

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Maša JELUŠIČ

**VSEBNOST FENOLOV V PLODOVIH NAVADNE  
EVROPSKE LESKE  
(*Corylus avellana* L.)**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Maša JELUŠIČ

**VSEBNOST FENOLOV V PLODOVIH NAVADNE EVROPSKE  
LESKE  
(*Corylus avellana* L.)**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**PHENOLIC CONTENT IN HAZELNUT  
(*Corylus avellana* L.) FRUITS**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija agronomije. Analiza vzorcev in statistična obdelava rezultatov sta bili opravljene na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Oddelka za agronomijo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je dne 1.6.2009 za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Francija ŠTAMPARJA in za somentorja doc. dr. Roberta VEBERIČA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Katja VADNAL  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franci ŠTAMPAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Robert VEBERIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dominik VODNIK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Maša Jelušič

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD** Dn
- DK** UDK 634.54:547.56(043.2)
- KG** Sadjarstvo/leska/*Corylus avellana*/kemična sestava/fenoli
- KK** AGRIS F60
- AV** JELUŠIČ, Maša
- SA** ŠTAMPAR, Franci (mentor)/VEBERIČ, Robert (somentor)
- KZ** SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 1001
- ZA** Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI** 2009
- IN** VSEBNOST FENOLOV V PLODOVIH NAVADNE EVROPSKE LESKE  
(*Corylus avellana* L.)
- TD** Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP** X, 39,[6] str., 4 pregl., 9 sl., 15 pril., 45 vir.
- IJ** sl
- JI** sl/en
- AI** Analizirali smo vsebnost fenolov v različno obdelanih lešnikih (neobdelani lešniki, lešniki z odstranjeno zunanjo kožico-testo in praženi lešniki) različnih sort leske: 'Merveille de bollwiller', 'Tonda gentile romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda gentile delle langhe', 'Tonda di giffoni', 'Barcelona' in 'Istrska dolgoplodna leska'. Za meritve posameznih fenolnih spojin (galna kislina, elagna kislina, epikatehin, katehin, kvercetin-3-ramnozid, miricetin-3-ramnozid in miricetin-heksozid-2) smo uporabili tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). S spektrofotometrom smo merili vsebnosti skupnih fenolov ter antioksidativni potencial. Vsebnost skupnih fenolov je največja pri neobdelanih lešnikih (96.13 mg/kg), sledijo lešniki brez teste (66.18 mg/kg) in praženi plodovi (49.86 mg/kg). Antioksidativni potencial neobdelanih lešnikov je največji in znaša 16.65 mg AC/100 g. Med antioksidativnim potencialom lešnikov brez teste (8.42 mg AC/100 g) in praženih lešnikov (9.16 mg AC/100 g) ni značilnih razlik. Posamezne fenolne spojine so v večjih količinah v neobdelanih plodovih, z izjemo galne kisline, ki jo je največ v praženih lešnikih. Med sortami smo pri vseh merjenih substancah opazili manjše razlike.

### KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN** Dn
- DC** UDC 634.54:547.56(043.2)
- CX** Fruit growing/hazelnut/*Corylus avellana*/chemical composition/phenols
- CC** AGRIS F60
- AU** JELUŠIČ, Maša
- AA** ŠTAMPAR, Franci (supervisor)/VEBERIČ, Robert (co-supervisor)
- PP** SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB** University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY** 2009
- TI** PHENOLIC CONTENT IN HAZELNUT (*Corylus avellana* L.) FRUITS
- DT** Graduation thesis (university studies)
- NO** X, 39,[6] str., 4 pregl., 9 sl., 15 pril., 45 vir.
- LA** sl
- AL** sl/en
- AB** Differently processed hazelnuts (intact nuts, nuts without pellicle and roasted nuts) of different cultivars were analyzed for the content of phenolic compounds. Cultivars were: 'Merveille de bollwiller', 'Tonda gentile romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda gentile delle langhe', 'Tonda di giffoni', 'Barcelona' and 'Istrska dolgoplodna leska'. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to analyze different phenolic compounds (gallic acid, ellagic acid, catechin, epicatechin, quercetin-3-ramnozide, myricitin-3-ramnozide, and myricitin-hexoside-2) and spectrophotometry was applied to assess total phenolic content (TPC) and antioxidant activity (AA) of hazelnuts. The highest TPC was found in intact nuts (96.13 mg/kg), followed by nuts without pellicle (66.18 mg/kg) and roasted nuts (49.86 mg/kg). AA of intact nuts is the highest – 16.65 mg AC/100 g. There were no significant differences in AA between nuts without pellicle (8.42 mg AC/100 g) and roasted nuts (9.16 mg AC/100 g). In general intact nuts contained the highest amounts of almost all phenolic compounds except for gallic acid, which reached the highest values in roasted nuts. Little differences were found between cultivars, except in flavonols.

## KAZALO VSEBINE

	Str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentatiton	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	IX
Okrajšave in simboli	X
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 VZROK ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 NAMEN RAZISKAVE	1
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>2</b>
2.1 NAVADNA ALI EVROPSKA LESKA	2
2.2 PLOD LESKE – LEŠNIK	3
<b>2.2.1 Kemična sestava lešnika</b>	<b>3</b>
<b>2.2.2 Praženi lešniki</b>	<b>4</b>
2.3 FENOLI - SEKUNDARNI METABOLITI	4
<b>2.3.1 Biosinteza fenolov</b>	<b>6</b>
<b>2.3.2 Fenoli kot antioksidanti</b>	<b>6</b>
2.4 FENOLNE SPOJINE V LEŠNIKU	7
3 MATERIALI IN METODE	9
3.1 RASTLINSKI MATERIAL	9
<b>3.1.1 'Merveille de bollwiller'</b>	<b>9</b>
<b>3.1.2 'Tonda gentile romana'</b>	<b>9</b>
<b>3.1.3 'Pauetet'</b>	<b>9</b>
<b>3.1.4 'Negret'</b>	<b>10</b>
<b>3.1.5 'Tonda gentile delle langhe'</b>	<b>10</b>
<b>3.1.6 'Tonda di giffoni'</b>	<b>10</b>
<b>3.1.7 'Barcelona'</b>	<b>10</b>
<b>3.1.8 'Istrska dolgoplodna leska'</b>	<b>10</b>
3.2 METODE DELA	11
<b>3.2.1 Priprava vzorcev</b>	<b>11</b>
<b>3.2.2 Analiza s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločiljivosti (HPLC)</b>	<b>11</b>
<b>3.2.3 Meritev skupnih fenolov</b>	<b>12</b>

<b>3.2.4</b>	<b>Meritev antioksidativnega potenciala</b>	13
<b>3.2.5</b>	<b>Statistična analiza</b>	13
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	14
4.1	VSEBNOST FENOLOV	14
4.1.1	Galna kislina	14
4.1.2	Elagna kislina	15
4.1.3	Katehin	17
4.1.4	Epikatehin	18
4.1.5	Kvercetin-3-ramnozid	20
4.1.6	Miricetin-heksozid-2	21
4.1.7	Miricetin-3-ramnozid	22
4.1.8	Skupni fenoli	24
4.2	ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL	25
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	27
5.1	RAZPRAVA	26
5.2	SKLEPI	31
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	34
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	36
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997, Robards, 1999).	5
Preglednica 2: Vsebnost kvercetin-3-ramnozida v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Navedena so povprečja $\pm$ SN, N=3.	20
Preglednica 3: Vsebnost miricetin-heksozida-2 v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Navedena so povprečja $\pm$ SN, N=3.	22
Preglednica 4: Vsebnost miricetin-3-ramnozida v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Navedena so povprečja $\pm$ SN, N=3.	23



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Vsebnost galne kisline (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	15
Slika 2: Vsebnost elagne kisline (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	16
Slika 3: Vsebnost katehina (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	18
Slika 4: Vsebnost epikatehina (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	19
Slika 5: Vsebnost kvercetin-3-ramnozida (mg/kg) v neobdelnih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Prikazana so povprečja $\pm$ SN, N=3.	21
Slika 6: Vsebnost miricetin-heksozida-2 (mg/kg) v neobdelnih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Prikazana so povprečja $\pm$ SN, N=3.	22
Slika 7: Vsebnost miricetin-3-ramnozida (mg/kg) v neobdelnih plodovih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.). Prikazana so povprečja $\pm$ SN, N=3.	23
Slika 8: Vsebnost TPC (mg GAE/kg) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN.	24
Slika 9: Antioksidativni potencial (mg AC/100 g) v lešnikih proučevanih sort leske ( <i>Corylus avellana</i> L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja $\pm$ SN .	26

## KAZALO PRILOG

- Priloga A1: Vsebnost galne kisline (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga A2: Vsebnost elagne kisline (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga A3: Vsebnost katehina (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga A4: Vsebnost epikatehina (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga A5: Vsebnost TPC (mg GAE/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga A6: Antioksidativni potencial (mg AC/100 g) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov
- Priloga B1: Povprečna vsebnost galne kisline (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B2: Povprečna vsebnost elagne kisline (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B3: Povprečna vsebnost katehina (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B4: Povprečna vsebnost epikatehina (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B5: Povprečna vsebnost kvercetin-3-ramnozida (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B6: Povprečna vsebnost miricetin-heksozida-2 (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B7: Povprečna vsebnost miricetin-3-ramnozida (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B8: Povprečna vsebnost TPC (mg GAE/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja
- Priloga B9: Povprečni antioksidativni potencial (mg AC/100 g) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Okrajšava	Pomen
AC	askorbinska kislina
CE	izraženo v ekvivalentih katehina
GAE	izraženo v ekvivalentih galne kisline
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti; High Performance Liquid Chromatography
'Istrska leska'	'Istrska dolgoplodna leska'
'Merveille'	'Merveille de bolwiller'
ns	nesignifikantno
SN	standardna napaka
Sod.	sodelavci
TPC	skupni fenoli; total phenolic content
'Tonda romana'	'Tonda gentile romana'
'Tonda langhe'	'Tonda gentile delle langhe'
UV	ultravijolič-na, -en, -no

## 1 UVOD

### 1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Lešnike uvrščamo med t.i. funkcionalna živila, ki telo oskrbujejo ne le s potrebnimi hranili, ampak zagotavljajo tudi zdravilne učinke (Solar, 2005), za katere so zaslužni tudi antioksidativni fenoli. Večina fenolnih substanc, ki jih plod leske vsebuje, se nahaja v kožici ploda oziroma testi (Arcan in Yemenicioğlu, 2009). Pri praženju lešnikov testa odpade, poleg tega pa se zaradi toplotne obdelave (praženja), dodatno spremeni kemijska sestava plodov (Alasalvar in sod., 2003b). Vsebnost skupnih fenolov in antioksidativni potencial se zaradi različnih obdelav lešnikov spreminjata.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da se neobdelani lešniki, lešniki z odstranjeno kožico-testo in praženi lešniki, razlikujejo v vsebnosti posameznih in skupnih fenolov ter po antioksidativnem potencialu. Najmanjše vsebnosti fenolov in najmanjše vrednosti antioksidativnega potenciala pričakujemo v praženih lešnikih in največje v neobdelanih lešnikih.

Predvidevamo tudi razlike med analiziranimi sortami v vsebnosti skupnih in posameznih fenolov ter v vrednostih antioksidativnega potenciala.

### 1.3 NAMEN RAZISKAVE

Naš namen je preveriti, koliko fenolnih snovi se izgubi oz. pridobi pri praženju lešnikov in odstranitvi teste v primerjavi z neobdelanimi lešniki ter ugotoviti razlike med posameznimi sortami ('Merveille de bollwiller', 'Tonda gentile romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda gentile delle langhe', 'Tonda di giffoni', 'Barcelona' in 'Istrska dolgoplodna leska').

Zanima nas, kako se spreminja antioksidativni potencial lešnikov glede na različno obdelavo in sorto.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 NAVADNA ALI EVROPSKA LESKA (*Corylus avellana* L.)

Rod *Corylus*, ki ga uvrščamo v družino leskovk (*Corylaceae*), je razširjen po vsem svetu. Za pridelavo lešnikov je daleč najpomembnejša navadna evropska leska (*Corylus avellana* L.) in njeni hibridi (Oliveira in sod., 2007).

Navadna leska je grm, ki je visok 4-6 m, dobro obraščen in razvejan. Leska dobro uspeva na srednje težkih, peščeno ilovnatih tleh, ki imajo rahlo kislo do rahlo alkalno reakcijo. Glavnino korenin razvije na globini 50-60 centimetrov, zato slabo prenaša revna in plitva tla. Leska zahteva minimalno 800 mm padavin letno, največ vlage pa potrebuje od oploditve do konca intenzivne rasti plodov in jedrc (od junija do avgusta) (Štampar in sod., 2005).

Leska je enodomna rastlina z ženskimi in moškimi cvetovi nameščenimi na eni rastlini. Cvetovi največkrat ne cvetijo istočasno, zato zelo redko pride do samooprašitve. Leska cveti pred olistanjem, običajno v obdobju od februarja do marca, ko tudi pride do oprašitve. Približno štiri mesece kasneje, pri nas običajno konec junija, pride do oploditve. Takrat šele začno jedrca intenzivno rasti in se razvijati (Štampar in sod., 2005). Lešniki pri nas zorijo od konca avgusta do konca septembra (Solar, 2008).

Sorte lesk glede rabe plodov delimo v sorte za namizno rabo in industrijske sorte, namenjene slaščičarski industriji. Namizne sorte morajo imeti velike in privlačne plodove s tanko lahko drobljivo lupino. Pri industrijskih sortah pa so zaželeni majhni okrogli plodovi, pri katerih pokožica (testa) jedrc s praženjem v celoti odstopi. Pomembna pa je tudi aromatičnost jedrc, ki se izrazi ob praženju (Štampar in sod., 2005).

Največja svetovna proizvajalka lešnikov je Turčija, saj k svetovni produkciji prispeva kar 74 % delež. Sledijo ji Italija s 16 %, ZDA s 4 %, in Španija s 3 % deležem (Turkish Hazelnut Exporter's Union, 2008; cit. po Alasalvar in sod., 2009a).

## 2.2 PLOD LESKE - LEŠNIK

Plod leske - lešnik uvrščamo med oreške. Njegov užitni del, seme ali jedrce, je obdan s perispermom (semenska ovojnica, kožica ali testa) in še dodatno zaščiten z lignificiranim perikarpom (luščina). Do junija, ko pride do oploditve in se jedrce šele začne razvijati, doseže perikarp (luščina) že 9/10 svoje končne velikosti in oleseni - lignificira. Zrel lešnik ima običajno eno jedrce v eni luščini, nameščeni v zeleno ovojnico. Seme oz. jedrce se sprosti šele, ko lešnik oluščimo (ko perikarp razpade). Užitno je skupaj s semensko ovojnico oz. testo, ki se jedrca močno drži, a z lahkoto odpade pri praženju (Solar, 2008).

### 2.2.1 Kemična sestava lešnika

Lešnik ima pomembno vlogo pri zdravi prehrani ljudi zaradi svoje edinstvene sestave maščob, proteinov, ogljikovih hidratov, vlaknin, vitaminov, mineralov, fitosterolov in fenolov, ki delujejo kot antioksidanti (Alasalvar in sod., 2003a, 2006a). Na kemično sestavo lešnika in s tem tudi na vsebnost fenolnih spojin vpliva veliko dejavnikov: čas obiranja, načini sušenja, geografski izvor, okoljski faktorji, skladiščenje in sorta (Cristofori in sod., 2008; Savage in McNeil 1998; Oliviera in sod., 2008; Amaral in sod., 2006; Koksal in sod., 2006).

Največji delež snovi v lešniku predstavljajo maščobe (56,3 % - 61,6 %), zaradi česar je lešnik tudi odličen vir energije (2717 - 2834 J/100 g). Med maščobnimi kislinami prevladujejo oleinska kislina ( $\approx 81$  %), linolna kislina, palmitinska in stearinska kislina (Oliveira in sod., 2008).

Plodovi leske vsebujejo 17,3 % ogljikovih hidratov in so tudi dober vir proteinov (15,4 %) (Alasalvar in sod., 2003a). Alasalvar in sod. (2009a) so v lešnikih ugotovili dvanajst različnih mineralov, med katerimi so prevladovali kalij, fosfor, kalcij in magnezij, poleg teh pa lešniki vsebujejo še krom, baker, železo, mangan, molibden, selen, cink in natrij.

Vitamin E (24 mg/100 g) je prevladujoči vitamin v lešnikih, ki vsebujejo še vitamin C (5,54 mg/100 g), niacin (1,94 mg/g), B6 (0,63 mg/100 g), B1 (0,42 mg/100 g), B9 (0,12 mg/100 g), B2 (0,1 mg/100 g) in biotin (0,08 mg/100 g) (Alasalvar in sod., 2003a).

Vsebnost skupnih fenolov v ekvivalentih galne kisline znaša 101 mg/100 g - 433 mg/100 g (Kornsteiner in sod., 2006).

## 2.2.2 Praženi lešniki

Toplotna obdelava lešnikov pri procesu praženja vodi do sprememb v kemični sestavi lešnika (aminokisliline, maščobne kisline, ogljikovi hidrati) (Özdemir in sod., 2001).

Alasalvar in sod. (2003b) so primerjali pražene in naravne lešnike glede vsebnosti hlapljivih spojin in v naravnih lešnikih zasledili 39 spojin, v praženih pa kar 71 različnih hlapnih substanc, od katerih nekatere prispevajo k prepoznavnem okusu praženega lešnika.

Preučevanje sprememb, ki nastanejo s praženjem plodov, je pomembno, saj je okoli 90 % svetovne proizvodnje lešnikov namenjenih predelavi (Cristofori in sod., 2008) (slaščice, čokolade, sladoled, ekstrakti itd.). Glavna obdelava lešnikov pa je ravno praženje, pri katerem se spremenijo okus, tekstura, barva in zgled lešnika (Özdemir in sod., 2001). Praženi lešniki se hitreje pokvarijo, imajo intenzivnejši okus, vlaga se jim zmanjša za 1,5-3 %, testa odpade in plodovi potemnejo. Vse pa je odvisno od razmer praženja, predvsem od časa in temperature (The hazelnut..., 2009).

## 2.3 FENOLI - SEKUNDARNI METABOLITI

Sekundarni metaboliti nimajo neposredne vloge pri rasti, razvoju ali razmnoževanju rastlin. Veliko let je bila vloga teh spojin neznana in prevladovalo je prepričanje, da spojine preprosto nimajo nobenih funkcij oz. da so le odpadki presnove rastline. Danes vemo, da imajo sekundarni metaboliti pomembne ekološke funkcije, saj varujejo rastline pred patogeni, rastlinojedi in drugimi rastlinami, privabljajo opraševalce, ščitijo pred ultravijolično svetlobo, ipd. (Taiz in Zeiger, 2006). Značilno za sekundarne metabolite je tudi to, da so vrstno specifični, kar pomeni, da določeno spojino pogosto najdemo le v eni rastlinski vrsti oz. v njenem ožjem sorodstvu (npr. juglon v orehu). Sekundarne metabolite razdelimo v tri večje skupine: terpeni, fenoli in dušik vsebujoče spojine.

Fenolne spojine so kemijsko zelo raznolika skupina, ki vsebuje preko 10.000 različnih individualnih spojin, ki izvirajo iz različnih presnovnih poti (Taiz in Zeiger, 2006). Rastlinski fenoli so sekundarni metaboliti, katerih struktura vsebuje aromatski obroč, na katerega je pripeta hidroksilna funkcionalna skupina (-OH) oz. spojine, ki izvirajo iz šikimske poti in fenilpropanoidnega metabolizma (Robards in sod., 1999). Najpreglednejša razdelitev fenolnih spojin je razdelitev po številu C-atomov (Robards in sod., 1999; Abram in Simčič 1997) (preglednica 1).

Enostavni fenoli v rastlinah niso razširjeni, medtem ko fenolne kisline (galna, elagna, vanilinska) in fenilacetne kisline (p-kumarna, kavna) najdemo skoraj v vseh višjih rastlinah.

Najbolj razširjena skupina fenolnih spojin so flavonoidi (Robards in sod., 1999). Razdelimo jih na flavone (apigenin, lutelin), flavonole (miricetin, kvercetin), flavan-3-ole (katehin, epikatehin), flavanone (naringenin), dihidroflavonole (taksifolin), antocianidine (pelargonidin), izoflavone (genistein), kalkone (butein) itd. (Abram in Simčič, 1997).

Preglednica 1: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram in Simčič, 1997, Robards, 1999)

Število C-atomov	Osnovni skelet	Skupina
6	C <sub>6</sub>	enostavni fenoli
7	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub>	hidroksibenzojske kisline
8	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub>	fenilacetne kisline
9	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub>	hidroksicimetne kisline fenilpropeni kumarini izokumarini kromoni
10	C <sub>6</sub> C <sub>4</sub>	naftokinoni
13	C <sub>6</sub> C <sub>1</sub> C <sub>6</sub>	ksantoni
14	C <sub>6</sub> C <sub>2</sub> C <sub>6</sub>	stilbeni antrakinoni
15	C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub>	flavonoidi
18	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lignani neolignani
30	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	biflavonoidi
n	(C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> (C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	lignini melanini kondenzirani tanini (flavolani)



### 2.3.1 Biosinteza fenolov

Rastlinski fenoli nastajajo iz fenilalanina oz. iz njegovega prekursorja šikimske kisline. Enostavni ogljikovi hidrati iz glikolize in pentoze fosfatne poti se pretvorijo v aromatične aminokisline in se preko šikimske kisline, po kateri je pot dobila svoje ime, sintetizirajo v različne fenole. Največ fenolnih spojin nastane s pomočjo encima fenilalanin amonij liaze, ki katalizira reakcijo odcepitev molekule amonija od fenilalanina. Nastane trans-cimetna kislina in reakcije, ki sledijo (adicije hidroksilnih skupin in drugih substituentov), vodijo do nastanka cimetne kisline in kumarne kisline ter njunih derivatov, ki se imenujejo fenilpropanoidi. Le ti so glavni gradniki bolj kompleksnih fenolnih spojin, kot so kalkoni, flavanoni, dihidroflavonoli, antociani, kondenzirani tanini itd. (Taiz in Zeiger, 2006).

Biosinteza flavonoidov se od opisane razlikuje v tem, da se del flavonoida sintetizira po malonilski poti iz acetil CoA (Abram in Simčič, 1997).

### 2.3.2 Fenoli kot antioksidanti

Antioksidanti so spojine, ki varujejo biološke sisteme pred poškodbami, ki jih povzročajo prosti radikali (Krinsky, 1989 cit. po Wechtersbach, 2005). Prosti radikali so atomi, molekule ali ioni, z vsaj enim elektronom brez para in so proizvod normalne celične presnove ter posledica dejavnikov okolja. Prosti radikali zelo hitro reagirajo z drugimi spojinami tako, da jim odvzamejo elektron, ki ga potrebujejo za svojo stabilnost. Ko določeni spojini, ki ni prosti radikal, odvzamejo elektron, ta sama postane prosti radikal, kar sproži verižno reakcijo. Fenoli prekinejo to verižno reakcijo s tem, ko postanejo donorji vodika prostim radikalom. Ob tem se sicer oksidirajo, vendar ne vstopajo naprej v verižno reakcijo, ker so stabilni v obeh oblikah (Wechtersbach, 2005). Antioksidativna aktivnost fenolov je torej osnovana na zmožnosti doniranja vodikovih atomov prostim radikalom (Oliviera in sod., 2008).

Fenolne spojine ščitijo oreščke pred oksidacijo občutljivih kemičnih struktur, ki se izoblikujejo med peroksidacijo maščob in tako preprečujejo žarkost jedrc (Macheix in sod., 1990).

Poleg tega pa fenoli ščitijo tudi naše zdravje. Dandanes je veliko dokazov, da antioksidanti v sadju in zelenjavi preprečujejo bolezni in vzdržujejo zdravje; številni jim tako pripisujejo preprečevanja raka, ateroskleroze in diabetesa (Alasalvar in sod., 2009b; Fukuda in sod., 2003).

## 2.4 FENOLNE SPOJINE V LEŠNIKU

Lešnik je v primerjavi z ostalimi oreški odličen vir skupnih fenolov, flavonoidov, kondenziranih taninov in antioksidativne aktivnosti. Ne le plod, tudi ostali deli leske vsebujejo fenolne spojine in imajo antioksidativne učinke.

Ugotovili so, da imajo listi leske, zelena ovojnica in trda luščina celo močnejše antioksidativne učinke kot plodovi in predstavljajo tako velik vir naravnih antioksidantov z vsemi potenciali za uporabo v živilski industriji (Alasalvar in sod., 2006b).

Alasalvar in sod. (2006b) so analizirali fenolne spojine in antioksidativni potencial v zeleni ovojnici lešnika in v plodu. Vsebnost skupnih fenolov, antioksidativni potencial in koncentracije večine fenolnih kislin so bile večje v zeleni ovojnici kot v plodu ne glede na ekstrakcijsko sredstvo, ki so ga uporabili (aceton, etanol).

Shahidi in sod. (2007) so analizirali skupne fenole v lešniku in ostalih delih leske. Vrednosti so izkazale naslednji vrstni red: testa lešnika > luščina > listi > zelena ovojnica > lešnik (skupaj s testo). Največjo vsebnost skupnih fenolov so tako izmerili v testi lešnika (577,7 mg CE/g) in najmanjšo vrednost 13,7 mg CE/g v plodu. Podobno sta pri mandlju Siriwardhana in Shahidi (2002) odkrila veliko vsebnost skupnih fenolov v kožici - testi (87,8 mg/g, v ekvivalentih katehina) in manjšo vsebnost, 8,1 mg/g, v plodu (skupaj s kožico). Testa plodu je v obeh primerih bolj založena s skupnimi fenoli kot jedrce pod njo.

Fenolne kisline, pogosto analizirane v lešnikih, so: galna kislina, cimetna kislina, kavna kislina, p-kumarna kislina, ferulna in sinapinska kislina. Shaidi in sod. (2007) so v kožici lešnika ugotovili 387  $\mu\text{g/g}$  galne kisline, 231  $\mu\text{g/g}$  p-kumarne, 124  $\mu\text{g/g}$  ferulne in sinapinske kisline ter kavno kislino le v sledovih. V lešniku (skupaj s testo) so bile vse vrednosti, z izjemo kavne kisline (81  $\mu\text{g/g}$ ), manjše. Galne kisline je bilo 127  $\mu\text{g/g}$ , p-kumarne 208  $\mu\text{g/g}$ , ferulne 105  $\mu\text{g/g}$  in sinapinske 93  $\mu\text{g/g}$ . Enako kot pri skupnih fenolih se tudi fenolne kisline v večjih količinah nahajajo v testi kot pa v jedrcu, ki ga kožica obdaja.

Za primerjavo so Colarič in sod. (2005) analizirali fenolne kisline v orehovem jedrcu in v testi. Vseh analiziranih kislin (klorogenska, kavna, p-kumarna, ferulna, sinapinska, elagna in sinirginska kislina) je bilo več v testi oreha kot v samem jedrcu.

Rezultati skupnih in posameznih fenolov pa se lahko zelo razlikujejo glede na izbrano ekstrakcijo. Tako Alasalvar in sod. (2006b) poročajo o statistično značilni razliki med ekstrakcijo skupnih fenolov v lešnikih z 80 % acetonom (103 mg CE/g, ) in z 80 %

etanolom (23,2 mg CE/g.). Izločitev skupnih fenolov je pri ekstrakciji z acetonom več kot štirikrat večja.

Ocena vrednosti fenolnih kislin v lešnikih se prav tako razlikuje glede na sredstvo, s katerim smo jih ekstrahirali. Alasalvar in sod. (2006b) zopet poročajo o razlikah. Pri ekstrakciji zaestrenih oblik fenolnih kislin z acetonom so dobili večje vrednosti galne kisline (204  $\mu\text{g/g}$ ), p-kumarne (21  $\mu\text{g/g}$ ) in sinapinske (52  $\mu\text{g/g}$ ) kot pri ekstrakciji z etanolom, ko so izmerili 158  $\mu\text{g/g}$  galne kisline, 13  $\mu\text{g/g}$  p-kumarne kisline in 39  $\mu\text{g}$  sinapinske kisline. Kavne in ferulne kisline pa v plodovih leske niso ugotovili.

Raziskave o vsebnosti flavonoidov v oreških oz. lešnikih so redke. United states department of Agriculture (2009) je pred kratkim objavila nekatere podatke o vsebnosti le-teh v hrani, med drugim tudi v lešnikih. Od flavan-3-olov je izmerjena vrednost epikatehina v lešnikih 0,22 mg/100 g in katehina 1,19 mg/100 g. Med analiziranimi flavonoli sta bila kvercetin in miricetin, vendar pa ju v lešnikih niso ugotovili. Antocijan cianidin je z vrednostjo 6,71 mg/100 g tudi edini analizirani antocijan, katerega vsebnost v lešnikih je potrjena.

Ravno tako so redke raziskave o učinkih praženja na vsebnost fenolov v lešnikih oz. oreških. Yu in sod. (2005) so pri arašidih ugotovili povečanje skupnih fenolov v testi, odstranjeni s praženjem, v primerjavi s testo, ki so jo ročno odstranili, in s testo, ki so jo odstranili z blanširanjem v vreli vodi. Skupna vsebnost fenolov je bila pri ekstrakciji z 80 % etanolom v praženi kožici 125 mg/g, v direktno oluščeni kožici 89,9 mg/g in v kožici plodu, odstranjeni z blanširanjem, le 12,5 mg/g.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 RASTLINSKI MATERIAL

Za naše analize smo uporabili 8 sort, nabranih na kolekcijskem nasadu leske Biotehniške fakultete, Raziskovalno polje za lupinarje v Mariboru. Lešnike smo pobrali v tehnološki zrelosti in jih ročno oluščili. Sorte, katerih plodove smo uporabili za analizo, so: 'Merveille de bollwiller', 'Tonda gentile romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda gentile delle langhe', 'Tonda di giffoni', 'Istrska dolgoplodna leska' in 'Barcelona'.

##### 3.1.1 'Merveille de bollwiller'

'Merveille' je namizna sorta z velikimi plodovi, ki v premeru presegajo 20 mm. Lešniki so stožčaste oblike z debelejšo luščino in tanko testo. Sorta raste zelo bujno in pokončno. Cveti in brsti pozno. Občutljiva je na lešnikarja (*Curculio nucum* L.), a odporna proti brstni pršici (*Phytoptus avellanae* NALEPA) (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003). Najdemo jo tudi v sadnem izboru za Slovenijo 2007, uvrščeno na seznam A.

##### 3.1.2 'Tonda gentile romana'

'Tonda gentile romana' je stara italijanska sorta, ki je pretežno namenjena za slaščičarsko industrijo. Rodnost je dobra, rast srednje bujna in plodovi premera 14-18 mm. Cveti in brsti srednje pozno. Sorta je skoraj odporna proti leskovi brstni pršici in malo občutljiva na lešnikarja. Najdemo jo tako na vrtovih kot v intenzivnih nasadih v pasu kontinentalne klime (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003).

##### 3.1.3 'Pauetet'

Sorta je naravni sejanec španskega izvora, občutljiva na brstno pršico in srednje na lešnikarja. Cveti in brsti srednje zgodaj. 'Pauetet' je namenjena predvsem intenzivni pridelavi in jo redkeje najdemo na domačem vrtu. Rast in rodnost sta zelo bujni. Za sorto je značilno, da je izpadanje zrelega plodu iz zelene ovojnice popolno (90-100 odstotno). Plodovi, velikosti 13-18 mm, so namenjeni predvsem slaščičarski in redkeje namizni rabi. V temno rjavi luščini se nahaja okroglo jedrce s kompaktno testo (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003).

### 3.1.4 'Negret'

Sorta španskega izvora, precej odporna proti brstni pršici. Cveti in brsti srednje zgodaj. Sorta z zelo dobro rodnostjo je primerna za nasade in vrtove predvsem v toplejših območjih. Plodovi so srednje veliki s premerom od 13 do 17 mm in se uporabljajo pretežno v slaščičarski industriji. Luščina je tanka, bleščeče rjave barve. Jedrce je okroglo, s tanko testo (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003).

### 3.1.5 'Tonda gentile delle langhe'

Italijanska sorta, ki v primerjavi z ostalimi sortami potrebuje toplejše podnebje, je srednje bujna in srednje rodna ter se manj uspešno prilagaja drugačnim okoljskim razmeram (Cristofori in sod., 2008). Cveti in brsti zelo zgodaj. Plodovi se uporabljajo predvsem v slaščičarski industriji. Lešniki so velikosti 14-18 mm in ob dozorevanju skoraj 100 odstotno izpadajo iz zelene ovojnice. Jedrce je okroglo, s tanko testo in tanko luščino (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003).

### 3.1.6 'Tonda di giffoni'

'Tonda di giffoni' je italijanska sorta z relativno velikimi plodovi (okoli 20 mm premera), namenjenimi predvsem slaščičarski industriji. Plod je okrogel, z izrazito vzdolžno brazdo, tanko luščino in srčastim jedrcem s srednje kompaktno testo. Cveti in brsti zgodaj. Sorta je malo občutljiva na lešnikarja in leskovo brstno pršico (Štampar in sod., 2005; Godec in sod., 2003). V sadnem izboru za Slovenijo 2007 sorto najdemo na listi A.

### 3.1.7 'Barcelona'

Poreklo sorte ni povsem poznano. Leska raste bujno in obilno rodi. Cveti in brsti zgodaj. Plod je široko okroglast z debelo luščino in jedrcem okroglo konične oblike s tanko testo. Sorta je nekoliko občutljivejša na lešnikarja in malo za brstno pršico (Godec in sod., 2003).

### 3.1.8 'Istrska dolgoplodna leska'

'Istrska dolgoplodna leska' je stara populacija leske, razširjena v zahodni Istri in je srednje bujna sorta z zelo dobro rodnostjo. Plodovi so podolgovati in veliki (20-22 mm v premeru), namenjeni predvsem namizni rabi. Lešniki ob dozorevanju ne izpadejo iz zelene ovojnice, zato jih težje in počasneje obiramo. Pri praženju povrhnjica zlahka odstopa pri več kot 90 % jedrc. Najdemo jo tako v intenzivnih nasadih kot na domačem vrtu (Štampar in sod., 2005). V sadnem izboru za Slovenijo 2007 se nahaja na seznamu A.

## 3.2 METODE DELA

### 3.2.1 Priprava vzorcev

Lešniki so bili nabrani v kolekcijskem nasadu leske Raziskovalnega polja za lupinarje v Mariboru. Vsaka sorta v nasadu je zastopana s tremi grmi. Od vsakega grma smo vzeli naključni vzorec desetih lešnikov. Lešnike smo pobrali v tehnološki zrelosti in sušili v sušilnici 24 ur pri temperaturi 30-35 °C.

Plodove smo ročno oluščili in vsako sorto razdelili na tri enake dele ter lešnike tako razdelili v tri obravnavanja: praženi lešniki, lešniki brez teste in neobdelani lešniki. Pražene lešnike smo 15 minut pražili v pečici na 130 °C. Lešnike brez teste smo za lažjo odstranitev kožice za dve uri namočili v vodo in jih ročno olupili oz. postrgali testo z jedra. Za posamezno obravnavanje vsake sorte smo naredili tri ponovitve.

Ekstrakcija fenolov je z modifikacijami potekala po metodi Escarpa in Gonzales (2000). Plodove smo zmleli, za posamezen vzorec zatehtali 5 g in prelili s 15 ml ekstrakcijske raztopine 100 % metanola (99 % čistost). Vzorce smo za eno uro potopili v zvočno kopel in jih nato centrifugirali (Eppendorf Centrifuge 5810 R, Hamburg, Nemčija) za 7 min. pri 10.000 obratih in 4 °C. Supernatant smo prefiltrirali in prelili s 100 % heksanom (99 % čistost) za odstranitev maščob.

Ekstrakt smo odpipetirali v bučko in jo namestili na rotavapor (R-114 z Vacobox B-171, Buchi, Flawil, Švica), kjer smo vzorec skoncentrirali tako, da smo z znižanim tlakom odparili metanol. Ostanek smo prelili z 1,5 ml metanola in vialo shranili v zamrzovalniku pri -20 °C do nadaljnjih analiz (HPLC in spektrofotometer).

### 3.2.2 Analiza s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC)

Kromatografska analiza temelji na ločevanju posameznih komponent vzorca, ki jih nato zaznamo z ustreznim detektorjem. Posamezne komponente raziskovalnega vzorca se ločijo med seboj na podlagi njihovih fizikalnih in kemijskih interakcij z mobilno in stacionarno fazo (Žorž, 1991).

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti je separacijska tehnika, ki temelji na porazdelitvi vzorca med mobilno fazo, ki je tekočina majhne viskoznosti, in stacionarno fazo, ki je trdna snov. Mobilna faza potuje skozi stacionarno fazo v določeni smeri. Topljenci, ki imajo večjo afiniteto do mobilne faze, preidejo hitreje iz kolone kot topljenci, ki se zadržujejo v stacionarni fazi. Eluirajo se v vrstnem redu po velikosti porazdelitvenih koeficientov glede na stacionarno fazo. Porazdelitev je posledica velikosti porazdelitvenih

sil med molekulami topljenca in molekulami obeh faz. Močnejše kot so sile med molekulami topljenca in molekulami v stacionarni fazi, počasneje se topljenec eluira (Šircelj, 2001).

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti je potekala na tekočinskem kromatografu modela Surveyor (Thermo Finnigan San Jose, ZDA). Uporabili smo kolono Gemini C18 (150×4.6 mm 3 μm; Phenomenex) pri temperaturi 25 °C. Ločevanje fenolnih spojin je potekalo z mešanjem dveh mobilnih faz A- 1% mravljična kislina v dvakrat destilirani vodi in B - 100% acetonitril. Volumen injiciranega vzorca je bil 20 μl in hitrost pretoka 1 ml/min. Analiza posameznega vzorca je trajala 45 min.

Fenolne spojine smo kvalitativno določili s pomočjo standardnih raztopin (retencijskem času, absorpcijskem maksimumu v UV spektru in dodatku standardne raztopine v vzorcu) in kvantitativno na osnovi primerjave višine vrhov na kromatografu glede na standardne raztopine.

Detekcija fenolnih spojin je potekala pri valovni dolžini 280 in 350 nm. Spekter je bil sneman v območju valovne dolžine od 190-400 nm.

### 3.2.3 Meritev skupnih fenolov

Metoda za merjenje skupnih fenolov, ki smo jo povzeli po Singleton in Rossi (1965), je relativno enostavna, saj vzorec ne zahteva posebne priprave v primerjavi z drugimi metodami. Fenolne spojine se v alkalni raztopini oksidirajo s Folin-Ciocalteu-jevimi reagentom v modro obarvane spojine, ki jim nato izmerimo absorbanco. S Folin-Ciocalteu-jevimi reagentom reagirajo tudi drugi antioksidanti in ne le fenoli, kar je pri analizi vzorcev in končni interpretaciji rezultatov treba upoštevati.

Količino 100 μl vzorca smo odpipetirali v 10 ml bučko, ogreli na sobno temperaturo in dodali 6 ml destilirane vode in 500 μl Folin-Ciocalteu reagenta. Nato smo dodali 1,5 ml 20 % raztopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in bučko do oznake napolnili z bidesterirano vodo. Raztopino smo pol ure pustili stati pri 40 °C in jo nato premešali, prenesli v kiveto in izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu (koncentracija = mg galne kisline/l) pri 765 nm na UV-VIS spektrofotometru (Lambda Bio 20, Perkin Elmer).

Fenolne spojine absorbirajo svetlobo v UV in vidnem območju, zato lahko odčitano vrednost absorbance uporabimo za oceno koncentracije skupnih fenolov. S pomočjo umeritvene krivulje smo izračunali koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vzorcih. Rezultate smo izrazili v ekvivalentih galne kisline (GAE).

### **3.2.4 Meritev antioksidativnega potenciala**

Metoda, ki smo jo uporabili, je z manjšimi spremembami povzeta po Brand-Williams in sod. (1995). Metanolne ekstrakte lešnikov smo v treh ponovitvah nanесли na 96-luknjičaste plošče, in sicer v vsako luknjico 50  $\mu$ l razredčenega vzorca in 200  $\mu$ l 0,1 mM metanolne raztopine DPPH. Na spektrofotometru (MRX Dynex Technologies, ZDA, z vstavljenim filtrom 520 nm) smo v temi in pri sobni temperaturi izmerili absorbanco takoj po dodajanju raztopine DPPH. Slepí vzorec je bil metanol, kontrola pa raztopina DPPH brez vzorca. Sposobnost za odstranjevanje radikala smo izračunali po enačbi, ki sta jo uporabila tudi Leong in Shui (2002) in uporabili standardno krivuljo askorbinske kisline. Rezultat antioksidativne aktivnosti smo izrazili v ekvivalentih askorbinske kisline (AC).

### **3.2.5 Statistična analiza**

Podatke naših analiz smo tabelarično uredili v programu Microsoft Office Excel 2007 in jih statistično obdelali s pomočjo programa Statgraphic Plus for Windows 4.0. Z dvosmerno statistično analizo variance (ANOVA) smo ugotovili statistične razlike med obravnavanji in jih testirali s pomočjo Duncan testa mnogoterih primerjav pri 5 % tveganju. Obravnavanja, pri katerih nismo ugotovili statistično značilne razlike, so označena z isto črko. Posamezen dobljen podatek je povprečje treh ponovitev.



## 4 REZULTATI

Analizirali smo plodove leske glede na dva dejavnika: sorto in obdelavo. V nadaljevanju so zaradi preglednosti predstavljene predvsem interakcije omenjenih dejavnikov in rezultati ANOVE. Zaradi odsotnosti nekaterih fenolnih spojin v praženih lešnikih in lešnikih brez teste smo le-te predstavili le po vsebnosti fenolov v neobdelanih lešnikih, in sicer po dejavniku sorta. Fenolne spojine, ki se glede na naše rezultate nahajajo le v neobdelanih lešnikih, so trije flavonoli: miricetin-3-ramnozid, miricetin-heksozid-2 (preračunan na miricetin) in kvercetin-3-ramnozid.

Fenolne spojine, predstavljene po interakcijah dejavnikov (sorta in obdelava), so: galna kislina, elagna kislina, katehin, epikatehin in skupni fenoli. Po interakciji dejavnikov smo predstavili tudi antioksidativni potencial lešnikov.

### 4.1 VSEBNOST FENOLOV

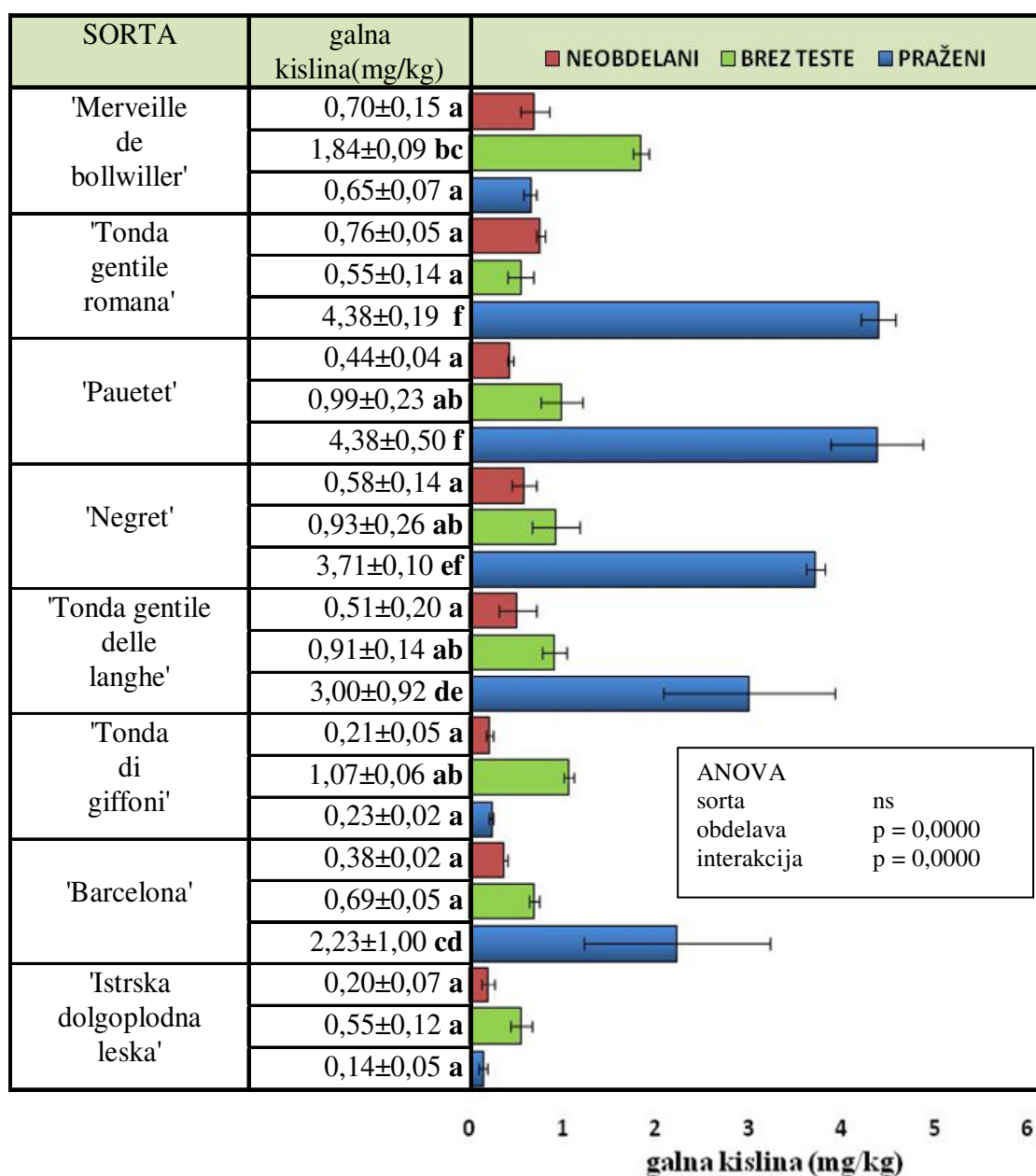
#### 4.1.1 Galna kislina

Galna kislina spada med fenolne kisline, in sicer med hidroksibenzojske kisline in je dokaj pogosta fenolna kislina v sadju (Macheix in sod., 1990).

Vsebnost galne kisline je bila močno odvisna od obdelave. Največjo povprečno vsebnost galne kisline smo izmerili pri praženih lešnikih (2,34 mg/kg), ki se statistično značilno razlikuje od vsebnosti v neobdelanih plodovih (0,47 mg/kg) in v lešnikih brez teste (0,94 mg/kg). To je tudi edina fenolna spojina, kjer smo največje vrednosti izmerili pri praženih lešnikih (priloga B1).

Sorte, pri katerih je vsebnost galne kisline statistično značilno višja pri praženih lešnikih kot pri neobdelanih lešnikih in lešnikih brez teste, so: 'Pauetet', 'Tonda romana', 'Negret' in 'Tonda langhe'. Sorta 'Merveille' vsebuje največ galne kisline v lešnikih brez teste, medtem ko sorti 'Tonda di giffoni' in 'Istrska leska' ne kažeta razlik med obravnavanji (slika 1).

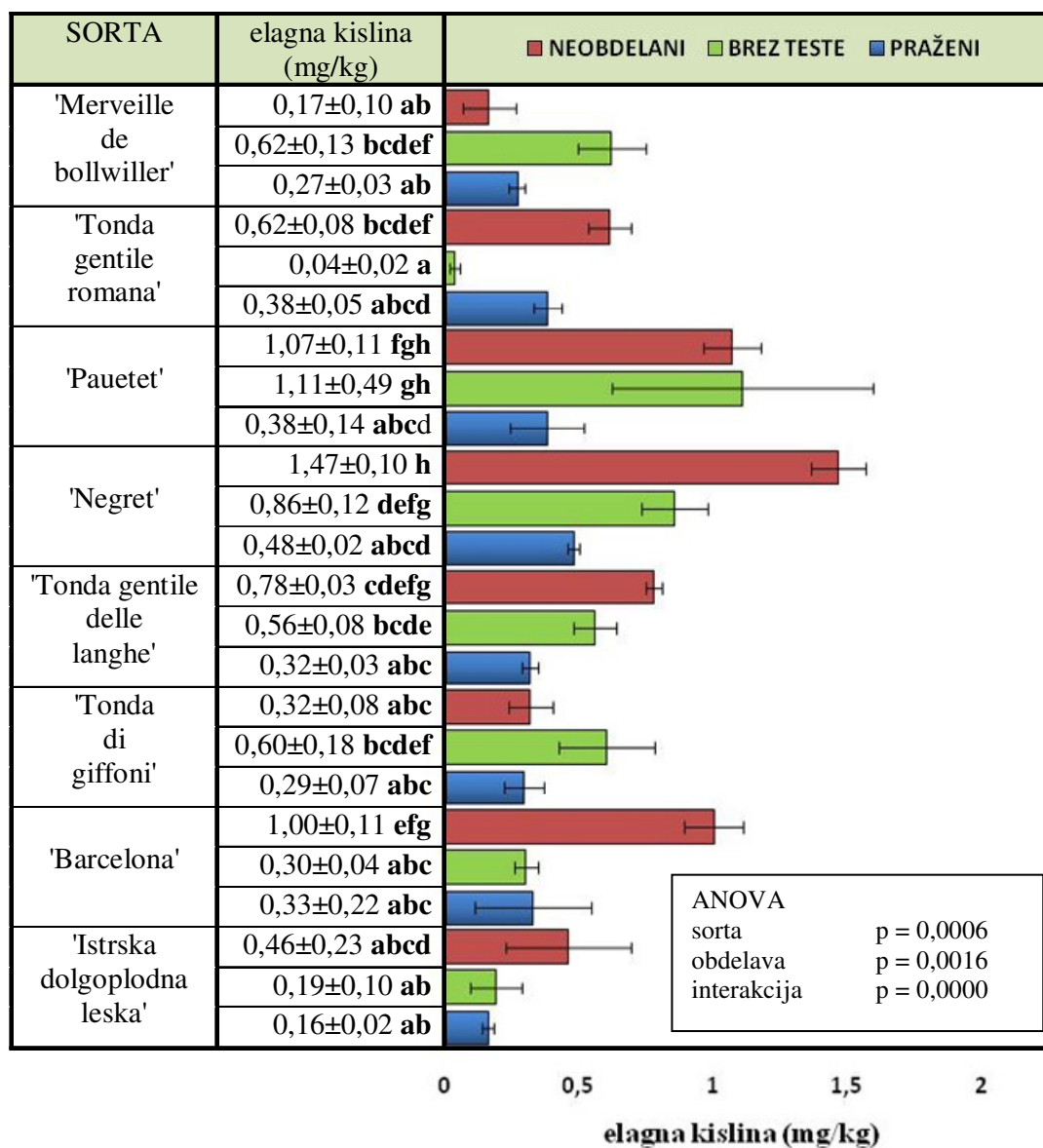
Med sortami nismo ugotovili statistično značilnih razlik (priloga A1).



Slika 1: Vsebnost galne kisline (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.  
Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan; p≤0,05)

#### 4.1.2 Elagna kislina

Spada med polifenole in jo najdemo predvsem v oreških in jagodičju: jagodah, črnem ribezu in malinah (Priyadarsini in sod., 2002; Ancos in sod., 2000). V malinah naj bi elagna kislina predstavljala 88 % delež vseh fenolov (Hakkinen in sod., 1999).



Slika 2: Vsebnost elagne kisline (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.

Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan;  $p \leq 0,05$ )

Največje vrednosti elagne kisline smo izmerili pri neobdelanih lešnikih sorte 'Negret' (1,47 mg/kg) in pri sorti 'Pauetet' pri obravnavanjih brez teste (1,11 mg/kg) in neobdelani (1,07 mg/kg) (slika 2).

Sorti 'Barcelona' in 'Negret' vsebujeta več elagne kisline v neobdelanih lešnikih v primerjavi z lešniki brez teste in praženimi lešniki. Pri sortah 'Istrska leska', 'Tonda di giffoni', 'Tonda langhe' in 'Merveille' nismo opazili statistično značilnih razlik med obravnavanji.

Po obravnavanjih smo pri vsebnosti elagne kisline ugotovili le statistično značilno razliko med neobdelanimi (0,74 mg/kg) in praženimi lešniki (0,33 mg/kg), medtem ko se lešniki brez teste (0,54 mg/kg) statistično značilno ne razlikujejo od ostalih dveh obravnavanj (priloga B2).

Najmanjše povprečne vrednosti smo zabeležili pri 'Istrski leski' (0,27 mg/kg), 'Tonda romana' in 'Merveille' (0,35 mg/kg) ter 'Tonda di giffoni' (0,41 mg/kg), ki se statistično značilno razlikujejo od najvišje dobljenih vrednosti 'Pauetet' (0,85 mg/kg) in 'Negret' (0,93 mg/kg). 'Tonda langhe' in 'Barcelona' se z vsebnostjo elagne kisline 0,55 mg/kg statistično značilno razlikujeta le od sorte 'Negret' (priloga A2).

### 4.1.3 Katehin

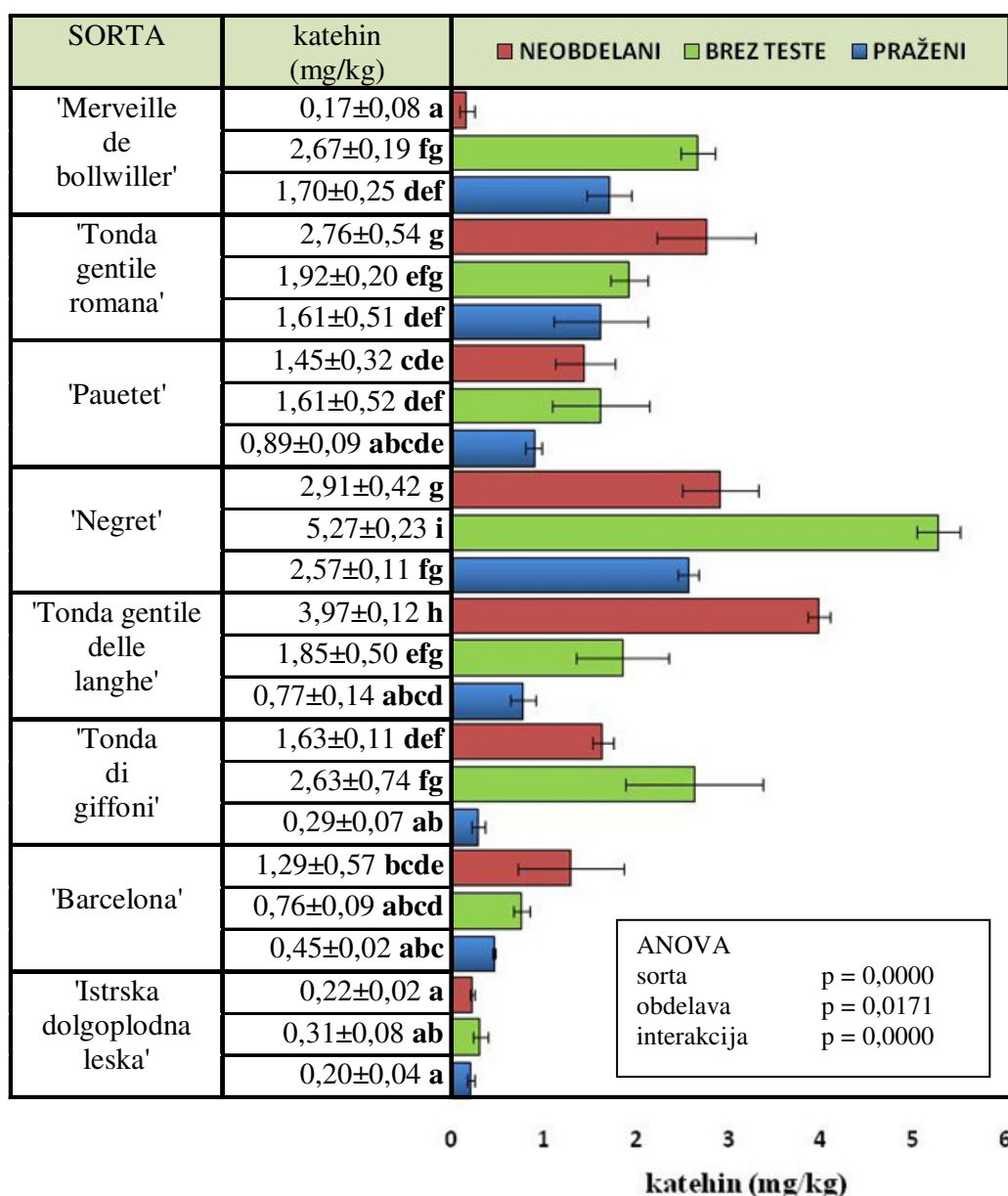
Katehin in epikatehin uvrščamo med v rastlinah zelo razširjene flavonoide, in sicer flavan-3-ole.

Pri sortah 'Istrska leska', 'Barcelona' in 'Pauetet' nismo opazili statistično značilnih razlik med obravnavanji. Sorta 'Tonda langhe' vsebuje največ katehina v neobdelanih lešnikih, manj v lešnikih brez teste in najmanj v praženih lešnikih.

Najmanjše vsebnosti katehina smo izmerili pri neobdelanih lešnikih 'Merveille' (0,17 mg/kg) in pri vseh obravnavanjih 'Istrske leske'. Majhne vsebnosti katehina vsebujejo tudi praženi lešniki sort 'Tonda di giffoni' (0,29 mg/kg), 'Tonda langhe' (0,77 mg/kg) in 'Pauetet' (0,89 mg/kg) ter 'Barcelona' (0,45 mg/kg), pri kateri smo malo katehina ugotovili tudi pri lešnikih brez teste (0,76 mg/kg) (slika 3).

Povprečna vsebnost katehina pri praženih lešnikih je 1,06 mg/kg in je dvakrat manjša od vsebnosti pri lešnikih brez teste, ki znaša 2,13 mg/kg (priloga B3).

Sorta 'Negret' s statistično značilno razliko vsebuje največ katehina (3,58 mg/kg) v primerjavi z ostalimi sortami (priloga A). Največ katehina se pri sorti 'Negret' nahaja v lešnikih brez teste (5,27 mg/kg), ki je tudi najvišja vrednost interakcije sorte in obdelave (slika 3). Najmanj katehina pa smo glede na sorte izmerili pri 'Istrski leski' (0,24 mg/kg) in 'Barceloni' (0,84 mg/kg), kot je razvidno iz priloge A.



Slika 3: Vsebnost katehina (mg/kg) v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.  
Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan;  $p \leq 0,05$ )

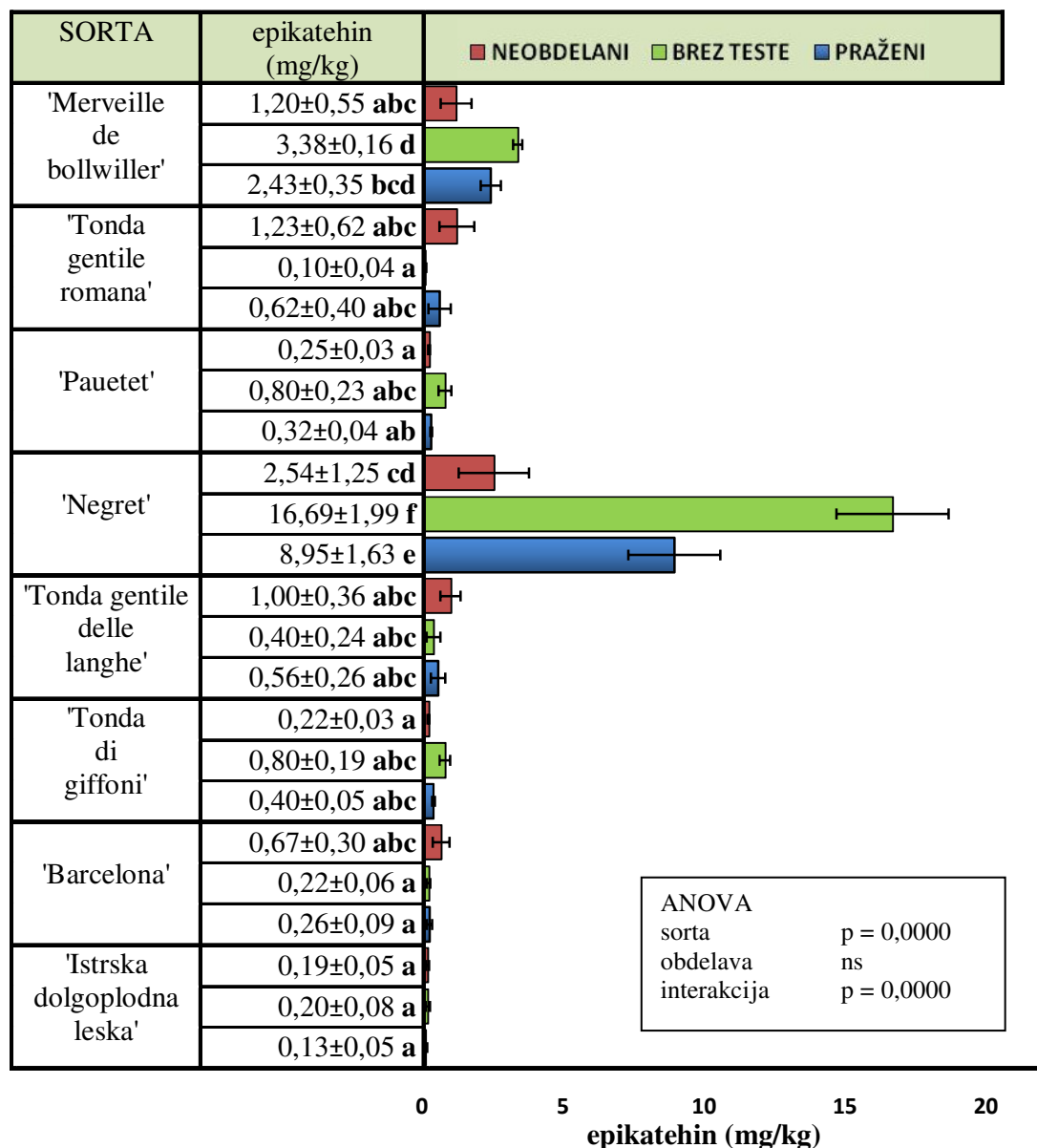
#### 4.1.4 Epikatehin

Epikatehin prav tako kot katehin prištevamo med flavan-3-ole.

Razlike med obravnavanji smo opazili le pri dveh sortah: 'Negret' in 'Merveille'. Najvišjo vrednost flavonoida smo izmerili pri lešnikih brez teste (16,69 mg/kg) sorte 'Negret' in

drugo najvišjo pri praženih (8,95 mg/kg) lešnikih iste sorte. Obe vrednosti se statistično značilno razlikujeta med seboj in od drugih dobljenih vrednosti v interakciji (slika 4).

Pri sortah 'Istrska leska', 'Barcelona', 'Tonda di giffoni', 'Tonda langhe', 'Pauetet' in 'Tonda romana' nismo ugotovili statistično značilnih razlik med obravnavanji (slika 4).



Slika 4: Vsebnost epikatehina v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.  
Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan; p≤0,05)

Med skupnimi povprečnimi vrednostmi epikatehina po obravnavanjih (praženi, brez teste in neobdelani) ni statistično značilnih razlik (priloga B4).

Enako kot pri katehinu, po visoki vsebnosti epikatehina izstopa sorta 'Negret', ki se z vrednostjo 9,39 mg/kg statistično značilno razlikuje od vseh ostalih sort, med katerimi pa ni statistično značilnih razlik (priloga A4).

#### 4.1.5 Kvercetin-3-ramnozid

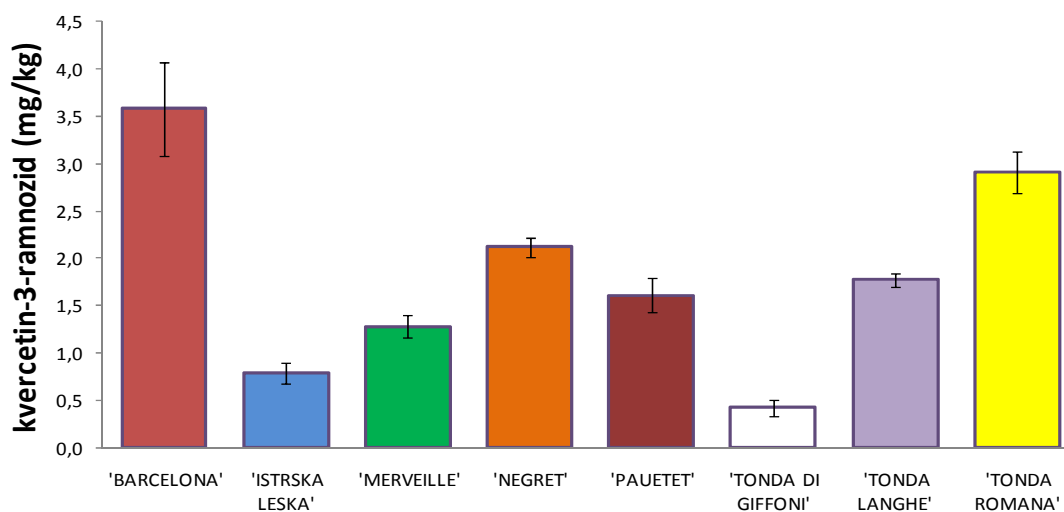
Lešnike smo analizirali na tri flavonole: kvercetin-3-ramnozid, miricetin-heksozid-2 in miricetin-3-ramnozid.

Vsebnost kvercetin-3-ramnozida je bila močno odvisna od obdelave lešnikov, saj smo fenol ugotovili skoraj izključno le v neobdelanih lešnikih (1,81 mg/kg) (priloga B5). Izjema je sorta 'Merveille', ki v lešnikih brez teste še vsebuje nekaj kvercetin-3-ramnozida (0,10 mg/kg), po praženju pa ne več.

Preglednica 2: Vsebnost kvercetin-3-ramnozida v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Navedena so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

SORTA	Kvercetin-3-ramnozid (mg/kg)
'Barcelona'	3,58 $\pm$ 0,49 <b>f</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,80 $\pm$ 0,11 <b>ab</b>
'Merveille de bollwiller'	1,29 $\pm$ 0,11 <b>bc</b>
'Negret'	2,12 $\pm$ 0,10 <b>d</b>
'Pauetet'	1,61 $\pm$ 0,18 <b>cd</b>
'Tonda di giffoni'	0,43 $\pm$ 0,08 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	1,77 $\pm$ 0,07 <b>cd</b>
'Tonda gentile romana'	2,91 $\pm$ 0,22 <b>e</b>

Opomba: različne črke (a,b,c) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi sortami lešnika (Duncan;  $p \leq 0,05$ )



Slika 5: Vsebnost kvercetin-3-ramnozida (mg/kg) v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Prikazana so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

Treba je poudariti, da kljub dobljenim rezultatom ne moremo sklepati na odsotnost kvercetin-3-ramnozida v jedrcih brez teste in praženih lešnikih, saj je fenol lahko prisoten v premajhnih količinah, da bi ga lahko zaznali. Lahko pa rečemo, da rezultati nakazujejo, da se fenolna spojina nahaja predvsem v testi, medtem ko je v samem jedrcu ni ali pa jo je v premajhnih količinah, da bi jo lahko izmerili.

Največjo količino kvercetin-3-ramnozida vsebuje sorta 'Barcelona' z vsebnostjo 3,58 mg/kg, drugo največjo pa 'Tonda romana' (2,91 mg/kg). Obe sorti se statistično značilno razlikujeta od ostalih sort in med seboj. Najmanjšo količino smo izmerili pri sorti 'Tonda di giffoni', in sicer 0,43 mg/kg (preglednica 2 in slika 5).

#### 4.1.6 Miricetin-heksozid-2

Enako kot pri prejšnjem flavonolu je tudi na količino miricetin-heksozida-2 najbolj vplivala obdelava, saj smo ga ugotovili izključno le pri neobdelanih lešnikih s povprečno skupno vrednostjo 0,28 mg/kg (priloga B6).

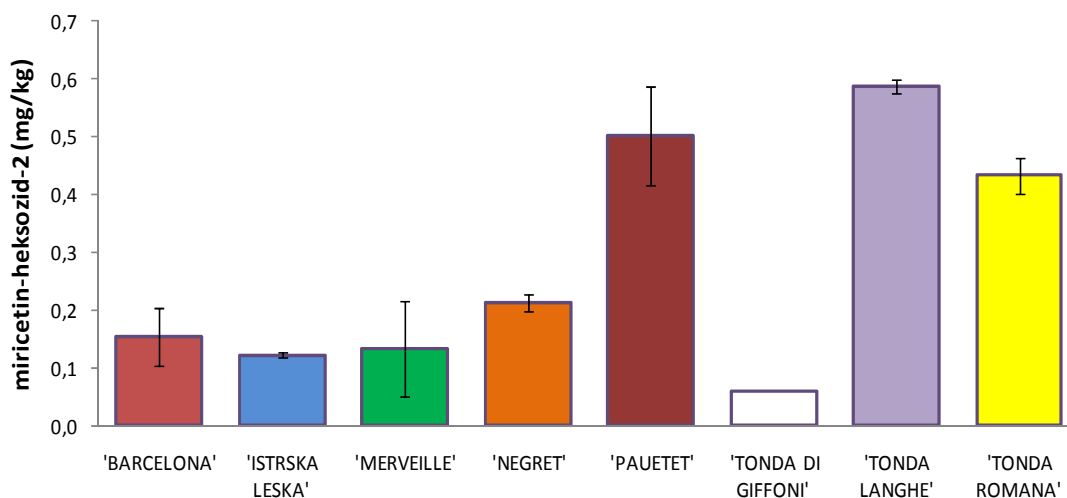
Največje vsebnosti flavonola pripadajo sortam 'Tonda langhe' (0,59 mg/kg), 'Pauetet' (0,50 mg/kg) in 'Tonda romana' (0,43 mg/kg), ki se statistično značilno razlikujejo od ostalih sort. Najmanjšo vsebnost smo izmerili pri sorti 'Tonda di giffoni', in sicer le 0,06 mg/kg (preglednica 3 in slika 6).



Preglednica 3: Vsebnost miricetin-heksozida-2 v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Navedena so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

SORTA	Miricetin-heksozid-2 (mg/kg)
'Barcelona'	0,15 $\pm$ 0,05 <b>ab</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,12 $\pm$ 0,00 <b>ab</b>
'Merveille de bollwiller'	0,13 $\pm$ 0,08 <b>ab</b>
'Negret'	0,21 $\pm$ 0,01 <b>b</b>
'Pauetet'	0,50 $\pm$ 0,08 <b>cd</b>
'Tonda di giffoni'	0,06 $\pm$ 0,00 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	0,59 $\pm$ 0,01 <b>d</b>
'Tonda gentile romana'	0,43 $\pm$ 0,03 <b>c</b>

Opomba: različne črke (a,b,c) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi sortami lešnika (Duncan;  $p \leq 0,05$ )



Slika 6: Vsebnost miricetin-heksozida-2 (mg/kg) v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Prikazana so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

#### 4.1.7 Miricetin-3-ramnozid

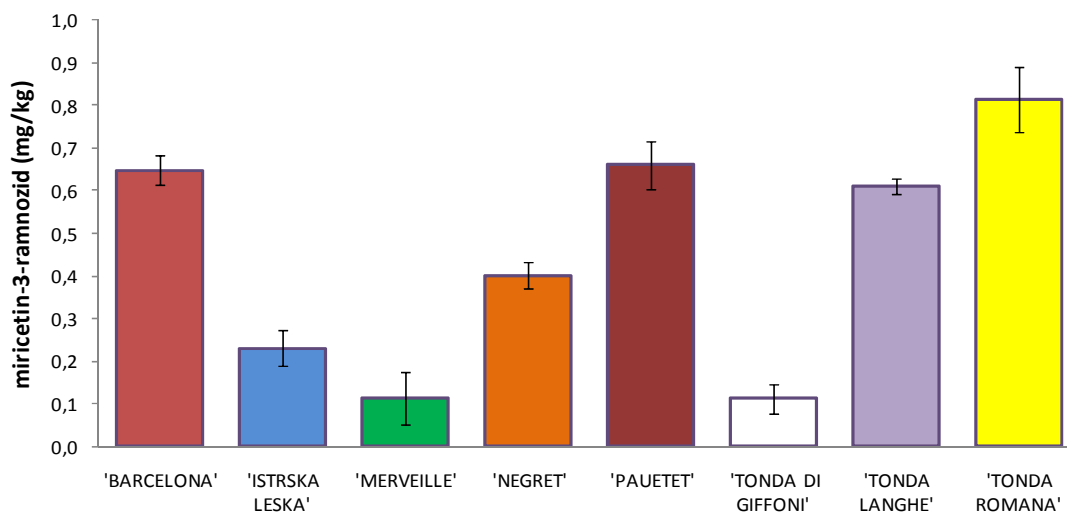
Tudi tretji analizirani flavonol smo izmerili le v neobdelanih lešnikih, s povprečno vrednostjo 0,45 mg/kg (priloga B7).

Največjo vsebnost miricetin-3-ramnozida smo izmerili pri sorti 'Tonda romana', in sicer 0,81 mg/kg, sledijo sorte 'Tonda langhe' (0,61 mg/kg), 'Pauetet' (0,66 mg/kg) in 'Barcelona' (0,65 mg/kg). Najmanj flavonola pa smo izmerili pri 'Istrski leski' (0,23 mg/kg), 'Merveille' (0,11 mg/kg) in 'Tonda di giffoni' (0,11 mg/kg) (preglednica 4 in slika 7).

Preglednica 4: Vsebnost miricetin-3-ramnozida v mg/kg v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Navedena so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

SORTA	Miricetin-3-ramnozid (mg/kg)
'Barcelona'	0,65 $\pm$ 0,03 <b>c</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,23 $\pm$ 0,04 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	0,11 $\pm$ 0,06 <b>a</b>
'Negret'	0,40 $\pm$ 0,03 <b>b</b>
'Pauetet'	0,66 $\pm$ 0,06 <b>c</b>
'Tonda di giffoni'	0,11 $\pm$ 0,04 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	0,61 $\pm$ 0,02 <b>c</b>
'Tonda gentile romana'	0,81 $\pm$ 0,08 <b>d</b>

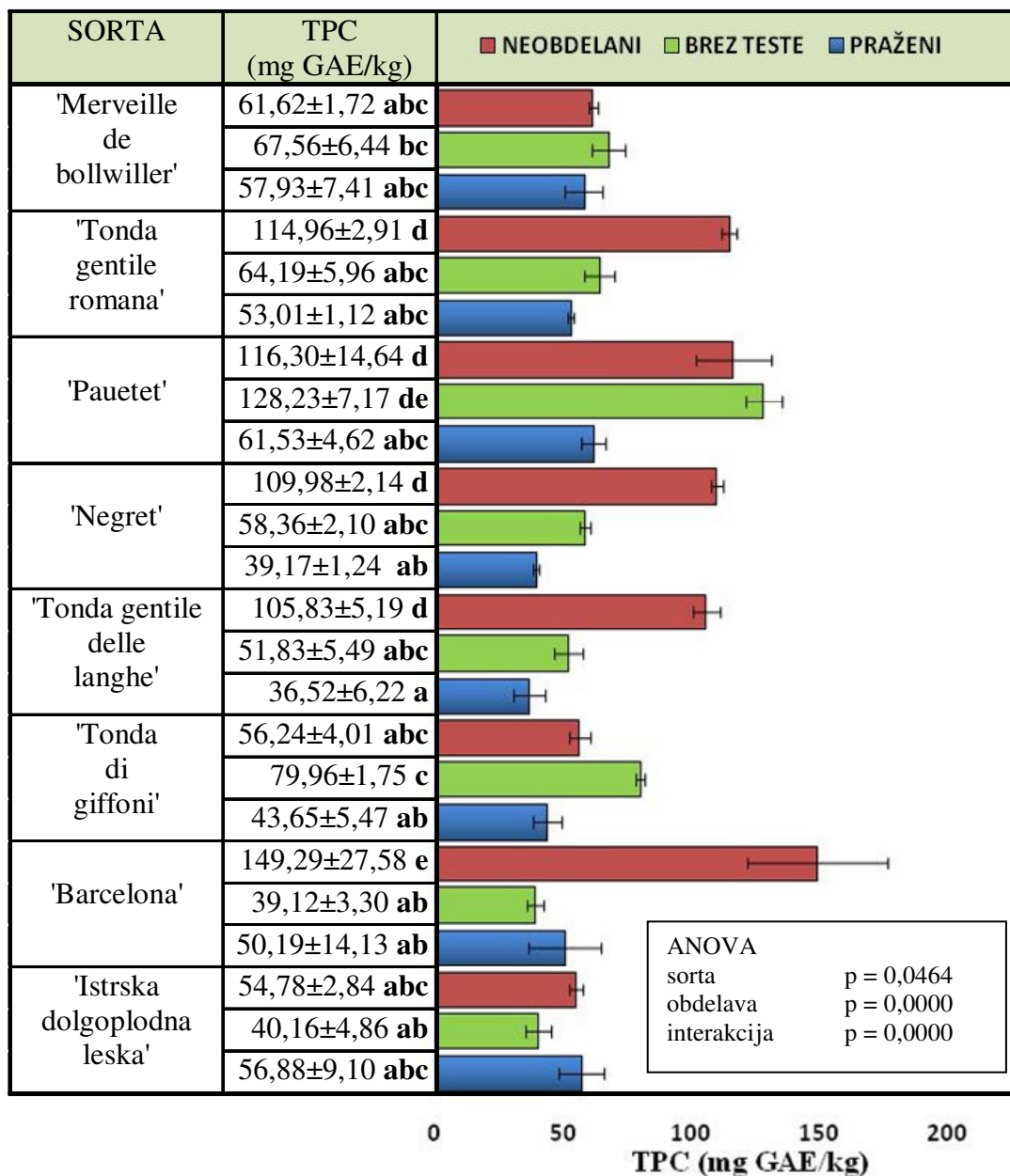
Opomba: različne črke (a,b,c) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi sortami lešnika (Duncan;  $p \leq 0,05$ )



Slika 7: Vsebnost miricetin-3-ramnozida (mg/kg) v neobdelanih plodovih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.). Prikazana so povprečja  $\pm$  SN, N=3.

#### 4.1.8 Skupni fenoli (TPC)

Vsebnost skupnih fenolov je močno odvisna od obdelave lešnikov. Vsa tri obravnavanja se namreč statistično značilno razlikujejo med seboj (priloga B).



Slika 8: Vsebnost TPC (mg GAE/kg) v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.  
Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan; p≤0,05)

Pri štirih sortah ('Tonda romana', 'Negret', 'Tonda langhe' in 'Barcelona') smo ugotovili višjo vsebnost skupnih fenolov pri neobdelanih lešnikih v primerjavi z obema obravnavanema brez kožice (brez teste in praženi).

Najvišje izmerjena vsebnost skupnih fenolov 149,29 mg/kg je bila v neobdelanih lešnikih sorte 'Barcelona' in se statistično značilno ne razlikuje od druge največje izmerjene vrednosti, 128,23 mg/kg, lešnikov brez teste sorte 'Pauetet'. Dokaj visoke so vsebnosti skupnih fenolov neobdelanih lešnikov sort 'Tonda romana' (114,96 mg/kg), 'Negret' (109,98 mg/kg), 'Tonda langhe' (105,83 mg/kg), 'Pauetet' (116,30 mg/kg) in se statistično značilno razlikujejo od vseh nižje dobljenih vrednosti ter od najvišje izmerjene vrednosti neobdelanih lešnikov sorte 'Barcelona' (slika 8).

Pri sortah 'Istrska leska' in 'Merveille' ni statistično značilnih razlik v vsebnosti skupnih fenolov glede na obravnavanje (slika 8).

Največ skupnih fenolov vsebujejo neobdelani lešniki, in sicer v povprečju 96,13 mg/kg, sledijo lešniki brez teste z vrednostjo 66,18 mg/kg, najmanjšo vsebnost pa imajo praženi lešniki (49,86 mg/kg) (priloga B8).

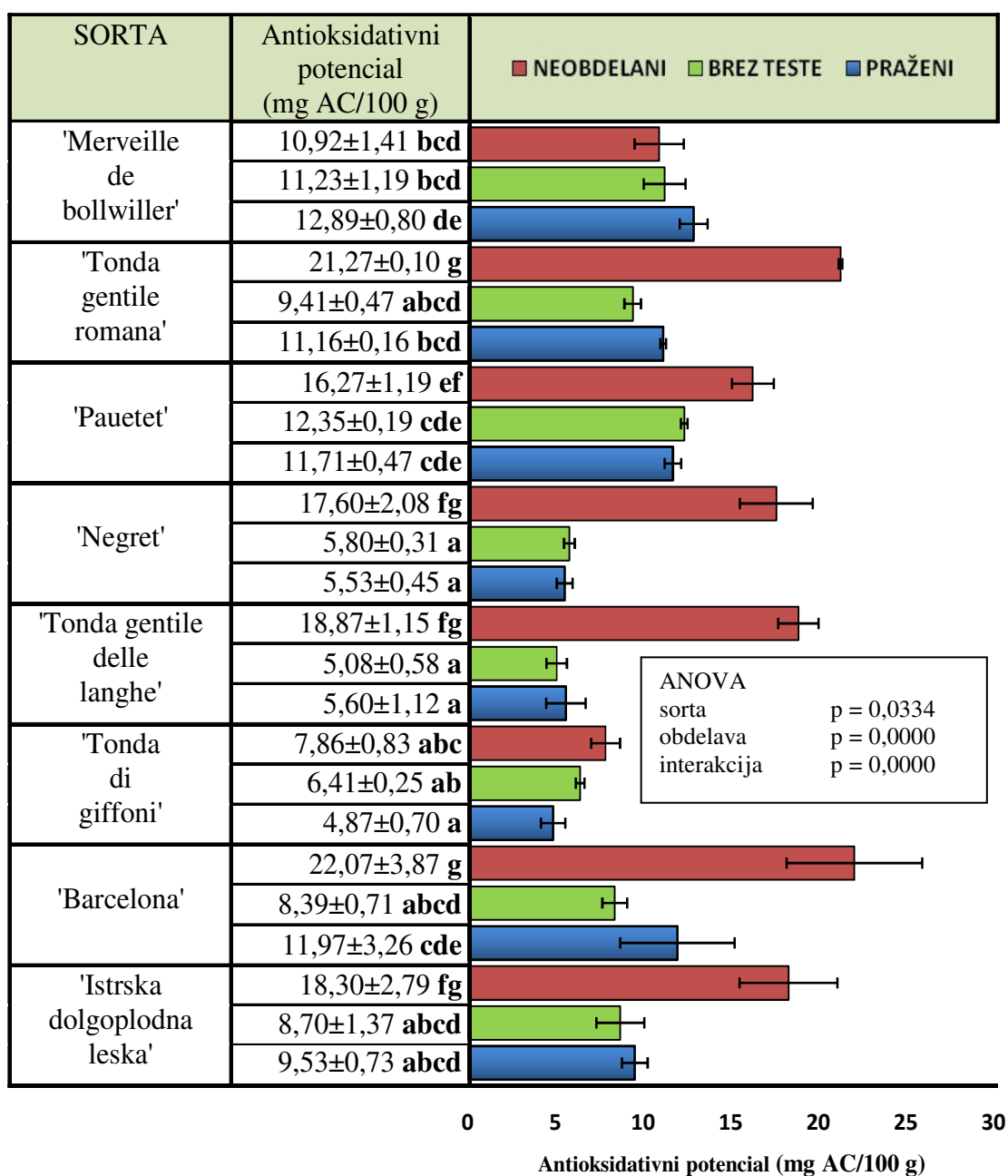
#### 4.2 ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL

Največji antioksidativni potencial, 16,65 mg AC/100 g, imajo neobdelani lešniki. Statistično značilno se razlikuje od antioksidativnega potenciala lešnikov brez teste (8,42 mg AC/100 g) in praženih plodov (9,16 mg AC/100 g) (Priloga B9).

Omenjeno razliko med neobdelanimi lešniki in lešniki brez teste ter praženimi lešniki opazimo pri petih sortah: 'Tonda romana', 'Tonda langhe', 'Negret', 'Barcelona' in 'Istrska leska'. Sorte 'Merveille', 'Pauetet' in 'Tonda di giffoni' ne kažejo statistično značilnih razlik med posameznimi obravnavanji.

Največje zmanjšanje antioksidativnega potenciala smo izmerili pri lešnikih brez teste in praženih lešnikih sort 'Negret' in 'Tonda langhe'.

Med sortami smo ugotovili manjše razlike v antioksidativnem potencialu (priloga A6).



Slika 1: Antioksidativni potencial (mg AC/100g) v lešnikih proučevanih sort leske (*Corylus avellana* L.) pri različni obdelavi. N=3, prikazana so povprečja ± SN.

Opomba: različne črke (a,b,c,..) prikazujejo statistično značilne razlike med proučevanimi lešniki (Duncan; p≤0,05)

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V okviru našega poskusa smo analizirali vsebnost posameznih in skupnih fenolov različno obdelanih lešnikov (praženi, brez teste in neobdelani) izbranih sort in jim izmerili antioksidativni potencial.

Zanimale so nas predvsem razlike v vsebnosti fenolnih substanc in antioksidativnega potenciala, ki nastanejo pri praženju plodov. Vrednotenje naših podatkov je oteženo, saj glede vsebnosti fenolov v praženih lešnikih in njihovega antioksidativnega potenciala ni veliko razpoložljive literature.

Pri praženju lešnikov pride do kemijskih sprememb v sestavi plodu, ki praženemu lešniku doprinesejo značilen prepoznaven okus. Alasalvar in sod. (2003b) so primerjali pražene in naravne lešnike v vsebnosti hlapljivih spojin in so v naravnih lešnikih zasledili 39 spojin, v praženih pa kar 71 različnih hlapnih substanc.

V naši raziskavi smo edino povečanje merjene spojine pri praženih lešnikih ugotovili pri galni kislini. Sorte 'Tonda romana', 'Pauetet' in 'Negret' vsebujejo več kot štirikrat večjo količino galne kisline v praženih lešnikih v primerjavi z neobdelanimi lešniki in lešniki brez teste. Pri sortah 'Tonda langhe' in 'Barcelona' pa je omenjena razlika trikratna. Alasalvar in Shahidi (2009) poročata, da so fenolne kisline, med katere sodi tudi galna, znane po svojem doprinosu okusa v hrani in so tako verjetno ena izmed mnogih substanc, ki praženim lešnikom daje značilen okus.

Pri vseh ostalih meritvah so nam rezultati prikazali zmanjšanje merjenih fenolnih spojin v praženih lešnikih. Vsebnost elagne kisline je pri praženih lešnikih dvakrat manjša v primerjavi z neobdelanimi lešniki. Količina katehina je bila v praženih lešnikih dvakrat manjša od količine v lešnikih brez teste, medtem ko pri epikatehinu nismo ugotovili značilnih razlik glede na obdelavo. Pri vseh treh flavonolih (kvercetin-3-ramnozid, miricetin-heksozid-2 in miricetin-3-ramnozid) pa njihove vsebnosti v praženih lešnikih sploh nismo ugotovili.

Meritve skupnih fenolov (TPC) so, kljub veliki vsebnosti galne kisline v praženih lešnikih, pokazale najmanjšo vsebnost TPC ravno v praženih plodovih. Najmanj skupnih fenolov tako vsebujejo praženi lešniki (49,86 mg GAE/kg), nato lešniki brez teste (66,18 mg GAE/kg), največ skupnih fenolov pa po naših meritvah vsebujejo neobdelani lešniki (96,13 mg GAE/kg).

Antioksidativni potencial praženih lešnikov se ne razlikuje od antioksidativnega potenciala lešnikov brez teste, obe obravnavanji pa sta statistično značilno manjši od vrednosti neobdelanih lešnikov.

Praženi lešniki tako sicer vsebujejo najmanj fenolnih spojin, a nimajo najmanjšega antioksidativnega potenciala; le-ta je statistično značilno enak lešnikom brez teste. Kljub zmanjšanju skupnih fenolov v praženih lešnikih, je antioksidativni potencial primerljiv antioksidativnemu potencialu olupljenih lešnikov. Razlog je verjetno v tem, da poleg fenolov k antioksidativnemu potencialu v praženih lešnikih prispevajo še druge spojine.

Yu in sod. (2005) so v raziskavi z arašidi ugotovili, da so z blanširanjem (2 minuti namakanja v vreli vodi) teste plodov zmanjšali njeno antioksidativno sposobnost v primerjavi z ročno oluščeno testo. Praženje teste pa je pokazalo različen vpliv na njen antioksidativni potencial, odvisno od ekstrakcijskega sredstva. Pri ekstrakciji z etanolom naj bi se antioksidativni potencial teste povečal, po ekstrakciji z metanolom pa naj bi se zmanjšal.

V našem poskusu smo pri petih sortah; 'Tonda romana', 'Tonda langhe', 'Negret', 'Barcelona' in 'Istrska leska' ugotovili večji antioksidativni potencial pri lešnikih s testo (neobdelani) v primerjavi z jedrci brez kožice (brez teste in praženi). Enako smo pri vseh omenjenih sortah, z izjemo 'Istrske leske', izmerili najvišje vsebnosti skupnih fenolov v lešnikih s testo v primerjavi z lešniki brez teste (lešniki brez teste in praženi).

Mnenja glede povezave med vsebnostjo fenolnih snovi in oksidativno kapaciteto so različna. Nekateri avtorji zagovarjajo močno povezavo med količino fenolnih snovi in antioksidativnim delovanjem (Arcan in Yemenicioğlu, 2009), spet drugi navajajo, da korelacije ni (Van der Sluis in sod., 2001). Vzrok za različne rezultate je lahko, da so uporabili različno metodiko za merjenje antioksidativnosti in različen način ekstrakcije materiala (Napolitano in sod., 2004).

Največje zmanjšanje antioksidativnega potenciala z odstranitvijo teste smo opazili pri sortah 'Negret' in 'Tonda langhe'. Antioksidativni potencial pri praženih lešnikih in lešnikih brez teste je pri omenjenih sortah več kot trikrat manjši od potenciala v neobdelanih lešnikih. Pri sortah 'Tonda romana', 'Barcelona' in 'Istrska leska' pa je antioksidativni potencial v lešnikih brez teste in praženih lešnikih približno dvakrat manjši od potenciala v neobdelanih lešnikih.

Vse tri analizirane flavonole (miricetin-heksozid-2, kvercetin-3-ramnozid, miricetin-3-ramnozid) smo ugotovili le v lešnikih s testo, t.j. v neobdelanih plodovih. Takoj, ko smo kožico odstranili, pa jih nismo več ugotovili. To ne pomeni, da merjenih fenolov v jedrcu ni. Lahko namreč so, a jih nismo ugotovili. Z veliko verjetnostjo lahko trdimo, da je njihova količina v testi veliko večja kot v jedrcu.

Do enakih zaključkov so pri merjenju flavonolov pri nektarinah, hruškah in slivah prišli Tomas-Barberan in sod. (2001), ko so večino flavonolov ugotovili v sami kožici plodov in le malo v mesu.

Pri epikatehinu in katehinu nismo zabeležili zgoraj omenjene razlike. Pri večini sort namreč nismo ugotovili spremembe v vsebnosti obeh flavan-3-olov glede na obdelavo. Pri sorti 'Negret', ki je pri obeh flavan-3-olih močno izstopala po visoki vsebnosti, smo opazili statistično značilno povečanje obeh fenolov v lešnikih brez teste v primerjavi s praženimi in neobdelanimi plodovi. Sorta 'Merveille' pa izkazuje večjo količino obeh flavan-3-olov v plodovih brez teste le v primerjavi z neobdelanimi plodovi. V obeh primerih menimo, da so opažene razlike rezultat tega, da se večino katehina in epikatehina nahaja v samem jedrcu in ne v testi plodu, kot je to pri večini fenolov.

Razen pri sortah 'Merveille' in 'Negret' (vrednosti flavan-3-olov) in dokaj nekonsistentnih razlik pri elagni kislini se je pri vseh analiziranih fenolih, skupnih fenolih in antioksidativnemu potencialu pokazalo, da se več omenjenih substanc nahaja v testi plodu kot v jedrcu, kar je skladno z literaturo. Tako Shahidi in sod. (2007) poročajo o vrednostih skupnih fenolov 577 mg CE/g v testi in le 13,7 mg CE/g v jedrcu skupaj s testo.

Vsebnost fenolov v kožici plodu je večja tudi pri drugih oreških. Colarič in sod. (2005) so v svojih analizah ugotovili večjo vsebnost vseh analiziranih fenolnih spojin v testi oreha v primerjavi s samim plodom. Čeprav kožica plodu obsega le približno 5 % teže plodu, so rezultati pokazali 14,8 - krat večje vrednosti v testi kot jedrcu pri kavni kislini in celo 752,0 - krat večjo vsebnost p-kumarne kisline v testi v primerjavi s samim jedrcem oreha.

Večje vsebnosti fenolnih spojin v zunanji plasti plodov so ugotovili tudi pri drugih sadnih vrstah: hruškah, jabolkih, nektarinah in slivah (Veberič in sod., 2005; Tomas-Barberan in sod., 2001).

Povprečna vrednost vseh sort skupnih fenolov v neobdelanih lešnikih, ki so jo naši poskusi pokazali, znaša 96,13 mg GAE/kg. Vrednosti so v intervalu od 54,78 mg GAE/kg pri 'Istrski leski', do 149,29 mg GAE/kg pri 'Barceloni' in so manjše od tistih, najdenih v literaturi. Kornsteiner in sod. (2006) navajajo vrednosti skupnih fenolov v lešnikih 291 mg



GAE/100g, Cristofori in sod. (2008) 1,57 g GAE/kg - 6,32 g GAE/kg in Arcan ter Yemenicioğlu (2009) 39 mg GAE /100 g. Razlike v meritvah so verjetno nastale zaradi različnih metod ekstrakcije, ki so jih avtorji uporabili.

Med sortami smo ugotovili razlike med vsebnostjo skupnih fenolov in antioksidativno sposobnostjo plodov. Največje vsebnosti skupnih fenolov in največji antioksidativni potencial v obeh primerih pripada trem sortam: 'Tonda romana', 'Barcelona' in 'Pauetet'.

Najbolj opazno razliko med sortami pri analizi posameznih fenolnih spojin smo izmerili v vsebnosti epikatehina pri sorti 'Negret', kjer smo pri obravnavanju »brez teste« izmerili tudi največjo vrednost med merjenimi fenolnimi spojinami nasploh, in sicer 16,69 mg/kg. Neobdelani lešniki, lešniki brez teste in praženi lešniki sorte 'Negret' vsebujejo največ epikatehina in katehina v primerjavi z neobdelanimi lešniki, lešniki brez teste in praženimi lešniki ostalih sort. Sorta 'Negret' je tudi edina sorta, kjer smo vpliv obdelave ugotovili pri vseh merjenih fenolnih spojinah, skupnih fenolih in antioksidativnemu potencialu.

Pri 'Istrski leski' vsebnost posameznih fenolnih spojin in skupnih fenolov ni bila odvisna od obdelave lešnikov (nismo ugotovili statistično značilnih razlik med obravnavanji).

'Istrska leska' ima med našimi izbranimi sortami največje plodove in posledično največje razmerje med testo in jedrcem brez teste. Za sorto 'Negret' so značilni majhni plodovi, ki so najmanjši med našimi izbranimi sortami in imajo najmanjše razmerje med testo in jedrcem. Z odstranitvijo teste pri sorti 'Negret' smo tako odstranili večje količine fenolnih substanc in pokazale so se večje razlike med obravnavanji pri vsaki izmed meritev posameznih fenolov in skupnih fenolov. Pri 'Istrski leski' pa odstranitev teste ni imela vpliva na vsebnost merjenih substanc.

Kljub nespremenjenim vsebnostim skupnih in posameznih fenolov se je antioksidativni potencial pri 'Istrski leski' z odstranitvijo teste (lešniki brez teste in praženi) zmanjšal za dvakrat. Poleg fenolov k antioksidativnemu potencialu prispevajo torej še druge spojine, ki se nahajajo v testi lešnika.

Sorta 'Merveille' je edina sorta, kjer pri nobeni od meritev (skupni in posamezni fenoli in antioksidativni potencial) nismo ugotovili večjih količin merjenih substanc v neobdelanih lešnikih. Neobdelani lešniki sorte 'Merveille' vsebujejo ali enake (antioksidativni potencial, skupni fenoli) ali manjše vsebnosti fenolov (galna kislina, elagna kislina, katehin, epikatehin) v primerjavi z lešniki brez teste oz. praženimi lešniki.

'Tonda langhe' in 'Tonda romana' vsebujeta največ obeh analiziranih miricetinov. Količina izmerjenega miricetin-heksozida-2 pri 'Tondi langhe' je devetkrat večja od najmanjše pri 'Tondi di giffoni'. Kvercetin-3-ramnozid smo v analizah ugotovili v večjih količinah kot pri obeh miricetinih. Sorta 'Barcelona' vsebuje največ kvercetina, osemkrat več kot sorta z najmanjšo vsebnostjo 'Tonda di giffoni'.

Statistično značilne razlike v vsebnosti fenolov med posameznimi sortami so ugotovili tudi drugi avtorji (Cristofori in sod., 2008). Colarič in sod. (2005) so odkrili razlike med vsebnostjo posameznih fenolnih spojin v različnih kultivarjih oreha. Tomas-Barberan in sod. (2001) pa so ugotovili razlike med kultivarji pri drugih vrstah sadja (slive, nektarine in hruške).

## 5.2 SKLEPI

Primerjava različnih sort lešnikov in različnih načinov obdelave (neobdelani, brez teste in praženi) v vsebnosti fenolov in antioksidativnem potencialu, kolikor je znano, še ni bila izpeljana v enem celovitem poskusu.

Predvidevali smo največjo vsebnost fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala v neobdelanih lešnikih s testo, v kateri so, glede na prejšnje opravljene raziskave, fenolne spojine v večjih koncentracijah. Najmanjše vrednosti smo pričakovali pri praženih lešnikih, katerim testa med praženjem odpade, poleg tega pa so izpostavljeni visokim temperaturam, ki bi lahko bile vzrok dodatnega zmanjšanja fenolnih spojin.

Na podlagi naše raziskave smo oblikovali naslednje sklepe.

- Največje vsebnosti skupnih fenolov smo izmerili pri neobdelanih lešnikih, sledijo lešniki brez teste in praženi lešniki.
- Flavonole (miricetin-heksozid-2, miricetin-3-ramnozid in kvercetin-3-ramnozid) smo ugotovili le v neobdelanih lešnikih. Izjema je le sorta 'Merveille', pri kateri smo izmerili manjše količine kvercetin-3-ramnozida tudi pri plodovih brez teste. Predvidevamo, da se flavonoli nahajajo pretežno v testi lešnika.
- Rezultati meritev galne kisline niso v skladu z našimi predvidevanji, saj se galna kislina pri večini sort v največjih količinah nahaja v praženih lešnikih, za kar nismo našli ustrezne razlage. Galna kislina je spojina, ki prispeva k značilnemu okusu praženih lešnikov.

- Ravno tako niso v skladu z našo hipotezo rezultati meritev flavan-3-olov. V vrednosti epikatehina pri večini sort po obravnavanjih ni statistično značilnih razlik. Pri sortah 'Merveille' in 'Negret' smo največjo vsebnost epikatehina izmerili pri lešnikih brez teste in najmanjšo pri neobdelanih lešnikih.

Po preučitvi nekaterih virov bi lahko zaključili, da se različni fenoli nahajajo v različnih delih plodov, vseeno pa se jih večina nahaja v testi. Pri praženju se vsebnosti nekaterih spojin lahko tudi povečajo, kar prispeva k značilnemu okusu praženih plodov (galna kislina). Nekateri fenoli pa se po naših analizah v večjih količinah nahajajo v jedrcu pod kožico (flavan-3-oli).

- Največji antioksidativni potencial smo izmerili pri neobdelanih lešnikih, ki se statistično značilno razlikuje od potenciala v lešnikih brez teste in praženih lešnikih. Praženi lešniki, v nasprotju z našo hipotezo, premorejo enak antioksidativni potencial kot lešniki brez teste. Padec antioksidativnega potenciala gre torej pripisati odstranitvi teste (mehansko ali termično).

Med sortami smo pričakovali razlike v vsebnosti posameznih fenolov, skupnih fenolov in meritvah antioksidativnega potenciala. Rezultati, ki smo jih dobili, so pokazali razlike med sortami.

- Analize vsebnosti skupnih fenolov so pokazale statistično značilne razlike med sortami le pri neobdelanih lešnikih. Največjo vsebnost skupnih fenolov v neobdelanih lešnikih vsebuje sorta 'Barcelona', trikrat manjšo vsebnost pa 'Istrska leska'.

- Največ epikatehina in katehina vsebuje pri vseh obravnavanjih sorta 'Negret'. Sorta 'Negret' je tudi edina sorta, kjer smo vpliv obdelave ugotovili pri vseh merjenih fenolnih spojinah, skupnih fenolih in antioksidativnem potencialu.

- V vsebnostih flavonolov, ki smo jih ugotovili le v neobdelanih plodovih, smo ravno tako opazili razlike med sortami. Največ miricetin-heksozida-2 vsebujejo sorte 'Tonda langhe', 'Pauetet' in 'Tonda romana', največ miricetin-3-ramnozida 'Tonda romana' in največ kvercetin-3-ramnozida sorti 'Barcelona' in 'Tonda romana'.

V prihodnje bi bilo smiselno narediti še analizo povezave med vsebnostjo skupnih fenolov in antioksidativnim potencialom. Praženi lešniki sicer vsebujejo najmanj fenolnih spojin, a nimajo najmanjšega antioksidativnega potenciala, le-ta je statistično značilno enak lešnikom brez teste. Skupni fenoli se s praženjem porazgubijo, antioksidativni potencial pa

po naših rezultatih ne. K skupnemu antioksidativnemu potencialu prispevajo torej še druge spojine, ki se nahajajo v praženih lešnikih in ne le fenoli.

Potrebno bi bilo narediti še nadaljnje analize praženih plodov glede na vsebnosti fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala, saj praženje predstavlja glavno metodo predelave lešnikov.

## 6 POVZETEK

V diplomskem delu smo proučevali vpliv praženja in odstranitve teste na vsebnost fenolnih spojin in antioksidativnega potenciala pri plodu navadne leske (*Corylus avellana* L.). Poleg tega so nas zanimale še razlike omenjenih parametrov med izbranimi sortami.

Analizirali smo naslednje sorte lešnikov: 'Merveille de bollwiller', 'Tonda gentile romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda gentile delle langhe', 'Tonda di giffoni', 'Barcelona' in 'Istrska dolgoplodna leska'. Lešniki so dozoreli ob enakih agrotehničnih pogojih in v enakih klimatskih razmerah.

Plodove smo razdelili na tri obravnavanja: neobdelani lešniki, lešniki brez teste in praženi lešniki ter jih analizirali na posamezne fenolne spojine (HPLC), skupne fenole in jim izmerili antioksidativni potencial (spektrofotometer).

Največjo vsebnost skupnih fenolov smo izmerili pri neobdelanih plodovih (96,13 mg GAE/kg), sledijo plodovi brez teste (66,18 mg GAE/kg) in praženi lešniki 49,86 mg GAE/kg).

V neobdelanih lešnikih smo izmerili dvakrat večji antioksidativni potencial kot v lešnikih brez teste in praženih lešnikih.

Posamezne merjene fenolne spojine so bile: galna kislina, elagna kislina, epikatehin, katehin, kvercetin-3-ramnozid, miricetin-3-ramnozid in miricetin-heksozid-2.

Največ galne kisline smo pri petih sortah ('Tonda romana', 'Pauetet', 'Negret', 'Tonda langhe' in 'Barcelona') izmerili v praženih lešnikih. To je bila tudi edina fenolna spojina, kjer smo ugotovili povečanje fenola v praženih plodovih.

Flavonole smo ugotovili le v neobdelanih lešnikih, zato predvidevamo, da se miricetin-heksozid-2, miricetin-3-ramnozid in kvercetin-3-ramnozid nahajajo le v testi lešnika. Največ miricetin-heksozida-2 vsebujejo sorte 'Tonda langhe', 'Pauetet' in 'Tonda romana', največ miricetin-3-ramnozida pa 'Tonda romana'. Kvercetin-3-ramnozid se v največjih količinah nahaja pri sorti 'Barcelona' in sorti 'Tonda romana'.

Pri flavan-3-olih značilno izstopa sorta 'Negret', ki med vsemi sortami po vseh obravnavanjih vsebuje največ katehina in epikatehina.

Sorta 'Negret' je edina sorta, kjer je vsebnost vseh posameznih fenolov, skupnih fenolov in antioksidativnega potenciala močno odvisna od obdelave (statistično značilne razlike med neobdelanimi lešniki, lešniki brez teste in praženi lešniki).

Pri 'Istrski leski' pa vsebnost posameznih fenolnih spojin in skupnih fenolov ni odvisna od obdelave lešnikov. Statistično značilne razlike med obravnavanji 'Istrske leske' smo opazili le pri meritvah antioksidativnega potenciala (neobdelani lešniki > lešniki brez teste  $\approx$  praženi).

Opazili smo, da se sorte med seboj razlikujejo v vsebnosti merjenih substanc in v odvisnosti od obdelave.

Opazili smo tudi, da se različni fenoli nahajajo v različnih delih plodov. Nekateri fenoli se po naših analizah v večjih količinah nahajajo v jedrcu pod kožico, večina pa se jih v večjih količinah nahaja v testi. Pri praženju se vsebnosti nekaterih fenolnih spojin lahko tudi povečajo, kar prispeva k značilnemu okusu praženih plodov (galna kislina).

## 7 VIRI

- Abram V., Simčič M., 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. Farmacevtski vestnik 1997, 48: 573-589
- Alasalvar C., Shahidi F., Liyanapathirana C.M., Ohshima T. 2003a. Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) 1. Compositional characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 3790-3796
- Alasalvar C., Shahidi F., Cadwallader K.R. 2003b. Comparison of natural and roasted Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) volatiles and flavor by DHA/GC/MS and descriptive sensory analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 5067-5072
- Alasalvar C., Amaral J.S., Shahidi F., 2006a. Functional lipid characteristics of Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 10177-10183
- Alasalvar C., Karamacä M., Amarowicz R., Shahidi F. 2006b. Antioxidant and antiradical activities in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 4826-4832
- Alasalvar C., Amaral J.S., Satir G., Shahidi F. 2009a. Lipid characteristics and essential minerals of native Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.). Food Chemistry, 113: 919-925
- Alasalvar C., Karamac M., Kosinska A., Rybarczyk A., Shahidi F., Amarowicz R. 2009b. Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 4645-4650
- Alasalvar C., Shahidi F. 2009. Tree nuts, composition, phytochemicals and health effects. CRC Press, Taylor and Francis group, 326 str.
- Amaral J.S., Cunha S., Santos A., Alves R., Seabra R., Oliveira B. 2006. Influence of cultivar and environmental conditions on the triacylglycerol profile of hazelnut (*Corylus avellana* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 449-456
- Ancos B., Gonzalez E.M., Cano M.P. 2000. Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 10: 4565-4570

- Arcan I., Yemenicioğlu A. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 184-188
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28: 25-30
- Colarič M., Veberič R., Solar A., Hudina M., Štampar F. 2005. Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6390-6396
- Cristofori V., Ferramondo S., Bertazza G., Bignami C. 2008. Nut and kernel traits and chemical composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 1091-1098
- Escarpa A., Gonzales M.C. 2000. Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *Journal of Chromatography*, 897:161-170
- Fukuda T., Ito H., Yoshida T. 2003. Antioxidant polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochemistry*, 63: 795-801
- Godec B., Hudina M., Ileršič J., Koron D., Solar A., Usenik V., Vesel V. 2003. Sadni izbor za Slovenijo, 2002. Izdaja, Krško. Alex založništvo: 143 str.
- Hakkinen S., Heinonen M., Karenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanene J., Törrönen R. 1999. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32: 345-353
- Koksal A.H., Artik N., Şimşek A., Güneş N. 2006. Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry*, 99: 509-515
- Kornsteiner M., Wagner K.H., Elmadfa I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, 98: 381-387
- Leong L.P., Shui G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 79: 69-75
- Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J. 1990. Fruit Phenolics. Boca Raton, CRS Press: 378 str.



- Napolitano A., Cascone A., Graziani G., Ferracane R., Scalfi L., si Vaio C., Ritieni A., Fogliano V. 2004. Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6526-6531
- Oliveira I., Sousa A., Valentão P., Andrade P.B., Ferreira I.C.F.R., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L., Pereira J.A. 2007. Hazel (*Corylus avellana* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food Chemistry*, 105: 1018-1025
- Oliveira I., Sousa A., Sa´ Morais J., Ferreira I.C.F.R., Bento A., Estevinho L., Pereira J.A. 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 1801-1807
- Özdemir M., Ackurt F., Yildiz M., Biringen G., Gurcan T., Loker M. 2001. Effect of roasting on some nutrients of hazelnuts (*Corylus Avellena* L.). *Food Chemistry*, 73, 2: 185-190
- Priyadarsini K.I., Khopde S.M., Kumar S.S., Mohan H. 2002. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2200-2206
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436
- Savage G.P., McNeil D.L. 1998. Chemical composition of hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand. *International Journal of Food Science & Technology*, 49: 199-203
- Shahidi F., Alasalvar C., Liyana-Pathirana C.M. 2007. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 1212-1220
- Singleton V., Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Siriwardhana S.S.K.W., Shahidi F. 2002. Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 79: 903-908
- Solar A., 2005. V luščini skrita hranila. *Moj mali svet*, 10: 62-63

- Solar A. 2008. Lupinarji-splošni del. Gradivo razdeljeno na predavanjih za univerzitetni študij agronomije pri izbirnem predmetu sadjarstvo, leto 2008/2009. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Šircelj H. 2001. Ugotavljanje sušnega stresa pri jablani (*Malus domestica* Borkh.) z izbranimi biokemičnimi in fiziološkimi kazalci. Doktorska dizertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 164 str.
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2005. Sadjarstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Taiz L., Zaiger E., 2006. Plant physiology. 4th edition. USA, Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates: 764 str.
- The hazelnut council. <http://www.hazelnutcouncil.org>. (18 jun. 2009)
- Tomas-Barberan F.A., Gil M.I., Cremin P., Waterhouse A.L., Hess-Pierce B., Kader A.A. 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4748-4760
- United states department of Agriculture. USDA. <http://www.usda.gov> (19. jun. 2009)
- Van der Sluis A.A., Dekker M., de Jager A., Jongen W.M.F. 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: Effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3606-3613
- Veberič R., Trobec M., Herbinger K., Hofer M., Grill D., Štampar F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1687-1694
- Wechtersbach L. 2005. Stabilnost polarnih in nepolarnih antioksidantov v kompleksnem matriksu. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 59 str.
- Yu J., Ahmedna M., Goktepe I. 2005. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, 90: 99-206
- Žorž M. 1991. HPLC. Ljubljana, samozaložba: 154 str.

## ZAHVALA

Zahvaljujem se sodelavcem Katedre za sadjarstvo, da so mi omogočili izvedbo poskusa in kakorkoli prispevali k nastanku diplomske naloge.

Zahvaljujem se prof. Dominiku Vodniku za prijaznost, koristne nasvete in strokovne napotke pri diplomski nalogi.

Hvala VSEM agronomčkom za vse skupne trenutke, ki smo jih preživeli v štirih prekratkih letih. Hvala vam!

Marči, hvala za vse čikce, vzdrževanje računalnika in modre odgovore na izpitna vprašanja pet minut pred izpitom.

Anči, Sabina in Silvi(ja), hvala za vse »neumnosti«, ki so se zgodile in ki se še bodo :P .

Tacko, hvala za finačno podporo in vsa bodrenja ob sobotnih kosilih ☺.

Taši, hvala, da si mi bila sestra, najboljša prijateljica in vedno prisotna, »Thank you«.

Milan, hvala za vso potrpežljivost, hvala, da si mi vedno prisluhnil, vedno pomagal in velikokrat razveselil.

Največja zahvala pa gre seveda Tujši! Mami ☺ Hvala za koristne nasvete, male življenske modrosti, »neumnosti«, finančno podporo, prijateljstvo, pomoč in ... hvala za herbarij ☺.

## PRILOGA A

Priloga A1: Vsebnost galne kisline (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	galna kislina (mg/kg)
'Barcelona'	1,10±0,41 <b>a</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,30±0,08 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	1,06±0,20 <b>a</b>
'Negret'	1,74±0,50 <b>a</b>
'Pauetet'	1,93±0,64 <b>a</b>
'Tonda di giffoni'	0,50±0,14 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	1,47±0,47 <b>a</b>
'Tonda gentile romana'	1,90±0,63 <b>a</b>

Priloga A2: Vsebnost elagne kisline (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	elagna kislina (mg/kg)
'Barcelona'	0,55±0,14 <b>ab</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,27±0,09 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	0,35±0,08 <b>a</b>
'Negret'	0,93±0,15 <b>c</b>
'Pauetet'	0,85±0,19 <b>bc</b>
'Tonda di giffoni'	0,41±0,08 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	0,55±0,07 <b>ab</b>
'Tonda gentile romana'	0,35±0,09 <b>a</b>

Priloga A3: Vsebnost katehina (mg/kg) v vseh obravnavanjih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	katehin (mg/kg)
'Barcelona'	0,84±0,21 <b>ab</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,24±0,03 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	1,51±0,38 <b>bc</b>
'Negret'	3,58±0,45 <b>d</b>
'Pauetet'	1,32±0,21 <b>bc</b>
'Tonda di giffoni'	1,52±0,40 <b>bc</b>
'Tonda gentile delle langhe'	2,20±0,49 <b>c</b>
'Tonda gentile romana'	2,09±0,28 <b>c</b>

Priloga A4: Vsebnost epikatehina (mg/kg) v vseh obravnavanjih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	epikatehin (mg/kg)
'Barcelona'	0,38±0,12 <b>a</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	0,17±0,03 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	2,34±0,37 <b>a</b>
'Negret'	9,39±2,21 <b>b</b>
'Pauetet'	0,45±0,11 <b>a</b>
'Tonda di giffoni'	0,47±0,10 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	0,66±0,17 <b>a</b>
'Tonda gentile romana'	0,65±0,27 <b>a</b>

Priloga A5: Vsebnost (mg/kg) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	TPC (mg GAE/kg)
'Barcelona'	79,54±19,69 <b>ab</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	50,61±4,06 <b>a</b>
'Merveille de bollwiller'	62,37±3,20 <b>a</b>
'Negret'	69,17±10,61 <b>a</b>
'Pauetet'	102,02±11,37 <b>b</b>
'Tonda di giffoni'	59,95±5,69 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	64,73±10,88 <b>ab</b>
'Tonda gentile romana'	77,39±9,73 <b>a</b>

Priloga A6: Antioksidativni potencial (mg AC/100 g) v vseh obravnavanih skupaj (neobdelani, brez teste in praženi) v različnih sortah lešnikov

SORTA	antioksidativni potencial (mg AC/100 g)
'Barcelona'	14,14±2,52 <b>b</b>
'Istrska dolgoplodna leska'	12,18±1,79 <b>b</b>
'Merveille de bollwiller'	11,68±0,65 <b>ab</b>
'Negret'	9,64±2,08 <b>ab</b>
'Pauetet'	13,44±0,80 <b>b</b>
'Tonda di giffoni'	6,38±0,54 <b>a</b>
'Tonda gentile delle langhe'	9,85±2,31 <b>ab</b>
'Tonda gentile romana'	13,95±1,85 <b>b</b>

## PRILOGA B

Priloga B1: Povprečna vsebnost galne kisline (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	galna kislina (mg/kg)
Neobdelani	0,47±0,05 <b>a</b>
Brez teste	0,94±0,09 <b>a</b>
Praženi	2,34±0,38 <b>b</b>

Priloga B2: Povprečna vsebnost elagne kisline (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	elagna kislina (mg/kg)
Neobdelani	0,74±0,09 <b>b</b>
Brez teste	0,54±0,09 <b>ab</b>
Praženi	0,33±0,03 <b>a</b>

Priloga B3: Povprečna vsebnost katehina (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	katehin (mg/kg)
Neobdelani	1,80±0,28 <b>ab</b>
Brez teste	2,13±0,32 <b>b</b>
Praženi	1,06±0,17 <b>a</b>

Priloga B4: Povprečna vsebnost epikatehina (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	epikatehin (mg/kg)
Neobdelani	0,91±0,22 <b>a</b>
Brez teste	2,82±1,13 <b>a</b>
Praženi	1,71±0,62 <b>a</b>

Priloga B5: Povprečna vsebnost kvercetin-3-ramnozida (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	kvercetin-3-ramnozid (mg/kg)
Neobdelani	1,81±0,21 <b>b</b>
Brez teste	0,01±0,01 <b>a</b>
Praženi	0,00±0,00 <b>a</b>

Priloga B6: Povprečna vsebnost miricetin-heksozida-2 (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	miricetin-heksozid-2 (mg/kg)
Neobdelani	0,28±0,04 <b>b</b>
Brez teste	0,00±0,00 <b>a</b>
Praženi	0,00±0,00 <b>a</b>

Priloga B7: Povprečna vsebnost miricetin-3-ramnozida (mg/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	miricetin-3-ramnozid (mg/kg)
Neobdelani	0,45±0,05 <b>b</b>
Brez teste	0,00±0,00 <b>a</b>
Praženi	0,00±0,00 <b>a</b>

Priloga B8: Povprečna vsebnost TPC (mg GAE/kg) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	TPC (mg GAE/kg)
Neobdelani	96,13±7,54 <b>c</b>
Brez teste	66,18±5,77 <b>b</b>
Praženi	49,86±2,81 <b>a</b>

Priloga B9: Povprečni antioksidativni potencial (mg AC/100 g) v vseh sortah lešnikov glede na obravnavanja

OBRAVNAVANJE	antioksidativni potencial (mg AC/100 g)
Neobdelani	16,65±1,13 <b>b</b>
Brez teste	8,42±0,55 <b>a</b>
Praženi	9,16±0,75 <b>a</b>



