

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tomaz PUŠNIK

**RAZGRADNI PRODUKTI OKSIDACIJE PRI SKLADIŠČENJU
MLETIH OREHOV**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DECOMPOSITION PRODUCTS OF OXIDATION DURING
STORAGE OF GROUND WALNUTS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Vzorci orehov so bili nabrani v sadjarskem centru Gačnik pri Mariboru leta 2005. Orehi so bili skladiščeni na Biotehniški fakulteti na Oddelku za živilstvo. Kemijske analize so bile opravljene v laboratoriju Katedre za tehnologijo rastlinskih živil na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomske naloge določila doc. dr. R. Vidriha ter za recenzentko doc. dr. L. Gašperlin.

Mentor: doc. dr. Rajko Vidrih

Recenzentka: doc. dr. Lea Gašperlin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora.

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Tomaž Pušnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 634.51:543.635.3:664.8.03(043)=863
- KG mleti orehi / skladiščenje mletih orehov / sorte orehov / tvorba hidroperoksidov / razgradnja hidroperoksidov / oksidacija maščobnih kislin / maščobnokislinska sestava / razgradni produkti oksidacije maščob / žarkost orehov / kontrolirana atmosfera / zrak-dnevna svetloba / zrak-tema / dušik-dnevna svetloba / kisik-dnevna svetloba / kisik-tema
- AV PUŠNIK, Tomaž
- SA VIDRIH, Rajko (mentor) / GAŠPERLIN, Lea (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2007
- IN RAZGRADNI PRODUKTI OKSIDACIJE PRI SKLADIŠČENJU MLETIH OREHOV
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XI, 62 str., 13 pregl., 20 sl., 46 vir.
- IJ SI
- JI sl/en
- AI Namen diplomske naloge je bil določiti razgradne produkte oksidacije, ki nastanejo pod različnimi skladiščnimi pogoji. Vzorce petih sort orehov Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot in Ronde de Montignac smo izpostavili zraku-dnevni svetlobi, zraku-temi, dušiku dnevni svetlobi pri temperaturi 60 °C ter kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi pri sobni temperaturi. Zanimala nas je razlika med maščobnokislinsko sestavo orehov pred in po skladiščenju. Povprečna začetna maščobnokislinska sestava orehov v ut. % je: 7,75 % palmitinske kisline, 2,37 % stearinske kisline, 17,65 % oleinske kisline, 60,94 % linolne kisline in 11,29 % α -linolenske kisline. Delež nenasičenih maščobnih kislin predvsem α -linolenske in linolne kisline se je najbolj zmanjšal pri izpostavitvi vzorcev zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v dušiku-dnevni svetlobi. Med razgradnimi produkti smo zaznali aldehide (heksanal, 2-pentanal, tt-heptadienal) in višje alkohole (1-okten-3-ol); nekateri izmed višjih alkoholov so lahko tudi osnovni sestavni del arome orehov (2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol, 2-metil-1-propanol in 3-metil-1-butanol). Največ aldehydov je nastalo pri skladiščenju vzorcev na zraku-dnevni svetlobi pri 60 °C, najmanj pa v kisikovi atmosferi pri sobni temperaturi.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 634.51:543.635.3:664.8.03(043)=863
- CX ground walnuts / ground walnuts storage / sort of walnuts / hidroperoxide formation / hidroperoxide decomposition / oxidation of fatty acid / fatty acid composition / decomposition products of lipids oxidation / rancidity of walnuts / supervised atmosphere / air-daylight / air-dark / air-daylight / oxygen-daylight / oxygen-dark
- AU PUŠNIK, Tomaž
- AA VIDRIH, Rajko (supervisor) / GAŠPERLIN, Lea (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2007
- TI DECOMPOSITION PRODUCTS OF OXIDATION DURING STORAGE OF GROUND WALNUTS
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO XI, 62 p., 13 tab., 20 fig., 46 ref.
- LA SI
- AL sl/en
- AB The purpose of the thesis was to determine the oxidation products of ground walnuts stored under different conditions. The ground walnut of five species Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot and Ronde de Montignac were exposed to air-daylight, air-dark, nitrogen-daylight at the temperature of 60 °C and pure oxygen-daylight as well as pure oxygen-dark at room temperature. The fatty acid composition of walnut before and after storing was determined. For fatty acid composition before storage 7.75 w. % belong to palmitic acid, 17.65 w. % to oleic acid, 60.94 w. % to linoleic acid and 11.29 w. % to α -linoleic acid. The ratio of the unsaturated fatty acids has decreased the most when the samples were stored in air-daylight and the least when exposed to nitrogen-daylight. Among the degradation products aldehydes (hexanal, 2-pentanal, tt-heptadienal) and higher alcohols (1-octen-3-ol, 2-butanol, 2-propanol, 1-hexanol, 1-pentanol, 1-butanol, 2-methyl-1-propanol in 3-methyl-1-butanol) were determined. Most aldehydes were accumulated in the samples stored in air-daylight at 60 °C compared to nitrogen-dark.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN NALOGE IN HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OREH	3
2.1.1 Botanični izvor oreha	3
2.1.2 Morfologija oreha	4
2.1.2.1 Plod oreha	5
2.1.3 Sorte orehov	6
2.1.3.1 Elit	6
2.1.3.2 Franquette	7
2.1.3.3 Ronde de Montignac	7
2.1.3.4 Rasna	8
2.1.4 Obiranje in skladiščenje oreha	8
2.1.5 Uporaba oreha	10
2.2 KEMIJSKA SESTAVA OREHOVEGA JEDRCA	10
2.2.1 Maščobnokislinska sestava orehovitih jedrc	11
2.2.2 Mineralna sestava orehovitih jedrc	12
2.2.3 Vitamini v orehih	12
2.2.4 Prehranska vrednost orehov	12
2.3 MAŠČOBE	13
2.3.1 Maščobne kisline	14
2.3.1.1 Nasičene maščobne kisline	15
2.3.1.2 Nenasičene maščobne kisline	15

2.4 SPREMEMBE V TRIACILGLICEROLIH	16
2.4.1 Encimska hidroliza	16
2.4.2 Oksidacija nenasičenih maščobnih kislin	17
2.4.2.1 Avtooksidacija	18
2.4.2.1.1 Avtooksidacija oleinske kisline	20
2.4.2.1.2 Avtooksidacija linolne kisline	21
2.4.2.1.3 Avtooksidacija linolenske kisline	21
2.4.2.1.4 Avtooksidacija triacilglicerolov	23
2.4.2.2 Fotooksidacija	23
2.4.2.2.1 Tip I fotooksidacije	24
2.4.2.2.2 Tip II fotooksidacije	24
2.4.2.2.3 Fotooksidacija oleinske maščobne kisline	25
2.4.2.2.4 Fotooksidacija linolne maščobne kisline	25
2.4.2.2.5 Fotooksidacija linolenske maščobne kisline	26
2.4.2.3 Oksidacija z encimom lipoksigenazo	27
2.4.3 Vpliv H₂O na nastanek hidroperoksidov	28
2.5 RAZGRADNJA HIDROPEROKSIDOV	28
2.5.1 Nastanek sekundarnih produktov	29
2.5.2 Vpliv ionov kovin na razpad hidroperoksidov	32
2.5.3 Vpliv vodne aktivnosti na razgradne produkte	33
2.5.4 Nastanek hidroksi-epidioksidov	33
2.5.5 Inhibicija peroksidacije lipidov	34
2.5.5.1 Antioksidativna aktivnost	34
3 MATERIAL IN METODE DELA	36
3.1 VZORCI ZA ANALIZO	36
3.1.1 Priprava vzorcev za analizo	36
3.2 ANALITSKE METODE	37
3.2.1 Določanje maščobnih kislin kot metilnih estrov (Garces in Mancha, 1993)	37
3.2.2 Neposredno določanje lahkohlapnih razgradnih produktov z GC-MS	38
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	39
4 REZULTATI	40
4.1 VSEBNOST MAŠČOBNIH KISLIN	40
4.1.1 Vsebnost maščobnih kislin pred skladiščenjem	40

4.1.2 Vsebnost maščobnih kislin po skladiščenju	42
4.2 VSEBNOST RAZGRADNIH PRODUKTOV OKSIDACIJE	47
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	53
5.1 RAZPRAVA.....	53
5.2 SKLEPI.....	57
6 POVZETEK	58
7 VIRI.....	60
8 ZAHVALA	63

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Kemijska in energijska sestava 100 g orehovitih jedrc (Amaral in sod., 2003; Holand in sod., 2004; Kulier, 1996; Souci in sod., 2000)	11
Preglednica 2: Deleži najpogosteje zastopanih maščobnih kislin v orehovem jedrcu (Amaral, 2003; Savage in sod., 1999; Souci in sod., 2000)	11
Preglednica 3: Strukture najpogostejših maščobnih kislin (Belitz in sod., 2004)	15
Preglednica 4: Povprečna maščobnokislinska sestava (ut. % MK od skupnih MK) petih sort orehov (Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot in Ronde de Montignac) letnika 2005 z izračunanimi statističnimi parametri	40
Preglednica 5: Razlike v maščobnokislinski sestavi (ut. % MK od skupnih MK) različnih sort orehov letnika 2005 (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	41
Preglednica 6: Razlike v maščobnokislinski sestavi različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	42
Preglednica 7: Vpliv dvomesečnega skladiščenja različnih sort orehov letnika 2005 pri 60 °C, hranjenih na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi, na maščobnokislinsko sestavo (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	44
Preglednica 8: Razlike v maščobnokislinski sestavi različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	46
Preglednica 9: Razlike v količini razgradnih produktov različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	47
Preglednica 10: Razlike v vsebnosti razgradnih produktov med dvema sortama orehov (Grosvert in Ronde de Montignac) letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	49
Preglednica 11: Vpliv enomesečnega skladiščenja različnih sort orehov letnika 2005 pri sobni temperaturi, hranjenih v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi na razgradne produkte (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	50
Preglednica 12: Razlike v vsebnosti razgradnih produktov različnih sort orehov letnika 2005 po enomesečnem skladiščenju pri sobni temperaturi, hranjenih v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi (Duncanov test, $\alpha=0,05$)	52
Preglednica 13: Primerjava lastnih rezultatov maščobnokislinske sestave z rezultati iz literature (ut. % od skupnih maščobnih kislin)	53

KAZALO SLIK

Slika 1:	Navadni oreh (<i>Juglans regia</i>).....	4
Slika 2:	Trdo orehovo lupino pokriva zelena, mesnata lupina.....	5
Slika 3:	Orehovo jedrce v luščini.....	5
Slika 4:	Plodovi oreha sorte Elit.....	6
Slika 5:	Plodovi oreha sorte Franquette.....	7
Slika 6:	Razdelitev lipidov glede na zmožnost tvorbe mila (Belitz in sod., 2004).....	13
Slika 7:	Nastanek triacilglicerola z zaestrenjem med glicerolom in maščobnimi kislina (Klofutar in sod., 1998).....	14
Slika 8:	Potrebna energija za odcepitev H atoma (Belitz in sod., 2004).....	17
Slika 9:	Avtooksidacija nenasičenih maščob – koncentracija prooksidanta: 1 – nizka, 2 – visoka (Belitz in sod., 2004).....	18
Slika 10:	Mehanizem avtooksidacije oleinske maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998).....	20
Slika 11:	Mehanizem avtooksidacije linolne maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998).....	21
Slika 12:	Mehanizem avtooksidacije linolenske maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998).....	22
Slika 13:	Fotooksidacija lipidov ob prisotnosti vzpodbujevalca tipa II (Frankel, 1998; Gordon, 2001).....	24
Slika 14:	Oksidacija oleinske maščobne kisline s singlet kisikom (Frankel, 1998).....	25
Slika 15:	Oksidacija linolne kisline s singlet kisikom (Frankel, 1998).....	26
Slika 16:	Homolitična β -cepitev monohidroperoksida nastalega iz maščobne kisline (Frankel, 1998).....	30
Slika 17:	Nastanek sekundarnih produktov pri razgradnji hidroperoksida (Gordon, 2001).....	31
Slika 18:	Razgradnja 13-hidroperoksida iz linolne MK in nastanek heksanala (Gordon, 2001).....	31
Slika 19:	Redukcija do alkohola (Zelenik-Blatnik, 1992).....	32
Slika 20:	Nastanek hidroperoksid-epidioksida (Belitz in sod., 2004).....	34

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BHA	butiliran hidroksianizol
BHT	butiliran hidroksitoluen
D_{R-H}	potrebna energija za odcepitev vodikovega atoma
EDTA	etilendinitrilooctna kislina
GC-MS	plinska kromatografija z masnim detektorjem
IP	indukcijska perioda
M	molarna koncentracija (mol/l)
MK	maščobne kisline
n-3	omega 3 maščobna kislina
n-6	omega 6 maščobna kislina
n-9	omega 6 maščobna kislina
NaOH	natrijev hidroksid
PG	propil galat
ppb	parts per bilion (delov na 10^9)
ppm	parts per milion (delov na 10^6)
PŠ	peroksidno število
SPMA	solid phase microextraction
TBHQ	tetra butil hidrokinon
UV	ultravijoličen spekter svetlobe
VMK	višje maščobne kisline

1 UVOD

Oreh (*Juglans regia* L.) spada v družino *Juglandaceae* in rod *Juglans* ter ga uvrščamo v skupino lupinastega sadja. Poleg navadnega oreha, ki je najbolj uporaben v sadjarstvu, obstajajo še številne druge vrste, ki se uporabljajo v industriji za izdelovanje sintetičnih smol, v industriji usnja, za proizvodnjo zdravil in kozmetičnih sredstev. Njegov les je cenjen za izdelavo furnirja, pohištva, ladij in kopit za puške. Največ ga gojijo na Kitajskem, v ZDA, Iranu, Turčiji, Indiji, Franciji in Romuniji. Cenili so ga že starodavni narodi, Grki, Rimljani. Sancin (1988) navaja, da številni pesniki in pisatelji opisujejo oreh kot udomačeno rastlino. Vergil (rimski pesnik) in Ovid sta zapisala, da sta pri poročnem obredu novoporočenca metala plodove orehov mlajšim in s tem skušala dokazati, da se je s tem zaključilo njuno igrivo mladostno obdobje.

Drevo oreha je mogočno z visokim, ravnim deblom, ki se razveja v močno in široko krošnjo. Ima močan koreninski sistem, ki seže globoko v zemljo in rastlino močno pritrdi v tla. Spada v skupino enodomnih rastlin. Oreh je vetrocvetna rastlina in ne potrebuje čebel in drugih žuželk za opraševanje. Najbolje mu ustrezajo umirjena in topla vinogradniška območja z enakomerno razporejenimi temperaturami. Je izrazit helifit, zaradi česar ga sadimo na dobro osvetljenih legah in z dovolj širokimi sadilnimi razdaljami.

Orehi so eno od živil, ki skoraj popolnoma ustrezajo zdravi prehrani. Vsebujejo veliko maščob, ampak imajo tako maščobnokislinsko sestavo, ki zmanjša tveganje za nekatere bolezni. Orehi poleg esencialnih maščobnih kislin, vsebujejo tudi druge sestavine, ki potencialno ugodno vplivajo na naše zdravje, kot na primer elagična kislina, γ -tokoferol, nizko razmerje arginin:lizin in nekatere pomembne minerale. V zadnjem času so ugotovili celo vsebnost melatonina (Madžarević, 2006).

Poleg njihove visoke prehranske vrednosti pa so orehi zaradi visoke vsebnosti večkrat nenasičenih maščobnih kislin (približno 70 ut. %) podvrženi hitrim oksidacijskim kvarom. Maščobe v orehih igrajo pomembno življensko vlogo v celičnem metabolizmu kot visoko koncentrirana oblika energije in so tudi vir v maščobi topnih vitaminov. 100 g orehovitih jedrc ima energijsko vrednost približno 694 kcal oz. 2914 kJ. Maščobe so v celicah pomembne tudi kot skladiščne rezerve energije. Pri oksidaciji maščob se najprej tvorijo hidroperoksidi, ki so podvrženi nadaljni oksidaciji ali pa razgradnji na sekundarne produkte kot so aldehidi, ketoni, kisline in alkoholi. V mnogih primerih sekundarni razgradni produkti vplivajo na vonj, okus, aromo, prehransko vrednost in celotno kvaliteto. Orehova jedrca postanejo zaradi tvorbe sekundarnih produktov oksidacije žarka in niso senzorično sprejemljiva.

Za preprečitev nastanka žarkosti je potrebno upoštevati primerne skladiščne pogoje, saj lahko le na ta način uspešno ohranimo senzorično in prehransko kakovost mletih orehov. Preprečitev oksidacijskega kvara je pomembno tako za pridelovalca in predelovalca orehov kot tudi za vsakega, ki je vpleten v celotno živilsko verigo od pridelovalca do potrošnika. Inhibicija oksidacije maščobnih živil se lahko doseže s preprečitvijo dostopa kisika, uporabo nizkih temperatur pri skladiščenju, inaktivacije encimov, ki pospešujejo oksidacijo in s primernim pakiranjem oziroma hranjenjem v ustrezne embalažne materiale.

1.1 NAMEN NALOGE IN HIPOTEZE

Namen naše raziskave je bil določiti razgradne produkte oksidacije po končanem skladiščenju mletih orehov, njihovo maščobnokislinsko setavo pred in po skladiščenju pri različnih pogojih.

Oreh vsebuje približno 70 ut. % večkrat nenasičenih maščobnih kislin, ki so zaradi dvojnih vezi, zelo izpostavljene oksidativnemu kvaru. Razgradni produkti oksidacije kot so aldehidi, ketoni in alkoholi so glavne komponente, ki nastanejo pri oksidaciji nenasičenih maščobnih kislin in prispevajo k neprijetni aromi orehov. To imenujemo žarkost in jo senzorično zaznamo, ko je količina aldehydov v vzorcu še zelo nizka.

Na podlagi dosedanjih raziskav so hipoteze našega raziskovalnega dela naslednje:

- pri daljšem skladiščenju mletih orehov nastanejo razgradni produkti oksidacije, ki jih bomo določili s pomočjo plinske kromatografije,
- če izpostavimo vzorce mletih orehov svetlobi in zračni atmosferi, bo nastala večja količina razgradnih produktov oksidacije med skladiščenjem,
- ob predpostavki, da so večkrat nenasičene maščobne kisline bolj podvržene oksidacijskim procesom, se bo njihov delež v oksidiranem vzorcu mletih orehov zmanjšal.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OREH

Oreh je stara sadna vrsta. Našli so ga že v najstarejših arheoloških najdiščih. Številni raziskovalci so skušali ugotoviti prvotno domovino oreha in najverjetnejša hipoteza pravi, da je najprej uspeval na Kitajskem, oziroma pod himalajskim gorovjem. Od tod se je v stoletjih razširil v Indijo, nato Perzijo, Grčijo in druge mediteranske dežele (Sancin, 1988).

Kolonisti iz Velike Britanije so ga prenesli v Severno Ameriko, kjer so ga poimenovali Angleški oreh, da se je ločil od domorodnega Ameriškega črnega oreha (Prasad, 2003).

Oreh so znali ceniti že starodavni narodi. V antični dobi so z jedrci krepili moč slabotnih in onemoglih. Stari Grki so uporabljali oreh v kozmetične namene, Rimljani pa so ga cenili predvsem kot živilo in zdravilo. Z njim so čistili tudi boga Jupitra, zato so razglašali orehovo drevo za sveto (Ocepek, 1995).

Čeprav je najbolj komercialno pomembna vrsta nedvomno Angleški oreh, rastejo še mnoge druge vrste po svetu. Od celotne količine pridelanih orehov na svetu (1 183 898 t), je Kitajska vodilna v pridelavi orehov (300 000 t v letu 2000). Ostale pomembne države pri pridelavi orehov so ZDA (222 260 t), Iran (142 906 t), Turčija (122 000 t), Indija (31 000 t), Francija (27 780 t) in Romunija (25 000 t) (Prasad, 2003).

V Sloveniji raste oreh tako rekoč povsod – na morju in v notranjosti do nadmorske višine 1000 m. Orehe je pri nas smotrno pridelovati do nadmorske višine 800 m. V Sloveniji so najbolj razširjeni v severovzhodni Sloveniji.

Po statističnih podatkih je bilo leta 1955 v Sloveniji 308 176 dreves. V pozebi leta 1984/85 je v Sloveniji propadlo okoli 30 odstotkov orehov, 20 odstotkov pa je bilo hudo prizadetih, vendar so se obrasli. V zadnjem času se v Sloveniji spet sadi več orehov, med drugim je bilo zasajenih tudi nekaj novih nasadov, tako da je bilo leta 1988 v Sloveniji še 212 332 orehovitih dreves. Pridelek pa je majhen, saj se pridelava manj kot kilogram na prebivalca, poraba v različnih oblikah pa je precej večja (Ocepek, 1995).

2.1.1 Botanični izvor oreha

Oreh uvrščamo v družino *Juglandaceae* in rod *Juglans*, ki zajema več vrst, med katerimi pa so za sadjarske namene pomembne le nekatere. Najpomembnejše mesto zavzema vsekakor *Juglans regia* (navadni oreh), ki zajema številne sorte našega oreha, manjšega pomena pa so še *Juglans nigra* (ameriški ali črni oreh), *Juglans cinerea* (ameriški oreh), *Juglans sieboldiana* (japonski oreh), *Juglans pterocarpa* (kavkaški oreh), *Juglans insularis* (kubanski oreh), *Juglans boliviensis* (bolivijski oreh), *Juglans mandshurica* (mandžurski oreh) itd.

Za pridobivanje sadja izkoriščamo izključno navadni oreh (*Juglans regia*), ostale vrste pa se uporabljajo za pridelavo cenjenega orehovega lesa in nekatere vrste kot podlage za navadni oreh (Sancin, 1988).

2.1.2 Morfologija oreha

Oreh se razvije v mogočno drevo z visokim in ravnim deblom, ki se razvija v močno in široko krošnjo. Malo sadnih plemen lahko doseže take razsežnosti kot oreh, saj niso redki primeri, ko zraste 30 in več metrov visoko, deblo pa lahko ima 2-3 m obsega. Krošnja večkrat doseže 10 do 15 m premera in drevo z lahkoto dočaka nad 100 let starosti (Sancin, 1988).



Slika 1: Navadni oreh (*Juglans regia*)

Cvetenje orehov nastopi pri nas navadno v mesecu aprilu. Eksokarp ali zelena lupina je mesnata, na začetku zelena, ob zorenju pa potemni do skoraj črne barve. Endokarp (luščina) je olesenel in tanek ter obkroža seme, oziroma jedrce, ki je razdeljeno na dva dela in je užitno. Vmesna olesenela pregrada se imenuje jedrovina. Jedrca vsebujejo okoli 57 do 60 % maščob in okoli 18 % beljakovin, veliko mineralnih snovi ter vitaminov.

Pridelki oreha se gibljejo od 30 do 50 kg na drevo, v nekaterih primerih pa celo 200 ali 300 kg, kar znaša pri 50 % izplenu jedrc 15 do 25 kg oziroma 100 do 150 kg. En kg orehovitih jedrc vsebuje približno 6000 kcal. Jedrca uporabljamo sveža, v konditorski in likerski industriji, v slaščičarnah in za ekstrakcijo olja (Sancin, 1988).

2.1.2.1 Plod oreha

Orehov plod je zgrajen iz zunanega zelenega ovoja – eksokarpa ali lupine in trdnega svetlo rjavega endokarpa ali olesenele luščine, v kateri se nahaja seme ali jedrce. Lupina se razvije iz zunanega dela plodnice in je debeline od 3 do 5 mm, kar je sortna značilnost. V času zorenja plodov tkivo lupine počni in se loči od luščine (Prasad, 2003).



Slika 2: Trdo orehovo lupino pokriva zelena, mesnata lupina

Luščina je sestavljena iz dveh simetričnih polovic, ki sta zrasli s šivom. Včasih luščini po šivu nista dobro zaprti, kar je pomanjkljivost sorte. Površina luščine ni nikoli povsem gladka. Isto velja tudi za njen spodnji del.

Oblika plodov je lahko različna in je največkrat odvisna od sorte. Lahko je kopasta, okrogla, jajčasta, srčasta, cilindrična itn. Tudi vrh in dno ploda sta lahko različnih oblik. Jedrce je sestavljeno iz dveh polovic in ju loči tanka olesenela pregrada, ki se zlahka zlomi. Bolj je razvita pri dnu kot pri vrhu jedrca. Jedro predstavlja 40-60 % orehovega ploda (Prasad, 2003).



Slika 3: Orehovo jedrce v luščini

Masa orehovega plodu se giblje med 8 in 15 g, masa orehovega jedrca pa med 3,5 in 5 g, odvisno od sorte (Caglarirmak, 2003). Za konkretno sorto francoskega porekla Franquette so Bernik in sod. (2004) ugotovili maso nekje med 10,65 in 11,45 grami. Tudi masa ostalih dveh sort (Parisiene in G-139) je bila v tem razponu z rahlim odstopanjem.

Razmerje med maso jedrca in maso celega plodu je za sorto Franquette nekje okoli 47,1 % (Bernik in sod., 2004). Medtem, ko Holland in sod. (2004) navajajo nekoliko nižje razmerje med maso orehovega jedra in maso celega oreha (43 %), pa Caglarirmak (2003) poroča o razmerju med maso jedra in celega oreha med 48 in 50 %, kar je odvisno od posamezne sorte oreha.

2.1.3 Sorte orehov

Čeprav poznamo številne sorte oreha, dosegajo primerno kvaliteto le nekatere med njimi.

Od orehove sorte se zahteva, da je visokorodna in da vsebujejo jedrca čimveč beljakovin in maščob, da so plodovi v grozdičih, da je izkoristek jedrca čim večji po teži (vsaj 50 %), da je luščina tanka in mehka (polmehkužci), da je rast drevesa šibka, da zgodaj zarodi, da pozno cveti, ker se na ta način izogne spomladanskim pozebam in, da tvori plodove apomiktično (brez oplodnje).

Glede na trdoto luščine se delijo orehi na dve skupini in sicer:

1. koščaki s trdo, koščeno lupino,
2. mehkužci z mehko luščino, ki počí že pod pritiskom prstov (Sancin, 1988).

2.1.3.1 Elit

Sorta elit je selekcija Biotehniške fakultete v Ljubljani, izvira pa iz sejanca neznane francoske sorte. Zaradi poznega cvetenja je odporen na spomladanske pozebe. Cveti pozno, zori pa konec oktobra. Dobro ga oprashaujejo kultivarji G-26, Parisienne, Franquette in MB-24. Precej pa je odporen proti rjavi pegavosti (Črnko in sod 1990).



Slika 4: Plodovi oreha sorte Elit

To je sorta, ki ima redno in dobro rodnost. Izplen jedrca je 46 %. Plod je srednje velik in težak približno 10 g. Je ovalne oblike, z nekoliko sploščenim vrhom. Zelena lupina je debela in zrel plod sam izpade iz nje. Luščina ni popolnoma zapolnjena z jedrcem in se ju zlahka loči. Je svetle barve, gladkega in prijetnega videza. Žilice na svetlo rumeni kožici jedrca so redke in slabo vidne. Okus te sorte orehov je sladek, blag in skladen.

Kultivar elit je primeren za gojenje v vrtovih in nasadih po vsej Sloveniji, tudi na nevinogradniških legah. Je dober opravevalen kultivar pozno cvetočih kultivarjev (Črnko in sod. 1990).

2.1.3.2 Franquette

Sorta franquette je francoskega izvora z območja Isère. Ima zelo odporne brste in je tako odporen na spomladanske pozebe, ampak nekoliko občutljiv na nizke temperature, ki se pojavljajo zgodaj jeseni, saj ima dolgo rastno dobo. Dozori v drugi tretjini oktobra. Nekoliko je občutljiv na bakterijsko pegavost, vendar odporen na glivično (zlasti plodovi).

Rodi redno in dobro. Izkoristek jedra je okoli 46 %. Srednje veliki plodovi so težki od 9,5 do 12 g. So podolgovato eliptični, z močno izraženo konico in šivom. Luščina svetle barve je tanka, čvrsta in dobro zaprta. Luščina je odlično zapolnjena z jedrcem in se ju zlahka loči. Jedrce ima svetlo rumeno kožico in odličen okus.

Drevo je nežnejše in nekoliko pokončne rasti.

Franquette je pomemben predvsem kot opravevalni kultivar. Zaradi poznega odganjanja (4 do 5 dni za sorto elit) je primeren tudi za nevinogradniška območja, vendar se morajo izbrati rastišča, ki niso izpostavljena zgodnjim jesenskim slanam (Črnko in sod. 1990).



Slika 5: Plodovi oreha sorte Franquette

2.1.3.3 Ronde de Montignac

Ronde de Motignac je postranska sorta francoskega izvora. Tako kot sorta Franquette brsti pozno, po prvem maju. Na glivično in bakterijsko pegavost je skoraj odporen. Primeren je samo za opravevanje sorte Franquette.

Izkoristek jedrc je 48 %. Ima dobro rodnost. Drobnejši okroglasti plodovi tehtajo okoli 9 g. Rast drevesa je šibkejša, z nekoliko pokončnejšo krošnjo (Godec, 1998).

2.1.3.4 Rasna

Sorta Rasna je odbrana iz populacije v Vojvodini in tudi spada med postranske sorte. Brsti v zadnji dekadi aprila. Je srednje občutljiva na glivično ter zelo malo na bakterijsko pegavost.

Izkoristek jedrca je okoli 45 %. Rodi zgodaj in dobro. Podolgovato okroglasti plodovi imajo na vrhu izrazito konico in tehtajo od 12 do 14 g. Gladka luščina je nekoliko temneje obarvana.

Rast drevesa je srednje bujna z zelo ugodnim habitusom – krošnja je široka in dobro obraščena.

Za kultivar so najprimernejše vinogradniške lege ali ugodne mikrolokacije z redkejšimi, poznimi spomladanskimi pozebami (Godec, 1998).

2.1.4 Obiranje in skladiščenje oreha

Čas obiranja orehov se določi na podlagi števila orehov s počeno lupino, zato je najugodnejši trenutek za obiranje, ko je počenih 75 % lupin plodov. Po obiranju je potrebno orehe zbrati in odnesti na pranje v cilindrične žičnate bobne, v katerih se dodatno očistijo pod curkom tople vode, kar traja 2 do 3 minute. Sledi sušenje opranih orehov, da se odstrani odvečno vlago iz luščine in jedra. Tako je omogočeno učinkovitejše beljenje, preprečevanje rasti plesni, temnenja površine in ustali se teža oreha. Ko so orehi osušeni, je naslednji postopek postopek beljenja luščine v 2 % raztopini NaOH, 1 do 2 % solni kislini ali z žveplanjem. Tako sta odstranjena umazanija in lise, orehi pa postanejo svetlejši in bolj čisti. Po beljenju se orehi dosušujejo z močnim kroženjem zraka, da se jim odvzame vodo ki so jih absorbirali med beljenjem (Gvozdenović, 1989).

Žarkost je eden izmed prvih znakov kvarjenja orehov zaradi visoke vsebnosti nenasičenih maščobnih kislin. Visoka temperatura in vlažnost kot tudi sončna svetloba spodbujajo razvoj žarkosti v orehih zato so najboljši skladiščni pogoji nizka temperatura, nizka vlažnost in čim manj svetlobe. Aflatoksin predstavlja naslednji problem. Nastanek aflatoksina je povezan s časom, ko se začnejo orehi sušiti, zato je potrebno hitro preiti kritično cono vlažnosti. Skladiščenje pod primerno temperaturo in vlažnostjo preprečuje naknadno kontaminacijo, poleg tega pa so že dobro razvite metode za uničenje aflatoksinov v orehih in orehovem olju (Prasad, 2003).

Aflatoksin je mikotoksin, ki ga proizvajajo mnoge vrste plesni *Aspergillus*. Aflatoksini so toksični in kancerogeni.

Uporabljajo se zelo izpopolnjeni stroji za čiščenje, sortiranje, beljenje, trenje in pakiranje orehov. Barva orehove lupine je zelo pomembna, zato se uporabljajo mnoge metode za določevanje stopnje potemnitve orehove lupine. Stopnja potemnitve je zrcalo obdelave vseh postopkov predelave in skladiščenja. Orehi se, preden gredo na police, blanširajo tako, da se potopijo za 5-10 s v vodno raztopino belilnega praška in natrijevega karbonata z majhno količino žveplove kisline za stabilizacijo barve tekočine. Po drugi metodi za

ohranjanje naravne barve oreha se orehi izpostavijo etilenu (en del etilena na 100 delov zraka). Po luščenju in čiščenju se dajo orehi v košare in se sušijo s toplim zrakom (ne več kot 43 °C), da se zmanjša vlaga v orehih. Najboljši skladiščni pogoji za orehe so 0-2 °C s preprihovanjem z zrakom relativne vlažnosti 65-75 % (Prasad, 2003).

Pri postopku sušenja Kadivec (2005) ugotavlja, da se orehi s počeno lupino sušijo hitreje kot orehi s celo lupino pri temperaturi sušenja 40 °C, vendar so maščobe orehov s počeno lupino nekoliko bolj oksidirane od maščob orehov s celo lupino. Oksidiranost maščob je avtorica Kadivec (2005) merila z peroksidnim številom in ugotovila, da se kljub počeni lupini PŠ enih in drugih bistveno ne razlikuje in bi lahko skrajšali postopek sušenja tako, da bi pred sušenjem orehom počili luščino. Zmleti orehi so najbolj obstojni v dušikovi atmosferi, sledi vakuumsko pakiranje, najslabše pa se obnese atmosfera zraka. Zato bi bilo najbolje prodajati mlete orehe pakirane v dušikovo atmosfero, ki imajo dolg rok trajanja, vendar pa je to tudi najdražja možnost izmed prej naštetih še ugotavlja Kadivec (2005).

Za shranjevanje orehov so najprimernejša hladna in zračna skladišča. Manjše količine orehov se lahko skladiščijo v navadnih skladiščih (podstrešja, shrambe), vendar v tanki plasti; tu se lahko tudi sušijo. V začetku jih je treba nekajkrat premešati. Ko so povsem suhi se lahko klasificirajo po velikosti, odberejo razpokani in poškodovani plodovi in se odstranijo, drugi pa pakirajo v vreče. Tako se hranijo 7 do 8 mesecev, vendar jih je treba, preden se začnejo topli dnevi, umakniti iz takšnih skladišč, ker postanejo pretopla. Oreh ima namreč 50 do 65 % maščob in postanejo pod vplivom toplote, vlage in drugih sprememb jedrca hitro žarka. Če so orehi v hladnejših prostorih, se lahko skladiščijo še nekaj mesecev.

Zanesljivejše je skladiščenje orehov v hladilnicah, kjer je mogoče uravnati temperaturo in vlažnost. Pri nizkih temperaturah se jedrca bolje ohranijo. Najugodnejša temperatura za shranjevanje orehov je od 1 do 4 °C, relativna zračna vlažnost pa 60 %. V takšnih razmerah jedrca ne postanejo žarka, varna pa so tudi pred drugimi skladiščnimi boleznimi. V takšnih razmerah se lahko skladiščijo orehi 12 do 18 mesecev, lahko pa tudi dlje. Jedrca se skladiščijo podobno kot celi orehi, vendar krajši čas, ker se rada izsušijo in spremenijo okus zaradi vpliva okolja in delovanja svetlobe. Če so zapakirana v neprodušno embalažo, so bolj obstojna in se lahko hranijo nekoliko dlje, vendar ne več kot leto dni. Ker se jedrca zelo rada navzamejo vonja drugih živil, ne smejo biti skladiščena skupaj z njimi (jabolka, limone, pomaranče, krompir...).

V gospodinjstvu je najprimernejše, če se orehi hranijo v luščini, v hladilniku pri temperaturi 1 °C, in sicer v plastičnih vrečah, še boljše pa je, če so orehi zamrznjeni pri temperaturi -15 do -20 °C. Orehi so lahko zamrznjeni celi ali pa izluščeni. Glede na nekatere raziskave je mogoče shranjevati orehe pri -20 °C več let, ne da bi se spremenila njihova kakovost. Če so zamrznjeni celi orehi, je težava v tem, da zavzamejo veliko prostora, zato je boljše, da se skladiščijo oluščeni, zamrznjeni v vrečkah (Ocepek, 1995).

2.1.5 Uporaba oreha

Oreh spada med lupinasto sadje. Čeprav gojimo pri nas orehe predvsem zaradi jedrc, posredno pa tudi zaradi lesa, ima oreh izredno široko uporabno vrednost. Je cenjeno prvorazredno koncentrirano živilo, v katerem je veliko maščob, beljakovin, ogljikovih hidratov, rudninskih snovi in vitaminov, predvsem A, B, C in E. Jedrca vsebujejo tudi jod. V orehu je približno 62 % maščob, 16 % beljakovin, 12 % ogljikovih hidratov, 2,5 % celuloze, 1,5 % rudninskih snovi itn. Poleg tega je oreh cenjen tudi v proizvodnji zdravil in kozmetičnih sredstev, lesni industriji ter industriji predelave kož. Zelene lupine, listje, lubje in korenine se uporabljajo za barvanje tkanin in lesnih izdelkov ter strojenje kož, saj vsebujejo 20 do 22 % tanina. Orehi se uporabljajo tudi v industriji zdravil za pripravljanje raznih zdravilnih napitkov (Ocepek, 1995).

V Turčiji ima oreh poseben pomen v kulinariki in je zelo dobrodošel v tradicionalni turški kuhinji. (Caglarirmak, 2003)

Lupine ponekod uporabljajo za pripravljanje orehovega likerja, orehov les pa je cenjen v mizarstvu, v vojaški industriji itn. Uporabni so torej vsi deli orehovega drevesa (Ocepek, 1995).

Vanhanen in Savage (2005) navajata uporabo orehove moke, ki je kot nov proizvod potencialno uporaben v pekarski industriji kot dodatek ali celo kot nadomestek za pšenično moko pri izdelavi kruhov, biskvitov in keksov. Predstavlja vir naravne arome. Nastane iz orehove pogače, ki je stranski proizvod pri hladnem stiskanju orehovega olja. Odstotek maščobe v orehovi moki dosega tudi do 20 %.

Prasad (2003) navaja uporabo orehovega olja za solato in za pripravo mila in barv. Pogača, ki ostane pri stiskanju olja je uporabna za krmo živine. Lupina oreha je po drobljenju v moko uporabna za polnilo pri izdelavi sintetičnih smol, plastike, insekticidov itd. Moka iz lupin je uporabna tudi kot abrazivno sredstvo za poliranje kovin. Zelena lupina oreha, bogata s tanini, se uporablja v industriji usnja, les oreha pa je zelo cenjen in se uporablja za izdelavo furnirja, pohištva, ladij in kopit za puške.

2.2 KEMIJSKA SESTAVA OREHOVEGA JEDRCA

Orehi so bogat vir številnih pomembnih hranilnih snovi, ki imajo pozitivni učinek na zdravje ljudi (Savage, 2001).

Savage (2001) ugotavlja, da se kemijska sestava orehovega jedrca razlikuje glede na območje rasti oreha (Evropa, Amerika in Nova Zelandija). Vsebnost skupnih maščob v orehovem jedru znaša od 62,2 % do 70,3 % in vsebnost surovih beljakovin od 13,6 % do 18,1 %. Evropski kultivarji in kultivarji iz Nove Zelandije imajo večjo vsebnost surovih proteinov in dietnih vlaknin kot Ameriški.

Preglednica 1: Kemijska in energijska sestava 100 g orehovitih jedrc (Amaral in sod., 2003; Holand in sod., 2004; Kulier, 1996; Souci in sod., 2000)

	enota	Amaral in sod. (2003)	Holand in sod. (2004)	Kulier (1996)	Souci in sod. (2000)
energija	kcal	698	686	694	663
energija	kJ	2882	2830	2913	2738
voda	g	4,1	2,8	4,38	4,38
proteini	g	13,7	14,6	14,4	14,4
maščobe	g	64,6	68,4	62,5	62,5
ogljikovi hidrati	g	15,6	3,2	12,14	10,6
vlaknine	g	/	5,9	4,6	6,14
minerali	g	2,0	/	1,98	1,98

Orehova jedrca vsebujejo od 14,5 % do 24 % beljakovin. Beljakovine orehovega jedrca sestavlja 18 aminokislin; glutaminska kislina je najbolj zastopana z največjim deležem. Sledijo ji arginin, asparaginska kislina, levcin itd. Med esencialnimi aminokislinami je največ arginina, sledijo levcin, valin, fenilalanin itd. (Prasad, 2003).

Oreh vsebuje povprečno okoli 60 % maščob, oz. od 52 % do 70 % odvisno od sorte. Glavne sestavine maščob so triacilgliceroli. Proste maščobne kisline, diacilgliceroli, monoacilgliceroli, steroli, estri sterola, fosfolipidi in vitamini so prisotni v manjših količinah. Triacilgliceroli olja so mešanica v 83 % do 95 % trinenasičenih in nesimetrično dinenasičenih gliceridov. Prevladujoče maščobne kisline oreha so nenasičene in vsebujejo v glavnem oleinsko in linolno maščobno kislino (Prasad, 2003).

2.2.1 Maščobnokislinska sestava orehovitih jedrc

Preglednica 2: Deleži najpogosteje zastopanih maščobnih kislin v orehovem jedrcu (Amaral, 2003; Savage in sod., 1999; Souci in sod., 2000)

maščobne kisline	oznaka MK	Amaral (2003)	Savage in sod. (1999)	Souci in sod. (2000)
nenasičene				
palmitinska	C16:0	6,98	7,18	7,3
stearinska	C18:0	2,50	1,57	2,3
enkrat nenasičene				
oleinska	C18:1	16,30	18,19	18,2
večkrat nenasičene				
linolna	C18:2	60,30	58,76	57,7
α -linolenska	C18:2	11,95	13,23	12,6

Glavne maščobne kisline, ki jih srečamo v orehu so palmitinska (C16:0), oleinska (C18:1), linolna (C18:2) in linolenska maščobna kislina (C18:3). Delež polinenasičenih maščobnih kislin se giblje med 69,6 in 78,8 % (Savage in sod., 1999).

2.2.2 Mineralna sestava orehovitih jedrc

Orehi se smatrajo kot zelo dober vir prehranskih mineralov. Kalij, fosfor in železo se nahajajo v večjih količinah (Prasad, 2003). Caglarirmak (2003) navaja vsebnost fosforja nekje med 280-380 mg/100 g, kalija med 230-340 mg/100 g, magnezija med 81-99 mg/100 g. Vsebuje precej kalcija od 67 do 105 mg/100 g, sledijo baker 0,51-1,34 mg/100 g, železo 2,46-3,33 mg/100 g, cink 1,1-2,45 mg/100 g itd. Podobne vrednosti mineralov navajajo tudi ostali avtorji (Souci in sod, 2000; Holland in sod, 2004).

2.2.3 Vitamini v orehih

Orehova jedrca so bogat vir vitaminov. Vsebujejo približno 30-300 IU vitamina A, 0,22-0,45 mg tiamina (vitamin B₁), 0,10-0,16 mg riboflavina (vitamin B₂) in 0,7-1,105 mg niacina (vitamin B₃) v 100 g jedrc (Prasad, 2003).

Vitamin E imenujemo skupino osmih sorodnih snovi, 4 tokoferolov in 4 tokotrienolov (α , β , γ , δ tokoferol in tokotrienol), ki imajo različne biološke vrednosti oziroma stopnje funkcionalne uporabnosti v telesu. Alfa-tokoferol je od vseh najaktivnejša oblika vitamina E v človeškem telesu (Belitz in sod., 2004).

100 g orehov vsebuje približno od 7,3 do 28,7 μ g α -tokoferola, od 1,0 do 8,2 μ g β -tokoferola, od 205 do 375,8 μ g γ -tokoferola in od 28,0 do 62,1 μ g δ -tokoferola (Prasad, 2003). Znotraj teh vrednosti so tudi rezultati, ki jih je predstavil Savage in sod (1999).

2.2.4 Prehranska vrednost orehov

Orehova jedrca imajo visoko prehransko vrednost v primerjavi z žiti in stročnicami in so s prehranskega stališča zelo pomembni v živilstvu. Visoka vsebnost skupnih maščob in nenasičenih maščobnih kislin ter precej naravnih antioksidantov kot so tokoferoli in fenolne kisline pa še poveča pomembnost dobrega vira olja. Orehi imajo hipoholesterolemičen efekt zaradi visoke vsebnosti magnezija in vlaknin in nizkega razmerja med lizinom in argininom. Lastnost orehov da znižujejo holesterol je posledica visoke vsebnosti mono in polinenasičenih maščobnih kislin in tokoferolov. So tudi dober vir energije saj je energijska vrednost 100 g orehovitih jedrc 2686 kJ (Prasad, 2003).

Madžarevič (2006) ugotavlja, da so orehi bogat vir esencialnih n-3 maščobnih kislin in da imajo ugodno prehransko razmerje med n-6/n-3 maščobnimi kislinami, ki znaša 5,3:1, kar je priporočena vrednost. Ugotavlja tudi, da z zaužitjem 40 g orehovitih jedrc dnevno pokrijemo od 199 % do 300 % dnevnih potreb po linolni kislini in 114 % dnevnih potreb po α -linolenski kislini. Poleg tega so tudi bogat vir nekaterih prehransko pomembnih mineralov. Z zaužitjem 100 g orehov lahko pokrijemo od 111 do 167 % dnevnih potreb po bakru, od 28,5 do 40,7 % dnevnih potreb po cinku, od 43 do 58 % dnevnih potreb po magneziju in od 59 do 148 % dnevnih potreb po manganu.

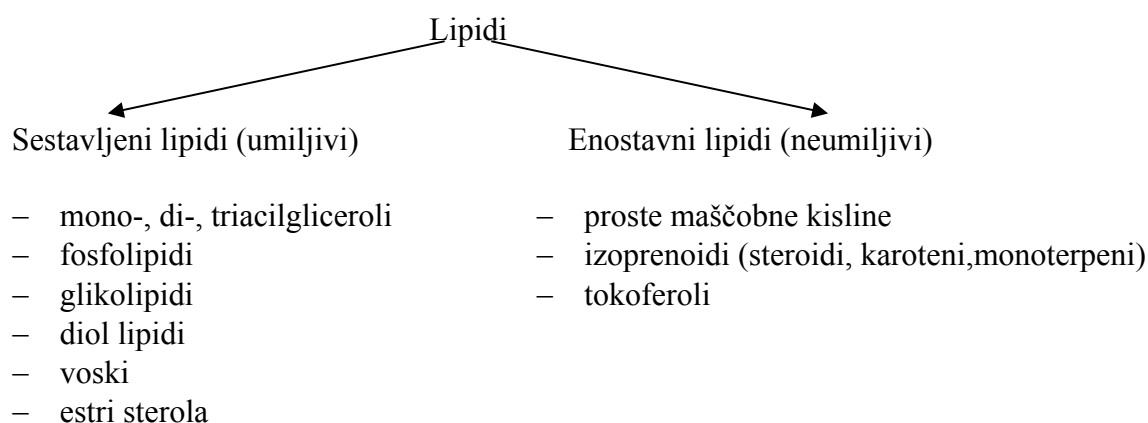
Najpomembnejša funkcija vitamina E je njegova antioksidativna aktivnost, ki preprečuje oksidacijo lipidov. Vitamin E kot antioksidant pomaga stabilizirati celične membrane in pred škodljivimi vplivi prostih radikalov ščiti tkiva, ki so še posebej občutljiva na

oksidacijo. Poleg tega vitamin E tudi povečuje biološko razpoložljivost vitamina A, hormonov in encimov saj preprečuje njihovo oksidacijo (Belitz in sod., 2004).

2.3 MAŠČOBE

Maščobe rastlinskega in živalskega izvora obsegajo pretežno nevtralne maščobe ali triacilglicerole. Mono- in diacilglicerole vsebujejo le v manjših količinah. V živilih se nahajajo še steroli, fosfolipidi in glikolipidi. Kisline, ki so zaestrene z glicerolom v triacilglicerolih so nasičene in nenasičene. Po vsebnosti prevladujejo palmitinska, oleinska in linolna kislina (Zelenik-Blatnik, 1992).

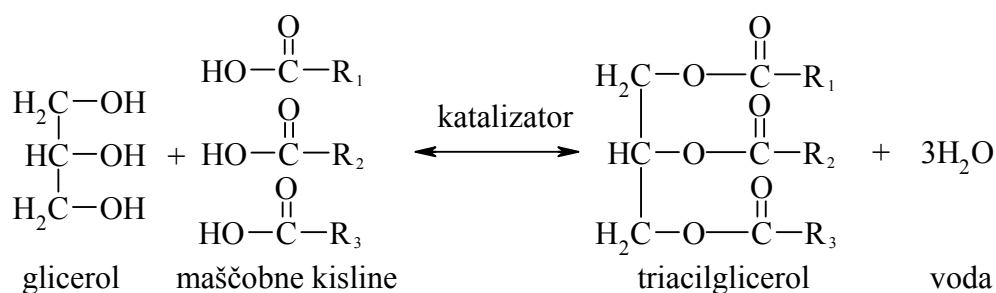
Lipidi so zgrajeni iz strukturnih enot z izrazitimi hidrofobnimi lastnostmi. Ta lastnost topnosti oz. netopnosti v vodi jih, bolj kot skupne strukturne značilnosti, uvršča v posebno skupino. Lipidi so topni v organskih topilih v vodi pa netopni, kar se uporablja v analitiki za ločevanje med lipidi, beljakovinami in ogljikovimi hidrati (Belitz in sod., 2004).



Slika 6: Razdelitev lipidov glede na zmožnost tvorbe mila (Belitz in sod., 2004)

Lipidi se pojavljajo skoraj v vsej surovi hrani v največji meri kot trigliceridi (triacilgliceroli) v maščobno skladiščnih celicah rastlin in živali ter kot fosfolipidi, ki so sestavni del bioloških membran (Gordon, 2001).

Proste maščobne kisline predstavljajo samo neznamenat del lipidne frakcije. Večina monokarboksilnih kislin je v lipidni frakciji zaestrena z glicerolom. Estre višjih maščobnih kislin in glicerola imenujemo triacilgliceroli. Najbolj znani triacilgliceroli vsebujejo zaestrene maščobne kisline z dolgo verigo in sodim številom ogljikovih atomov (Klofutar in sod., 1998).



Slika 7: Nastanek triacilglicerola z zaestrenjem med glicerolom in maščobnimi kislinami (Klofutar in sod., 1998)

Triacilgliceroli nastanejo v reakciji med višjimi maščobnimi kislinami in glicerolom. Pri hidrolizi naravnih triacilglicerolov dobimo maščobne kisline z nerazvejano verigo in sodim številom ogljikovih atomov (slika 7, Klofutar in sod., 1998).

Glicerol, alkohol s tremi hidroksilnimi skupinami, lahko tvori estersko vez z eno, dvema ali tremi različnimi maščobnimi kislinami. Pravilo pri estrenju pravi, da se maščobna kislina s krajšo verigo C atomov ali v primeru istega števila C atomov maščobna kislina z manj dvojnimi vezmi veže v molekuli glicerola na prvo mesto (Belitz in sod., 2004).

Nekateri lipidi so pomembni pri zgradbi bioloških membran, ki obkrožajo celice in znotraj celične strukture (fosfolipidi, glikolipidi...). Takšne lipide najdemo v vsaki hrani ampak ponavadi je njihova vsebnost manj kot 2 % (Belitz in sod., 2004).

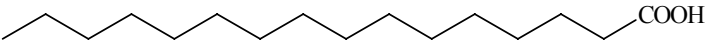
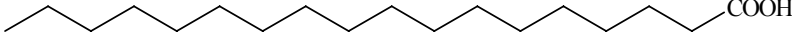
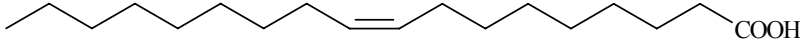
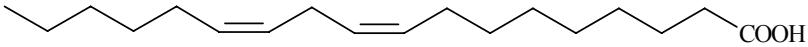
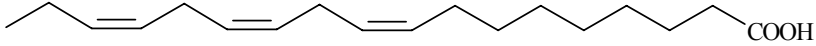
Hranilna oz. fiziološka pomembnost lipidov je v njihovi vlogi kot gorivo (37 kJ/g ali 9 kcal/g maščob) in kot vir esencialnih maščobnih kislin in vitaminov. Posebej pomembna vloga lipidov je tudi prijeten kremast ali oljni občutek v ustih in zmožnost, da se v njih raztopijo mnogi okusi in arome (Belitz in sod., 2004).

2.3.1 Maščobne kisline

Pri hidrolizi triacilglicerola se sprostijo alifatske karboksilne kisline, ki se razlikujejo v strukturi. Lahko jih delimo glede na dolžino verige, število, položaj in lego dvojne vezi ter navzočnost funkcionalne skupine na verigi kisline (Belitz in sod., 2004).

V olju ekstrahiranem iz orehov najdemo kar 18 različnih maščobnih kislin, vendar so nekatere v zelo nizkih koncentracijah (Amaral, 2003).

Preglednica 3: Strukture najpogostejših maščobnih kislin (Belitz in sod., 2004)

Strukturna formula	Trivialno ime
	Palmitinska kislina
	Stearinska kislina
	Oleinska kislina
	Linolna kislina
	Linolenska kislina

2.3.1.1 Nasičene maščobne kisline

Med nasičenimi maščobnimi kislinami se najpogosteje pojavljajo nerazvejane, dolge verige s sodim številom C atomov. Kratko verижne MK (<C₁₄) se nahajajo samo v triacilglicerolih mleka, v palmovih orehih in so odgovorne za vonj in okus. Maščobne kisline z lihimi številom C atomov so prisotne v hrani samo v sledih (Belitz in sod., 2004).

Med vsemi maščobnimi kislinami v orehu je približno 10 % nasičenih. Med nasičenimi prevladuje palmitinska maščobna kislina (C16:0), potem ji sledi stearinska maščobna kislina (C18:0), ostale nasičene pa se nahajajo v zelo majhnih količinah (Amaral, 2003).

2.3.1.2 Nenasičene maščobne kisline

Nenasičene maščobne kisline, ki prevladujejo v maščobah, vsebujejo eno, dve ali tri dvojne vezi v verigi C atomov. Glede na lokacijo dvojnih vezi oz. lokacijo prve dvojne vezi od metilnega konca maščobne kisline jih razdelimo v tri skupine:

- n-3 skupina (prim.: linolenska MK),
- n-6 skupina (prim.: linolna MK),
- n-9 skupina (prim.: oleinska MK) (Belitz in sod., 2004).

Med nenasičenimi maščobnimi kislinami ločimo enkrat nenasičene in večkrat nenasičene. Enkrat nenasičene maščobne kisline so kisline, ki vsebujejo eno dvojno vez. V orehu je delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin približno 18 % od skupnih maščobnih kislin. V največji meri je zastopana oleinska maščobna kislina (C18:1 n-9). Večkrat nenasičene maščobne kisline so kisline, ki imajo najmanj dve dvojni vezi in predstavljajo v orehu približno 72 % od skupnih maščobnih kislin. Predstavnici teh sta linolna maščobna kislina (C18:2 n-6) in α -linolenska maščobna kislina (C18:3 n-3) (Amaral, 2003).

Linolna MK se ne more sintetizirati v človeškem telesu. Ta MK in ostale iz skupine n-6 smatramo kot esencialne maščobne kisline, ki so pomembne pri gradnji biološko aktivnih

membran. Linolenska MK, ki pripada n-3 skupini in jo lahko sintetizirajo samo rastline, je prav tako esencialna MK (Belitz in sod., 2004).

2.4 SPREMEMBE V TRIACILGLICEROLIH

Najpogostejše spremembe triacilglicerolov v živilih so hidrolitske in oksidativne spremembe. Hidrolitske spremembe potekajo pod vplivom encimov lipaz različnega izvora. Pri oksidativnih spremembah ločimo avtooksidacijo in fotooksidacijo nenasičenih acilglicerolov s kisikom in encimsko oksidacijo omenjenih spojin pod vplivom oksigenaz. Spremembe triacilglicerolov so odvisne od sestave njihove kislinske komponente in encimov, ki so prisotni v izhodnih surovinah rastlinskega oz. živalskega izvora ter encimov, ki jih tvorijo mikroorganizmi (Zelenik-Blatnik, 1992).

Abramova (1995) pa navaja, da je za nastanek hidroperoksidov zelo pomembna poleg katalizatorja (železo, baker in tudi steklo) tudi voda.

2.4.1 Encimska hidroliza

Encimi z lipolitično aktivnostjo spadajo v skupino karboksi-ester hidrolaz (Belitz in sod., 2004).

Hidrolitske spremembe maščob potekajo pod vplivom lipaz, ki se nahajajo v živilih (sadje, zelenjava, oljarice, žitarice, mleko) v prebavnem traktu sesalcev oz. jih izločajo mikroorganizmi. Lipaze različnih izvorov kažejo različno stopnjo specifičnosti, ki se nanaša na določeno maščobno kislino ali na mesto esterske vezi, ki se cepi. Pri postopni cepitvi esterskih vezi se tvorijo kot intermediati di- in monoacilgliceroli, ki imajo lastnosti emulgatorjev. Najpomembnejša posledica lipazne aktivnosti v hrani je nastanek rezkega, trpkega okusa, ki je rezultat sproščanja nizkomolekularnih maščobnih kislin s 4 C do 10 C atomi. Te spremembe so znane kot hidrolitska žarkost in se pojavljajo pri mleku, maslu, lešnikih (Zelenik-Blatnik, 1992).

Hidrolaze, katere cepijo estersko vez med glicerolom in MK se nahajajo v hrani in v mikroorganizmih. Odcep kratkoverižnih MK (<C₁₄) ima neposreden vpliv na aromo hrane (Belitz in sod., 2004).

Linolna in linolenska MK, ki sta se odcepili s hidrolizo in sta prisotni v emulziji, vplivata na vonj hrane v majhnih koncentracijah. Ti dve MK povzročata grenko-ožgan občutek. Ob dodatku razgradnih produktov avtooksidacije ali encimske oksidacije pa se razvije močan vonj. Še posebej hitro pride do medsebojnega delovanja, če je tkivo sadja in zelenjave sesekljano ali homogenizirano, saj lipaze hidrolizirajo samo triacilglicerole, ki so v emulziji; aktivne so na mejni fazi maščoba-voda (Belitz in sod., 2004).

2.4.2 Oksidacija nenasičenih maščobnih kislin

Spontana reakcija atmosferskega kisika z lipidi ti. avtooksidacija, je najbolj navaden proces, ki vodi do oksidativnega kvarjenja. Večkratnenasičene MK imajo potencialno možnost za reakcije oksidacije ne glede ali se nahajajo kot proste MK, ali v trigliceridih (ali v digliceridih ali monogliceridih) ali pa v fosfolipidih. Če je prisotna svetloba in vzpodbujevalec kot je klorofil, je lahko aktivacija kisika v singlet kisik odgovorna za začetek oksidativnega kvara kar imenujemo fotooksidacija. Tudi kovini, kot sta železo ali baker, ali pa encim lipoksigenaza lahko igrajo pomembno vlogo pri začetnih reakcijah oksidacije (Gordon, 2001).

V zadnjem času so študije modelov pokazale, da sta vpleteni v začetek radikalske reakcije dve osnovni različni skupini reakcij. Prva skupina reakcij so reakcije, katere morajo premagati energijsko bariero, ki jo zahteva reakcija molekularnega kisika z nenasičenimi MK. Najpomembnejša je fotooksidacija, ki zagotovi nastanek začetnih hidroperoksidov. Ti hidroperoksidi se pretvorijo kasneje v radikale v sklopu druge skupine reakcij. V drugi skupini reakcij so vpleteni kovinski ioni in hemoproteini (Belitz in sod., 2004).

	D_{R-H} (kJ/mol)
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}- \end{array}$	422
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}- \end{array}$	410
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}- \end{array}$	322
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}- \end{array}$	272

Slika 8: Potrebna energija za odcepitev H atoma (Belitz in sod., 2004)

Dvojne vezi predstavljajo v vseh maščobah aktivni center, ki lahko med drugimi reagira tudi s kisikom. Oksidacija vodi do nastanka primarnih, sekundarnih in terciarnih produktov, ki povzročijo, da je hrana bogata z maščobami nesprejemljiva za uživanje (DeMann, 1999).

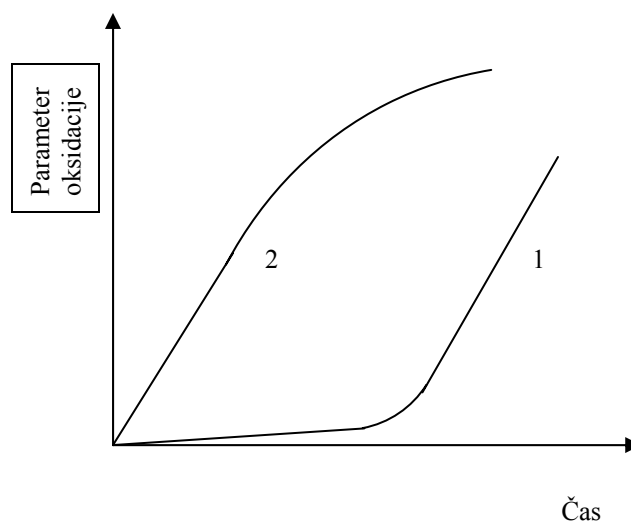
Oleinska, linolna in linolenska MK imajo eno ali več dvojnih vezi znotraj molekule in tako so dovzetne za oksidacijo in nastanek hidroperoksidov. Po razgradnji hidroperoksidov pride do nastanka številnih produktov zato pod normalnimi skladiščnimi pogoji nenasičene MK ne moremo smatrati kot stabilne komponente (Belitz in sod., 2004).

2.4.2.1 Avtooksidacija

Avtooksidacija je kompleksen proces, ki vsebuje mnogo med seboj vezanih reakcij intermediatov (Belitz in sod., 2004).

Dejavniki, ki vplivajo na stopnjo oksidacije so naslednji:

- količina prisotnega kisika,
- stopnja nenasičenosti,
- prisotnost antioksidantov,
- prisotnost prooksidantov, še posebej bakra in nekatere organske komponente (železo vsebujoče molekule in lipoksigenaze),
- embalažni material,
- izpostavljenost svetlobi in
- temperatura skladiščenja (DeMann, 1999).



Slika 9: Avtooksidacija nenasičenih maščob – koncentracija prooksidanta: 1 – nizka, 2 – visoka (Belitz in sod., 2004)

Slika 9 pomaga razumeti osnovne korake avtooksidacije. Primer 1 nazorno prikazuje, da so začetni oksidacijski produkti zaznavni po pretečenem indukcijskem času. Ko se indukcijski čas, ki je značilen za proces avtooksidacije, konča, se krivulja strmo dvigne. Če je v hrani velika količina prooksidantov (primer 2), indukcijski čas sploh ne obstaja (Belitz in sod., 2004).

Trajanje indukcijske periode (IP) je zelo občutljiva na majhne koncentracije komponent, ki skrajšajo IP kot so prooksidanti ali podaljšajo IP kot npr. antioksidanti. Kovinski ioni so najpomembnejši prooksidanti v živilih (Gordon, 2001). Belitz in sod. (2004) pa ugotavljajo, da sta dolžina indukcijskega časa in stopnja oksidacije odvisni tudi od maščobno kislinske sestave lipidov, števila dvojnih vezi (več kot je dvojnih vezi, krajši je indukcijski čas in višja je stopnja oksidacije) itd.

Avtooksidacija je radikalska verižna reakcija. To pomeni, da so vmesne spojine radikali (spojine z neparnim elektronom) in vsebujejo tri osnovne korake:

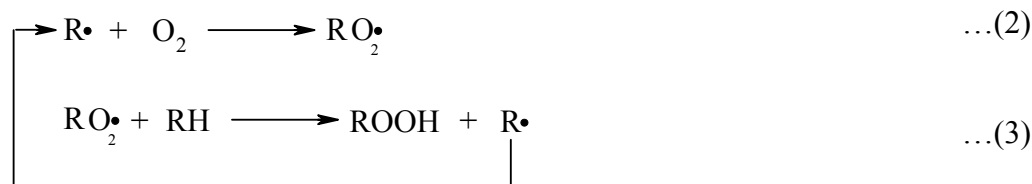
1. iniciacija ali začetek,
2. propagacija ali nadaljevanje in
3. terminacija ali zaključek (Gunstone, 1996).

Podrobna narava reakcije iniciacije ni popolnoma pojasnjena ampak vpletene so verjetno tri reakcije: kovinsko kataliziran razpad hidroperoksidov, pri katerem nastanejo začetni radikali (težko si je predstavljati maščobe popolnoma brez oksidacijskih produktov), fotooksidacija (zelo hitra reakcija, ki je odgovorna za nastanek prvih hidroperoksidov) in termalen začetek v segretem vzorcu (Gunstone, 1996).

V prvi fazi (iniciaciji) se odcepi H atom z maščobno kislinske verige in nastane prosti radikal (reakcija 1).

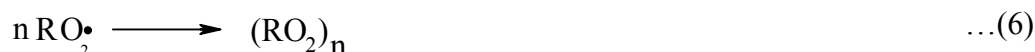


Pri odcepitvi H atoma nastane prosto mesto poleg dvojne vezi. Ko se oblikuje prosti radikal se združi s kisikom in nastane peroksi prosti radikal (reakcija 2), kateri lahko v hipu pritegne H atom z naslednje nenasičene molekule. Tako nastane peroksid in nov prosti radikal in s tem se začne propagacija (reakcija 3). Ta reakcija se lahko ponavlja v nedogled in na ta način nastane verižna reakcija (Belitz in sod., 2004).



Entalpija propagacijskih reakcij je nižja v primerjavi z iniciacijskimi reakcijami tako da propagacija steče raje kot iniciacija. Pri normalnem atmosferskem tlaku kisika reagira kisik z alkilnim ($\text{R}\cdot$) radikalom zelo rad, zato je koncentracija peroksi ($\text{RO}_2\cdot$) radikalov višja kot alkilnih ($\text{R}\cdot$) (Gordon, 2001).

Propagacija se lahko nadaljuje v terminacijo, če prosti radikali reagirajo med sabo in nastanejo neaktivni produkti kot je predstavljeno v reakcijah 4, 5, in 6:



Reakcije terminacije igrajo glavno vlogo v primeru, če je koncentracija kisika nizka npr. v notranjosti maščobnega živila (Belitz in sod., 2004).

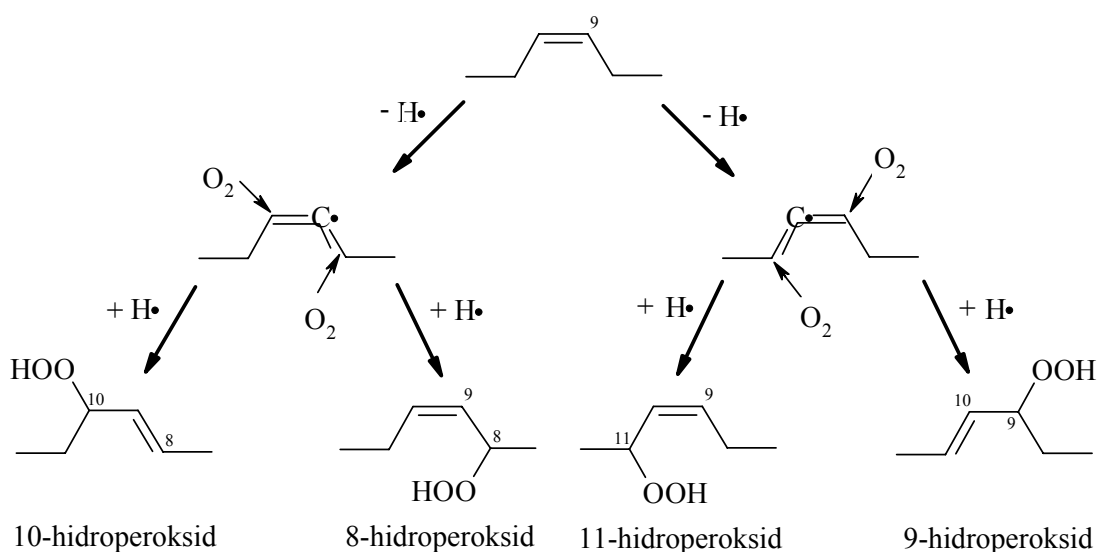
Hidroperoksidi (ROOH), ki so nastali v propagaciji, so primarni oksidacijski produkti. Vendar so ti produkti običajno nestabilni in razpadejo v različne sekundarne produkte. Hidroperoksidi niso pomembni za nastanek vonja, ampak so tvorci tega sekundarni produkti (DeMann, 1999).

Prosti radikali povzročajo zmanjšanje hranilne vrednosti, saj reagirajo z vitamini, še posebej z vitaminom E, ki se kot antioksidant porablja in izgublja (Gordon, 2001).

2.4.2.1.1 Avtooksidacija oleinske kisline

Klasični mehanizem nastanka prostih radikalov iz oleinske kisline se prične z odcepom vodikovega atoma na mestu C-8 ali C-11. Pri tem pride do delokalizacije na treh C atomih in s tem nastanek reaktivnega mesta, na katerega se veže kisik. Tako nastane zmes štirih hidroperoksidov, ki vsebujejo –OOH skupino na C-8, C-9, C-10 in C-11 (slika 8):

- 9-hidroperoksi- trans-10-oktadekanoat (trans-9-OOH)
- 11-hidroperoksi-cis-9-oktadekanoat (cis-11-OOH)
- 10-hidroperoksi-trans-8-oktadekanoat (trans-10-OOH)
- 8-hidroperoksi-cis-9-oktadekanoat (cis-8-OOH) (Frankel, 1998)

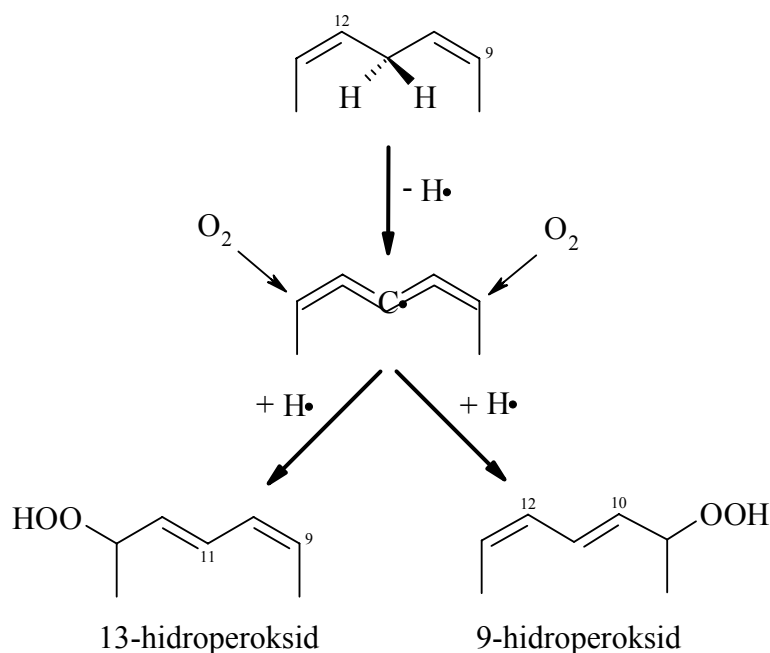


Slika 10: Mehanizem avtooksidacije oleinske maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998)

Poleg tega Frankel (1998) na podlagi stereokemijskih študij ugotavlja prisotnost kar osmih cis in trans hidroperoksidov: cis, trans-8-OOH, cis, trans-9-OOH, cis, trans-10-OOH in cis, trans-11-OOH. Njihovo razmerje je odvisno od temperature pri kateri oksidacija poteka. Z višanjem temperature se relativna količina cis-8-OOH in cis-11-OOH izomerov znižuje, medtem ko se relativna količina trans-8-OOH in trans-11-OOH izomerov prav tako kot cis-9-OOH in cis-10-OOH izomerov zvišuje, relativna količina trans-9-OOH in trans-10-OOH izomera pa se ne spreminja (Frankel, 1998).

2.4.2.1.2 Avtooksidacija linolne kisline

Linolna kislina je 40-krat reaktivnejša od oleinske kisline, zaradi dveh dvojnih vezi, ki povzročijo, da se vodikov atom zelo rad odcepi od 11 C atoma. Odcepitev H atoma povzroči nastanek prostega radikala, kateri reagira s kisikom na C-9 in C-13 atomu. Tako dobimo mešanico dveh hidroperoksidov: 9- in 13-hidroperoksid (slika 11) (Frankel, 1998).



Slika 11: Mehанизem avtooksidacije linolne maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998)

Stereokemijske študije so pokazale nastanek mešanice štirih hidroperoksidov:

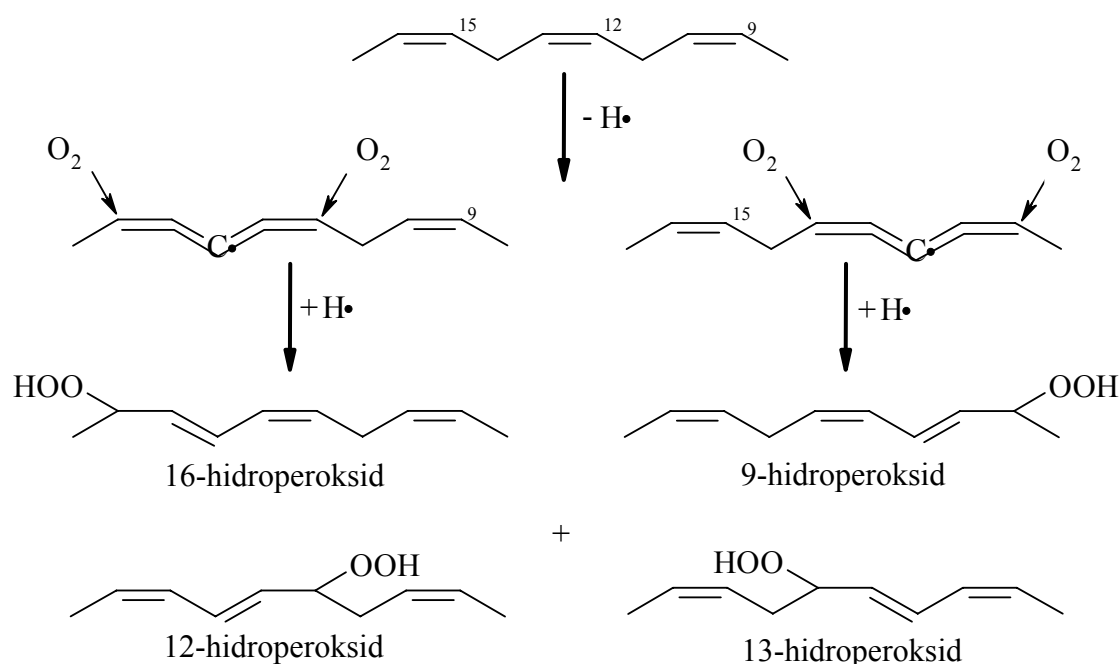
- 9-hidroperoksi-trans-10, cis-12-oktadekadienoat (cis, trans-9-OOH),
- 9-hidroperoksi-trans-10, trans-12-oktadekadienoat (trans, trans-9-OOH),
- 13-hidroperoksi-cis-9, trans-11-oktadekadienoat (cis, trans-13-OOH) in
- 13-hidroperoksi-trans-10, trans-11-oktadekadienoat (trans, trans-13-OOH) (Frankel, 1998).

2.4.2.1.3 Avtooksidacija linolenske kisline

Reakcija avtooksidacije linolne kisline je bila 40-krat hitrejša od oksidacije oleinske kisline, hitrost avtooksidacije linolenske kisline pa je 2,4-krat višja od oksidacije linolne kisline (Frankel, 1998).

Tako kot pri mehanizmu oksidacije linolne kisline gre tudi pri oksidaciji linolenske kisline v prvi vrsti za odcep H atoma iz C-11 in C-14 atoma, pri čemer nastanejo reaktivna mesta. Vezava kisika na reaktivna mesta poteka na C-9 in C-13 atomu na eni strani, na drugi pa na C-12 in C-16 atomu. Na ta način nastane zmes štirih hidroperoksidov (slika 12):

- 9-hidroperoksi-trans-10, cis-12, cis-15-oktadekatrienoat (trans, cis, cis-9-OOH)
 - 13-hidroperoksi-cis-9, trans-11, cis-15-oktadekatrienoat (cis, trans, cis-13-OOH)
 - 12-hidroperoksi-cis-9, trans-13, cis-15-oktadekatrienoat (cis, trans, cis-12-OOH)
 - 16-hidroperoksi-cis-9, cis-12, trans-14-oktadekatrienoat (cis, cis, trans-16-OOH)
- (Frankel, 1998)



Slika 12: Mehanizem avtooksidacije linolenske maščobne kisline in nastanek hidroperoksidov (Frankel, 1998)

Hidroperokside, ki nastanejo pri oksidaciji linolenske kisline lahko razdelimo v dve skupini:

- »zunanji« hidroperoksidi (9- in 16-hidroperoksidni izomeri), ki imajo OOH skupino vezano na zunanji strani sistema dvojnih vezi, in
- »notranji« hidroperoksidi (12- in 13-hidroperoksidni izomeri), ki imajo OOH skupino vezano znotraj sistema dvojnih vezi.

Analize so pokazale, da je pri temperaturah oksidacije od 25 do 80 °C količina »zunanjih« hidroperoksidov štirikrat višja kot »notranjih« hidroperoksidov. Razlog za to razliko je v tem, da »notranji« hidroperoksidi s procesom ciklizacije tvorijo obroč in nastanejo produkti imenovani hidroperoksi epidioksidi (Frankel, 1998).

S peroksidnim številom (PŠ) določamo obseg oksidacije maščob in olj. Vrednost nam kvantitativno pokaže oksidirane substance, normalno hidroperokside, ki sprostito jod iz kalijevega jodida pod določenimi pogoji. PŠ izrazimo kot miliekvivalent aktivnega kisika na kilogram maščobe (Beare-Rogers in sod., 2001).

Nastanek hidroperoksidov, kot navajata Vanhanen in Savage (2005), je odvisen od skladiščnih materialov in temperature skladiščenja. Za vzorec sta vzela orehovo moko, ki nastane kot stranski produkt pri stiskanju orehovega olja iz mletih orehov in vsebuje okrog 20 % maščob ter jo skladiščila v različnih materialih pri različnih temperaturah 26 tednov. Ugotovila sta, da je PŠ po 26 tednih najvišje pri vzorcih, ki so bili skladiščeni na najvišji temperaturi (23,0 °C) in v materialih, ki najbolj prepuščajo kisik (rjava pairnatna vreča).

2.4.2.1.4 Avtooksidacija triacilglicerolov

Iz trilinoleina nastanejo z avtooksidacijo najprej monohidroperoksidi na mestih 1, 3 in 2 na molekuli lipida kot začetni produkti. V naslednji fazi se monohidroperoksidi oksidirajo do zmesi 1, 2- in 1,3-dihidroperoksidov, ti pa naprej do trihidroperoksidov. Hidroperoksidi so zmes cis, trans- in trans, trans-9- in 13-izomerov, ki so locirani na mestu 1, 2 in 3 v molekuli glicerola v enakem razmerju, kar kaže na to, da mesto vezave linolne kisline v trilinoleinu nima vpliva na to, kateri hidroperoksid bo nastal na mestu 1, 2 ali 3 (Frankel, 1998).

Tudi pri postopni oksidaciji trilinolenina nastane zmes 1, 3 in 2-monohidroperoksidov, 1,2- in 1,3-dihidroperoksidov in trihidroperoksidov. Poleg teh produktov nastane tudi nekaj hidroperoksi epidioksida. Vendar se pojavijo cis, trans-16-hidroperoksidi na mestu 1 in 3 v triacilglicerolu proti mestu 2 v triacilglicerolu v relativnem razmerju 2,3. To razmerje nam pove, da se n-3 dvojna vez v linolenski kislini na pozicijah 1 in 3 v triacilglicerolu lažje oksidira kot pa na poziciji 2 (Frankel, 1998).

Na podlagi dosedanjih študij je bilo odkrito, da je stopnja avtooksidacije triacilglicerola odvisna od maščobno kislinske sestave, stopnje nenasičenosti, prisotnosti in aktivnosti pro- in antioksidantov, parcialnega tlaka kisika, vrsta površine izpostavljene kisiku in skladiščnih pogojev (temperatura, izpostavljenost svetlobi, prisotnost vlage itd.). Prav tako je stopnja avtooksidacije odvisna od lege nenasičene MK v triacilglicerolu. Triacilglicerol, ki ima nenasičene MK na mestu 1 in 3 se hitreje oksidira, kot če je nenasičena MK na mestu 2 (Belitz in sod., 2004).

2.4.2.2 Fotooksidacija

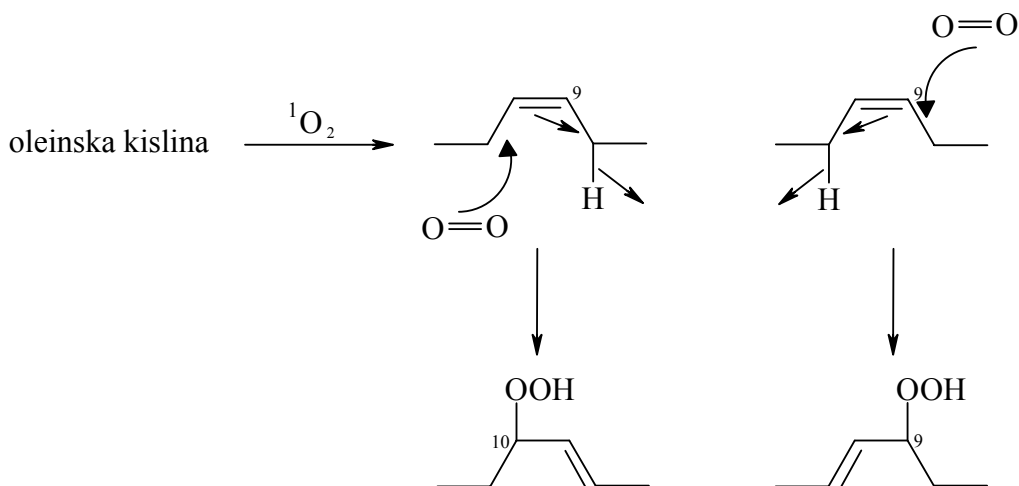
Alternativna pot, ki vodi do nastanka hidroperoksidov z drugačnim mehanizmom od mehanizma prostih radikalov, je fotooksidacija. Pri fotooksidaciji ni indukcijske periode (Gordon, 2001).

Fotooksidacija je pomembna pot za nastanek hidroperoksidov iz nenasičenih maščobnih kislin ob prisotnosti kisika, svetlobne energije in vzpodbujevalca. V hrani imajo vlogo vzpodbujevalca pigmenti, ki lahko absorbirajo vidno in bližnjo UV svetlobo in postanejo elektronsko vzbujeni. Takšni pigmenti so klorofil, hemoproteini in riboflavin (Frankel, 1998).

Tip II fotooksidacije se od avtooksidacije razlikuje v nekaj pogledih:

- v reakcijo je vpleten singlet kisik nastal iz triplet kisika z učinkom svetlobe in vzpodbujevalca,
- je reakcija vezave kisika direktno na dvojno vez in ne verižno radikalska reakcija,
- ni induksijske periode,
- niso učinkoviti antioksidanti, kot je to normalno pri avtooksidaciji, ampak je inhibirana z lovilci kisika, kot je to karoten,
- spremlja jo premik dvojne vezi z spremenjeno konfiguracijo iz cis oblike v trans,
- dobimo produkte podobne po tipu ampak ne identične po strukturi z produkti avtooksidacije in
- je mnogo hitrejša še posebej za estre z eno dvojno vezjo (Gunstone, 1996).

2.4.2.2.3 Fotooksidacija oleinske maščobne kisline



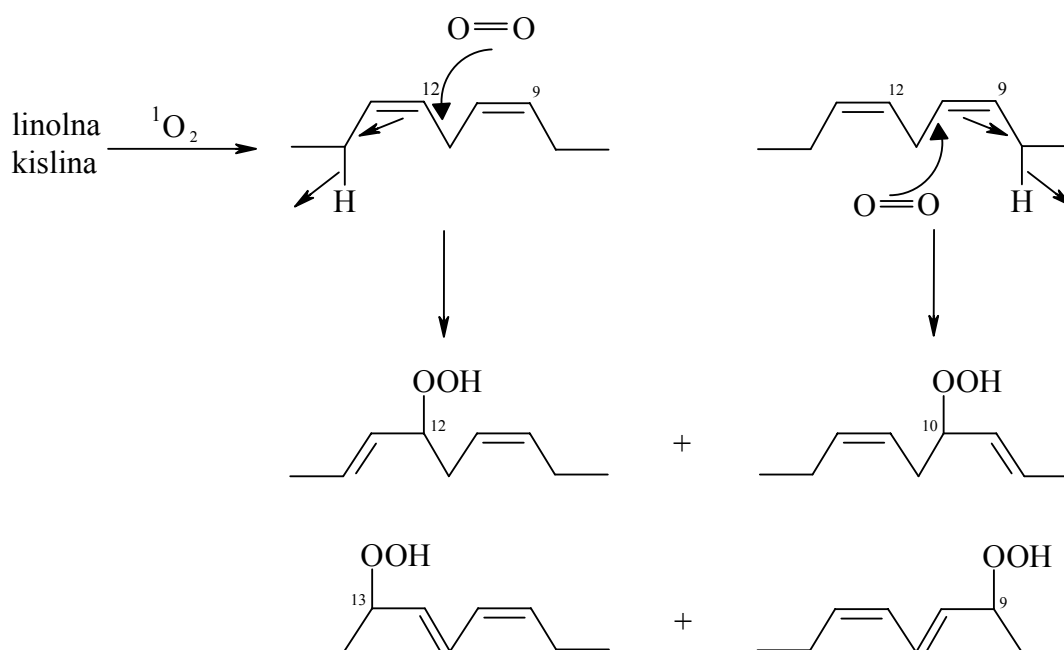
Slika 14: Oksidacija oleinske maščobne kisline s singlet kisikom (Frankel, 1998)

Nastala hidroperoksida pri fotooksidaciji oleinske kisline sta trans oblike:

- 9-hidroperoksi- trans-10-oktadekanoat (trans-9-OOH) in
- 10-hidroperoksi-trans-8-oktadekanoat (trans-10-OOH) (Frankel, 1998).

2.4.2.2.4 Fotooksidacija linolne maščobne kisline

Singlet kisik reagira direktno z dvojno vezjo v molekuli nenasičene maščobne kisline. Torej se kisik veže na vsakega od ogljikova atoma, ki sta ob dvojni vezi, kar povzroči premik dvojne vezi v trans obliko. Glede na mehanizem, je nastanek hidroperoksidov pri fotooksidaciji nenasičenih maščobnih kislin drugačen kot pri avtooksidaciji (Frankel, 1998).



Slika 15: Oksidacija linolne kisline s singlet kisikom (Frankel, 1998)

Pri fotooksidaciji linolne kisline dobimo zmes štirih hidroperoksidov:

- 9-hidroperoksi-trans-10-cis-12-oktadekadienoat (trans, cis-9-OOH),
- 13-hidroperoksi-cis-9-trans-11-oktadekadienoat (cis, trans-13-OOH),
- 10-hidroperoksi-trans-8-cis-12-oktadekadienoat (trans, cis-10-OOH) in
- 12-hidroperoksi-cis-9-trans-13-oktadekadienoat (cis, trans-12-OOH).

Trans, cis-9-OOH in cis, trans-13-OOH imata enako strukturo kot pri avtooksidaciji, medtem ko sta trans, cis-10-OOH in cis, trans-12-OOH edinstvena pri fotooksidaciji (Frankel, 1998).

2.4.2.2.5 Fotooksidacija linolenske maščobne kisline

Pri reakciji singlet kisika z linolensko kislino dobimo zmes kar šestih hidroperoksidov:

- 9-hidroperoksi-trans-10, cis-12, cis-15-oktadekatrienoat (trans, cis, cis-9-OOH)
- 10-hidroperoksi-trans-8, cis-12, cis-15-oktadekatrienoat (trans, cis, cis-10-OOH)
- 12-hidroperoksi-cis-9, trans-13, cis-15-oktadekatrienoat (cis, trans, cis-12-OOH)
- 13-hidroperoksi-cis-9, trans-11, cis-15-oktadekatrienoat (cis, trans, cis-13-OOH)
- 15-hidroperoksi-cis-9, cis-12, trans-16-oktadekatrienoat (cis, cis, trans -15-OOH)
- 16-hidroperoksi-cis-9, cis-12, trans-14-oktadekatrienoat (cis, cis, trans -16-OOH)

Tako kot pri hidroperoksidih nastalih med avtooksidacijo linolenske kisline pride tudi pri hidroperoksidih, ki so nastali pri fotooksidaciji linolne in linolenske kisline, do procesa ciklizacije t.i. »notranjih« hidroperoksidov in nastanek hidroperoksi epidioksidov. Posledica je relativno večje razmerje zunanjih hidroperoksidov proti notranjim (Frankel, 1998).

Sattar in sod. (1989) so na podlagi poskusa ugotovili, da je nastanek hidroperoksidov v orehovem olju odvisen od izpostavljenosti olja svetlobi. Vzorec olja so izpostavili svetlobi fluorescentnih žarnic v različnih steklenicah za sedem tednov. Najvišjo vrednost PŠ so ugotovili v olju, ki je bilo izpostavljeno direktno svetlobi in potem olju shranjenem v prozorni steklenici. Tako kot Sattar in sod. (1989) so tudi v kasnejši raziskavi Sattar in sod. (1990) prišli do istega zaključka, da je PŠ vzorca skladiščenega v steklenici rjave (jantarne) barve skoraj identično PŠ vzorca, ki ni bil izpostavljen fluorescentni svetlobi.

2.4.2.3 Oksidacija z encimom lipoksigenazo

Razlika med avtooksidacijo maščob in oksidacijo maščob s pomočjo lipoksigenaz je v tem, da je reakcija maščobne kisline s kisikom v hidroperoksid v drugem primeru encimsko katalizirana (Zelenik-Blatnik, 1992).

Lipoksigenaza katalizira oksidacijo nekaterih nenasičenih maščobnih kislin do monohidroperoksidov. Hidroperoksidi imajo isto strukturo kot hidroperoksidi nastali z avtooksidacijo. Za reakcijo katalizirano z lipoksigenazo je značilno vse, kar je značilno za encimsko katalizo: specifičnost encima do substrata, selektivnost peroksidacije, optimalni pH, občutljivost na visoko temperaturo itd. Aktivacijska energija za peroksidacijo linolne MK je precej nižja v primerjavi z aktivacijsko energijo nekatalizirane reakcije (Belitz in sod., 2004). Tako Zelenik-Blatnik (1992) kot tudi Belitz in sod. (2001) navajajo, da lipoksigenaza oksidira samo MK, ki imajo 1-cis, 4-cis-pentadien sistem, kar pomeni, da sta primerna substrata za encim, ki ga najdemo v rastlinah, linolna in linolenska MK medtem ko oleinske MK ne oksidira.

Molekula lipoksigenaze vsebuje atom železa. Železo je v neaktivni lipoksigenazi v obliki Fe^{2+} in se mora oksidirati do Fe^{3+} , da je encim v aktivni obliki. Aktivni encim odvzame vodikov atom iz slučajne metilne skupine nenasičene maščobne kisline v koraku, ko se železov atom reducira iz Fe^{3+} v Fe^{2+} . Kompleks encim-alkil radikal se potem oksidira z molekularnim kisikom v encim-peroksi radikal kompleks pri aerobnih pogojih. Po razcepu kompleksa nastane hidroperoksid (Gordon, 2001).

Encimi v olje vsebujočih semenih, npr. v plodovih soje, so pomemben vir nastajanja hidroperoksidov tekom ekstrakcije olja iz semen. V rastlinah oksidativne spremembe, ki jih povzročijo encimi, povzročijo nastanek nezaželenih vonjev pri skladiščenju. Takšne encime najdemo predvsem v nekaterih rastlinskih živilih, kot so paradižniki in kumare (Gordon, 2001). Poleg teh živil se nahajajo še v številnih rastlinah, v pšeničnih kalčkih, soji, sadju in zelenjavi še navaja Zelenik-Blatnik (1992).

Tako kot pri avtooksidaciji, so tudi pri katalizirani oksidaciji z lipoksigenazo, začetne oblikovane komponente hidroperoksidi. Čeprav so hidroperoksidi nehlapni in ne povzročajo odvrtnih vonjev, so relativno nestabilni in hitro spontano ali v kataliziranih reakcijah razpadejo na hlapne komponente, ki povzročajo neprijeten vonj. Narava neprijetnega vonja je odvisna zlasti od maščobno kislinske sestave substrata, prav tako pa tudi od obsežnosti oksidacije in ostalih oksidacijskih pogojev. V rastlinskem tkivu najdemo mnogo encimov, ki pretvarjajo hidroperoksidge v ostale produkte, ki so pomembni za razvoj arome. To so: hidroperoksid liaza, ki katalizira nastanek aldehydov in ketonov,

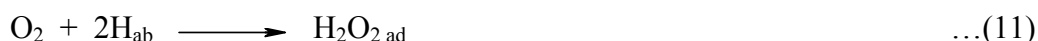
hidroperoksid-pogojena peroksigenaza in epoksigenaza, ki katalizirata nastanek epoksi in hidroksi maščobnih kislin, ter hidroperoksid izomeraza, ki katalizira nastanek epoksihidroksi in trihidroksi maščobnih kislin (Gordon, 2001).

2.4.3 Vpliv H₂O na nastanek hidroperoksidov

Abram (1995) navaja, da je za nastanek hidroperoksidov zelo pomembna poleg katalizatorja (železo, baker in tudi steklo) tudi voda. Avtooksidacija se začne z razgradnjo vode adsorbirane na površini stekla ali kovine, ki sta zmožna absorbirati vodik, kot npr. železo. Steklo reagira podobno kot kovina in nanj je tudi vedno vezane nekaj vode. Molekule vode na površini katalizatorja razpadejo na:



Vodikovi atomi se lahko absorbirajo v kovini, zato govorimo o H_{ab}, OH pa ostane na površini, torej kot OH_{ad}. Kadar katalizator še ni nasičen z vodikovimi atomi, ti ne morejo reagirati s kisikom in se zato ne porabi nič kisika. Substrat se ne oksidira z enim OH_{ad}, pač pa s H₂O₂. Običajno se katalizator hitro nasiti z vodikovimi atomi in ni opaziti nobenega zamika v začetku porabljanja kisika. Ko se kovina nasiti z vodikovimi atomi, poteče reakcija s kisikom in nastane H₂O₂.



Nastali vodikov peroksid reagira z vzorcem maščobne kisline ali estra in nastanejo hidroperoksidi ali peroksidi:



Za razliko od železa baker ne more razgraditi vode, tako da prevzame vodikove atome od drugih katalizatorjev, npr. od steklene stene reakcijske posode. Baker potrebuje za nasičenje le malo absorbiranih vodikovih atomov. Kadar pa je baker prisoten v velikih količinah potrebuje nekaj časa, da se nasiti in se zato začne porabljati kisik kasneje, kot pri železu (Abram, 1995).

2.5 RAZGRADNJA HIDROPEROKSIDOV

Kompleksna zmes monomerov, polimerov in hlapnih molekul z majhno molekulsko maso nastane pri oksidaciji predvsem večkratnenasičenih maščobnih kislin. V kompleksno zgrajeni hrani daje vpliv med hidroperoksidi in sekundarnimi produkti oksidacije z beljakovinami in drugimi komponentami značilen vtis na oksidativno in aromatsko stabilnost ter na teksturo med predelavo, kuhanjem in skladiščenjem. V živilih, ki vsebujejo maščobe, povzročajo hlapni razgradni produkti poškodbe na beljakovinah in encimih (Frankel, 1998).

Razpad hidroperoksidov je začetna točka nastajanja hlapnih produktov oksidacije. Primarni produkti avtooksidacije (hidroperoksidi) so brez vonja in okusa. Kakovost živil ni prizadeta dokler se ne oblikujejo hlapne komponente (Belitz in sod., 2004).

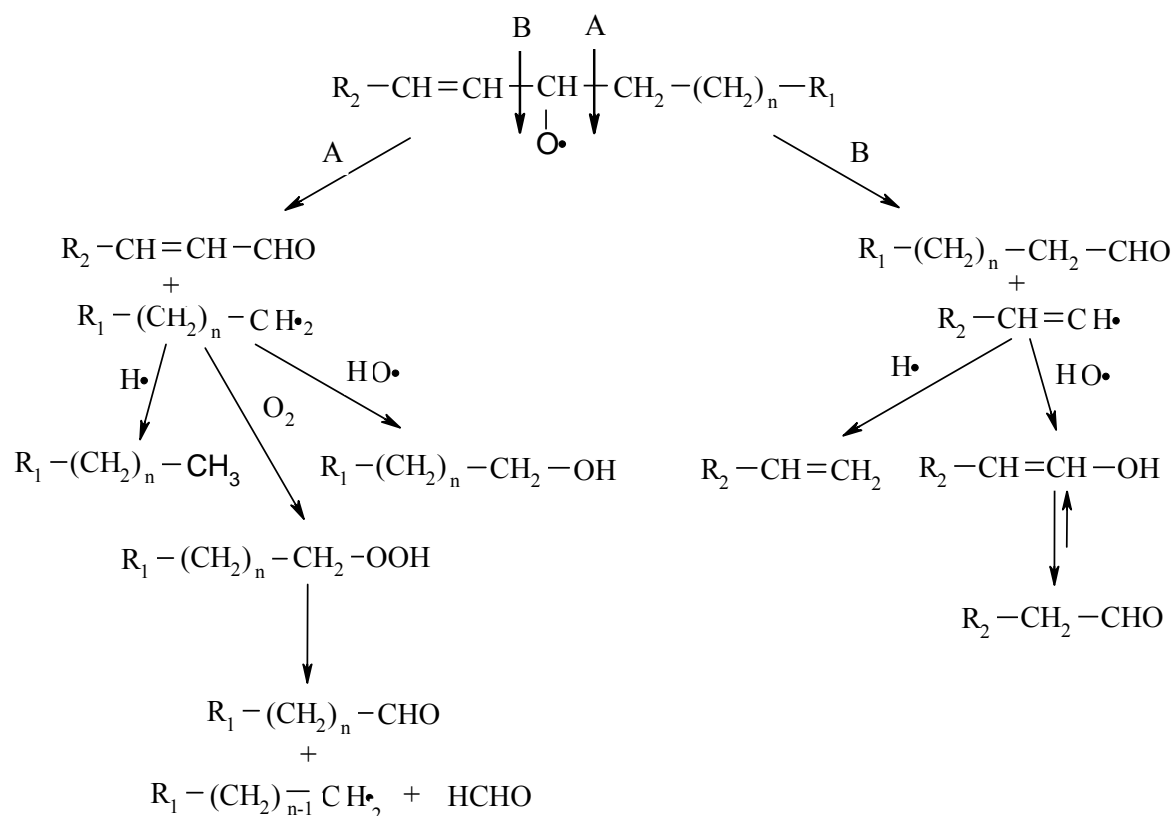
2.5.1 Nastanek sekundarnih produktov

Pri izpostavitvi oleinske, linolne in linolenske kisline daljšem času oksidacije se pojavi veliko sekundarnih produktov oksidacije. Ti produkti so v obliki verige, na kateri se pojavljajo različne kisikove funkcionalne skupine, npr. keto, -OH, OOH, O-O itd. (Frankel, 1998).

Aromo, ki nastane pri kvarjenju maščob v hrani, povzročajo zlasti lahkohlapni produkti oksidacije v zelo majhnih koncentracijah, pogosto pod 1 ppm. Pri razpadu hidroperoksidov, pri različnih pogojih zvišane temperature in ob prisotnosti kovinskih katalizatorjev, dobimo ketone, alkohole in ogljikovodike (Frankel, 1998). Gunstone (1996) je pri navajanju praga zaznavnosti bolj specifičen in sicer pravi, da ima večina nastalih aldehydov zelo nizek prag zaznavnosti. Vohalno jih zaznamo v že zelo majhnih količinah. Npr. prag zaznave za heksanal je 90 ppb ali 9×10^{-8} M, za pentanal 46 ppb ali $4,6 \times 10^{-8}$ M itd.

Pri termalnem razpadu monohidroperoksidov nastane alkoksilni radikal, ki je podvržen homolitični β -cepitvi (slika 16). V primeru cepitve A dobimo aldehide in alkile (prosti radikali alkanov). Z reakcijo radikala vodika na alkil dobimo alkane, z reakcijo hidroksilnega radikala pa alkohol. Z oksidacijo alkilnega radikala nastane primarni hidroperoksid, ki razpade naprej v nižji aldehyd ali pa s cepitvijo nastane formaldehyd in nižji alkilni radikal z enim ogljikovim atomom manj. Pri homolitični β -cepitvi v primeru B nastane aldehyd in radikal alkena. V primeru, da radikal alkena reagira z radikalom vodika nastane alken, v primeru reakcije z hidroksilnim radikalom pa nastane 1-enol (alkohol z dvojno vezjo na prvem C atomu), ki z reakcijo tautomerizacije preide v nasičen aldehyd (Frankel, 1998).

Večina razgradnih hlapnih produktov, ki nastanejo iz oleinske, linolne in linolenske maščobne kisline, nastane s cepitvijo alkoksilnega radikala (Frankel, 1998).



Slika 16: Homolitična β -cepitev monohidroperoksida nastalega iz maščobne kisline (Frankel, 1998)

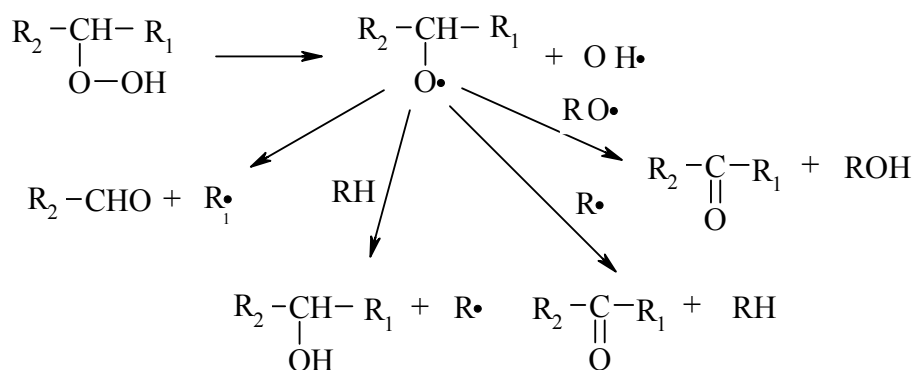
Z A in B cepitvijo 8-hidroperoksida oleinske kisline nastane dekanal, iz 9- oz. 10-hidroperoksida nonanal, iz 10-hidroperoksida oktan in iz 11-hidroperoksida oktanal in heptan (Frankel, 1998).

Hidroperoksidi oleinske kisline, ki nastanejo med procesom fotooksidacije (9- in 10-hidroperoksidi) ne razpadejo z A in B cepitvijo samo na produkte značilne za te hidroperoksidge, ampak se pojavijo tudi produkti značilni za 8- in 11-hidroperoksidge. Ti hidroperoksidge nastanejo z interkonverzijo med 9- in 10-hidroperoksidge (Frankel, 1998).

Pri razgradnji hidroperoksidov linolne maščobne kisline nastanejo naslednji razgradni produkti: 2,4-dekadienal, 3-nonenal, heksanal, pentan, 1-pentanol, pentanal (Frankel, 1998).

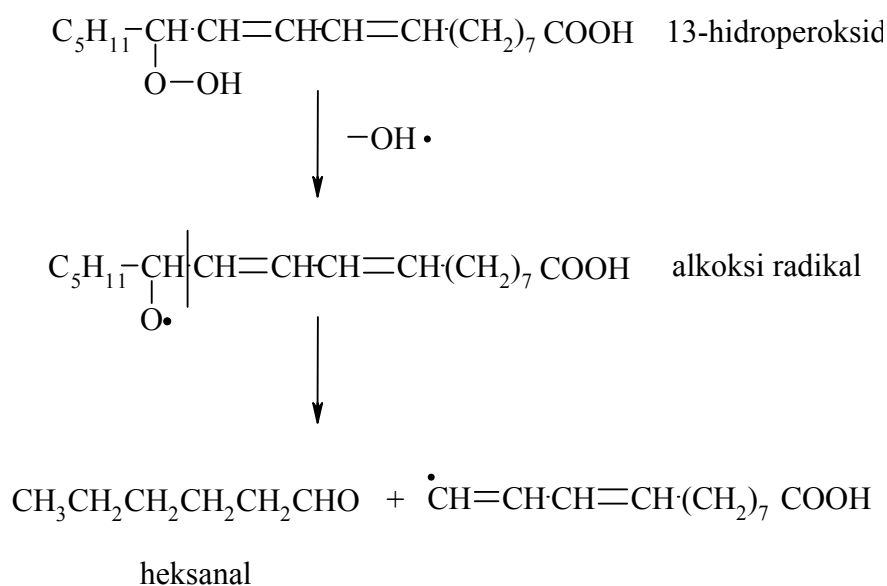
Hidroperoksidge linolenske kisline pa razpadejo na dekatrienal, 2,4-heptadienal, 3-heksanal, 2-pental, propanal in etan (Frankel, 1998).

Gordon (2001) pa predstavlja bolj pregleden način razpada hidroperoksidov. Alkoksi radikali, ki nastanejo pri razpadu hidroperoksidov, lahko razpadejo pri tem pa se sprostijo hlapni ogljikovodiki, alkoholi ali aldehidi. Ne hlapni alkoholi in ketoni lahko nastanejo kot je na sliki 16.



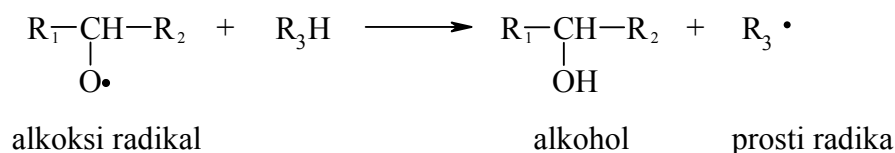
Slika 17: Nastanek sekundarnih produktov pri razgradnji hidroperoksida (Gordon, 2001)

Crowe in White (2003a) sta sicer z mikroekstrakcijo na trdnem nosilcu (SPMA – Solid phase Microextraction) določevala razgradne produkte pri oksidaciji orehovega olja. Heksanal, razgradni produkt linolne kisline, je prevladoval med vsemi razgradnimi produkti. Poleg tega pa so se pojavili še trans-2-pentenal, trans-2-heptenal, trans, trans-2,4-heptadienal, trans, cis-2,4-heptadienal, 1-okten-3-ol, nonanal in trans, trans-2,4-dekadienal. Da je heksanal prevladujoč razgradni produkt, sta Crow in White (2003b) potrdila še enkrat. Tudi Gordon (2001) potrjuje, da so še posebej pomembni pri oksidacijski aromi maščob hlapni aldehydi in heksanal, ki se navadno uporablja za oceno vsebnosti sekundarnih produktov. Oblikuje se v relativno veliki količini tekom oksidacije lipidov preko 13-hidroperoksida in ni edini aldehyd, ki prispeva k senzorični zaznavi oksidirane maščobe (Gordon, 2001). Poleg tega pa se Belitz in sod. (2004) prav tako strinjajo in navajajo, da je linolna kislina, sestavina vseh lipidov občutljivih na avtooksidacijo, predhodna spojina heksanala, ki je prevladujoč v hlapni frakciji.



Slika 18: Razgradnja 13-hidroperoksida iz linolne MK in nastanek heksanala (Gordon, 2001)

Aldehidi se lahko oksidirajo v kislino, reducirajo v alkohol, reagirajo z amino skupino itd.



Slika 19: Redukcija do alkohola (Zelenik-Blatnik, 1992)

V tem primeru reagira alkoksi radikal z novo molekulo maščobe ob tvorbi alkohola in novega prostega radikala, ki sodeluje pri nadaljevanju verižne reakcije (Zelenik-Blatnik, 1992).

Še vedno ni mogoče najti zadovoljive razlage za vse kratkoverižne razgradne produkte, ki nastanejo pri razgradnji. Ti lahko nastanejo iz nepoznanih hidroperoksidov z navadnimi reakcijami, iz poznanih hidroperoksidov vendar z nepoznanimi potmi razgradnje ali iz nepoznanih kislin v majhnih koncentracijah, ki so prisotne že na začetku pred oksidacijo. Mnogo od teh verjetno nastane z nadaljnjo oksidacijo nenasičenih aldehydov in ostalih razgradnih produktov (Gunstone, 1996).

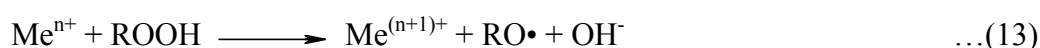
2.5.2 Vpliv ionov kovin na razpad hidroperoksidov

Ioni kovin so vpleteni v drugo skupino začetnih reakcij oksidacije in sicer v razpad hidroperoksidov v proste radikale, ki poganjajo verižno radikalsko reakcijo avtooksidacije. Maščobe, olja in živila vedno vsebujejo sledove kovin. Kovinski ioni Fe, Cu in Co izvirajo predvsem iz:

- surove hrane (ioni kovin se nahajajo v mnogih encimih in ostalih metalo proteinih),
- opreme (v proizvodnji in predelavi prehajajo iz kovinske opreme v živilo) in
- pakirnih materialov (kovinski ioni iz kovinskih folij, pločevink in drugih materialov lahko kontaminirajo živila in prehajajo v lipidno fazo).

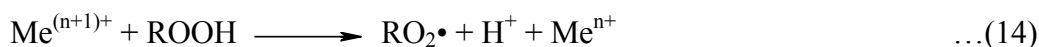
Koncentracija težkih kovin, ki vpliva na stabilnost maščob oz. hidroperoksidov, je odvisna od narave kovinskega iona in maščobno kislinske sestave maščob. Maščobe, ki vsebujejo veliko linolne kisline, lahko vsebujejo manj kot 0,03 ppm Fe in 0,01 ppm Cu, da obdržijo stabilnost. Koncentracijska meja za zagotovitev stabilnosti za maščobe z veliko oleinske kisline je za Cu 0,2 ppm in za Fe 2 ppm (Belitz in sod., 2004).

Prisotnost hidroperoksidov je prvi pogoj za aktivnost kovinskih ionov, ki povzročijo razpad v proste radikale:



Kovinski ion z nizkim oksidacijskim stanjem zelo hitro reagira s hidroperoksidom. Njegova vloga je, da odda elektron, s tem se mu oksidacijsko število poveča, in povzroči

razpad hidroperoksida na alkoksilni radikal, kar se smatra za začetek verižne reakcije (reakcija 13) (Gordon, 2001).



V počasnih zapovrstnih reakcijah se reducirana oblika kovinskega iona obnovi s pomočjo naslednje hidroperoksidne molekule (Gordon, 2001).

Aktivnost kovinskih ionov je odvisna tudi od oksidacijskega stanja iona (Fe^{2+} povzroči razpad hidroperoksidov desetkrat hitreje kot višje stanje – Fe^{3+}), od pH in od vodne aktivnosti (Belitz in sod., 2004).

Kovinski ion lahko odcepi H atom z MK sam (reakcija 15), vendar ob istočasni prisotnosti sledov hidroperoksidov v maščobi, je verjetno razgradnja hidroperoksidov, ki jo povzroči kovinski ion prednostna reakcija (Gordon, 2001).



Hem (Fe^{2+}) in hemin (Fe^{3+}) proteini so široko zastopani v živilih. V živalskem tkivu povzročajo pospešeno peroksidacijo hemoglobin, mioglobin in citokrom C. Te reakcije in spojine so pogosto odgovorne za žarkost in pokvarjeno aromo tekom skladiščenja rib, perutnine in kuhanega mesa. V rastlinah so najpogostejši hem(in) proteini peroksidaze in katalaze (Belitz in sod., 2004).

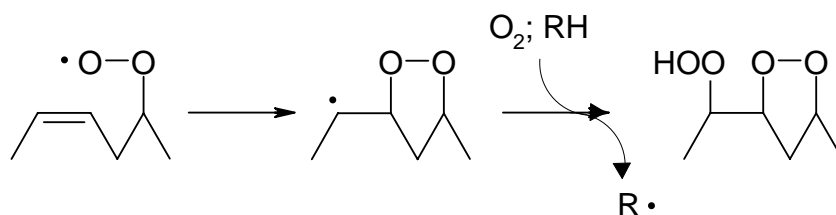
2.5.3 Vpliv vodne aktivnosti na razgradne produkte

Prabhakar in Amla (1978) ugotavljata vpliv vodne aktivnosti (RH) na nastanek monokarbonilnih komponent v orehovem olju. Monokarbonilne spojine so spojine, ki vsebujejo na C atomu poleg z dvojno vezjo vezan kisik še dva radikala (aldehidi, ketoni, karboksilne kisline, estri...). Vodna aktivnost ima pri različni stopnji oksidacije različen vpliv na razvoj sekundarnih produktov. Pri oksidaciji s PŠ pod 100 meq O_2/kg orehovega olja in pri RH od 32 % do 71 % ostane količina monokarbonilnih spojin približno enaka, pri oksidaciji z PŠ cca. 1600 meq O_2/kg orehovega olja pa se pri enaki spremembi vodne aktivnosti poveča količina monokarbonilnih komponent za 56 %. Ugotovila sta, da ima vodna aktivnost na bolj oksidirane vzorce orehovega olja večji vpliv na nastanek sekundarnih produktov.

2.5.4 Nastanek hidroksi-epidioksidov

Tako kot lahko hidroperoksidi razpadejo na sekundarne produkte lahko vstopijo tudi v nadaljnjo oksidacijo, kjer se tvorijo dihidroperoksidi in molekule, ki vsebujejo kisikov obroč, imenovane hidroperoksi epidioksidi in bicikloendoperoksidi (Gordon, 2001).

Peroksi radikali, ki vsebujejo izolirano β in γ dvojno vez, imajo veliko tendenco k ciklizaciji (tvorjenje cikličnih spojin). Te spojine se tvorijo z vezavo sekundarnega kisika in odvzemom vodika:



Slika 20: Nastanek hidroperoksid-epidioksida (Belitz in sod., 2004)

Peroksi radikali z izoliranimi β in γ dvojnimi vezmi se oblikujejo kot intermediati pri avtooksidaciji in fotooksidaciji (s singlet kisikom) nenasičenih MK, ki imajo dve ali več dvojnih vezi. Zaradi tega 10- in 12-peroksi radikali linolne kisline radi tvorijo hidroperoksi-epidioksidi (Belitz in sod., 2004).

2.5.5 Inhibicija peroksidacije lipidov

Avtooksidacija nenasičenih MK se lahko zavre z:

- odsotnostjo kisika (pakiranje v vakuum),
- skladiščenje pri nizki temperaturi in v temi (s tem je avtooksidacija močno zmanjšana vendar pri sadju in zelenjavi, ki vseboje encim lipoksigenazo previdnost ni odveč. V tem primeru je potrebna inaktivacija encima z blanširanjem.) in
- dodatkom antioksidantov (Belitz in sod., 2004).

2.5.5.1 Antioksidativna aktivnost

Metoda zaščite pred oksidacijo je tudi uporaba specifičnih aditivov kateri inhibirajo oksidacijo. Imenujemo jih oksidacijski inhibitorji ali najpogosteje antioksidanti. Najpomembnejše so njihove reakcije s prostimi radikali, katere oblikujejo v neaktivno obliko. Običajno reagirajo z peroksi ali alkoksi radikali (Pokorny, 2001).

Antioksidanti v hrani so definirani kot substance, ki so zmožne upočasniti ali preprečiti razvijanje žarkosti v živilu ali razvijanje ostalih arom kvarjenja tekom oksidacije. V bistvu gre za podaljševanje indukcijske periode. Dodatek antioksidantov po koncu indukcijske periode je neučinkovito za kasnejši razvoj žarkosti (Gordon, 2001).

Antioksidanti lahko inhibirajo oksidacijo na dva načina:

- z reagiranjem s prostimi radikali, imenujemo jih primarni antioksidanti, in
- z mehanizmom, pri katerem ne reagirajo s prostimi radikali, imenujemo jih sekundarni antioksidanti.

Primarni antioksidanti vsebujejo fenolno komponento kot na primer vitamin E (α -tokoferol). Porabijo se tekom indukcijske periode. Sekundarni antioksidanti delujejo na več različnih načinov: vežejo kovinske ione, reagirajo s kisikom, pretvarjajo hidroperoksidi v neradikalne spojine, absorbirajo UV svetlobo ali deaktivirajo singlet kisik. Ponavadi sekundarni antioksidanti pokažejo svojo aktivnost samo v prisotnosti drugih spojin v manjših količinah, npr. citronska kislina je učinkovita kot antioksidant

samo v prisotnosti kovinskih ionov, askorbinska kislina v prisotnosti tokoferolov ali ostalih primarnih antioksidantov (Gordon, 2001).

Maščobe v orehu vsebujejo okrog 70 % polinenasičenih maščobnih kislin in njihova oksidacija je povezana s pojavom neprijetnega vonja in arome. Izomeri tokoferola (α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol in δ -tokoferol) predstavljajo nekakšno zaščito proti oksidaciji (Savage in sod., 1999).

Kot sekundarni antioksidanti so uporabni EDTA, citronska kislina, fosforna kislina in nekatere aminokislina. Pogosto se dodajajo poleg primarnih antioksidantov (Gunstone, 1996).

Aktivnost antioksidantov je odvisna od mnogih dejavnikov, kot so sestava lipidov, koncentracija antioksidantov, temperatura, tlak kisika, prisotnost ostalih antioksidantov in ostalih komponent v živilih, npr. beljakovin in vode. Prvič so bili uporabljeni za ohranitev stabilnosti živil pred drugo svetovno vojno in so bili naravnega izvora (Pokorny, 2001).



Antioksidanti, ki vsebujejo fenolno komponento, igrajo glavno vlogo v hrani. V reakcijah 16 in 17 reagirajo z prostimi radikali in tvorijo stabilne produkte, ki ne morejo odstraniti H atoma iz nenasičene MK in tako ne morejo nadaljevati verižne reakcije peroksidacije. Končni produkti v reakcijah 18 in 19 so relativno stabilni in posledica je skrajšana radikalska verižna reakcija. Reakcije kažejo, da ena molekula antioksidanta reagira z dvema radikaloma, kar kaže na to, da je stehiometrijski faktor reakcije $n = 2$, vendar se v praksi pokaže, da je faktor nekje med 1 in 2 (Belitz in sod., 2004).

Poznamo štiri pomembne sintetične antioksidante, ki vsebujejo fenolno komponento: BHA (butiliran hidroksianizol), BHT (butiliran hidroksitoluen), PG (propil galat) in TBHQ (tetra butil hidrokinon) (Gunstone, 1996).

Nobena količina antioksidantov ne more izboljšati kvaliteto že oksidiranega živila, zato je potrebno posvečati pozornost pri skladiščenju tudi drugim dejavnikom. Tudi pogojev, ki pospešujejo oksidacijo se je potrebno izogibati. Izogibati se je potrebno previsokim temperaturam, nepotrebnem stiku z zrakom in nepotrebni izpostavljenosti svetlobi. Skladiščenje živila mora biti vedno pod optimalnimi pogoji in živilo ne sme biti izpostavljeno opremi, posodi in cevmi iz železa in bakra (Gunstone, 1996).

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 VZORCI ZA ANALIZO

Pri analitskem delu smo uporabili naslednje sorte orehov:

- Cisco,
- Franquette,
- Grosvert,
- Marbot in
- Ronde de Montignac.

Vzorci orehov so bili letnik 2005 in so bili nabrani v sadjarskem centru Gačnik pri Mariboru. Skladiščenje na Biotehniški fakulteti, na Oddelku za živilstvo, je potekalo v hladilni komori pri temperaturi 0 °C, v temi, približno 8 mesecev. Analize so potekale po končanem skladiščenju oz. izpostavitvi vzorcev različnim pogojem skladiščenja.

3.1.1 Priprava vzorcev za analizo

Pred začetkom analize smo naključno izbrali 10 orehov izmed vsake posamezne sorte, jih strli, odstranili luščino od jedrc in jih zmelili s kuhinjskim kavnim mlinčkom. Vsako sorto zmletih orehov (cca. 5 g) smo zatehtali v vialo, ki se uporablja za analize na plinskem kromatografu.

Poskus smo izvedli v dveh fazah na več načinov:

- (1) dvomesečno skladiščenje je potekalo pri temperaturi 60 °C in na naslednje načine: na zraku na dnevni svetlobi (zrak-dnevna svetloba) in v temi (zrak-tema), v atmosferi dušika in na dnevni svetlobi (dušik-dnevna svetloba) ter v atmosferi kisika, na dnevni svetlobi (kisik-dnevna svetloba) in v temi (kisik-tema);
- (2) enomesečno skladiščenje orehov pri sobni temperaturi (20 °C) pa je potekalo v atmosferi kisika, na dnevni svetlobi (kisik-dnevna svetloba) in v temi (kisik-tema).

Temperaturo 60 °C smo zagotavljali s hranjenjem vzorcev (vial napolnjenih z mletimi orehi) v sušilniku s steklenim oknom, ki je omogočal izpostavljenost dnevni svetlobi, sobno temperaturo pa smo zagotovili s hranjenjem vzorcev v laboratoriju. Pri tem moramo poudariti, da je prišlo do dnevnega nihanja temperature, povprečna pa je bila 20 ± 2 °C.

Vzorci na dnevni svetlobi smo hranili ob oknu, tako da je bil omogočen dostop svetlobe samo podnevi. Temo smo zagotovili tako, da smo vial ovili z alu folijo in na ta način preprečili dostopnost svetlobe.

Vzorci v dušikovi atmosferi smo pripravili tako, da smo vialo napolnjeno z vzorcem 100 s prepihovali z dušikom, nato pa jo zaprli s pokrovčkom za vialo. Na enak način smo izpostavili vzorce kisiku, le da smo v tem primeru vialo 100 s prepihovali s kisikom.

Poleg tega smo začetne vzorce zamrznili za kasnejšo analizo začetne maščobnokislinske sestave.

Maščobnokislinsko sestavo vzorcev smo določili na svežih, en in dva meseca različno skladiščenih vzorcih po metodi, ki sta jo opisala Garces in Mancha (1993).

Vsem vzorcem smo po skladiščenju določili tudi razgradne produkte oksidacije maščob z GC-MS.

Vse meritve so bile izvedene v treh paralelkah.

3.2 ANALITSKE METODE

3.2.1 Določanje maščobnih kislin kot metilnih estrov (Garces in Mancha, 1993)

Maščobne kisline v triacilglicerolu se ponavadi določajo s plinsko kromatografijo ne kot proste MK ampak kot metilni estri maščobnih kislin. Karboksilna skupina MK se mora depolarizirati z metiliranjem, za lažjo separacijo pri plinski kromatografiji (Belitz in sod., 2004).

Princip:

Maščobe istočasno ekstrahiramo (iz zmletih orehov) in zaestrimo ob prisotnosti mešanice: metanol, heptan, benzen, 2,2 dimetoksi propan, H₂SO₄ (37:36:20:5:2 vol./vol.) pri 80 °C. Metilni estri so po končani reakciji prisotni le v heptanski plasti na vrhu raztopine, ki jo analiziramo na plinskem kromatografu.

Postopek:

V večjo vialo smo zatehtali 50 mg zmletih orehovitih jedrc, dodali 100 µl raztopine internega standarda (~ 3 mg heptadekanojske kisline C:17) in 3,2 ml mešanice metanol, benzen, 2,2 dimetoksi propan in H₂SO₄ v razmerju (37:20:5:2) ter 1,8 ml heptana. Vialo smo prepihali z dušikom, jo neprodušno zaprli in jo 120 min segrevali na vodni kopeli pri 80 °C. Zmes smo ohladili in iz heptanske plasti na vrhu vzeli 1 ml raztopine, ki smo jo prenesli v manjšo vialo. Potem smo vialo postavili na avtomatski podajalnik na plinskem kromatografu. Na plinskem kromatografu smo najprej kot referenčni standard analizirali standardno raztopino metilnih estrov višjih maščobnih kislin. Po končani analizi smo s pomočjo internega standarda iz kromatografskih vrhov izračunali količino posamezne maščobne kisline.

Račun:

$$C \text{ (mg/100g)} = (A_i \times F_{A_i} \times m_{17} \times 100) / (A_{17} \times F_{A_{17}} \times m_{vz.})$$

Pri čemer je:

C = koncentracija posamezne maščobne kisline (mg/100 g);

A_i = površina posamezne maščobne kisline;

F_{A_i} = koeficient posamezne maščobne kisline (molska masa MK/molska masa metilnega estra MK);

m_{17} = masa internega standarda (C17:0);

A_{17} = površina internega standarda;

$F_{A_{17}}$ = koeficient internega standarda (molska masa C17:0/molska masa metilnega estra; heptadekanojske kisline C17:0) = 0,9508;

$m_{vz.}$ = masa vzorca.

Pogoji na plinskem kromatografu:

Plinski aparat: Agilent Technologies 689 N;

- kolona: SUPELCO – SPB PUFA; 30 m × 0,25 mm × 0,2 μm;
- detektor: FID;
- temperatura kolone: 210 °C;
- temperatura detektorja: 260 °C;
- temperatura injektorja: 250 °C (split 1:100);
- nosilni plin: He, pretok: 1 ml / min;
- pretok N₂: 45 ml / min;
- pretok H₂: 40 ml / min;
- pretok zraka: 450 ml / min;
- volumen injiciranja: 1,0 μl;
- program za obdelavo podatkov: GC Chem Station.

3.2.2 Neposredno določanje lahkih razgradnih produktov z GC-MS

Razgradne produkte oksidacije smo spremljali v nadprostoru vial s pomočjo GC-MS.

Analize so bile opravljene na plinskem kromatografu (6890N, Agilent Technologies, USA) z avtomatskim podajalnikom (MPS2, Multipurpose Sampler, Gerstel, Germany) in masno selektivnim detektorjem Hewlett-Packard 5971A (Palo Alto, CA, USA). Uporabljena je bila kolona ZB-WAX capillary column, 60 m × 0,32 mm × 0,5 μm (Phenomenex, USA). Helij 6,0 je bil nosilni plin, pretok 1,2 ml/min, pri 40°C. Vzorci mletih orehov so bili predhodno kondicionirani pri 25 min, pri 35 °C. Razgradne produkte oksidacije smo vzorčili 45 min pri 35 °C s pomočjo ekstrakcije na trdni fazi, nanos carbowax/polydimethylsiloxane (CW/PDMS, StableFlex, 85 μm debelina). Pri termični desorpciji je vlakno z nosilcem ostalo v injektorju 5 min. Temperatura injektorja je bila 270 °C, peči pa programirana po sledečem programu: 5 min pri 40 °C, od 40 °C do 230 °C z gradientom 4 °C/min in 5 min pri 230 °C. Masno selektivni detektor je deloval pri 70 eV z elektronsko ionizacijo.

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Vrednosti, ki smo jih dobili za posamezne opazovane parametre, smo vnesli v računalnik s programom Microsoft Excel 2000. S programskim paketom SAS/STAT (SAS Software, 1999) smo izračunali osnovne statistične parametre, kot so povprečje, standardni odklon, najmanjša in največja vrednost ter statistično obdelali podatke za posamezno opazovano lastnost. Za obdelavo podatkov z normalno porazdelitvijo po spodaj navedenem statističnem modelu smo uporabili postopek PROC GLM (General linear models).

$$y_{ijk} = \mu + N_i + S_j + N*S_{ij} + e_{ijk} \quad (\text{statistični model 1})$$

y_{ijk} – ijk -to opazovanje; μ – povprečna vrednost; N_i – vpliv načina skladiščenja (zrak-dnevna svetloba, zrak-tema, dušik-dnevna svetloba, kisik-dnevna svetloba in kisik-tema); S_j – vpliv sorte oreha (Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot in Ronde de Montignac.); $N*S_{ij}$ – interkcija načina skladiščenja in sorte ter e_{ijk} – ostanek.

Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane pri 5 % tveganju.

4 MERITVE IN REZULTATI

4.1 VSEBNOST MAŠČOBNIH KISLIN

4.1.1 Vsebnost maščobnih kislin pred skladiščenjem

Pri analizi vsebnosti maščobnih kislin oz. deleža maščobne kisline od skupnih maščobnih kislin smo določali pet maščobnih kislin: palmitinsko, stearinsko, oleinsko, linolno in α -linolensko maščobno kislino.

Preglednica 4: Povprečna maščobnokislinska sestava (ut. % MK od skupnih MK) petih sort orehov (Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot in Ronde de Montignac) letnika 2005 z izračunanimi statističnimi parametri

Maščobna kislina	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
C16:0	15	7,75	5,77	9,44	0,85	0,72
C18:0	15	2,37	1,33	3,04	0,49	0,24
C18:1	15	17,65	13,51	21,63	3,19	10,21
C18:2	15	60,94	55,88	64,46	3,51	12,30
C18:3	15	11,29	9,04	13,27	1,49	2,23

n – število obravnavanj; \bar{x} - povprečna vrednost; min – minimalna vrednost; max – maksimalna vrednost; so – standardni odklon; KV (%) – koeficient variabilnosti

V preglednici 4 so prikazani rezultati povprečnih deležev maščobnih kislin v petih sortah orehov z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

Iz rezultatov povprečnih deležev maščobnih kislin v skupni maščobnokislinski sestavi kislin ugotavljamo, da je v orehih najvišji delež linolne maščobne kisline (60,94 %), sledi ji oleinska maščobna kislina (17,65 %), α -linolenska maščobna kislina (11,29 %), palmitinska maščobna kislina (7,75 %) in stearinska maščobna kislina (2,37 %).

Delež nasičenih maščobnih kislin v skupni maščobnokislinski sestavi (palmitinska in stearinska maščobna kislina) je 10,12 %, delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin (oleinska maščobna kislina) je 17,65 % in delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin (linolna in α -linolenska maščobna kislina) je 72,23 %. Iz preglednice razberemo, da predstavljata največji delež v orehih večkrat nenasičeni maščobni kislini, najmanjši delež pa nasičeni maščobni kislini.

Največjo variabilnost podatkov, kar nam kaže koeficient variabilnosti, imamo pri deležu linolne maščobne kisline 12,3 %, ki se giblje od 55,88 % do 64,46 %. Najnižja variabilnost rezultatov je pri deležu stearinske maščobne kisline in sicer 0,24 %, rezultati pa se gibljejo med 1,3 % in 3,04 %.

Preglednica 5: Razlike v maščobnokislinski sestavi (ut. % MK od skupnih MK) različnih sort orehov letnika 2005 (Duncanov test, $\alpha=0,05$).

maščobna kislina	sorta					z.
	Cisco	Franquette	Grosvert	Marbot	Ronde de Montignac	
C16:0	8,7±0,6 ^a	7,9±0,7 ^{ab}	7,4±0,1 ^b	6,8±1,0 ^b	7,9±0,4 ^{ab}	nz
C18:0	2,7±0,2 ^a	3,0±0,1 ^a	2,2±0,1 ^b	2,3±0,2 ^b	1,7±0,4 ^c	***
C18:1	15,5±0,1 ^b	21,3±0,3 ^a	21,3±0,1 ^a	16,2±0,8 ^b	14,0±0,7 ^c	***
C18:2	64,1±0,5 ^a	57,5±0,9 ^b	56,2±0,3 ^c	63,1±0,7 ^a	63,8±0,6 ^a	***
C18:3	9,1±0,1 ^d	10,3±0,1 ^c	12,8±0,4 ^a	11,7±0,5 ^b	12,6±0,1 ^a	***

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

V preglednici 5 so predstavljeni povprečni deleži maščobnih kislin s standardnim odklonom glede na skupne maščobne kisline posameznih sortah orehov. Iz preglednice je razvidno, da se sorte orehov statistično zelo visoko značilno razlikujejo med seboj v vsebnosti stearinske, oleinske, linolne in α -linolenske maščobne kisline. Opazovane sorte vsebujejo podobno vsebnost palmitinske maščobne kisline. Sorte, ki imajo za določene maščobne kisline enako črko v eksponentu se po vrednosti med seboj statistično značilno ne razlikujejo. Eksponent a predstavlja sorto z najvišjo vsebnostjo določene maščobne kisline, ostale količine so označene z eksponenti po abecedi glede na najvišjo vrednost.

Največji delež palmitinske maščobne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi med analiziranimi vzorci vsebuje sorta Cisco 8,7 %, najmanjši delež pa sorta Marbot 6,8 %. Sorta Cisco se statistično značilno razlikuje od sort Grosvert in Marbot, ostale sorte pa se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Delež stearinske maščobne kisline je največji v skupni maščobnokislinski sestavi od vseh vzorcev pri sorti Franquette 3,0 %, najmanjši pa pri sorti Ronde de Montignac 1,7 %. Sorti Cisco in Franquette se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, se pa razlikujeta od sort Grosvert in Marbot, ki se med seboj tudi ne razlikujeta statistično značilno. Sorta Ronde de Montignac se statistično značilno razlikuje od ostalih.

Značilno najmanjši delež oleinske maščobne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi vsebuje sorta Ronde de Montignac 14,0 %, največji delež pa vsebujeta sorti Franquette in Grosvert 21,3 %, ki se med seboj statistično značilno ne razlikujeta. Tudi sorti Cisco in Marbot se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, vendar se razlikujeta od ostalih sort.

Delež linolne maščobne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi je največji pri sorti Cisco 64,1 %, najmanjša pa pri sorti Grosvert 57,2 %, ki se statistično značilno razlikuje od ostalih sort, prav tako kot sorta Franquette. Sorte Cisco, Marbot in Ronde de Montignac se statistično značilno ne razlikujejo.

Delež α -linolenske maščobne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi med analiziranimi vzorci je največji pri sorti Grosvert 12,8 %, najmanjši pa pri sorti Cisco 9,1 %. Sorti Grosvert in Ronde de Montignac se med seboj statistično značilno ne razlikujeta vendar se statistično značilno razlikujeta do ostalih sort, ki pa se med seboj prav tako statistično značilno razlikujejo.

4.1.2 Vsebnost maščobnih kislin po skladiščenju

Preglednica 6: Razlike v maščobnokislinski sestavi različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

sorta	maščobna kislina	tretiranje			z.
		zrak- dnevna svetloba	zrak- tema	dušik- dnevna svetloba	
Cisco	C16:0	11,7±1,4 ^a	10,6±1,1 ^{ab}	9,2±0,4 ^b	nz
	C18:0	1,9±0,3 ^a	2,5±0,5 ^a	2,7±0,4 ^a	nz
	C18:1	21,3±0,5 ^a	19,8±0,8 ^b	18,7±0,4 ^b	**
	C18:2	57,5±0,4 ^c	59,0±0,8 ^b	60,5±0,7 ^a	**
	C18:3	7,6±0,2 ^b	8,1±0,2 ^b	8,8±0,5 ^a	*
Franquette	C16:0	10,2±0,8 ^a	8,1±0,1 ^{ab}	7,4±0,3 ^b	**
	C18:0	2,9±0,2 ^a	3,0±0,3 ^a	2,8±0,1 ^a	nz
	C18:1	25,3±0,1 ^a	25,2±0,3 ^a	25,3±0,1 ^a	nz
	C18:2	53,1±1,2 ^b	55,0±0,1 ^a	55,2±0,1 ^a	*
	C18:3	8,4±0,1 ^b	8,7±0,2 ^b	9,3±0,2 ^a	**
Grosvert	C16:0	7,3±0,5 ^a	7,4±0,3 ^a	7,0±0,4 ^a	nz
	C18:0	2,7±0,2 ^a	2,5±0,2 ^a	2,6±0,1 ^a	nz
	C18:1	23,7±0,3 ^a	22,6±0,8 ^{ab}	22,1±0,9 ^b	nz
	C18:2	59,9±0,8 ^a	60,3±0,5 ^a	60,3±0,8 ^a	nz
	C18:3	6,3±0,1 ^c	9,7±1,3 ^b	7,8±0,4 ^a	**
Marbot	C16:0	11,4±0,2 ^a	9,7±1,3 ^{ab}	8,6±1,2 ^b	*
	C18:0	2,8±0,4 ^a	2,7±0,2 ^a	2,6±0,1 ^a	nz
	C18:1	20,3±0,6 ^a	19,4±1,6 ^a	19,0±0,7 ^a	nz
	C18:2	56,1±0,8 ^b	58,1±0,1 ^a	58,9±0,5 ^a	**
	C18:3	9,4±0,3 ^c	10,0±0,3 ^b	10,9±0,2 ^a	**
Ronde de Montignac	C16:0	11,9±0,1 ^a	12,0±1,3 ^a	11,3±1,4 ^a	nz
	C18:0	2,4±0,0 ^a	2,2±0,3 ^a	2,2±0,1 ^a	nz
	C18:1	17,7±0,1 ^a	15,8±1,1 ^b	15,5±0,8 ^b	*
	C18:2	60,1±0,1 ^b	61,7±0,6 ^a	62,4±0,7 ^a	**
	C18:3	7,9±0,0 ^c	8,2±0,1 ^b	8,7±0,2 ^a	***

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

V preglednici 6 so predstavljeni povprečni ut. % maščobnih kislin s standardnim odklonom ob koncu skladiščenja vzorcev mletih orehov pod različnimi pogoji. Preglednica 6 prikazuje tudi vpliv različnih pogojev skladiščenja na končni maščobnokislinski delež v skupni maščobnokislinski sestavi.

Pri vseh sortah opazimo največji končni delež α -linolenske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi v primeru izpostavljanja vzorca dušiku-dnevni svetlobi, najmanjši končni delež α -linolenske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi pa v primeru izpostavljanja vzorca zraku-dnevni svetlobi, razen pri sorti Grosvert. Pri sorti Grosvert je končni delež α -linolenske kisline pri hranjenju vzorca v zraku-temi večji kot pri hranjenju vzorca v dušiku-dnevni svetlobi. Med končnimi deleži α -linolenske kisline opazimo tudi statistično zelo visok značilen vpliv načina hranjenja vzorcev.

Največji končni delež linolne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi se pojavi pri vseh sortah pri načinu hranjenja v dušiku-dnevni svetlobi, razen pri sorti Grosvert, kjer sta končna deleža linolne kisline pri hranjenju v zraku-temi in v dušiku-dnevni svetlobi enaka. Pri sorti Grosvert način hranjenja nima statistično značilnega vpliva na končni delež linolne kisline v vzorcu, vendar se statistično značilen vpliv načina hranjenja na končni delež linolne kisline kaže pri ostalih sortah.

Končni delež oleinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi je pri vseh sortah razen pri sorti Franquette največji v primeru hranjenja na zraku-dnevni svetlobi, najmanjši pa v primeru hranjenja v dušiku-dnevni svetlobi. Statistično značilen vpliv načina hranjenja na končni delež oleinske kisline se kaže pri sortah Cisco in Ronde de Montignac, pri ostalih sortah statistično značilnega vpliva načina hranjenja na končni delež oleinske kisline v vzorcu ni. Pri sorti Franquette opazimo približno enake deleže oleinske kisline pri vseh treh načinih hranjenja.

Na končni delež stearinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi način hranjenja nima statistično značilnega vpliva. Končni deleži stearinske kisline so v vseh treh primerih hranjenja pri vseh sortah približno enaki, razen pri sorti Cisco, kjer je končni delež stearinske kisline največji pri hranjenju v dušiku-dnevni svetlobi, najmanjši pa pri hranjenju na zraku-dnevni svetlobi.

Statistično neznačilen vpliv načina hranjenja na končni delež palmitinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi med analiziranimi vzorci se pojavi pri sortah Cisco, Grosvert in Ronde de Montignac, pri sortah Franquette in Marbot pa obstaja statistično značilen vpliv načina hranjenja na končni delež palmitinske kisline. Pri sortah Cisco, Franquette in Marbot je največji končni delež palmitinske kisline v primeru hranjenja na zraku-dnevni svetlobi, najmanjši končni delež pa v primeru hranjenja v dušiku-dnevni svetlobi, medtem ko so pri ostalih sortah končni deleži palmitinske kisline približno enaki pri vseh načinih hranjenja.

Preglednica 7: Vpliv dvomesečnega skladiščenja različnih sort orehov letnika 2005 pri 60 °C, hranjenih na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi, na maščobnokislinsko sestavo (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

sorta	maščobna kislina	zrak-dnevna svetloba		z.	zrak-tema		z.	dušik-dnevna svetloba		z.
		začetek	konec		začetek	konec		začetek	konec	
Cisco	C16:0	8,7±0,6 ^b	11,7±1,4 ^a	*	8,7±0,6 ^a	10,6±1,1 ^a	nz	8,7±0,6 ^a	9,2±0,4 ^a	nz
	C18:0	2,7±0,2 ^a	1,9±0,3 ^b	*	2,7±0,2 ^a	2,5±0,5 ^a	nz	2,7±0,2 ^a	2,7±0,4 ^a	nz
	C18:1	15,5±0,1 ^b	21,3±0,5 ^a	***	15,5±0,1 ^b	19,8±0,8 ^a	***	15,5±0,1 ^b	18,7±0,4 ^a	***
	C18:2	64,1±0,5 ^a	57,5±0,4 ^b	***	64,1±0,5 ^a	59,0±0,8 ^b	***	64,1±0,5 ^a	60,5±0,7 ^b	**
	C18:3	9,1±0,1 ^a	7,6±0,2 ^b	***	9,1±0,1 ^a	8,1±0,2 ^b	***	9,1±0,1 ^a	8,8±0,5 ^a	nz
Franquette	C16:0	7,9±0,7 ^b	10,2±0,8 ^a	*	7,9±0,7 ^a	8,1±0,1 ^a	nz	7,9±0,7 ^a	7,4±0,3 ^a	nz
	C18:0	3,0±0,1 ^a	2,9±0,2 ^a	nz	3,0±0,1 ^a	3,0±0,3 ^a	nz	3,0±0,1 ^a	2,8±0,1 ^b	*
	C18:1	21,3±0,3 ^b	25,3±0,1 ^a	***	21,3±0,3 ^b	25,2±0,3 ^a	***	21,3±0,3 ^b	25,3±0,1 ^a	***
	C18:2	57,5±0,9 ^a	53,1±1,2 ^b	**	57,5±0,9 ^a	55,0±0,1 ^b	**	57,5±0,9 ^a	55,2±0,1 ^b	*
	C18:3	10,3±0,1 ^a	8,4±0,1 ^b	***	10,3±0,1 ^a	8,7±0,2 ^b	***	10,3±0,1 ^a	9,3±0,2 ^b	***
Grosvert	C16:0	7,4±0,1 ^a	7,3±0,5 ^a	nz	7,4±0,1 ^a	7,4±0,3 ^a	nz	7,4±0,1 ^a	7,0±0,4 ^a	nz
	C18:0	2,2±0,1 ^b	2,7±0,2 ^a	*	2,2±0,1 ^a	2,5±0,2 ^a	nz	2,2±0,1 ^b	2,6±0,1 ^a	*
	C18:1	21,3±0,1 ^b	23,7±0,3 ^a	***	21,3±0,1 ^a	22,6±0,8 ^a	nz	21,3±0,1 ^a	22,1±0,9 ^a	nz
	C18:2	56,2±0,3 ^b	59,9±0,8 ^a	**	56,2±0,3 ^b	60,3±0,5 ^a	***	56,2±0,3 ^b	60,3±0,8 ^a	*
	C18:3	12,8±0,4 ^a	6,3±0,1 ^b	***	12,8±0,4 ^a	7,1±0,3 ^b	***	12,8±0,4 ^a	7,8±0,4 ^b	***
Marbot	C16:0	6,8±1,0 ^b	11,4±0,2 ^a	**	6,8±1,0 ^b	9,7±1,3 ^a	*	6,8±1,0 ^a	8,6±1,2 ^a	nz
	C18:0	2,3±0,2 ^a	2,8±0,4 ^a	nz	2,3±0,2 ^a	2,7±0,2 ^a	nz	2,3±0,2 ^a	2,6±0,1 ^a	nz
	C18:1	16,2±0,8 ^b	20,3±0,6 ^a	**	16,2±0,8 ^b	19,4±1,6 ^a	*	16,2±0,8 ^b	19,0±0,7 ^a	*
	C18:2	63,1±0,7 ^a	56,1±0,8 ^b	***	63,1±0,7 ^a	58,1±0,1 ^b	***	63,1±0,7 ^a	58,9±0,5 ^b	**
	C18:3	11,7±0,5 ^a	9,4±0,3 ^b	***	11,7±0,5 ^a	10,0±0,3 ^b	**	11,7±0,5 ^a	10,9±0,2 ^a	nz
Ronde de Montignac	C16:0	7,9±0,4 ^b	11,9±0,1 ^a	***	7,9±0,4 ^b	12,0±1,3 ^a	**	7,9±0,4 ^b	11,3±1,4 ^a	*
	C18:0	1,7±0,4 ^b	2,4±0,0 ^a	*	1,7±0,4 ^a	2,2±0,3 ^a	nz	1,7±0,4 ^a	2,2±0,1 ^a	nz
	C18:1	14,0±0,7 ^a	17,7±0,1 ^b	***	14,0±0,7 ^a	15,8±1,1 ^a	nz	14,0±0,7 ^a	15,5±0,8 ^a	nz
	C18:2	63,8±0,6 ^a	60,1±0,1 ^b	***	63,8±0,6 ^a	61,7±0,6 ^b	*	63,8±0,6 ^a	62,4±0,7 ^a	nz
	C18:3	12,6±0,1 ^a	7,9±0,0 ^b	***	12,6±0,1 ^a	8,2±0,1 ^b	***	12,6±0,1 ^a	8,7±0,2 ^b	***

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

V preglednici 7 so predstavljeni povprečni ut. % maščobnih kislin s standardnim odklonom v skupni maščobnokislinski sestavi orehov pred izpostavitvijo vzorcev zraku-dnevni svetlobi, zraku-temi ter dušiku-dnevni svetlobi in končni ut. % maščobnih kislin s standardnim odklonom v skupni maščobnokislinski sestavi po končani izpostavitvi različnim pogojem.

Pri sorti Cisco je največji delež α -linolenske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi po končanem tretiranju v primeru tretiranja v dušiku-dnevni svetlobi 8,8 % in ne kaže statistično značilnega vpliva med začetnim in končnim deležem, najmanjši delež pa v primeru tretiranja na zraku-dnevni svetlobi 7,6 %, kjer opazimo med začetnim in končnim deležem α -linolenske kisline statistično značilen vpliv. Največji končni delež linolne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi je v primeru tretiranja v dušiku-dnevni svetlobi 60,5 %, najmanjši končni delež pa v primeru tretiranja na zraku-dnevni svetlobi 57,5 %. Pri vseh tretiranjih, na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in v dušiku-dnevni svetlobi je med začetnimi in končnimi deleži maščobnih kislin statistično značilen vpliv. Največji končni delež oleinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi je v primeru tretiranja na zraku-dnevni svetlobi 21,3 %, najmanjši delež pa v primeru tretiranja v dušiku-dnevni svetlobi 18,7 % in v primeru vseh tretiranj je med začetnimi in končnimi deleži maščobnih kislin statistično značilen vpliv. Končni deleži stearinske kisline po tretiranju so najmanjši v primeru izpostavljanja vzorca orehov zraku-dnevni svetlobi 1,9 %, največji delež stearinske kisline pa je v primeru izpostavitve vzorca dušiku-dnevni svetlobi 2,7 %. V primeru tretiranja v dušiku-dnevni svetlobi in v zraku-temi končna deleža stearinske kisline v primerjavi z začetnim deležem nimata statistično značilnega vpliva. Končni delež palmitinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi je največji v primeru tretiranja v zraku-dnevni svetlobi 11,7 %, najmanjši pa je delež v primeru tretiranja v dušiku-dnevni svetlobi 9,2 %. V primeru tretiranja v zraku-temi in v dušiku-dnevni svetlobi med začetnim in končnim deležem palmitinske kisline v skupni maščobnokislinski sestavi ni statistično značilnega vpliva, vendar se pojavi v primeru tretiranja na zraku-dnevni svetlobi.

Pri sortah Franquette in Grosvert opazimo, da je statistično značilen vpliv med začetnim ut. % in končnim ut. % α -linolenske in linolne kisline pri vseh treh načinih hranjenja vzorcev. Pri sorti Marbot je statistično neznačilen vpliv začetnega in končnega deleža α -linolenske kisline v primeru hranjenja vzorca v dušiku-dnevni svetlobi, medtem ko je pri ostalih načinih hranjenja (v zraku-dnevni svetlobi in v zraku-temi) statistično značilen vpliv med začetnim in končnim deležem α -linolenske in linolne kisline. Pri sorti Ronde de Montignac je statistično neznačilen vpliv začetnega in končnega deleža linolne kisline pri hranjenju v dušiku-dnevni svetlobi. Statistično značilen vpliv med začetnim in končnim deležem α -linolenske in linolne kisline pri sorti Ronde de Montignac je pazen pri ostalih načinih hranjenja (zrak-dnevna svetloba, zrak-tema).

Preglednica 8: Razlike v maščobnokislinski sestavi različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

tretiranje	maščobna kislina	sorta					z.
		Cisco	Franquette	Grosvert	Marbot	Ronde	
zrak- dnevna svetloba	C16:0	11,7±1,4 ^{ab}	10,2±0,8 ^b	7,3±0,5 ^c	11,4±0,2 ^{ab}	11,9±0,1 ^a	***
	C18:0	1,9±0,3 ^b	2,9±0,2 ^a	2,7±0,2 ^a	2,8±0,4 ^a	2,4±0,0 ^a	**
	C18:1	21,3±0,5 ^c	25,3±0,1 ^a	23,7±0,3 ^b	20,3±0,6 ^d	17,7±0,1 ^c	***
	C18:2	57,5±0,4 ^b	53,1±1,2 ^d	59,9±0,8 ^a	56,1±0,8 ^c	60,1±0,1 ^a	***
	C18:3	7,6±0,2 ^c	8,4±0,1 ^b	6,3±0,1 ^d	9,4±0,3 ^a	7,9±0,0 ^c	***
zrak- tema	C16:0	10,6±1,1 ^{ab}	8,1±0,1 ^{dc}	7,4±0,3 ^d	9,7±1,3 ^{bc}	12,0±1,3 ^a	**
	C18:0	2,5±0,5 ^{ab}	3,0±0,3 ^a	2,5±0,2 ^{ab}	2,7±0,2 ^{ab}	2,2±0,3 ^b	nz
	C18:1	19,8±0,8 ^c	25,2±0,3 ^a	22,6±0,8 ^b	19,4±1,6 ^c	15,8±1,1 ^d	***
	C18:2	59,0±0,8 ^c	55,0±0,1 ^d	60,3±0,5 ^b	58,1±0,1 ^c	61,7±0,6 ^a	***
	C18:3	8,1±0,2 ^c	8,7±0,2 ^b	7,1±0,3 ^d	10,0±0,3 ^a	8,2±0,1 ^c	***
dušik- dnevna svetloba	C16:0	9,2±0,4 ^b	7,4±0,3 ^c	7,0±0,4 ^c	8,6±1,2 ^{cb}	11,3±1,4 ^a	**
	C18:0	2,7±0,4 ^a	2,8±0,1 ^a	2,6±0,1 ^a	2,6±0,1 ^a	2,2±0,1 ^b	*
	C18:1	18,7±0,4 ^c	25,3±0,1 ^a	22,1±0,9 ^b	19,0±0,7 ^c	15,5±0,8 ^d	***
	C18:2	60,5±0,7 ^b	55,2±0,1 ^d	60,3±0,8 ^b	58,9±0,5 ^c	62,4±0,7 ^a	***
	C18:3	8,8±0,5 ^{bc}	9,3±0,2 ^b	7,8±0,4 ^d	10,9±0,2 ^a	8,7±0,2 ^c	***

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Preglednica 8 prikazuje razlike v maščobnokislinski sestavi po skladiščenju orehov različnih sort. Sorte se statistično zelo visoko značilno razlikujejo med seboj v deležu α -linolenske, linolne in oleinske maščobne kisline pri vseh načinih hranjenja in statistično značilno v deležu palmitinske in oleinske kisline v primeru hranjenja na zraku-dnevni svetlobi in v dušiku-dnevni svetlobi, razen v primeru načina hranjenja v zraku-temi, kjer je delež stearinske kisline pri vseh sorteh podoben.

4.2 VSEBNOST RAZGRADNIH PRODUKTOV OKSIDACIJE

Preglednica 9: Razlike v koncentraciji (površinami pod kromatografskimi vrhovi) razgradnih produktov različnih sort orehov letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

sorta	razgradni produkt	tretiranje			z
		zrak-dnevna svetloba	dušik-dnevna svetloba	zrak-tema	
Grosvert	heksanal	3348363 ^a	3114609 ^a	2507319 ^a	nz
	1-okten-3-ol	841334 ^a	710824 ^b	511627 ^c	**
	2-pentenal	171960 ^a	153321 ^a	127172 ^a	nz
	tt-heptadienal	168850 ^a	141847 ^a	163417 ^a	nz
	2-butanol	270798 ^a	256722 ^a	217069 ^a	nz
	2-propanol	4037120 ^a	3380571 ^b	2840657 ^c	**
	1-heksanol	330802 ^a	328535 ^a	296301 ^a	nz
	1-pentanol	76624 ^a	43485 ^a	31593 ^a	nz
	1-butanol	142463 ^a	117980 ^{ab}	110203 ^c	nz
	2-metil-1-propanol	66979 ^a	24152 ^a	0 ^a	nz
	3-metil-1-butanol	481289 ^b	1257207 ^a	450010 ^b	**
Ronde de Montignac	heksanal	3511498 ^a	2821508 ^a	2400935 ^a	nz
	1-okten-3-ol	684371 ^a	588086 ^a	525798 ^a	nz
	2-pentenal	159110 ^a	154023 ^a	129701 ^a	nz
	tt-heptadienal	144350 ^a	127632 ^a	136454 ^a	nz
	2-butanol	236197 ^a	185470 ^a	137727 ^a	nz
	2-propanol	3706575 ^a	2860129 ^a	3483094 ^a	nz
	1-heksanol	340648 ^a	300906 ^{ab}	294229 ^b	nz
	1-pentanol	0 ^a	36951 ^a	0 ^a	nz
	1-butanol	66468 ^a	64843 ^a	59178 ^a	nz
	2-metil-1-propanol	90856 ^a	35767 ^a	66346 ^a	nz
3-metil-1-butanol	532343 ^a	329797 ^a	346416 ^a	nz	

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

V preglednici 9 so predstavljeni razgradni produkti oksidacije (aldehidi in alkoholi) pri skladiščenju dveh sort mletih orehov (Grosvert in Ronde de Montignac) pri različnih pogojih hranjenja (zrak-dnevna svetloba, zrak-tema in dušik-dnevna svetloba). Temperatura hranjenja vzorcev je bila 60 °C, čas skladiščenja je bil dva meseca. Številčno so predstavljeni razgradni produkti kot površine pod kromatografskimi vrhi. Vpliv različnih načinov hranjenja na količino razgradnih produktov upoštevajoč dve sorti, je predstavljen v preglednici 9.

Oznake posameznih razgradnih produktov z enako črko v eksponentu se po vrednosti med seboj statistično značilno ne razlikujejo. Eksponent a predstavlja tretiranje z najvišjo količino določenega razgradnega produkta, ostale količine so označene z eksponenti po abecedi glede na najvišjo vrednost.

Pri sorti Grosvert je, po končanem skladiščenju vzorca, nastalo največ heksanala pri hranjenju vzorca v zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa pri hranjenju vzorca v zraku-temi. 1-okten-3-ol je alkohol, ki ga je nastalo največ pri skladiščenju v zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa pri izpostavljanju vzorca zraku-temi. Tudi 2-pentenala je največ v končnem vzorcu pri izpostavitvi vzorca zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu, ki je bil izpostavljen zraku-temi. Največ tt-heptadienala je nastalo v vzorcu skladiščenem v zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu izpostavljenem dušiku-dnevni svetlobi. Za alkohole 2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol in 3-metil-1-butanol velja, da jih je največ v vzorcu, ki je bil izpostavljen zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu, ki je bil izpostavljen zraku-temi. Isto kot za prejšnje alkohole pa ne velja za 3-metil-1-butanol, katerega je največ v vzorcu, ki je bil skladiščen v dušiku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu, ki je bil skladiščen v zraku-temi (količina, v dušiku-dnevni svetlobi skladiščenega vzorca sorte Grosvert, nastalega 3-metil-1-butanola bistveno izstopa od količine vzorca skladiščenega v zraku-dnevni svetlobi in v zraku-temi).

Pri sorti Grosvert zrak-dnevna svetloba, dušik-dnevna svetloba in zrak-tema statistično značilno ne vplivajo na nastalo količino razgradnih produktov razen na 1-okten-3-ol, 2-propanol in 3-metil-1-butanol, na katere pa statistično visoko značilno vplivajo.

Največ heksanala, 1-okten-3-ola in 2-pentenala je nastalo pri skladiščenju sorte Ronde de Montignac v zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa pri izpostavitvi vzorca zraku-temi. Razgradnega produkta tt-heptadienala je nastalo največ v vzorcu, ki je bil izpostavljen zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu, ki je bil izpostavljen dušiku-dnevni svetlobi. 2-butanol, 1-heksanol in 1-butanol je največja količina v vzorcu izpostavljenem zraku-dnevni svetlobi, najmanjša količina pa v vzorcu, ki je bil izpostavljen zraku-temi. Največja količina 2-propanola, 2-metil-1-propanola in 3-metil-1-butanola je nastala pri skladiščenju vzorca v zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu skladiščenem v dušiku-dnevni svetlobi.

V primeru sorte Ronde de Montignac je razvidno iz preglednice 9, da način tretiranja (zrak-dnevna svetloba, dušik-dnevna svetloba in zrak-tema) nima statistično značilnega vpliva na količino razgradnih produktov.

Preglednica 10 predstavlja razlike med sortama Grosvert in Ronde de Montignac v vsebnosti razgradnih produktov pri skladiščenju vzorcev mletih orehov pod različnimi pogoji (zrak-dnevna svetloba, dušik-dnevna svetloba in zrak-tema).

Sorti se v vsebnosti razgradnih produktov ne razlikujeta, razen v primeru 1-okten-3-ola pri tretiranju v zraku-dnevni svetlobi, v primeru 2-butanola in 2-propanola pri tretiranju v dušiku-dnevni svetlobi in v primeru 3-metil-1-butanola pri tretiranju v dušiku-dnevni svetlobi.

Preglednica 10: Razlike v koncentraciji (površinami pod kromatografskimi vrhovi) razgradnih produktov med dvema sortama orehov (Grosvert in Ronde de Montignac) letnika 2005 po dvomesečnem skladiščenju na 60 °C pod različnimi pogoji (na zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi) (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

sorta	razgradni produkt	tretiranje		
		zrak-dnevna svetloba	dušik-dnevna svetloba	zrak-tema
Grosvert	heksanal	3348363 ^a	3114609 ^a	2507319 ^a
Ronde de Montignac		3511498 ^a	2821508 ^a	2400935 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	1-okten-3-ol	841334 ^a	710824 ^a	511627 ^a
Ronde de Montignac		684371 ^b	588086 ^a	525798 ^a
z.		*	nz	nz
Grosvert	2-pentenal	171960 ^a	153321 ^a	127172 ^a
Ronde de Montignac		159110 ^a	154023 ^a	129701 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	tt-heptadienal	168850 ^a	141847 ^a	163417 ^a
Ronde de Montignac		144350 ^a	127632 ^a	136454 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	2-butanol	270798 ^a	256722 ^a	217069 ^a
Ronde de Montignac		236197 ^a	185470 ^b	137727 ^a
z.		nz	*	nz
Grosvert	2-propanol	4037120 ^a	3380571	2840657 ^a
Ronde de Montignac		3706575 ^a	2860129	3483094 ^a
z.		nz	*	nz
Grosvert	1-heksanol	330802 ^a	328535 ^a	296301 ^a
Ronde de Montignac		340648 ^a	300906 ^b	294229 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	1-pentanol	76624 ^a	43485 ^a	31593 ^a
Ronde de Montignac		0 ^a	36951 ^a	0 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	1-butanol	142463 ^a	106880 ^a	110203 ^a
Ronde de Montignac		66468 ^a	64843 ^a	59178 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	2-metil-1-propanol	66979 ^a	0 ^a	0 ^a
Ronde de Montignac		90856 ^a	35767 ^a	66346 ^a
z.		nz	nz	nz
Grosvert	3-metil-1-butanol	481289 ^a	1257207 ^a	450010 ^a
Ronde de Montignac		532343 ^a	329797 ^b	346416 ^a
z.		nz	**	nz

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Preglednica 11: Vpliv enomesečnega skladiščenja različnih sort orehov letnika 2005 pri sobni temperaturi, hranjenih v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi na razgradne produkte (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

Razgradni produkt	tretiranje	sorta				Ronde de Montignac
		Cisco	Franquette	Grosvert	Marbot	
heksanal	kisik-dnevna svetloba	315940 ^a	504956 ^a	370460 ^a	724714 ^a	677884 ^a
	kisik-tema	127095 ^b	110985 ^b	301049 ^a	181798 ^b	208787 ^b
	Z.	***	**	nz	***	*
1-okten-3-ol	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Z.	/	/	/	/	/
2-pentenal	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Z.	/	/	/	/	/
tt-heptadienal	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Z.	/	/	/	/	/
2-butanol	kisik-dnevna svetloba	1953336 ^a	1310005 ^a	1302065 ^a	4335645 ^a	1203301 ^a
	kisik-tema	1881411 ^b	888001 ^b	1166258 ^b	3808134 ^a	1004633 ^a
	Z.	*	*	**	nz	nz
2-propanol	kisik-dnevna svetloba	4308580 ^a	4783303 ^a	2426588 ^a	5035615 ^a	3869150 ^a
	kisik-tema	2528426 ^b	2063100 ^b	1470932 ^b	2488324 ^b	1903814 ^b
	Z.	***	***	***	***	*
1-heksanol	kisik-dnevna svetloba	1770917 ^a	1034419 ^a	2949766 ^a	2709331 ^a	2244205 ^a
	kisik-tema	952085 ^b	418058 ^b	2128383 ^a	1003405 ^b	1275291 ^b
	Z.	***	***	nz	***	**
1-pentanol	kisik-dnevna svetloba	357866 ^a	249854 ^a	570775 ^a	299919 ^a	653837 ^a
	kisik-tema	149182 ^b	109096 ^b	317172 ^b	182312 ^b	165958 ^b
	Z.	***	***	**	*	**
1-butanol	kisik-dnevna svetloba	2458826 ^a	1195343 ^a	1192824 ^a	2410584 ^a	1932466 ^a
	kisik-tema	1998905 ^b	904845 ^b	1159274 ^a	1554692 ^b	1641788 ^b
	Z.	*	**	nz	*	**
1-propanol	kisik-dnevna svetloba	1695293 ^a	1356441 ^a	1189668 ^a	1122324 ^a	1886792 ^a
	kisik-tema	1247529 ^b	958882 ^b	1074247 ^b	742364 ^b	1274982 ^b
	Z.	*	***	**	*	***
2-metil-1-propanol	kisik-dnevna svetloba	671962 ^a	406239 ^a	423320 ^a	366551 ^a	552147 ^a
	kisik-tema	626654 ^b	345872 ^b	324769 ^a	325421 ^a	464879 ^b
	Z.	*	**	nz	nz	*
3-metil-1-butanol	kisik-dnevna svetloba	4579400 ^a	2258686 ^a	4600648 ^a	2676367 ^a	4303482 ^a
	kisik-tema	3865675 ^b	1765604 ^b	3793850 ^b	2170055 ^a	3492173 ^b
	Z.	**	***	**	nz	*

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

Vpliv enomesečnega skladiščenja sort orehov pri sobni temperaturi, hranjenih v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi na razgradne produkte nam prikazuje preglednica 11. Iz preglednice 11 opazimo, da med skladiščenjem vzorcev orehov v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi pri sobni temperaturi po enem mesecu ne nastane nič 1-okten-3-ola, 2-pentenala in tt-heptadienala. Izmed aldehydov nastane samo heksanal. Poleg heksanala je moč opaziti tudi alkohole 2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol in 3-metil-1-butanol. Pri vseh razgradnih produktih je površina pod kromatografskim vrhom posameznega produkta večja v primeru skladiščenja vzorca v kisiku-dnevni svetlobi kot v primeru skladiščenja vzorca v kisiku-temi. Iz preglednice 11 je razviden tudi statistično značilen vpliv med razgradnimi produkti, ki so nastali pri skladiščenju v kisiku-dnevni svetlobi in razgradnimi produkti, ki so nastali pri skladiščenju v kisiku temi.

V preglednici 12 je predstavljen vpliv posamezne sorte letnika 2005 na posamezne razgradne produkte pri skladiščenju vzorcev v kisiku-dnevni svetlobi in v kisiku-temi. Pri vseh razgradnih produktih in obeh načinih skladiščenja opazimo, da ima sorta letnika 2005 statistično značilen vpliv na količino razgradnih produktov, ki nastanejo po koncu skladiščenja pri sobni temperaturi v enem mesecu razen v primeru heksanala, 1-butanolu v kisiku-temi in 2-metil-1-propanolu v kisiku-temi. Pri 1-okten-3-olu, 2-pentenu in tt-heptadienu ni možno govoriti o statistično značilnem vplivu, saj so vrednosti v teh primerih nič oz. nismo zaznali teh razgradnih produktov.

Preglednica 12: Razlike v koncentraciji (površinami pod kromatografskimi vrhovi) razgradnih produktov različnih sort orehov letnika 2005 po enomesečnim skladiščenju pri sobni temperaturi, hranjenih v kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi (Duncanov test, $\alpha=0,05$)

Razgradni produkt	tretiranje	sorta				Ronde de Montignac	z.
		Cisco	Franquette	Grosvert	Marbot		
heksanal	kisik-dnevna svetloba	315940 ^b	504956 ^{ab}	370460 ^{ab}	724714 ^a	677884 ^a	nz
	kisik-tema	127095 ^a	110985 ^a	301049 ^a	181798 ^a	208787 ^a	nz
1-okten-3-ol	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
2-pentenal	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
tt-heptadienal	kisik-dnevna svetloba	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
	kisik-tema	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	/
2-butanol	kisik-dnevna svetloba	1953336 ^b	1310005 ^b	1302065 ^b	4335645 ^a	1203301 ^b	***
	kisik-tema	1881411 ^b	888001 ^c	1166258 ^c	3808134 ^a	1004633 ^d	***
2-propanol	kisik-dnevna svetloba	4308580 ^{ab}	4783303 ^a	2426588 ^c	5035615 ^a	3869150 ^b	***
	kisik-tema	2528426 ^a	2063100 ^b	1470932 ^c	2488324 ^a	1903814 ^b	***
1-heksanol	kisik-dnevna svetloba	1770917 ^c	1034419 ^d	2949766 ^a	2709331 ^a	2244205 ^b	***
	kisik-tema	952085 ^b	418058 ^c	2128383 ^a	1003405 ^b	1275291 ^b	***
1-pentanol	kisik-dnevna svetloba	357866 ^b	249854 ^b	570775 ^a	299919 ^b	653837 ^a	***
	kisik-tema	149182 ^{bc}	109096 ^c	317172 ^a	182312 ^b	165958 ^{bc}	***
1-butanol	kisik-dnevna svetloba	2458826 ^a	1195343 ^b	1192824 ^b	2410584 ^a	1932466 ^{ab}	*
	kisik-tema	1998905 ^a	904845 ^b	1159274 ^{ab}	1554692 ^{ab}	1641788 ^{ab}	nz
1-propanol	kisik-dnevna svetloba	1695293 ^a	1356441 ^b	1189668 ^b	1122324 ^b	1886792 ^a	***
	kisik-tema	1247529 ^a	958882 ^c	1074247 ^b	742364 ^d	1274982 ^a	***
2-metil-1-propanol	kisik-dnevna svetloba	671962 ^a	406239 ^c	423320 ^c	366551 ^c	552147 ^b	***
	kisik-tema	626654 ^a	345872 ^b	324769 ^b	325421 ^b	464879 ^{ab}	nz
3-metil-1-butanol	kisik-dnevna svetloba	4579400 ^a	2258686 ^b	4600648 ^a	2676367 ^b	4303482 ^a	***
	kisik-tema	3865675 ^a	1765604 ^d	3793850 ^a	2170055 ^c	3492173 ^b	***

z. – statistična značilnost vpliva; *** $P \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilna razlika; ** $P \leq 0,01$ statistično visoko značilna razlika; * $P \leq 0,05$ statistično značilna razlika; nz $P > 0,05$ statistično neznačilna razlika; ^{a,b} skupine z enako črko v indeksu se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Namen diplomskega dela je bil v prvi vrsti določiti razgradne produkte, ki nastanejo med skladiščenjem mletih orehov. Poleg tega nas je zanimal tudi vpliv različnih pogojev na nastanek razgradnih produktov med skladiščenjem, zato smo vzorce orehov izpostavili zraku-dnevni svetlobi, zraku-temi ter dušiku-dnevni svetlobi in jih držali na temperaturi 60 °C za obdobje dveh mesecev in kisiku-dnevni svetlobi ter kisiku-temi pri sobni temperaturi za obdobje enega meseca. Zanimala nas je tudi maščobnokislinska sestava na začetku in po končani izpostavitvi različnim pogojem.

Ugotovili smo, da začetni vzorci orehov povprečno vsebujejo 10,12 % nasičenih maščobnih kislin, 17,65 % enkrat nenasičenih maščobnih kislin in 72,23 % večkrat nenasičenih maščobnih kislin v skupni maščobnokislinski sestavi. Med nasičenimi maščobnimi kislinami je največji delež palmitinske kisline (7,75 %) in stearinske kisline (2,37 %) v skupni maščobnokislinski sestavi. Med enkrat neasičenimi prevladuje oleinska kislina z 17,65 % v skupni maščobnokislinski sestavi. Največji delež v skupni maščobnokislinski sestavi večkrat nenasičenih maščobnih kislin pripada linolni kislini z 60,94 % in α -linolenski z 11,29 %.

Iz preglednice 5 je razvidno, da je maščobnokislinska sestava zelo različna pri različnih sortah in je sortno odvisna.

Preglednica 13: Primerjava lastnih rezultatov maščobnokislinske sestave z rezultati iz literature (ut. % od skupnih maščobnih kislin)

Maščobna kislina	lastni rezultati	Amaral (2003)	Savage in sod. (1999)	Souci in sod (2000)
C16:0 palmitinska	7,75	6,98	7,18	7,3
C18:0 stearinska	2,37	2,50	1,57	2,3
C18:1 oleinska	17,65	16,30	18,19	18,2
C18:2 linolna	60,94	60,30	58,76	57,7
C18:3 α-linolenska	11,29	11,95	13,23	12,6

Opazimo, da v orehih prevladujejo nenasičene maščobne kisline, največji delež je linolne kisline potem ji sledi oleinska kislina in α -linolenska kislina. Večkrat nenasičene maščobne kisline so zaradi dvojnih vezi najbolj izpostavljene oksidacijskim procesom. Belitz in sod. (2004) navajajo, da se najlažje oksidira α -linolenska kislina potem linolna kislina in nazadnje še oleinska kislina. Linolna kislina se oksidira 40-krat hitreje kot oleinska kislina, α -linolenska kislina pa 2,4-krat hitreje kot linolna kislina trdi Frankel (1998).

Po končanem skladiščenju mletih orehov smo določali maščobnokislinsko sestavo vzorcev, ki so bili skladiščeni v zraku-dnevni svetlobi, v zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi. Opazili smo, da pride do sprememb ut. % maščobnih kislin pred in po skladiščenju pod

različnimi pogoji. Pri vse sortah se je znižal ut. % α -linolenske in linolne kisline po končanem skladiščenju, razen pri sorti Grosvert, kjer se je znižal ut. % samo α -linolenski kislini. Ut. % palmitinske, stearinske in oleinske kisline ter pri sorti Grosvert še linolne kisline se poveča ali ostane približno enaki, kar pomeni, da se porabljata tekom oksidacije v največji meri α -linolenska in linolna maščobna kislina, zato se zaradi zmanjšanja teh dveh kislin povečajo deleži palmitinske, stearinske in oleinske maščobne kisline, saj kot trdijo Belitz in sod (2004) in Frankel (1998) sta α -linolenska in linolna kislina najbolj dovzetni za oksidacijski proces.

Pri vseh analiziranih sortah je največji delež α -linolenske in linolne kisline v skupni maščobnokislinski sestavi po končanem skladiščenju pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni dušiku-dnevni svetlobi razen pri sorti Grosvert pri kateri je največji ut. % α -linolenske kisline v primeru tretiranja v zraku-temi. Najmanjši ut. % α -linolenske in linolne kisline je v vzorcu, ki smo ga izpostavili zraku-dnevni svetlobi. Ut. % palmitinske, stearinske in oleinske ter pri sorti Grosvert še linolne kisline se najbolj poveča pri tretiranju v zraku-dnevni svetlobi.

Oksidacijska stabilnost je največja v primeru skladiščenja mletih orehov v dušiku-dnevni svetlobi, potem ji sledi skladiščenje v zraku-temi in najmanjša oksidacijska stabilnost je pri mletih orehih, ki smo jih skladiščili v zraku-dnevni svetlobi. Kadivec (2005) podobno ugotavlja, da so zmleti orehi najbolj obstojni v dušikovi atmosferi, sledi vakuumsko pakiranje, ki ga mi nismo vključili v raziskavo, najslabše pa se obnese atmosfera zraka.

Manjši končni ut. % α -linolenske in linolne kisline v primeru izpostavljanja v zraku-dnevni svetlobi kot v primeru izpostavljanja zraku-temi kaže na to, da ima svetloba pomemben vpliv na oksidacijo α -linolenske in linolne kisline in domnevamo, da svetloba pospešuje oksidacijo večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Sattar in sod. (1989) navajajo podobno, da se peroksidno število, ki je merilo za količino primarnih oksidacijskih produktov-hidroperoksidov, mnogo hitreje povečuje tekom skladiščenja orehovega olja izpostavljenega neposredno svetlobi, kot orehovega olja, ki ni izpostavljen svetlobi.

Primerjava končnega ut. % α -linolenske in linolne maščobne kisline med vzorcema mletih orehov, ki sta bila izpostavljena dnevni svetlobi v dušikovi atmosferi in dnevni svetlobi v zraku, nam pokaže, da je končni ut. % α -linolenske in linolne kisline vzorca v zraku-dnevni svetlobi veliko manjši kot v vzorcu izpostavljenem v dušiku-dnevni svetlobi. Iz tega lahko sklepamo, da se na zraku α -linolenska in linolna kislina hitreje oksidirata kot v dušikovi atmosferi, saj je v zračni atmosferi prisoten kisik, ki je glavni reagent za oksidacijo maščobnih kislin. Maté in sod (1996) tudi ugotavljajo, da se peroksidno število veliko hitreje povečuje pri vzorcih orehov, ki so bili izpostavljeni višjim koncentracijam kisika kot vzorci orehov, ki so bili izpostavljeni nižjim koncentracijam kisika.

Glavni del naše raziskave je bil določiti razgradne produkte, ki nastanejo pri skladiščenju mletih orehov. Zanimal nas je tudi vpliv različnih pogojev na nastanek razgradnih produktov. Razgradne produkte smo določali neposredno iz vial, v katerih smo izpostavljali vzorce mletih orehov različnim pogojem, s plinsko kromatografijo.

Za nastanek arome, ki nastane pri oksidacijskem kvarjenju maščob v živilih, Frankel (1998) krivi lahkohlapne produkte, ki lahko v že zelo majhnih koncentracijah, pogosto pod 1 ppm, prispevajo k neprijetni aromi. Med lahkohlapne produkte uvršča aldehide, ketone, ogljikovodike in alkohole. Poleg tega navaja tudi, da razpad hidroperoksidov oz. primarnih oksidacijskih produktov na razgradne produkte oz. sekundarne oksidacijske produkte pospešuje višja temperatura in prisotnost kovinskih ionov.

Med razgradnimi komponentami smo zaznali aldehyd heksanal, ki je kot navajajo Crow in White (2003a), Gordon (2001) in Belitz in sod. (2004) prevladujoč v hlapni frakciji in nastane iz linolne kisline. Med aldehidi smo zasledili tudi 2-pental, ki ga navajajo med lahkohlapnimi produkti tudi Crow in White (2003b) in Belitz in sod (2004). Trans, trans-heptadienal je naslednji aldehyd, ki sta ga tako kot mi zaznali tudi Crow in White (2003b) in ga navajajo tudi Belitz in sod. (2004) kot še Gunstone (1996). Med alkoholi je najpomembnejši 1-okten-3-ol, ki se je pojavil v našem končnem vzorcu mletih orehov kot tudi v vzorcu orehov, ki sta jih analizirala Crow in White (2003b). Določili smo še naslednje alkohole: 2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol, 2-metil-1-propanol in 3-metil-1-butanol. Alkohol 1-pentanol navaja med kratko-verižnimi razgradnimi produkti tudi Gunstone (1996).

Lahkohlapne razgradne produkte smo določili tudi kvantitativno in sicer nas je zanimal vpliv pogojev. Pri sorti Grosvert je bilo največ razgradnih produktov pri vzorcu, ki smo ga izpostavili zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu izpostavljenem zraku-temi razen pri tt-heptadienalu in 3-metil-1-butanolu, kjer je bila najmanjša količina produkta v vzorcu izpostavljenem dušiku-dnevni svetlobi. Vzorca sorte Ronde de Montignac, ki so bili izpostavljeni zraku-dnevni svetlobi imajo najvišjo količino razgradnih produktov, tako aldehidov kot tudi alkoholov. Najnižja količina aldehidov in alkoholov se pojavi pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni zraku-temi, razen v primeru tt-heptadienala, 2-propanola, 2-metil-1-propanola in 3-metil-1-butanola, kjer so bile najnižje vrednosti v vzorcih, ki so bili izpostavljeni dušiku-dnevni svetlobi.

Pri vzorcih sorte Grosvert, ki so bili izpostavljeni zraku-dnevni svetlobi, je bila največja količina razgradnih produktov, kar kaže na popolno ujemanje z končnim ut. % maščobnokislinske sestave v vzorcu. Tega ujemanja ne moremo potrditi za vzorce sorte Grosvert, ki so bili tretirani v zraku-temi, kjer je bil končni ut. % α linolenske in linolne kisline najvišji od vseh treh tretiranj, količina razgradnih produktov razen tt-heptadienala in 3 metil-1-butanola pa je najmanjša.

Zanimal nas je tudi vpliv temperature na razpad hidroperoksidov in tvorbo lahkohlapnih produktov, zato smo izpostavili vzorce Cisco, Franquette, Grosvert, Marbot in Ronde de Montignac še kisiku-dnevni svetlobi in kisiku-temi ter jih temperirali pri sobni temperaturi za obdobje enega meseca. Opazili smo, da se je od aldehidov, ki smo jih zaznali pri vzorcih skladiščenih na zraku-dnevni svetlobi, zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi, pojavil samo heksanal. To bi lahko potrdilo mnenje, ki ga je podal Frankel (1998), da višje temperature pospešujejo razgradnjo primarnih oksidacijskih produktov-hidroperoksidov na sekundarne razgradne produkte, čeprav vzorca niso med sabo primerljivi glede pogojev in časa skladiščenja. Vendar pa se v tej skupini vzorcev pojavijo alkoholi in to z večjimi površinami kromatografskih vrhov kot v primeru vzorcev, ki so bili skladiščeni na zraku-

dnevni svetlobi, zraku-temi in dušiku-dnevni svetlobi. Višji alkoholi, ki smo jih zaznali med lahkohlapnimi produkti, bi lahko bili tudi sestavni del osnovne arome orehov, kot to navaja tudi Prasad (2003) in sicer, da vsebuje orehovo olje vsaj 29 hlapnih komponent, kot so terpeni, alkoholi itd.

Rezultati so potrdili naša predvidevanja. Zmleti orehi so zaradi velikega ut. % α -linolenske in linolne maščobne kisline zelo dovzetni za oksidacijo. Pri oksidaciji α -linolenske in linolne maščobne kisline se delež le-teh v vzorcu manjša, večajo pa se deleži ostalih maščobnih kislin, ki niso tako močno podvržene oksidacijskim procesom. Zaradi vpliva dnevne svetlobe, zračne atmosfere se stopnja oksidacije α -linolenske in linolne maščobne kisline bistveno poveča, med tem ko tema in dušikova atmosfera preprečujeta oksidacijske procese. Pogoji skladiščenja vplivajo tudi na nastale aldehide in alkohole, ki smo jih določili v vzorcih kot razgradne produkte oksidacije predvsem α -linolenske in linolne maščobne kisline.

5.2 SKLEPI

Na osnovi rezultatov kemijskih analiz pred in po izpostavitvi mletih orehov različnim pogojem skladiščenja sklepamo naslednje:

- ✦ analizirani vzorci orehov vsebujejo v povprečju 7,75 ut. % palmitinske kisline, 2,37 ut. % stearinske kisline, 17,65 ut. % oleinske kisline, 60,94 ut. % linolne kisline in 11,29 ut. % α -linolenske kisline;
- ✦ delež nasičenih maščobnih kislin je 10,12 %, delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin je 17,65 % in delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin je 72,23 %;
- ✦ maščobnokislinska sestava orehov je sortno značilna;
- ✦ po končanem skladiščenju mletih orehov se delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin zmanjša, delež nasičenih in enkrat nenasičenih maščobnih kislin pa poveča;
- ✦ večkrat nenasičene maščobne kisline so zaradi dvojnih vezi bolj podvržene oksidaciji, kot maščobne kisline, ki nimajo dvojnih vezi;
- ✦ delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin se najbolj zmanjša pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni zraku-dnevni svetlobi potem pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni zraku-temi in najmanj se zmanjša delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin vzorcem, ki so bili izpostavljeni dušiku-dnevni svetlobi;
- ✦ po oksidaciji večkrat nasičenih maščobnih kislin nastanejo primarni oksidacijski produkti hidroperoksidi; hidroperoksidi pa razpadejo na aldehide in alkohole – sekundarne produkte oksidacije;
- ✦ med aldehidi zaznamo heksanal, 2-pental in trans, trans-heptadienal, med alkoholi pa 1-okten-3-ol, 2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol, 2-metil-1-propanol in 3-metil-1-butanol;
- ✦ večja količina aldehidov in alkoholov nastane, če so mleti orehi izpostavljeni svetlobi in v zračni atmosferi kot v temi in dušikovi atmosferi;
- ✦ sorta ima vpliv na nastanek 2-butanola, 2-propanola, 1-heksanola, 1-pentanola, 1-butanola, 1-propanola, 2-metil-1-propanola, 3-metil-1-butanola pri skladiščenju mletih orehov;
- ✦ najprimernejše skladiščenje mletih orehov bi bilo v temi v dušikovi atmosferi pri nizkih temperaturah.

6 POVZETEK

Orehi in izdelki iz orehov, kot so orehovo olje, zdravila in kozmetična sredstva, orehov liker, orehova moka in mleti orehi, ki so uporabni v slaščičarstvu in konditorski industriji, so v vse večji meri sestavni del naše vsakodnevne prehrane. Mnogi raziskovalci v številnih državah namenjajo veliko pozornosti orehom in izdelkom iz njih ter njihov vpliv na zdravje s tem, da potrjujejo vsebnost nekaterih pomembnih prehranskih komponent v orehih. Ravno tako se temu primerno povečuje tudi pridelava orehov in njihovih izdelkov v svetu še posebej pa v državah, kjer poznajo oreh že tisočletja. To so Kitajska, Iran, Turčija, Indija, ZDA in še nekatere evropske države, v katere se je oreh razširil v stoletjih iz zahodno azijskih držav.

Prehranska sestava orehov je zelo pestra. Je živo z veliko vsebnostjo maščob (60-70 %), beljakovin (10-15 %), vlaknin (5-6 %), vsebuje (3-5 %) vode in 2 % mineralnih snovi. Poleg tega vsebuje elagično kislino, ki rastline ščiti pred škodljivimi posledicami kancerogenih kemikalij, težkih kovin in napadi insektov, nizko razmerje aminokislinskega arginin:lizin, γ -tokoferol itd. Kljub temu, da je oreh izrazito maščobno živo pa ima ugodno razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami, ki znaša 5,3:1 in je vir esencialnih maščobnih kislin. Vitamini, ki jih vsebuje pa so vitamin A, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₃ in vitamin E.

Ravno zaradi visoke vsebnosti maščob in velikega deleža večkrat nenasičenih maščobnih kislin v skupni maščobnokislinski sestavi, strokovnjaki posebno pozornost posvečajo skladiščenju in predelavi orehov. Svojo prehransko in senzorično kakovost morajo ohraniti od pridelave preko predelave do konzumacije pri končnem potrošniku. Njihova maščobnokislinska sestava je zelo v prid večkrat nenasičenim maščobnim kislinam. Na podlagi naše raziskave in rezultatov, ki se ujemajo z mnogimi avtorji, je delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin v skupni maščobnokislinski sestavi v orehih 72,23 %. Ta delež sestavljata α -linolenska kislina z 11,29 % in linolna kislina z 60,94 %. Delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin predstavlja v največji meri oleinska kislina, ki predstavlja 17,65 odstotni delež od skupne maščobnokislinske sestave. Predstavnicami nasičenih maščobnih kislin sta palmitinska kislina z 7,75 % in stearinska kislina z 2,37 % od skupne maščobnokislinske sestave, kar pomeni, da je delež nenasičenih maščobnih kislin v orehu 10,12 %.

Večkrat nenasičene maščobne kisline so zelo podvržene oksidacijskim procesom in s tem nastanku primarnih produktov oksidacije – hidroperoksidov. Hidroperoksidi so produkti med nenasičenimi maščobnimi kislinami in kisikom v procesu oksidacije maščobnih kislin. Nenasičene maščobne kisline so podvržene oksidaciji zaradi dvojnih vezi, ki jih vsebujejo. Dvojne vezi so potencialna reaktivna mesta v maščobni kislini in na tem mestu poteka reakcija maščobne kisline s kisikom. Večje kot je število dvojnih mest, hitreje poteče reakcija med kisikom in maščobno kislino. Reakcija kisika z linolno maščobno kislino, ki ima dve dvojne vezi, je 40-krat hitrejša od reakcije kisika z oleinsko maščobno kislino, ki ima eno dvojno vez. Še hitrejša je reakcija med kisikom in α -linolensko maščobno kislino, ki vsebuje tri dvojne vezi, in sicer za faktor 2,4 v primerjav z oksidacijo linolne maščobne kisline.

Oksidacijo maščobnih kislin lahko razdelimo na tri skupine: avtooksidacijo, fotooksidacijo in oksidacijo z encimom lipoksigenaza. Avtooksidacija je reakcija maščobne kisline z atmosferskim kisikom. Pri fotooksidaciji poznamo dva tipa fotooksidacije: tip I in tip II. Pri obeh tipih fotooksidacije je za nastanek hidroperoksidov potrebna poleg kisika tudi svetloba, ki pa bisveno pospeši potek nastanka hidroperoksidov v primerjavi z avtooksidacijo. To smo v naši raziskavi tudi dokazali. Po končani izpostavitvi vzorcev mletih orehov različnim pogojem (zrak-dnevna svetloba, zrak-tema in dušik-dnevna svetloba) smo določali deleže maščobnih kislin. Ugotovili smo, da se zmanjša delež α -linolenske in linolne maščobne kisline, ki sta najbolj reaktivni s kisikom, po končanem skladiščenju mletih orehov. Končni delež α -linolenske in linolne maščobne kisline se je najbolj zmanjšal pri vzorcu orehov, ki smo ga izpostavili zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcu, ki smo ga izpostavili dušiku-dnevni svetlobi. Pri vzorcih, ki so bili v zraku-temi se delež α -linolenske in linolne maščobne kisline ni zmanjšal tako močno kot pri vzorcu izpostavljenem v zraku- dnevni svetlobi zaradi odsotnosti svetlobe.

Senzorične kakovosti pa ne kvarijo primarni oksidacijski produkti, to so hidroperoksidi. Hidroperoksidi so dokaj nestabilni produkti in kmalu razpadejo na lahkohlapne sekundarne oksidacijske produkte. Te lahko senzorično zaznamo že v zelo majhnih koncentracijah (pod 1 ppm) in ravno ti sekundarni produkti povzročajo vonj, okus in aromo žarkega. Razpad hidroperoksidov še dodatno pospešujejo ioni kovin in višja temperatura skladiščenja. Razgradni produkti hidroperoksidov so aldehidi, ketoni in alkoholi, čeprav mnogi avtorji navajajo še kisline, alkane, alkene itd. Med aldehidi je najbolj pomemben heksanal, ki ga nastane največ in je v mnogih raziskavah kot merilo sekundarnih oksidacijskih produktov. Več kot je hidroperoksidov, več je sekundarnih razgradnih produktov. Iz tega lahko sklepamo, da velja za nastanek sekundarnih produktov isto kot za nastanek hidroperoksidov: različni pogoji skladiščenja vplivajo na količino nastalih sekundarnih oksidacijskih produktov. Sekundarne razgradne produkte smo v naši raziskavi določali z GC-MS in potrdili nekatera dejstva. Izmed aldehydov smo zaznali heksanal, 2-pental in trans, trans-heptadienal. Med razgradnimi produkti je bilo veliko alkoholov in sicer 1-okten-3-ol, 2-butanol, 2-propanol, 1-heksanol, 1-pentanol, 1-butanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol in 3-metil-1-butanol. Višji alkoholi so lahko tudi sestavni deli osnovne arome orehov. Največ razgradnih produktov je nastalo pri vzorcih, ki smo jih izpostavili zraku-dnevni svetlobi, najmanj pa v vzorcih, ki smo jih izpostavili zraku-temi.

Za ohranitev senzorične in prehranske kakovosti je potrebno biti previden že pri pridelavi, pri predelavi in skladiščenju orehov, saj so orehi zelo dovzetni za oksidacijski kvar in nastanek neprijetnih arom. Ob skladiščenju pri primernih nizkih temperaturah (0-2 °C), v temi, v atmosferi s čim nižjo koncentracijo kisika in pri primerni relativni vlažnosti lahko ohranimo senzorično in prehransko vrednost orehov še posebej mletih, ki so zaradi večje kontaktne površine z okoljem in pogojih v njih še bolj občutljivi na oksidacijski kvar.

7 VIRI

- Abram V. 1995. Kinetika oksidacije lipidov. V: Podaljšanje obstojnosti živil. 17. Bitenčevi živilski dnevi '95, Ljubljana, 8 – 10 jun. 1995. Klofutar C., Hribar J., Žlender B., Plestenjak A., Pokorn J., Rudan – Tasič D., Wondra M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 77-85
- Amaral J. S., Casal S., Pereira A. J., Seabra M. R., Oliveira B. P. P. 2003. Determination of sterol and fatty acid composition, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 26: 7698-7702
- Beare-Rogers J., Dieffenbacher A., Holm J. V. 2001. Lexicon of lipid nutrition. *Pure and Applied Chemistry*, 73, 4: 685-744
- Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P. 2004. *Food chemistry*. 3rd ed. Berlin, Springer verlag: 153-221
- Bernik R., Solar A., Skok D. 2004. Fizikalne lastnosti ploda oreha (*Juglans regia* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*, 83: 119-135
- Buransompob A., Tang J., Mao R., Swanson B. G. 2003. Rancidity of walnuts and almonds affected by short time heat treatments for insect control. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27: 445-464
- Caglarirmak N. 2003. Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglans regia* L.). *Nahrung / Food*, 47, 1: 28-32
- Crowe T. D., Crowe T. W., Johnson L. A., White P. J. 2002. Impact of ekstraktion method on yield of lipid oksidation products from oxidized and unoksidized walnuts. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 79, 5: 453-456
- Crowe T. D., White P. J. 2003a. Oxidation, flavor and texture of walnuts reduced in fat by supercritical carbon dioxide. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 80, 6: 569-574
- Crowe T. D., White P. J. 2003b. Oxidative stability of walnut oils extracted with supercritical carbon dioxide. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 80, 6: 575-578
- Črnko J., Lekšan M., Smole J., Oblak M., Peric V., Solar A., Modic D., Vesel V., Adamič F. 1990. Naš sadni izbor: najustreznejše sorte za vaš sadovnjak. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 239 str.
- DeMan J. M. 1999. *Principles of food chemistry*. 3rd ed. Gaithersburg, An Aspen Publication: 54-57
- Frankel E. N. 1998. *Lipid oxidation*. Dundee, The Oily Press: 23-77
- Garces R., Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters repartition from fresh plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 211: 139-143
- Godec B. 1998 *Sadni izbor za Slovenijo*. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 82 str.

- Gordon M. H. 2001. The development of oxidative rancidity in foods. V: Antioksidants in food. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. Cambridge. (eds.). Woodhead Publishing Ltd: 7-19
- Gunstone F. D. 1996. Fatty acid and lipid chemistry. 1st ed. London, Blackie Academic & Professional: 162-180
- Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 142-145
- Holland B., Welch A. A., Unwin I. D., Buss D. H., Paul A. A., Southgate D. A. T. 1992. McCance and Widdowson's the composition of foods. 5th ed. Cambridge, The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food: 318-321
- Kadivec L. 2005. Vpliv tehnologije sušenja in skladiščenja orehov (*Juglans regia* L.) na stopnjo oksidacije maščob. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 55-60
- Kajiser A., Dutta P., Savage G. 2000. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. Food Chemistry, 71, 1: 67-70
- Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. 1998. Laboratorijske vaje iz kemije. 3. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 240-242
- Kulier I. 1996. Standardne euro tablice kemijskog sastava namirnica. Zagreb, Hrvatski farmer: 259-260
- Madžarević M. 2006. Vsebnost nekaterih pomembnih prehranskih komponent v orehah (*Juglans regia* L.). Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 57-59
- Maté J. I., Saltveit M. E., Krochta J. M. 1996. Peanut and walnut rancidity: Effect of oxygen concentration and relative humidity. Journal of Food Science, 61, 2: 465-468
- O'Brien R. D. 2004. Fats and oils. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press: 1-10
- Ocepek R. 1995. Oreh: Pridelovanje in uporaba. Ljubljana, Svet knjige: 3-10; 71-74
- Pokorny J. 2001. Introduction. V: Antioksidants in food. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (eds.). Cambridge, Woodhead Publishing Ltd: 1-3
- Prabhakar J. V., Amla B. L. 1978. Influence of water activity on the formation of monocarbonyl compounds in oxidizing walnut oil. Journal of Food Science, 43, 6: 1839-1843
- Prasad R. B. N. 2003. Walnuts and pecans. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 10. 2nd ed. Caballero B., Trugo C. L., Fingals M. P. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 6071-6076
- Sancin V. 1988. Sadje z našega vrta. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 233-244
- SAS/STAT Softwear. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc: Software
- Sattar A., Jan M., Ahmad A., Durrani S. K. 1990. Peroxidation and heavy metals of dry nuts oils. Acta Alimentaria, 19, 3: 225-228

- Sattar A., Jan M., Ahmad A., Hussain A., Khan I. 1989. Light induced oxidation of nut oils. *Die Nahrung*, 33, 2: 213-215
- Savage G. P. 2001. Chemical composition of walnuts (*Juglans regia* L.) grown in New Zealand. *Plant Foods for Human Nutrition*, 56: 75-82
- Savage G. P., Dutta P. C., Mcneil D. L. 1999. Fatty acid and tocopherol contents and oxidative stability of walnut oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 76, 9: 1059-1063
- Souci S. W., Fachmann W., Kraut H., Scherz H., Senser F. 2000. Food composition and nutrition tables. 6th ed. Stuttgart, CRC Press: 1030-1031
- Stark C., McNeil D. L., Savage G. P. 2000. The effect of storage conditions on the stability of peroxide values of New Zealand grown walnuts. *Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand*, 25: 43-54
- Szocs F. 2002. Walnut free radicals studied by ESR. *Journal of Food Science*, 67, 3: 953-955
- Škof D. 1992. Ocena hranilne vrednosti in skladiščne stabilnosti orehov. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 74-77
- Vanhanen L. P., Savage G. P. 2006. The use of peroxide value as a measure of quality for walnut flour store at five different temperatures using three different types of packaging. *Food Chemistry*, 99: 64-69
- Vercellotti J. R., Angelo A. J. St., Spanier A. M. 1992. Lipid oxidation in foods. V: Lipid oxidation in food. Angelo A. J. St. (ed.). Washington, American Chemical Society: 1-9
- Vidakovič S. 2005. Prehransko fiziološka kakovost in oksidacijska stabilnost rastlinskih olj. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 12-22
- Warner K. J. H., Dimick P. S., Ziegler G. R., Mumma R. O., Hollender R. 1996. 'Flavor-fade' and off-flavors in ground roasted peanuts as related to selected pyrazines and aldehydes. *Journal of Food Science*, 61, 2: 469-472
- Zelenik-Blatnik M. 1992. Kemične spremembe triacilglicerolov v živilih. V: Lipidi. 14. Bitenčevi živilski dnevi '92, Ljubljana, 4-5 jun. 1992. Klofutar C., Žlender B., Hribar J., Plestenjak A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 17-27
- Zwarts L., Savage G. P., McNeil D. L. 1999. Fatty acid content of New Zealand-grown walnuts (*Juglans regia* L.). *International Journal of Food Science and Nutrition*, 50: 189-194

8 ZAHVALA

Za strokovno pomoč pri izdelavi diplomske naloge se zahvaljujem mentorju doc. dr. Rajku Vidrihu s Katedre za tehnologijo rastlinskih živil na Biotehniški fakulteti in recenzentki doc. dr. Lei Gašperlin.

Za pomoč pri praktični izvedbi diplomske naloge se zahvaljujem gospe Sonji Čerpič s Katedre za tehnologijo rastlinskih živil na Biotehniški fakulteti.

Za pomoč pri statistični obdelavi podatkov bi se rad zahvalil doc. dr. Lei Gašperlin s Katedre za tehnologijo mesa in gotovih jedi na Biotehniški fakulteti.

Za pomoč pri iskanju in oblikovanju virov se zahvaljujem univ. dipl. ing. Ivici Hočevar in univ. dipl. bibl. Barbari Slemenik z Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Na koncu se iskreno zahvaljujem prijateljem, predvsem pa staršema za moralno, psihično in finančno pomoč v vseh letih študija.

Vsem skupaj še enkrat hvala!