Einfluβ der Extraktionsmethode und Lösungsmittel auf einige Minorbestandteile in den rohen Ölen und die Autoxydationsbereitschaft der Öle

Chang-Kiu Moon und *Artur Seher

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea,
**Bundesanstalt für Fettforschung, 44 Münster (Westf.), West Germany*

추출 방법과 용매가 채종유 중 수종 미량성분과 그 자동산화능에 미치는 영향

문창규 · *Artur Seher

서울대학교 약학대학 *독일연방 지질연구센터

ABSTRACT-Effects of the extraction-methods and solvents on some minor components in crude rapeseed-oil and the autooxidation of the oils were examined in this study. The contents of unsaponifiable matters and sterols were not significantly variied depending on the extraction-methods and solvents. Chlorophyll-contents were elevated with the increasing molecular weights of extraction-solvents. Any significant effect of the extraction-temperature on the yield of chlorophyll was not observed. Autoxidation-tendency of the oils was found to be dependent on the boiling points of extraction-solvents.

Keywords□Rapeseed oil, Extraction-methods, Unsaponifiable matters, Sterol, Chlorophyll, Extraction-solvents, Autooxidation

In unserer früheren Arbeit[1] untersuchten wir die Löslichkeit der Phospholipide in Ölsaaten unter versciedenen Extraktionsbedingungen. Die Ergebnisse können wie nachstehend zusammengefasst werden.

Die Ergebnisse von Ölgehaltsbestimmungen sind abhangig von der benutzten Methode und den angewandten Lösungsmitteln. Bei Extradtionen nach dem Durchtropff Verfahren werden zunehmende Extraktausbeuten in der Reihe n-Pentan, Hexan, n-Heptan gefunden, wahrend bei Extraktion im Soxhlet-Apparat n-Heptan eine viel kleinere Ausbeute liefert als die beiden anderen Solventien. Der Gehalt der Extrakte an Phospholipiden ist von der Methode wenig abhangig und wird im wesentlichen nur von der Art des Lösungsmittels bestimmt. Bei den verschiedenen Extraktionen variiert nicht nur die Menge der erhaltenen Phospholipide, auch die Zusammensetzung weist prinzipielle Unterschiede auf.

In dieser Arbeit haben wir versucht, aufzuklären, wie die auf die Phosphatide-Menge und-Zusammensetzung so einfluβreichen Faktoren auf die Sterinfraktion, Chlorophyll und die Oxydationsbereitschaft der Öle wirken. Das Verhalten dieser Minorbestandteile unter verschiedenen Extraktionsbedingungen und die Beständigkeit der darunter extrahierten Öle sind biher in der Literatur nicht beschrieben worden.

Received for publication 22 June; 1987
Reprint requests; Dr. C.K. Moon at the above address

Nachstehend werden Ergebnisse entsprechender Versuche migeteilt.

Material und Methoden

Material—Für alle Untersuchungen diente eine einheitliche, gut durchmischte Partie sorgfältig vom Besatz befreiter Rapssaat.

Extraktion der Öle—Zerkleinerung nach Vermischen mit gewaschenem Seesand (1 + 1) in einer Mörsermühle. Extraktion mit den bekannten Methoden nach Twisselmann und nach Soxhlet sowie mit einem Heizmantel versehenen Durchtropfextraktor, der einschließlich des Lösungsmittelvorrats durch einen Thermostaten auf 40 ± 0.5°C temperiert werden konnte.

Benutzte Lösungsmittel vgl. Tab. 1. Ferner dienten 5- und 10% ige Lösungen von sorgfältig analysiertem Rapsöl in Hexan III "als Modelle für die in der Ölmuhlenindustrie benutzten Extraktionsstufen mit Miscella".

Die in den Tab. 2--7 mitgeteilten Ergebnisse der Extraktionen sind Mittelwerte aus jeweils sieben Einzelbestimmungen, um die z.T. geringen Unterschiede in den Resultaten statistisch abzusichern.

Stufenweise Extraktion—Rapsaaten wurden mit underschiedlich polaren Lösungsmitteln-Hexan III, chloroform und Äthanol-nach Twisselmann aufeinanderfolgend extrahiert.

Tabelle 1. Lösungsmittel für die Extraktionen

Lösungsmittel	Hauptkomponenten
Pentan	n-Pentan
Techn. Hexan I	n-Hexan (61%)
	verzweigte Kohlenwasserstoffe (21%)
	Methyl-cyclopentan (15%)
Techn. Hexan II	n-Hexan (46%)
	verzweigte Kohlenwasserstoffe (18%)
	Methyl-cyclopentan (34%)
Techn. Hexan III	n-Hexan (88%)
	verzweigte Kohlenwasserstoffe (8%)
	Methyl-cyclopentan (3%)
Heptan	n-Heptan
Chloroform	Für stufenweise Extraktion verwendet
Äthanol	Extraktion

Entfernung von Nicht-Lipiden aus den Extrakten—Die nach den angegebenen Verfahren erhaltenen Gesamtextrakte enthalten kleine Mengen an Nicht-Lipiden, die die nachfolgende chromatographische Trennung stören. Sie wurden nach einer Vorschrift von Singh u. Privett (2) durch Auswaschen mit 0.5% iger Kochsalzlösung entfernt.

Isolierung des Unverseifbaren—Um die Sterine in den einzelnen Ölproben untersuchen zu können, wurde zunächst nach der DFG-Einheitsmethode C-III la (3) das Unverseifbare isoliert. Dabei erfolgte die Trocknung jedoch durch Zusatz von Natriumsulfat zur Äther-Lösung des Unverseifbaren. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde im Trockenschrank bei 80°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Aus dem so isolierten Unverseifbaren erfolgte in einem Teil die Bestimmung der Gesamtsterine nach der Methode von E. Homberg und A. Seher (4). In einem anderen Teil wurden die Gesamtsterine dünnschichtchromatographisch nach der Methode von E. Homberg und A. Seher (5) isoliert.

Bestimmung der Gesamtsterine—Zur Isolierung der Gesamtsterine aus dem Unverseifbaren diente die chromatographische Methode von E. Homberg und A. Seher (4).

Bestimmung der Sterine—Die Gesamtsterine wurden gaschromatographisch qualitativ und quantitativ analysiert. Zur Trennung diente die Ganzglasversion der Fraktometer F 11 order F 20 mit 3.5 m langen Glassäulen und 3 mm innerem Durchmesser, gefüllt mit 3% OV-17 auf Supelcoport, 100-120 mesh. Es wurde isotherm bei 265°C gearbeitet. Zur Identifizierung der Peaks standen authentische Präparate zur Verfügung, die auch zur Eichung des Gas-Chromatographen dienten.

Bestimmung des Chlorophyll-Gehaltes—Die Bestimmung des Chlorophyll-Gehaltes der einzelnen Extrakte erfolgte spektrolphotometrisch nach dem von R.C. Stillman (6) entwickelten Verfahren, das von der American Oil Chemists' Society als Methode Cc 13d-55 vereinheitlicht

Tabelle 2. Steringehalte in den Lipiden ans der stufenweisen Extraktion

Lösungsmittel	Lipid-Ausbeute (% d. Saat)	Unverseifbares (% d. Lipide	Gesamtsterine (% d. Extraktes	Gesamtsterine (% d. Saat)	Phosphatide (%d. Extraktes)	Ausbeute an extrahierbaren phosphatiden (%)
Techn. III Hexau III	40.2	1.52	0.67	0.27	0 .62	22.2
Chloroform	1.3	4.61	0.46	0.006	57.53	65.2
Äthanol	5.7	1.21	—	—	2.53	12.6

worden ist.

Bestimmung der Autoxydationsbereitschaft- Zur Bestimmung diente das von St. A. Ivanov u.a.(7) erprobte Verfahren.

Ergebnisse und Diskussion

Gehalte an Unverseifbarem und an Sterinen in den verschiedenen Extrakten—Die stufenweise Extraktion zeigte im Vergleich zwischen Sterin- und Phosphatid-Ausbeute (1) völlig unterschiedliche Ergebnisse (Tabellen 2).

Wurden wie bereits publiziert, die Phospholipide in überwidgendem Maβe mit Chloroform extrahiert, so lösen sich die Sterine hauptsächlich in Hexan. In Chloroform fand man nur noch einen geringen Teil, in Äthanol waren sie bereits nicht mehr nachweisbar.

Vergleicht man die Ausbeute an Gesamtsterinen in den Ölen, die durch Extraktion nach TWISSELMANN, nach SOXHLET oder dem quasi technischen Verfahren erhalten wurden, so ergeben sich die Zehlenwerte der Tabelle 3.

Während bei den Phosphatiden eine starke Abhängigkeit der Ausbeute von der Extraktionsmethode und dem benutzten Lösungsmittel festgestellt wurde, waren die Ausbeuten an Sterinen in allen Fällen ungefähr gleich.

Untersuchung der Zusammensetzung der Gesamtsterine—wie bei der Analyse anderer Rapssaaten enthalten die untersuchten Sterin-Gemische 1-2% noch nicht identifizierter Δ_7-Sterine und die in Tabelle 4 aufgeführten Mengen an Brassica-, Campe-und Sitosterin.

Beim Vergleich der prozentualen Zusammensetzung der einzelnen Sterine im Gesamtsteringemisch konnten keine Unterschiede bei den verschiedenen Extraktionsmethoden festgestellt werden.

Nur die verschiedenen Lösungsmittel zeigten einen gewissen Einfluβ auf die Sterine. Verhielten sich die Ausbeuten bei Pentan und Heptan gleich, so konnten bei den drei techn. Hexanen Unterschiede festgestellt werden. Bei den Hexanen I and II ist ein höherer Anteil an cyclischen Kohlenwasserstoffen vorhanden. In den damit gewonnenen Extrakten war der Brassicasterin-Gehalt wenig erhöht. Das techn. Hexan III mit dem hohen Gehalt an n-Hexan verhält sich wie Pentan und Heptan für die Sterin-Extraktion.

Chlorophyllgehalte in den extrahierten Rapsölen-

Tabelle 3. Gehalte an Unverseifbarem und Gesamtsterinen

Methode	Lösungsmittel	Unverseifbares	Gesamtsterine
Twisselmann	Pentan	1.22	0.64
	Techn. Hexan I	1.38	0.65
	Techn. Hexan II	1.41	0.66
	Techn. Hexan III	1.36	0.64
	Heptan	1.68	0.68
Soxhlet	Pentan	1.12	0.66
	Techn. Hexan I	1.12	0.64
	Techn. Hexan II	1.14	0.65
	Techn. Hexan III	1.09	0.64
	Heptan	1.53	0.68
Quasi techn.	Techn. Hexan I	0.98	0.62
	Techn. Hexan II	1.12	0.63
	Techn. Hexan III	1.00	0.64

Tabelle 4. Prozentuale Zusammensetzung der Sterin-Gemische aus den verschiedeneu Extrakten

Methode	Lösungsmittel	Brassica-sterin	Campe-sterin	Sito-sterin
	Pentan	9.7	33.7	56.6
	Techn. Hexan I	11.2	34.8	54.0
Twisselmann	Techn. Hexan II	10.6	33.1	56.3
	Techn. Hexan III	8.5	32.7	58.8
	Heptan	9.8	32.5	57.7
	Pentan	9.7	33.1	57.1
	Techn. Hexan I	11.3	33.3	55.3
Soxhelt	Techn. Hexan II	10.8	33.3	55.8
	Techn. Hexan III	8.5	32.9	58.7
	Heptan	9.4	33.7	56.9
	Techn. Hexan I	10.3	33.0	56.7
Quasi techn.	Techn. Hexan II	10.3	33.3	56.4
	Techn. Hexan III	9,5	33.3	57.2

Verschiedene Lipochrome verleihen den natürlichen Fetten und Ölen arteigene Farben; dabei finden sich am häufigsten Chlorophyll, Xanthophyll, α-und β-Carotin und einige andere Farbstoffe. Neben diesen werden vornehmlich in rohem Öl auch solche Farbstoffe gefunden, die durch die Veränderung von Fett und seiner Begleitstoffe entstehen. Da ein Zuviel an Farbstoffen in Öl meistens unerwünscht ist, wird eine mehr oder weniger weitgehende bleichung notwendig. Sie kann mit Bleicherde durchgeführt werden. Ausserdem wird die Färbung bei der Gewinnung der Öle durch veränderte Verfahrenstechnik beeinfluβ[150].

Da die extrahierten Öle eine intensiv grünliche Farbe besaβen, wurde der Chlorophyllgehalt bestimmt. Die Messung erfolgte nach Stillman (6) spektralphotometrisch bei den Wellenlangen 630, 670 und 710 nm. Die Ergebnisse für die verschieden extrahierten Öle sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Eine Analyse der Ergebnisse dieses Versuches zeigt, daβ die extrahierte Chlorophyllmenge mit steigendem Molekulargewicht des Lösungsmittels grosser wird.

Da ein Unterschied zwischen der TWISSELMANN-und SOXHLET-Extraktion nicht festgestellt werden konnte, scheint die Extraktionstemperatur keinen Einfluβ auf die Ausbeute zu besitzen. Der geringe Chlorophyll-Gehalt bei der technischen Extraktion weist auf die Bedeutung der Reaktionsdauer bei der Chlorophyll-Isolierung hin. Die Beobachtung stimmt mit Resultaten von H.P. Kaufman und H.O. vom Orde (8) uberein.

Einfluβ der Extraktionsmethode und des Lösungsmittels auf die Autoxydationsbereitschaft der Öle- Erfahrungsgemäβ sind in Samen, die Öle in groβerer Menge speichern auch Substanzen enthalten, die diese Öle vor Autoxydation schützen konnen. Zu diesen Schutzstoffen gehören die Tocopherole, aber auch spezifische Stoffe, wie das Sesamöl des Sesamum indicus. In anderen Ölpflanzen wurden Polyphenole entdeckt (9). Die entsprechenden Substanzen in Rapssamen sind noch unbekannt.

Jedoch unterliegen Triglyceride, vorwiegend solche mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren einer Autoxydation, deren Geschwindigkeit von der Zahl der Doppelbindungen und deren Konfiguration abhängt. H. Pardun (10) ermittelt die relativen Autoxydationsgeschwindigkeiten für

Tabelle 5. Chlorophyll-Gehalte der Rapsöle

Extraktions-methode	Lösungamittel	Chlorophyll-Gehalt (mg/kg)
	Pentan	7.58
	Techn. Hexan I	20.85
Twisselmann	Techn. Hexan II	21.26
	Techn. Hexan III	22.64
	Heptan	33.66
	Pentan	7.44
	Techn. Hexan I	19.20
Soxhlet	Techn. Hexan II	18.26
	Techn. Hexan III	20.96
	Heptan	28.34
	Techn. Hexan I	4.95
Quasi techn.	Techn. Hexan II	5.66
	Techn. Hexan III	5.46

verschiedene Fettsäuren (9)

St.A. Ivanov (7) fand, daß die Folgereaktionen der Peroxide zu Produkten führen, die zu einer Erhöhung des Brechungsindex führen. Zur Prüfung der Beständigkeit der Öle gegen Autoxydation (Gehalt an natürlichen Antioxydantien) wurde nach der von St.A. Ivanov angegebenen relativ einfachen Methode gearbeitet:

1 g der Ölprobe wird im Trockenschrank in einem konischen Tiegel unter freiem Luftzutritt auf 110°C erhitzt. Man prüft in regelmäßigen Abständen mit einem entnommenen Tropfen der Probe den Brechungsindex. Auf diese Weise erhält man Brechungsindex/Zeit-Kurven, wie sie für die untersuchten Öle in Abb. 1 dargestellt sind.

Nach einer Periode, in der natürliche Antioxydantien den Eintritt der Reaktionen verhindern, durch die es zur Erhöhung des Brechungsindex kommt, steigt letzterer mit zunehmender Geschwindigkeit an. Als Ende der Induktionsperiode ist willkürlich der Zeitpunkt festgelegt, zu dem der Brechungsindex um 0.002 Einheiten gestiegen ist.

Wie aus Tabelle 6 zu ersehen ist, unterscheidet

Tabelle 6. Dauer der Induktionsperiode der verschiedenen Rapsöle

Methode	Lösungsmittel	Induktionsperiode (Stunden)
Twisselmann	(1) Pentan	29
	(2) Techn. Hexan I	32
	(3) Techn. Hexan II	31
	(4) Techn. Hexan III	33
	(5) Heptan	35
Soxhlet	(1) Pentan	25
	(2) Techn. Hexan I	27
	(3) Techn. Hexan II	26
	(4) Techn. Hexan III	28
	(5) Heptan	29
Quasi techn.	(1) Techn. Hexan I	21
	(2) Techn. Hexan II	21
	(3) Techn. Hexan III	20

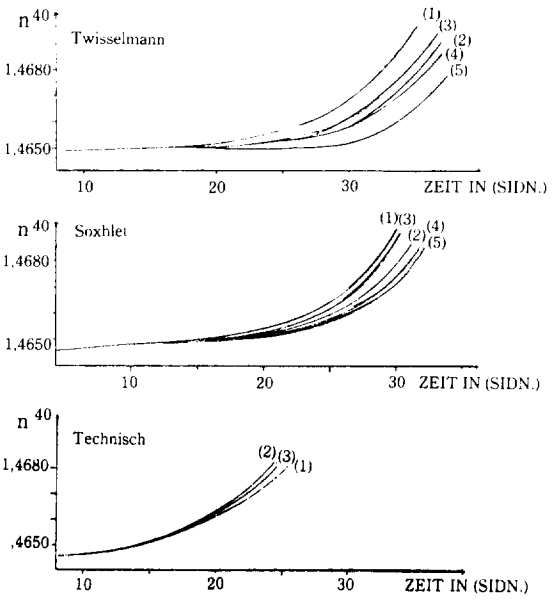

Fig. Autoxydationskurven der verschiedenen Rapsöle

sich die Autoxydationsneigung der nach verschiedenen Verfahren gewonnenen Öle. Die höchste Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff findet man bei den nach dem quasi technischen Verfahren unvollständig extrahierten Ölen. Eine höhere-nur geringfügig von den Lösungsmitteln abhängige-Stabilität zeigte sich bei der Soxhlet-Extraktion. Die größte Beständigkeit wiesen die nach dem Twisselmann-Verfahren extrahierten Öle auf.

Mit dem Ansteigen der Siedetemperatur des Lösungsmittels war jeweils eine weitere Stabilitätserhöhung verbunden.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Phosphatid-Gehalten der ebenso gewonnenen Öle, so zeigt sich eine deutliche Übereinstimmung. Dieses Ergebnis entspricht den früher gemachten Beobachtungen [11-14] da β Phospholipide als Synergisten der Antioxydantien die Beständigkeit von Ölen gegen Autoxydation erhöhen.

Die in den beschriebenen Untersuchungen ermittelte Dauer der jeweiligen Induktionsperiode ist in Tabelle 6 zusammengestellt.

국문요약

추출방법과 용매가 조 채종유중의 수종 미량성분과 그 자동산화성에 미치는 영향에 관해 검토하였다. 불검화물과 Sterol 함량은 추출방법(Twisselmaun과 Soxhlet)과 사용한 용매의 종류(Pentan, Hexan, Heptan) 종류에 따라 변화되지 않았으며 Chlorophyll 함량은 추출용매의 분자량의 증가에 따라 증가되고 사용된 추출법 상호간에는 Chlorophyll 수율에 유의한 영향을 미치지 않았다. 채종유가 자동산화되는 경향은 추출용매의 비점이 상승함에 따라 증가되는 것으로 관찰되었다.

LITERATURE CITED

1. Seher, A. and Moon, C.K.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **167.** 82 (1978).
2. Ansell, G.B. and Hawthorne, J.N.: Phospholipids, Elsevier Publishing Comp., Amsterdam, London, New York, 1964, S. 147.
3. Deutsche Einhcitsmcthode zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten und verwandten Stoffen B-15a. Stuttgart: Wiss. Verlags GmbH 1967 Verordnung EWG Nr 282/67 vom 11. 7. 1967.
4. Homberg, E and Seher, A.: *Z. Lebensmittel-Unters. Forsch.* **149.** 129 (1972).
5. Homberg, E and Seher, A: *Z. Lebensmittel-Unters. Forsch.* **148.** 133 (1972).
6. Stillman, R.C.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **31,** 469 (1954).
7. St. Ivanov, A., Popov, A. and Bliznakova, L.: *C.r.Acad. Bulg. Sci.* **23,** 1231 (1970).
8. Kaufmann, H.P. and vom Orde, H.O.: *Fette, Selfen, Anstrichmittel* **51,** 399 (1955).
9. Roncero, A. Vasques, unveroffentlichte Versuche.
10. Pardun, H.: *Fette, Seifen, Anstrichmittel,* im Druck (1973).
11. Bollmann, H.: D.R.P. 485 676 (1926).
12. Hendrey, W.B.: A.P. 2 212 020 (1940).
13. Oosterhout, J.C.D.: A.P. 2 155 678 (1939).
14. Quimby, W.S.: A.P. 2 222 487 (1940).