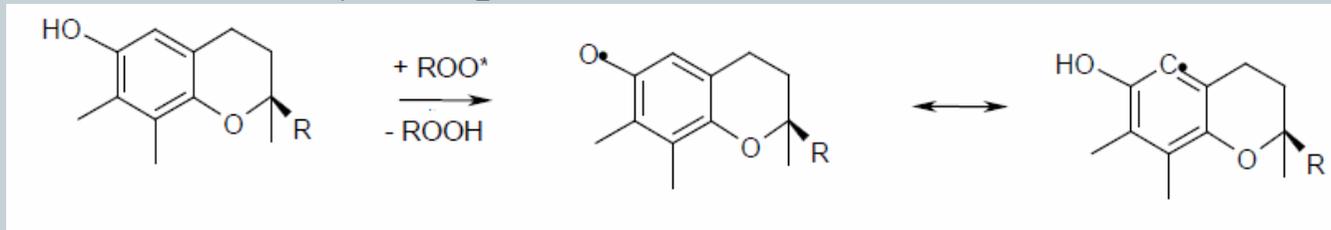
5

- Daher:
- Andere Anforderungen an Antioxidantien in Lebensmitteln

## Mechanismus $\alpha$ -Tocopherol



## Mechanismus $\gamma$ -Tocopherol



# Antioxidative Mechanismen

6

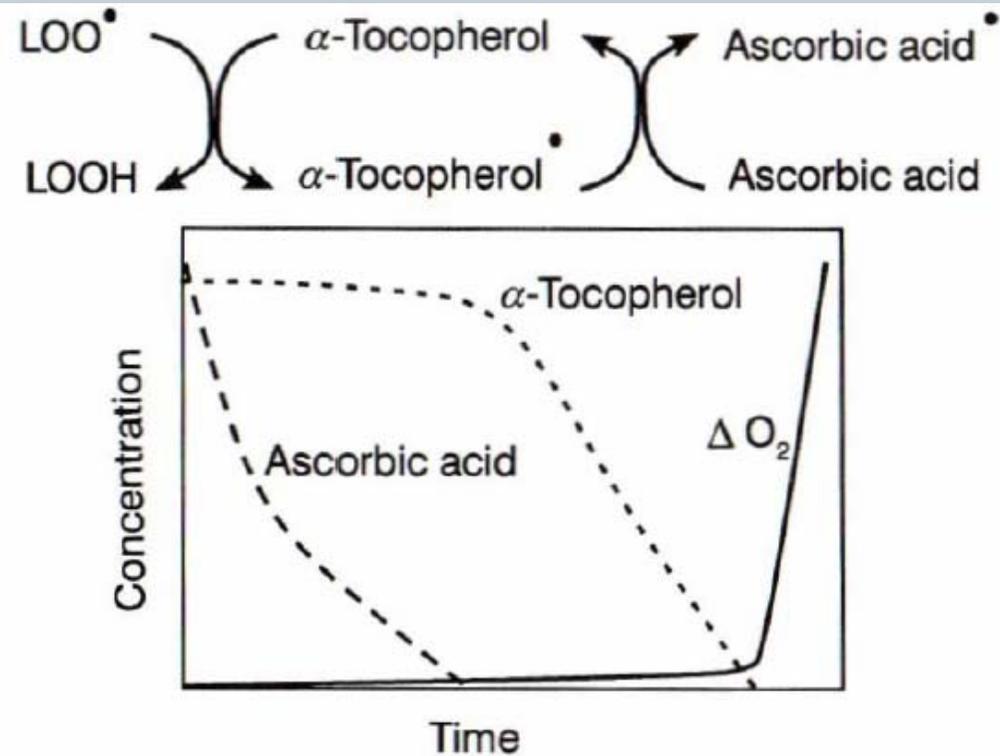
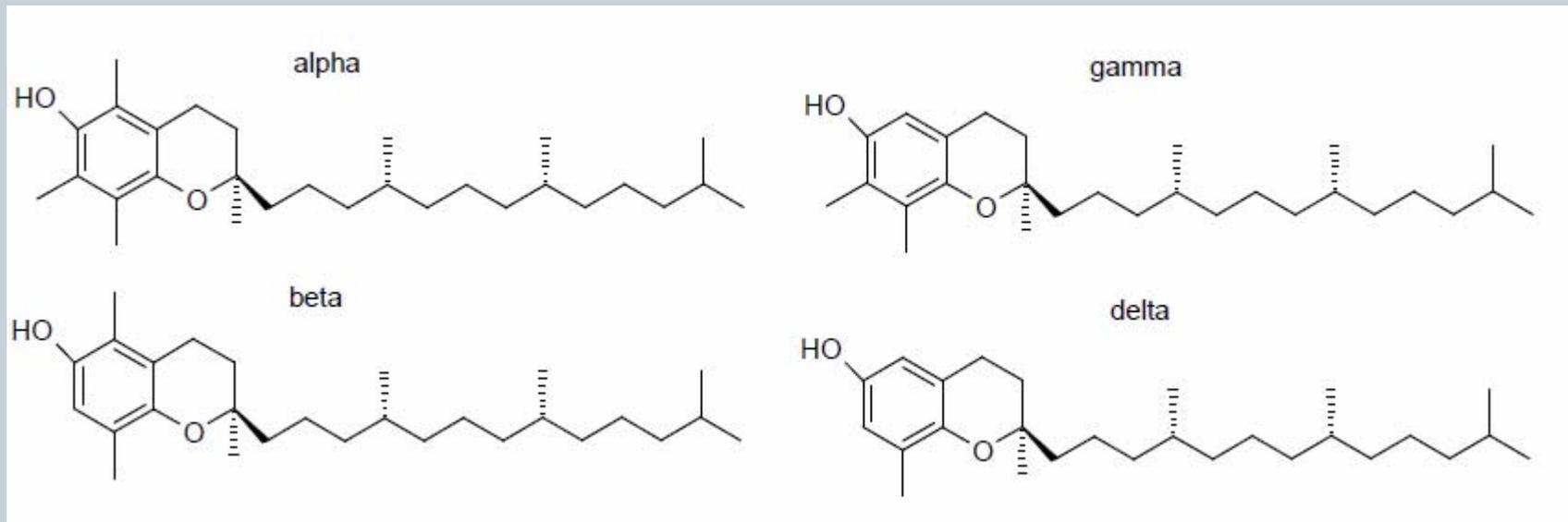


Figure 8-4. Disappearance of  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid during oxidation of methyl linoleate. From Niki *et al.* (1980).

# Tocopherole

7

## Vitaminfunktion



Biologische Aktivität (R,R,R Form):

$\alpha$ : 100%

$\beta$ : 50%

$\gamma$ : 10%

$\delta$ : 3%

# Tocopherole

## Vitaminfunktion

Relative affinities of various tocopherol analogs for  $\alpha$ TTP isoform

Competitors	Relative affinity(%)
<u><math>\alpha</math>-Tocopherol</u>	100
<u><math>\beta</math>-Tocopherol</u>	38.1 $\pm$ 9.3
<u><math>\gamma</math>-Tocopherol</u>	8.9 $\pm$ 0.6
<u><math>\delta</math>-Tocopherol</u>	1.6 $\pm$ 0.3
<u><math>\alpha</math>-Tocopherol acetate</u>	1.7 $\pm$ 0.1
<u><math>\alpha</math>-Tocopherol quinone</u>	1.5 $\pm$ 0.1
<u>SRR-<math>\alpha</math>-Tocopherol</u>	10.5 $\pm$ 0.4
<u><math>\alpha</math>-Tocotrienol</u>	12.4 $\pm$ 2.3
<u>Trolox</u>	9.1 $\pm$ 1.2

A. Hosomi et al., FEBS Letters 409 (1997) 105.

# Tocopherole

9

Funktion als Antioxidans

Effekt

$\alpha T > \gamma T > \beta T > \delta T$

(0,2% T in Schweinefett bei 20 – 60°C)

$\delta T > \gamma T > \alpha T > \beta T$

(0,2% T in Schweinefett bei 80 – 120°C)

(Telegdy & Berndorfer, 1968)

# Tocopherole

10

## Funktion als Antioxidans

Aber: Große Unterschiede je nach Anwendung und Methode

z.B.:

$\gamma T > \delta T > \alpha T > \beta T$  (O<sub>2</sub> Aufnahme, 96°C) (Parkhurst et al, 1968)

$\gamma T > \beta T > \delta T > \alpha T$  (0,001% in Milchfett)

$\alpha T > \gamma T > \beta T > \delta T$  (0,003% in Milchfett)

$\gamma T > \delta T > \beta T > \alpha T$  (0,01% in Milchfett)

$\delta T > \gamma T > \beta T > \alpha T$  (>0,05% in Milchfett) (Kanno et al. 1970)

$\alpha T > \gamma T > \delta T$  (0,001% in Fischöl, POZ)

$\delta T > \gamma T > \alpha T$  (0,01% in Fischöl) (Kulas&Ackman, 2001)

# Tocopherole

11

## Allgemein:

$\alpha$  – Tocopherol    hohe Vitaminwirkung  
Gute Bioverfügbarkeit  
anderer antioxidativer Mechanismus als  $\beta\gamma\delta$ -T  
gutes AO bei niedrigen Temp. und Konz. (physiologische  
Verhältnisse)

Im Lebensmittel: Antioxidative Wirkung UND Vitaminwirkung wichtig

Schutz empfindlicher Inhaltsstoffe:

z.B.                      Essentielle Fettsäuren

(physiologischer Wert; Sensorik)

# Tocopherole

12

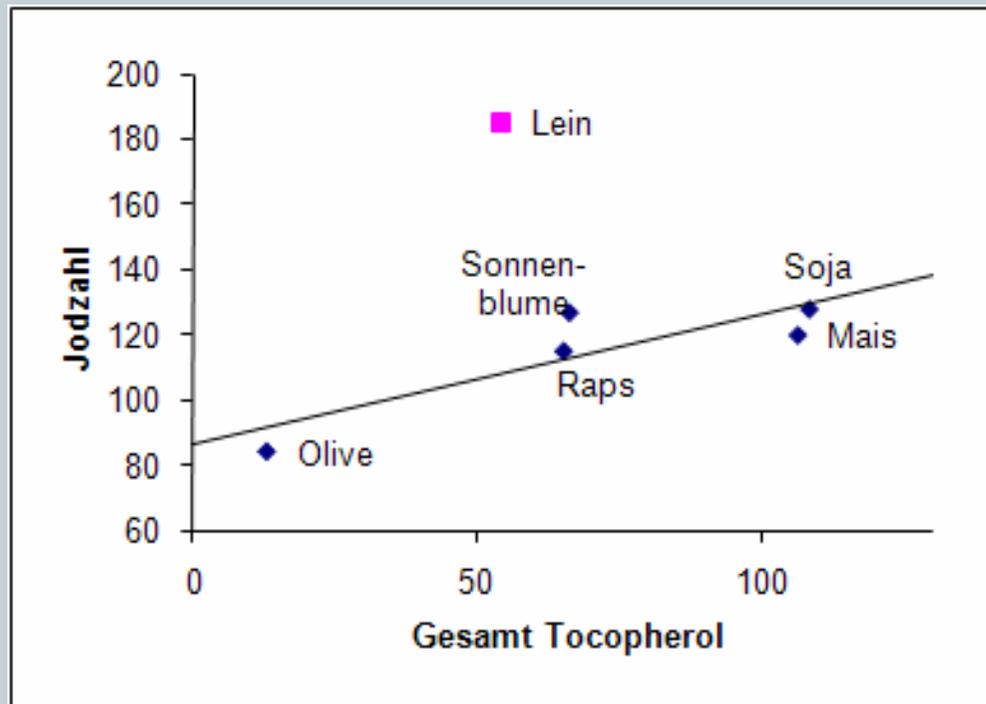
- $\alpha$ -Tocopherol als primäres Vitamin E
- Antioxidative Wirkung auch von  $\beta$ ,  $\gamma$  und  $\delta$  T interessant
  - Unterschiedliche Anforderungen in LM
  - Wirkung auch jenseits der Vitamin E Aktivität
  - „echte“ phenolischs AO auch *in vivo*
  - $\beta$ -T besonders interessant, da relativ hohe Vitaminwirkung + relativ hohes Potenzial als AO

# Tocopherole

13

- Quellen

Praktisch alle pflanzlichen Fettquellen – Ungesättigte Fette mehr als gesättigte Fette



$\alpha$ -T: Sonnenblume

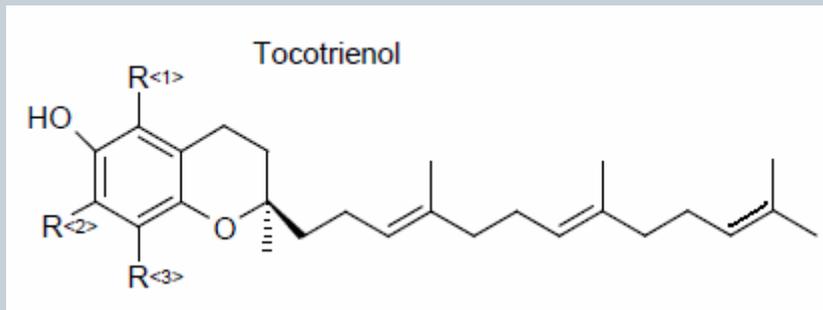
$\beta$ -T: Weizenkeim ( $\alpha, \gamma$ )

$\gamma$ -T: Maiskeimöl

$\delta$ -T: Soja (haupts.  $\gamma$ )

# Tocotrienole

14



alpha: R 1,2,3 = CH<sub>3</sub>  
beta: R 1,3 = CH<sub>3</sub>  
gamma: R 2,3 = CH<sub>3</sub>  
delta: R 3 = CH<sub>3</sub>

Biologische Aktivität (R-Form):

αT: 100%

αT<sub>3</sub>: 50%

βT<sub>3</sub>: 5%

γT<sub>3</sub>: -

δT<sub>3</sub>: -

# Tocotrienole

15

- **Biologische Rolle über die Vit E Aktivität hinaus**
  - Antioxidative Wirkung
  - Carcinostatischer Effekt
  - Hypcholesterolämischer Effekt
- **Biochemischer Zusammenhang mit Inhibierung der HMG-CoA Reduktase**

# Tocotrienole

16

- Quellen
  - Palmöl ( $\alpha$ ,  $\gamma$ , wenig  $\delta$ )
  - Weintraubenkernöl ( $\alpha$ ,  $\gamma$ )
  - Hafer ( $\alpha$ )
- Oft größere Mengen in Pflanzenzellen (LM extrahierbar, phys.Pressung)

Concentrations (ppm) of Vitamin E in CPO, PFO, and the Phytonutrient Concentrate<sup>a</sup>

Sample	$\alpha$ -T	$\alpha$ -T <sub>1</sub>	$\alpha$ -T <sub>3</sub>	$\gamma$ -T <sub>3</sub>	$\delta$ -T <sub>3</sub>	Total
CPO	420 ± 15	40 ± 5	260 ± 10	360 ± 10	80 ± 3	1160 ± 43
PFO	1810 ± 10	430 ± 6	760 ± 5	930 ± 5	110 ± 5	4040 ± 31
Phytonutrient concentrate	1400 ± 20	350 ± 10	2430 ± 10	8320 ± 15	1280 ± 10	13780 ± 65

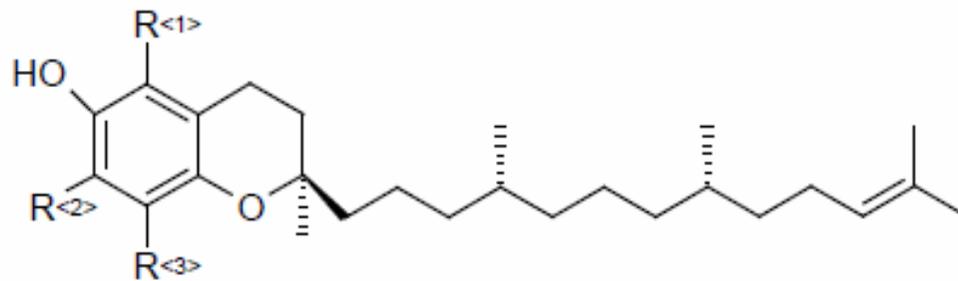
<sup>a</sup>CPO, crude palm oil; PFO, palm fiber oil;  $\gamma$ -T<sub>3</sub>,  $\gamma$ -tocotrienol;  $\delta$ -T<sub>3</sub>,  $\delta$ -tocotrienol; for other abbreviations see Table 1.

(Ng et al., 2004)

# Tocomonoenole

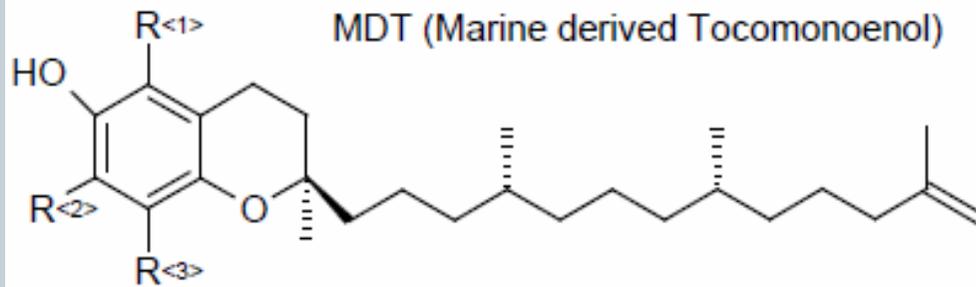
17

Tocomonoenol



alpha: R 1,2,3 = CH<sub>3</sub>  
beta: R 1,3 = CH<sub>3</sub>  
gamma: R 2,3 = CH<sub>3</sub>  
delta: R 3 = CH<sub>3</sub>

MDT (Marine derived Tocomonoenol)



# Tocomonoenole

18

- Quellen

- Palmöl ( $\alpha$ ,  $\gamma$ , wenig  $\delta$ ) (Ng et al. 2004)

- Kiwi ( $\delta$ ) (Fiorentino et al. 2009)

Amount of  $\delta$ -tocomonoenol (1),  $\delta$ -tocopherol (3), and  $\alpha$ -tocopherol (2) found in pulp and peel of kiwi fruits. Values are reported as mg/100 g of fresh weight.

	$\alpha$ -Tocopherol	$\delta$ -Tocopherol	$\delta$ -Tocomonoenol
Pulp extract	1.02 $\pm$ 0.03	0.64 $\pm$ 0.01	0.85 $\pm$ 0.02
Peel extract	1.05 $\pm$ 0.06	2.49 $\pm$ 0.12	1.45 $\pm$ 0.08

# Tocomonoenole

19

Kiwi ( $\delta$ )

(Fiorentino et al. 2009)

## Antioxidative Kapazität:

Radical-scavenging capacities (RSC,  $\pm$ SD) and antioxidant capacities ( $\pm$ SD) of  $\delta$ -tococomonoenol (1),  $\alpha$ -tocopherol (2) and  $\delta$ -tocopherol (3) from kiwi fruit.

	DPPH-RSC (%) <sup>b</sup>	O <sub>2</sub> -RSC (%) <sup>b</sup>	Hydroperoxide conjugate dienes formation (%) <sup>b</sup>	TBARS determination (%) <sup>b</sup>	Total antioxidant capacity (CAE <sup>a</sup> )
1	23.96 $\pm$ 1.60	29.20 $\pm$ 2.28	26.88 $\pm$ 0.87	46.60 $\pm$ 1.12	0.13 $\pm$ 0.01
2	25.21 $\pm$ 0.50	27.07 $\pm$ 0.99	33.08 $\pm$ 0.46	53.01 $\pm$ 1.24	0.16 $\pm$ 0.01
3	23.40 $\pm$ 0.75	29.73 $\pm$ 1.57	25.48 $\pm$ 0.77	43.17 $\pm$ 1.14	0.15 $\pm$ 0.01

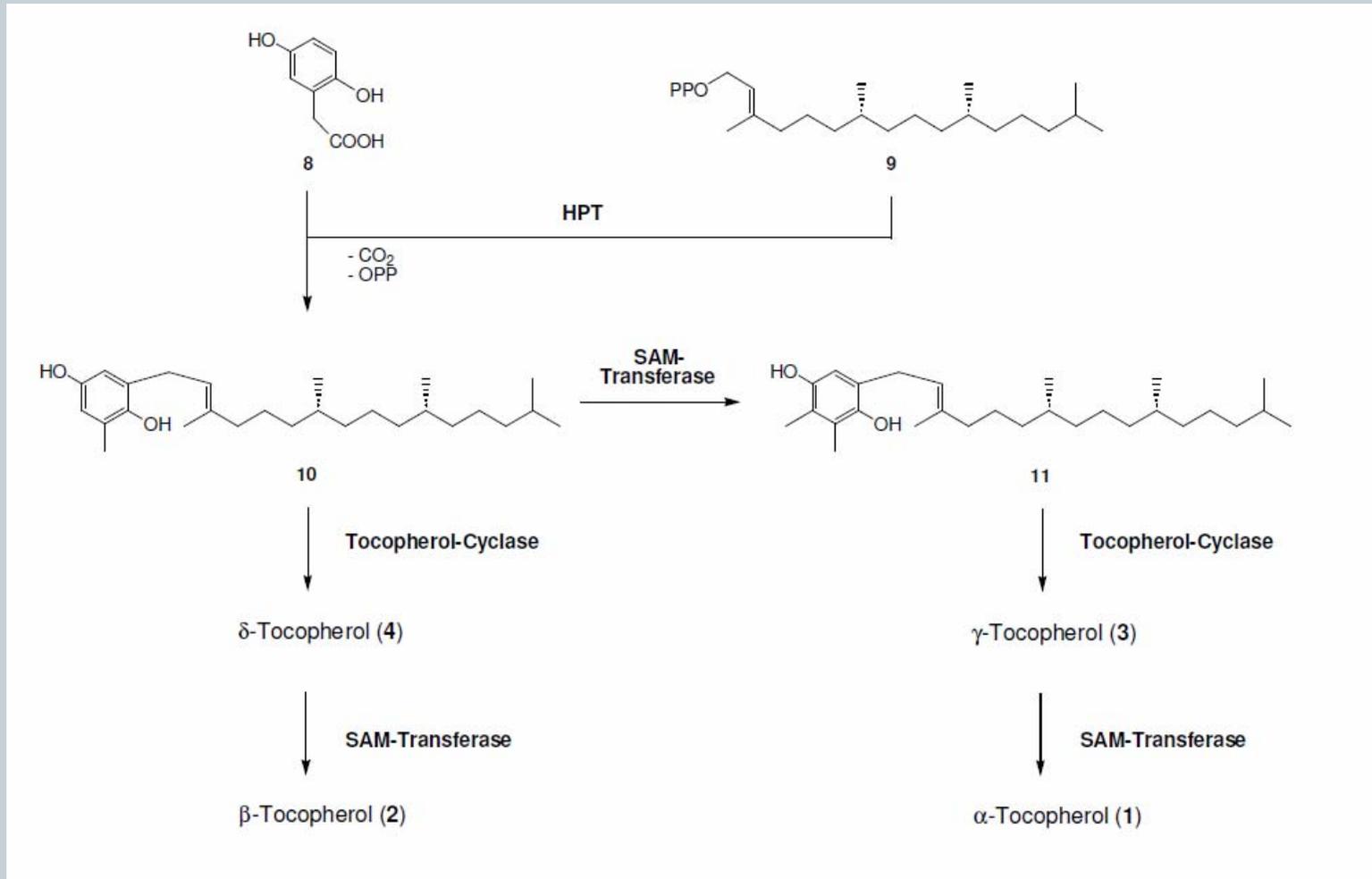
<sup>a</sup> CAE = Caffeic acid equivalent.

<sup>b</sup> Values are presented as percentage differences vs. blank.

Fragen: Ineraktion mit Ascorbat?, andere (phenolische) AO?

# Tocopherol Biosynthesis

20



# Andere Phenolische AO

21

- Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe:

- Phenolische Säuren

Benzoate, Gallate, Zimtsäure,  
Vanillinsäure

- Flavonoide

Flavone, Flavanole, Flavanole,  
Flavanone, Isoflavone,  
Anthocyane,...

- Lignane

Secoisolariciresinol,  
Pinoresinol, Lariciresinol,  
Matairesinol

- Stilbenoide

Resveratrol

# Phenolische AO

22

- **Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe:**
  - Stärker polar als Tocopherole (keine Seitenkette, mehr Hydroxylgruppen)
  - Meist glycosyliert
  - Polyphenole oft gefärbt (Flavone, Flavonole, Anthocyane, Isoflavone)
  - Biologische Aktivität (Pseudoöstrogene – Isoflavone, Lignane)
  - Antioxidative Wirkung (klassische phenolische AO)
  - Bitterer Geschmack (z.B. Flavanon – Naringenin – Grapefruit)

# Praktische Anwendung - Leinöl

23

- Lokale Spezialität
- Schlechte Haltbarkeit
  - Oxidationsempfindliche Fettsäuren (> 50%  $\alpha$ -Linolensäure, JZ >180)
  - Oxidationsempfindliche Peptide (CLP- $\epsilon$  – bitterer Geschmack)
  - Polymerisiert (Anwendung als Ölfarbe)
  - Haltbarkeit ca 3 Monate (in der Praxis)

# Praktische Anwendung - Leinöl

24

- Verbesserung der Haltbarkeit
  - Klassische Methoden nicht ausreichend
    - ✦ (kleine Gebinde, dunkle Flaschen, kurze Vertriebswege, kühl lagern)
  - Chemische Methoden
    - ✦ Zusatz von synthetischen AO bei Naturprodukt unsinnig
    - ✦ Jeder Zusatz von „fremden“ Stoffen problematisch

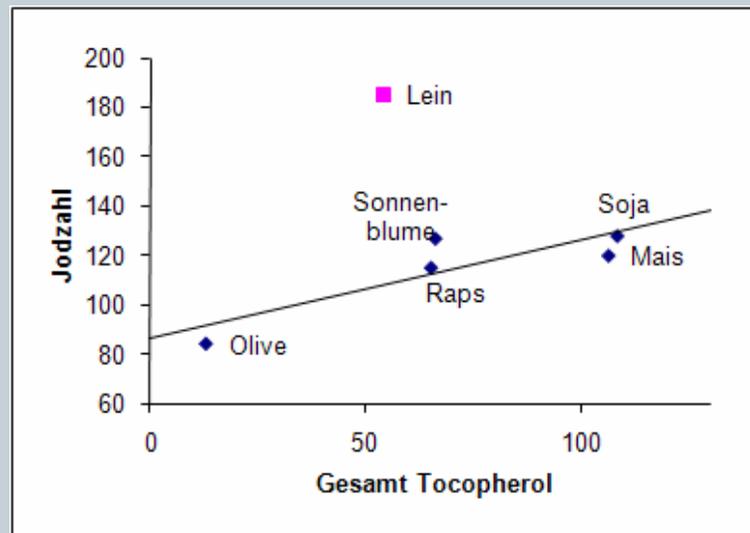
# Praktische Anwendung - Leinöl

25

Praktische Beobachtung:

Leinöl – beschränkte Haltbarkeit

Leinsamen – recht gute Stabilität



Annahme: Antioxidantien im Leinsamen, die bei Pressung nicht (vollständig) ins Öl übergehen.

# Praktische Anwendung - Leinöl

26

	Leinöl	Sacha Inchi Öl
<b>SFA:</b>		7,5 g <sup>3</sup>
• Palmitinsäure (C16:0)	5,1 g <sup>1</sup>	4,2 g <sup>3</sup>
• Stearinsäure (C18:0)	3,9 g <sup>1</sup>	2,9 g <sup>3</sup>
<b>MUFA:</b>		9,6 g <sup>3</sup>
• Ölsäure (C18:1, n-9)	17,6 g <sup>1</sup>	9,0 g <sup>3</sup>
• Palmitoleinsäure (C16:1, n-7)	n.b. <sup>1</sup>	0,6 g <sup>3</sup>
<b>PUFA:</b>		82,8 g <sup>3</sup>
• Linolsäure (C18:2, n-6)	14,3 g <sup>1</sup>	34,3 g <sup>3</sup>
• $\alpha$ -Linolensäure (C18:3, n-3)	51,54 g <sup>1</sup>	48,5 g <sup>3</sup>
<b>Vitamin A</b>	-	0,012 mg <sup>3</sup>
<b>Vitamin E</b>	5,8 mg <sup>8</sup>	17 mg <sup>3</sup>
<b>Tocopherole:</b>	44-59 mg <sup>4</sup>	230 $\pm$ 34,5 mg <sup>6</sup> 176-226 mg <sup>3</sup>
• $\alpha$ -Tocopherol	0,54 mg <sup>7</sup>	3,8-6,3 mg <sup>2</sup>
• $\beta$ -Tocopherol	-	-
• $\gamma$ -Tocopherol	57 mg <sup>7</sup>	144 mg <sup>6</sup>
• $\delta$ -Tocopherol	0,75 mg <sup>7</sup>	86 mg <sup>6</sup>
<b>Phytosterole</b>	377,3 mg <sup>4</sup>	250 mg <sup>5</sup>
	v.a. $\beta$ -Sitosterol, $\Delta$ 5-Avenasterol, $\Delta$ 5-Campesterol, Stigmasterol	v.a. Stigmasterol, Campesterol, $\Delta$ 5-Avenasterol



Tabelle 1: Nährwerte und Inhaltsstoffe des Leinöls und Sacha Inchi Öls im Vergleich, bezogen auf je 100g Öl. SFA= gesättigte Fettsäuren, MUFA= einfach ungesättigte Fettsäuren, PUFA= mehrfach ungesättigte Fettsäuren, nb= nicht bestimmt, nn= nicht nachweisbar. Quellen: <sup>1</sup>= KARAYEL (2010), <sup>2</sup>= HAMAKER et al. (1992), <sup>3</sup>= , <sup>4</sup>= FOSTER (2009), CARSTENSEN (2001), <sup>5</sup>= HEIKER (2010), <sup>6</sup>= ITERG-FRANCE (2004), <sup>7</sup>= SOUCI et al. (2008), <sup>8</sup>= SOUCI et al. (2008).

# Praktische Anwendung - Leinöl

27

- Methoden

- Chemische Untersuchung von Leinölen (aus Kalt- und Warmpressung) hinsichtlich:

- ✦ Fettsäuren (gaschromatographisch)
- ✦ Tocopherolen (HPLC)
- ✦ Carotinoiden (HPLC)
- ✦ Phenolen (photometrisch, GC/MS)
- ✦ Chlorophyll (photometrisch)

Sowie:

- ✦ Oxidationsparameter
  - Peroxydzahl, TBARS, Rancimat

# Praktische Anwendung - Leinöl

28

- Methoden
  - Chemische Untersuchung der Presskuchen von Leinöl auf antioxidative Inhaltsstoffe
    - ✦ Tocopherole
    - ✦ Phenole
      - (Flavonoide, Lignane, Phenolische Säuren,...)
    - ✦ Carotinoide

# Praktische Anwendung - Leinöl

29

- **Methoden**
  - Herstellung von ethanolischen Extrakten aus Presskuchen
  - Zusatz zum Leinöl
  - Messen des antioxidativen Effekts
  - Messen der antioxidativen Inhaltsstoffe im Extrakt

# Praktische Anwendung - Leinöl

30

- Ergebnisse
  - Chemische Untersuchung:
  - Tocopherolgehalt

Leinöl bzw. Presskuchen	Tocopherolgehalt [mg/100 g Öl bzw. Pk]				Tocopherol- Gesamt [mg/100g]	Vitamin E- Gehalt [mg/100g]
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$		
kÖl	1,15	-	45,02	0,72	46,89	12,41
wÖl	1,22	-	44,97	0,81	47,00	12,47
kPk	nb	-	50,79	nb	-	-
wPk	nb	-	54,86	nb	-	-

Keine Unterschiede  
zwischen kalt und warm

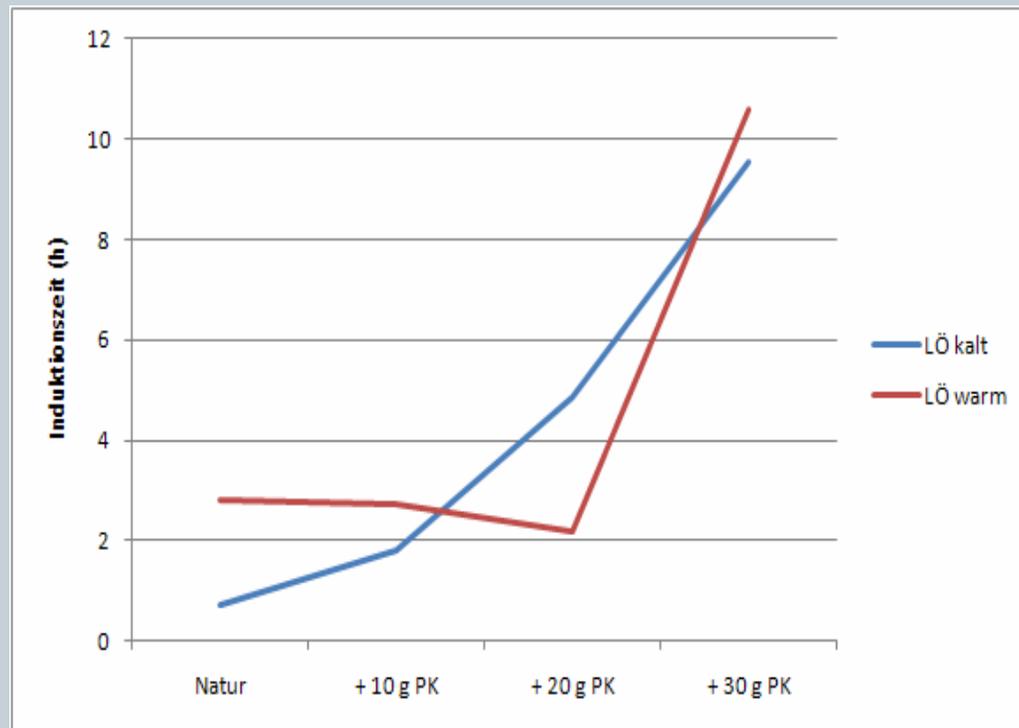
Keine höheren Toc. Werte  
durch Extraktzugabe

Tabelle 1: Konzentrationen an Tocopherolen [mg/100g] und Vitamin E [mg/100g] des kalt- und warmgepressten Leinöles sowie deren Presskuchen – ermittelt mit HPLC/FD. wÖl= warmgepresstes Leinöl, kÖl= kaltgepresstes Leinöl, wPk= warmgepresster Presskuchen, kPk= kaltgepresster Presskuchen, nb= nicht bestimmt.

# Praktische Anwendung - Leinöl

31

- Ergebnisse
  - Beschleunigter Oxidationstest (Rancimat)



Kaltgepresst: starke Verbesserung

Warmgepresst: sehr hohe Zugaben nötig

Schlussfolgerung: Antioxidantien gehen bei Warmpressung besser ins Öl über (und sind daher nicht mehr im Presskuchen)

Haltbarkeit kann auf ein Niveau gehoben werden, das klassischen Speiseölen entspricht

# Praktische Anwendung - Leinöl

32

- **Ergebnisse**

- Beschleunigter Oxidationstest (Schaal Ofentest, 60°C)
  - ✦ Entwicklung des Tocopherolgehalts

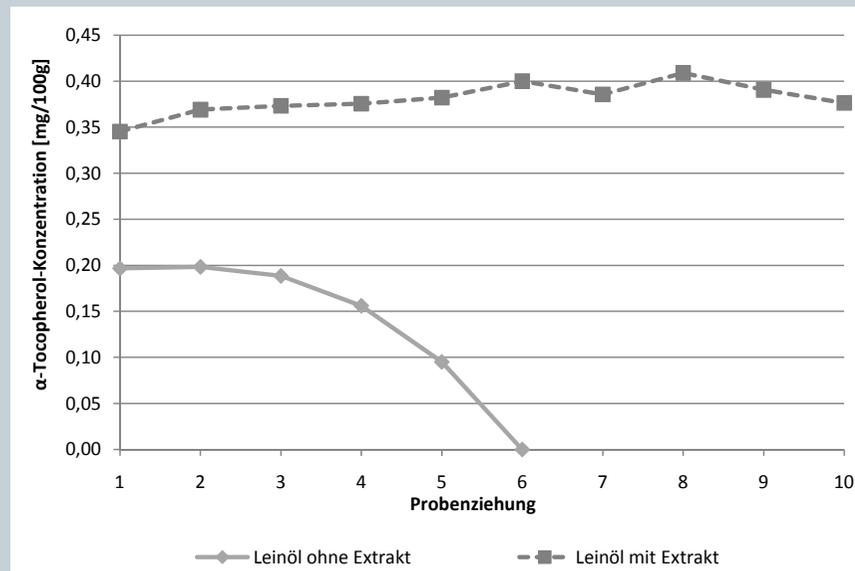


Abbildung 1: Entwicklung des  $\alpha$ -Tocopherols [mg/100g] während des Schaal Oven Tests bei 60°C.

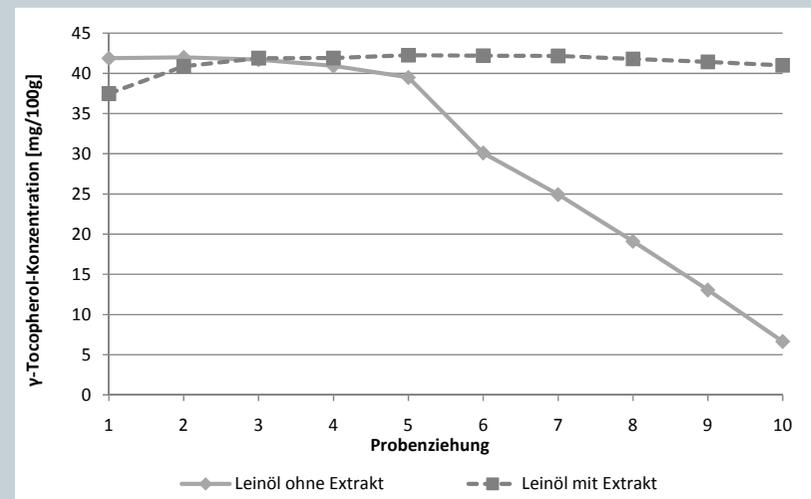


Abbildung 1: Entwicklung des  $\gamma$ -Tocopherols [mg/100g] während des Schaal Oven Tests bei 60°C.

# Praktische Anwendung - Leinöl

33

## • Ergebnisse

- Beschleunigter Oxidationstest (Schaal Ofentest, 60°C)
  - ✦ Entwicklung von Peroxydzahl und TBARS

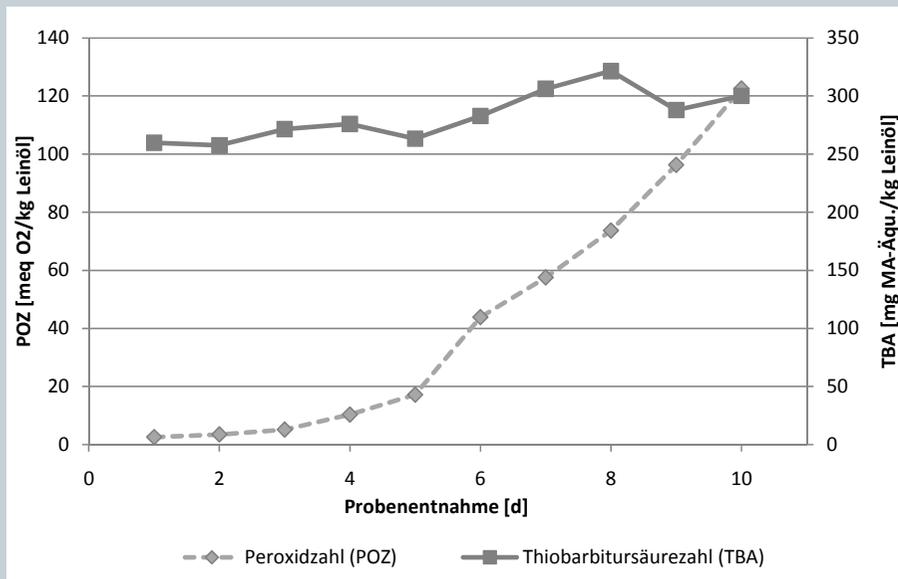


Abbildung 1: Entwicklung der Peroxidzahl (POZ) und Thiobarbitursäurezahl (TBA) in Leinöl „natur“ während des Schaal Oven Tests bei 60°C (\*= KARAYEL, 2010, in press).

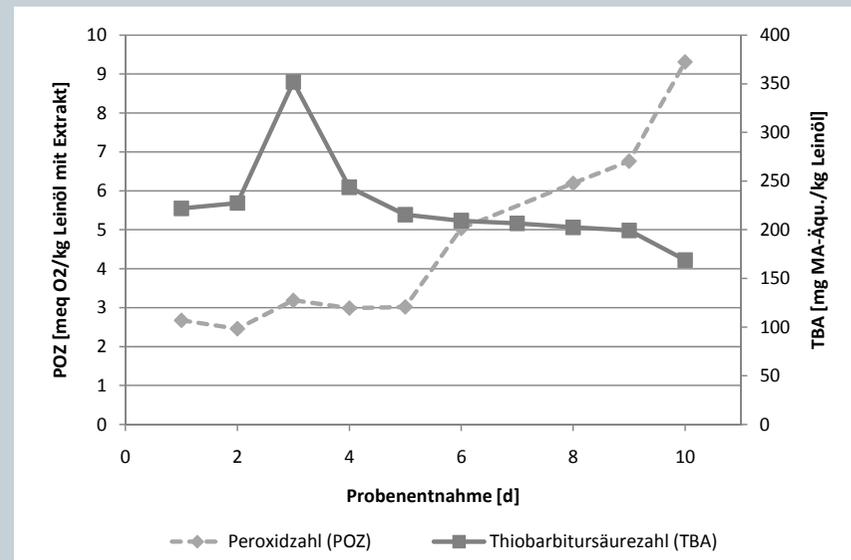


Abbildung 1: Entwicklung der Peroxidzahl (POZ) und Thiobarbitursäurezahl (TBA) in angereichertem Leinöl während des Schaal Oven Tests bei 60°C (\*= KARAYEL, 2010, in press).

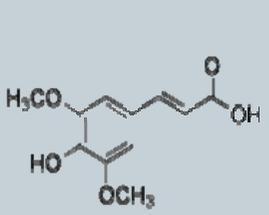
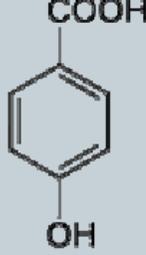
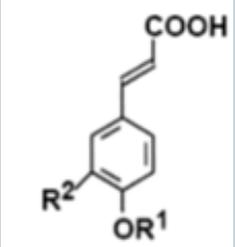
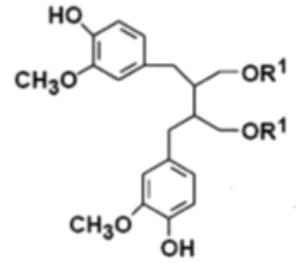
# Praktische Anwendung - Leinöl

34

- **Ergebnisse**

- Phenolische Stoffe

- Folgende phenolischen Stoffe wurden mittels GC/MS im Presskuchen nachgewiesen:

			
<b>Sinapinsäure</b>	<b>p-Hydroxybenzoic acid</b>	<b>Coumarinsäure:</b> R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> =H	<b>Secoisolariciresinol (SECO):</b> R <sup>1</sup> =H
		<b>Ferulasäure:</b> R <sup>1</sup> =H, R <sup>2</sup> =OCH <sub>3</sub>	<b>Secoisolariciresinol-Diglucosid (SDG):</b> R <sup>1</sup> =Glucose

Meist glycosiliert und nicht mit Ethanol extrahierbar

Aber:

Gesamtphenole im Extrakt klar erhöht (photometrische Bestimmung)

Weiters: Matairesinol

# Praktische Anwendung - Leinöl

35

- **Ausblick:**
  - Bestimmen des antioxidativen Prinzips
  - Optimieren der Extraktion
  - Fragen der Homogenität (Probleme beim Einbringen des Extraktes, Ausflocken)
  - Sensorik
  - Mögliche physiologische Auswirkungen

# Ende



36

Vielen Dank  
Matthias Schreiner

Department für Lebensmittelwissenschaften und Technologie

BOKU Wien

Mitarbeiterinnen im Projekt „Leinöl“

Eda Karayel, Monika Koblmüller, Yesim Karabekir, Dr. Derya Arslan

Ölmühle Haslach, FFG