Latvijas Lauksaimniecības universitāte

Pārtikas tehnoloģijas fakultāte

Ķīmijas katedra

Mg. chem. **Aleksandrs Kovaļčuks**

promocijas darbs

VISTU OLU EĻĻAS IEGUVE UN KVALITĀTE

HEN EGG OIL EXTRACTION AND QUALITY

inženierzinātņu doktora (*Dr. sc. ing.*) zinātniskā grāda iegūšanai

Pārtikas zinātnes nozares Pārtikas produktu kvalitāte apakšnozarē

Promocijas darba vadītājs
Asocietā profesore **Dr. sc. ing.** Māra Dūma _____

Promocijas darba konsultants
Profesors **Dr. chem.** Viesturs Kreicbergs _____

Promocijas darba autors _____

Jelgava
2017

INFORMĀCIJA / *INFORMATION*

Pētījumi veikti no 2012. līdz 2016. gadam Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas tehnoloģijas katedras un Ķīmijas katedras laboratorijās, Pasaules putnkopības zinātniskās asociācijas Latvijas biedrības zinātniskajā laboratorijā un AS Balticovo laboratorijās.

Zinātniskā darba aprobācija / *Approbation of the research*

Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti **7 recenzējamos zinātniskajos izdevumos /**

The research results are summarised and published in 7 peer–reviewed scientific editions in English.

1. Kovalcuks A., Duma M. (2016) Egg yolk oil as a bioactive compound source for infant nutrition. *Agronomy Research*, 14 (S2), pp. 1347–1360 (Scopus datubāze / *Scopus database*).
2. Kovalcuks A., Duma M. (2016) Distribution of phospholipids, cholesterol and carotenoids in two-solvent system during egg yolk oil solvent extraction. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 10 (5), pp. 313–318.
3. Kovalcuks A. (2015) Comparison of bioactive compound content in egg yolk oil extracted from eggs obtained from different laying hen housing systems. *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*, 9 (6), pp. 589–593.
4. Kovalcuks A., Straumite E., Duma M. (2016) The effect of egg yolk oil on the chemical, physical and sensorial properties of mayonnaise. *Rural Sustainability Research*, 35 (330), pp. 24–31.
5. Kovalcuks A. (2014) Purification of egg yolk oil obtained by solvent extraction from liquid egg yolk. In: *Proceedings of annual 20th international scientific conference Research for Rural Development 2014.* Latvija, Jelgava, pp. 142–147 (Scopus datubāze / *Scopus database*, Web of Science datubāze / *Web of Science database*).
6. Kovalcuks A., Duma M. (2014) Solvent extraction of egg oil from liquid egg yolk. In: *FOODBALT-2014: 9th Baltic Conference on Food Science and Technology „Food for Consumer Well-Being"*. Latvija, Jelgava, pp. 253–256 (Web of Science datubāze / *Web of Science database*).
7. Kovalcuks A., Duma M. (2013) Interaction of selenium and vitamin E in eggs and egg yolk oil. In: *Proceedings of Annual 19th International Scientific Conference Research for Rural Development 2013*. Latvija, Jelgava, pp. 136–140 (Scopus datubāze / Scopus database, Web of Science datubāze / *Web of Science database*).

Par pētījuma rezultātiem ziņots **8 starptautiskajās zinātniskajās konferencēs** Latvijā, Lietuvā, Īgaunijā, Nīderlandē, Austrijā un Anglijā / ***The research results have been presented*** *at 8 international scientific conferences in Latvia, Lithuania, Estonia, The Netherlands, Austria and England.*

1. 7th International Conference „Biosystems Engineering 2016", Tartu, Īgaunija. Stenda referāts / *poster presentation* „Egg yolk oil as a source of bioactive compounds for infant nutrition". Kovalcuks A., Duma A. (May 12–13, 2016).
2. 18th International Conference on Nutrition Science and Innovative Food Packaging Technologies, CNSIFPT 2016, Amsterdama, Nīderlande. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Distribution of phospholipids, cholesterol and carotenoids in two-solvent system during egg yolk oil solvent extraction". Kovalcuks A., Duma M. (May 12–13, 2016).
3. 3rd International Conference on Nutrition & Growth, Vīne, Austrija. Stenda referāts / poster presentation „Egg yolk oil for infant nutrition". Kovalcuks A., Duma M. (March 17–19, 2016).

4. 17th International Conference on Food Processing and Technology, ICFPT 2015, Londona, Anglija. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Comparison of bioactive compound content in egg yolk oil extracted from eggs obtained from different laying hen housing hystems". Kovalcuks A. (June 28–29, 2015).
5. 10th Baltic Conference on Food Science and Technology „Future Food: Innovations, Science and Technology" Foodbalt 2015, Kaunas, Lietuva. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Solvent extraction of egg oil from liquid egg yolk". Kovalcuks A., Straumite E., Duma M. (May 21–22, 2015).
6. Annual 20th international scientific conference „Research for Rural Development 2014", Jelgava, Latvija. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Purfication of egg yolk oil obtained by solvent extraction from liquid egg yolk". Kovalcuks A. (May 21–23, 2014).
7. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology „Food for Consumer Well-Being" Foodbalt 2014, Jelgava, Latvija. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Solvent extraction of egg oil from liquid egg yolk". Kovalcuks A., Duma M. (May 8–9, 2014).
8. Annual 19th International Scientific Conference „Research for Rural Development", Jelgava, Latvia. Mutiskais referāts / *oral presentation* „Interaction of selenium and vitamin E in eggs and egg yolk oil". Kovalcuks A., Duma M. (May 15–17, 2013).

Dalība izstādēs / *Participation at exhibitions*

1. 20. starptautiskā pārtikas, dzērienu, pārtikas pārstrādes, tehnoloģiju, iepakojuma, sabiedriskās ēdināšanas, viesnīcu un veikalu aprīkojuma un servisa izstāde "Riga Food 2015", Rīga, Latvija. Stenda referāts / *poster presentation* "Egg yolk oil". Kovalcuks A., Duma M. (2015. gada 2.–5. septembris).

ANOTĀCIJA

Aleksandra Kovaļčuka promocijas darbs „Vistu olu eļļas ieguve un kvalitāte" izstrādāts no 2012. līdz 2016. gadam LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Ķīmijas katedras Dabas vielu ķīmijas zinātniskajā laboratorijā, Pārtikas tehnoloģijas katedras Iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijā, Pārtikas produktu sensorās novērtēšanas laboratorijā, Pasaules putnkopības zinātniskās asociācijas Latvijas biedrības zinātniskajā laboratorijā, AS Balticovo mikrobioloģijas un ķīmijas laboratorijās.

Promocijas darba **hipotēze** – ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi var iegūt augstvērtīgu olu eļļu.

Promocijas darba mērķis ir izstrādāt olu eļļas ekstrakcijas metodi un analizēt iegūtās olu eļļas ķīmisko sastāvu.

Promocijas darba **pētījuma objekts** ir olu dzeltenums un olu eļļa, kas iegūta ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi no Latvijā turētām *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistu olām.

Darba mērķa sasniegšanai ir izvirzīti šādi **uzdevumi:**

1) pētīt organisko šķīdinātāju ietekmi uz olu eļļas kvalitātes rādītājiem un bioloģiski aktīvo vielu saturu,
2) atrast piemērotāko šķīdinātāju vai šķīdinātāju maisījumu olu eļļas ekstrakcijai no šķidra olu dzeltenuma,
3) izpētīt karotinoīdu, fosfolipīdu un holesterīna dinamiku olu eļļas ekstrakcijas procesā,
4) analizēt faktorus, kas ietekmē bioloģiski aktīvo vielu saturu olās,
5) noteikt olu eļļas kvalitātes rādītājus uzglabāšanas laikā,
6) izvērtēt olu eļļas izmantošanas iespējas majonēzē, analizējot tās kvalitātes īpašības.

Darbs strukturēts trīs nodaļās.

1. nodaļa. Teorētiskā daļa, kas ietver olu pārstrādes nozares raksturojumu Latvijā un pasaulē, olu dzeltenuma ķīmiskā sastāva apskatu, olu eļļas iegūšanas metožu raksturojumu, olu un olu produktu fizikāli-ķīmisko un mikrobioloģisko rādītāju raksturojumu un olu eļļas pielietojuma iespēju izvērtējumu pārtikas produktos.

2. nodaļa. Promocijas darbā izmantotie materiāli un metodes.

3. nodaļa. Pētījumu rezultātu apkopojums un diskusija par olu eļļas šķīdinātāju ekstrakcijas procesu, olu eļļas iznākumu un kvalitātes rādītājiem, olu dzeltenuma lipīdu dinamiku olu eļļas ekstrakcijas procesā; dējējvistu barības sastāva, turēšanas metodes un olu mikrobioloģisko rādītāju ietekmi uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā; olu eļļas pielietojumu pārtikas produktos.

Darba beigās formulēti galvenie secinājumi.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums.**

Izstrādāta oriģināla, vairāksoļu šķīdinātāju ekstrakcijas metode kvalitatīvās olu eļļas iegūšanai no šķidra olu dzeltenuma.

Noteikti olu eļļas kvalitātes parametri un to atkarība no ekstrakcijai lietotiem šķīdinātājiem un izejvielas kvalitātes.

Izpētītas olu eļļas bioloģiskās vērtības paaugstināšanas iespējas.

Noteikts bioloģiski aktīvo vielu saturs olu eļļā.

Pētītas olu eļļas pielietojuma iespējas majonēzes pagatavošanā.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā nozīme.**

Atrodot iespēju pārstrādāt olu dzeltenumu, olu ražošanas un pārstrādes uzņēmumiem atveras papildus iespējas savas produkcijas realizācijai.

Pētījuma rezultātā iegūta augstvērtīga olu eļļa ir plaši pieejama patērētājiem, papildinot uzturu ar bioloģiski aktīvām vielām, kā nepiesātinātas taukskābes, A, D, E vitamīniem, karotinoīdiem un citām.

Olu eļļu var izmantot citu pārtikas produktu ražošanā, palielinot šo produktu uzturvērtību un piešķirot produktiem olai raksturīgu garšu, smaržu un pievilcīgu dzeltenu krāsu, bet tajā paša laikā izslēdzot problēmas, kas saistītas ar indivīdu olu olbaltumvielu alerģiju.

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, apjoms – 116 lpp., 32 tabulas, 34 attēli. Darba izstrādei ir izmantoti 251 informācijas avoti.

ANNOTATION

The hen eggs have a very high nutritional value. Egg whites contains all of essential amino acids, but bioactive compounds, such vitamins A, D and E, carotenoids, phospholipids, sterols, omega-3 and omega-6 fatty acids, are located in egg yolk. Extraction of egg yolk lipids from liquid egg yolk will concentrate all these valuable bioactive compounds in egg yolk oil, which can be used as a very good additive to a human nutrition.

The aim of the PhD thesis *is to develop egg yolk oil extraction method and evaluate chemical composition of extracted egg yolk oil.*

The following ***tasks*** *were put forward to achieve the set aim:*

1) *to study the effect of organic solvents on quality parameters and bioactive compound content of egg yolk oil,*
2) *to find the appropriate solvent or solvent mixture for extraction of egg yolk oil from liquid egg yolk,*
3) *to determine the dynamics of carotenoids, phospholipids and cholesterol during egg yolk oil extraction process,*
4) *to analyse the factors which affects bioactive compound content in eggs,*
5) *to analyse the quality and microbiological parameters of egg yolk oil during storage,*
6) *to evaluate the application possibilities of egg yolk oil in mayonnaise and to analyse the quality parameters of mayonnaise.*

The PhD thesis is structured in three chapters.

Chapter 1. *Theoretical review includes egg market situation analisys in Latvia and in the world, egg yolk chemical composition review, characteristics of extraction process of egg yolk oil, characteristics of egg and egg products physicaly-chemical and microbiological parameters and egg yolk oil application possibilities in food products.*

Chapter 2. *Description of materials, methods and statistical data processing used in the PhD thesis.*

Chapter 3. *Summary of the acquired research results and discussion. The extraction yield and quality parameters of egg yolk oil, egg yolk lipids dynamics during extraction process, effect of hen's feed and keeping method on egg yolk oil bioactive compound content, egg yolk oil quality and microbiological changes during storage, examples of yolk application in mayonnaise.*

The PhD thesis finalised with conclusions.

The PhD thesis „Hen egg oil extraction and quality" has been elaborated between 2012 and 2016 in the World Poultry Scientific Association Latvia branch scientific laboratory, JSC Balticovo laboratories, laboratories of Department of Food Technology and the Department of Chemistry of the Faculty of Food Technology, Latvia University of Agriculture. The volume of the PhD thesis is – 116 pages, including 32 tables and 34 figures. 251 scientific literature resources were used for the PhD thesis development.

SATURS/ *CONTENT*

ANOTĀCIJA 4
ANNOTATION 6
Promocijas darbā ievietoto tabulu saraksts / *List of inserted tables* 9
Promocijas darbā ievietoto attēlu saraksts / *List of inserted figures* 11
Promocijas darbā lietoto apzīmējumu un saīsinājumu skaidrojums /
The explanation of abbreviations and nomenclature used in the thesis 13
IEVADS / *INTRODUCTION* 15
1. PROBLEMĀTIKAS RAKSTUROJUMS / *DESCRIPTION OF PROBLEMS* 17
1.1. Situācijas raksturojums olu ražošanas nozarē Latvijā un pasaulē /
Background of the egg production sector in Latvia and in the world 17
1.2. Olu dzeltenuma ķīmiskais sastāvs /
Chemical composition of chicken egg yolk 21
1.2.1. Olbaltumvielas / *Proteins* 22
1.2.2. Lipīdi / *Lipids* 23
1.2.3. Bioloģiski aktīvas vielas / *Bioactive compounds* 26
1.3. Olu un olu produktu mikrobioloģija /
Microbiology of eggs and egg products 33
1.4. Olu eļļas iegūšanas metodes / *Methods of extracting of egg yolk oil* 35
1.5. Olu eļļas kvalitātes rādītāji / *Quality parameters of egg yolk oil* 38
1.6. Olu bioloģiskās vērtības paaugstināšana /
Increasement of biological value of eggs 39
1.7. Olu eļļas izmantošanas iespējas / *Application possibilities of egg yolk oil* 43
1.8. Problemātikas apskata kopsavilkums / *Summary of problems review* 45
2. MATERIĀLI UN METODES / *MATERIALS AND METHODS* 46
2.1. Pētījuma laiks un vieta / *Time and place of the research* 46
2.2. Pētījuma objekta raksturojums / *Description of the object of the research* 46
2.2.1. Dējējvistas / *Laying hens* 46
2.2.2. Dējējvistu turēšanas metodes / *Housing methods of laying hens* 47
2.2.3. Dējējvistu barība / *Laying hen feed* 47
2.2.4. Olas un olu dzeltenums / *Eggs and egg yolk* 49
2.2.5. Organiskie šķīdinātāji un slāpeklis / *Organic solvents and nitrogen* 49
2.3. Pētījuma struktūra / *Structure of the research* 50
2.4. Olu eļļas ekstrakcija / *Solvent extraction of egg yolk oil* 55
2.5. Olu eļļas attīrīšana / *Purification of egg yolk oil* 55
2.6. Materiālu un tehnoloģiju raksturojums olu eļļas pielietojumam majonēzē /
Metherials and technology of mayonnaise for egg yolk oil application tests 56
2.7. Pētījumā izmantotās analīžu metodes / *Methods of analysis used in research* 57
2.7.1. Mikrobioloģisko analīžu metodes /
Microbilogical methods of analysis 63
2.7.2. Sensorās vērtēšanas metodes / *Methods of sensory evaluation* 63
2.8. Matemātiskā datu apstrāde / *Mathematical processing of data* 63
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA / *RESULTS AND DISCUSSION* 65
3.1. Olu eļļas ekstrakcijas procesa raksturojums /
Characterization of egg yolk oil extraction process 65
3.1.1. Olu eļļas ekstrakcijas rezultāti ar dažādiem ekstrakcijas šķīdinātājiem /
Egg yolk oil extraction results using different extraction solvent 65
3.1.2. Olu eļļas attīrīšana / *Purification of egg yolk oil* 72
3.1.3. Olu dzeltenuma lipīdu un karotinoīdu dinamika olu eļļas ekstrakcijas
procesā / *Dynamics of egg yolk lipids and carotenoids during*
egg yolk oil extraction process 75

3.1. nodaļas kopsavilkums / *Summary of chapter 3.1* 78
3.2. Olu eļļas kvalitātes un bioloģiski aktīvu vielu satura ietekmējošo faktoru analīze / *Analysis of factors affecting egg yolk oil quality and bioactive compound content*..... 80
3.2.1. Dējējvistu barības sastāva ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā / *Effect of laying hen feed on bioactive compound content of egg yolk oil* 80
3.2.2. Dējējvistu turēšanas metodes ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā / *Effect of laying hen housing method on bioactive compound content of egg yolk oil*..... 82
3.2.3. Olu dzeltenuma mikrobioloģisko rādītāju ietekme uz olu eļļas kvalitāti / *Effect of egg yolk microbiological parameters on egg yolk oil quality*..... 87
3.2.4. Olu eļļas kvalitātes izmaiņas uzglābāšanas laikā / *Egg yolk oil quality changes during storage*..... 89
3.2. nodaļas kopsavilkums / *Summary of chapter 3.2* 91
3.3. Olu eļļas pielietojuma iespējas / *Application possibilities of egg yolk oil*..... 93
3.3.1. Olu eļļas pielietojums majonēzes pagatavošanā / *Application of egg yolk oil in mayonnaise preparation*..... 95
3.3.2. Olu eļļa kā bioloģiski aktīvo vielu avots zīdaiņiem / *Egg yolk oil as a bioactive compound source for infant nutrition*..... 96
3.3. nodaļas kopsavilkums / *Summary of chapter 3.3* 99
SECINĀJUMI 101
C*ONCLUSIONS* 102
INFORMĀCIJAS AVOTI / *INFORMATION SOURCES* 103

Promocijas darbā ievietoto tabulu saraksts / *List of inserted tables*

Tabulas numurs / *The number of table*	**Tabulas nosaukums / *The title of the table***	**Lpp. / *p.***
1.1.	Dējējvistu skaits Eiropas Savienībā pēc turēšanas metodes veida (Aprīlis 2015) / *Laying hens in EU by keeping method (April 2015)*	17
1.2.	Olu dzeltenuma ķīmiskais sastāvs / *Composition of hen egg yolk*	21
1.3.	Olu dzeltenuma pamata mikroelementi / *Basic mineral content of egg yolk*	22
1.4.	Vidējais taukskābju saturs olu dzeltenumā / *Composition of fatty acids of egg yolk*	24
1.5.	Mikroorganismu veidi uz vistas olas čaumalas / *Type of microorganisms found on egg shell*	34
1.6.	Baktēriju veidi puvušās olās / *Type of microorganisms found in rotten eggs*	35
2.1.	Dējējvistu barības sastāvs un uzturvielu saturs / *Feed composition and nutrient content of basal hen diet*	48
2.2.	Organiskie šķīdinātāji un slāpeklis izmantotie olu eļļas ekstrakcijai / *Organic solvents and nitrogen used for egg yolk oil extraction*	49
2.3.	Šķīdinātāju īpašības / *Solvents properties*	50
2.4.	Šķīdinātāju iztvaicēšanas parametri / *Solvent evaporation parameters*	55
2.5.	Majonēzes receptūras / *Recipes of mayonnaise*	57
2.6.	Pētījumā izmantotās fizikāli-ķīmiskās un sensoras analīžu metodes / *Physical-chemical and sensory methods of analysis used in research*	58
2.7.	Pētījumā izmantotās mikrobioloģisko analīžu metodes / *Microbiological methods of analysis used in research*	63
3.1.	Šķīdinātāju atliekas olu eļļās / *Solvent residues in egg yolk oil*	68
3.2.	Luteīna un β-karotīna šķīdība dažādos šķīdinātājos / *Solubility of lutein and β-carotene in different solvents*	70
3.3.	Taukskābju saturs olu eļļā pēc ekstrakcijas ar dažādiem šķīdinātājiem / *Fatty acid profile of egg yolk oil extracted with different solvents*	71
3.4.	Šķīdinātāju atliekas olu eļļā pēc ekstrakcijas / *Solvent residues in egg yolk oil after extraction*	73
3.5.	Taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no ekstrakcijas šķīdinātājiem / *Fatty acid content in egg yolk oils extracted with different solvents*	74
3.6.	Fosfolipīdu un holesterīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā / *Phospholipids and cholesterol content in egg yolk and egg yolk oil*	75
3.7.	Karotinoīdu saturs olu dzeltenumā un olu eļļā / *Carotenoids content in egg yolk and egg yolk oil*	76
3.8.	Fosfolipīdu un holesterīna sadalījums etanola un heksāna ekstraktos / *Distribution of phospholipids and cholesterol in ethanol and hexane extracts*	76
3.9.	Karotinoīdu sadalījums etanola un heksāna ekstraktos / *Distribution of carotenoids in ethanol and hexane extracts*	77
3.10.	Tokoferolu saturs olu dzeltenumā un olu eļļā / *Tocopherol profile of egg yolk and egg yolk oil*	81
3.11.	Nepiesātināto taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas apstākļiem / *Unsaturated fatty acid content in egg yolk oils from different hen housing systems*	87
3.12.	Olu dzeltenuma un olu eļļas mikrobioloģiskie rādītāji pēc divsoļu ekstrakcijas ar etanolu un heksānu / *Egg yolk and egg yolk oil microbiological parameters after two-step extraction with ethanol and hexane*	88
3.13.	Olu eļļas mikrobioloģiskie rādītāji / *Egg yolk oil microbiological parameters*	90
3.14.	pH, viskozitāte, lipīdu, olbaltumvielu un D vitamīna saturs majonēzēs ar dažādu olu eļļas (ODE) saturu / *The pH, viscosity, lipids, protein and D vitamin concentration of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) content*	93
3.15.	Majonēžu paraugu krāsas CIE L*a*b* vērtības atkarībā no olu eļļas (ODE) koncentrācijas / *The colour CIE L*a*b* values of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) content*	94

Tabulas numurs / ***The number of table***	**Tabulas nosaukums /** ***The title of the table***	**Lpp. /** ***p.***
3.16.	Taukskābju saturs majonēzēs ar pievienotu olu eļļu (ODE) / *Fatty acid content of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) additions*	95
3.17.	Olu eļļas un mātes (no dažādam valstīm) piena taukskābju saturs / *Composition of essential fatty acid in egg yolk oil and breast milk of mothers from different countries*	97
3.18.	Taukos šķīstošo vitamīnu un luteīna saturs olu eļļā, mātes pienā un rekomendācijas šo vielu saturam adaptētiem piena maisījumiem / *Fat-soluble vitamin and lutein content in egg yolk oil, breast milk and recommendations of these compounds for infant formula*	98
3.19.	Fosfolipīdu un holesterīna saturs olu eļļā, mātes pienā un adaptētos piena maisījumos / *Phospholipids and cholesterol content in egg yolk oil, breast milk and infant formula*	99

Promocijas darbā ievietoto attēlu saraksts / *List of inserted figures*

Attēlu numurs / *The number of figures*	**Attēla nosaukums / *The title of the figure***	**Lpp. / *p.***
1.1.	Čaumalu olu ražošanas prognoze / *Production forecast of eggs in shell*	18
1.2.	ES olu tirdzniecības bilance / *EU egg trade balance*	18
1.3.	A kategorijas olu vidējas nedēļas cenas izmaiņas ES / *Evolution of weekly EU average price for class A eggs in packing stations*	19
1.4.	Olu pulvera, olu baltuma pulvera un olu dzeltenuma pulvera cenas dinamika ES un ASV / *Price dynamics of whole egg powder, albumen powder and egg yolk powder in EU and US*	20
1.5.	Fosfatidīlholīna (PC) un fosfatidīletanolamīna (PE) struktūrformalas / *Structural formulas of phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE)*	25
1.6.	Holesterīna struktūtformula / *Structural formula of cholesterol*	26
1.7.	Polinepiesātināto taukskābju struktūrformulas / *Polyunsaturated fatty acid structural formulas*	27
1.8.	Retinola struktūrformula / *Retinol structural formula*	29
1.9.	D vitamīnu struktūrformulas / *Vitamin D structural formulas*	30
1.10.	Tokoferolu un tokotrienolu struktūrformulas / *Tocopherol and tocotrienol structure formulas*	31
1.11.	Luteīna un zeaksantīna struktūrformulās / *Structural formulas of lutein and zeaxanthin*	32
1.12.	Kantaksantīna struktūrformula / *Structural formula of canthaxanthin*	33
1.13.	β-karotīna struktūrformula / *Structural formula of β-carotene*	33
2.1.	*Lohman Brown Classic* dējējvista / *Lohman Brown Classic laying hen*	46
2.2.	Pētījuma struktūra - olu eļļas ekstrakcija / *Structure of the research - egg yolk oil extraction*	51
2.3.	Pētījuma struktūra - olu eļļas divsoļu ekstrakcija ar etanolu un heksānu / *Structure of the research - egg yolk oil two-step extraction with ethanol and hexane*	52
2.4.	Pētījuma struktūra - olu eļļas kvalitātes ietekmējošo faktoru noteikšana / *Structure of the research - determination of factors affecting egg yolk oil quality*	53
2.5.	Pētījuma struktūra - olu eļļas pielietojums majonēzes pagatavošanā / *Structure of the research - egg yolk application for mayonnaise production*	54
3.1.	Olu eļļas iznākums pēc dzeltenuma ekstrakcijas ar dažādiem šķīdinātājiem / *Egg yolk oil yield using different solvents for yolk extraction*	65
3.2.	Olbaltumvielu frakcijas dažādu šķīdinātāju maisījumos / *Protein fraction in different solvent mixtures*	66
3.3.	Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no izmantotā ekstrakcijas šķīdinātāja / *Total carotenoid content of egg yolk oil extracted with different extraction solvents*	70
3.4.	Ūdens saturs olu dzeltenumā, lecitīnā un olu eļļās / *Water content in egg yolk, crude lecithin and egg yolk oils*	72
3.5.	Karotinoīdu sadalījums starp etanola un heksāna fāzēm / *Distribution of carotenoids in ethanol and hexane phases*	78
3.6.	Selēna sadalījums olās / *Distribution of selenium in eggs*	80
3.7.	E vitamīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā / *Vitamin E content in egg yolk and egg yolk oil*	82
3.8.	α-tokoferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / *α-tocopherol content in egg yolk oils from different hen housing method*	83

Attēlu numurs / *The number of figures*	**Attēla nosaukums / *The title of the figure***	**Lpp. / *p.***
3.9.	Ergokalciferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / *Ergocalcipherol content in egg yolk oils from different hen housing method*	84
3.10.	Retinola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / *Retinol content in egg yolk oils from different hen housing method*	85
3.11.	Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / *Total carotenoids content in egg yolk oils from different hen housing method*	85
3.12.	Taukskābju saturs olu eļļā atkarībā vistu turēšanas metodes / *Fatty acid profile of egg yolk oils from different hen housing method*	86
3.13.	Olu eļļas baktēriju kopskaita atkarībā no eļļas uzglabāšanas temperatūras un ilguma / *Total plate count in egg yolk oil stored at different temperature and time*	89
3.14.	Olu eļļas peroksīda skaitļa vērtības uzglabāšanas laikā dažādās uzglabāšanas temperatūrās / *Egg yolk oil peroxide value during storage at different storage temperatures*	91
3.15.	Olu eļļas koncentrācijas ietekme uz majonēzes dzelteno krāsu / *The influence of egg yolk oil additive on yellow colour of mayonnaise*	95
3.16.	Majonēzes sensorās īpašību novērtējums / *Sensory properties of mayonnaise with egg yolk oil*	96

Promocijas darbā lietoto apzīmējumu un saīsinājumu skaidrojums / *The explanation of abbreviations and nomenclature used in the thesis*

Å	Angstrēms / *Angstrom*
25OHD	25-hidroksiholekalciferols / *25-hydroxycholecalciferol*
ACT	Acetons / *Acetone*
ACT/HEX	Acetons/Heksāns / *Acetone/Hexane*
AIDS	Iegūts imūndeficīta sindroms / *Acquired immune deficiency syndrome*
AEŠH /*HPLC*	Augsti efektīvā šķidruma hromatogrāfija / *High-performance liquid chromatography*
ANOVA	Dispersijas analīze / *Analysis of variance*
AOAC	Analītiskās ķīmijas asociācija / *Association of Official Analytical Chemists*
rpm	Apgriezienu skaits minūtē / *Revolutions per minute*
AT	Austrija / *Austria*
atm	Atmosfēra / *Atmospheric*
att. / *fig.*	Attēls / *Figure*
b*	Krāsas komponente (– b* = zils – + b* = dzeltens) / *Colour component (– b* = blue – +b* = yellow)*
BE	Beļģija / *Belgium*
BG	Bulgārija / *Bulgaria*
C14:0	Miristīnskābe / *Miristic acid*
C14:1	Miristoleīnskābe / *Miristoleic acid*
C15:0	Pentadekānskābe / *Pentadecanoic acid*
C16:0	Palmitīnskābe / *Palmitic acid*
C16:1	Palmitooleīnskābe / *Palmitoleic acid*
C17:0	Margarīnskābe / *Margaric acid*
C17:1	Heptadecēnskābe / *Heptadecenoic acid*
C18:0	Stearīnskābe / *Stearic acid*
C18:1	Oleīnskābe / *Oleic acid*
C18:2	Linolskābe / *Linoleic acid*
C18:3	α-linolēnskābe / *α-linolenic acid*
C20:1	Eikozānskābe / *Paullinic acid*
C20:2	Eikozadiēnskābe / *Eicosadienoic acid*
C20:3	Dihromo-linolēnskābe / *Dihromo-gamma-linolenic acid*
C20:4	Arahidonskābe / *Arachidonic acid*
C20:5	Timnodonskābe / *Eicosapentaenoic acid*
C22:0	Behenskābe / *Behenic acid*
C22:1	Erukskābe / *Erucic acid*
C22:4	Adrenskābe / *Adrenic acid*
C22:5	Dokozapentaēnskābe / *Docosapentaenoic acid*
C22:6	Cervonskābe / *Docosahexaenoic acid (Cervonic acid)*
C24:1	Nervonskābe / *Nervonic acid*
CIE L*a*b*	Neatkarīga krāsu sistēma / *Independent colour system*
CO_2	Oglekļa dioksīds / *Carbon dioxide*
CY	Kipra / *Cyprus*
d	Fitrpapīra poru izmērs / *Filter paper pore size*
DE	Vācija / *Germany*
DK	Dānija / *Denmark*
EE	Igaunija / *Estonia*
ES	Spānija / *Spain*
ES / *EU*	Eiropas Savienība / *Europe Union*
et al.	un citi / *and others*
ETOH/CHL	Etanols/Hloroforms / *Ethanol/Chloroform*
FI	Somija / *Finland*
FR	Francija / *France*
h	Stunda / *Hour*
HR	Horvātija / *Croatia*
HU	Ungārija / *Hungary*
IE	Īrija / *Ireland*
ISO	Starptautiskā Standartu organizācija / *International Standard Organization*
ISO/HEX	Propan-2-ols/Heksāns / *2-propanol/Hexane*
ISO/ISOHEX	Propan-2-ols/2-metilpentans / *2-propanol/Isohexane*

IT	Itālija / *Italy*
kg	Kilograms / *Kilogram*
KVV / *CFU*	Koloniju veidojošās vienības / *Colony forming units*
L*	Krāsas komponente (0 = melns – 100 = balts) / *Colour component (0 = black – 100 = white)*
LLU	Latvijas Lauksaimniecības universitāte / *Latvia University of Agriculture*
lpp. / *p.*	Lappuse / *Page*
LT	Lietuva / *Lithuania*
LV	Latvija / *Latvia*
LVS	Latvijas Valsts standarts / *Latvian State Standard*
mbar	Milibāri / *Milibars*
mg	Miligrami / *Miligrams*
mg 100 g^{-1}	Miligrami 100 gramos / *Milligrams per 100 grams*
Milj / *Mio*	Miljons / *Million*
min	Minūte / *Minute*
MUFA	Mononepiesātinātas taukskābes / *Monounsaturated fatty acids*
n	Paraugu skaits / *Number of samples*
n.d.	Nav atrasts / *Was not detected*
n.i.	Nav informācijas / *No information*
N.p.k. / No	Numurs pēc kārtas / *Numbers in sequential order*
NL	Nīderlande / *The Netherlands*
ODE / *EYO*	Olu eļļa / *Egg yolk oil*
p	p-vērtība / *p-value*
p	Spiediens / *Pressure*
P	Fosfors / *Phosphorus*
pH	Ūdeņraža jonu aktivitātes negatīvais logaritms / *The negative logarithm of the hydrogen ion concentration*
PL	Polija / *Poland*
ppm	Miljonā daļa / *Parts per million*
PT	Portugāle / *Portugal*
PUFA	Polinepiesātinātas taukskābes / *Polyunsaturated fatty acids*
r	Korelācijas koeficients / *Correlation coefficient*
RH	Gaisa relatīvais mitrums / *Relative air humidity*
RO	Rumānija / *Romania*
s	Sekunde / *Second*
SE	Zviedrija / *Sweden*
SFA	Piesātinātas taukskābes / *Saturated fatty acids*
SI	Slovēnija / *Slovenia*
SK	Slovākija / *Slovakia*
t	Laiks / *Time*
T	Temperatūra / *Temperature*
tilp.% / vol.%	Tilpuma procenti / *Volume percent*
UK	Anglija / *United Kingdom*
USDA	United States Department of Agriculture / *Amerikas Savienoto Valstu Lauksaimniecības departaments*
µg	Mikrogrami / *Micrograms*
µl	Mikrolitri / *Microlitre*
µm	Mikrometri / *Micrometers*

IEVADS /
INTRODUCTION

Olu dzeltenums ir nozīmīgs lipīdu avots cilvēku uzturā. Lipīdu saturs olu dzeltenumā svārstās no 31 līdz 36% (Ahn *et al*., 2006). Būtisks ir neaizstājamo taukskābju (omega-3 un omega-6), kā arī taukos šķīstošo vitamīnu un karotinoīdu saturs olu dzeltenumā. Olu vai olu dzeltenuma lietošanu cilvēku uzturā var ierobežot indivīdu alerģija pret olu olbaltumvielām. Pastiprināta kritika tiek veltīta arī holesterīna saturam olu dzeltenumā. Šie divi faktori kalpo par iemeslu olu lietošanas ierobežošanai uzturā. Bet olu dzeltenumā esošās bioloģiski aktīvās vielas var būt ļoti nepieciešamas cilvēkiem, īpaši bērniem un jauniešiem, kuru organismi atrodas attīstības stadijā (Mine, Kovacs-Nolan, 2004). Bioloģiski aktīvas vielas, kā A, D, E vitamīni, karotinoīdi, fosfolipīdi, steroli, omega-3 un omega-6 taukskābes ir koncentrētas olu dzeltenuma lipīdos. Tādējādi, ekstrahējot olu dzeltenumu lipīdus, atdalot tos no olu dzeltenuma olbaltumvielām, var iegūt visu olu dzeltenuma bioloģiski aktīvo vielu koncentrātu – olu eļļu.

Būtiskās ir olu bioloģiskās vērtības paaugstināšanas iespējas, pievienojot dējējvistu barībai bioloģiski aktīvas vielas, tādējādi modelējot bioloģiski aktīvo vielu saturu olās.

Olu eļļas iegūšanas metodes aktīvi tika pētītas 20. gadsimta 70.-80. gados. Galvenā problēma olu eļļas ekstrakcijai ir lipīdu saistība ar olbaltumvielam (lipoproteīni), līdz ar to, veiksmīgākais paņēmiens bija šķīdinātāju ekstrakcija, kas deva iespēju iegūt olu eļļu ar ļoti augstu iznākumu. Bet kvalitātes rādītāji, ražošanas izmaksas un šauras pielietojuma iespējas bija par iemeslu, ka šis pētījumu virziens nebija aktuāls. Šobrīd olu eļļu visā pasaulē ražo tikai 2 uzņēmumi (Indija, Dienvidkoreja) un viņu olu eļļas iegūšanas paņēmieni nav zināmi.

Mainoties situācijai olu ražošanas nozarē, kad ir novērojama olu pārprodukcija, attīstoties zinātnei un cilvēku vajadzībai pēc produktiem ar augstu bioloģiski aktīvu vielu saturu, olu eļļas iegūšanas pētījumiem parādījās jauna aktualitāte.

Promocijas darba **pētījuma objekts** ir olu dzeltenums un olu eļļa, kas iegūta ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi no Latvijā turētām *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistu olām.

Promocijas darba **hipotēze** – ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi var iegūt augstvērtīgu olu eļļu.

Promocijas darba hipotēzi pierāda ar **aizstāvamām tēzēm:**

1. vērtīgas olu eļļas iegūšanai no svaiga olu dzeltenuma var izmantot organiskos šķīdinātājus,
2. izmantojot divsoļu dzeltenuma ekstrakciju ar etanolu un heksānu ir iespējams iegūt kvalitatīvu olu eļļu,
3. bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā nosaka dējējvistu barības sastāvs un turēšanas metode,
4. olu eļļas ekstrakcijai izmantotie šķīdinātāji uzlabo olu eļļas mikrobioloģiskos rādītājus, bet eļļā esošie antioksidanti kavē tās oksidēšanos uzglabāšanas laikā,
5. olu eļļu var izmantot pārtikas produktos, palielinot to uzturvērtību.

Promocijas darba mērķis ir izstrādāt olu eļļas ekstrakcijas metodi un analizēt iegūtās olu eļļas ķīmisko sastāvu.

Darba mērķa sasniegšanai ir izvirzīti šādi **uzdevumi:**

1) pētīt organisko šķīdinātāju ietekmi uz olu eļļas kvalitātes rādītājiem un bioloģiski aktīvo vielu saturu,

2) atrast piemērotāko šķīdinātāju vai šķīdinātāju maisījumu olu eļļas ekstrakcijai no svaiga olu dzeltenuma,
3) izpētīt karotinoīdu, fosfolipīdu un holesterīna dinamiku olu eļļas ekstrakcijas procesā,
4) analizēt faktorus kas ietekmē bioloģiski aktīvo vielu saturu olās,
5) noteikt olu eļļas kvalitātes rādītājus uzglabāšanas laikā,
6) izvērtēt olu eļļas izmantošanas iespējas majonēzes pagatavošanā, analizējot tās kvalitātes īpašības.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums.**

Izstrādāta oriģināla, vairāksoļu šķīdinātāju ekstrakcijas metode kvalitatīvās olu eļļas iegūšanai no šķidra olu dzeltenuma.

Noteikti olu eļļas kvalitātes parametri un to atkarība no ekstrakcijai lietotiem šķīdinātājiem un izejvielas kvalitātes.

Izpētītas olu eļļas bioloģiskās vērtības paaugstināšanas iespējas.

Noteikts bioloģiski aktīvo vielu saturs olu eļļā.

Pētītas olu eļļas pielietojuma iespējas majonēzes pagatavošanā.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā nozīmē.**

Atrodot iespēju pārstrādāt olu dzeltenumu, olu ražošanas un pārstrādes uzņēmumiem atveras papildus iespējas savas produkcijas realizācijai.

Pētījuma rezultātā iegūta augstvērtīga olu eļļa ir plaši pieejama patērētājiem, papildinot uzturu ar bioloģiski aktīvām vielām, kā nepiesātinātas taukskābes, A, D, E vitamīniem, karotinoīdiem un citām.

Olu eļļu var izmantot citu pārtikas produktu ražošanā, palielinot šo produktu uzturvērtību un piešķirot produktiem olai raksturīgu garšu, smaržu un pievilcīgu dzeltenu krāsu, bet tajā paša laikā izslēdzot problēmas, kas saistītas ar indivīdu olu olbaltumvielu alerģiju.

1. PROBLEMĀTIKAS RAKSTUROJUMS / *DESCRIPTION OF PROBLEMS*

1.1. Situācijas raksturojums olu ražošanas nozarē Latvijā un pasaulē / *Background of the egg production sector in Latvia and in the world*

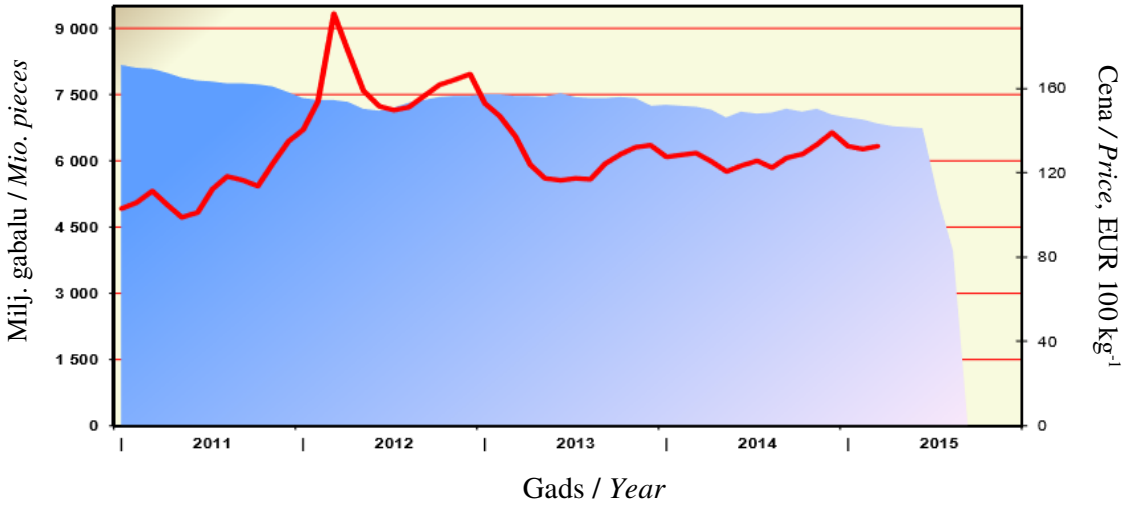
2015. gada aprīlī Eiropas Savienībā bija aptuveni 378 miljonu dējējvistu (1.1. tabula), kas gadā saražo 85000 miljonu olu (1.1. attēls).

1.1. tabula / *Table 1.1.*

Dējējvistu skaits Eiropas Savienībā pēc turēšanas metodes veida (Aprīlis 2015) / *Laying hens in EU by keeping method (April 2015)*

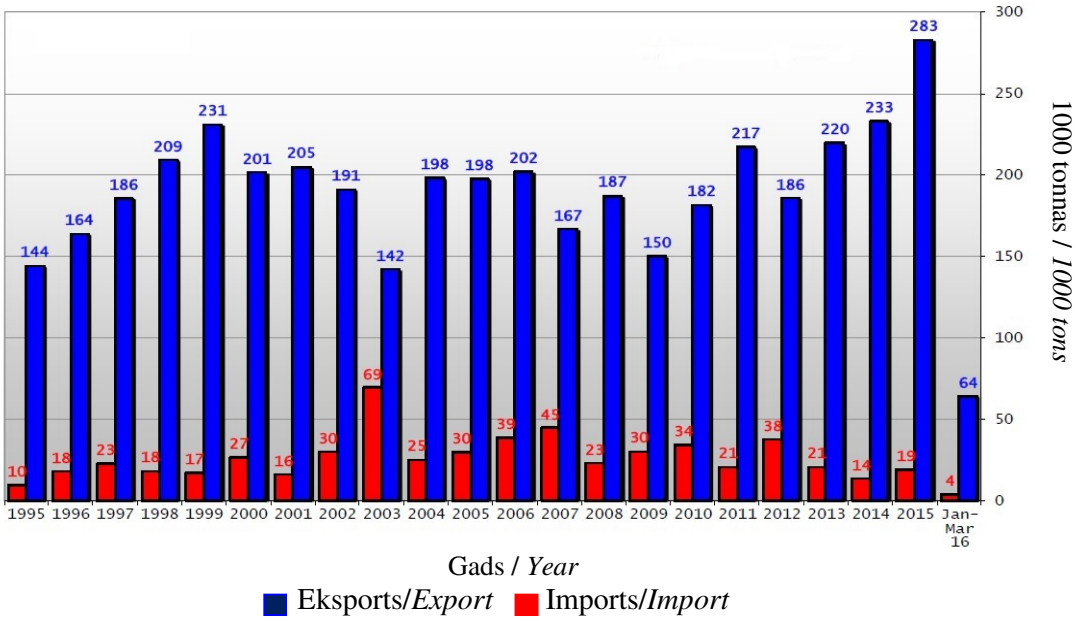
(DG AGRI, 2015)

Valsts / *Country*	**Modernizētie sprosti (būri) / *Cages***	**Brīvā tūrēšana / *Free range***	**Turēšana kūtī / *Barn***	**Bioloģiskā saimniecība / *Organic***	**Kopā / *Total***
Beļģija (BE)	5114473	2265741	869130	193053	8442397
Bulgārija (BG)	2208511	121596	1850373	0	4180480
Dānija (DK)	1646012	165461	716609	731770	3259852
Vācija (DE)	5374071	9151930	31728546	4594277	50848823
Igaunija (EE)	906182	27940	39727	31030	1004879
Īrija (IE)	1653932	1162234	37123	52195	2905484
Spānija (ES)	36520344	1576707	932104	152456	39181613
Francija (FR)	32876551	8195072	3079625	3155239	47306487
Horvātija (HR)	1308829	30141	357791	150	1696911
Itālija (IT)	40409325	1654458	18773475	1235406	62072666
Kipra (CY)	305560	46413	75614	6293	433880
Latvija (LV)	2283794	41358	333685	0	2658837
Lietuva (LT)	2246235	840	81984	4448	2333539
Ungārija (HU)	4335079	119060	1636473	39470	6130082
Nīderlande (NL)	4967000	4939000	19997000	1453000	31356000
Austrija (AT)	129942	1181396	4162500	580049	6053887
Polija (PL)	33833749	3860028	890216	85436	38669429
Portugāle (PT)	7316716	160916	577107	45671	8100410
Rumānija (RO)	2184526	32750	5752962	89021	8059259
Slovēnija (SI)	687100	16240	744656	6429	1454425
Slovākija (SK)	2496921	12833	303390	9321	2822465
Somija (FI)	2813402	24842	1202257	166337	4206838
Zviedrija (SE)	1532094	109166	4756173	964934	7362367
Anglija (UK)	16255288	18462791	2165617	969254	37852950
Kopā:	209405636	53358913	101064137	14565239	378393960



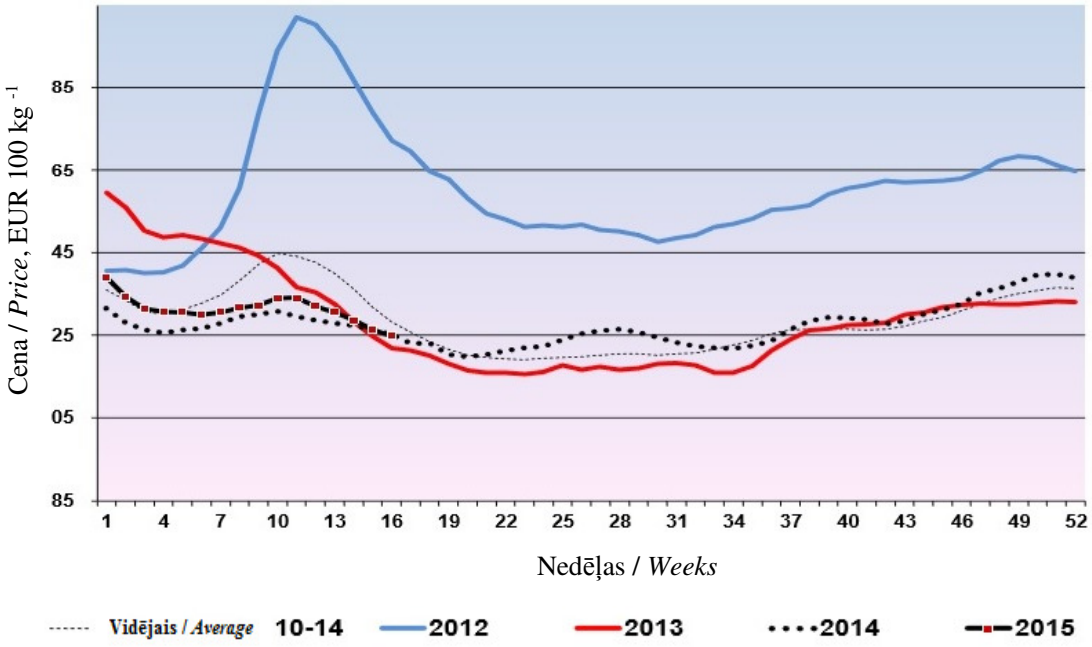
1.1. att. **Čaumalu olu ražošanas prognoze /**
Fig. 1.1. ***Production forecast of eggs in shell***
(DG AGRI, 2015)

Lielākā daļa vistu olu tiek pārdota un patērēta kā čaumalu ola. Vairākus gadus Eiropā ir novērojama vistu olu pārprodukcija, kuru apstiprina olu tirdzniecības bilance (1.2. attēls). Neskatoties pat uz dējējvistu labturības normu pastiprināšanu, kas stājas spēkā visām ES dalībvalstīm no 2012. gada 1. janvāra un paredzēja palielināt vistu turēšanas laukumu būros no iepriekš atļautiem 650 cm^2 līdz 750 cm^2, tādējādi samazinot vistu skaitu esošās ražotnēs aptuveni par 15 procentiem, olu eksports no ES valstīm vēl joprojām stipri pārsniedz importu (DG AGRI, 2015).



1.2. att. **ES olu tirdzniecības bilance /**
Fig.1.2. ***EU egg trade balance***
(DG AGRI, 2015)

Pārsātināts tirgus reaģē uz situāciju ar cenu pazeminājumu gan čaumalu olām, gan olu produktiem. Kā pierādījums tirgus reakcijai uz piedāvājuma izmaiņām var kalpot 2012. gada dati par olu cenām. Tieši tad pastiprinātajām labturības normām bija jāstājas spēkā un attiecīgi jārada 15% piedāvājuma samazinājums. Nezināmu apstākļu dēļ, piedāvājuma kritums tā arī nenotika, bet olu cenas uzkāpa līdz vēsturiskam maksimumam, kam sekoja straujš cenu kritums 2013. gadā (1.3. attēls).

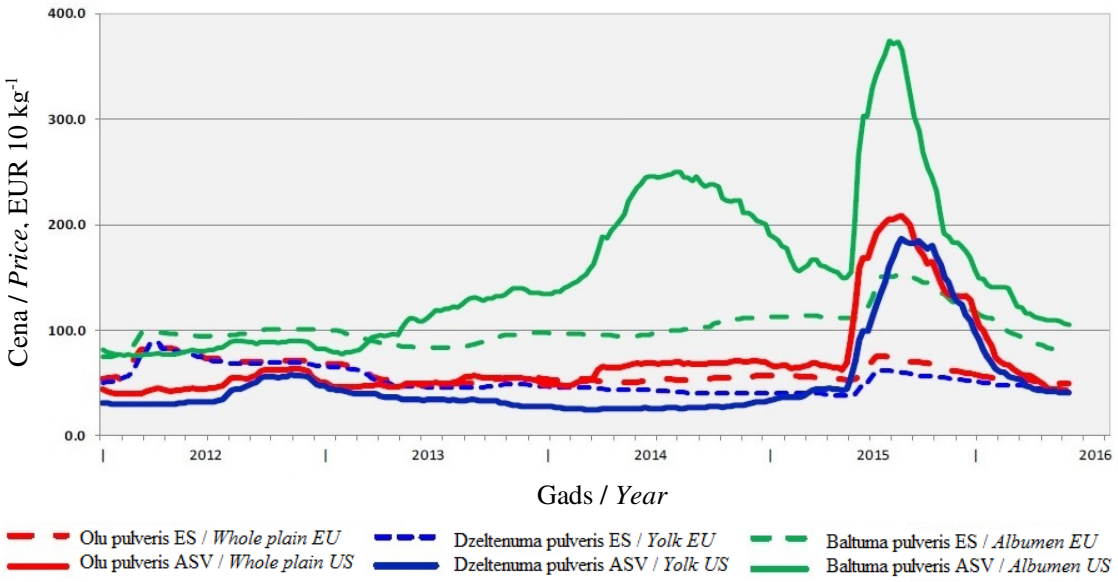


1.3. att. **A kategorijas olu vidējas nedēļas cenas izmaiņas ES /**
Fig. 1.3. ***Evolution of weekly EU average price for class A eggs in packing stations***
(DG AGRI, 2015)

Ja čaumalu olas galvenokārt ir paredzētas fizisku personu patēriņam, tad olu produkti (šķidrie, sausie) ir ļoti pieprasīti rūpniecisko pārtikas produktu ražotāju vidū. Pasterizēta un liela apjoma tarā iepakota olu masa atvieglo darbu pārtikas produktu ražotājiem, piemēram, konditorejas uzņēmumiem. Savukārt sausie olu produkti ir ne tikai ērti lietošanā, bet, pateicoties samazinātajam svaram un ilgam derīguma termiņam, ir ideāli eksporta produkti.

Veselīga uztura tendences ASV 2013. gada sākumā izraisīja palielinātu pieprasījumu pēc olu baltuma pulvera un pēc īsa brīža parādījās olu baltuma pulvera deficīts, kas, attiecīgi, arī sekmēja šī produkta cenas kāpumu (1.4. attēls). Eiropas olu ražotāji pasteidzās kompensēt baltuma pulvera trūkumu ASV un sāka intensīvi ražot un eksportēt to uz Ameriku.

No 1 kg šķidra olu baltuma iegūst aptuveni 0.5 kg olu dzeltenuma, līdz ar to ir nepieciešams atrast realizācijas iespējas arī olu dzeltenumam. Palielinot olu baltuma ražošanas apjomus, palielinās arī saražotā olu dzeltenuma apjoms. Olu dzeltenuma realizācijas iespējas ir ierobežotas, parasti galvenie olu dzeltenuma lietotāji ir majonēzes un mērču ražotāji un konditorejas uzņēmumi. Šo uzņēmumu patēriņš ir neliels, līdz ar to palielināts olu dzeltenuma piedāvājums tirgū ir bezjēdzīgs un rada tikai cenas pazeminājumu šim produktam. Tātad, no vienas puses olu ražotājiem ir brīnišķīga iespēja gūt peļņu, ražojot olu baltuma pulveri eksportam, bet no otras puses šī iespēja ir ierobežota, jo rodas olu dzeltenuma pārpalikums, kuru ir grūti realizēt vai, realizējot, jāpiedāvā ļoti zema cena.



1.4. att. **Olu pulvera, olu baltuma pulvera un olu dzeltenuma pulvera cenas dinamika ES un ASV /**

Fig. 1.4. ***Price dynamics of whole egg powder, albumen powder and egg yolk powder in EU and US***

(DG AGRI, 2015)

Šķidra pasterizēta olu dzeltenuma realizācijas iespējas ir ierobežotas tā īsā derīguma termiņa dēļ. Pasterizēts olu dzeltenums ir produkts, kas ātri bojājas, līdz ar to tas prasa attiecīgus uzglabāšanas un pārvadāšanas nosacījumus. Gadījumā, kad pasterizēta olu dzeltenuma pieprasījums ir mazs, lai neradītu zaudējumus, olu ražošanas uzņēmumu vienīgā iespēja ir olu dzeltenumu izkaltēt, pārvēršot to pulverī. No 1 kg šķidra olu dzeltenuma, atkarībā no sausnes satura, var iegūt 0.45 kg olu dzeltenuma pulvera, tādējādi samazinot olu dzeltenuma apjomu vairāk kā par pusi. Saražoto olu dzeltenuma pulveri ir iespējams novietot noliktavā līdz labvēlīgākai situācijai tirgū. Šinī gadījumā rodas papildus izmaksas pulvera saražošanai, kas prasa lielu siltuma enerģijas patēriņu un naudas līdzekļu iesaldēšanu uz nenoteiktu laiku, glabājot lielus olu dzeltenuma pulvera apjomus noliktavā.

Lai atrisinātu dzeltenuma pārpalikuma problēmu, olu ražošanas uzņēmumiem ir nepieciešams atrast jaunas olu dzeltenuma realizācijas iespējas, pārstrādājot olu dzeltenumu citos produktos ar plašākām pielietojuma iespējām. Pateicoties olu dzeltenuma bagātajam ķīmiskajam sastāvam, no tā var iegūt ļoti vērtīgus produktus, kā immunoglobulīnus, lecitīnu, olbaltumvielu frakcijas un lipīdus – jeb olu eļļu. Ja citu produktu (fosfolipīdu, immnoglobulīnu) iegūšanas metodes no olu dzeltenuma ir labi izpētītas, tad olu dzeltenuma eļļas iegūšana vēl joprojām nav atstrādāta un nav guvusi plašas pielietojuma iespējas. Ir nepieciešama efektīva un saudzīga metode olu eļļas iegūšanai, lai padarītu to pieejamu plašam patēriņa lokam, jo olu eļļas ķīmiskais sastāvs nevar tikt nenovērtēts.

1.2. Olu dzeltenuma ķīmiskais sastāvs / *Chemical composition of chicken egg yolk*

Svaiga un sausa olu dzeltenuma ķīmiskais sastāvs atspoguļots 1.2. tabulā. Galvenā olu dzeltenuma sastāvdaļa ir lipīdi, kas ir aptuveni 65% no sausnas.

1.2. tabula / *Table 1.2.*

Olu dzeltenuma ķīmiskais sastāvs / *Composition of hen egg yolk*

Sastāvs / *Composition*	**Svaigs olu dzeltenums / *Fresh yolk* (%)***	**Sauss olu dzeltenuma / *Dry yolk* (%)****
Ūdens / *Water*	48.0-50.0	3.0-5.0
Lipīdi / *Lipids*	32.0-36.0	56.0-60.0
Olbaltumvielas / *Proteins*	15.7-16.6	32.0-35.0
Ogļhidrāti / *Carbohydrates*	0.2-1.0	2.0-3.6
Minerālvielas / *Minerals*	1.1	3.3-3.4

*Avoti / *Sources:* Huopalahti *et al.*, 2007
**Avoti / *Sources:* Sanovo egg group

Svaiga dzeltenuma sausnas saturs ir aptuveni 50%. Šo rādītāju ietekmē vairāki faktori, tai skaitā vistas vecums un olu uzglabāšanas apstākļi. Stadelman, Cotteril (1995) ziņoja, ka vidējais dzeltenuma sausnes saturs svaigās olās bija 52.29% no trim vistu šķirnēm un vidēji 52.7% no piecām vistu šķirnēm. Čaumalu olu glabāšanas laikā ūdens aizplūst no olbaltuma uz dzeltenumu, tādēļ dzeltenuma sausnes saturs samazinās. Sausnes saturs dzeltenumā čaumalu olām, kas uzglabātas +4°C nedēļu, bija 50.09% 11 mēnešu dēšanas periodā, bet dzeltenuma sausnes saturs samazinājās no 53.5% uz 49%, ja olas uzglabāja +24°C 16 dienas. Ja olas glabāja no +1 līdz +4°C, dzeltenuma sausnes saturs samazinājās no aptuveni 52.8% uz 50% (Stadelman, Cotterill, 1995).

Dzeltenumā sausnes galvenās sastāvdaļas ir lipīdi un olbaltumvielas. Lai gan agrāk tika apgalvots (Stadelman, Cotterill, 1995), ka lielai daļai lipīdu dzeltenumā ir jābūt brīvā vai emulģētā veidā, ko var viegli ekstrahēt ar organiskajiem šķīdinātājiem, tagad zināms, ka lielākā lipīdu daļa ir sastopama zema blīvuma lipoproteīnu veidā. Iepriekš tika uzskatīts (Stadelman, Cotterill, 1995), ka lielākā daļa dzeltenuma ir šķīdums, kas satur zema blīvuma lipoproteīnus, šķīstošas olbaltumvielas un mazmolekulāras vielas, kurās nav brīvu vai emulģētu lipīdu. Kwan *et al.* (1991) izmantoja vienkāršu procesu, šķaidot dzeltenumu ar ūdeni, lai atdalītu lipīdus nesaturošu, ūdenī šķīstošo frakciju no nešķīstoša dzeltenuma granulām, kurās bija lipoproteīni. Šī šķīdināšanas metode ir saudzīgāka nekā šķīdinātāju ekstrakcijas procesi dabisko lipoproteīnu sagatavošanā. Neitrālus lipīdus varētu atdalīt no lipoproteīniem dzeltenuma granulā, izmantojot ekstrakciju ar nātrija deoksiholātu, bet fosfolipīdus un holesterīnu no apoproteīniem ar ultrafiltracijas palīdzību (Stadelman, Coterrill, 1995).

Olas dzeltenuma olbaltumvielu saturs svārstās robežās no 15.7 līdz 16.6%. Olu dzeltenuma olbaltuvielas ir savienojumi, kas sastāv no glikoproteīniem, fosfoglikoproteīniem, lipoproteīniem un fosfoglikoproteīniem (Nakai, Modler, 1996). Olas dzeltenuma olbaltumvielas satur visas neaizstājamās aminoskābes, turklāt dzeltenums satur vairāk neaizstājamo aminoskābju nekā olu baltums. Olu dzeltenuma olbaltumvielu attiecība pret lipīdiem ir 1:2 (Stadelman, Cotterill, 1995).

Lipīdu saturs dzeltenumā, iegūts no dažādu šķirņu vistām, ir 32-36% robežās. Vidējās lipīdu vērtības, ko ieguva no trīs dažādu vistu šķirņu olu dzeltenumiem, bija 35.50%, 32.67% un 31.95%. Izmantojot dzeltenumu no olām, ko ievāca 11 mēnešu laikā no tās pašas šķirnes vistām, lipīdu saturs bija 32-33% robežās (Stadelman, Cotterill, 1995).

Ogļhidrātu daudzums dzeltenumā var būt 0.7-1.0%. Lielāka daļa no tiem ir oligosaharīdi, kas ir saistīti ar olbaltumvielām, pārsvarā sastāv no mannozes un glikozamīniem. Atlikusī daļa, aptuveni 0.3%, ir glikoze (Yamamoto *et. al*, 1996).

Neorganisko elementu daudzums dzeltenumā ir aptuveni 1.1%. Galvenie elementi dzeltenumā ir fosfors, kalcijs un kālijs (1.3. tabula).

1.3. tabula / *Table 1.3.*

Olu dzeltenuma pamata mikroelementi* / *Basic mineral content of egg yolk*

Elements / *Element*	**%**
Sērs / *Sulfur*	0.016
Kālijs / *Potassium*	0.112-0.360
Nātrijs / *Sodium*	0.070-0.093
Fosfors / *Phosphorus*	0.543-0.980
Kalcijs / *Calcium*	0.121-0.262
Magnijs / *Magnesium*	0.032-0.128
Dzelzs / *Iron*	0.005-0.011

*Avoti / *Sources:* Stadelman, Cotterill, 1995

Ievērojams daudzums fosfora un kālija olu dzeltenumā ir disociētā formā.

1.2.1. Olbaltumvielas / *Proteins*

Olu dzeltenumu var raksturot kā kompleksu sistēmu, kurā dažādu vielu daļiņas ir suspendētas olbaltumvielu šķīdumā (Li Chan *et al.*, 1995). Izdala piecas galvenās olu dzeltenuma strukturālās sastāvdaļas: zema blīvuma lipoproteīni (ZBL/*LDL*, 68%), augsta blīvuma lipoproteīni (ABL/*HDL*, 16%), livetīns (10%), fosvitīns (4%), un citas olbaltumvielas (2%) (Huopalahti *et al.*, 2007).

Olbaltumvielas olu dzeltenuma granulās un plazmā

Olu dzeltenumu var sadalīt centrifugējot, atdalot nogulsnes un šķidro fāzi, ko sauc par plazmu. Nogulsnes jeb granulas veido aptuveni 19-23% no dzeltenuma sausnes un aptuveni 11.5% no šķidra dzeltenuma. Nemazgātu granulu mitruma saturs ir aptuveni 44%. Granulās (sausnē) ir aptuveni 34% lipīdu, 60% olbaltumvielu un 6% pelnu, tai skaitā 0.5% divalentu katjonu, piemēram, kalcijs (Huopalahti *et al.*, 2007).

Dzeltenuma lielākā daļa ir plazma (aptuveni 78% no kopējā dzeltenuma). Tās mitruma saturs ir aptuveni 49% un to veido 77-81% lipīdu, 2.2% pelnu un aptuveni 18% bezlipīdu atlieku, kas galvenokārt ir olbaltumvielu savienojumi (Huopalahti *et al.*, 2007).

Olbaltumvielas un lipoproteīni granulās

Granulas veido 70% α- un β-lipoviteīni, 16% fosvitīna un 12% zema blīvuma lipoproteīna. Fosvitīns ir lipīdus nesaturošs fosfoproteīns, lipovitelīni un zema blīvuma lipoproteīni ir lipīdu – olbaltumvielu kompleksi (Huopalahti *et al.*, 2007; Stadelman, Cotterill, 1995).

Fosvitīns

Fosvitīnā ir 12-13% slāpekļa un aptuveni 10% fosfora, kas veido aptuveni 80% olbaltumvielu saistīta fosfora olu dzeltenumā (Huopalahti *et al.*, 2007).

Pētījumi parāda, ka fosvitīna molmasa ir 36000-40000 g mol^{-1} robežās, bet α- un β-fosvitīna molmasa attiecīgi ir 160000 un 190000 g mol^{-1}. Tiek apgalvots, ka fosvitīnu veido vairākas apakšsastāvdaļas vai polipeptīdi, kas mijiedarbojas vai polimerizējas ūdeni saturošā šķīdumā, lai veidotu lielāku molmasas kopumu. Kopā tika atdalīti 18 dažādi proteīni ar molmasu robežās no 12400 līdz 119000 g mol^{-1} fosvitīna (Huopalahti *et al.*, 2007).

Lipovitelīni

Lipovitelīnu lipīdu saturs olu dzeltenumā ir diezgan mainīgs, tomēr var apgalvot, ka gan α-, gan β-lipovitelīnu lipīdu saturs ir 20% robežās, kas ietver 40% neitrālo lipīdu un 60% fosfolipīdu. Neitrālie lipīdi satur aptuveni 4.1% brīvo holesterīnu un 0.14-0.2% ēstera. Katru fosfolipīdu frakciju veido aptuveni 75% fosfatidilholīna, 18% fosfatidiletanolamīna un 7% sfingomielīna un lizofosfolipīdu (Huopalahti *et al.*, 2007).

Gan α-, gan β-lipovitelīni satur divus apoproteīnus, lielāku sastāvdaļu (αI vai βI) un mazāku sastāvdaļu (αII vai βII) ar molmasu, attiecīgi, 1.1-1.4 × 10^5 un 3 × 10^4 g mol^{-1}. Ogļhidrāti α- un β-lipovitelīnā ir, attiecīgi, 3.60 un 2.85% ar mazākām apakšvienībām (αII vai βII), kurās ir daudz heksozes, heksozamīna un sialīnskābes (Huopalahti *et al.*, 2007; Stadelman, Cotterill, 1995).

Olbaltumvielas un lipoproteīni plazmā

Plazmu veido livetīni, kas ir lipīdus nesaturoši lodveida proteīni, un zema blīvuma lipoproteīni (ZBL/*LDL*). Livetīni un zema blīvuma lipoproteīni veido, attiecīgi, aptuveni 10.6 un 66% no kopējā dzeltenuma sausnes (Huopalahti *et al.*, 2007).

Livetīni

Olu dzeltenumā ir atrodami α-, β- un γ-livetīni. Pēc livetīnu analīzes var secināt, ka α- livetīnā ir 14.3% slāpekļa, β-livetīnā ir 14.3% slāpekļa un 7.0% heksozes un γ-livetīnā ir 15.6% slāpekļa, 2.6% heksozes un 1.8% heksozamīna. Pētījumos konstatēts, ka vidējā α-, β- un γ-livetīnu molmasa ir, attiecīgi, 80000, 45000 un 150000 g mol^{-1}. Livetīna izoelektriskais punkts ir pH 4.8 līdz 5.0. α-, β- un γ-livetīnu relatīvais daudzums dzeltenumā ir 2:3:5 (Huopalahti *et al.*, 2007).

γ-livetīnu atzīst par imunoglobulīna IgG līdzīgu antivielu, šis proteīns ir bijis daudzu pētījumu centrā saistībā ar tā iespējamo izmantošanu par terapeitisku vai profilaktisku vielu, kā arī imunoloģiskajās pārbaudēs vai imūnradniecīgos procesos. To vispārēji sauc par dzeltenuma imunoglobulīnu vai IgY. IgY priekšrocības salīdzinājumā ar zīdītāju imunoglobulīniem ir saistītas ar neinvazīvu un vienkāršu īpaša antigēna antivielu iegūšanu lielā apjomā (Kovacs-Nolan *et al*. 2005).

Zema blīvuma lipoproteīni

Zema blīvuma lipoproteīni (ZBL) pastāv divās frakcijās – ZBL1 un ZBL2. Lipīdus no ZBL frakcijas veidoja 25-28% fosfolipīdu, 3.3% holesterīna, 5% brīvo taukskābju, un atlikusī daļa triglicerīdi. Vidējā ZBL1 un ZBL2 molekulmasa attiecīgi ir 10 un 3 miljoni g mol^{-1}.

ZBL sfēru diametrs ir robežās no 170 līdz 600 Å ar vidējo diametru - 300 Å. ZBL proteīni un fosfolipīdi ir sagrupēti kopā mazās sīkdaļās (45 Å), kas tiek absorbētas uz triglicerīdu konusu virsmām. Šīs sīkdaļas (ultrasīkdaļas) var atbrīvot no triglicerīdu serdes, apstrādājot ar pepsīnu (Stadelman, Cotterill, 1995).

Plazmas ZBL, kurā nav lipīdu, (apo ZBL vai apovitelenīns) ir pētījuši vairāki zinātnieki pagājušā gadsimta 50.-70. gados. Grūtības šo apoproteīnu izpētē ir saistītas ar to, ka tie nešķīst pat urīnvielā un īpaši sāls klātbūtnē. SDS-poliakrilamīda gēla elektroforēzē, apo-ZBL frakcijā bija atrodami 18 polipeptīdi. Divas lielākās sastāvdaļas bija glikoproteīni ar molmasu aptuveni 71000 un 135000 g mol^{-1}. Citu lielāko polipeptīdu molmasa bija aptuveni 16000 un 82000 g mol^{-1} (Stadelman, Cotterill, 1995).

1.2.2. Lipīdi / *Lipids*

Pamatā visus olu dzeltenuma lipīdus var iedalīt divās klasēs: fosforu nesaturošie lipīdi (triglicerīdi, holesterīns, holesterīna ēsteri) un fosfolipīdi (lipīdi kas satur fosforskābes atlikumus).

Dzeltenuma lipīdos ir aptuveni 65.5% triglicerīdu, 28.3% fosfolipīdu un 5.2% holesterīna. Tam, ka minētās lipīdu sastāvdaļas olas dzeltenumā ir mainīgos daudzumos, pamatā, visticamāk, ir putna šķirne, nevis barības sastāvs (Stadelman, Cotterill, 1995).

Jebkuru lipīdu raksturošanai ir svarīgs to taukskābju saturs. Vidējais olu dzeltenuma lipīdu tauksskābju saturs *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistu olās ir apkopots 1.4. tabulā.

1.4. tabula / *table 1.4*

Vidējais taukskābju saturs olu dzeltenumā / *Composition of fatty acids of egg yolk*

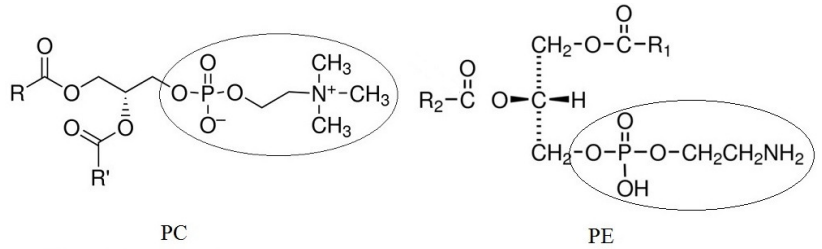
Taukskābe / *Fatty acid*	**% no kopēja tauksskābju satura / *% from total fatty acids***	
	Grobas *et al*., 2001	Petrovič *et al*., 2012
Piesātinātas taukskābes / *Saturated fatty acids (SFA)*		
C14:0 Miristīnskābe / *Miristic asid*	0.41	0.37
C16:0 Palmitīnskābe / *Palmitic acid*	27.00	24.85
C17:0 Margarīnskābe / *Margaric acid*	0.14	0.20
C18:0 Stearīnskābe / *Stearic acid*	8.70	7.52
C20:0 Arahīnskābe / *Arachidic acid*	0.09	n.d.
C22:0 Behenskābe / *Behenic acid*	0.17	n.d.
Kopā SFA / *Total SFA*	36.50	33.02
Mononepiesātinātas taukskābes / *Monounsaturated fatty acids (MUFA)*		
C14:1 Miristoleīnskābe / *Miristoleic acid*	0.19	0.10
C16:1 Palmitooleīnskābe / *Palmitoleic acid*	4.39	4.21
C17:1 Heptadecēnskābe / *Heptadecenoic acid*	0.19	n.d.
C18:1 Oleīnskābe / *Oleic acid*	46.70	44.44
C20:1 Eikozānskābe / *Paullinic acid*	0.42	0.20
Kopā MUFA / *Total MUFA*	51.90	49.12
Polinepiesātinātas taukskābes ω-3 / *Polyunsaturated fatty acids ω-3 (PUFA)*		
C18:3 ω-3 Linolēnskābe / *α-linolenic acid*	0.37	0.50
C20:5 ω-3 Timnodonskābe / *Eicosapentaenoic acid*	< 0.10	n.d.
C22:5 ω-3 Dokozapentaēnskābe / *Docosapentaenoic acid*	0.11	n.d.
C22:6 ω-3 Cervonskābe / *Docosahexaenoic acid*	0.76	0.74
Kopā ω-3 PUFA / *Total ω-3 PUFA*	1.24	1.25
Polinepiesātinātas taukskābes ω-6 / *Polyunsaturated fatty acids ω-6 (PUFA)*		
C18:2 ω-6 Linolskābe / *Linoleic acid*	8.90	14.52
C20:4 ω-6 Arahidonskābe / *Arachidonic acid*	1.62	1.75
C22:5 ω-6 Dokozapentaēnskābe / *Docosapentaenoic acid*	0.33	n.d.
Kopā ω-6 PUFA / *Total ω-6 PUFA*	10.80	16.27
Kopā PUFA / *Total PUFA*	12.10	17.86
ω-6/ω-3 attiecība / *ω-6/ω-3 ratio*	8.89	13.28

Saskaņā ar dažādu avotu datiem (Petrovič *et al*., 2012; Souza *et al*., 2008; Melinsk *et al*., 2003; Lewis *et al*., 2000) palmitīnskābe (C16:0) un stearīnskābe (C18:0) veido 30-38% no taukskābēm olu dzeltenuma lipīdos. Ir svarīgi atzīmēt, ka šīs piesātinātās taukskābes veido aptuveni 30% no taukskābēm triglicerīdu frakcijā, bet fosfolipīdu frakcijās tas ir aptuveni 49% lecitīnam (fosfatidilholīnam) un aptuveni 54% cefalīnam (fosfatidiletanolamīnam).

Fosfolipīdi

Fosfolipīdu saturs olu dzeltenumā ir aptuveni 10%. Fosfatidīlholīnu un fosfatidīletanolamīnu uzskata par galvenajiem olu dzeltenuma fosfolipīdiem un, saskaņā ar dažādu avotu datiem (Blesso, 2015; Palacios,Wang, 2005b), to saturs olu dzeltenumā vidēji ir 80% fosfatidīlholīna un 18% fosfatidīletanolamīna, atkarībā no kopējo fosfolipīdu satura dzeltenumā.

Fosfolipīdi ir amfifīlie savienojumi, kas nozīmē, ka tie satur gan hidrofīlās, gan hidrofobās grupas. Viens molekulas gals ir izteikti nepolārs, jo sastāv no taukskābju ķēdēm, kas satur tikai oglekļa un ūdeņraža atomus, bet otrs gals ir izteikti polārs, jo satur ļoti polāru fosfātu grupu un tādas polāras molekulas kā holīns vai etanolamīns (1.5. attēls).



1.5. att. **Fosfatidīlholīna (PC) un fosfatidīletanolamīna (PE) struktūrformulas /**
Fig. 1.5. ***Structural formulas of phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE)*** (Sigma-Aldrich)

R, R', R_1, R_2 – taukskābju atlikumi
R, R', R_1, R_2 – fatty acid residue

Fosfolipīdi jeb lecitīni šķīst ogļūdeņražos un citos organiskajos šķīdinātājos (hloroforms un dietilēteris), nešķīst acetonā un tas dod iespēju atdalīt tos no citiem lipīdiem. Fosfatidīlholīns pilnīgi šķīst etanolā, līdz ar to etanolu izmanto fosfatidīlholīna iznākuma palielināšanai ekstrakcijas procesā. Savukārt fosfatidīetanolamīms daļēji šķīst etanolā (Ziegelitz 1991). Lecitīni nešķīst ūdenī, bet veido tā saucamās mezomorfās fāzes, kuras, mehāniski samaisot, maina formu no slāņainas uz globulāro, veidojot micelāru struktūru (Ziegelitz 1991).

Visbiežāk fosfolipīdu ekstrakcijai no olu dzeltenuma izmanto etanolu (Palacios,Wang, 2005b). Ekstrakcija ar polāru spirtu, tādu kā etanols, norāda uz to, ka fosfolipīdi vairāk ir polāri savienojumi.

Fosfolipīdi ir nozīmīgi cilvēku uzturā, jo tie ietilpst daudzu svarīgu orgānu sastāvā (smadzenes, aknas, sirds, plaušas). Tiem ir arī svarīga bioloģiskā loma, jo tie piedalās olbaltumvielu maiņas, arī asins sarecēšanas procesos. Fosfolipīdus izmanto aterosklerozes ārstēšanā, ir pierādīts, ka olas dzeltenuma fosfatidīholīns samazina holesterīna limfatisku absorbciju žurkās (Jiang *et al.*, 2001). Olu dzeltenuma fosfolipīdiem ir pozitīva ietekme uz atmiņas zudumu, kas saistīti ar novecošanu, un mācīšanās problēmu samazināšanu pacientiem ar Alcheimera slimību, atjaunojot polinepiesātināto taukskābju proporcijas un palielinot acetilholīna koncentrāciju, kas ir būtisks neiromediators šo pacientu galvas smadzeņu garozā (Favrelière *et al.*, 2003; Masuda *et al.*, 1998).

Holesterīns

Holesterīns ir svarīga visu dzīvnieku valsts izcelsmes produktu sastāvdaļa. Holesterīns ir sterols, kas atrodas visās cilvēka organisma šūnās; tas ir steroīdo hormonu, D vitamīna un žultsskābju priekštecis. Holesterīns pārvietojas asinīs ar citiem lipīdiem un taukskābēm, kas piesaistītas lipoproteīniem (Anton, 2007).

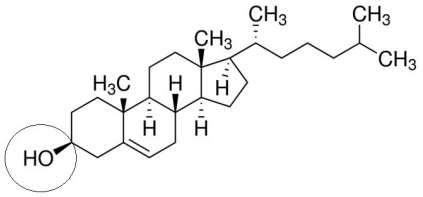
Daudzas veselības problēmas tiek saistītas ar paaugstinātu holesterīna saturu asinīs un visizplatītākās no tām ir sirds un asinsvadu slimības (Paik, Blair, 1996). Saprātīgās devās holesterīns ir nepieciešams. Tāpēc holesterīna saturs olu dzeltenumā var tikt novērtēts gan kā trūkums, gan kā ieguvums, kur galvenā nozīmē ir tā daudzumam.

Dzeltenumā esošā holesterīna daudzumu ietekmē putnu genotips. Dažādi pētījumi ir parādījuši tikai minimālu selekcijas ietekmi uz olas dzeltenumā esošā holesterīna daudzumu. Naber (1991) apkopoja šos datus, parādot vidējo holesterīna koncentrācijas samazinājumu 0.33 mg g^{-1} dzeltenuma vai 2.4% samazinājumu olās ar zemu selekcijas pārmantojamību. Holesterīna sintēzi dējējvistās un tā koncentrāciju olās varētu ietekmēt uzturs vai medikamenti. Liels tauku daudzums barībā vai pārmērīga kopējā uzņemtā enerģija var palielināt holesterīna daudzumu olās, bet sitosterīns un bagātīgs šķiedrvielu daudzums vistu uzturā var radīt būtisku holesterīna daudzuma samazinājumu (Naber, 1991).

Holesterīna ekstrakcija no sausa vai šķidra dzeltenuma, izmantojot oglekļa dioksīdu superkritiskos apstākļos, ir bijusi jaunāko pētījumu tēma. Froning *et al.* (1990) ziņoja, ka vislabāko ekstrakcijas efektivitātes un produkta funkcionālās kvalitātes kombinācija tika sasniegta, izmantojot sekojošus ekstrakcijas apstākļus 45ºC un 306 atm spiediena. Ekstrahēja aptuveni 2/3 holesterīna, tomēr ekstrahēja arī triglicerīdus, kas sekmēja fosfolipīdu un olbaltumvielu frakciju koncentrēšanos. Novak *et al.* (1991) ziņoja par 37-76% holesterīna ekstrakciju no sausa olu dzeltenuma atkarībā no ekstrakcijas apstākļiem; līdz 34% holesterīna ekstrahēja no šķidra dzeltenuma, bet šķidrais dzeltenums daļēji sabiezēja, iegūstot mīkstu, pastai līdzīgu konsistenci. Oglekļa dioksīds superkritiskos apstākļos denaturēja olbaltumvielas, kā rezultātā pieauga dzeltenuma viskozitāte.

Holesterīna ekstrakcija no šķidra olu dzeltenuma ir specifiska, jo holesterīns ir saistīts ar lipoproteīniem. Lipiproteīnu struktūras noārdīšana ar organisko šķīdinātāju palīdzību sekmē brīva holesterīna atbrīvošanu un tā tālāka ekstrakcija noteiktā šķīdinātājā būs atkarīga no šī šķīdinātāja un holesterīna polaritātes.

Holesterīns ir vēl viens amfifīlas molekulas piemērs. Holesterīnam ir hidroksilgrupa un steroīdu gredzenu struktūra ar ogļūdeņrāžu virkni (1.6. attēls). Tas nozīmē, ka holesterīna molekula satur polāru grupu, bet visa pārējā molekula ir nepolāra.



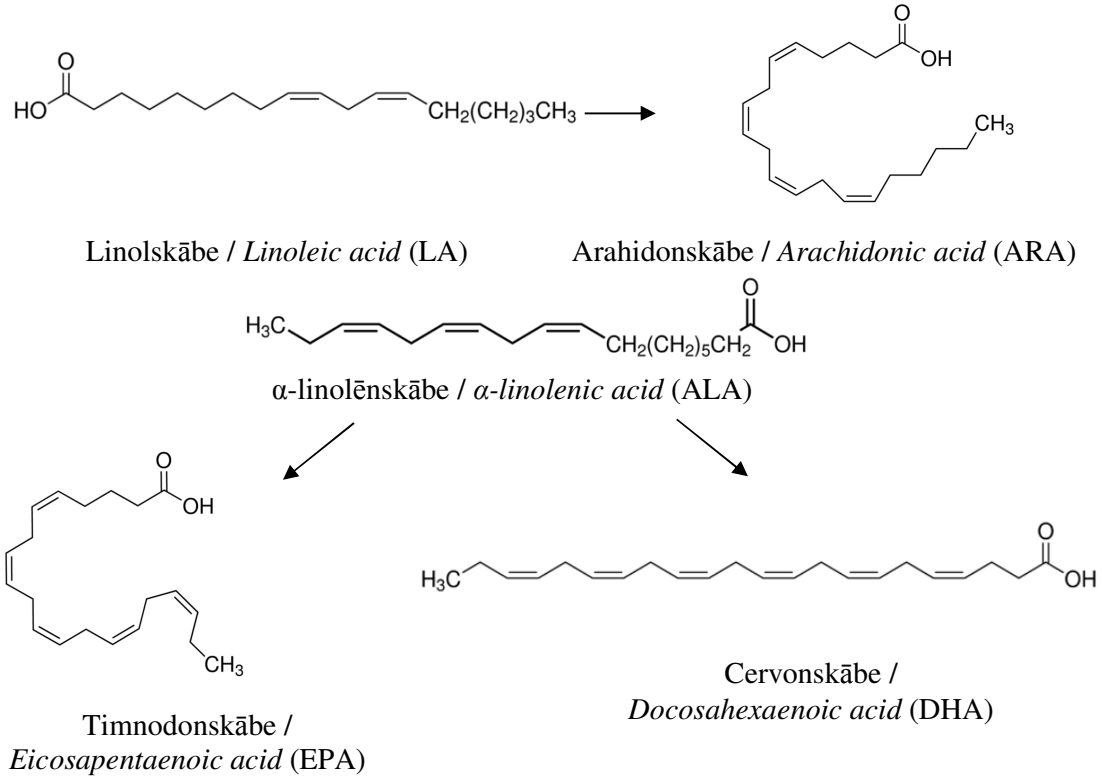
1.6. att. **Holesterīna struktūrformula /**
Fig. 1.6. ***Structural formula of cholesterol*** (Sigma-Aldrich)

Holesterīns praktiski nešķīst ūdenī (šķīdība ūdenī 0.2 mg 100 ml^{-1}) un pavisam nedaudz šķīst etanolā, kur šķīdība palielinās, pieaugot temperatūrai (Baluja *et al*., 2009).

1.2.3. Bioloģiski aktīvas vielas / *Bioactive compounds*

Polinepiesātinātās taukskābes

Linolskābe un α-linolēnskābe un to atvasinājumi ir būtiski visu dzīvnieku un augu šūnu membrānu sastāvdaļas. Linolskābe ir galvenā omega-6 taukskābe, bet α-linolēnskābe ir galvenā omega-3 taukskābe. Cilvēka kermenī linolskābe (LA) metabolizējas arahidonskābē (ARA), α-linolēnskābe (ALA) metabolizējas timnodonskābē (EPA) un cervonskābē (DHA) (attēls 1.7.), bet to pārveidošanas efektivitāte ir tikai daži procenti.



1.7. att. **Polinepiesātināto taukskābju struktūrformulas /**
1.7. Fig. ***Polyunsaturated fatty acid structural formulas*** (Sigma-Aldrich)

Linolskābe

Linolskābe (*cis,cis*-9,12-oktadekadiēnskābe) ir karbonskābe ar 18 oglekļa atomiem un divām cis dubultsaitēm, kur pirmā dubultsaite ir izvietota pie sestā oglekļa atoma no metilgrupas gala, līdz ar to, linoskābe ir polinepiesātināta omega-6 tauskskābe (C18:2 ω-6). Tā ir viena no divām neaizstājāmām taukskābēm, ko cilvēka organisms nevar sintezēt no citiem savienojumiem.

Linolskābi izmanto arahidohskābes biosintēzē, kā arī dažu prostaglandīnu, leikotriēnu un tromboksānu biositēzē. Cilvēku šūnu membrānās ir liels linoskābes saturs, līdz ar to tai ir būtiska nozīmā normālā visu šūnu membrānu funkcionēšanā (Sammon, 1999).

α-linolēnskābe

α-linolēnskābe (*cis,cis,cis*-9,12,15-oktadekatriēnskābe) ir karbonskābe ar 18 oglekļa atomiem un trim cis dubultsaitēm. Pirmā dubultsaite ir izvietota pie trešā oglekļa atoma no metilgrupas gala. α-linolēnskābe ir polinepiesātināta omega-3 taukskābe (C18:3 ω-3) un tā ir otrā neaizstājamākā taukskābe pēc linolskābes.

α-linolēnskābe, līdzīgi ka linolskābe, nesintezējas cilvēku organismā – to ir jāsaņem ar pārtiku, un tā ir ļoti svarīga cilvēka veselībai. Ir vairāki pierādījumi tam, ka α-linolēnskābes izmantošanai uzturā var būt labvēlīga ietekme sirds un asinsvadu slimību profilaksē (de Lorgeril, Salen, 2004).

Arahidonskābe

Pēc ķīmiskās uzbūbes, arahidonskābe (*cis,cis,cis,cis*-5,8,11,14-eikozantetraēnskābe) ir karbonskābe ar 20 oglekļa atomiem un četrām cis dubultsaitēm, kur pirmā dubultsaite ir izvietota pie sestā oglekļa atoma no metilgrupas gala (C20:4 ω-6).

Arahidonskābe ir polinepiesātināta taukskābe, kuru satur ķermeņa šūnu membrānu fosfolipīdi (it īpaši fosfatidīletanolamīns, fosfatidīlholīns un fosfatidīlinozitoli). Arī smadzenēs, muskuļos un aknās ir daudz fosfolipīdu, kuri satur arahidonskābi.

Arahidonskābe nav neaizstajāmā taukskābe kā linolskābe vai α-linolēnskābe, bet tā var kļūt par neaizstājamu gadījumā, ja organismā trūkst linolskābes vai linolskābe nevar tikt pārveidota par arahidonskābi. Dažu zīdītāju organismā pietrūkst vai ir ļoti ierobežotas iespējas pārveidot linolskābi līdz arahidonskābei, kas padara arahidonskābi par obligātu šo zīdītāju uztura sastāvdaļu (Salem *et al*., 1999).

Timnodonskābe

Timnodonskābe (*cis,cis,cis,cis,cis*-5,8,11,14,17-eikozapentaēnskābe) ir omega-3 taukskābe (20:5 ω-3), tā satur 20 oglekļa atomus ar piecām *cis* dubultsaitēm, kur pirmā dubultsaite ir izvietota pie trešā oglekļa atoma no metilgrupas gala.

Cilvēku organismā timnodonskābe sintezējas no α-linolēnskābes, bet sintēzes efektivitāte ir daudz mazāka, nekā timnodonskābes absorbcijas iespējas no tās saturošiem pārtikas produktiem. Timnodonskābe ir cervonskābes priekštecis, tāpēc timnodonskābes trūkums uzturā, kas nesatur ne timnodonskābi, ne arī cervonskābi, ir vēl sliktāks, jo ir nepieciešams papildus metabolitiskais darbs, lai sintezētu timnodonskābi, un no tās sintezētu cervonskābi. Dažādas cilvēka veselības problēmas, piemēra, tādas kā diabēts vai alerģijas, ietekmē organisma iespējas sintezēt timnodonskābi no α-linolēnskābes (Swanson *et al*., 2012).

Cervonskābe

Cervonskābe (*cis,cis,cis,cis,cis,cis*-4,7,10,13,16,19-dokozaheksaēnskābe) pēc ķīmiskās uzbūves ir karbonskābe ar 22 oglekļa atomiem un sešām dubultsaitēm (C22:6 ω-3), kur pirmā dubultsaite ir izvietota pie trešā oglekļa atoma no metilgrupas gala.

Cervonskābe ir omega-3 taukskābe un tā ir cilvēka smadzeņu, smadzeņu garozas, ādas, spermas, sēklinieku un tīklenes pamat-sastāvdaļa. Cervonskābes saturs smadzenēs ir 40% un tīklenē 60% no visu polinepiesātināto taukskābju satura. Neironu plazmas membrānā 50% ir cervonskābes (Glomset, 2006).

Cilvēks var uzņemt cervonskābi ar pārtiku vai no mātes piena. Cervonskābes koncentrācija mātes pienā ir ļoti augsta, neatkarīgi no mātes uztura. Cilvēku organismā cervonskābe nelielos daudzumos var sintezēties no timnodonskābes caur dokozapentaēnskābi (DPA, C22:5 ω-3) kā starpposmu (Burdge, Wootton, 2002).

Neaizvietojamo taukskābju saturs olās nav atkarīgs no vistas ģenētikas, bet drīzāk gan atspoguļo taukskābju sastāvu barībā. Aptuveni 20% no visām vistu olu taukskābēm ir neaizvietojamās, no kurām 90% ir omega-6 un 10% omega-3 polinepiesātinātas taukskābes. Tomēr šī polinepiesātināto taukskābju attiecība ir būtiski atkarīga no vistu barības sastāva. Vairākus desmitus gadu polinepiesātinātās taukskābes olu dzeltenumā ir bijis galvenais zinātnieku (Abril, Barclay, 1998; Simopoulos, Salem, 1992) pētījuma objekts, jo to saturu var modificēt, izmantojot dažādas augu eļļas vistu barošanai.

Tikpat svarīga ir omega-6 (ω-6) un omega-3 (ω-3) polinepiesātināto taukskābju attiecība olu dzeltenuma lipīdos. Attiecība starp ω-6/ω-3 polinepiesātinātām taukskābēm saskaņā ar dažādiem literatūras avotiem ir 13:1, 9:1, 5:1 (Huopalahti *et al*., 2007) atkarībā no izmantotajiem lipīdiem vistu barībā. Attiecība ω-6/ω-3 5:1 ir optimālāka tāpēc, ka šī polinepiesātināto taukskābju attiecība var labvēlīgi ietekmēt cilvēka veselību, samazinot trombozes, leikocītu adhēzijas, asinsvadu sieniņu iekaisuma un miokarda aritmijas riskus (Kang, Leaf, 2000; Lands, 2000; Horrocks, Yeo, 1999).

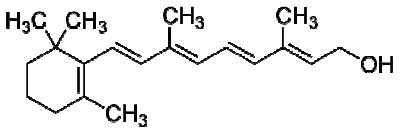
Taukos šķīstošie vitamīni

Vitamīni ir viena no būtiskām pārtikas produktu sastāvdaļām. Tie nepieciešami organismu normālai funkcionēšanai, to trūkums var radīt avitaminozi. Olu dzeltenums ir

taukos šķīstošo vitamīnu avots. Lielāka nozīme ir olu dzeltenuma taukos šķīstošiem A, D un E vitamīniem, kuru saturs olu dzeltenumā ir atkarīgs galvenokārt no to daudzuma vistu barībā (Yao *et al*., 2013; Aljamal, 2011; Grobas *et al*., 2002).

A vitamīns

Pēc savas ķīmiskās dabas A vitamīns ir bioloģiski aktīvu, nepiesātinātu organisko savienojumu grupa, kurā ietilpst retinols un tā atvasinājumi, kā arī vairāki provitamīna A karotinoīdi (likopēns, ksantīni u.c.) un β-karotīns. A vitamīna aktivitāte dzīvajos organismos saistīta ar retinolu vai tā esteriem, ko sauc par retinilesteriem. Tas var eksistēt arī aldehīdu formā, ko sauc par retinālu vai retīnaldehīdu. Līdzīgi citiem taukos šķīstošajiem vitamīniem, retinols ir izoprenoids (1.8. attēls), kas sintezējas no izoprēna struktūrvienībām.



1.8. att. **Retinola struktūrformula /**
Fig. 1.8. ***Retinol structural formula*** (Sigma-Aldrich)

Bieži A vitamīna apzīmēšanai tiek izmantots apzīmējums retinoīdi, kas ietver retinolu un tā ķīmiskos atvasinājumus. No karotinoīdiem vislielākā provitamīna A aktivitāte piemīt β-karotīnam. Retinoīdi un A provitamīna karotinoīdi ir ļoti lipofīli savienojumi, kas skaidrojams ar šo savienojumu nepolāro struktūru, kā rezultātā tie saistās ar lipīdiem.

Konjugētās dubultsaites retinoīdu molekulās absorbē ultravioleto gaismu, bet karotinoīdu molekulām raksturīga dzelteni oranža krāsa un līdz ar to notiek redzamās gaismas absorbcija.

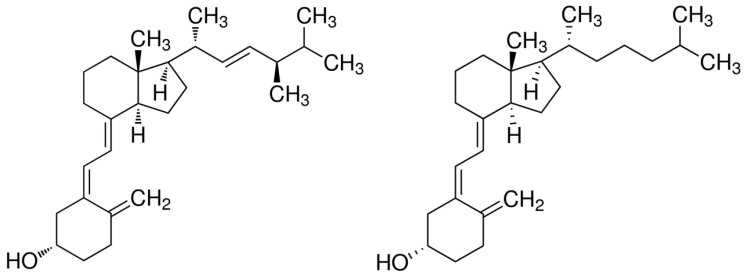
Visiem trans izomēriem raksturīga lielāka A vitamīna aktivitāte un tie galvenokārt eksistē pārtikas produktos. Pāreja uz cis izomēriem notiek termiskās apstrādes procesā un saistīta ar A vitamīna aktivitātes zudumu (Ross, 2006).

Retinols jeb A vitamīns nepieciešams organisma augšanai, tas piedalās šūnu proteīnu metabolismā un ir svarīgs faktors labas redzes nodrošināšanai. Organismam nepieciešamā dienas deva ir 1.5-1.8 mg (Belitz *et al*., 2004) A vitamīna. Vairāk nekā pusi no šī daudzuma nodrošina retinols, bet pārējo daudzumu β-karotīns un citi A provitamīna karotinoīdi. A vitamīns ir sastopams tikai dzīvnieku valsts produktos, no kuriem bagātākie ir zivju eļļa, dzīvnieku aknas un olu dzeltenums.

Retinols (A vitamīns) olu dzeltenuma lipīdos var sasniegt līdz 500 μg 100 g^{-1} (Ramalho *et al*., 2006).

D vitamīns

Kalciferols (D vitamīns) ir vitamīnu grupa, kuru aktivitāte pārtikas produktos saistās ar vairākiem taukos šķīstošiem sterola analogiem. Šajā grupā ietilpst vairāki savienojumi, no kuriem divi pazīstamākie savienojumi ir ergokalciferols (vitamīns D_2), kas sintezējas augos, un holekalciferols (vitamīns D_3) no dzīvnieku valsts produktiem (1.9. attēls). Holekalciferols veidojas no tā prekursora 7-dehidroholesterola dzīvo organismu ādā ultravioletās gaismas iedarbībā. Notiek fotoizomerizācijas reakcija, kā rezultātā tiek sašķelta saite starp 9. un 10. oglekļa atomiem un veidojas previtamīns D_3. Tālāk notiek spontāna izomerizācija, kā rezultātā veidojas D_3 vitamīns. Ergokalciferols, kura molekula atšķiras no holekalciferola tikai ar sānu ķēdes struktūru, sintezējas līdzīgi, gaismai iedarbojoties uz augu valsts sterolu – ergosterolu (Garrett, Grisham, 1995).



Ergocalciferols (D_2) Holekalciferols (D_3)

1.9. att. **D vitamīnu struktūrformulas /**
Fig. 1.9. ***Vitamin D structural formulas*** (Sigma-Aldrich)

Galvenais D vitamīna metabolīts ir 1,25-dihidroksiholekalciferols, tā priekštecis ir 25-hidroksiholekalciferols (25OHD), kas regulē kalcija metabolismu. Ir pierādīts, ka 25OHD ir no 1.5 līdz 5 reizēm augstāka aktivitāte nekā standarta D vitamīnam (Ovesen *et al*., 2003). Olas ir viens no retajiem pārtikas produktiem, kas vienlaikus satur gan D vitamīnu, gan 25OHD.

D vitamīnam ir svarīga loma kaulu attīstībā un uzturēšanā. Ir divi veidi kā cilvēks var saņemt D vitamīnu: saules iedarbības uz ādu rezultātā un ar uzturu. Dažos gadījumos, kad cilvēkam ir aizliegts uzturēties gaismas ultravioletā starojumā, ir nepieciešama uztura papildināšana ar D vitamīnu.

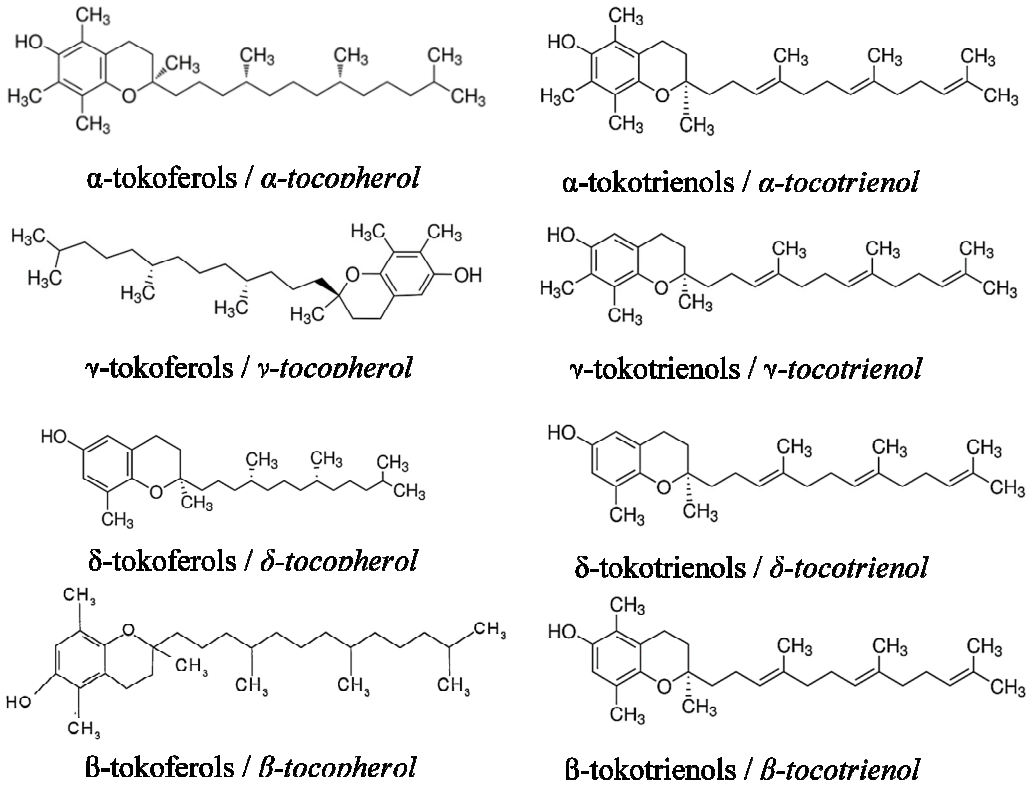
D vitamīnu nelielās devās satur olas dzeltenums, aknas, zivis: tuncis, lasis, sardīnes, siļķes un skumbrijas, kā arī ar D vitamīnu bagātināti produkti. D vitamīns organismā veicina kalcija uzņemšanu un kalcija sāļu veidošanos. Vēlamā D vitamīna diennakts deva pieaugušam cilvēkam ir no 5 µg līdz 10 µg dienā vecākiem cilvēkiem (Scientific Committee on Food, 2003). D vitamīna saturs olu dzeltenumā atkarīgs no tā satura vistu barībā un svārstās no 15 līdz 30 µg 100 g^{-1} olu dzeltenumā (Mattila *et al*., 2004) un var sasniegt pat 870 µg 100 g^{-1} olu dzeltenumā ar D vitamīnu bagātinātās olās (Yao *et al*., 2013).

E vitamīns

E vitamīns ir kopīgs apzīmējums tokoliem un tokotrienoliem, kas nosaka kopējo vitamīna aktivitāti. Tokoli ir 2-metil-2 (4`,8`,12`-trimetiltridecil) hroman-6-ols, bet tokotrienoli pēc ķīmiskās struktūras atšķiras ar dubultsaitēm pie sānu virknes 3., 7. un 11. oglekļa atomiem. Tokoferoli, kas ir galvenie savienojumi ar E vitamīna aktivitāti pārtikas produktos, ir tokolu atvasinājumi, kas satur vienu vai vairākas metilgrupas pie 5., 7 vai 8. oglekļa atoma hromanola gredzenā (1.10. attēls).

Dažādie tokoferoli (α, β, γ) ir izteikti nepolāri savienojumi, tie atšķiras ar metil grupu skaitu un to novietojumu un tāpēc tie dažādi ietekmē vitamīna E kopējo aktivitāti. α-tokoferolam, E vitamīna aktīvākajai formai, ir lielākā bioloģiskā aktivitāte, tas ir zināms antioksidants, kas var, piemēram, aizsargāt nepiesātinātās taukskābes no oksidēšanās (Galobart *et al*., 2001b).

Ir atzīts, ka E vitamīnam ir būtiska nozīmē normālā organisma funkcionēšanā (Gaziano, 2004). Turklāt, pieaug pierādījumu skaits, kas pierāda, ka E vitamīna iekļaušana cilvēku uzturā samazina dažādu patoloģiju biežumu. No visām E vitamīna aktīvajām formām, α-tokoferols ir vissvarīgākais antioksidants un tā uzņemšana ar pārtiku ir saistīta ar dažādu metabolisku traucējumu profilaksi (Traber, Sies, 1996).



1.10. att. **Tokoferolu un tokotrienolu struktūrformulas /**
Fig. 1.10. ***Tocopherol and tocotrienol structure formulas*** (Sigma-Aldrich)

Galvenie E vitamīna avoti uzturā ir augu eļļas, bet šo vitamīnu satur arī dārzeņi, rieksti un graudi. Ieteicamā diennakts deva pieaugušam cilvēkam vidēji ir 9 mg. E vitamīna saturs olu dzeltenumā svārstās no 34 līdz 472 mg kg^{-1} (Pita *et al.*, 2004; Franchini *et al.*, 2002).

Karotinoīdi

Dzeltenuma dzelteni oranžo krāsu saista ar taukos šķīstošo karotinoīdu klātbūtni lipoproteīnu lipīdu daļā. Vairums karotinoīdu dzeltenumā ir hidroksi savienojumi, ko sauc par ksantofiliem, ar niecīgu karotīna daudzumu. Karotinoīdu veidi un saturs dzeltenumā ir atkarīgs no vistu uztura, jo dzeltenuma pigmentācija ir saistīta ar barības karotinoīdu absorbēšanu un biopārvietošanu uz olnīcu. Galvenie ksantofili olu dzeltenumā ir luteīns, zeaksantīns un kriptoksantīns, kuri visi ir iegūti no barības sastāvdaļām, piemēram, dzeltenās kukurūzas, lucernas miltiem un kukurūzas lipekļa miltiem. Luteīns ir galvenais ksantofils gan dzeltenajā kukurūzā, gan lucernas miltos, un tas ir arī dominējošais karotinoīds (aptuveni 62% no kopējiem karotinoīdiem) tādu vistu olu dzeltenumā, kurām ir dota dzeltenā kukurūza un lucernas milti. Zeaksantīns ir otrs dominējošais pigments, kas veido aptuveni 13% no kopējiem karotinoīdiem olu dzeltenumā. Karotīna, kriptoksantīna un zeaksantīna daudzums vistu, kurām eva dzelteno kukurūzu, olu dzeltenumā bija attiecīgi 0.015, 0.19 un 1.79 mg 100 g^{-1} dzeltenuma. 100 g dzeltenumā pavisam ir 2.5 mg karotinoīdu, un galvenie karotinoīdi no tiem ir luteīns (40%), zeaksantīns (19.8%), kantaksantīns (17.9%) un β-kriptoksantīns (17.3%) (Perry *et al.*, 2009; Huopalahti *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 1994).

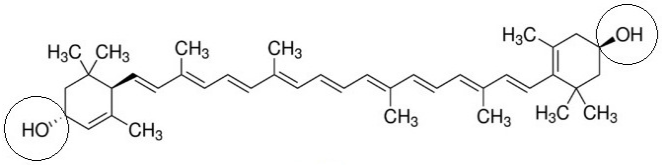
Karotinoīdi pamatā ir nepolārie savienojumi, kurus var iedalīt divās apakšklasēs, polārie savienojumi, kas tiek saukti par ksantofīliem vai oksikarotinoīdiem, un nepolārie karotīni.

Luteīns un zeaksantīns

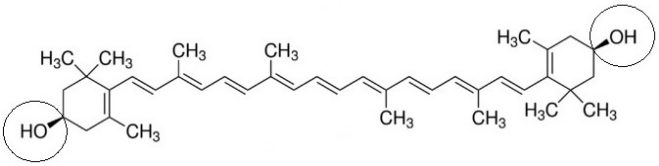
Luteīns un zeaksantīns ir ksantofili un tie ir polārākie no visiem olu dzeltenuma karotinoīdiem, jo satur hidroksilgrupas. Turklāt ksantofili pastāv gan brīvā, gan taukskābju ēsteru formā, kas var ietekmēt to polaritāti un arī šķīdību (Rivera, Canela, 2012).

(Perry *et al*., 2009; Qian *et al*., 2009) kopējo karotinoīdu ekstrakcijai izmantoja petrolētera un spirtu maisījumus, izdalot ksantofīlus spirta fāzē un nepolāros karotinoīdus ēterā fāzē.

Lai gan luteīnam un zeaksantīnam ir identiskas ķīmiskās formulas tie nav sterioizomēri (1.11. attels). Luteīns un zeaksantīns ir poliizoprenoīdi, kas satur 40 oglekļa atomus un ciklisku struktūru abos konjugētas ķēdes galos. Galvenā atšķirība starp luteīnu un zeaksantīnu ir dubultās saites izvietojums vienā gala gredzenā, veidojot luteīnā trīs hirālus centrus, bet zeaksantīnā divus.



Luteīns / *Lutein*



Zeaksantīns / *Zeaxanthin*

1.11. att. **Luteīna un zeaksantīna struktūrformulās /**
Fig. 1.11. ***Structural formulas of lutein and zeaxanthin*** (Sigma-Aldrich)

Pastāv uzskats, ka luteīns un zeaksantīns makulā var bloķēt zilas gaismas nokļūšanu tīklenes pamata struktūrā, tādējādi samazinot gaismas oksidatīvo kaitējuma risku, kas varētu novest pie makulas deģenerācijas (Chung *et al*., 2004).

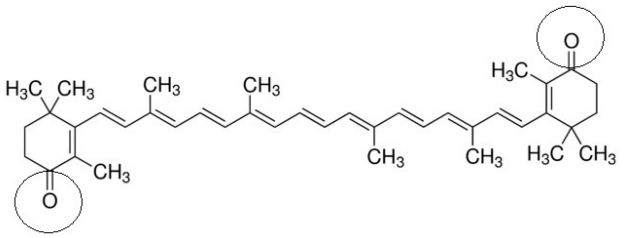
Luteīnam, salīdzinājumā ar citām uzturvielām, nav noteiktas diennakts devas, bet pozitīvu efektu uz veselību novēro sākot ar devu 6-10 mg dienā (Seddon *et al*., 1994).

Luteīna un zeaksantīna kopējais saturs olu dzeltenumā ir atkarīgs no to satura vistu barībā un svārstās no 0.32 līdz 1.74 mg olā (60 g) (Leeson, Caston, 2004). Luteīna un zeaksantīna attiecība olu dzeltenumā svārstās no 2:1 (Škrivan *et al*., 2015) līdz 1:1 (Perry *et al*., 2009).

Kantaksantīns

Kantaksantīns ir ksantofīlu pārstāvis, kas ir atrodams olu dzeltenumā. Kantaksantīns pārsvarā sastāv no trans-β-karotīn-4,4'-diona (1.12. attēls) kopā ar nelielu daudzumu citu izomēru. Kantaksantīns nešķīst ūdenī un etanolā, ir praktiski nešķīstošs augu eļļās, ļoti vāji šķīst acetonā un metanolā (Qian *et al*., 2009).

Kantaksantīna izmantošana pārtikas rūpniecībā galvenokārt saistīta ar tā spēju iekrāsot produktus, tādus kā olu dzeltenums vai laša un foreles gaļa. Eiropas Savienībā kantaksantīna deva dzīvnieku barībā ir ierobežota līdz 80 mg kg^{-1}, dējejvistām līdz 8 mg kg^{-1} un citiem mājputniem un lašiem līdz 25 mg kg^{-1} (Regulation (EC) No 1486/2015). Kantaksantīnu vēl izmanto kā pārtikas krāsvielu dažādiem pārtikas produktiem, dzērieniem un farmaceitiskiem preparātiem, kuriem tas piedod oranži-sarkanu līdz sarkanas krāsas toni.



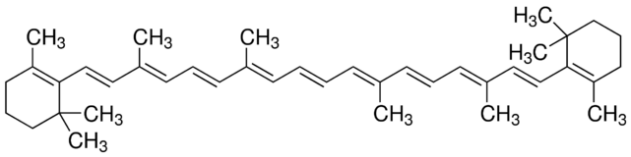
1.12. att. **Kantaksantīna struktūrformula /**
Fig. 1.12. ***Structural formula of canthaxanthin*** (Sigma-Aldrich)

Kantaksantīnam ir vairākas fizioloģiskās funkcijas un tas var tikt pārvērsts A vitamīnā, tā trūkuma gadījumā. Kantaksantīnu izmanto, lai samazinātu jutību pret saules gaismu cilvēkiem ar ādas slimībām (Mathews-Roth, 1993). Kantaksantīns uzkrājas otrajā ādas slānī, piešķirot ādai tumšāku krāsu, un pasargā ādu no saules iedarbības.

Šobrīd nepastāv drošas vai efektīvas kantaksantīna dienas devas pieaugušiem vai bērniem.

β-karotīns

β-karotīns ir ogļūdeņradis bez funkcionālām grupām un tas ir lipofīls savienojums (1.13. attēls). β-karotīna atdalīšana no citiem karotinoīdiem ir balstīta uz šī savienojuma polaritāti. To var ekstahēt no olu dzetenuma ar nepolāru šķīdinātāju (heksāns) palīdzību (Craft, 1992).



1.13. att. **β-karotīna struktūrformula /**
Fig. 1.13. ***Structural formula of β-carotene*** (Sigma-Aldrich)

β-karotīns ir A vitamīna provitamīns ar tam raksturīgām antioksidanta īpašībām, kas palīdz aizsargāt šūnas no oksidatīviem bojajumiem. β-karotīnu izmanto, lai mazinātu astmas simptomus, lai ārstētu noteiktus vēža veidus, sirds slimības, katarakta un ar vecumu saistītu makulas deģenerāciju, lai ārstētu AIDS, alkoholismu, Alcheimera slīmību, depresiju, epilepsiju, galvassāpes, augstu asins spiedienu, neauglību, Parkinsona slimību, reimatoīdo artrītu, šizofrēniju un ādas slimības, tai skaitā, psoriāzi (Goodley *et al*., 1996; Mayne, 1996).

β-karotīns ir visizplatītākā karotīnu forma augos. To plaši pielieto kā krāsvielu pārtikas produktos un dzērienos. β-karotīna saturs olu dzeltenumā ir atkarīgs no tā satura vistas barībā, bet nav proporcionāls, jo lielāka daļa β-karotīna pārvēršās A vitamīnā (Hammershoj *et al*., 2010).

Dējējvistas nevar pašas sintezēt karotinoīdus, tos ir jāuzņem ar barību. Brīvībā turētas vistas un vistas, kas tiek barotas ar kukurūzu vai alfalfu koncentrē taukos un nodod olai karotinoīdus, kurus dabīgā veidā satur šie augi (Jiang *et al*., 1994).

1.3. Olu un olu produktu mikrobioloģija / *Microbiology of eggs ang egg products*

Putna ola ir izveidota tā, ka embrijs var attīstīties sterilā vidē, un tai ir jāierobežo mijiedarbība ar apkārtējo vidi. Poras čaumalā, kas pieļauj gāzveida difūziju, ir iemesls, kāpēc

olas zaudē ūdeni, un tās ir vietas, pa kurām mikroorganismi piesarņo olu (Sheburski, Freier, 2009).

Olu piesarņojuma veidus var iedalīt vairākos etapos.

Pirms izdēšanas

Pēc saslimšanas gadījumiem ar salmonelozi, kas saistīti ar olu vai to produktu patēriņu, kuras ir inficētas ar *Salmonella enteritidis*, ir atjaunojusies zinātnieku interese par baktēriju iekļūšanu olās. Tiek apskatīti trīs infekcijas ceļi (Duguid, North, 1991): 1) caur olvadu – dzeltenums tiek piesarņots, kamēr tas atrodas olvadā; 2) caur olu – dzeltenuma plēve un/vai baltums tiek piesarņoti, tiem šķērsojot olvadu; un 3) caur čaumalu – daži ierosinātāji liek baktērijām pārvietoties no čaumalas ārējās uz iekšējo virsmu. Pierādījumi liecina, ka īpaši salmonelozes gadījumā pārnešana caur olvadu, iespējams, ir vissvarīgākā. Daži autori (Baxter-Jones, 1991) ir ziņojuši par tītaru olu infekciju 1:1000-2000, citi (Humphrey *et al*., 1994) par aptuveni 0.5%, bet vēl citi (Vugia *et al*., 1993) ir secinājuši par iespēju 1:12-15. Cik daudz ir piesarņotu olu pie ieaugļošanās ar nepatogēnām baktērijām? Lai gan būtisku datu trūkst, divi atsevišķi pētījumi liecina, ka tikai dažās olās izdēšanas laikā ir saprofītie mikroorganismi. Tiek pieņemts (Stadelman, Cotterill, 1995), ka vairāk nekā 90% vistu olas pēc izdēšanas ir sterilas.

Pēc izdēšanas

Čaumala, iespējams, saņem pirmo mikroorganismu triecienu, kad iziet caur kloākai. No tā brīža un līdz olas izmantošanai pastāv iespējas, ka čaumala uzņems mikroorganismus no virsmas, ar ko tā saskaras. Vispārējie apskati (Stadelman, Cotterill, 1995) ir parādījuši, ka olas čaumalas piesarņojuma līmeņi ir sastopami plaši, skaits svārstās no dažiem simtiem līdz desmitiem miljonu baktēriju uz čaumalas.

Uz olas čaumalām atrastā baktērijas mikroflora ir parādīta 1.5. tabulā.

1.5. tabula / *Table 1.5*

Mikroorganismi uz vistas olas čaumalas /
Type of microorganisms found on egg shell (Stadelman, Cotterill, 1995)

Organisma veids / ***Type of microorganism***	**Sastopamības biežums[a] /** ***Occurrence frequency***
Streptococcus spp.	±
Staphylococcus spp.	+
Micrococcus spp.	++
Sarcina spp.	±
Arthrobacter spp.	+
Bacillus spp.	+
Pseudomonas spp.	+
Acinetobacter spp.	+
Alcaligenes spp.	+
Flavobacterium spp.	+
Cytovides pHaga	+
Aerobacter spp.	+
Aeromonas spp.	±
Proteus spp.	±
Serratia spp.	±

a - sastopamas: ± reizēm, + uz vairuma olu, bet mazā daudzumā, un ++ vienmēr lielos daudzumos
a - found: ± rarely, + on most eggs, but in small quantities, ++ allways and in big quantities

Izņemot ļoti netīras čaumalas, pastāv vāja sakarība starp piesarņojuma līmeni un čaumalas izskatu. Tātad, uz mazliet vizuāli netīru olu čaumalām var būt pat mazāks mikroorganismu skaits nekā uz olām no tīrām ligzdām, un tikai pēc vidējiem rādītājiem, kas iegūti no statistiski pieņemama olu skaita, kļūst acīmredzams, ka čaumalas piesarņojums

palielinās, ja pasliktinās vistu turēšanas apstākļi un tīrība. Piesarņojums notiek, čaumalai saskaroties ar ligzdas materiālu, olu paliktņiem, rokturiem, u.c. Mikroflora uz olu čaumalas ir heterogēna. Zinot piesārņojuma dabisko vidi, var secināt, ka putekļi, zeme un izkārnījumi ir galvenie infekciju ierosinātāji. Pieejamā informācija liecina, ka grampozitīvās baktērijas, iespējams, noturības dēļ sausos apstākļos, ir dominējošā flora uz olas čaumalām. Turpretī gramnegatīvās baktērijas ir galvenie puvušo olu piesarņotāji.

Puvušās olas

Puvušajās olās parasti ir gramnegatīvo un grampozitīvo baktēriju sajaukums. Visizplatītākie piesarņotāji ir *Alcaligenes, Acinetobacter, Pseudomonas, Serratia, Cloaca, Hafnia, Citrobacter, Proteus* un *Aeromonas* ģints sugu baktērijas (1.6. tabula).

1.6. tabula / *Table 1.6*

Mikroorganismu veidi puvušās olās /
Type of microorganisms found in rotten eggs (Stadelman, Cotterill, 1995)

Organisma veids / ***Type of microorganism***	**Sastopamības biežums [a] /** ***Occurrence frequency***
Pseudomonas aeruginosa	±
Pseudomonas fluorescens	++
Pseudomonas putida	++
Xanthomonas maltophilia	+
Flavobacterium spp.	±
Alcaligenes spp.	++
Acinetobacter spp.	±
Cloaca spp.	±
Cytophaga spp.	±
Aeromonas spp.	+
Proteus spp.	++
Escherichia spp.	++
Hafnia spp.	+
Citrobacter spp.	+
Bacillus spp.	±
Micrococcus spp.	±
Serratia spp.	++
Streptococcus spp.	±
Arthrobacter spp.	±

a – sastopamas: ± ļoti reti, + reti un ++ parasti
a – found: ± very rare, + rarely, ++ commonly

1.4. Olu eļļas iegūšanas metodes / *Methods of extracting egg yolk oil*

Olu eļļas iegūšanai var izmantot dažādas metodes, kas atšķiras gan pēc ietekmes veida uz olu dzeltenumu (fizikāli vai ķīmiski), gan pēc iegūtajiem rezultātiem – eļļas iznākums, sastāvs. Olu dzeltenuma lipīdi atrodas kompleksā ar olbaltumvielām, veidojot lipoproteīnus, kas ievērojami apgrūtina eļļas iegūšanu nesagraujot olbaltumvielu struktūru. Iepriekšējā pieredze liecina, ka, cilvēki, zinot olu eļļas vērtīgās īpašības, mēģināja to iegūt no dzeltenuma, sadedzinot cieti vārītu olu dzeltenumu, un tādā veidā pilnīgi noārdot olbaltumvielas, kā rezultātā paliek tikai olu eļļa. Rūpnieciskajā ražošanā tāda olu dzeltenuma olbaltumvielu utilizēšana nav piemērota, jo tā radītu nozīmīgus zaudējumus ražošanas procesā un eļļas pašizmaksas sadārdzinājumu. Olu dzeltenuma olbaltumvielas pēc uzturvērtības ir pelnījušas īpašu uzmanību, līdz ar to, eļļas iegūšanas procesam jābūt pēc iespējas saudzīgākam pret dzeltenuma olbaltumvielām, tajā paša laikā, olu eļļas iznākumam jābūt tuvu lipīdu saturam dzeltenumā.

Olu dzeltenums dabīgajā stāvoklī ir šķidrs, tas satur ap 50% ūdens un ātri bojājas mikroorganismu darbības rezultātā. Visvienkāršāk samazināt ūdens saturu olu dzeltenumā ir to kaltējot un iegūstot pulveri. Dzeltenuma kaltēšanai ir nepieciešams liels enerģijas daudzums. Dzeltenuma kaltēšanai izmanto gaisu ar temperatūru no +180 līdz +200°C, bet paša dzeltenuma temperatūra sasniedz tikai +44 līdz +46°C, līdz ar to, kaltēšana nav uzskatāma par termiskās apstrādes veidu, jo pie šādas temperatūrās patogēni spēj izdzīvot. Lai nodrošinātu šķidra olu dzeltenuma mikrobiālo drošību, šķidru olu dzeltenumu pasterizē +62...+66°C, kas atkal prasa siltuma enerģiju un sadārdzina procesu. Sausā dzeltenuma pulvera priekšrocības ir iespēja to uzglabāt noteiktu laiku bez tā kvalitātes izmaiņām, ir nepieciešams mazāk vietas uzglabāšanai (no 1000 kg šķidra dzeltenuma iegūst 420-440 kg dzeltenuma pulvera), lētāka transportēšana un nav nepieciešami speciālie apstākļi uzglabāšanai, piemēram, noliktava ar temperatūras režīmu no 0 līdz +4°C. Ražošanas procesu izmaksas ietekmē gala produktu cenu un neefektīva energoresursu izmantošana var radīt problēmas produkta pieejamībai patērētājam augstās cenas dēļ. Līdz ar to jāatrod iespēja minimizēt enerģijas patēriņu, optimizējot olu eļļas iegūšanas procesu.

Šobrīd ir zināmas vairākas olu eļļas iegūšanas metodes:

- Ekstrakcija ar oglekļa dioksīdu virskritiskajos apstākļos;
- Ekstrakcija ar augu eļļām;
- Ekstrakcija ar organiskajiem šķīdinātājiem.

Oglekļa dioksīda ekstrakcija virskritiskos apstākļos

Ja gāzi saspiež līdz kritiskajam spiedienam un silda virs tās kritiskās temperatūras, iegūtais šķidrums kļūst par lielisku šķīdinātāju. Šķidrumam, kas iegūts virskritiskos apstākļos, būs tāds blīvums, kas līdzīgs šķidrumam, un tam arī piemīt viskozitāte, ko var salīdzināt ar gāzes viskozitāti. Tādējādi šķidrums daudz vieglāk iespiedīsies pārtikas produktā un nodrošinās labas šķīdinātāja īpašības. Salīdzinot vairākas gāzes vai šķidrumus, oglekļa dioksīdam, iespējams, ir vislabākais potenciāls, lai to izmantotu pārtikas sistēmā. Oglekļa dioksīdam virskritiskā temperatūra ir +31ºC un virskritiskais spiediens ir 73 atm, kas ir īpaši piemērots izmantošanai pārtikas sistēmās.

Oglekļa dioksīda ekstrakcija virskritiskos apstākļos ir pētīta lai to izmantotu pārtikas nozarē. Pārtikas nozarē šo procesu izmanto, lai ekstrahētu kofeīnu no kafijas vai ekstrahētu aromātveidojošos savienojumus pārtikas produktos. Ir izpētīti vairāki pārtikas produkti, kuriem var piemērot virskritisko apstākļu tehnoloģiju: sojas pupu eļļas ekstrakcija lecitīna ekstrakcija no sojas eļļas, holesterīna ekstrakcija no piena taukiem (Bradley Jr, 1991), lipīdu un holesterīna ekstrakcija no zivju muskuļaudiem (Hardardottir, Kinsella, 1988) un lipīdu un holesterīnu ekstrakcija no žāvētas liellopa vai cāļa gaļas (Wehling *et al.*, 1992).

Froning *et al.* (1990) izpētīja holesterīna un lipīdu ekstrakciju no sausa olas dzeltenuma ar oglekļa dioksīdu virskritiskos apstākļos, izmantojot vairākas temperatūras un spiediena kombinācijas. Ekstrahējot 306 atm spiedienā pie +45ºC vai 374 atm spiedienā +55ºC ekstrahēja aptuveni 2/3 holesterīna un 35% lipīdu no olu dzeltenuma pulvera. Olbaltumvielas un fosfolipīdi sabiezēja ekstrakcijas laikā, bet to funkcionālās īpašības netika ietekmētas.

Šķidra olas dzeltenuma ekstrakcija ar oglekļa dioksīdu virskritiskos apstākļos nav tik veiksmīga. Novak *et al.*, 1991 izmantoja etanolu ekstrakcijā ar oglekļa dioksīdu virskritiskos apstākļos, lai palielinātu šķidra olas dzeltenuma ekstrahēto daudzumu. Bulley *et al.* (1992) novēroja, ka satvērēja un/vai augstas temperatūras izmantošana ekstrakcijā var radīt ievērojamu olbaltumvielu denaturēšanos, kā norādīts diferenciālajā skenēšanas kalorimetrijā. Zeidler *et al.* (1992) pārvērta šķidru olas dzeltenumu ūdens-eļļā emulsijā, pievienojot augu eļļu, un ekstrahēja holesterīnu, izmantojot oglekļa dioksīdu virskritiskos apstākļos. Holesterīna ekstrakcija uzlabojās līdz 70%.

Ekstrakcija ar augu eļļām (Пунегова *et al*., 2002)

Olu eļļas ekstrakciju ar augu vai dzīvnieku taukiem raksturo kā vienkāršu un efektīvu metodi, lai iegūtu eļļu no putnu olu dzeltenumiem maksimāli saglabājot to bioloģisko vērtību.

Metodes pamatā ir:

1) olu eļļu ekstrahēšana no svaiga vai atdzesēta olu dzeltenuma, kuru iepriekš atdala no olu baltuma;
2) rafinētu augu (vēlams saulespuķu) vai dzīvnieku (vēlams ūdeles) tauku izmantošana par ekstrakcijas aģentu attiecībā pret dzeltenumu 1:1 līdz 5:1;
3) rafinētu augu eļļu (vēlams, saulespuķu eļļa) vai dzīvnieku (vēlams ūdeles) tauku, kuriem pievieno alifātiskus spirtus, kas satur no 1 līdz 3 hidroksilgrupām (etilspirts, un/vai glicerīns) daudzumā 0.05-2 tilp.%, izmantošana par ekstrakcijas aģentu.

Ekstrakcijas laiks atkarībā no ekstrakcijas aģenta ilgst 12-36 stundas. Lai no ekstrakta atdalītu olbaltumvielu frakciju, ekstraktu centrifugē 1000 apg. min^{-1} 3-5 minūtes vai iztur 2-4 stundas +4 līdz +10°C temperatūrā. Izkritušās nogulsnes atdala ar jebkuru no zināmām metodēm.

Olu eļļas iznākums veido līdz 96% (palmitīnskābes saturs 0.47%). Ekstrakcijas efektivitāti pārbauda ar gāzes hromatogrāfiju, nosakot palmitīnskābes saturu ekstraktā, kuras saulespuķu eļļā praktiski nav. 100% olu eļļas ekstrakcijas gadījumā palmitoleīnaskābes (C16:1) saturam pēc hromatogrammas jābūt 0.49%.

Olu eļļas frakcijas nosaka pēc fosfolipīdu satura. Noteikts, ka fosfolipīdu saturam iegūtajā olu eļļas paraugā jābūt 29.5%, kas atbilst fosfolipīdu saturam olu dzeltenumā. Atlikušos 66.5% veido triglicerīdi, eļļā šķīstošie vitamīni un citas olu dzeltenuma bioloģiski aktīvās vielas. Iegūtie dati liecina, ka, izmantojot šādu ekstrakcijas aģentu, olu eļļas sastāvs paliek praktiski nemainīgs.

Ekstrakcija ar organiskajiem šķīdinātājiem

Organiskos šķīdinātājus izmanto, lai no pārtikas izejvielām efektīvi ekstrahētu holesterīnu un lipīdus. Piemēram, eļļas ekstrakciju ar heksānu izmanto sojas pupu pārstrādē jau daudzus gadus. Izvēloties organiskos šķīdinātājus, ir jāņem vērā augstas tehnoloģiskās un drošības prasības. Šķīdinātājam ir jāekstrahē cik vien iespējams vairāk lipīdu no izejvielas, tam jābūt ar zemu viršanas temperatūru, lai vieglāk un ekonomiskāk atdalītu to no produkta, un tam jābūt pēc iespējas mazāk toksiskam.

Larsen un Froning (1981) veiktā olu dzeltenuma lipīdu ekstrakcija ar heksānu un izopropanolu bija visnotaļ veiksmīga un sniedz labus rezultātus. Ekstrahētajā olas eļļā bija par 40% mazāk holesterīna nekā tajā, ko atklāja neekstrahētā olas dzeltenumā. Citā pētījumā Warren *et al*. (1988) izmantoja heksānu:izopropanolu (2:1) un hloroformu:metanolu (2:1), lai ekstrahētu lipīdus no sausa olas dzeltenuma. Polārāki šķīdinātāji bija efektīvāki holesterīna un karotinoīda pigmentu ekstrahēšanā. Lai gan pēc ekstrakcijas olas dzeltenumā bija ievērojami mazāk tauku un holesterīna, olbaltumvielas denaturējās, par ko liecināja to zemā šķīdība.

Lipīdu ekstrakcija no sausa olu dzeltenuma atšķiras no šķidra olu dzeltenuma, jo svaigs šķidrs olu dzeltenums satur daudz ūdens un ekstrakcija ar nepolāro šķīdinātāju (heksānu) nav efektīva dažādas polaritātes dēļ. Polārie šķīdinātāji, tādi kā zemākie spirti, denaturē olu dzeltenuma olbaltumvielas, sagraujot ūdeņraža saites un atverot ceļu pie neitrāliem lipīdiem un tad, ekstrakcija ar nepolāriem šķīdinātājiem kļūst iespējama. Bez olbaltumvielu denaturācijas, polārie šķīdinātāji ekstrahēs no olu dzeltenuma arī polārus membrān-saistītus lipīdus. Polāro un nepolāru šķīdinātāju kombinācija ir labs variants lipīdu ekstrakcijai no šķidra olu dzeltenuma. Propan-2-ola un heksāna maisījums var būt labs šķīdinātājs olu eļļas ekstrakcijai no šķidra olu dzeltenuma (Ahn *et al*., 2006).

Olu dzeltenums saturs aptuveni 50% ūdens un lipīdu ekstrakcija ar polāriem šķīdinātājiem ne tikai ekstrahēs polāros lipīdus, bet arī pievienos kādu daļu ūdens ekstraktam.

Pēc olu eļļas ekstrakcijas ar organiskiem šķīdinātājiem tos ir jāatdala no gala produkta. Šķīdinātāju atliekas ekstrahētā eļļā ir svarīgs eļļas kvalitātes parametrs. Visiem šķīdinātājiem,

kurus izmanto pārtikas pārstrādē, nosaka to saturu pārtikas produktos (Directive 2009/32/EC, 2009).

Propan-2-ols ir salīdzinoši maztoksisks šķīdinātājs, kuru izmanto pārtikā (EFSA, 2005). Propan-2-ols ir samērā polārs šķīdinātājs, kas var denaturēt olu dzeltenuma olbaltumvielas un ekstrahēt polāros lipīdus, tajā pat laikā tas ir pietiekoši nepolārs, lai šķīstu nepolārā heksānā. Galvenais propan-2-ola trūkums ir tā augsta viršanas temperatūra (+82.6°C), bet to var pazemināt, izmantojot pazeminātu spiedienu iztvaikošanas procesā.

Heksāns ir visplašāk lietotais šķīdinātājs lipīdu ekstrakcijai pārtikas vajadzībām. To plaši izmanto augu eļļu ražošanā. Salīdzinājumam ar propan-2-olu, heksāns ekstrahē pārsvarā vienkāršos triglicerīdus – neitrālos lipīdus. Heksāna viršanas temperatūra ir +69°C, kas padara to par ļoti ekonomisku šķīdinātāju eļļas ražošanai.

Viens no galvenajiem ekstrakcijas uzdevumiem ir eļļas iznākums. Process, kurā ir nepieciešama pilnīga lipīdu ekstrakcija no parauga – ir kopējo lipīdu noteikšana pārtikas produktos (kvantitatīvā ķīmiskā analīze). Olās kopējo lipīdu satura noteikšanai ar ekstrakcijas metodi izmanto metanola un hloroforma maisījumu (Boselli *et al.*, 2001). Augstā toksiskuma dēļ metanola izmantošana eļļas iegūšanai pārtikai nav droša. Tāpēc labāk metanola vietā izmantot etanolu. Etanols, līdzīgi kā propan-2-ols, ir zemākais spirts, tas denaturēs olu dzeltenuma olbaltumvielas un kā polārs šķīdinātājs ekstrahēs polāros lipīdus.

Hloroformu plaši pielieto bioloģisku materiālu attaukošanā. Lipīdu ekstrakcijas process no audiem, izmantojot metanolu un hloroformu, pirmo reizi tika minēts 1957. gadā (Folch *et al.*, 1957). Tā saucamajā Folča procedūrā šķīdinātāju maisījumam bija nepieciešams pievienot nelielu ūdens daudzumu, bet olu dzeltenumam ūdeni var nepievienot. Metanola un hloroforma maisījumu izmanto kopējo lipīdu noteikšanai pārtikas produktos (Cizkova *et al.*, 2004), tomēr jātzīmē, ka hloroforms ir toksisks un iespējams, ka tas ir pat kancerogēns (WHO, 2004).

Piemērota šķīdinātāja izvēlei olu eļļas ekstrakcijai no šķidra olu dzeltenuma ir svarīga loma kvalitatīvu, ar bioloģiski aktīvām vielām bagātu un drošu gala produktu ieguvē.

Izmantojot organiskos šķīdinātājus olu eļļas ekstrakcijai notiek olu dzeltenuma olbaltumvielu denaturācija. Denaturācijas rezultātā olbaltumvielas zaudē savas funkcionālās īpašības, bet denaturētas olu dzeltenuma olbaltumvielas, pēc šķīdinātāju iztvaicēšanas, var būt izmantojami kā vērtīgs olbaltumvielu avots cilvēku uzturā vai dzīvnieku barībai.

1.5. Olu eļļas kvalitātes rādītāji / *Quality parameters of egg yolk oil*

Peroksīda skaitlis

Lipīdu oksidācijas pakāpi nosaka peroksīda skaitlis. Tas raksturo peroksīdu klātbūtni eļļā, kuri veidojas tauku oksidēšanās rezultātā. Izsakot peroksīda skaitli kā skābekļa miliekvivalentu skaitu uz eļļas kg, tiek raksturota eļļas kvalitāte. FAO, 1999 nosaka, ka peroksīda skaitlis dzīvnieku taukos nedrīkst pārsniegt 10 meq O_2 kg^{-1}.

Faktori, kas ietekmē peroksīda skaitļa palielināšanos, ir augsta uzglabāšanas tempreratūra, gaisma un skābekļa klātbūtne. Eļļas saskarsme ar metāla, piemēram, vara, virsmām var katalizēt oksidēšanās reakciju. Lai samazinātu pārtikas eļļu oksidēšanas ātrumu un pagarinātu eļļas uzglabāšanas laiku, eļļas ir jāuzglabā vēsā un tumšā vietā, traukos, kas izgatavoti no inertiem materiāliem (stikls, polimēru materiāli). Dabīgie antioksidanti arī var ievērojami palēnināt eļļas oksidācijas procesu (Frankel, 1996).

Taukskābju saturs

Augu eļļas un dzīvnieku tauki ir svarīga uztura sastāvdaļa, kas nodrošina vidēji 25% no kopējo uzņemto kaloriju skaita. Ļoti svarīgs ir piesātināto un nepiesātināto taukskābju saturs un to attiecība taukos. Kaut gan augsts piesātināto taukskābju saturs taukos palielina tauku stabilitāti, tajā paša laikā piesātināto taukskābju lietošanai uzturā var būt negatīva ietekme, kas ir saistīta ar zema blīvuma lipoproteīna koncentrācijas palielināšanos asinīs, attīstot sirds

un asinsvadu slimību risku. Nepiesātinātas taukskābjes ir vairāk pakļautas oksidatīvai bojāšanai un, jo lielāka ir taukskābju nepiesātinātības pakāpe, jo lielāka ir oksidatīvā jutība (Zambiazi, Zambiazi, 2000; St.Angelo, 1996; Bradley, Min, 1992;). Tāpēc, lai noteiktu eļļas vai tauku stabilitāti un bioloģisko vērtību, ir nepieciešams zināt to taukskābju saturu. Taukskābju kvalitatīvo un kvantitatīvo sastāvu lipīdos nosaka, izmantojot gāzu hromatogrāfijas metodes.

Ūdens saturs

Augsts ūdens saturs pārtikas taukos un eļļās var negatīvi ietekmēt to kvalitāti (Nogala-Kalucka, Gogolewski, 2000). Ūdens saturu taukos un eļļās var noteikt bez reaģentu un šķīdinātāju izmantošanas, piemēram, ātrai un drošai tā noteikšanai var izmantot analītiskos instrumentus ar halogēna lampu sildītājiem. Tomēr lai izslēgtu tauku un eļļu sadalīšanās reakcijas, ir nepieciešams uzmanīgi izvēlēties sildīšanas temperatūru, jo tauku un eļļu noārdīšanās var ietekmēt rezultātus.

Šķīdinātāju atliekas

Ja ekstrakcijas procesā izmanto organiskos šķīdinātājus, tad šķīdinātāja atliekas var atrasties arī gala produktā. Pārtikas eļļām ir jāatbilst visaugstākajām kvalitātes prasībām, jo tās var izmantot arī svaigā, neapstrādātā veidā. Diemžēl, pilnīgi atdalīt šķīdinātājus no ekstrakta ir ļoti grūti. Turklāt pārtikas eļļa, kas iegūta ar ekstrakcijas metodi, ir daudz lētāka par eļļu, kuru iegūst spiešanas procesā. Līdz ar to liels ekstrahētas eļļas patēriņš var negatīvi ietekmēt cilvēku veselību eļļas esošo organisko šķīdinātāju atlieku dēļ. Pārtikas rūpniecībā ir atļauts izmantot vairākus šķīdinātājus, galvenie no tiem ir heksāns, etanols, acetons, propan-2-ols, bet to saturs gala produktā ir stingri reglamentēts.

Visas pārtikas eļļas, kuras iegūst ar ekstrakcijas metodi, izmantojot organiskus šķīdinātājus, pārbauda, lai pārliecinātos par tajās esošo šķīdinātāju atlieku daudzumu. Šim nolūkam visbiežāk izmanto gāzes hromatogrāfiju kopā ar slēgta trauka metodi ("head space").

1.6. Olu bioloģiskās vērtības paaugstināšana / *Increasment of biological value of eggs*

Vairāku uzturvielu koncentrāciju putnu olās var mainīt. Stadelman, Pratt (1989) pārskatīja vairākus faktorus, tai skaitā barību, kas ietekmē vistas olas uzturvielu sastāvu. Taukos šķīstošo vitamīnu, dažu ūdenī šķīstošo B vitamīnu, joda, fluora un mangāna daudzumi un nepiesātinātās taukskābes reaģē uz pārmaiņām uzturā.

Ir publicēti neskaitāmi ziņojumi, kas parāda pozitīvu saikni starp olu sastāvu un uzturvielām nabadzīgu uzturu vai uzturu, kurā ir pārmērīgi daudz vienas vai vairākas uzturvielas.

Selēna saturs olās

Selēns ir svarīgs mikroelements un nelielās devās tas ir nepieciešams labai cilvēku veselībai. Selēnam ir svarīga loma dažos vielmaiņas procesos, tajā skaitā tiroīdu hormonu vielmaiņā, antioksidatīvas aizsardzības sistēmā un imūnās funkcijas nodrošināšanā. Dzīvajos organismos selēns ir saistīts ar olbaltumvielām, veidojot selēnproteīnus, kas ir svarīgi antioksidatīvie fermenti, jo palīdz novērst brīvo radikāļu izraisīto šūnu bojāšanos. Brīvie radikāļi var veicināt dažādu bīstamu slimību (vēzis, sirds slimības) attīstību (Finley, 2007; Papp *et al*., 2007; Brown, Arthur, 2001; McKanzie *et al*., 1998).

Selēna antioksidatīvās īpašības ir labi zināmas un vistu (*Gallus gallus domesticus*) olas noteikti ir viens no produktiem, ko var veiksmīgi bagātināt ar šo svarīgo mikroelementu. Pateicoties ļoti efektīvai selēna, vitamīnu un polinepiesātināto taukskābju pārejai no barības uz olu, ar selēnu, taukos šķīstošiem vitamīniem un polinepiesātinātām taukskābēm bagātinātas

olas ir vispopulārākais "dizaina" pārtikas produkts (Bennet, Cheng, 2010; Jiakui, Xialong, 2004; Grobas *et al*., 2002; Jiang *et al*., 1994). Bieži ar selēnu bagātinātas olas satur lielu selēna koncentrāciju (Jacob, Miles, 2000).

Organiskā selēna pievienošana dējējvistu barībai sekmē augstāku selēna saturu olās nekā neorganiskā selēna pievienošana barībai (Surai, 2006; Payne *et al*., 2005). Vairākums selēna atrodas olu dzeltenumā (Jiakui, Xialong, 2004; Surai, Dvorska, 2001), bet nav informācijas par selēna saturu olu eļļā, kas ekstrahēta no olām, bagātinātām ar selēnu. Tā kā selēns olās ir saistīts ar olbaltumvielām (selēnoproteīniem), tad, teorētiski, olu dzeltenuma eļļa nevar saturēt selēnu.

Taukskābju saturs olās

Olu dzeltenuma lipīdu taukskābju sastāvu ietekmē lipīdu veids vistas barībā. Pētījumi ir parādījuši, ka kopējais piesātināto taukskābju daudzums, galvenokārt palmitīnskābe un stearīnskābe, nemainās pat pie lielām taukskābju sastāva izmaiņām barībā. Kopējo piesātināto taukskābju koncentrācija dzeltenuma lipīdos bija 37%, ja vistu barībā nebija tauku. Tomēr linolskābes daudzums palielinājās vienlaicīgi ar oleīnskābes samazināšanos, ja barībā pieauga polinepiesātināto taukskābju daudzums (Grobas *et al*., 2001).

Faktu, ka barības lipīdi varētu izmainīt lipīdu sastāvu putniem, jau 1934. gadā parādīja *Cruickshank*. Kopš tā laika ir sasniegts ievērojams progress, izprotot lipoproteīnu vielmaiņu vistām un lipīdu uzkrāšanos olas dzeltenumā (Griffin, 1992), turklāt, barības taukskābju uzkrāšanās dzeltenuma lipīdos ir plaši pētīta (Noble *et al*., 1990). Lielākā uzmanība ir pievērsta omega-3 polinepiesātināto taukskābju satura palielināšanai olās (Simopoulos, 1991).

Dzeltenuma bagātināšana ar omega-3 taukskābēm, izmantojot zivju eļļu vai zivju miltus vistu barībā, tiek ieteikta jau vairākus desmitus gadu, un nesen ir atjaunojusies interese par omega-3 taukskābju ietekmi uz trombu veidošanās novēršanu. Tomēr tas, lai tirdzniecība ar omega-3 bagātinātajām čaumalu olām būtu veiksmīga, ir atkarīgs no olas sastāva stabilitātes, to sensorajām īpašībām un iespējamo veselības ieguvumu izskaidrošanas olu patērētājiem.

Pētnieki pozitīvi ir novērtējuši olas dzeltenuma lipīdu satura bagātināšanu ar omega-3 polinepiesātinātajām taukskābēm (PUFA) – arahidonskābi un cervonskābi, vistu barībai pievienojot zivju eļļu (Hargis, Van Elswyk, 1991; Huang *et al*., 1990), un pārbaudot omega-3 bagātināto olu uzturvērtību cilvēku uzturā (Jiang, Sim, 1992; Oh *et al*., 1991). Lielu interesi izraisīja linsēklu un linsēklu eļļas pievienošana dējējvistu barībai, lai palielinātu omega-3 PUFA koncentrāciju olās, lai iegūtu „dizaina pārtiku" (Cherian, Sim, 1991).

Vistas organismā lielāka daļa tauku asimilējas ar minimālām izmaiņām (Watkins, 1991). Ja vistas barībai pievieno zivju miltus un zivju eļļu, omega-3 polinepiesātinatas taukskābes, kas atrodas šajos produktos, viegli uzsūcas putna lipīdos.

Vistas var samazināt polinepiesātināto taukskābju koncentrāciju olu dzeltenuma lipīdos ar apēsto taukskābju daudzumu un veidu (Watkins, 1991). Vistu aknās ir fermenti, kas pievieno dubultsaites un pagarina fermentu, kas palielina taukskābju ķēdes garumu. Vairumā putnu barības būtiskā taukskābe linolskābe (C18:2) ir lielākā koncentrācijā nekā α-linolēnskābe (C18:3). Šajā gadījumā tiek veidoti lielāki omega-6 polinepiesātināto taukskābju daudzumi salīdzinājumā ar omega-3 daudzumiem. Ja linolēnskābes (C18:3) barības koncentrācija tiek palielināta saistībā ar linolskābi (C18:2), pieaug omega-3 polinepiesātināto taukskābju saturs. Izbarojot omega-3 polinepiesātināto taukskābju avotus cāļiem, pieauga timnodonskābes (C20:5) koncentrācija, bet pazeminājās arahidonskābes (C20:4) koncentrācija olas dzeltenumā (Cherian, Sim, 1991; Hargis *et al*.,1991).

Ievērojami omega-3 polinepiesātināto taukskābju daudzumi uzkrājas to vistu olu dzeltenumā, kurām dod zivju (siļķu) eļļu (Hargis *et al*.,1991); olas dzeltenuma mononepiesātināto taukskābju bagātināšanu panāk, vistām izēdinot olīveļļu (Watkins, Elkin, 1992). Transtaukskābes no hidrogenētām eļļām var uzkrāties olas dzeltenumā, ja šīs taukskābes izēdina vistām (Watkins, 1991). Hidrogenētas eļļas patēriņš tiek ļoti uzmanīgi

pētīts, jo tam ir iespējamas negatīvas sekas uz holesterīna līmeni asinīs cilvēkiem (Mensink, Katan, 1992).

Vitamīnu saturs

Vitamīnu saturs olās ir atkarīgs no vitamīnu satura vistu barībā. Tas īpaši attiecas uz taukos šķīstošiem vitamīniem. Olu lipīdi, kas satur taukos šķīstošos vitamīnus, atrodas tikai olu dzeltenumā. Pēdējo 10 dienu laikā pirms ovulācijas lipīdi adsorbējas un koncentrējas olu dzeltenumā tā pēdējā formēšanas stadijā un, ja taukos šķīstošo vitamīnu saturs barībā pieaug, pieaug to saturs arī olu dzeltenumā (Leeson, Caston, 2003; Grobas *et al*., 2002; Jiang *et al*., 1994). Liela uzmanība tiek veltīta olu bagātināšanai ar A, D un E vitamīniem.

A vitamīns

A vitamīns ir sastopams dzīvnieku audos kā retinols (alkohols), retināls (aldehīds), retīskābe vai arī tās taukskābju ēsteru formā. A vitamīns nav sastopams augos, bet augi satur A vitamīna provitamīnus – karotinoīdus. β-karotīns ir lielākais A provitamīna pārstāvis. Dzīvnieku zarnu gļotādā karotinoīdi pārvēršas dažādās A provitamīna formās.

A vitamīnu saturs olās ievērojami pieaug reaģējot uz to saturu barībā, bet pieaugums ir neproporcionāls A vitamīna saturam barībā. Squires, Naber (1993) palielinot retinil acetāta saturu barībā no 4000 līdz 16000 IU kg^{-1} varēja paaugstināt A vitamīnu saturu olās no 10.3 līdz 24.0 IU g^{-1}, attiecīgi. Jiang *et al*. (1994), barojot dējējvistas ar barību, kurai pievienoja 200 mg kg^{-1} β-karotīna, novēroja retinola satura pieaugumu olās, salīdzinājumā pret kontroles barību (13.93 µg g^{-1}; 46.43 IU g^{-1} pret 11.62 µg g^{-1}; 38.37 IU g^{-1} dzeltenumā).

Naber (1993) klasificēja vitamīnus saskaņā ar to potenciālu nodošanas efektivitāti no vistu barības uz olu, un sagrupēja vitamīnus četrās kategorijās (zema, vidēja, augsta, ļoti augsta) ar efektivitātes līmeni no 5 līdz 80%. A vitamīnu klasificēja kategorijā "ļoti augsta" ar nodošanas efektivitāti no 60 līdz 80%. Daži pētījumi parādīja, ka liela A vitamīna uzņemšana ar barību var negatīvi ietekmēt citu taukos šķīstošu vitamīnu pāreju olās, īpaši E vitamīna. E vitamīna saturs olu dzeltenumā ievērojami samazinājās, pieaugot A vitamīna vai β-karotīna saturam barībā (Mori *et al*., 2003; Grobas *et al*., 2002; Jiang *et al*., 1994).

D vitamīns

Saskaņā ar Mattila *et al*. (2004, 2003, 1999) holekalciferola saturs olās ir proporcionāls pievienotajam holekalciferola daudzumam vistu barībā. Kad holekalciferola saturu barībā palielināja no standarta (62.4 µg; 2,496 IU kg^{-1} barības) līdz aptuveni 3.5 reizes lielākai koncentrācijai (221.6 µg; 8,649 IU kg^{-1} barības), holekalciferola saturs olās palielinājās aptuveni 7 reizes un 25OHD saturs aptuveni 1.5 reizes. Šie paši autori ir strādājuši pie D vitamīna deponēšanas modeļa (Mattila *et al*. 2003) un novērojuši, ka 8 līdz 13 dienu ilga vistu barošana ar augstu holekalciferola satura barību (11200 un 12000 IU kg^{-1} barības) ir pietiekoša, lai sasniegtu maksimālu holekalciferola saturu olās (30 µg 100 g^{-1} olu dzeltenuma). Pēc 16 nedēļu ilgas barošanas holekalciferola saturs olās pakāpeniski samazinājās līdz 22 µg 100 g^{-1} dzeltenuma. Turklāt, pētījuma rezultāti liecina, ka lielas D vitamīna devas (>15,000 IU kg^{-1} barības) neizraisīja vistu saindēšanos un neietekmēja olu sensorās vai funkcionālās īpašības, taukskābju saturu, vai arī olu čaumalas stiprumu (Mattila *et al*., 2004, 2003).

E vitamīns

E vitamīna pievienošanai vistu barībai ir vairāki iemesli. Pirmkārt, tas kompensē šī vitamīna trūkumu vistu uzturā, otrkārt, tas uzlabo oksidēšanās stabilitāti olu produktos, un treškārt, tas ir E vitamīna avots cilvēku uzturā. Rekomendējamā E vitamīna dienas deva cilvēkam ir 12 mg dienā (Scientific Committee on Food, 2003), bet, pieaugot polinepiesātināto taukskābju saturam uzturā, E vitamīna nepieciešamība pieaug par 0.4-0.6 mg g^{-1} PUFA (Dutta-Roy *et al*., 1994; Muggli, 1994). Daudzi pētījumi (Pita *et al*.,

2004; Grobas *et al*., 2002; Chen *et al*., 1998; Qi, Sim, 1998; Jiang *et al*., 1994; Frigg *et al*., 1992) ir veikti pamatojoties uz to, ka pieaug E vitamīna nepieciešamība cilvēka uzturā. Tā kā ir novērota lineāra sakarība starp E vitamīna saturu vistu barībā un olās, veiksmīgi pētījumi iznāk (Galobart *et al*., 2001a) bagātinot vistu olas ar α-tokoferolu, ko panāk, pievienojot vistu barībai DL-α-tokoferil acetātu. Pētījumos novērots, ka α-tokoferola saturs olās pieauga, pieaugot α-tokoferola devai vistu barībā līdz 20 g kg^{-1} barības (Flachowsky *et al*., 2002; Grobas *et al*., 2002; Surai *et al*., 1995; Frigg *et al*., 1992). α-tokoferola pārejas efektivitāte samazinājās, palielinoties α-tokoferola saturam barībā. Galobart *et al*., 2001b savā pētījumā parādīja, ka α-tokoferola pāreja no barības uz olu samazinājas no 41.8%, kad barībai pievienoja 50 mg kg^{-1} α-tokoferola, līdz 26%, kad barībai pievienoja 200 mg kg^{-1} α-tokoferola. Tas nozīmē, ka uz katriem 100 mg kg^{-1} α-tokoferola satura palielināšanās barībā, pārejas efektivitāte samazinājās par aptuveni 8%. Parejas efektivitāte, ko aprēķināja Naber, 1993, veidoja no 16 līdz 39%, kur α-tokoferola saturs barībā bija no 20 līdz 30 mg kg^{-1}. Līdzīgu novērojumu izdarīja arī Grobas *et al*., 2002, salīdzinot vistu barību ar α-tokoferolu saturu no 20 līdz 1280 mg kg^{-1}, α-tokoferola parejas efektivitāte samazinājas no 26.2 līdz 16.2%.

Vēl viens svarīgs aspekts ir E vitamīna deponēšanas modelis. Ļoti nozīmīgus pētījumus šajā virzienā veica Galobart *et al*., 2002, Meluzzi *et al*., 2000, 1999 un Surai *et al*., 1995, kas ir pētījuši α-tokoferola attīstību ilgā laika periodā un konstatējuši, ka ir nepieciešams 2-3 nedēļu ilgs laiks, lai sasniegtu maksimālu α-tokoferola līmeni olās. Pēc maksimālā līmeņa sasniegšanas, α-tokoferola koncentrācja olās paliek nemainīga 2 nedēļu laikā un tad koncentrācija samazinās aptuveni par 50% nākamo 4 nedēļu laikā un pēc tam α-tokoferola saturs olās paliek nemainīgs pie nemainīga barības sastāva.

Tajā paša laikā dažādu pētnieku ziņojumi par E vitamīna pāreju no barības uz olu ļoti atšķiras, piemēram, lietojot 200 mg kg^{-1} α-tokoferola piedevu barībai tā koncentrācija olās veido no 119 (Qi, Sim, 1998) līdz 1200 µg g^{-1} olu dzeltenuma (Surai *et al*., 1995). Šīs svārstības ir saistītas ar dažādiem faktoriem, no kuriem būtiskākie bija autoru izmantotās analītiskās metodēs, kā arī vistu barība (Huopalahti *et al*., 2007). Papildus tam, rezultātu starpību varēja ietekmēt arī α-tokoferola saturs standarta barībā, antioksidantu klātbūtne, mijiedarbība ar citām uzturvielām absorbcijas laikā, piemēram, A vitamīnu koncentrācija barībā (Grobas *et al*., 2002), kā arī tauku veids un saturs barībā (Huopalahti *et al*., 2007). Attiecībā uz tauku veidu, dažādi autori ir atklājuši, ka α-tokoferola deponēšana olās ir bijusi mazāka, ja barības sastāvā ir bijis lielāks nepiesātinātu tauku saturs (Galobart *et al*., 2001b; Meluzzi *et al*., 2000; Frigg *et al*., 1992). Lielāks polinepiesātinātu taukskābju saturs barībā ir sekmējis augstāku oksidatīvu uzņemību dzīvnieku kermenī, kas attiecīgi veicinājis lielāku α-tokoferola izmantošanu panākot α-tokoferola satura samazinājumu olu dzeltenumā (Huopalahti *et al*., 2007).

Vēl viens svarīgs faktors, kas sekmē α-tokoferola samazinājumu olās, ir olu uzglabāšana un pārstrāde. Dažos pētījumos ir norādīts, ka E vitamīna saturs olās to uzglabāšanas laikā gandrīz nemainās (Meluzzi *et al*., 1999; Gebert *et al*., 1998; Cherian *et al*., 1996b) izņemot olās, kas tiek uzglabātas augstā temperatūrā (Franchini *et al*., 2002), bet E vitamīna saturs strauji samazinās vārītās, ceptās vai kaltētās olās (Cortinas *et al*., 2003; Galobart *et al*., 2001c; Murcia *et al*., 1999; Wahle *et al*., 1993).

Karotinoīdi

Faktori, kas ietekmē dzeltenuma pigmentācijas pakāpi, ir ksantofilu ķīmiskā struktūra, antioksidantu klātbūtne un tauku saturs barībā. Ģenētiskā spēja absorbēt un uzkrāt ksantofilus dzeltenumā atšķiras arī vienas šķirnes vistu vidū (Hencken, 1992).

Katra augu pigmenta uzkrāšanās līmenis ir atkarīgs no hidroksi vai keto grupu skaita molekulā. Pamatā dihidroksiksantofili (luteīns un zeaksantīns) un diketoksantofili (piemēram, kantaksantīns) nokļūst dzeltenumā efektīvāk nekā monohidroksi ksantofili (piemēram, kriptoksantīns) un monoketo ksantofili. Tika noteikta šāda ksantofila pārnešanas efektivitāte uz dzeltenumu, kad barību ar mazu karotinoīdu daudzumu papildināja ar attīrītiem

karotinoīdiem: zeaksantīnam – 24.35%; luteīnam – 11.45%; kriptoksantīnam – 0% un karotīnam – 0%. Tomēr kriptoksantīna uzkrāšanās olas dzeltenumā tika novērota, ja tika dota barība, kurā bija liels dzeltenās kukurūzas daudzums. Luteīns un zeaksantīns uzkrājas dzeltenumā lielākā apjomā nekā kriptoksantīns un karotīns. Kad deva attīrītu kriptoksantīnu un zeaksantīnu vistām, kurām barībā nebija karotinoīdu, ievērojams daudzums šo ksantofilu bija asinīs, aknās un olnīcā. Dzeltenā pigmenta, piemēram, luteīna saturs olu dzeltenumā korelē ar to saturu vistu barībā. Ļoti maz A provitamīna karotinoīdu nonāk dzeltenumā no barības, jo to efektīvi pārvērš A vitamīnā (Stadelman, Cotterill, 1995).

Surai *et al*., 1998 pētījumos ir atklāts, ka antioksidantu pievienošana putnu barībai veicina dzeltenuma pigmentāciju. Liels A vitamīna saturs barībā izraisīja dzeltenuma dzeltenās krāsas samazināšanos. Iespējams, ka A vitamīns un ksantofils cīnās par absorbciju zarnu gļotādā apstākļos, kad ir maz tauku.

Ļoti pigmentēti dzeltenumi ir nepieciešami, lai saražotu konditorejas izstrādājumus, makaronus un majonēzi. Sintētiskie sarkanie karotinoīdi, β-apo8'-karotenāls un kantaksantīns ir pētīti kā olas dzeltenuma pigmentētāji. Kad katru no tiem atsevišķi izmanto kā pigmentētāju, dzeltenumi ir oranži vai oranži sarkani. Pareizi sajaucot dzeltenos un sarkanos ksantofilus barībā, var iegūt pievilcīgi dzeltenu dzeltenumu.

1.7. Olu eļļas izmantošanas iespējas / *Application possibilities of egg yolk oil*

Pateicoties vistu olu bioloģiskai vērtībai un funkcionālājām īpašībām, tās plaši izmanto dažādu pārtikas produktu gatavošanā. Olas ir bagātas ar olbaltumvielām, taukiem, minerālvielām un citām vielām. Turklāt visas šīs vielas ir ļoti labi sabalansētas un atbilst veselīga uztura vajadzībām (Egg nutritional council, 2014).

Lielākā vistu olu uzturvērtība ir saistīta ar olbaltumvielām, kuru biopieejamība ir 100% un tās satur visas neaizvietojamās aminoskābes (Layman, Rodriguez, 2009). Tādi svarīgi bioloģiski aktīvie savienojumi kā polinepiesātinātās taukskābes, taukos šķīstošie vitamīni, fosfolipīdi un steroli ir koncentrēti olas dzeltenumā (Huopalahti *et al*., 2007).

Svarīgākās vistu olu funkcionālās īpašības ir putošanās, emuļģēšana un biezināšana (Huopalahti *et al*., 2007; Alleoni, 2006; Stadelman, 1999). Papildus funkcionālām īpašībām un uzturvērtībai, olas dod pārtikas produktiem specifisku olu garšu, kas piedod papildus vērtību tādiem produktiem, kā majonēze, dažādas mērces, olu nūdeles, konditorejas izstrādājumi un citi produkti.

Daudziem cilvēkiem, it īpaši bērniem, olu olbaltumvielas ir alergēns (Tan, Joshi, 2014). Olu aizvietošanai pārtikas produktos bieži izmanto aromatizētājus un biezinātājus, bet aromatizētāji piešķir produktiem tikai garšu un smaržu un nenodrošina produktus ar olu uzturvielām un bioloģiski aktīviem savienojumiem. Šinī gadījumā olu eļļa var būt laba alternatīva, kas sniegs produktam gan olas garšu, gan uzturvērtību.

Olu eļļa koncentrētā veidā satur A un E vitamīnus, polinepiesātinātas taukskābes, karotinoīdus, kā arī D vitamīnu un sterolus, kuri ir sastopami tikai dzīvnieku izcelsmes produktos (Schmid, Walther, 2013).

Majonēze un mērces, konditorejas izstrādājumi un deserti, makaronu izstrādājumi un pat pārtika zīdaiņiem ir potenciāli produkti, kur olu eļļu var veiksmīgi izmantot. Savā pētījumā mēs izskatījām olu eļļas izmantošanas iespējas majonēzes pagatavošanā un olu eļļas bioloģiski aktīvo vielu atbilstību zīdaiņu vajadzībām.

Majonēze

Ļoti labs piemērs olu eļļas izmantošanai var būt majonēze. Majonēze ir eļļa-ūdenī emulsija, kas satur no 60 līdz 80% tauku (atkarībā no valsts kur pārdod majonēzi). Bez olu produktiem majonēze satur arī sinepes, etiķi, sāli, cukuru un biezinātājus. Majonēzi izmanto daudzu ēdienu pagatavošanā un to patērē dažāda vecuma cilvēki gan bērni, gan seniori.

Majonēzes pagatavošanā ir svarīgas olas funkcionālās īpašības, garša un uzturvērtība. Olas funkcionālās īpašības nodrošina olu olbaltumvielas un fosfolipīdi (Alleoni, 2006; Schneider, 2001; Stadelman, 1999). Olu eļļa nesatur olbaltumvielas, kuras piedalās majonēzes struktūras veidošanā, tāpēc, lai tās kompensētu majonēzes pagatavošanā būs nepieciešams papildus izmantot arī citas sastāvdaļas (Herald *et al*., 2009).

Garša, konsistence, ārējais izskats un krēmīgums ir ļoti svarīgas majonēzes sensorās īpašības, kas nosaka patērētāju izvēli (Karas *et al*., 2002). Majonēzes bagātināšana ar olu eļļas bioloģiski aktīvajām vielām var pozitīvi ietekmēt patērētāju izvēli.

Pārtika zīdaiņiem

Nav šaubu, ka mātes piens ir labākais uzturs zīdainim. Mātes piens satur visas nepieciešamās uzturvielas un ir svarīgs normālai mazuļa attīstībai. Bet ne visas mātes var vai grib barot bērnu ar krūti, tādēļ ir izveidoti adaptētie piena maisījumi, lai nodrošinātu bērnu ar visām nepieciešamām uzturvielām.

Visi adaptētie piena maisījumi mēģina kopēt mātes pienu tā bioloģiskās vērtības un uzturvērtības ziņā. Tādas bioloģiski aktīvas vielas kā polinepiesātinātas taukskābes, A, D un E vitamīni, luteīns, fosfolipīdi un holesterīns ir atrodami lipīdos. Tāpēc ir svarīgi izvēlēties atbilstošus lipīdus piena maisījumu pagatavošanai.

Vidējais tauku saturs mātes pienā ir 4-5%. Mātes piena tauki nodrošina 50% no kopējā kaloriju skaita, ko saņem zīdainis (Sala-Vila *et al*., 2005). Ļoti svarīgs ir mātes piena tauku taukskābju, it īpaši polinepiesātināto tauskābju, saturs. Polinepiesātinātās taukskābes veido vienu piekto daļu no visām mātes piena tauku taukskābēm, no kurām vissvarīgākās ir arahidonskābe (ARA) un cervonskābe (DHA) (Lassek, Gaulin, 2014).

A, D un E vitamīni ir ļoti nepieciešami zīdaiņu attīstībai. Šos svarīgos vitamīnus ir jānodrošana ar pārtiku, jo cilvēka organisms tos nevar sintezēt. Mātes piens ir bagāts ar A vitamīnu, īpaši pirmajās dienās pēc dzemdībām, kas var būt saistīts ar to, ka bērni piedzimst ar ļoti mazu A vitamīna rezervi. E vitamīns ir ārkārtīgi svarīgs bērna agrīnajās dzīves stadijās. E vitamīns ir spēcīgs antioksidants, kas pasargā audus no daudziem kaitīgiem faktoriem un stimulē zīdaiņa imūnsistēmu. α-tokoferols ir visaktīvākā E vitamīna forma mātes pienā, bet mātes piens satur arī β-, γ- and δ-tokoferolus un γ-tokotrineolu (Lima *et al*., 2014). D vitamīns palīdz absorbēt kalciju cilvēku ķermenī un ir nepieciešams zīdaiņu kaulu attīstībai. D vitamīns ir svarīgs muskuļu funkcijai un imūnsistēmai, tā trūkums var izraisīt rahītu (Lawrence, Lawrence, 2016).

Luteīns ir svarīgākais karotinoīds mātes pienā. Luteīns un tā izomēri atbild par smadzeņu attīstību un ir atrodami tīklenē (Granado et al., 2003). Līdzīgi kā daudzu citu bioloģiski aktīvu vielu, arī luteīna saturs mātes pienā ir atkarīgs no tā satura mātes uzturā (Jewell *et al*., 2004).

Fosfolipīdi nodrošina organismu ne tikai ar arahidonskābi un cervonskābi, bet arī ar holīnu, kas ir būtisks savienojums zīdaiņu smadzeņu attīstībā (Schneider, 2010). Holesterīns ir nepieciešams zīdaiņa nervu sistēmas un smadzeņu attīstībai un tāpēc tas ir viens no galvenajiem zīdaiņu uztura komponentiem. Turklāt, bērniem, kas baroti ar mātes pienu ar augstu holesterīna saturu, novērota normāla šī savienojuma vielmaiņa vēlākajā dzīvē (Owen *et al*., 2008).

Olu dzeltenuma lipīdi var nodrošināt lielāko daļu no bioloģiski aktīvajām vielām, kas ir nepieciešamas zīdainim, bet olu produktu izmantošana bērnu barošanai izraisa bažas par to alerģiskumu. Olu eļļa nesatur olu olbaltumvielas un līdz ar to alerģijas risks ir samazināts līdz minimumam.

1.8. Problemātikas apskata kopsavilkums

Vistu olas ir viens no visplašāk pētītajiem pārtikas objektiem un to pētījumus var atrast jau 20. gadsimta sākumā. Tik plašu zinātnieku interesi noteikti izraisīja olu ķīmiskais sastāvs un to uzturvērtība. Olas ir produkts, kas bagāts ne tikai ar vērtīgām olbaltumvielām un lipīdiem, bet arī ar bioloģiski aktīvām vielām, tādām, kā vitamīni, karotinoīdi un polinepiesātinātās taukskābes. Ja olu olbaltumvielu pētījumi bija un vēl aizvien ir aktuāli, tad olu lipīdi aktīvi tika pētīti pagājušā gadsimta 70.-80. Mainoties situācijai olu ražošanas nozarē, ir nepieciešams atrast jaunus olu dzeltenuma realizācijas veidus, olu dzeltenuma frakcionēšana dažādos vērtīgos produktos kļūst arvien aktuālāka.

Tika veikti vairāki pētījumi par kvalitatīvu olu lipīdu ekstrakciju no olu dzeltenuma, bet līdz šim brīdim nevienai no metodēm nav atrasts plašs rūpniecisks pielietojums.

Atrodot veidu kvalitatīvai un ekonomiskai olu eļļas ekstrakcijai, to būs iespējams pielietot cilvēku uzturā kā produktu ar augstu bioloģiski aktīvu vielu saturu.

Problems review summary

Hen eggs have been one of the most used objects for the research in all times. The first researches about hen eggs can be found in the begining of the 20th century. Definetly such high interest about hen eggs was promoted by its chemical content and nutritional value. Hen eggs are rich not only in proteins and lipids, but also it is a source of bioactive compounds such fat-soluble vitamins, carotenoids and polyunsaturated fatty acids. Egg protein researches are still actual, but egg yolk lipids were actively studied in the beginning of the 70th-80th of last century. But during last few years, when situation in egg marked have been changed increasing consumption of dry egg albumen, egg production companies needs to find new ways how to sale egg yolks. In this case fractionation of egg yolk to separate very valuable products can be the solution.

Several egg yolk oil extraction methods can be found in previous researches, but not one of them found the large scale production application.

If we can find the qualitative and economical way of extraction of egg yolk oil, it can be used as a good source of bioactive compounds for human diet.

2. MATERIĀLI UN METODES / *MATERIALS AND METHODS*

2.1. Pētījuma laiks un vieta / *Time and place of the research*

Eksperimenti veikti laika posmā no 2012. gada līdz 2016. gadam šādās institūcijās:

1. Pasaules putnkopības zinātniskās asociācijas Latvijas biedrības zinātniskajā laboratorijā (olu eļļas ekstrakcija, olu eļļas attīrīšana, taukskābes, taukos šķīstošie vitamīni, fosfolipīdi, holesterīns, karotinoīdi, šķīdinātāju atliekas).
2. LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Ķīmijas katedras dabas vielu ķīmijas zinātniskajā laboratorijā (olu eļļas ekstrakcija).
3. LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas tehnoloģijas katedras Iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijā (majonēzes ar olu eļļas piedevu krāsas analīze), Pārtikas produktu sensorās novērtēšanas laboratorijā (majonēzes sensorā vērtēšana).
4. AS Balticovo mikrobioloģijas laboratorijā (baktēriju kopskaits, enterobakterijas, *Salmonella spp.*, *S. aureus*, raugi un pelējumi).
5. AS Balticovo ķīmijas laboratorijā (mitrums, peroksīda skaitlis, olbaltumvielas, lipīdi, eļļas iznākums, pH, viskozitāte).
6. Eurofins, WEJ Contaminants GmbH laboratorijā Vācijā (selēns, E vitamīns).

2.2. Pētījuma objekta raksturojums / *Description of the object of the research*

2.2.1. Dējējvistas / *Laying hens*

Olas pētījumam ieguva no *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistām (2.1. attēls). Vairākas dējējvistu grupas turētas izmantojot trīs turēšanas metodes: brīvā turēšana (SIA Straupes ligzda, 'Strautiņi', Straupes pagasts, Pārgaujas novads, Latvija), kūtī (slēgtā alternatīvā sistēma) un modernizētajos sprostos jeb būros (AS Balticovo, Iecava, Latvija) saskaņā ar 2009. gada 7. jūlija Ministru kabineta noteikumiem Nr. 744 "Noteikumi par dējējvistu labturības prasībām un dējējvistu turēšanas uzņēmumu reģistrācijas kārtību". Olas ievāca no dažādām dējējvistu grupām (katra grupa ir viena kūts ar 5000 līdz 130 000 vistām) laika periodā no 2012. līdz 2015. gadam. Vistu vecums olu ievākšanas laikā bija no 30 līdz 60 nedēļām.

2.1. att. ***Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvista /**
Fig. 2.1. ***Lohman Brown Classic laying hen*** (Lohmann Tierzuht GmbH, 2005)

2.2.2. Dējējvistu turēšanas metodes / *Housing methods of laying hens*

Turēšana sprostos vai būros

Būri, vai arī bateriju būri, nozīmē, ka atsevišķie būri ir savienoti kopā kolonnās un rindās, veidojot vairākus līmeņus, kas atļauj novietot lielu skaitu ar būriem mazā telpas platībā. Dējējvistas mazās grupās (< 20 vistas) ir ieslēgtas būros. Būru iekšpusē ir pieejams dējējvistu uzturēšanai nepieciešamais aprīkojums: dzirdināšanas sistēma, barošanas sistēma, ligzda, laktas, vieta nagu un knābja kasīšanai. Katram būru bateriju līmenim ir olu konveijers un mēslu konveijers. Dējējvistu novietnes ir aprīkotas ar ventilācijas un gaismas sistēmām. Lai nodrošinātu dējējvistu labturību, ir stingri kontrolēti vides parametri: gaisa temperatūra, ogļskābās gāzes un amonjaka koncentrācija un citi. Katra dējējvista ir nodrošināta ar platību, kas nav mazāka par 750 cm^2, no tiem 600 cm^2 ir brīvi izmantojama platība. Dējējvistu turēšana būros ir ekonomiski visizdevīgākā olu ražošanas metode, kā arī rada vismazāk problēmu, kas var būt saistītas ar dējējvistām (BC SPCA).

Turēšana kūtī (slēgtā alternatīvā sistēma)

Turēšana kūtī nozīmē, ka dējējvistas var brīvi pārvietoties kūts iekšpusē. Kūts, vai dējējvistu novietne, var būt aprīkota ar tādiem pašiem būriem kā būru sistēmās un būt aprīkotas ar automātiskām barošanas un dzirdināšanas sistēmām, ligzdām, olu savākšanas lentām-konveijeriem, mēslu konveijeriem. Kūtī ir nodrošināts apgaismojums un ventilācija (BC SPCA). Bet dēļ palielinātas putnu krišanas, šī olu ražošanas metode ir mazāk izdevīgāka par būru sistēmām.

Brīvas turēšanas metode

Brīvās turēšanas metode nozīmē, ka putniem ir iespēja staigāt ārā dienas laikā. Parasti pastaigu laukums ir lauks blakus kūtij, kur dējējvistas var brīvi pārvietoties lielos baros, elpot svaigu gaisu un saņemt pieeju zaļbarībai. Brīvās turēšanas metode prasa lielus ganības laukumus, olu savākšanas metode parasti nav automatizēta, kā arī putnu turēšana lielos baros sekmē lielākas putnu veselības problēmas un pastiprinātu krišanu (BC SPCA). Brīvas turēšanas metode ir visneefektīvākā olu ražošanas metode, līdz ar to ir arī visdārgākā. Brīvās turēšanas olu cena var būt divreiz augstāka par olām, kas iegūtas būru sistēmās.

2.2.3. Dējējvistu barība / *Laying hen feed*

Pētījuma laikā kūtī, modernizētajos sprostos (būros) turētas vistas un viena brīvībā turēto dējējvistu grupa tika barotas ar kombinētu dējējvistu barību. Barošanai izmantoja divas barības receptūras: 1. fāze – vistu vecumam no 30. līdz 45. nedēļai un 2. fāze – vistu vecumam no 45. līdz 60. nedēļai. Dējējvistu barības sastāvs un aprēķinātais uzturvielu saturs ir apkopots 2.1. tabulā. Vistām bija dota *adlibitum* piekļuve barībai (115-120 g barības uz vienu vistu dienā) un ūdenim. Vistu dzirdināšanai izmantoja nipeļa tipa dzirdnes.

Lai noteiktu organiskā selēna ietekmi uz olu eļļas ķīmisko sastāvu, paralēli standarta dējējvistu grupām vēl viena grupa saņēma barību ar organiskā selēna piedevu. Organiskais selēns tika pievienots barībai ar premiksu, kas pēc sastāva bija vienāds ar standarta premiksu, ko izmantoja citām grupām, bet nātrija selenīta vietā izmantots ar selēnu bagātināts raugs. Aprēķinātais selēna saturs premiksā ir 60 mg kg^{-1}.

Lai noteiktu dējējvistu barošanas ietekmi uz olu eļļas bioloģiski aktīvo uzturvielu saturu vienai būros turētai dējējvistu grupai ar ūdeni deva vitamīnu preparātu „ADE Solution" (Jaapharm, Kanada), kas 1 litrā satur 50000000 IU A vitamīna, 5000000 IU D_3 vitamīna un 50000 mg E vitamīna. Vitamīnu preparāta deva ir 5 ml uz 90 L ūdens, līdz ar to aprēķinātais vitamīnu saturs 1 litra ūdenī sastādīja: 2778 IU A vitamīna, 277 IU D_3 vitamīna un 28 mg E vitamīna. Olas eksperimentiem no šis dējējvistu grupas sāka ievākt pēc 2 nedēļām no

vitamīnu preparāta pielietošanas sākuma. Šai pašai dējējvistu grupai standarta barības receptūrā rapšu eļļu aizvietoja ar sojas eļļu.

2.1. tabula / *Table 2.1*

Dējējvistu barības sastāvs un uzturvielu saturs[1] /
Feed composition and nutrient content of basal hen diet[1]

Sastāvs / *Ingredients*	**1.fāze / *1st phase*, %**	**2.fāze / *2nd phase*, %**
Kvieši / *Wheat*	51.51	55.25
Mieži / *Barley*	15.00	15.00
Rapša rauši / *Rapeseed cake*	12.00	12.00
Sojas spraukumi / *Soybean meal*	9.85	6.25
Rapšu eļļa / *Rapeseed oil*	1.00	0.75
Monokalcija fosfāts / *Monocalcium phosphate*	0.74	0.58
Nātrija hlorīds / *Sodium chloride*	0.24	0.22
Kaļķakmens / *Limestone*	8.76	9.11
DL-metionīns / *DL-Methionine*	0.25	0.14
Lizīns / *Lysin*	0.15	0.20
Premikss[2] / *Premix[2]*	0.50	0.50
Uzturvielas / *Nutrients*	**Aprēķināts / *Calculated***	
Enerģija / *Energy*, MJ kg^{-1}	11.0	11.0
Kopproteīns / *Crude protein*, %	17.0	15.8
Ciete / *Starch*, g	379.3	400.1
Kokšķiedra / *Crude fiber*, %	4.0	4.0
Koptauki / *Crude fat*, %	4.6	4.4
A vitamīns / *Vitamin A*, IU	10000	10000
D_3 vitamīns / *Vitamin D_3*, IU	2500	2500
E vitamīns / *Vitamin E*, mg kg^{-1}	25	25
α-tokoferols / *α-tocopherol*, mg kg^{-1}	22.8	22.8
Kalcijs / *Calcium*, g	37.3	38.3
Fosfors / *Phosphorous*, g	5.5	5.0
Selēns / *Selenium*, mg kg^{-1}	0.2	0.2
Organiskais selēns[3] / *Organic selenium[3]*, mg kg^{-1}	0.3	0.3

[1] – kūtī (alternatīvā sistēma) un modernizētajos sprostos tūrētām dējējvistām / *barn and enriched cages*

[2] – uz 1 kg premiksa: A vitamīns - 2000200 IU, D_3 vitamīns - 500000 IU, E vitamīns - 5000 IU, B_1 vitamīns - 200 mg, B_2 vitamīns - 1000 mg, B_6 vitamīns - 800 mg, B_{12} vitamīns - 3 mg, pantotēnskābe - 2000 mg, niacīns - 6000 mg, biotīns - 5 mg, folskābe - 100 mg, K vitamīns - 600 mg, holīnhlorīds - 30000 mg, dzelzs (dzelzs sulfāts) - 6600 mg, varš (vara sulfāts) - 1800 mg, mangāns (mangāna oksīds) - 20000 mg, cinks (cinka oksīds) - 12000 mg, jods (kalcija jodāts) - 180 mg, selēns (nātrija selenīts) - 40 mg, kobalts (kobalta karbonāts) - 20 mg / *1 kg of premix contains: vitamin A - 2000200 IU, vitamin D_3 - 500000 IU, vitamin E - 5000 IU, vitamin B_1- 200 mg, vitamin B_2 - 1000 mg, vitamin B_6 - 800 mg, vitamin B_{12} - 3 mg, pantothenic acid - 2000 mg, niacin - 6000 mg, biotin - 5 mg, folic acid - 100 mg, vitamin K - 600 mg, cholinechloride - 30000 mg, iron (ferro-II-sulphate) - 6600 mg, copper (copper-II-sulphate) - 1800 mg, manganese (manganese oxide) - 20000 mg, zinc (zinc oxide) - 12000 mg, iodine (calcium iodate) - 180 mg, selenium (sodium selenite) - 40 mg, cobalt (cobalt-II-sulphate) - 20 mg.*

[3] – ar selēnu bagātināts raugs/ *selenium yeast*

Otrā brīvībā turēto dējējvistu grupa tika barota ar barību, kas bija pieejama atkarībā no gada laika un iespējām attiecīgajā zemnieku saimniecībā (graudi, dārzeņi, zāle un cits). Barības sastāvs bija ļoti mainīgs, līdz ar to noteikt uzturvielu saturu tajā nebija lietderīgi.

2.2.4. Olas un olu dzeltenums / *Eggs and egg yolk oil*

Svaigas nešķirotas olas tiek ievāktas no dējējvistu novietnēm un uzreiz nogādātas uz laboratoriju. No katras dējējvistu grupas olu eļļas ekstrakcijas veikšanai un analīzēm, ievāca pa 60 vai 90 olām.

Lai iegūtu olas kopējo baltuma un dzeltenuma paraugu, 30 olas sasita, baltumu kopā ar dzeltenumu ielēja vārglāzē un homogenizēja, samaisot ar stikla irbulīti.

Lai iegūtu olas dzeltenumu un baltumu atsevišķi, olas čaumalu sasita ar asu nazi un uzmanīgi atdalīja dzeltenumu no baltuma. Visus olu dzeltenumus apvienoja vienā paraugā, ieleja vārglāzē un homogenizēja, samaisot ar stikla irbulīti. Līdzīgi rīkojas ar olas baltumiem. Atdalot olas baltumu no dzeltenuma uzmanīgi vēroja, lai olu baltumam netiktu klāt pat niecīgs dzeltenuma daudzums.

Svaigu olas dzeltenumu uzreiz izmantoja olu eļļas ekstrakcijai un analīzēm. Veselu olu masu un olas baltumu izmantoja analīzēm uzreiz vai sasaldēja un uzglabāja –18°C temperatūrā līdz analīžu veikšanai. Sasaldētu veselu olu vai baltumu atkausēja +21°C temperatūrā 1 diennakti.

Olu eļļas iegūšanai ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi izmantoja arī komerciāli pieejamu homogenizētu, pasterizētu un atdzesētu šķidru olu dzeltenumu, kuru iegādājās no AS Balticovo (Iecava, Latvija). Pasterizētu olu dzeltenumu uzglabāja +4°C temperatūrā un izmantoja olu eļļas ekstrakcijai un analīzēm ar tādu pašu temperatūru (+4°C).

2.2.5. Organiskie šķīdinātāji un slāpeklis / *Organic solvents and nitrogen*

Olu eļļas ekstrakcijai no svaiga olu dzeltenuma izmantoja vairākus organiskos šķīdinātājus, kā arī augstākās tīrības slāpekli šķīdinātāju atlieku noņemšanai (2.2. tabula).

2.2. tabula / *Table 2.2*

Organiskie šķīdinātāji un slāpeklis izmantotie olu eļļas ekstrakcijai /
Organic solvents and nitrogen used for egg yolk oil extraction

Nr. / ***No.***	**Šķīdinātājs /** ***Solvent***	**Tīrība /** ***Purity, %***	**Ražotājs /** ***Producer***	**Ražotājvalsts /** ***Country of production***
1.	Etanols / *Ethanol*	96.0-97.2	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
2.	Propan-2-ols / *2-propanol*	≥ 99.5	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
3.	Hloroforms / *Chloroform*	≥ 99.8	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
4.	Heksāns / *Hexane*	≥ 95.0	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
5.	2-metilpentāns / *2-methylpentane*	≥ 99.0	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
6.	Acetons / *Acetone*	≥ 99.5	Sigma-Aldrich	Vācija / *Germany*
7.	Slāpeklis / *Nitrogen*	99.999	Linde AG	Vācija / *Germany*

Augstās tehnoloģiskās un drošības prasības tika ņemtas vērā izvēloties šķīdinātājus olu eļļas ekstrakcijai. Pirmkārt, šķīdinātājam jāekstrahē pēc iespējas vairāk lipīdu no olas dzeltenuma, otrkārt, vieglākai un ekonomiskākai šķīdinātāja atdalīšanai no produkta šķīdinātāja viršanas temperatūrai jābūt pēc iespējas zemākai un treškārt, šķīdinātajam jābūt pēc iespējas mazāk toksiskam. Olu dzeltenums satur gan polārus, gan nepolārus lipīdus, līdz ar to šķīdinātāja polaritātei ir ļoti svarīga loma eļļas ekstrakcijas procesā. Pētījumā izmantoto ekstrakcijas šķīdinātāju dipola moments, viršanas temperatūra, toksiskums un blīvums ir apkopoti 2.3. tabulā.

2.3. tabula / *Table 2.3*

Šķīdinātāju īpašības / *Solvents properties* (Smallwood, 1996)

Šķīdinātājs/ *Solvent*	**Dipola moments/ *Dipole moment,* D (20°C)**	**Viršanas punkts/ *Boiling point*, °C (1013 mbar)**	**Toksiskums/*Toxicity*, LDL50 mg kg^{-1} (orāli-žurka/*oral-rat*)**	**Blīvums/ *Density,* g cm^{-3} (25°C)**
Etanols / *Ethanol*	1.7	78	7060	0.789
Acetons / *Acetone*	2.9	56	5800	0.790
Hloroforms / *Chloroform*	1.1	61	908	1.480
Propan-2-ols / *2-propanol*	1.66	82	5045	0.786
Heksāns / *Hexane*	0	69	25000	0.659
2-metilpentāns / *2-methylpentane*	Nav pieejams / *Not available*	62	Nav pieejams / *Not available*	0.653

2.3. Pētījuma struktūra / *The structure of the research*

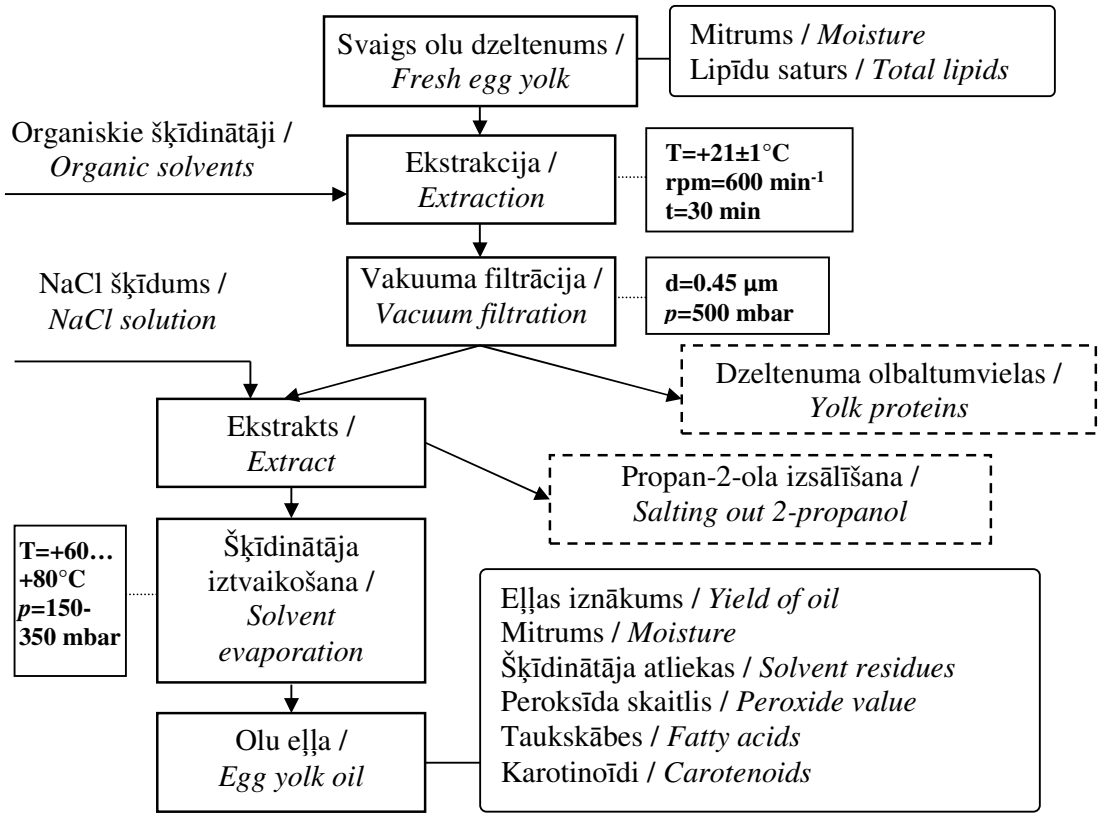
Pētījums veikts trijos posmos: olu eļļas ekstrakcija, olu eļļas kvalitāti ietekmējošo faktoru noteikšana un olu eļļas pielietojums pārtikas produktos.

Olu eļļas ekstrakcijas process no svaiga olu dzeltenuma ar organiskajiem šķīdinātājiem sastāv no vairākiem posmiem, kuru rezultātā ir izstrādāta tehnoloģija kvalitatīvas olu eļļas iegūšanai (2.2. un 2.3. attēls).

Pētījuma otrajā posmā noteica vistu turēšanas metodes, barības sastāva un olu dzeltenuma mikrobioloģisko rādītāju ietekmi uz olu eļļas kvalitāti (2.4. attēls).

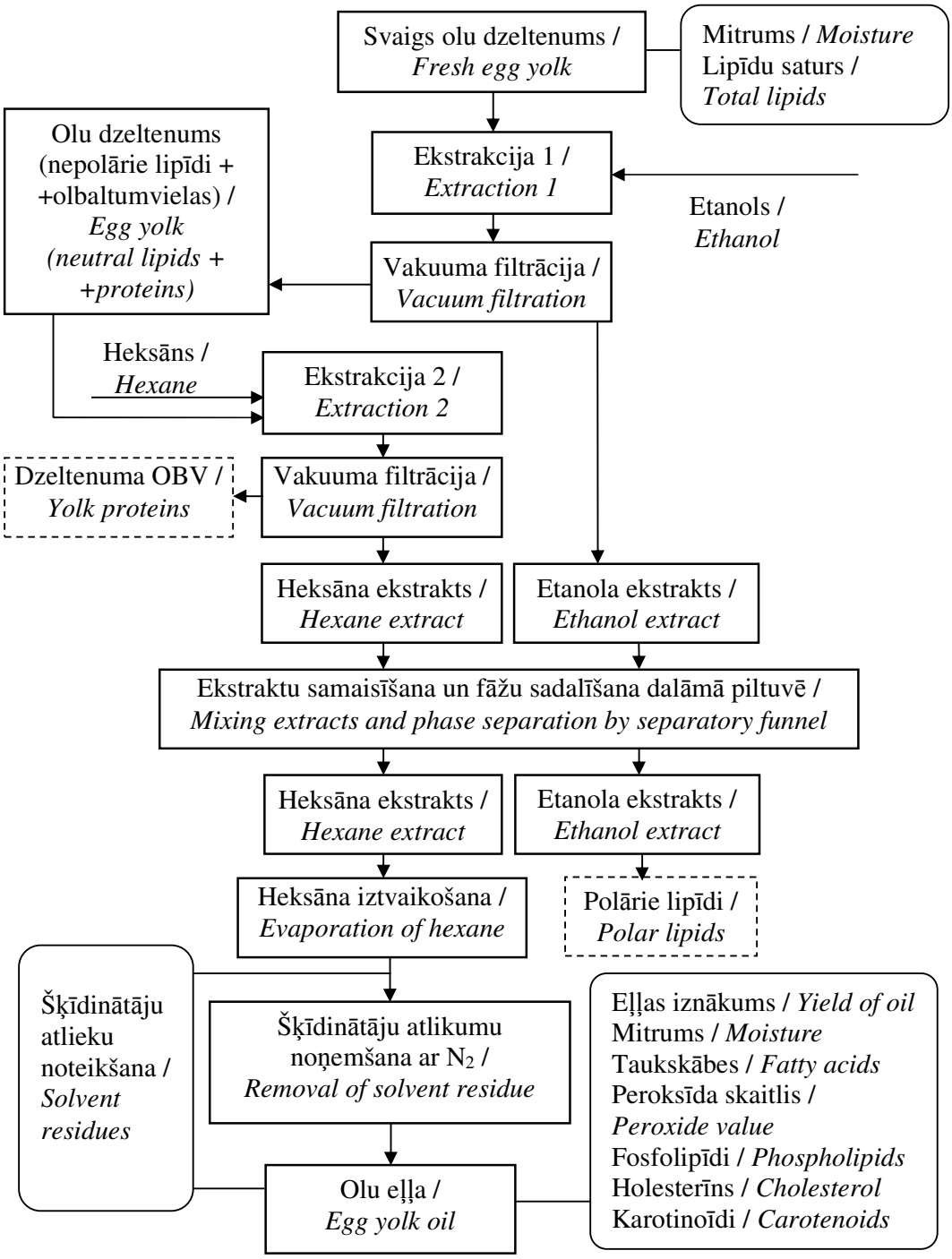
Pētījuma trešajā posmā olu eļļas pielietojumu pārtikā pārbaudīja majonēzes pagatavošanā. Majonēzes paraugiem, kuru pagatavošanā izmantoja olu eļļu, tika noteikti bioloģiski aktīvo vielu saturs, fizikālie, ķīmiskie, mikrobioloģiskie un sensorie rādītāji (2.5. attēls).

Olu eļļas ekstrakcija ar organiskajiem šķīdinātājiem no svaiga olu dzeltenuma /
Egg yolk oil solvent extraction from liquid egg yolk



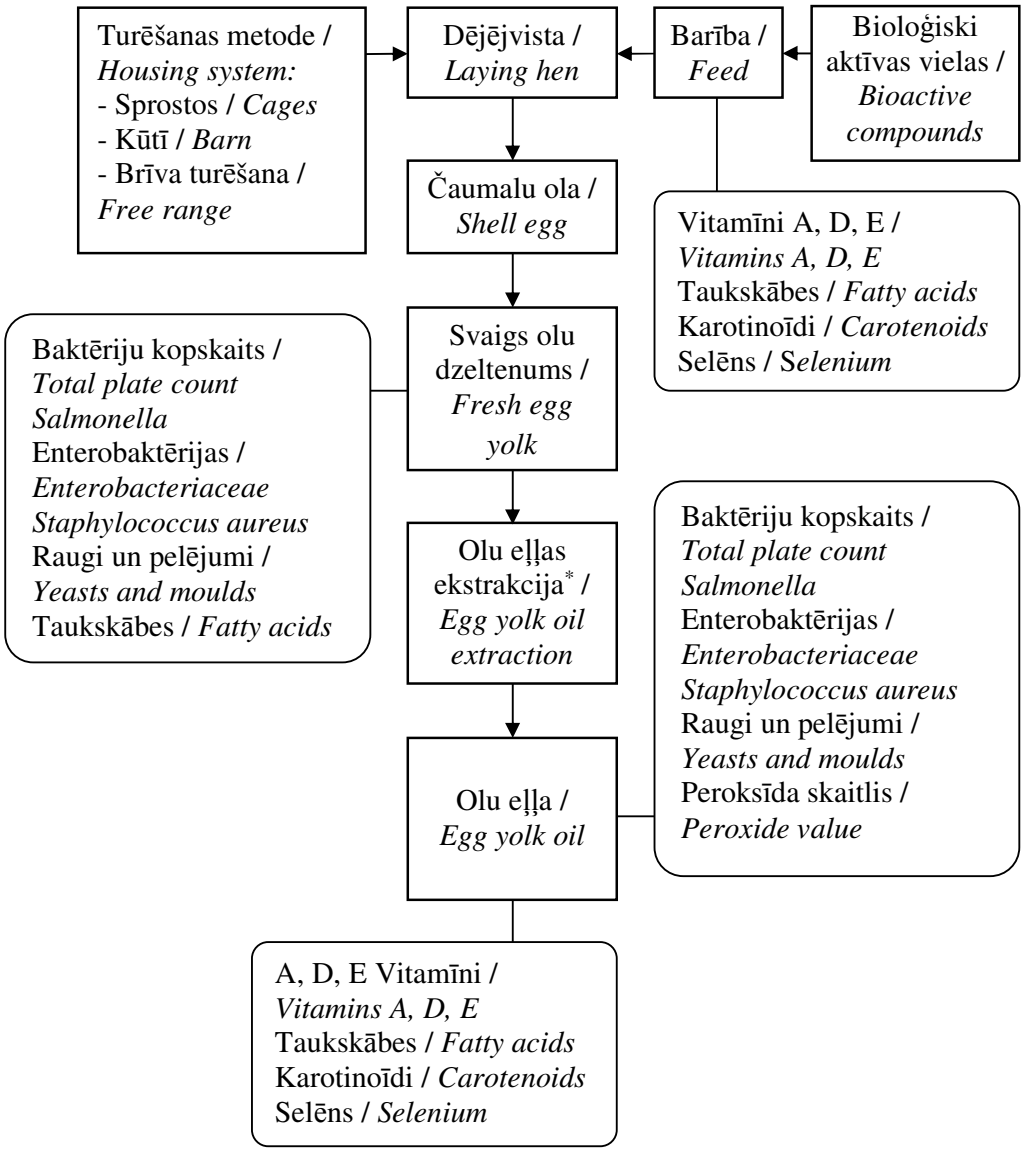
2.2. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas ekstrakcija /**
Fig. 2.2. ***Structure of the research – egg yolk oil extraction***

Olu eļļas divsoļu ekstrakcija ar etanolu un heksānu /
Egg yolk oil two-step extraction using ethanol and hexane



2.3. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas divsoļu ekstrakcija ar etanolu un heksānu /**
Fig. 2.3. ***Structure of the research – egg yolk oil two-step extraction using ethanol and hexane***

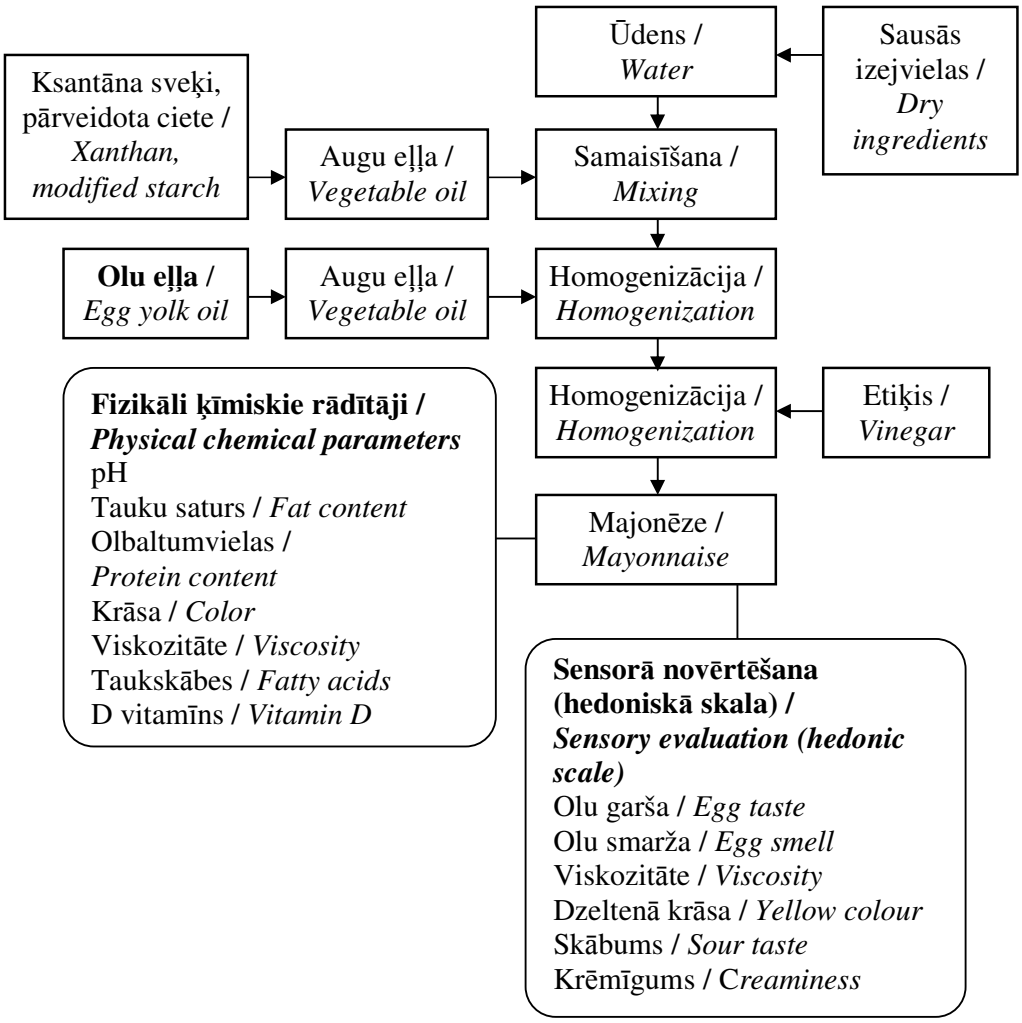
Turēšanas metodes, barības sastāva un olu dzeltenuma mikrobioloģisko rādītāju ietekme uz olu eļļas kvalitāti /
The influence of the laying hen housing method, feed content and egg yolk microbiological parameters on quality of egg yolk oil



2.4. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas kvalitāti ietekmējošo faktoru noteikšana /**
Fig. 2.4. ***Structure of the research – determination of factors affecting egg yolk oil quality***

* olu eļļas ekstrakcijai izmantoja divsoļu ekstrakciju ar etanolu un heksānu /
for egg yolk oil extraction two-stage extraction with ethanol and hexane were used

Olu eļļas pielietojums pārtikas produktos /
Application of egg yolk oil in food products



2.5. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas izmantošana majonēzes gatavošanā /**
Fig. 2.5. ***Structure of the research – egg yolk application for mayonnaise production***

2.4. Olu eļļas ekstrakcija / *Solvent extraction of egg yolk oil*

Olu eļļas ekstrakcija no svaiga olu dzeltenuma izmantoja šādus organiskus šķīdinātājus un to maisījumus: etanols, hloroforms, propan-2-ols, acetons, heksāns, 2-metilpentāns.

Pirms olu eļļas ekstrakcijas organiskos šķīdinātājus (ja izmantoja šķīdinātāju maisījumus) sajauca attiecīgajās proporcijās pēc tilpuma un ielēja vārglāzē vajadzīgajā daudzumā. Intensīvi maisot ar stikla irbulīti, svaigu un homogenizētu olu dzeltenumu ielēja vārglāzē ar šķīdinātāju. Šķīdinātāja un olu dzeltenuma attiecība bija 2:1 attiecīgi. Ekstrakciju turpināja +21°C temperatūrā, maisot ar propellera tipa maisītāju (SciQuip Basic 20 Digital Overhead Stirrer, SciQuip Ltd, Lielbritānija) ar 600 min^{-1} 30 minūtes.

Lipīdu ekstraktu no olu dzeltenuma olbaltumvielām atdalīja ar vakuuma filtrācijas (Millipore) palīdzību, izmantojot 0.45 µm papīra filtru un 500 mbar spiedienu. Olu eļļu ieguva, iztvaicējot šķīdinātāju no ekstrakta, rotācijas ietvaicētājā IKA RV 10 Control (IKA-Werke GmbH& Co. KG) noteiktā temperatūrā un spiedienā. Šķīdinātāju proporcijas un šķīdinātāju iztvaicēšanas režīmi ir apkopoti 2.4. tabulā.

2.4. tabula / *Table 2.4*

Šķīdinātāju iztvaicēšanas parametri / *Solvent evaporation parameters*

Šķīdinātājs / *Solvent*	**Šķīdinātāju tilpuma attiecība / *Solvent proportion by volume***	**Iztvaicēšanas temperatūra / *Evaporation temperature*, °C**	**Iztvaicēšanas spiediens / *Evaporation pressure*, mbar**
Etanols : Hloroforms / *Ethanol : Chloroform*	30 : 70	70	150
Acetons / *Acetone*	100	60	150
Propan-2-ols : Heksāns / *2-propanol : Hexane*	30 : 70	80	350
Acetons : Heksāns / *Acetone : Hexane*	40 : 60	60	350
Propan-2-ols : 2-metilpentāns / *2-propanol : 2-methylpentane*	30 : 70	80	300

Šķīdinātāju proporcijas izvēlētas, pamatojoties uz zinātniskajā literatūrā iegūtiem datiem, bet šķīdinātāju iztvaicēšanas režīmus (temperatūru un spiedienu) noteica pēc individuālo šķīdinātāju īpašībām. Olu eļļas ekstrakcija ar katru atsevišķu šķīdinātāju ir veikta trīs atkārtojumos.

2.5. Olu eļļas attīrīšana / *Purification of egg yolk oil*

Propan-2-ola izsālīšana no olu dzeltenuma lipīdu ekstrakta

Lai samazinātu propan-2-ola šķīdību ūdenī un attiecīgi samazinātu ūdens saturu lipīdu ekstraktā, izmantoja „izsālīšanu". Propan-2-ola izsālīšanai olu eļļas propan-2-ola/heksāna ekstraktam pievienoja piesātinātu nātrija hlorīda šķīdumu (26 g 100 ml^{-1}) un labi samaisīja. Pēc samaisīšanas ekstraktu ielēja dalāmā piltuvē un atstāja uz 1 stundu fāzu sadalīšanai. Apakšējo ūdens slāni notecināja caur atvērtu dalāmās piltuves krānu.

Olu eļļu no propan-2-ola/heksāna ekstrakta ieguva, iztvaicējot šķīdinātājus rotācijas ietvaicētājā IKA RV 10 Control (IKA-WerkeGmbH& Co. KG, Vācija) tabulā 2.4. norādītajos režīmos. Eksperiments ir veikts trīs atkārtojumos.

Olu eļļas divsoļu ekstrakcija ar etanolu un heksānu

Olu eļļas divu soļu ekstrakciju ar etanolu un heksānu veica sekojoši: pirmkārt, no svaiga olu dzeltenuma ar etanolu ekstrahēja polāros lipīdus (fosfolipīdus) un, no olu dzeltenuma pārpalikumiem ar heksānu ekstrahēja neitrālos lipīdus (Schreiner, 2006).

Polāro lipīdu ekstrakcijai vārglāzē ielēja 400 ml etanola, un maisot ar stikla irbulīti, lēnām pievienoja 200 g homogenizēta šķidra olu dzeltenuma. Maisīja līdz olu dzeltenuma olbaltumvielas denaturējas un pilnīgi izkliedējas visā etanola tilpumā. Ekstrakciju turpināja +21°C temperatūrā maisot ar propellera tipa maisītāju (SciQuip Basic 20 Digital Overhead Stirrer, SciQuip Ltd, Lielbritānija) 180 min^{-1} 30 minūtes. Maisījumu nofiltrēja ar vakuuma filtrācijas (Millipore) palīdzību, izmantojot 0.45 µm papīra filtru un 500 mbar spiedienu. Etanola ekstraktu savāca dalāmā piltuvē. Palikušās olu dzeltenuma olbaltumvielas ekstrahēja ar 400 ml heksāna, maisot 30 minūtes ar propellera tipa maisītāju +21°C temperatūrā. Heksāna ekstraktu atdalīja no dzeltenuma olbaltumvielām ar vakuuma filtrāciju, izmantojot 0.45 µm papīra filtru un 500 mbar spiedienu. Heksāna ekstraktu pievienoja etanola ekstraktam tajā pašā dalāmā piltuvē. Abus ekstraktus labi, bet lai neizveidotos emulsija, samaisīja un atstāja uz 1 stundu fāžu sadalīšanai. Pēc fāžu sadalīšanas, apakšējo etanola/ūdens slāni, kas satur polārus lipīdus un ūdenī šķīstošās vielas (sāļi, cukuri, šķīstošās olbaltumvielas) notecināja caur atvērtu dalāmas piltuves krānu un savāca plastmasas konteinerī.

Olu eļļu ieguva, iztvaicējot heksānu no heksāna ekstrakta, rotācijas ietvaicētājā IKA RV 10 Control (IKA-WerkeGmbH& Co. KG) +70°C temperatūrā un 400 mbar spiedienā.

Olu eļļas ekstrakcija ar etanolu un heksānu ir veikta trīs atkārtojumos.

Šķīdinātāju atlieku atdalīšana no olu eļļas

Pēc šķīdinātāju iztvaicēšanas rotācijas ietvaicētājā, lai pilnīgi atdalītu šķīdinātāju atliekas no olu eļļas, nemainot iztvaicēšanas režīmus, olu eļļā, ievadot plastikāta caurulīti, ievadīja augstākās tīrības slāpekļa gāzi un ļāva tai plūst caur olu eļļu 10 minūšu garumā.

2.6. Materiālu un tehnoloģiju raksturojums olu eļļas pielietojumam majonēzē / *Meterials and technology of mayonnaise for egg yolk oil application tests*

Izejvielas majonēzes pagatavošanai

Majonēzes pagatavošanai izmantoja rafinētu saulespuķu eļļu (AS Efko, Krievija), cukuru (Nordic Sugar Ltd., Dānija), sāli (SIA Voldemars, Latvija), pārveidotu kartupeļu cieti Trecomex Twelve 02 (Culinar Polska Sp. Z o.o, Polija), laktozi nesaturošu sauso vājpienu (Valio Ltd., Somija), ksantāna sveķus no CP Kelco, 9% etiķi (SIA Ilgezeem, Latvija), sinepju pulveri (SIA Valežs, Latvija), olu dzeltenuma pulveri (AS Balticovo, Latvija), dzeramo ūdeni un olu eļļu.

Majonēzes pagatavošana

Majonēzes receptūras ar dažādām olu eļļas koncentrācijām ir apkopotas 2.5. tabulā.

Majonēzes pagatavošanai izmantoja mikseri Bosch MMB 1001 (Robert Bosch GmbH, Vācija). Cukuru, sāli, sauso vājpienu, sinepju pulveri un olu dzeltenuma pulveri (kontroles receptē) samaisīja ūdenī un homogenizēja 1 minūti. Pārveidotu kartupeļu cieti un ksantāna sveķus izkliedēja nelielā saulespuķu eļļas daudzumā attiecībā 1:3 un pievienoja ūdens fāzei maisot 12000 min^{-1}. Maisījumu atstāja uz 5 minūtēm, lai ciete un ksantāna sveķi piebriestu. Attiecīgu olu eļļas daudzumu sajauca ar saulespuķu eļļu. Saulespuķu eļļu ar olu eļļas piedevu ar tievu strūklu ielēja mikserī, kuru darbināja uz maksimāliem apgriezieniem (21000 min^{-1}). Kad visa eļļa bija pievienota, emulģēšanas procesu turpināja vēl 120 sekundes. Kā pēdējo soli majonēzes pagatavošanai, pievienoja etiķi un homogenizēja vēl 30 sekundes (Abu-Salem, Abou-Ara, 2008; Karas *et al*., 2002).

2.5. tabula /*Table 2.5*

Majonēzes receptūras / *Recipes of mayonnaise*, %

Sastāvdaļas / *Ingredients*	**Paraugi / *Samples***				
	Olu eļļas piedeva, % aizvietojot augu eļļu / *Egg yolk oil additive, % replacing vegetable oil*				
	0	**1**	**3**	**5**	**7**
Saulespuķu eļļa / *Sunflower oil*	60.0	59.0	57.0	55.0	53.0
Olu eļļa / *Egg yolk oil*	–	1.0	3.0	5.0	7.0
Pārveidota ciete / *Modified starch*	–	0.3			
Ūdens / *Water*	29.8	30.5			
Olu dzeltenuma pulveris / *Egg yolk powder*	1	–			
Cukurs / *Sugar*	2.5				
Sāls / *Salt*	1.0				
Sausais vājpiens / *Skimmed milk powder*	1.0				
Ksantāna sveķi / *Xanthan gum*	0.2				
Etiķis 9% / *Vinegar 9%*	4.0				
Sinepju pulveris / *Mustard powder*	0.5				
Kopā / *Total*	100.0				

Majonēzei ar olu eļļas piedevām noteica olbaltumvielu un tauku saturu, pH, viskozitāti, D vitamīna un nepiesātināto taukskābju saturu, kā arī sensorās īpašības.

2.7. Pētījumā izmantotās analīžu metodes / *Methods of analysis used in research*

Pētījumā izmantotas analīžu metodes ir apkopotas 2.6. tabulā.

Mitrums

Mitruma saturu olās, olu baltumā, olu dzeltenumā, olu eļļā, jellecitīnā un majonēzē noteica ar iztvaikošanas svariem 'Moisture balance MOC-120H' (Shimadzu Corporation, Japan) pie temperatūras +120°C līdz svara izmaiņas starpība starp iepriekšējo mērījumu nepārsniedza 0.05 procentus. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Olu eļļas iznākums pēc ekstrakcijas

Olu eļļas iznākumu pēc ekstrakcijas no dzeltenuma ar dažādiem šķīdinātājiem noteica gravimetriski, izmatojot analītiskos svarus KERN (Mechanikus Gottlieb KERN, Vācija) ar svēršanas precizitāti ±0.01 g. Olu eļļas iznākums izteikts g $100g^{-1}$ dzeltenuma. Analīzes ir veiktas piecos atkārtojumos.

pH

Majonēzes pH vērtību noteica izmantojot pH-metru InoLab® pH 7110 ar SenTix® 950 elektrodu. pH metra kalibrēšanu veica izmantojot buferšķidrumus ar vērtību pH=4.01 un pH=7.01. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Viskozitāte

Majonēzes viskozitāti noteica ar rotācijas reometru Rheolab QC Anthon Paar (Anton Paar GmbH, Austrija) ar maisītāju CC 27 +21±1°C temperatūrā un griešanas ātrumu 500 s^{-1}. Majonēzes paraugu iepildīja iekārtas mērglāzē līdz atzīmei un veica viskozitātes mērījumus atbilstoši iekārtu ražotāja norādēm. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

2.6. tabula / *Table 2.6*

Pētījumā izmantotās fizikāli-ķīmiskās un sensorās analīžu metodes /
Physical-chemical and sensory methods of analysis used in research

Nr. / ***No.***	**Rādītāji/** ***Parameters***	**Standarts vai metode/** ***Standard ormethod***	**Vistu barība/** ***Hen feed***	**Olas/** ***Eggs***	**Baltums/** ***Egg white***	**Dzeltenums/** ***Yolk***	**Olu eļļa/** ***Egg yolk oil***	**Majonēze/** ***Mayonnaise***
1.	Mitrums / *Moisture*	Gravimetriski / *Gravimetrically*	+	–	–	+	+	–
2.	Olbaltumvielas / *Proteins*	AOAC 925.31 (AOAC, 1990)	–	–	–	–	+	+
3.	Lipīdi / *Total lipids*	AOAC 925.32 (AOAC, 1990)	–	–	–	+	+	+
4.	Olu eļļas iznākums / *Yield of egg yolk oil*	Gravimetriski / *Gravimetrically*	–	–	–	–	+	–
5.	Peroksīda skaitlis / *Peroxide value*	ISO 3960:2010: E29	–	–	–	–	+	–
6.	Heksāna atliekas / *Hexane residue*	ISO 9832:2002	–	–	–	–	+	–
7.	Etanola atliekas / *Ethanol residue*	Stenerson, Verma, 2011; Tiscione *et al*., 2011; Restek, 2000	–	–	–	–	+	–
8.	Propan-2-ola atliekas / *2-propanol residue*	Restek, 2000	–	–	–	–	+	–
9.	Hloroforma atliekas / *Chloroform residue*	Restek, 2000	–	–	–	–	+	–
10.	Taukskābes / *Fatty acids*	ISO 12966-2:2011; ISO 12966-1:2014	+	–	–	+	+	+
11.	Holesterīns / *Cholesterol*	AOAC 994.10-1994 (2010)	–	–	–	+	+	–
12.	Fosfolipīdi / *Phospholipids*	Seri *et al*., 2010 ; Yalçyn *et al*., 2007; Mounts *et al*., 1992	–	–	–	+	+	–
13.	Karotinoīdi / *Carotenoids*	Perry *et al*., 2009; Chung *et al*., 2004	+	–	–	+	+	–

2.6. tabulas turpinājums / *Continue of table 2.6*

Nr. / ***No.***	**Rādītāji/** ***Parameters***	**Standarts vai metode/** ***Standard or method***	**Vistu barība/** ***Hen feed***	**Olas/** ***Eggs***	**Baltums/** ***Egg white***	**Dzeltenums/** ***Yolk***	**Olu eļļa/** ***Egg oil***	**Majonēze/** ***Mayonnaise***
14.	Selēns / *Selenium*	ISO 17294-2 (E29):2005-2	+	+	+	+	+	–
15.	E vitamīns / *Vitamin E*	BS EN 12822:2000	+	+	–	+	+	–
16.	A vitamīns / *Vitamin A*	BS EN 12823-1 :2014	+	–	–	+	+	–
17.	D vitamīns / *Vitamin D*	BS EN 12821:2009	+	–	–	+	+	+
18.	pH / *pH*	pH-metrs InoLab® pH 7110 + SenTix® 950	–	–	–	–	–	+
19.	Krāsas analīze / *Colour analysis*	ISO 11664-4:2008(E) / CIE S 014-4/E:2007	–	–	–	–	–	+
20.	Viskozitāte / *Viscosity*	Rotācijas reometrs Rheolab QC (Anthon Paar)	–	–	–	–	–	+
21.	Sensorā vērtēšana / *Sensory evaluation*	ISO 4121:2003	–	–	–	–	–	+

Majonēzes krāsas analīze

Majonēzes krāsu noteica CIE L*a*b* krāsu sistēmā ar krāsu analizatoru *ColorTec-PCM Plus 30mm Benchtop Colorimeter* (Ņujorka, ASV). Majonēzes paraugus pirms analīzes ieliek stikla petri trauciņā ar vāciņu (ārējais diametrs 60 mm, iekšējais – 50 mm) un majonēzes krāsas intensitāti mēra uz trauka virsmas.

Krāsas intensitātes L* a* b* datu matemātiskā apstrāde veikta *Color Soft QCW* datu programmā. Analīzes ir veiktas septiņos atkārtojumos.

Majonēzes krāsas komponenšu kopējās izmaiņas atkarībā no pievienotā olu eļļas daudzuma raksturo to diferences kvadrātu summa – ΔE^*, ko iegūst, izmantojot krāsu komponenšu L* a* b* vērtības un aprēķina pēc 2.1. formulas (MacDougall, 2002):

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}, \qquad (2.1.)$$

kur ΔE^* – kopējā krāsu diference;

L^*– produkta krāsas intensitātes vērtība eksperimenta pēdējā dienā;

L_0^*– produkta krāsas intensitātes vērtība eksperimenta sākumā;

a^*– produkta krāsas komponenti zaļš-sarkans raksturojošā vērtība eksperimenta pēdējā dienā;

a_0^*– produkta krāsas komponenti zaļš-sarkans raksturojošā vērtība eksperimenta sākumā;

b^*– produkta krāsas komponenti zils-dzeltens raksturojošā vērtība eksperimenta pēdējā dienā;

b_0^*– produkta krāsas komponenti zils-dzeltens raksturojošā vērtība eksperimenta sākumā.

Šķīdinātāju atlikumi olu eļļā

Šķīdinātāju atlikumi olu eļļā tika noteikti ar gāzes hromatogrāfijas un slēgto trauku (Headspace) metodēm, kas balstīta uz ISO 9832:2002, Stenerson, Verma, 2011; Tiscione *et al*., 2011 un Restek, 2000 metodēm.

Piecās 20 ml mēģenēs iesver 5±0.1 g olu eļļas. Četrās mēģenēs pievieno attiecīga šķīdinātāja standartvielu noteiktā daudzumā, bet vienai standartvielu nepievieno. Visas mēģenes aizver ar korķi ar septu un ievieto ar 20 minūšu starpību ūdens vannā +80°C temperatūrā uz 60±1 minūtēm. Tad ar šļirces palīdzību no katras mēģenes paņem gāzes fāzi un nekavējoties injicē gāzes hromatogrāfā. No hromatogrammas, kas atbilst mēģenei bez standartvielas pievienošanas, izrēķina pievienotā šķīdinātāja saturu izteiktu procentos no kopējā smailes laukuma. No katras hromatogrammas, kas atbilst mēģenēm ar pievienotu šķīdinātāju, izrēķina kalibrācijas faktoru. Kalibrācijas faktoram no trim kalibrācijas paraugiem jābūt aptuveni vienādam. Aprēķinot kalibrācijas faktora vidējo aritmētisko, tam jābūt aptuveni 0.45 ar standartnovirzi vienādai vai mazākai par 15%. Šķīdinātāju atlikumu noteikšanai olu eļļā 5±0.1 g eļļas iesver 20 ml mēģenē un aizver ar korķi ar septu. Mēģini ievieto ūdens vannā +80°C temperatūra uz 60±1 minūtēm. Tad ar šļirces palīdzību no mēģenes paņem gāzes fāzi un nekavējoties injicē gāzes hromatogrāfā.

Gāzes hromotogrāfa parametri: kolonas termostata temperatūra +50°C 8 min, kolonas termostata temperatūras paaugstināšana +10°C minūtē no +80°C līdz +120°C, beigu temperatūra +120°C uz 5 min. Inžektora temperatūra uztādīta uz +200°C un detektora temperatūra uz +150°C. Detektora jūtība uzlikta uz maksimāli iespējamu. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Taukskābes

Taukskābju analīzēm izmantoja analītiskās tīrības reaģentus, kurus iegādājas no Sigma-Aldrich (Vācija). Pētāmo paraugu taukskābju esterifikācija veikta atbilstoši ISO 12966-2:2011 standartam. Taukskābju satura noteikšanai izmantoja 37 komponentu taukskābju monoesteru maisījumu 'FAME mix 47885-U' no Supelco, Vācija. Analīzes veica izmantojot gāzes hromatogrāfu Shimadzu GC 2010 Plus aprīkotu ar liesmas jonizācijas detektoru (Shimadzu Corporation, Japāna) un kapilaro kolonnu Nukol™ (Sigma-Aldrich, Vācija) (30 m×0.25 mm, d_f 0.25 µm). Gāzes hromatogrāfijas uzstādījumi bija atbilstoši ISO 12966-1:2014 standartam. Atsevišķas taukskābes identificēja, salīdzinot ar 37 komponentu taukskābju monoesteru maisījuma 'FAME mix 47885-U' taukskābju aiztures laikiem. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

A, D un E vitamīni

Taukos šķīstošu vitamīnu (retinols, holecalceferols un α-tokoferols) saturu olu dzeltenumā, olu eļļā un majonēzē noteica atbilstoši standartiem EN 12821:2009, BS EN 12822:2000 un BS EN 12823-1:2014.

Visi analīzēm izmantotie šķīdinātāji bija AEŠH tīrības un iegādāti no Sigma-Aldrich (Steinheima, Vācijā). Retinola, α-tokoferola un holekalceferola standartu šķīdumi bija iegādāti no Sigma-Aldrich (Vācija) un vēlāk izšķīdināti heksānā. Vitamīnu saturu paraugos noteica, salīdzinot to hromatogrammas ar retinola, α-tokoferola un holekalceferola standartšķīdumu hromatogrammām.

Taukos šķīstošo vitamīnu satura noteikšanai paraugos izmantoja Shimadzu Nexera X2 šķidruma hromatogrāfu ar UV un fluorescences detektoru un Inertsil 5 (GL Sciences B.V., Japāna) silīcija dioksīda kolonnu (5 µm, 250 mm×4.6 mm). Kolonnas termostata temperatūra bija +30°C. Mobīla fāze bija 3% 1,4-dioksāns n-heksānā. Mobīlas fāzes plūsmas ātrums 2 ml min^{-1}, un injekcijas daudzums 20 µl. Vitamīnu noteikšanai izmantoja sekojošus viļņa garumus: retinolam 325 nm, holecalceferolam 265 nm un α-tokoferolam 290 nm.

Vitamīnu satura noteikšanai olu eļļā olu eļļas paraugu atšķaidīja ar heksānu un inžektēja AEŠH sistēmā. A un E vitamīnus identificēja, salīdzinot to hromotogrammas ar attiecīgu standartu hromotogrammām, un izteica masas vienībās. Hromotogrammas smaiļu identifikācija un tīrības noteikšana notika ar normālas fāzes hromatogrāfiju ar UV (retinolam) un fluorescences (α-tokoferolam) detektoriem. D vitamīna analīzēm izmantoja apgrieztas fāzes hromatogrāfiju ar UV detektoru pēc semi-preparatīvas attīrīšanas procedūras. Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Fosfolipīdi

Lai atdalītu fosfolipīdus no olu dzeltenuma, aptuveni 5 g dzeltenuma tika frakcionēti 5-g kolonā pildītu ar silikagēlu (60-200 mesh) secīgi eluējot ar 200 ml hloroformu, 100 ml acetonu, 100 ml metanola un 0.1% fosforskābes šķīdumu metanolā. Metanola frakcijas apvienoja kopējo fosfolipīdu iegūšanai. Šķīdinātāju atdalīja rotācijas ietvaicētājā. Parauga atlikumu skaloja ar piesātinātu sāls šķīdumu un tad pievienoja nātrija bikarbonātu līdz neitrālai videi. Paraugu izžāvēja ar nātrija sulfātu un nofiltrēja. Šķīdinātāju atdalīja rotācijas ietvaicētājā +22°C temperatūrā. Paraugu atšķaidīja ar hloroformu, lai iegūtu 1 mg $µl^{-1}$ šķīdumu analīzei ar AEŠH (Seri *et al*., 2010).

Fosfatidīletanolamīna un fosfatidīlholīna standarti, kā arī hloroforms, metanols, amonija hidroksīds un ūdens AEŠH mobīlai fāzei bija AEŠH tīrības un iegādāti no Sigma-Aldrich (Vācija). Fosfolipīdu satura noteikšanai paraugos izmantoja Shimadzu Nexera X2 šķidruma hromatogrāfu ar gaismas izkliedes detektoru ELSD-LTII (Japāna).

Kā izsmidzināšanas gāzi izmantoja slāpekli (N2) ar plūsmas ātrumu 4 l min^{-1}, un izsmidzināšanas temperatūru +40°C (Mounts *et al*., 1992). Fosfolipīdu izdalīšanai izmantoja LiChrospher Si-60 kolonnu (5 µm, 125×4.0 mm), ko iegādājās no Sigma-Aldrich (Vācija).

Eluēšanas programma lineāra gradienta režīmā ar 80 : 19.5 : 0.5 (v/v) hloroforms : metanols : amonija hidroksīds (NH_4OH) pie t=0 min līdz 60 : 34 : 5.5 : 0.5 (v/v) hloroforms : metanols : ūdens : amonija hidroksīds (NH_4OH) pie t=22 min un kolonnai ļāva līdzsvaroties pirms nākamās injekcijas t=27 min (Yalçyn *et al*., 2007). Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Holesterīns

Holesterīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā noteikts atbilstoši standarta metodei AOAC 994.10-1994 ar dažām modifikācijām. 10 g olu eļļas iepildīja uz 250 ml kolbā, pievienoja 40 ml etanola/metanola/propan-2-ola (90 : 5 : 5) šķīduma un 10 ml 60% kālija hidroksīda. Kolbu pievienoja ūdens dzesētājam un vārīja 1 stundu. Pēc maisījuma atdzesēšanas līdz istabas temperatūras (+21°C) pievienoja 100 ml heksāna un maisīja 10 minūtes. Tad maisījumam pievienoja 25 ml dejonizēta ūdens un maisīja vēl 15 minūtes. Pēc slāņu sadalīšanās heksāna slāni savāca Erlenmeijera kolbā. 25 ml heksāna slāņa alikvotu iztvaicēja rotācijas ietvaicētājā +40°C temperatūrā. Atlikumu izšķīdināja 2 ml etanolā un 3 µl injicēja gāzes hromatogrāfā (Chung *et al*., 2004). Holesterīna satura analīzēm izmantoja Shimadzu GC 2010 Plus gāzes hromatogrāfu ar liesmas jonizācijas detektoru (Japāna). Hromatografēšanas parametri: kolonna Agilent DB-5 (Agilent Technologies, ASV) (30 m×0.32 mm×0.25 µm), nesējgāze: slāpeklis, plūsmas ātrums 0.45 ml min^{-1}, temperatūras programma: sākuma temperatūra +260°C, temperatūras pieaugums +6°C min^{-1} līdz +290°C, injektora temperatūra: +300°C, splits 1 : 1, detektora temperatūra +300°C. Visi analīzē izmantotie šķīdinātāji bija analītiskās tīrības un iegādāti no Sigma-Aldrich (Vācija). Slāpekļa gāze bija 99.999% tīrības un iegādāta no Linde AG (Vācija). Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Karotinoīdi

1 g olu dzeltenuma vai olu eļļas precīzi iesvēra 50 ml stikla mēģenē un pievienoja 5 ml metanola. Paraugu ar metanolu homogenizēja un atstāja uz nakti (16 stundas) ledusskapī +4°C temperatūrā. Tad paraugu centrifugēja 10 min ar ātrumu 800 min^{-1}. Metanola slāni pārvnesa 25 ml mērkolbā. Stikla mēģenē ar paraugu pievienoja 5 ml tetrahidrofurāna (THF) un maisīja (Vortex) 30 sekundes, tad centrifugēja 50 min 800 min^{-1}. THF slāni pārnesa mērkolbā ar metanolu. Paraugu ekstrahēja vēl trīs reizes un katru THF slāni pielēja mērkolbai ar metanolu. Mērkolbu uzpildīja ar THF līdz 25 ml tilpumam. 10 ml ekstrakta nožāvēja slāpekļa vidē. Tad ekstraktu izšķīdināja 500 ml etanolā un maisīja (Vortex) 30 sekundes. 20 µl injicēja AEŠH sistēmā karotinoīdu analīzei (Perry *et al*., 2009).

Karotinoīdus noteica, izmantojot Shimadzu Nexera X2 (Japāna) šķidruma hromatogrāfu. Karotinoīdu izdalīšanai izmantoja YMC C30 kolonnu 3 µl, 150 mm×4.6 mm (YMC, Japāna). Visus karotinoīdus noteica 445 nm viļņa garuma ar Shimadzu SPD-M20A (Japāna) fotodiožu detektoru. Par mobīlo fāzi izmantoja metanols:tert-Butil metil ēteris:ūdens (95 : 3 : 2, v/v, ar 1.5% amonija acetātu ūdenī) – šķīdinātājs A un metanols : tert-Butil metil ēteris:ūdens (8 : 90 : 2, v/v, ar 1.0% amonija acetātu ūdenī) – šķīdinātājs B. Plūsmas ātrums 0.4 ml min^{-1} (+10°C). Gradienta režīms: sākumā 100% šķīdinātājs A; 21-min lineārais gradients līdz 45% šķīdinātājs A un 55% šķīdinātājs B; 1-min aizture 45% šķīdinātājs A un 55% šķīdinātājs B; 11-min lineārais gradients līdz 5% šķīdinātājs A un 95% šķīdinātājs B; 4-min aizture pie 5% šķīdinātājs A un 95% šķīdinātājs B; 2-min lineārais gradients atpakaļ pie 100% šķīdinātājs A, un 28-min aizture pie 100% šķīdinātājs A (Perry *et al*., 2009; Chung *et al*., 2004). Hromatogrammas smaiļu identifikācija pamatojas uz salīdzināšanu ar aiztures laikiem un absorbcijas spektriem zināmiem karotinoīdu standartiem (luteīns, zeaksanthīns, kantaksantīns un β-karotīns) iegādātiem no Sigma-Aldrich (Germany). Analīzes ir veiktas trīs atkārtojumos.

Lai noteiktu holesterīna, fosfolipīdu un karotinoīdu dinamiku olu eļļas divsoļu ekstrakcijas procesā ar etanolu un heksānu, holesterīna, fosfolipīdu un karotinoīdu saturu noteica olu dzeltenumā un olu eļļā pēc 2.6. tabulas minētām metodēm. Holesterīna,

fosfolipīdu un karotinoīdu koncentrācija polārajā etanolā fāzē ir izteikta kā starpība starp holesterīna un fosfolipīdu koncentrācijām olu eļļā un olu dzeltenumā.

2.7.1. Mikrobioloģisko analīžu metodes / *Microbiological methods of analysis*

Olu dzeltenuma, olu eļļas un to kvalitātes izmaiņu uzglabāšanas laikā noteikšanai izmantotās mikrobioloģisko analīžu metodes ir apkopotas 2.7. tabulā.

2.7. tabula / *Table 2.7*

Pētījumā izmantotās mikrobioloģisko analīžu metodes /
Microbiological methods of analysis used in research

Nr. / ***No.***	**Rādītāji /** ***Parameters***	**Standarts vai metode /** ***Standard or method***
1.	Baktēriju kopskaits / *Total plate count*	ISO 4833-1:2013; ISO 4833-2:2013
2.	Enterobaktērijas / *Enterobacteriaceae*	ISO 21528-2:2004
3.	*Salmonella*	ISO 6579:2002
4.	*E. coli*	ISO 16649-3:2015
5.	*S. aureus*	ISO 6888-1:1999
6.	Raugi un pelējumi / *Yeasts and moulds*	ISO 21527-1:2008; ISO 21527-2:2008

Olu eļļas kvalitātes izmaiņu noteikšanai uzglabāšanas laikā izmantoja dažādus uzglabāšanas apstākļus: uzglabāšana ledusskapī +4°C temperatūrā, uzglabāšana +21°C un uzglabāšana +30°C termostatā. Katru mēnesi olu eļļu analizēja (mikrobioloģiskie rādītaji minētiem 2.7. tabulā).

Lai noteiktu etanola dezinficējošās īpašības olu eļļas ekstrakcijas procesā uz 1000 g olu dzeltenuma pievienoja vienas olas čaumalu ar redzamiem netīrumiem (dējējvistu mēsli, barība un kūts putekļi), labi samaisīja un inkubēja +21°C 24 stundas. Tad noņēma 200 g paraugu, kuram uzreiz veica mikrobioloģiskās analīzes un izmantoja olu eļļas divsoļu ekstrakcijai ar etanolu un heksānu. Iegūtai eļļai uzreiz pēc ekstrakcijas noteica tos pašus mikrobioloģiskos rādītājus kā dzeltenumam, kas ir minēti 2.7. tabulā.

2.7.2. Sensorās vērtēšanas metodes / *Methods of sensory evaluation*

Majonēze ar olu eļļas piedevu

Majonēzes ar olu eļļas piedevām patikšanas pakāpes noteikšanai izmantota 5 punktu hēdoniskā skala (1 – ārkārtīgi nepatīk; 2 – mazliet nepatīk; 3 – nepatīk, ne nepatīk; 4 – mazliet patīk; 5 – ārkārtīgi patīk) sekojošām sensorām īpašībām: dzeltena krāsa, olu smarža, olu garša, krēmīgums, skāba garša un viskozitāte. Majonēzes sensorajā novērtēšanā piedalījās 33 apmācīti vērtētāji Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes studenti un zinātniskais personāls (22 sievietes, 11 vīrieši), vecumā no 19 līdz 57 gadiem. Majonēzes paraugi tika iepildīti caurspīdīgajās plastmasas glāzītēs (35±3 g) un atstāti uz 30 minūtēm +21°C temperatūrā pirms pasniegt vērtētājiem. Katru paraugu nomarķēja ar nejauši izvēlētiem trīsciparu kodiem. Vērtētājiem tika pasniegta silta tēja, lai izskalotu muti pirms nākamā parauga vērtēšanas.

2.8. Matemātiskā datu apstrāde / *Mathematical processing of data*

Pētījumā iegūto datu matemātiskai apstrādei izmantoja statistiskās metodes. Aprēķini veikti ar „MS Excel" programmu un „SPSS 19.0." statistikas programmu (IBM, ASV). Katram rādītājam aprēķināts vidējais aritmētiskais un standartnovirze. Izvirzītās hipotēzes

pārbaudītas ar p-vērtības metodi, un faktori ir novērtēti kā būtiski, ja p-vērtība ir <0.05. Rezultātu interpretācijai pieņemts, ka α=0.05 ar 95% ticamību, ja nav norādīts citādi. Datu apstrādē vispirms ar divfaktoru dispersijas analīzi (*ANOVA*) tiek izvērtēta divu dažādu faktoru mijiedarbības ietekme.

Izvērtējot dažādu pazīmju savstarpējo kopsakarību, izmanto korelācijas un regresijas analīzi un mazāko kvadrātu metodi. Ja korelācijas koeficienta vērtība ir $0.5 \leq |r| \leq 0.8$, starp pētāmajām pazīmēm ir cieša lineāra sakarība (Arhipova, Bāliņa, 2003).

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA / *RESULTS AND DISCUSSION*

3.1. Olu eļļas ekstrakcijas procesa raksturojums / *Characterization of egg yolk oil solvent extraction process*

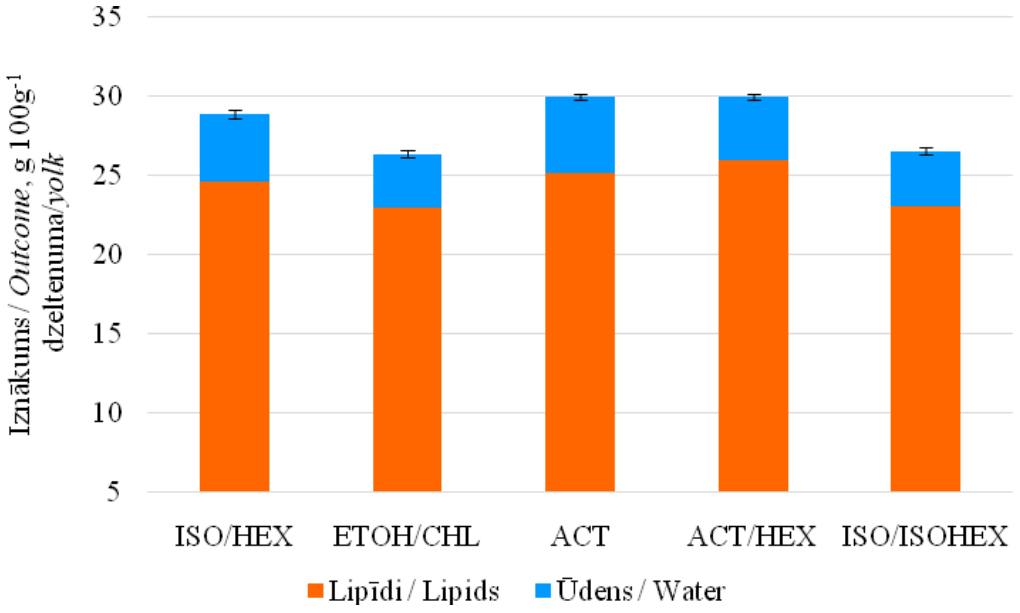
Lai izvēlētos piemērotāko šķīdinātāju vai šķīdinātāju maisījumu olu eļļas ekstrakcijai no šķidra olu dzeltenuma, bija nepieciešams veikt vairākus izmēģinājumus. Ir zināms, ka mazpolārie šķīdinātāji (piem., acetons) denaturē gan olbaltumvielas, gan ekstrahē lipīdus. Dažos pētījumos olu lipīdu ekstrakcijai izmantoja arī polāro un nepolāro šķīdinātāju maisījumus. Šķīdinātājam ir jāekstrahē no dzeltenuma pēc iespējas vairāk lipīdu un bioloģiski aktīvo vielu, un tik pat svarīga ir šķīdinātāja efektīva atdalīšana no ekstrakta. Balstoties uz zinātniskajā literatūrā atrodamām atziņām, šķīdinātāju polaritāti un to fizikāli-ķīmiskām īpašībām, olu eļļas ekstrakcijai bija izvēlēti šādi šķīdinātāji un šķīdinātāju maisījumi: acetons (ACT), etanols/hloroforms (ETOH/CHL), propan-2-ols/heksāns (ISO/HEX), acetons/heksāns (ACT/HEX), propan-2-ols/2-metilpentāns (izoheksāns) (ISO/ISOHEX).

3.1.1. Olu eļļas ekstrakcijas rezultāti ar dažādiem ekstrakcijas šķīdinātājiem / *Egg yolk oil extraction results using different extraction solvent*

Olu eļļas ekstrakcijas kvalitātes izvērtēšanai tika noteikti šādi rādītāji – olu eļļas ekstrakcijas iznākums, ūdens saturs eļļā, eļļas peroksīda skaitlis, šķīdinātāju atliekas eļļā, kopējo karotinoīdu un taukskābju saturs.

Eļļas iznākums

Olu eļļas ekstrakcijas iznākums ir svarīgs tehnoloģiskais parametrs, kas raksturo ekstrakcijas efektivitāti. Olu eļļas iznākums atkarībā no ekstrakcijai izmantotā šķīdinātāja vai šķīdinātāju maisījuma ir attēlots 3.1. attēlā.



3.1. att. **Olu eļļas iznākums pēc dzeltenuma ekstrakcijas ar dažādiem šķīdinātājiem /**
Fig. 3.1. ***Egg yolk oil yield using different solvents for yolk extraction***

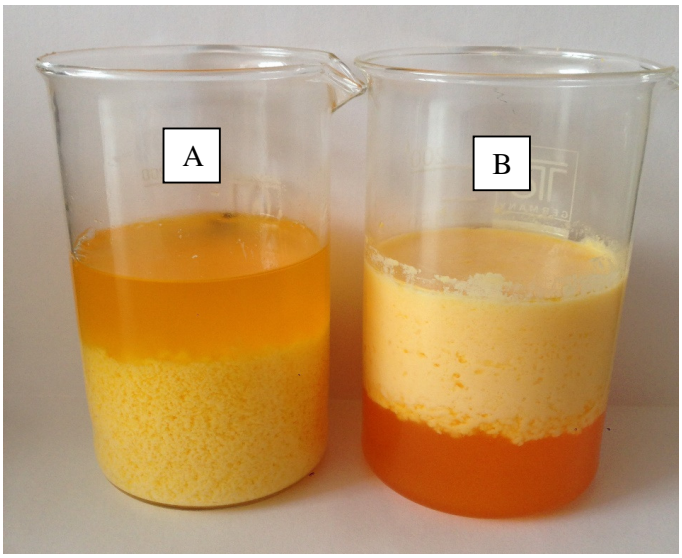
Olu dzeltenums satur gan polārus, gan nepolārus lipīdus, un aprotona šķīdinātāja – acetona izmantošana olu eļļas ekstrakcijai bija pamatota ar vēlmi iegūt visaugstāko eļļas iznākumu. Olu eļļas iznakums, ekstrahējot dzeltenumu ar acetonu (ACT), bija 29.99±0.18 g $100g^{-1}$. Līdzīgu rezultātu ($p>0.05$) izdevās iegūt ekstrahējot šķidru olu dzeltenumu ar acetona/heksāna (ACT/HEX) maisījumu. Acetons ir aprotonais šķīdinātājs, kas labi ekstrahē gan polārus, gan nepolārus olu dzeltenuma lipīdus; heksāns savukārt ir izteikti nepolārs šķīdinātājs, kas efektīvi ekstrahē neitrālus lipīdus.

Otrais labākais šķīdinātāju maisījums olu eļļas ekstrakcijā no svaiga olu dzeltenuma bija propan-2-ola/heksāna maisījums (ISO/HEX) Ekstrahējot 100 g olu dzeltenuma ar šo šķīdinātāju maisījumu izdevās iegūt 28.90±0.27 g olu eļļas.

Etanola/hloroforma maisījuma (ETOH/CHL), kā arī propan-2-ola/2-metilpentāna (izoheksāns) maisījuma (ISO/ISOHEX) ekstrakcijas iznākumi būtiski neatšķirās ($p>0.05$) un sastādīja, attiecīgi, 26.37±0.24 g $100g^{-1}$ un 26.55±0.22 g $100g^{-1}$.

Propan-2-ola/Heksāna (ISO/HEX) un propan-2-ola/2-metilpentāna (izoheksāna) (ISO/ISOHEX) šķīdinātāju maisījumi ir ļoti līdzīgi pēc fizikāli-ķīmiskām īpašībām, bet 2-metilpentānam ir nedaudz zemāka viršanas temperatūra salīdzinājumā ar heksānu, kā arī sazarota struktūra, kam vajadzēja pozitīvi ietekmēt ekstrakcijas iznākumu. Mūsu novērojumi apstiprina pretējo – olu eļļas iznākums pēc ekstrakcijas ar propan-2-ola/2-metilpentāna maisījumu bija būtiski ($p<0.05$) mazāks par eļļas iznākumu, ko ekstrahēja ar propan-2-ola/heksāna maisījumu.

Izmantojot etanola/hloroforma (ETOH/CHL) maisījumu olu eļļas ekstrakcijai no svaiga dzeltenuma, denaturēto olbaltumvielu frakcija bija pastveidīga un, sakarā ar hloroforma lielāku blīvumu, olbaltumvielas koncentrējās šķīdinātāju maisījuma augšējā slānī (3.2. attēls). Šī ekstrakta vakuuma filtrēšana prasīja ilgāku laiku.



3.2. att. **Olbaltumvielu frakcijas dažādu šķīdinātāju maisījumos /**
Fig. 3.2. ***Protein fraction in different solvent mixtures***
A – propan-2-ols/heksāns, B – etanols/hloroforms
A – 2-propanol/hexane, B – ethanol/chloroform

Pēc vakuuma filtrēšanas dzeltenuma olbaltumvielu frakcija pēc ekstrakcijas ar etanola/hloroforma maisījumu bija ievērojami mitrāka salīdzinājumā ar olbaltumvielu frakcijām pēc citu šķīdinātāju izmantošanas. Izkalējot olbaltumvielu nogulsnes, kas palika pēc olu dzeltenuma ekstrakcijas ar etanola/hloroforma (ETOH/CHL) maisījumu, masas zudumi veidoja 60.26±1.24%, bet propan-2-ola/heksāna (ISO/HEX) maisījumu gadījumā

52.74±0.96%. Šī starpība norāda uz to, ka daļa ekstrakta bija ieslēgta olbaltumvielu frakcijā un uzstādītie filtrēšanas parametri nespēja kvalitatīvi atdalīt ekstraktu no olbaltumvielām.

Ūdens saturs

Ar ekstrakciju iegūta olu eļļa satur lielu ūdens daudzumu. Ūdens saturs olu eļļas paraugos bija robežās no 12.76 līdz 16.08%, kas ir diezgan liels rādītājs. Liels ūdens saturs pārtikas eļļā var izraisīt lipīdu oksidēšanos un citas izmaiņas, negatīvi ietekmējot eļļas kvalitāti un saīsinot tās uzglabāšanas laiku.

Augu eļļas ražošanas procesā, izmantojot organiskos šķīdinātājus, izejvielas, piemēram, saulespuķu sēklu spiedpaliekas, satur 8-10% ūdens, jo lielāks ūdens saturs palēnina ekstrakcijas procesu. Citos pētījumos (Paraskevopoulou, Kiosseoglou, 1994; Larsen, Froning, 1981) olu eļļas ekstrakcijai izmantoja olu dzeltenuma pulveri, kura ūdens saturs bija līdz 4% pirms ekstrakcijas, un ūdens saturs eļļā pēc ekstrakcijas bija nenozīmīgs. Mūsu pētījumos mēs izmantojām šķidru olu dzeltenumu, kas vidēji satur 50% ūdens un tās ievērojami apgrūtina olu eļļas iegūšanu.

Liels ūdens saturs olu eļļā ir saistīts ar spirtu un aprotono šķīdinātāju izmantošanu eļļas ekstrakcijai. Aprotonie šķīdinātāji, piemēram, acetons, labi šķīst ūdenī, veidojot homogēnu maisījumu. Ekstrahējot lipīdus no olu dzeltenuma ar acetonu, rezultātā iegūstam ekstraktu, kas sastāv no acetona, izšķīdinātiem lipīdiem un ūdens. Iztvaikošanas procesā acetons viegli atdalās no ekstrakta, kas ir saistīts ar to, ka maisījumā starp acetonu un ūdeni pastāv tikai vāji starpmolekulārie spēki. Iztvaikojot acetonam, ekstraktā palika tikai lipīdi un ūdens, jo iztvaikošanas režīmi bija izvēlēti, balstoties uz acetona viršanas temperatūru. Pateicoties olu dzeltenuma polāro lipīdu (lecitīns) emulģējošām īpašībām, dzeltenuma lipīdu un ūdens maisījums izskatījās pietiekoši homogēns un tikai pēc ūdens satura noteikšanas olu eļļā palika skaidrs, ka iegūtā eļļa satur ne tikai lipīdus, bet arī lielu ūdens daudzumu.

Līdzīgi kā acetons sajaucas ar ūdeni, tas sajaucas arī ar nepolāriem šķīdinātājiem, tādiem kā heksāns. Acetons satur karboksil grupu un divas metil grupas. Karboksil grupas polaritāte nodrošina acetona sajaukšanos ar ūdeni, kamēr acetona metilgrupām ir izteiktas hidrofobas īpašības, kas ļauj tam sajaukties ar nepolāru heksānu. Atšķirībā no spirtiem, acetons ar ūdeni neveido azeotropus maisījumus un tā iztvaikošanas temperatūra ir aptuveni līdzīga heksāna iztvaikošanas temperatūrai (Kuk *et al*., 2005). Lietojot acetona/heksāna maisījumu olu eļļas ekstrakcijai, tie abi viegli atdalās no ekstrakta, bet ūdens paliek eļļā. Nepolāra heksāna izmatošana kopā ar acetonu ietekmēja ūdens saturu olu eļļā, samazinot tā saturu, salīdzinājumā ar olu eļļu, kuru ekstrahēja tikai ar acetonu.

Gadījumā, kad olu dzeltenuma ekstrakcijai izmantoja spirtus (etanolu vai propan-2-olu), bija nepieciešama augstāka iztvaikošanas temperatūra.

Augsts ūdens saturs olu eļļā var būt saistīts ar olu dzeltenuma fosfolipīdu spēju veidot stabilu eļļa/ūdenī emulsiju (Maximiano *et al*., 2008) un lai atdalītu eļļu no ūdens šī emulsija ir jāsagrauj. Papildus tam, olu dzeltenuma fosfolipīdi izšķīst polārajā šķīdinātājā un sāk uzbriest, adsorbējot olu dzeltenumā esošo ūdeni (Stadelman, Cotterill, 1995) un tad, lai atdalītu ūdeni, fosfolipīdu frakciju ir jākaltē. Tātad varam secināt, ka polārie lipīdi ekstraktā saista ūdeni divos veidos – gan veidojot emulsiju, gan adsorbējot ūdeni uzbriešanas procesā. Liels ūdens saturs olu eļļā ir problēma, kas ietekmē tās kvalitāti, un ir nepieciešams atrast risinājumu ūdens satura samazināšanai eļļā.

Peroksīda skaitlis

Eļļas vai tauku bojāšanās (sasmakums) ir dabīgs process, kuru izraisa lipīdu noārdīšanās hidrolīzes vai oksidācijas (vai abu procesu kopā) rezultātā. Eļļas un tauku noārdīšanās procesā lipīdu taukskābju ēsteri, reaģējot ar gaisa skābekli, mitrumu un/vai citām vielām pārveršās brīvajās taukskābēs. Lipīdu bojāšanos pavada brīvo taukskābju pieaugums eļļas un taukos, ko nosaka izmantojot divas analītiskās pamatmetodes: skābes skaitlis un peroksīda skaitlis. Olu eļļas kvaitātes noteikšanai izmantojam peroksīda skaitli.

Dzīvnieku tauki ir stabilāki pret oksidēšanos nekā augu eļļas. Augu eļļu bojāšanās pakāpē var būt vairākas reizes lielāka nekā dzīvnieku taukiem pirms cilvēks var to noteikt ar maņu organiem, piemērām saostot.

Mūsu pētījuma rezultāti parāda, ka visos olu eļļas paraugos uzreiz pēc ekstrakcijas peroksīda skaitlis bija līdz 0.02±0.02 meq O_2 kg^{-1}, neatkarīgi no ekstrakcijai izmantotājiem šķīdinātājiem. Cilvēku patēriņam paredzētājos taukos un eļļās peroksīda sakitļa vērtība nedrīkst pārsniegt 10 meq O_2 kg^{-1} (FAO,1999).

Skābekļa šķīdība taukos ir 8 reizes lielāka nekā ūdenī un tāpēc gaisa skābeklis ir galvenais autooksidācijas procesa iemesls taukos. Mūsu pētījumā olu dzeltenuma ekstrakcijas procesā olu eļļas saskarsme ar gaisu bija minimāla, tāpēc, lai novērotu olu dzeltenuma lipīdu noārdīšanās autooksidācijas precesa rezultātā, ir nepieciešams laiks un ir svarīgi noteikt konkrētu termiņu, kad peroksīda skaitļa vērtība pārsniegs pieļaujamo vērtību (noteikt olu eļļas iespējamo uzglabāšanas laiku).

Šķīdinātāju atliekas

Ja eļļas iegūšanai izmanto šķīdinātāju ekstrakciju, tad kāda daļa no šķīdinātāja var palikt eļļā. Pateicoties dažām fizikālām un ķīmiskām īpašībām, šķīdinātāju nav iespējams pilnīgi atdalīt ražošanas procesā un parasti kāds neliels šķīdinātāja daudzums paliek gala produktā – to sauc par šķīdinātāju atliekam.

Katrai bīstamai vielai ir noteikts toksiskums, kuru apzīmē ar LD_{50}. LD no angļu valodas nozīmē *lethal dose* (letāla deva) un LD_{50} ir vielas koncentrācija, pie kurā 50% no testa dzīvniekiem iet bojā vai tiek nopietni ietekmēti, kad ķīmiskās vielas iedarbība noris to norijot, uzņemot caur ādu vai injicējot. Organiskie šķīdinātāji var izraisīt tādas veselības problēmas, kā vēzis, dermatīts, aknu un nieru, reproduktīvas sistēmas un elpceļu bojājumus. Tas attiecas arī uz gaistošiem organiskiem šķīdinātājiem, kurus izmanto eļļas ekstrakcijai.

Etanols, propan-2-ols, acetons un heksāns ir šķīdinātāji, kurus plaši izmanto pārtikas rūpniecībā, ievērojot labas ražošanas prakses nosacījumus, bet jebkurā gadījumā to saturs gala produktos ir ierobežots un stingri kontrolēts (Direktīva 2009/32/EC, 2009; EFSA, 2005).

Šķīdinātāju atliekas olu eļļās ir apkopotas 3.1. tabula.

3.1. tabula / *Table 3.1*

Šķīdinātāju atliekas olu eļļās / *Solvent residues in egg yolk oil*

Rādītāji / *Parameters*	**Šķīdinātāji / *Extraction solvent***				
	ISO/ HEX	**ETOH/ CHL**	**ACT**	**ACT/ HEX**	**ISO/ ISOHEX**
Propan-2-ola atliekas / *2-propanol residue*, mg kg^{-1}	264.14±7.18	-	-	-	117.26±9.01
Heksāna atliekas / *Hexane residue*, mg kg^{-1}	2.03±0.02	-	-	10.08±0.08	-
Etanola atliekas / *Ethanol residue*, mg kg^{-1}	-	86.08±12.38	-	-	-
Hloroforma atliekas / *Chloroform residue*, mg kg^{-1}	-	22.04±0.77	-	-	-
Acetona atliekas / *Acetone residue*, mg kg^{-1}	-	-	26.31±4.12	28.12±8.21	-
2-metilpentāna atliekas / *Isohexane residue*, mg kg^{-1}	-	-	-	-	17.45±1.24

Pēc iegūtiem rezultātiem var novērot, ka lielākie šķīdinātāju atlikumi bija olu eļļās, kuru ekstrakcijai izmantoja šķīdinātājus ar augstāku viršanas temperatūru. Olu dzeltenums satur lielu ūdens daudzumu un, izmantojot spirtus eļļas ekstrakcijai, tie sajaucas ar dzeltenumā esošo ūdeni un var veidojot azeotropus maisījumus, kas ievērojami apgrūtina spirtu iztvaikošanu.

Nevienai eksperimentāli iegūtai olu eļļai šķīdinātāju atliekas nepārsniedz letālu devu, bet tomēr to saturs iegūtajās eļļās pārsniedza atļauto daudzumu pārtikas produktos. Piemēram, propan-2-ola saturs pārtikas eļļās nedrīkst pārsniegt 10 mg kg^{-1}, bet heksāna saturs 1 mg kg^{-1} (Direktīva 2009/32/EC, 2009).

Šķīdinātāju atlieku pamatā ir to neefektīva iztvaikošanās no ekstrakta. Šķīdinātāju iztvaikošanu var kavēt ekstraktā esošie fosfolipīdi. Šķīdinātāju iztvaikošanas procesā novērojām, ka samazinoties šķīdinātāju saturam ekstraktā, olu eļļa iegūst ļoti biezu konsistenci. Tādējādi neizpildas viens no galveniem rotācijas iztvaikošanas nosacījumiem – plāna slāņa veidošanos uz ietvaicēšanas kolbas virsmas un šķīdinātāju molekulas vienkarši pretojas jebkurām sapratīgām iztvaikošanas temperatūras un spiediena uzstādījumiem.

Salīdzinājumā ar augu eļļām (rapšu, saulespuķu, sojas) vai citām cilvēku uzturam paredzētām eļļām (riekstu, citrusaugu), pēc eļļas ekstrakcijas ar šķīdinātājiem seko eļļas attīrīšana, balināšana, dezodorācija (destilācija ar tvaiku) un dažkārt arī citi attīrīšanas procesi. Pēc tādas apstrādes eļļā vairs nav nekādu šķīdinātāju atlieku.

Mūsu pētījumā šķīdinātāju atdalīšanai no olu dzetenuma eļļas izmantojām ietvacēšanu pazeminātā spiedienā (150-350 mbar). Iztvaikošanas temperatūras uzstādījumus izvēlējamies pieskaitot noteikta šķīdinātāja viršanas temperatūrai vismaz +10°C. Šķīdinātāja tvaiku aizvadīšanu no iztvaikotāja nodrošina pazeminātsspiediens sistemā. Spiediena pazeminināšanai sistēmā ir noteikti ierobežojumi, kā arī šķīdinātāja tvaikiem jābūt atdalītiem no eļļas, pretējā gadījumā, ja šķīdinātājs paliek eļļā, pazeminātsspiediens nevar to atdalīt. Bet iztvaikošanas temperatūras paaugstināšana var izraisīt nevēlamas izmaiņas eļļā. Lai nodrošinātu efektīvāku šķīdinātāju atdalīšanu no eļļas ir nepieciešama gaisa vai kādas inertas gāzes pieplūde izvaikotāja kolbā.

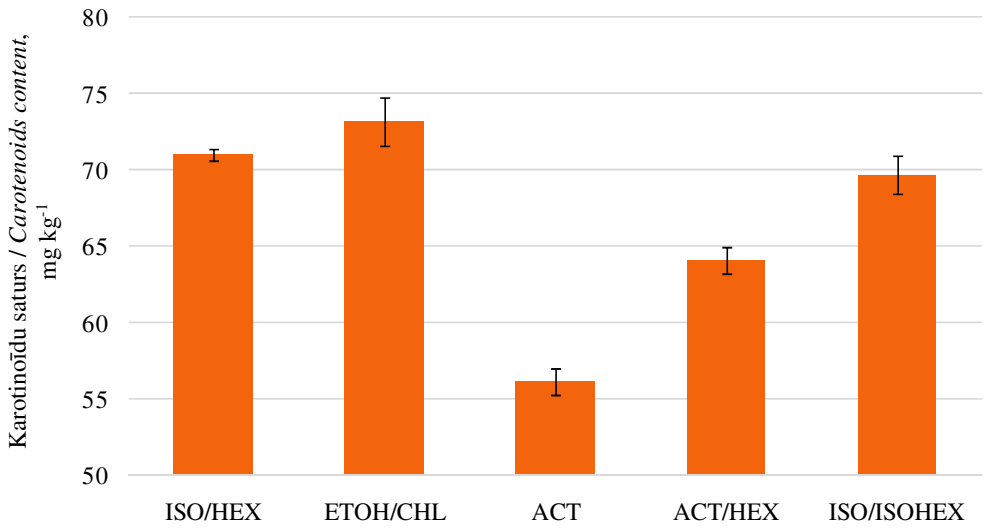
Kopējo karotinoīdu saturs

Olu eļļas pievilcīgo oranži-sarkano krāsu nodrošina dzeltenumā esošie karotinoīdi. Karotinoīdi piešķir olu eļļai ne tikai krāsu, bet arī bioloģisko vērtību un tieši tāpēc ir svarīgi zināt to saturu eļļā.

Mūsu pētījuma dati liecina, ka kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā mainījas atkarībā no ekstrakcijai izmantotiem šķīdinātājiem. Visaugstāka karotinoīdu koncentrācija bija atrodama ar etanolu/hloroformu (ETOH/CHL) ekstrahētajā olu eļļā 73.16±1.53 mg kg^{-1}, bet vismazāka ar acetonu (ACT) ekstrahētajā eļļā 56.14±0.89 mg kg^{-1}.

Karotinoīdu saturs olu dzeltenumā ir atkarīgs no dējējvistu barības sastāva un pēc dažādu autoru datiem svarstās robežās no 10.83 līdz 37.90 mg kg^{-1} (Kotrbacek *et al*., 2013; Kljak *et al*., 2012; Hammershoj *et al*., 2010). Pārrēķinot olu dzeltenuma kopējo karotinoīdu saturu uz dzeltenuma lipīdiem (34% tauku saturs), to saturs olu dzeltenumā eļļā var būt no 30.53 līdz 111.47 mg kg^{-1}.

Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no ekstrakcijai izmantotiem šķīdinātājiem ir apkopots 3.3. attēlā.



3.3. att. **Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no izmantotā ekstrakcijas šķīdinātāja /**
Fig. 3.3. ***Total carotenoid content of egg yolk oil extracted with different extraction solvents***

Olu dzeltenuma karotinoīdi ir atšķirīgi pēc polaritātes – luteīns un zeaksantīns ir izteikti polāri savienojumi, bet β-karotīns pretēji ir nepolārs. Lai izvērtētu karotinoīdu ekstrakcijas efektivitāti, izmantojot dažādus šķīdinātājus, 3.2. tabulā ir apkopota luteīna un β-karotīna šķīdība šajos šķīdinātājos.

3.2. tabula / *Table 3.2*

Luteīna un β-karotīna šķīdība dažādos šķīdinātājos* /
Solubility of lutein and β-carotene in diferent solvents

Šķīdinātājs / *Solvent*	**Šķīdība / *Solubility*, mg l^{-1}**	
	Luteīns / *Lutein*	**β-karotīns / *β-carotene***
Acetons / *Acetone*	800	200
Hloroforms / *Chloroform*	6000	2000
Heksāns / *Hexane*	20	600
Etanols / *Ethanol*	300	30
Propan-2-ols / *2-propanol*	400	40

*Avots: Craft, 1992

Kā var redzēt no 3.2. tabulas datiem, luteīna un β-karotīna šķīdība vienā konkrētā šķīdinātājā ir stipri atšķirīga. Visaugstākā luteīna un β-karotīna šķīdība ir hloroformā, ko apstiprinā arī mūsu novērojumi. ETOH/CHL šķīdinātāju maisījums bija izvēlēts pamatojoties uz Folch *et al*., 1957 metodi, kuru izmanto kopējo lipīdu noteikšanai audos, bet nomainot toksisko metanolu pret etanolu.

Viena aprotona šķīdinātāja acetona (ACT) izmanotošana ir neefektīva olu dzeltenuma karotinoīdu ekstrakcijai, bet acetona un nepolāra šķīdinātāju maisījuma izmantošana dod labākus rezultātus kopējo karotinoīdu ekstrakcijai olu eļļā (3.3. attēls).

Taukskābju saturs

Olu dzeltenums satur daudzus bioloģiski aktīvus savienojumus (Laca *et al*., 2010; Liu *et al*., 2010; Mazalli *et al*., 2004) un var kalpot par polinepiesātināto taukskābju avotu cilvēku uzturā (Filardi *et al*., 2005).

Iegūtie rezultāti parādīja, ka taukskābju profils visiem olu eļļas paraugiem ir aptuveni vienāds, bet pastāv atšķirība dažu taukskābju saturā atkarībā no ekstrakcijai izmantotā šķīdinātāja vai šķīdinātāju maisījuma. Olu dzeltenuma neitrālo triglicerīdu un fosfolipīdu tauskābju saturs ir atšķirīgs un, izmantojot dažādas polaritātes šķīdinātājus olu eļļas ekstrakcijai, var iegūt eļļu ar dažādu neitrālo un polāro lipīdu sastāvu un attiecīgi ar dažādu taukskābju saturu.

Taukskābju saturs olu eļļā, kas iegūta ekstrahējot olu dzeltenumu ar dažādiem šķīdinātājiem, attēlots 3.3. tabulā.

3.3. tabula / *Table 3.3*

Taukskābju saturs olu eļļā pēc ekstrakcijas ar dažādiem šķīdinātājiem /
Fatty acid profile of egg yolk oil extracted with different solvents

Taukskābes / *Fatty Acids*	**Taukskābju saturs / *Fatty acid content*, g 100g^{-1}**				
	ISO/HEX	**ETOH/CHL**	**ACT**	**ACT/HEX**	**ISO/ISOHEX**
C14:0	0.14±0.02	0.09±0.01	0.16±0.02	0.15±0.01	0.10±0.01
C14:1	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
C15:0	0.08±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01
C16:0	**22.72**±0.04	**22.27**±0.03	**22.74**±0.07	**22.60**±0.04	**22.70**±0.04
C16:1	0.28±0.02	0.29±0.01	0.18±0.02	0.26±0.02	0.28±0.02
C17:0	0.19±0.02	0.21±0.02	0.20±0.02	0.20±0.01	0.21±0.01
C17:1	0.12±0.01	0.11±0.01	0.14±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01
C18:0	**6.20**±0.21	**6.10**±0.03	**6.58**±0.32	**6.22**±0.02	**6.22**±0.08
C18:1 (cis 9)	**52.61**±0.06	**53.21**±0.13	**50.43**±0.09	**50.92**±0.08	**52.60**±0.20
C18:2 (cis 9, 12)	**13.67**±0.03	**13.65**±0.01	**15.57**±0.02	**15.02**±0.04	**13.30**±0.04
C18:3 (cis 6, 9, 12)	**1.72**±0.01	**1.77**±0.01	**1.83**±0.02	**1.78**±0.02	**1.68**±0.02
C20:1	0.23±0.01	0.22±0.01	0.19±0.01	0.21±0.01	0.22±0.01
C20:2	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
C20:3	0.19±0.02	0.15±0.01	0.22±0.02	0.22±0.02	0.18±0.01
C20:4	0.07±0.01	0.08±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01	0.08±0.01
C20:5	0.03±0.01	0.03±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01
C22:0	0.04±0.01	0.04±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
C22:1	0.03±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01
C22:4	0.08±0.02	0.09±0.01	0.04±0.01	0.06±0.01	0.09±0.01
C22:5	0.05±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01	0.06±0.01	0.05±0.01
C22:6 (cis 4,7,10,13,16,19)	**1.02**±0.02	**0.95**±0.02	**1.02**±0.19	**1.00**±0.01	**0.98**±0.02
C24:1	0.02	0.02	<0.01	0.01	0.01
Citas / *Other*	0.46±0.01	0.50±0.01	0.42±0.01	0.48±0.02	0.48±0.02
PTS / *SFA*	29.37±0.14	28.80±0.02	29.84±0.02	29.29±0.02	29.36±0.06
MNTS / *MUFA*	53.33±0.08	53.91±0.06	50.91±0.08	51.58±0.10	53.28±0.06
PNTS / *PUFA*	16.84±0.02	16.79±0.02	18.83±0.02	18.65±0.03	16.88±0.02

Olu dzeltenuma lipīdu piesātināto taukskābju saturu nosaka dējējvistu šķirne, nevis barības sastāvā esošās taukskābes. Bet nepiesātinātās un polinepiesātinātās taukskābes olu dzeltenuma lipīdos, pretēji, var mainīties atkarībā no barībā esošo nepiesātināto taukskābju satura.

Olu eļļas piesātināto taukskābju saturu var salīdzināt ar Petrovič *et al*. (2012) datiem, kurš savam pētījumiem arī izmantoja *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistas. Tā pēc Petrovič *et al*. (2012) pētījuma olu dzeltenuma lipīdos C14:0, C15:0, C16:0, C17:0 un C18:0 taukskābju saturs bija 0.37±0.02; 0.08±0.01; 0.20±0.04 un 7.52±0.52 g 100g^{-1} attiecīgi, kas ir ļoti tuvu mūsu noteiktām.

Pētījumā izmantotā dējējvistu barības sastāvā esošā rapšu eļļa ir bagāta ar polinepiesātinātām taukskābēm, kas ietekmē olu eļļas nepiesātināto taukskābju saturu.

Salīdzinot ar citu autoru pētījumiem (Souza *et al*., 2008; Stibilj *et al*., 1999), iegūtās olu eļļas satur vairāk oleīnskābi, bet mazāk palmitīnskābi un linolēnskābi.

3.1.2. Olu eļļas attīrīšana /
3.1.2. The purification of egg yolk oil

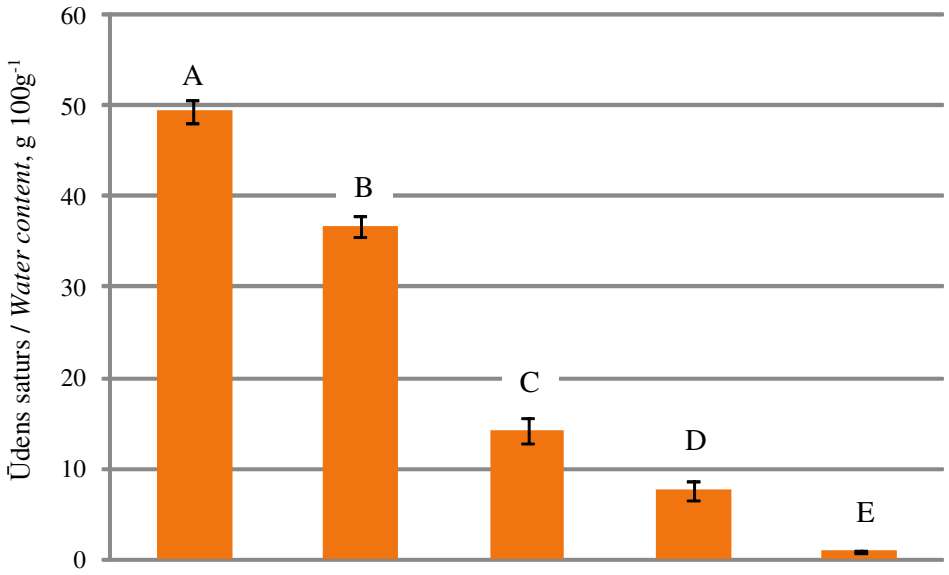
Pētījumā izmantotā svaiga šķidra olu dzeltenumā ūdens saturs bija 49.52±1.26 g $100g^{-1}$, bet iegūtajā olu eļļā ūdens saturs, atkarībā no izmantotā šķīdinātāja, bija robežās no 12.76±0.15 līdz 16.08±0.12 g $100g^{-1}$. Arī šķīdinātāju saturs iegūtajās eļļās stipri pārsniedza pieļaujamas robežas.

Augsts ūdens saturs un organisko šķīdinātāju klātbūtne pārtikas eļļās ne tikai ietekmē to kvalitātes un sensoras īpašības, bet var arī ievērojami samazināt eļļas uzglabāšanas laiku (Nelson, Labuza, 1992) un var būt nedroša lietošanai uzturā. Lai uzlabotu ekstrahētas olu eļļas kvalitātes īpašības un padarītu to drošu lietošanai, ir nepieciešams samazināt ūdens saturu tajā un atbrīvoties no šķīdinātāju klātbūtnes.

Ūdens satura samazināšana

Pēc olu eļļas ekstrakcijas daļa ūdens kopā ar kādu šķīdinātāja daudzumu palika denaturētājās olu dzeltenuma olbaltumvielās, bet cita daļa ekstrahējas kopā ar lipīdiem eļļas micellā.

Izmantojot propan-2-olu maisījumā ar heksānu, tas saista ūdeni un pāriet nepolārajā fāzē. To apstiprina novērojums, ka veidojas homogēns ekstrakts. Šajā gadījumā tikai neliela fāzu atdalīšanās tika novērota. Pēc ietvaicēšanas, kuras mērķis bija aizvadīt šķīdinātāju, olu eļļā bija noteikts ūdens saturs. Iegūtie rezultāti parādīja, ka, ekstrahējot olu eļļu ar propan-2-ola/heksāna maisījumu, ūdens saturs bija 14.75±0.15 g $100g^{-1}$ (3.4. attēls).



3.4. att. **Ūdens saturs olu dzeltenumā, lecitīnā un olu eļļās /**
Fig. 3.4. ***Water content in egg yolk, crude lecithin and egg yolk oils***
A - Olu dzeltenums / *Egg yolk*; **B** - Lecitīns / *Lecithin*; **C** - Olu eļļa (propan-2-ols/heksāns)/*Egg yolk oil (2-propanol/hexane)*; **D** - Olu eļļa (propan-2-ola izsālīšana)/*Egg yolk oil (salting out of 2-propanol)*; **E** - Olu eļļa (etanols + heksāns)/*Egg yolk oil (ethanol + hexane)*

Propan-2-ola atdalīšanu no ūdens un pāreju heksāna ekstraktā var sekmēt ar procesu, ko sauc par "izsālīšanu", kad neorganisku sāli, parasti nātrija hlorīdu, pievieno ūdenim, lai samazinātu propan-2-ola šķīdību tajā (Hasseine *et al.*, 2009). Pievienojot piesātinātu nātrija hlorīda šķīdumu propan-2-ola/heksāna ekstraktam, labi samaisot un nostādinot iegūto maisījumu, novērojam ūdens fāzes noslāņošanos. Pēc šķīdinātāju iztvaikošanas ūdens saturs olu eļļā būtiski samazinājās ($p<0.05$), sasniedzot 7.66±1.03 g $100g^{-1}$ (3.4. attēls).

Lai apstiprinātu pieņēmumu, ka liels ūdens saturs olu eļļā ir saistīts ar fosfolipīdiem, kuri absorbē ūdeni no šķidrā olu dzeltenuma, noteica ūdens saturu polārajā lipīdu frakcijā (lecitīnā), kas bija ekstrahēta no olu dzeltenuma ar etanolu. Iegūto etanola ekstraktu iztvaicēja un iegūtai polāro lipīdu frakcijai (lecitīnam) noteica ūdens saturu. Atkarībā no lecitīna ekstrakcijas metodes, ūdens saturs jellecitīnā var būt robežās no 30% līdz 50% (Palacios, Wang, 2005b). Eksperimentāli iegūtajā jēllecitīnā ūdens saturs bija 36.79±1.17 g $100g^{-1}$, kas atbilst literatūrā minētām robežām. Jellecitīns ar tik augstu ūdens saturu ir galvenais iemesls augstam ūdens saturam olu eļļā. Jellecitīna kaltēšana ir svarīga lecitīna attīrīšana metode un panākt to rotācijas ietvaicētājā praktiski nav iespējams zemās iztvaikošanas temperatūras dēļ (Palacios, Wang, 2005a). Līdz ar to, viena no iespējam samazināt ūdens saturu olu eļļā ir izslēgt polāros lipīdus ekstrakcijas procesā.

Lai atdalītu polārus lipīdus no olu dzeltenuma ir vajadzīgs stipri polārāks šķīdinātājs nekā propan-2-ols. Šim nolūkam ideāli piemērots ir etanols. Etanols is polārāks par propan-2-olu un līdzīgi kā propan-2-ols, tas denaturē dzeltenuma olbaltumvielas, atbrīvojot lipīdus no lipoproteīniem. Bet šajā gadījumā šķīdinātājus (etanolu un heksānu) nesajauc kopā, bet sākumā no šķidra dzeltenuma ar etanolu atdala polāros lipīdus un tad no palikušām dzeltenuma nogulsnēm ar heksānu ekstrahē neitrālos lipīdus. Un tikai tad abus ekstraktus sajauc un labi samaisa. Tā kā etanola un heksāna polaritātes ir stipri atšķirīgas, abi ekstrakti viegli sadalījās dalāmā piltuvē. Atdalot polāro etanola ekstraktu, izdevās iegūt neitrālo lipīdu ekstraktu heksānā, un pēc heksāna iztvaikošanas no ekstrakta ieguvām olu eļļu ar ūdens saturu 0.88±0.13 g $100g^{-1}$. Nenozīmīgs ūdens saturs, kas palika eļļā, var būt saistīts ar neprecīzu polāro un neitrālo lipīdu ekstraktu atdalīšanu, kad daļa no polāro lipīdu ekstrakta ar augstu ūdens saturu varēja nokļūt heksāna ekstraktā.

Šķīdinātāju atlieku noņemšana

Gaistošo organisku šķīdinātāju atdalīšanai no ekstraktiem izmanto rotācijas iztvaikotājus. Metodes pamatā ir šķīdinātāja iztvaikošana no ekstrakta plāna slāņa, kas veidojas uz iztvaikošanas kolbas virsmas tai rotējot. Lai samazinātu iztvaikošanas temperatūru, parasti iztvaikošanu veic pazemināta spiedienā. Bet izvēlētie iztvaikošanas režīmi neļāva pilnīgi atdalīt organiskos šķīdinātājus no olu eļļas. Iztvaikošanas temperatūras paaugstināšana var radīt nevēlamās izmaiņas lipīdos, tāpēc bija nepieciešams atrast citu veidu kā pilnībā atdalīt šķīdinātājus no ekstrakta.

Laboratorijās šķīdinātāju atdalīšanai no ekstraktiem bieži izmanto sausu un tīru slāpekli. Slāpeklis ir inerta gāze un, salīdzinājumā ar gaisu, nesatur skābekli, kas var reaģēt ar lipīdiem. Slāpekļa izmantošana rotācijas ietvaicētājā var sniegt labus rezultātus pilnīgai šķīdinātāju atdalīšanai no ekstraktiem, jo slāpekļa burbuļi, ejot cauri ekstraktam, ievērojami palielina iztvaikošanas virsmu un aiznes sev līdzi šķīdinātāju tvaikus. Slāpekļa ievadīšanu ekstraktā jānodrošina, nemainot iztvaicēšanas režīmus (temperatūru un spiedienu), tas pastiprinās šķīdinātāju un slāpekļa izvadīšanu no ekstrakta. Papildus tam, slāpeklis aizvada gaisu no eļļas, rezultātā samazinot lipīdu oksidāciju.

Šķīdinātāju saturs olu eļļā pēc ekstrakcijas ar etanolu un heksānu un pēc apstrādes ar slāpekli ir apkopots 3.4. tabulā.

3.4. tabula / *Table 3.4*

Šķīdinātāju atliekas olu eļļā pēc ekstrakcijas /
Solvent residues in egg yolk oil after extraction

Šķīdinātājs / *Solvent*	**Ekstrakcijas šķīdinātāju maisījums / *Extraction solvents***		
	ISO/HEX	**ETOH + HEX**	**ETOH + HEX + N_2**
2-propanols / *2-propanol*, mg kg^{-1}	264.14±7.18	-	-
Heksāns / *Hexane*, mg kg^{-1}	2.03±0.02	1.16±0.06	<0.01
Etanols / *Ethanol*, mg kg^{-1}	-	50.30±6.38	<0.01

Efektīvai šķīdinātāju atdalīšanai no ekstrakta rotācijas ietaicētājā ir nepieciešama ekstrakta plāna slāņa veidošanās uz iztvaikotāja kolbas virsmas, bet olu eļļa no propan-2-ola/heksāna ekstraktā šķīdinātāju iztvaicēšanas rezultātā veidoja biezu masu. Iztvaicējot heksāna ekstraktu pēc olu dzeltenuma ekstrakcijas ar etanolu un ar tālāku ekstrakciju ar heksānu (ETOH+HEX) olu eļļa pie uzstādītas temperatūras bija ļoti šķidra un veidoja plāno slāni uz rotācijas iztvaikotāja kolbas virsmas.

Samainot propan-2-olu pret gaistošāku etanolu, izdevās samazināt šķīdinātāja saturu eļļā. Šķīdinātāju iztvaikošana rotācijas ietvaicētāja notiek pazemināta spiedienā un šķīdinātāja gaistamībai šinī gadījumā ir noteicoša loma. Etanola viršanas temperatūra ir daudz zemāka par propan-2-ola viršanas temperatūru, līdz ar ko etanola atdalīšana no olu eļļas bija efektīvāka. Bet tomēr, etanola saturs eļļā vēljoprojām bija augsts (50.30±6.38 mg kg^{-1}), ko var izskaidrot ar neliela etanola ekstrakta nokļūšanu heksāna ekstraktā sliktas fāžu sadalīšanas rezultātā. Mūsu pētījumā fāžu nodalīšanai izmantojam nostādināšanu dalāmā piltuvē un tas nav īpaši efektīvs veids divu savā starpā nešķīstošu šķīdumu nodalīšanai, jo pateicoties fosfolipīdu klātbūtnei, ekstraktu samaisīšanas procesā varēja veidoties emulsija. Emulsijas sadalīšanai frakcijās nepieciešams izmantot efektīvāku metodi – piemērām centrifugēšanu.

Rotācijas ietvaicētājā pilnība atdalīt šķīdinātājus nav iespējams, bet izlaižot cauri olu eļļai slāpekli, iespējams iegūt eļļu bez šķīdinātāja (etanols un heksāns) klātbūtnes (3.4. tabula). Slāpekļa optimāla patēriņa un apstrādes laika noteikšanai ir nepieciešami tālākie pētījumi, bet jau ir skaidrs, kā šķīdinātāju pilnīgu atdalīšanu no olu eļļas var realizēt arī liela mēroga ražošanā, izmantojot rūpnieciskus slāpekļa ģeneratorus, kas ražo tīru un sausu slāpekli.

Taukskābju un kopējo karotinoīdu saturs olu eļļās

Lai izvērtētu olu eļļas divsoļu ekstrakcijas ar etanolu un heksānu ietekmi uz olu eļļas bioloģiski aktīvu vielu saturu, olu eļļām noteica taukskābju un kopējo karotinoīdu saturu.

Iegūtie rezultāti parādīja (3.5. tabula), ka lielākā daļa piesātināto un mononepiesātināto taukskābju satura olu eļļā nav būtiski mainījusies, nomainot ekstrakcijas šķīdinātājus un apstrādājot olu eļļu ar slāpekli.

3.5. tabula / *Table 3.5*

Taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no ekstrakcijas šķīdinātājiem /
Fatty acid content in egg yolk oils extracted with different solvents

Taukskābes / *Fatty Acids*	**Ekstrakcijas šķīdinātājs / *Extraction solvent***		
	ISO/HEX	**ETOH+HEX**	**ETOH+HEX+N_2**
	g $100g^{-1}$	**g $100g^{-1}$**	**g $100g^{-1}$**
C16:0	22.72±0.04	22.70±0.04	22.74±0.02
C18:0	6.20±0.21	6.19±0.08	6.19±0.06
C18:1	52.61±0.06	51.83±0.08	51.82±0.02
C18:2	13.67±0.03	13.70±0.03	13.71±0.02
C18:3	1.72±0.01	2.16±0.01	2.16±0.01
C22:6	1.02±0.02	0.76±0.01	0.75±0.02
Citas / Other	0.46±0.01	0.54±0.01	0.57±0.01
NTS / *SFA*	29.37±0.20	29.37±0.08	29.41±0.08
MNTS / *MUFA*	53.33±0.06	52.19±0.08	52.16±0.06
PNTS / *PUFA*	16.84±0.02	17.90±0.02	17.86±0.02

Ekstrakcijas procesa izmaiņas skāra oleīnskābes (C18:1), linolēnskābes (C18:3) un cervonskābes (C22:6) koncentrāciju eļļā. Cervonskābes (C22:6) saturs olu eļļā, ko ieguva ar divsoļu ekstrakciju ar etanolu un heksānu ar tālāko apstrādi ar slāpekli (ETOH+HEX+N_2), bija būtiski ($p<0.05$) mazāks nekā ar propan-2-ola/heksāna (ISO/HEX) ekstrahēta eļļā. Šīs polinepiesātinātas taukskābes satura samazinājums eļļā, kas iegūta ar ETOH+HEX+N_2, ir saistīts ar fosfolipīdu trūkumu šajā eļļā, jo lielāka daļa olu dzeltenuma lipīdos esošās cervonskābes atrodas tieši fosfolipīdu sastāvā. Turpretim, linolēnskābes (C18:3) saturs

ETOH+HEX+N_2 ekstrahētājā eļļā palielinājās, salīdzinājumā ar ISO/HEX eļļu, jo pēc Palacios, Wang (2005a) olu dzeltenuma fosfolipīdos (PE un PC) α-linolēnskābe nav atrodama.

Kopējo karotinoīdu saturs ETOH+HEX+N_2 ekstarhētajā olu eļļā bija 32.2±0.28 mg kg^{-1}, kas ir būtiski ($p<0.05$) mazāk nekā 71.02±0.37 mg kg^{-1} olu eļļā, kuru ieguva, ekstrahējot dzeltenumu ar ISO/HEX maisījumu. Kopējo karotinoīdu satura starpības pamatā ir šo savienojumu polaritāte. Daži olu dzeltenuma karotinoīdi (luteīns, zeaksantīns) ir stirpi polāri savienojumi, bet daži (β-karotīns) ir izteikti nepolārie. ISO/HEX ekstrahētā eļļā ir visi dzeltenumā esošie karotinoīdi, bet ETOH+HEX+N_2 ekstarhētajā olu eļļā pārsvarā ir nepolārais β-karotīns un etanolā nešķīstošais kantaksantīns (Kovalcuks, 2014). Pazemināts karotinoīdu saturs ETOH+HEX+N_2 ekstarhētajā olu eļļā negatīvi ietekmē eļļas bioloģisku vērtību.

3.1.3. Olu dzeltenuma lipīdu un karotinoīdu dinamika olu eļļas ekstrakcijas procesā / *Dynamics of egg yolk lipids and carotenoids during egg yolk oil extraction process*

Lai izvērtētu lipīdu dinamiku olu eļļas ekstrakcijas procesā, pirmkārt, bija nepieciešams noteikt kopējo lipīdu saturu olu dzeltenumā. Zināms, ka vidējais lipīdu saturs vistu olu dzeltenumā ir 29 g $100g^{-1}$ un tas nav atkarīgs no vistu šķirnes vai barības sastāva (Gonzalez-Munoz *et al*., 2009). Olu eļļas ekstrakcijai izmantotā dzeltenuma kopējais lipīdu saturs bija 28.34±0.24 g 100 g^{-1}, no kura teorētiski tika izrēķināts fosfolipīdu, holesterīna un karotinoīdu saturs 100 g olu dzeltenuma lipīdos turpmākai šo savienojumu analīzei ekstrahētā olu eļļā. Fosfolipīdu un holesterīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā ir apkopots 3.6. tabulā.

3.6. tabula / *Table 3.6*

Fosfolipīdu un holesterīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā / *Phospholipids and cholesterol content in egg yolk and egg yolk oil*

Parametrs / *Parameter*	**Dzeltenums / *Yolk***	**Dzeltenuma lipīdos (aprēķināts) / *Corresponds to yolk lipids (calculated)***	**Olu eļļa / *Egg yolk oil***
Kopējo lipīdu saturs / *Total lipids*, g $100g^{-1}$	28.34±0.24	100	-
Fosfatidīlholīns / *Phosphatidylcholine* (PC), g $100g^{-1}$	7.820±0.140	27.59	0.582±0.009
Fosfatidīletanolamīns / *Phosphatidylethanolamine* (PE), g $100g^{-1}$	1.622±0.090	5.72	0.011±0.002
PC + PE, g $100g^{-1}$	9.442	33.32	0.593
Holesterīns / *Cholesterol*, g $100g^{-1}$	1.011±0.010	3.567	3.105±0.024

Ekstrahējot olu dzeltenumu ar etanolu un heksānu, olu eļļas iznākums sastādīja 18.66±0.58 g $100g^{-1}$, kas ir būtiski ($p<0.05$) mazāks par eļļas iznākumu ko ieguva vienkaršā ekstrakcijā ar citiem šķīdinātājiem (26.37±0.24 g $100g^{-1}$ līdz 29.99±0.18 g $100g^{-1}$).

Tā kā fosfatidīlholīns (PC) un fosfatidīletanolamīns (PE) ir galvenie olu dzeltenuma fosfolipīdi, tad fosfolipīdu dinamikas analīzei olu eļļas ekstrakcijas procesā bija izmantoti tieši tie. PC un PE saturs olu dzeltenumā sastādīja, attiecīgi, 7.820±0.140 g $100g^{-1}$ un 1.622±0.090 g $100g^{-1}$.

Holesterīna saturs olu dzeltenuma bija 1.011±0.010 g $100g^{-1}$, kas ir vidējais līmenis, salīdzinot ar citu pētījumu (Vorlova *et al*., 2001) rezultātiem.

Dažu bioloģiski aktīvo vielu saturs olās ir saistīts ar to saturu vistu barībā (Jiang *et al*., 1994) un karotinoīdi ir vieni no tiem. Karotinoīdi nevar sintezēties dējējvistu organismā un

tos ir jāuzņem ar barību. Analizējamā olu dzeltenumā tika atrasti četri galvenie karotinoīdi – luteīns, zeaksantīns, kantaksantīns un β-karotīns (3.7. tabula).

3.7. tabula / *Table 3.7*

Karotinoīdu saturs olu dzeltenumā un olu eļļā /
Carotenoids content in egg yolk and egg yolk oil

Parametrs / *Parameter*	**Dzeltenums / *Yolk***	**Dzeltenuma lipīdos (aprēķināts) / *Corresponds to yolk lipids (calculated)***	**Olu eļļa / *Egg yolk oil***
Luteīns / *Lutein*, mg kg^{-1}	8.3±0.2	29.3	3.3±0.7
Zeaksantīns / *Zeaxanthin*, mg kg^{-1}	4.2±0.1	14.8	1.3±0.1
Kantaksantīns / *Canthaxanthin*, mg kg^{-1}	5.3±0.1	18.7	16.8±0.2
β-karotīns / *β-carotene*, mg kg^{-1}	1.1±0.1	3.9	3.8±0.1

Luteīns bija dominējošais karotinoīds olu dzeltenumā un to saturs dzeltenuma paraugā sastādīja 8.3±0.2 mg kg^{-1}. Arī citos pētījumos luteīnu noteica kā galveno olu dzeltenuma karotinoīdu un tā saturs ierindojās no 2.7 līdz 10.7 mg kg^{-1} un bija atkarīgs no dējējvistu barības satura (Hamulka *et al*., 2005).

Olu dzeltenumā tika atrasts arī zeaksantīns. Perry *et al*., 2009 pētījumā luteīna un zeaksantīna attiecība olu dzeltenumā bija 1:1. Mūsu pētījumā izmantotā olu dzeltenumā zeaksantīna saturs sastādīja 4.2±0.1 mg kg^{-1}, kas ir vienāds luteīna/zeaksantīna attiecībai 2:1.

Trešais olu dzeltenumā atrastais karotinoīds bija kantaksantīns. Kantaksantīns, līdzīgi kā citi karotinoīdi, olu dzeltenumā nokļūst ar vistas barību. Kantaksantīnu pievieno dējējvistu barībai kā piedevu – krāsvielu, kuras deva barībā ir stingri kontrolēta. Eiropas Savienībā kantaksantīna saturs dējējvistu barībā nedrīkst pārsniegt 8 mg kg^{-1} (EFSA, 2014). Mūsu dzeltenuma paraugā kantaksantīna saturs bija 5.3±0.1 mg kg^{-1} un dzeltenuma krāsa bija spilgti oranža, kas jau netieši norādīja uz kantaksantīna klātbūtni.

Kā pēdējais olu dzeltenuma karotinoīds tika noteikts β-karotīns un tā saturs dzeltenumā bija tikai 1.1±0.1 mg kg^{-1}. β-karotīns ir A vitamīna priekštecis (provitamīns A) un zems β-karotīna saturs olu dzeltenumā var būt saistīts ar tā ātru pāreju A vitamīna aktīvajā formā.

Fosfolipīdu saturs olu eļļā bija ļoti mazs, fosfatidīlholīns 0.582±0.009 g $100g^{-1}$ un fosfatidīletanolamīns 0.011±0.009 g $100g^{-1}$, kas ir 2.11% un 0.19%, attiecīgi, no kopējā fosfatidīlholīna un fosfatidīletanolamīna daudzuma olu dzeltenumā (3.8. tabula).

3.8. tabula / *Table 3.8*

Fosfolipīdu un holesterīna sadalījums etanola un heksāna ekstraktos /
Distribution of phospholipids and cholesterol in ethanol and hexane extracts

Lipīdi / *Lipid*	**Etanola ekstrakts / *Ethanol extract***	**Heksāna ekstrakts pēc ekstrakcijas ar etanolu / *Hexane extract following ethanol extraction***
Fosfatidīlholīns / *Phosphatidylcholine* (PC)	97.89 %	2.11 %
Fosfatidīletanolamīns / *Phosphatidylethanolamine* (PE)	99.81 %	0.19 %
PC + PE	98.22 %	1.78 %
Holesterīns / *Cholesterol*	12.95 %	87.05 %

Fosfolipīdu sadalījums ekstraktos bija līdzīgs kā (Ahn *et al*., 2006) darbā, kur lielākā daļa fosfolipīdu bija ekstrahēta ar etanolu. Fosfolipīdu ekstrakcija ar etanolu un ar tālāko attīrīšanu ar acetonu ir pamatmetode lecitīna ražošanai (Palacios, Wang, 2005b), tāpēc fosfatidīlholīna un fosfatidīletanolamīna koncentrēšanās etanola ekstraktā bija paredzama.

Turpretim, holesterīna sadalījums etanola un heksāna ekstraktos bija pretrunā ar gaidāmo rezultātu. Lielāka daļa holesterīna molekulas ir nepolāra un tāpēc holesterīnam vajadzēja ekstrahēties ar heksānu (Chen *et al*., 2009). Bet, iespējams, ka fosfolipīdu saturs etanola un heksāna ekstraktu maisījumā izraisīja daļēju holesterīna pāreju etanola ekstraktā. Citos pētījumos ir aprakstīta fosfolipīdu spēja saistīt holesterīnu (Paik, Blair, 1996), kas var tikt skaidrots ar fosfolipīdu emulģējošām īpašībām. Šajā konkrētajā gadījumā, daļa holesterīna tiek satverta ar fosfolipīdiem un pārnesta uz etanola/ūdens fāzi etanola un heksāna ekstraktu samaisīšanas laikā (Daragan *et al*., 2000). Fosfolipīdi ūdenī var uzbriest un ieslēgt sevī kādu holesterīna daļu, bet šī daļa, kas pārgāja etanola ekstraktā, bija neliela, tikai 12.95% no kopēja olu dzeltenumā esošā holesterīna. Atlikusī daļa holesterīna bija brīvais holesterīns un tas izšķīda heksānā. Lai atdalītu holesterīnu un neitrālos lipīdus no fosfolipīdu frakcijas (Palacios, Wang, 2005b), izmantoja papildus ekstrakciju ar heksānu vai acetonu, un neliela daļa holesterīna palika attīrītājā olu dzeltenuma lecitīnā. Līdzīgi arī mūsu pētījumā, pateicoties daļējai holesterīna pārejai etanola ekstraktā, holesterīna saturs olu eļļā sastādīja 3.105 g $100g^{-1}$ vai 87.05% no kopēja holesterīna satura olu dzeltenuma lipīdos.

Karotinoīdu uzvedība divu šķīdinātāju sistēmā ir saistīta ar to polaritāti un šķīšanas pakāpi dotajos šķīdinātājos (Rivera, Canela, 2012). Olu dzeltenuma karotinoīdu sadalījums etanola un heksāna ekstraktos ir apkopots 3.9. tabulā.

3.9. tabula / *Table 3.9*

Karotinoīdu sadalījums etanola un heksāna ekstraktos /
Distribution of carotenoids in ethanol and hexane extracts

Karotinoīda nosaukums / *Carotenoid name*	**Etanola ekstrakts / *Ethanol extract***	**Heksāna ekstrakts pēc ekstrakcijas ar etanolu / *Hexane extract following ethanol extraction***
Luteīns / *Lutein*	88.74 %	11.26 %
Zeaksantīns / *Zeaxanthin*	91.22 %	8.78 %
Kantaksantīns / *Canthaxanthin*	10.16 %	89.84 %
β-karotīns / *β-carotene*	2.56 %	97.44 %

Luteīns un zeaksantīts, kā vispolārākie olu dzeltenuma karotinoīdi, tika ekstrahēti etanola/ūdens fāzē. Šo karotinoīdu koncentrēšanās etanola ekstraktā saistīta arī ar šo savienojumu šķīdību etanolā un heksānā. Piemērām, luteīna šķīdība heksānā pēc dažādu autoru datiem ir no 10 līds 15 reizēs mazāka nekā etanolā (Craft, 1992). Tas var būt izskaidrojams ar to, ka luteīna un zeaksantīna molekulās ir divas hidroksilgrupas, kas arī nodrošina labu šķīdību polārajā etanolā. Mūsu pētījumā luteīna un zeaksantīna koncentrācija etanola ekstraktā veidoja, attiecīgi, 88.74% un 91.22% no kopēja šo karotinoīdu satura olu dzeltenuma lipīdos.

Kantaksantīns ir ketokarotinoīds, polārs savienojums, kas saturs divas karboksil grupas, bet tas nešķīst etanolā un ūdenī. Arī kantaksantīna šķīdība heksānā ir ierobežota (Rivera, Canela, 2012). Šķīdinātāju sistēmā, kas sastāv no etanola, heksāna un ūdens, kantaksantīns galvenokārt koncentrējas heksānā. Kantaksantīna koncentrācija heksāna ekstraktā bija 89.84% no kopējā kantaksantīna daudzuma olu dzeltenuma lipīdos, un tikai neliela daļa kantaksantīna tika ekstrahēta ar etanolu, ko var skaidrot ar kantaksantīna ieslēgšanu fosfolipīdu veidotā emulsijā.

97.44% no kopējā olu dzeltenuma lipīdos pieejamā β-karotīna koncentrējas heksāna ekstraktā. β-karotīns ir visnepolārākais no olu dzeltenuma karotinoīdiem, tāpēc tas gandrīz

pilnīgi ekstrahējas nepolārajā heksānā un kopā ar kantaksantīnu kļuva par galveniem olu eļļas karotinoīdiem (pigmentiem).

Olu dzeltenuma karotinoīdiem ir dažādi krāsu toņi, luteīns un zeaksantīns ir pieskaitāmi pie dzelteniem karotinoīdiem, β-karotīns ir oranžs, kantaksantīns pieder pie sarkaniem karotinoīdiem. Šo krāsu un attiecīgi karotinoīdu sadalījumu varēja vizuāli novērot etanola un heksāna ekstraktu sadalīšanas procesā dalāmā piltuvē (3.5. attēls). Heksāna ekstraktam ir mazāks blīvums un tās novietojas dalāmas piltuves augšēja slānī, kas nokrāsojas spilgti oranžs. Bet etanola/ūdens fāze, kas bija blīvāka, novietojas dalāmās piltuves apakšā un, pateicoties tajā izšķīdušiem luteīnam un zeaksantīnam, ieguva dzeltenu krāsu.

3.5. att. **Karotinoīdu sadalījums starp etanola un heksāna fāzēm /**
Fig. 3.5. ***Distribution of carotenoids in ethanol and hexane phases***

Luteīns ir svarīgākais olu dzeltenuma karotinoīds un tam ir būtiska loma cilvēku veselības nodrošināšanā (Goodrow *et al*., 2006), tāpēc mazu luteīna saturu olu eļļā var uzskatīt par trūkumu. Bet, apzinoties olu dzeltenuma luteīna bioloģisko pieejamības līmeni, kas ir 3 reizēs augstāks par augu izcelsmes luteīnu (Chung *et al*., 2004), olu eļļa joprojām var būt nozīmīgs luteīna avots cilvēka uzturā.

3.1. nodaļas kopsavilkums

Ekstrahējot šķidru olu dzeltenumu ar mazpolāriem šķīdinātājiem vai mazpolāro un nepolāro šķīdinātāju maisījumiem, ir iespējams iegūt olu eļļu, kas ir bagāta ar polinepiesātinātajām taukskābēm un karotinoīdiem. Liels ūdens un šķīdinātāju atlieku saturs iegūtajās olu eļļās var radīt nevēlamas olu eļļas kvalitātes izmaiņas, tāpēc ir nepieciešama olu eļļas attīrīšana.

Izmantojot divsoļu olu dzeltenuma ekstrakciju ar etanolu un heksānu, var iegūt olu eļļu ar minimālu ūdens saturu. Olu eļļu ir iespējams pilnīgi attīrīt no šķīdinātāju atliekam, ja pēc šķīdinātāja iztvaicēšanas rotācijas ietvaicētājā apstrādāt eļļu ar slāpekli. Olu eļļas ekstrakcija ar etanolu un heksānu ietekmē tās taukskābju saturu, ievērojami samazina fosfolipīdu, luteīna un zeaksantīna saturu.

Fosfolipīdu, holesterīna un karotinoīdu sadalījums etanola un heksāna ekstraktos ir atkarīgs no šo savienojumu polaritātes.

Summary of chapter 3.1

For extraction of egg yolk oil from liquid egg yolk semipolar and non-polar solvents and its mixtures can be used. Extracted egg yolk oil is rich in polyunsaturated fatty acids and carotenoids. But high water content and solvent residues in extracted egg yolk oil, decrease its quality, therefore egg yolk oil must be purified.

Two stage extraction with etanol and hexane decrease water content in egg yolk oil, but nitrogen usage, as a last step in solvent evaporation, removes all solvent residues from the egg yolk oil. Two stage extraction with ethanol and hexane affect fatty acid content and decrease phospholipids, lutein and zeaxanthin content of egg yolk oil.

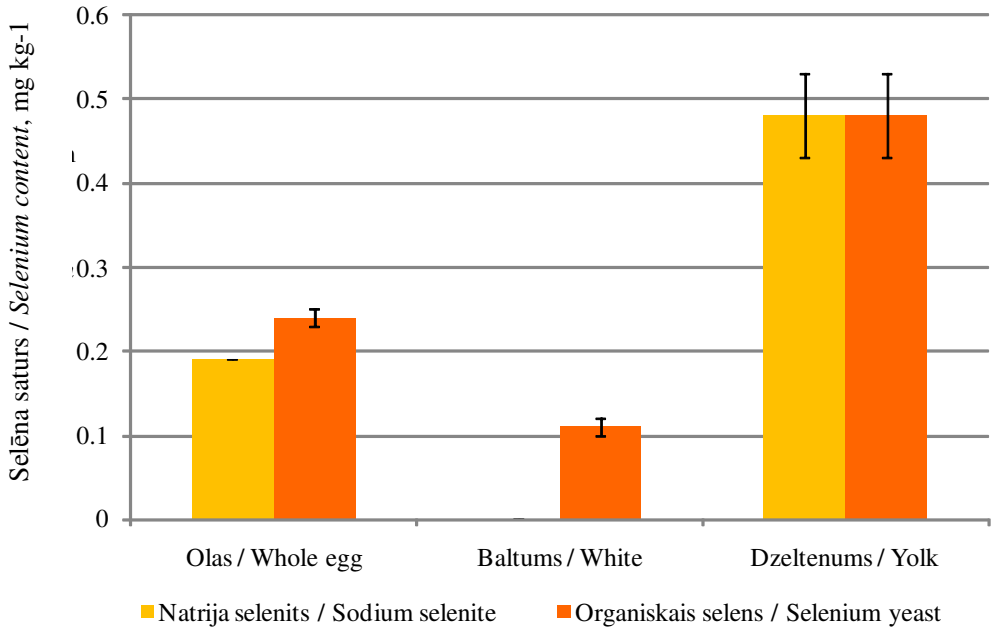
Distribution of phospholipids, cholesterol and carotenoids between ethanol and hexane extracts depends from polarity of these conpounds.

3.2. Olu eļļas kvalitātes un bioloģiski aktīvo vielu satura ietekmējošo faktoru analīze / *Analysis of factors affecting egg yolk oil quality and bioactive compound content*

3.2.1. Dējējvistu barības sastāva ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā / *Effect of laying hen feed on bioactive compound content of egg yolk oil*

Daudzi pētījumi ir pierādījuši, ka, mainot bioloģiski aktīvo vielu saturu vistu barībā, iespējams izmainīt šo savienojumu saturu olās. Viens no zināmiem mikroelementiem, kas nepieciešams cilvēka organisma normālai funkcionēšanai, ir selēns (Se). Šī ķīmiskā elementa loma dzīvajos organismos saistīta ar daudziem bioķīmiskiem procesiem, piemēram, tas ietilpst enzīma glutationperoksidāzes sastāvā, kas aizsargā šūnas no oksidēšanās produktu iedarbības (McKenzie *et al*., 1998). Ir pētījumi par selēna satura paaugstināšanas iespējām dažādos pārtikas produktos, tai skaitā olās, izmantojot selēnu saturošus raugus (Surai, 2006; Payne *et al*., 2005).

Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka selēna saturs olās mainās atkarībā no izmantotā selēna veida dējējvistu barībā (3.6. attēls). Bet selēna saturs barībā ir neliels (0.20±0.02 mg kg^{-1} receptūrā ar nātrija selenītu un 0.30±0.03 mg kg^{-1} receptūrā ar selenizētu raugu), arī šī mikroelementa saturs olās (0.19 mg kg^{-1} nātrija selenīta gadījumā un 0.24±0.01 mg kg^{-1} – organiskā selēna gadījumā) ir mazāks nekā citu autoru darbos minētie lielumi (Ajamal, 2011; Bennet, Cheng, 2010; Mohiti-Alsi *et al*., 2008; Jiakui, Xialong, 2004).



3.6. att. **Selēna sadalījums olās /**
Fig. 3.6. ***Distribution of selenium in eggs***

Bez tam, mūsu pētījumi veikti rūpnieciskos apstākļos, kur analizētie olu paraugi bija iegūti no 150000 vistām, kamēr literatūrā minētie rezultāti iegūti no eksperimentālām grupām, kurās vistu skaits bija līdz simtam un putni bija sadalīti mazās grupās pa 2-3 putni atsevišķos būros ar precīzi kontrolējamiem vides apstākļiem, barošanu un dzirdināšanu (Ajamal, 2011; Bennet, Cheng, 2010; Mohiti-Alsi *et al*., 2008; Jiakui, Xialong, 2004). Pastāv daudzi faktori, kas var ietekmēt analīžu rezultātus rūpnieciski ražotām olām, tādas kā putnu veselība, stress un citi. Daudzos pētījumos, līdzīgi kā mūsu pētījumā, putnu vecums bija aptuveni 60 nedēļas, līdz ar to putnu vecums nevar būt galvenais rezultātu atšķirības faktors.

Benet, Cheng (2010) pētījumos varam atrast lineāru sakarību starp organiskā selēna koncentrāciju barībā un gala produktā – olās. Viņi atzīmēja, ka, lai saražotu olas ar selēna saturu 0.8, 1.6, vai 3.7 mg kg^{-1}, ir nepieciešams dējējvistām sabarot barību, kas satur 1.3, 2.8, vai 5.7 mg kg^{-1} organiskā selēna, attiecīgi. Mūsu iegūtie rezultāti parādīja, ka olās no barības pāriet 80% no organiskā selēna, kur 0.3±0.03 mg kg^{-1} organiskā selēna barības devā 0.24±0.01 mg kg^{-1} selēna olās, bet neorganiskā selēna gadījumā šī pāreja ir 95%, kur 0.20±0.02 mg kg^{-1} neorganiskā selēna barībā deva vidēji 0.19 mg kg^{-1} selēna olās. Pamatojoties uz iegūtajiem rezultātiem, nevar piekrist, ka lielāku selēna saturu olās var iegūt, izmantojot organiskā selēna piedevas barībā. Bet, tā kā šis mikroelements tika noteikts abos olu paraugos, tas dod iespēju analizēt tā sadalījumu olās atkarībā no selēna veida (organiskais/neorganiskais) (3.6. attēls).

Selēna saturs olas baltumā (no nātrija selenītu saturošas barības) bija mazāks par analītiskās metodes noteikšanas jutību (0.05 mg kg^{-1}), bet baltumā no organisko selēnu saturošas barības 0.11±0.01 mg kg^{-1}. Līdzīgus rezultātus ieguvuši arī citi pētnieki Mohiti-Asli *et al*. (2008) un Payne *et al*. (2005), kuru pētījumos, izmantojot barību ar organiskā selēna piedevu, iespējams iegūt lielāku selēna saturu olas baltumā, salīdzinot ar neorganiskā selēna piedevu. Selēna saturs olas dzeltenumā ir būtiski lielāks ($p<0.05$) par selēna saturu olas baltumā un veido 0.48±0.05 mg kg^{-1} abos dzeltenuma paraugos neatkarīgi no barībā izmantotā selēna veida. Iegūtie rezultāti par selēna saturu olu dzeltenumā ir līdzīgi citu pētnieku rezultātiem (Jiakui, Xialong, 2004; Surai, Dvorska, 2001).

Tā kā olu dzeltenums tiek izmantots olu eļļas iegūšanai, tad tālāk tika analizēts selēna saturs olu eļļā, kā arī izvērtēta iespējamā selēna un E vitamīna mijiedarbība. Jāatzīmē, ka nosakot selēna saturu olu eļļā, tā saturs bija zemāks par metodes jutības līmeni <0.05 mg kg^{-1}. Iegūtie rezultāti apstiprināja pieņēmumu, ka olu eļļas ekstrakcijas rezultātā ar organiskiem šķīdinātājiem no olu dzeltenuma nav iespējams iegūt ar selēnu bagātu olu eļļu. Tā kā selēns olās ir iesaistīts olbaltumvielu sastāvā, tas, pēc olu eļļas ekstrakcijas, palika olbaltumvielu frakcijā.

Mēs nekonstatējam selēna klātbūtni olu eļļā, tāpēc šī mikroelementa mijiedarbība ar E vitamīnu var tikt analizēta tikai olu dzeltenumā. Bija svarīgi saprast vai selēna un E vitamīna saturs olu dzeltenumā ir atkarīgs viens no otra.

Ajamal (2011) ziņoja, ka, palielinot selēna saturu vistu barībā, palielinās gan selēna saturs olas dzeltenumā, gan arī E vitamīna saturs tajā. Tā kā eksperimentāli iegūtajos olu dzeltenumos selēna saturs bija vienāds, tad nebija iespējams izvērtēt selēna satura ietekmi uz E vitamīna saturu olu dzeltenumā. Taču jāatzīmē, ka iegūtie rezultāti parādīja, ka E vitamīna saturs olas dzeltenumā nav atkarīgs no selēna formas, kas tiek izmantota kā barības piedeva, jo praktiski vienāds E vitamīna saturs tika noteikts abos olu dzeltenuma paraugos.

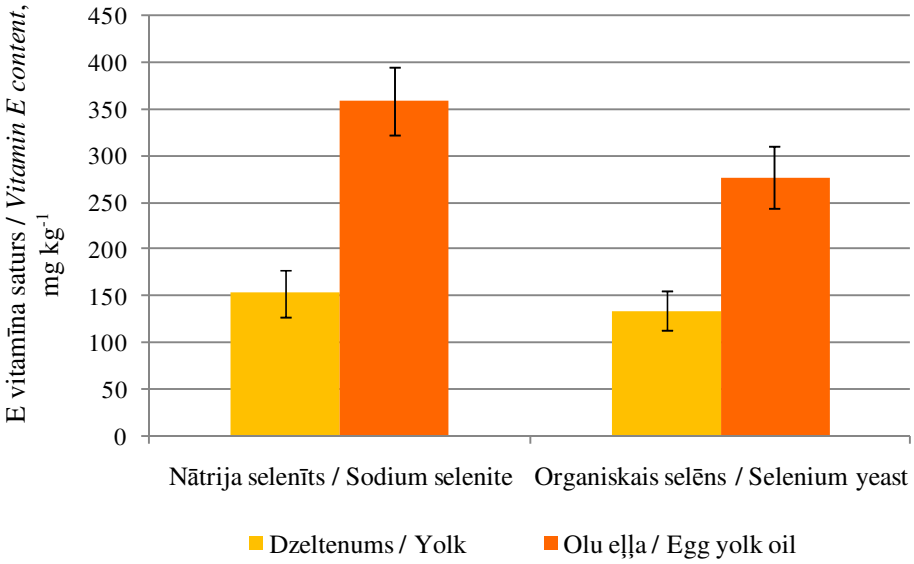
Olu dzeltenumā un olu eļļā galvenās E vitamīna formas ir α-tokoferols un γ-tokoferols, bet β-tokoferols tika noteikts olu eļļā, kas ekstrahēta no olām, bagātinātām ar neorganisko selēnu (3.10. tabulā).

3.10. tabula / *Table 3.10*

Tokoferolu saturs olu dzeltenumā un olu eļļā /
Tocopherol profile of egg yolk and egg yolk oil

Rādītāji / ***Parameters***	**Nātrija selenīts /** ***Sodium selenite***		**Organiskais selēns /** ***Organic selenium***	
	Olu dzeltenums / ***Egg yolk***	**Olu eļļa /** ***Egg yolk oil***	**Olu dzeltenums /** ***Egg yolk***	**Olu eļļa /** ***Egg yolk oil***
α-tokoferols / *α-tocopherol*, mg kg^{-1}	132±20	254±30	114.0±17	242±29
β-tokoferols / *β-tocopherol*, mg kg^{-1}	n.d.	65±1	n.d.	n.d.
δ-tokoferols / *δ-tocopherol*, mg kg^{-1}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ-tokoferols / *γ-tocopherol*, mg kg^{-1}	22±5	39±5	21±5	36±4

E vitamīna kopējais saturs, izteikts kā tokoferolu summa, olu dzeltenumā un olu eļļā redzams 3.7. attēlā. Eksperimentos izmantotajās abās barības receptūrās E vitamīna saturs bija mazs – 25±2 mg kg^{-1}, bet E vitamīna saturs olu dzeltenumā tika noteikts 154±25 mg kg^{-1} ar neorganiskā selēna piedevu un 135±22 mg kg^{-1} ar organiskā selēna piedevu. Iegūtie rezultāti ir aptuveni divas reizes lielāki nekā minēts Mohiti-Asli *et al*. (2008) darbā, kur E vitamīna saturs olu dzeltenumā veidoja 88 mg kg^{-1}, kad vistu barība nebija bagātināta ar šo vitamīnu, bet ja barībā E vitamīna saturs tika palielināts līdz 200 mg kg^{-1}, tad olu dzeltenumā tā saturs veidoja 485.37 mg kg^{-1} (Mohiti-Asli *et al*., 2008). Tas nozīmē, ka olu dzeltenumā E vitamīna saturs ir 2.4 reizeslielāks nekā barībā. Mūsu iegūtajos rezultātos E vitamīna saturs olu dzeltenumā bija līdz 6 reizem lielāks nekā barībā.



3.7. att. **E vitamīna saturs olu dzeltenumā un olu eļļā /**
Fig. 3.7. ***Vitamin E content in egg yolk and egg yolk oil***

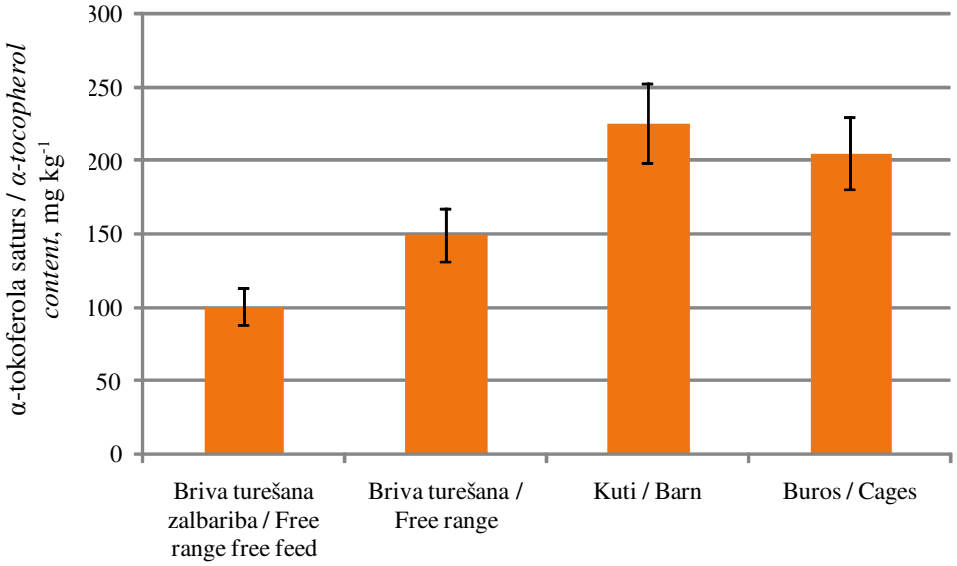
E vitamīna saturs olu eļļā, kas iegūta no olām, bagātinātām ar neorganisko selēnu, veidoja 359±36 mg kg^{-1} un 278±33 mg kg^{-1} eļļā, kas iegūta no ar organisko selēnu bagātinātām olām. Vairāki autori (Mohiti-Asli *et al*., 2008; Galobart *et al*., 2001b) minējuši, ka E vitamīna saturu olu dzeltenumā var palielināt, palielinot tokoferolu saturu barībā. Tā kā pastāv lineāra korelācija starp E vitamīna saturu barībā un tā saturu olu dzeltenumā (Grobas *et al*., 2002), olu eļļa iespējams var būt viens no E vitamīnu avotiem uzturā. Vitamīna E saturs olu eļļā bija tuvs E vitamīna saturam saulespuķu (*Helianthus annuus*) eļļā, kura satur apmēram 450 mg kg^{-1} (Tuberoso *et al*., 2007) un tiek uzskatīta par pārtikas produktu ar lielāko E vitamīna saturu. Eksperimentāli noteiktais E vitamīna saturs olu eļļā bija divas reizes lielāks nekā olu dzeltenumā, tas pamatojams ar taukos šķīstošs vitamīna īpašībām un tas ekstrahējas no olu dzeltenuma kopā ar olu eļļu.

3.2.2. Dējējvistu turēšanas metodes ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā / *Effect of laying hen housing method on bioactive compound content of egg yolk oil*

Vitamīni

E vitamīns pazīstams kā spēcīgs antioksidants. Parasti E vitamīna saturu izsaka kā kopējo tokoferolu summu, bet iepriekšejā pētījumā iegūtie rezultāti parādīja, ka olu eļļā galvenokārt ir α-tokoferols un γ-tokoferols, pie tam γ-tokoferola ir samērā maz (Kovalcuks,

Duma, 2013). Tā kā α-tokoferols ir visaktīvākā E vitamīna forma, tad pētījumā tas tika noteikts visos olu eļļas paraugos.



3.8. att. **α-tokoferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /**
Fig.3.8. ***α-tocopherol content in egg yolk oils from different hen housing method***

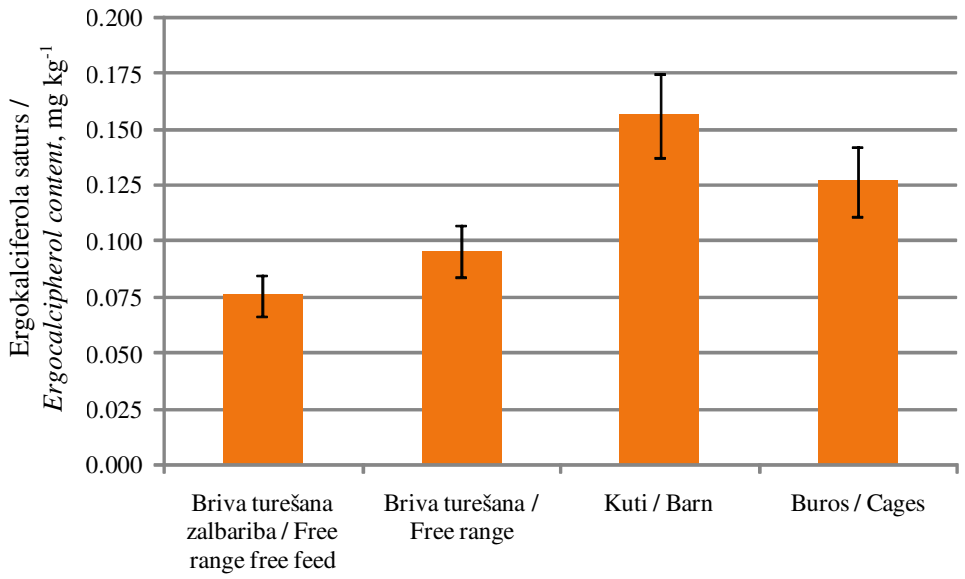
α-tokoferola saturu olu dzeltenumā būtiski ietekmē vistu barības sastāvs un tas var būt robežās no 10 līdz 967 mg kg^{-1} (Mori *et al*., 2003; Grobas *et al*, 2002; Kang *et al*., 1998; Jiang *et al*., 1994) Tā kā α-tokoferols ir taukos šķīstošs savienojums, tad ekstrakcijas rezultātā var iegūt olu eļļu, kas satur šo vitamīnu.

3.8. attēlā redzams, ka vistu turēšana būros vai kūtī būtiski neietekmē ($p>0.05$) α-tokoferola saturu olu eļļā. α-tokoferola saturs olu eļļā bija 205.56±24.67 mg kg^{-1} un 225.54±27.06 mg kg^{-1}, attiecīgi, no būros turētām un kūtī turētām vistu olām. Olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām α-tokoferola saturs bija ievērojami zemāks 149.96±17.99 mg kg^{-1}. Taču vismazāko vitamīna saturu (101.32±12.16 mg kg^{-1}) konstatējām olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu (zaļbarība) vistu olām.

Karsten *et al.* (2010) darbā atrodami dati, ka E vitamīna saturs olās, kas iegūtas no brīvi turētām vistām, ir divas reizes lielāks, nekā no sprostos (buros) turētu vistu olās. Taču šo zinātnieku pētījumā brīvībā esošās vistas saņēma dažādu zaļbarību, salīdzinot ar sprostos turētajām vistām, kuras tika barotas tikai ar komerciālu barību. Mūsu pētījumā tika iegūts pretējs rezultāts – E vitamīna saturs bija divas lielāks olu dzeltenumā eļļā, kas iegūta no sprostos turētu vistu olām, salīdzinot ar brīvi turētu (zaļbarība) vistu olām.

Olu dzeltenums satur arī D vitamīnu. Uztura speciālistu vidū pastāv diskusija par to, kura no D vitamīna formām ir būtiskāka veselībai - D_2 vitamīns (ergokalciferols) vai D_3 vitamīns (holekalciferols) (Holick, 2007). Pētījumā bija svarīgi noskaidrot vai D vitamīna saturs olu eļļā ir atkarīgs no vistu turēšanas apstākļiem un šim nolūkam izvēlējās D_2 vitamīna (ergokalciferols) noteikšanu.

Iegūtie rezultāti (3.9. attēls) parādīja, ka ergokalciferola saturs ir būtiski mazāks ($p<0.05$) olu eļļas paraugos, kas iegūti no brīvos apstākļos turētu vistu olām, salīdzinot ar sprostos (būros un kūtī) turēto.



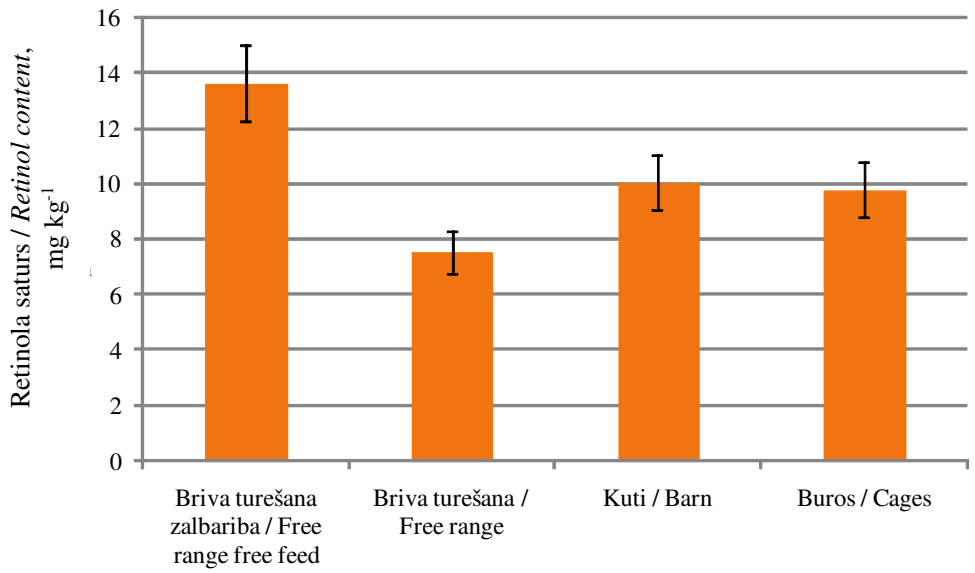
3.9. att. **Ergokalciferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /**
Fig. 3.9. ***Ergocalcipherol content in egg yolk oils from different hen housing method***

Netika konstatēta būtiska atšķirība ergokalciroferola saturā starp olu eļļu, kas iegūta no kūtī 0.157±0.019 mg kg^{-1} un būros izdētām olām 0.127±0.015 mg kg^{-1}. Olu eļļa, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām (zaļbarība) saturēja mazāk D vitamīna nekā no vistām, kuras saņēma komerciālu barību: 0.076±0.009 mg kg^{-1} un 0.096±0.011 mg kg^{-1}, attiecīgi. D vitamīna saturs olās ir cieši saistīts ar tā saturu vistu barībā (Yao *et al.,* 2013; Mattila *et al,* 2004), tad varam secināt, ka brīvi turētu vistu zaļbarībā bija D vitamīna trūkums vai vitamīns tika patērēts vistu fizioloģiskām vajadzībām un fiziskajām aktivitātēm (Krebsa cikls) brīvās turēšanas apstākļos.

Vistu olu dzeltenums satur A vitamīnu, galvenokārt retinolu. Visvairāk retinola konstatēja olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām, kurām bija brīva pieeja barībai. Olas šim pētījumam ievāca vasarā (augusta mēnesī), kad brīvi turētām vistām ir pieejama svaiga zāle. Šis fakts izskaidro lielo retinola koncentrāciju (13.66±1.64 mg kg^{-1}) šajā olu eļļā. Jāatzīmē, ka arī vizuāli šo vistu olu dzeltenums bija tumšāks nekā citu eksperimentā izmantoto olu dzeltenumi. Šo krāsu atšķirību var skaidrot ar zāles izmantošanu vistu barībā (Horsted *et al*., 2010), ar lielāku luteīna un zeaksantīna saturu, kas šajā pētījumā daļā netika noteikts.

No kūtī un būros turēto vistu olu dzeltenuma krāsa bija gaišāka nekā brīvi turēto vistu olu dzeltenumi un arī retinola saturs bija mazāks 10.07±1.21 mg kg^{-1} un 9.80±1.18 mg kg^{-1}, attiecīgi. Šīs atšķirības norāda uz to, ka A vitamīna saturs olu eļļā ir atkarīgs no vistu turēšanas apstākļiem, ar nosacījumu, ka dējējvistām ir vai nav pieeja zaļbarībai.

Iegūtie rezultāti (3.10. attēls) atšķiras no citu autoru pētījumiem (Anderson, 2011), kas norādīja, ka A vitamīna saturu olās neietekmē vistu turēšanas apstākļi. To var būtiski palielināt, bagātinot vistu barību ar retinolu, bet, palielinot A vitamīna saturu, samazinās α-tokoferola saturs olu dzeltenumā (Mori *et al*., 2003; Mendonca *et al*., 2002; Jiang *et al*., 1994). Salīdzinot iegūtos rezultātus, redzams, ka olu eļļā, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām, pastāv sakarības starp α-tokoferola un retinola koncentrācijam – lielai retinola koncentrācijai atbilst maza α-tokoferola koncentrācija.



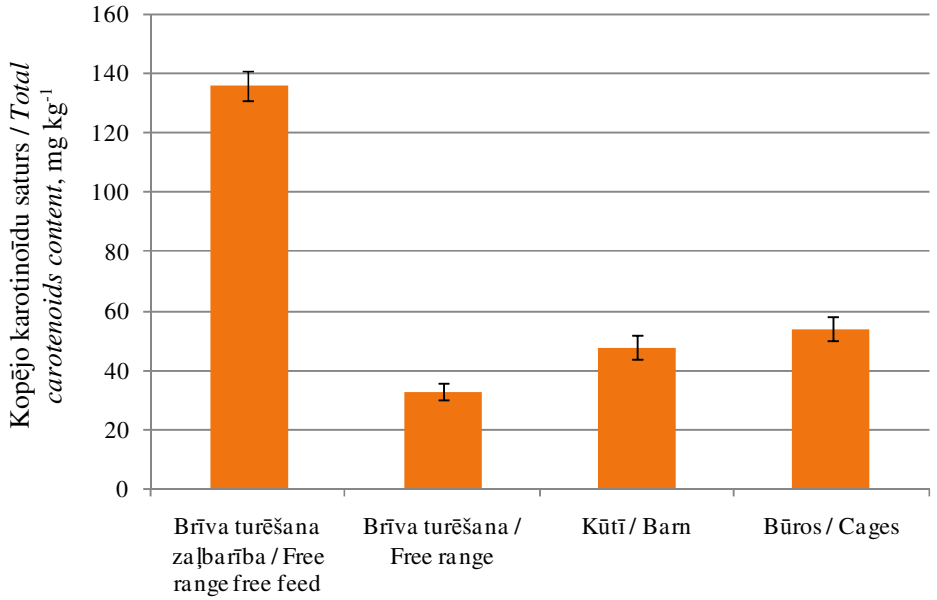
3.10. att. **Retinola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /**
Fig. 3.10. ***Retinol content in egg yolk oils from different hen housing method***

Vismazāk retinola (7.56±0.91 mg kg^{-1}) konstatēja olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām, kuras barotas ar komerciālo barību.

Karotinoīdi

Karotinoīdu saturam olu eļļā ir liela nozīme. Tie ne tikai nosaka olu dzeltenuma oranžo krāsu, bet daži no tiem ir arī A vitamīna prekursori, kas piešķir olu dzeltenumam noteiktu bioloģisko vērtību. Olu eļļas ekstrakcijai izmantoja dažādas polaritātes šķīdinātājus, polāros un nepolāros, kas ietekmēja karotinoīdu saturu olu eļļā.

Iegūtie rezultāti parādīja (3.11. attēls), ka kopējo karotinoīdu saturs olu eļļu paraugos, atkarībā no vistu turēšanas apstākļiem, ir līdzīgs retinola rezultātiem.



3.11. att. **Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /**
Fig. 3.11. ***Total carotenoids content in egg yolk oils from different hen housing method***

Visvairāk karotinoīdu (136±5 mg kg^{-1}) noteica olu eļļā, kas ekstrahēta no brīvi turētu (zaļbarība) vistu olām. Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā no kūtī un būros turētu vistu olām veidoja 48±4 mg kg^{-1} un 54±4 mg kg^{-1}, attiecīgi, bet vismazākais karotinoīdu saturs (33±3 mg kg^{-1}) konstatēts eļļā, kas iegūta no brīvi turētu, ar komerciālo barību barotu vistu olām.

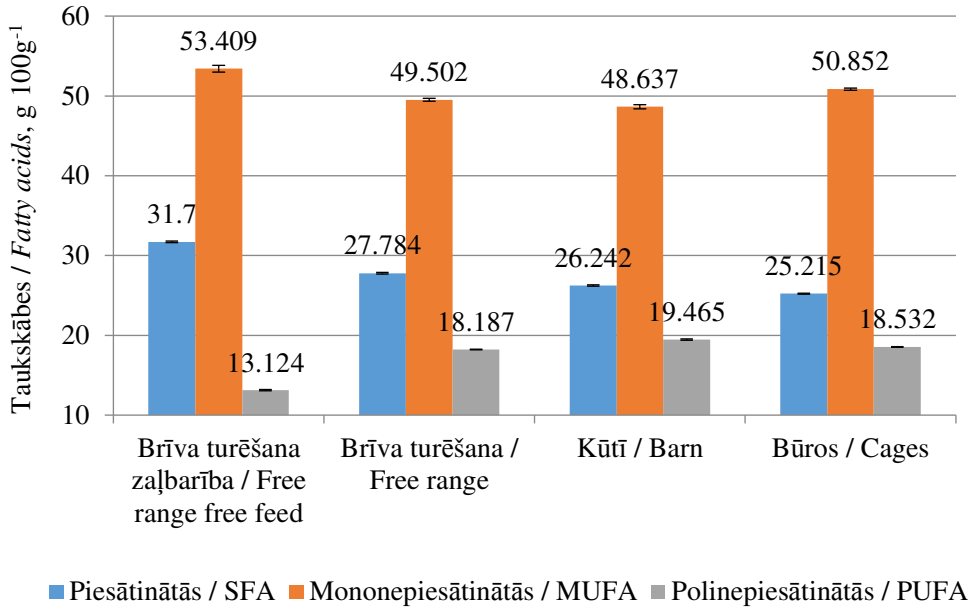
Salīdzinot abu brīvi turēto vistu olu sastāvu, varam apgalvot, ka karotinoīdu saturs olu eļļā ir saistīts ar vistu barības sastāvu. Literatūrā (Mendonca *et al*., 2002; Jiang *et al*., 1994) atrodami pētījumi par β-karotīna un retinola satura paaugstināšanas iespējām olu dzeltenumā, izmantojot ar šiem savienojumiem bagātinātu barību.

Līdzīgi kā Anderson (2011), karotinoīdu saturs brīvi turētu vistu olās ir lielāks nekā sprostā (kūtī un būros) turētu vistu olās, pie nosacījuma, ja vistu barība bagātināta ar β-karotīna atvasinājumiem.

Taukskābes

Taukskābju analīžu rezultāti parādīja, ka kopējo taukskābju profils visos olu dzeltenumu paraugos bija līdzīgs. Tas var būt izskaidrojams ar to, ka eksperimentos izmantoja vienas šķirnes dējējvistas. 3.12. attēlā redzams, kā mainās kopējais piesātināto, mononepiesātināto un polinepiesātināto taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas apstākļiem.

Vismazāk polinepiesātināto taukskābju satur olu eļļa, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām, ar brīvu pieeju zaļbarībai. Visos pārējos olu eļļas paraugos polinepiesātināto taukskābju saturs bija ievērojami lielāks ($p<0.05$). Šos rezultātus izskaidro fakts, ka eksperimentā izmantotas dējējvistu grupas bija barotas ar komerciālu kombinētu barību, kas ražota saskaņā ar izstrādātām receptūrā un ietver augu eļļas ar noteiktām nepiesātinātām taukskābēm. Līdz ar to, varam secināt, ka taukskābju saturs olu eļļā galvenokārt ir atkarīgs no dējējvistu šķirnes un barības sastāva. Bet no otras puses, dējējvistu turēšanas metode nosaka putnu barošanas īpatnības un tādējādi var apgalvot, ka dējējvistu turēšanas metode ietekmē taukskābju saturu olās un attiecīgi olu eļļā.



3.12. att. **Taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /**
Fig. 3.12. ***Fatty acid profile of egg yolk oils from different hen housing method***

Piesātināto taukskābju saturs olu dzeltenuma lipīdos ir samēra stabils un praktiski nemainās atkarībā no dējējvistu barības sastāva, bet ir noteikts ar putnu šķirni. Visvairāk

izmaiņām ir pakļautas mononepiesātinātas un polinepiesātinātas olu dzeltenuma lipīdu taukskābes. Līdz ar to dējējvistu turēšanas metodes ietekmes novērošanai uz eļļas taukskābju saturu ir izvēlētas nepiesātinātas taukskābes.

Vienas no bioloģiskās vērtības ziņā būtiskākajām taukskābēm ir omega-3 (ω-3) un omega-6 (ω-6) polinepiesātinātās taukskābes (Surai *et al.*, 2008). Olu eļļā kā omega-3 taukskābes ir α-linolēnskābe (C18:3) un cervonskābe (C22:6). Visvairāk omega-3 taukskābes (3.012±0.002 g $100g^{-1}$) konstatēja olu eļļā, kas ekstrahēta no kūtī turētām vistu olām, bet vismazāk (2.007±0.001 g $100g^{-1}$) eļļā, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām. Olu bagātināšana ar omega-3 taukskābēm iespējama, palielinot to saturu vistu barībā (Lewis *et al.*, 2000). Tā kā brīvi turētām vistām nav pieejama šāda speciāla barība, tad ar to arī skaidrojams omega-3 taukskābju mazākais saturs šajā eļļā.

Atsevišķu nepiesātināto taukskābju saturs olu eļļas paraugos apkopots 3.11. tabulā.

3.11. tabula / *Table 3.11*

Nepiesātināto taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas apstākļiem /
Unsaturated fatty acid content in egg yolk oils from different hen housing systems

Taukskābe / ***Fatty acid***	**Taukskābju saturs /** ***Fatty acid content*, g $100g^{-1}$**			
	Brīvā turēšana zaļbarība / ***Free range free diet***	**Brīvā tūrēšana /** ***Free range***	**Kūtī /** ***Barn***	**Būros /** ***Cages***
C16:1	5.359±0.055	3.275±0.033	3.404±0.037	3.318±0.024
C18:1	48.050±0.398	50.300±0.174	48.637±0.221	50.852±0.099
C18:2	11.117±0.077	15.442±0.053	16.453±0.062	15.618±0.042
C18:3	1.251±0.001	1.815±0.002	2.045±0.002	1.784±0.002
C22:6	0.756±0.001	0.998±0.002	0.967±0.001	1.130±0.001
ω-3	2.007±0.001	2.813±0.002	3.012±0.002	2.914±0.002
ω-6	11.117±0.077	15.442±0.053	16.453±0.062	15.618±0.042
ω-6/ω-3	5.5/1	5.5/1	5.5/1	5.4/1

Anderson (2011) noteica, ka omega-3 taukskābju saturs brīvi turētu vistu olās ir mazāks nekā sprostā turētajās. Iegūtie rezultāti apstiprināja šo sakarību, ka būros un arī kūtī turēto vistu olas satur vairāk omega-3 taukskābes nekā brīvi turēto vistu olas, taču starp olām nav būtiskas atšķirības omega-3 taukskābju satura ziņā – attiecīgi 3.012±0.002 g $100g^{-1}$ un 2.914±0.002 g $100g^{-1}$.

Omega-6 taukskābju pārstāvis olu dzeltenumā ir linolskābe (C18:2), kuras saturs ir robežās no 11.117±0.077 g $100g^{-1}$ līdz 16.453±0.062 g $100g^{-1}$.

Veselībai nozīmīga ir arī omega-6 un omega-3 taukskābju attiecība (Surai *et al.,* 2008). Uztura speciālisti uzskata, ka labākā attiecība ω-6/ω-3 ir 4:1 vai dažreiz 2:1. Iegūtajā olu eļļā šī attiecība ir 5.5:1. Tādu ω-6/ω-3 attiecību pat uzskata par labvēlīgu astmas slimniekiem (Simpoulos, 2000).

3.2.3. Olu dzeltenuma mikrobioloģisko rādītāju ietekme uz olu eļļas kvalitāti / *Effect of egg yolk microbiological parameters on egg yolk oil quality*

Laboratorijas apstākļos, saplēšot olu, lai atdalītu olu dzeltenumu no baltuma, iegūst ļoti tīru olu dzeltenumu, jo tā saskarsme ar čaumalas virsmu ir minimāla. Kā zināms no zinātniskās literatūras avotiem, olas saturs čaumalā ir sterils, mikrobiālo piesārņojumu tās iegūst pēc saskarsmes ar olu čaumalu, instrumentiem un piederumiem ar ko saplēš olu vai caur čaumalas porām olas uzglabāšanas laikā.

Šķidrs olu dzeltenums ir izejviela olu eļļas ekstrakcijai, tāpēc būtiski ir zināt izejvielas kvalitāti, tās ietekmi uz gala produktu. Dējējvistu fermās olas tiek savāktas no kūtīm un transportētas uz olu pārstrādes uzņēmumiem (šķirošanas centri, šķidro olu produktu ražošana,

olu pulvera kaltes). Ja olas ir paredzētas patēriņam kā čaumalu ola, tad pirmais olu apstrādes process ir olu šķirošana pēc svara kategorijas un kvalitātes. Kvalitatīvas olas (tīras, bez plaisām, ar atbilstošu čaumalas krāsu un formu) nonāk veikala plauktos, bet olas, kas neatbilst čaumalu olu kvalitātes prasībām, pārstrādei. Viena no izplatītākām čaumalu olu kvalitātes neatbilstībām ir netīras olas – olas, kuru čaumala ir piesārņota ar putnu mēsliem, spalvām, barības putekļiem. Pirms olu pārstrādes, šie netīrumi jānomazgā, izmantojot speciālas iekārtas. Olu mazgāšanas procesā rodas lieli zudumi, kas ir saistīti ar olu saplēšanu, intensīvas mazgāšanas rezultātā.

Plēšot piesārņotas, nemazgātas vistu olas, netīrā olu čaumala saskaras ar olu saturu un inficē to ar mikroorganismiem, kas, vairojoties, var sabojāt gala produktu. Šķidru olu produktu pasterizācijas laikā nevar inaktivēt visus patogēnus, jo pasterizācijas temperatūras (+65 līdz +69°C) izvēli ierobežo olbaltumvielu denaturācija augstākās temperatūrās.

Pētījumā olu eļļas ekstrakcijai izmantoja etanolu. Etanolam ir dezinficējošas īpašības, un, to izmantojot olu eļļas ekstrakcijai, olu eļļai jābūt mikrobiāli tīrai. 3.12. tabulā ir apkopoti olu dzeltenuma un olu eļļas mikrobioloģiskie rādītāji pēc divsoļu ekstrakcijas ar etanolu un heksānu.

3.12. tabula / *Table 3.12*

Olu dzeltenuma un olu eļļas mikrobioloģiskie rādītāji pēc divsoļu ekstrakcijas ar etanolu un heksānu /

Egg yolk and egg yolk oil microbiological parameters after two-step extraction with ethanol and hexane

Mikroorganismi / *Microorganisms*	**Svaigs olu dzeltenums / *Fresh egg yolk***	**Olu eļļa no svaiga olu dzeltenuma / *Egg yolk oil from fresh egg yolk***	**Piesarņots olu dzeltenums / *Infected egg yolk oil***	**Olu eļļa no piesarņota olu dzeltenuma / *Egg yolk oil from infected egg yolk***
Baktēriju kopskaits / *Total plate count*, KVV g^{-1}/ *CFU* g^{-1}	204	< 10	$2.6 \cdot 10^6$	84
Enterobaktērijas / *Enterobacteriaceae*, KVV g^{-1}/CFU g^{-1}	< 10	< 10	$3.8 \cdot 10^4$	< 10
Salmonella, 25 g	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*
E. coli, KVV g^{-1}/CFU g^{-1}	< 10	< 10	100	< 10
S. aureus, KVV g^{-1}/CFU g^{-1}	< 10	< 10	86	< 10
Raugi un pelējumi / *Yeasts and moulds*, KVV g^{-1}/ *CFU* g^{-1}	< 100	< 100	$2 \cdot 10^4$	< 100

3.12. tabulās rezultāti apstiprina, ka, saplēšot olu laboratorijas apstākļos, iegūst olu dzeltenumu ar nelielu mikrobioloģisko piesārņojumu. Šis piesārņojums varēja rasties no izmantotiem traukiem, piederumiem un gaisa. Mazgājot un dezinficējot olu čaumalu pirms plēšanas, iespējams, ka olu dzeltenuma piesārņojums būtu minimāls. Olu dzeltenumā, kas apzināti bija piesārņots, var novērot ievērojamu mikroorganismu klātbūtni. Stafilokoki, raugi un pelējumi olu dzeltenumā norāda uz daudzveidīgu produktu bojāšanās risku. ES Komisijas regula Nr. 2073/2005 reglamentē tikai *Enterobacteriaceae* olu produktos un tas nevar pārsniegt 10 KVV g^{-1}.

Olu eļļas ekstrakcijas procesā šķīdinātāja iztvaikošanai izmanto līdz 70°C zemas temperatūras un to nevar uzskatīt par piesārņojuma mazinošu faktoru, līdz ar to, mikrofloru ietekmēja ekstrakcijas šķīdinātājs – etanols. Izmantojot šķīdinātājus olu eļļas ekstrakcijai no

dzeltenuma ar atšķirīgu piesārņojumu, var iegūt olu eļļu, kas atbilst produkta nekaitīguma prasībām un ir droša lietošanai uzturā.

Etanola dezinficējošā ietekme minēta arī citos pētījumos un ir atkarīga no etanola/ūdens maisījuma koncentrācijas. Etanola koncentrācija no 50 līdz 80% iznīcina baktērijas, šķīdinot šūnu membrānu olbaltumvielas un lipīdus. Tas ir ļoti efektīvs līdzeklis pret vairumu baktēriju, pelējumiem un dažiem vīrusiem, bet nepietiekami efektīvs pret baktēriju sporām. Vēl viens svarīgs parametrs ir etanola/ūdens maisījumu osmotiskais spiediens, kas visaugstākais ir pie 70% etanola ūdenī.

Pētījumā olu eļļas ekstrakcijai izmantots etanols (96%). Etanola un dzeltenuma attiecībā bija 2 : 1. Ja vidējais ūdens saturs olu dzeltenumā ir 50%, tad etanola koncentrācija ekstraktā bija aptuveni 79%, ar ko skaidrojams olu eļļas zemais mikrobiālais piesārņojums.

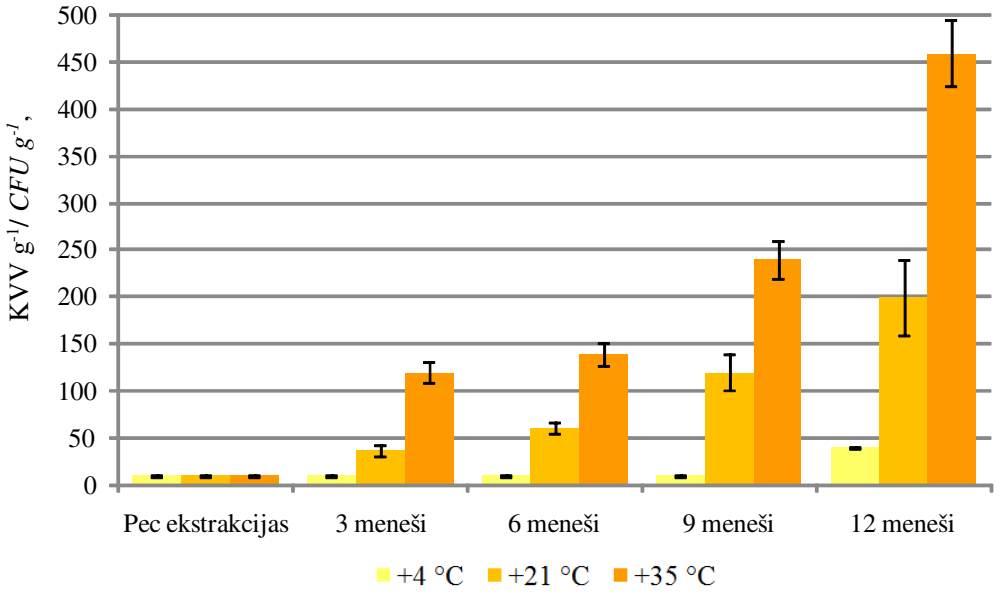
Olu dzeltenumā esošie mikroorganismi var izraisīt mikrobiālas izmaiņas, kas ietekmē dzeltenuma sensorās īpašības (rādīt nepatīkamo smaku) un sabojā olu eļļas kvalitāti. Līdz ar to pirms olu eļļas ekstrakcijas nepieciešams kontrolēt izejvielu fizikāli-ķīmiskos un mikrobioloģiskos rādītājus, arī sensorās īpašības.

3.2.4. Olu eļļas kvalitātes izmaiņas uzglabāšanas laikā / *Egg yolk oil quality changes during storage*

Uzglabāšanas laikā eļļas kvalitāte var mainīties. Kvalitātes izmaiņas var būt gan ķīmiskas (oksidēšanās), gan mikroorganismu ietekmētas.

Mikrobioloģiskie rādītāji

Olu eļļas baktēriju KVV skaits atkarībā no eļļas uzglabāšanas temperatūras un ilguma ir attēlots 3.13. attēlā.



3.13. att. **Olu eļļas baktēriju kopskaita atkarība no eļļas uzglabāšanas temperatūras un ilguma /**

Fig. 3.13. ***Total plate count in egg yolk oil stored at different temperature and time***

Olu eļļas uzglabāšanas laikā +4°C temperatūrā novēroja nenozīmīgu baktēriju kopskaita pieaugumu. Tādējādi, olu dzeltenuma mikrobioloģiskās tīrības saglabāšanai, olu eļļu ir nepieciešams uzglabāt zemā temperatūrā. Uzglabājot olu eļļu +21°C vai +35°C temperatūrā

jau pēc 3 mēnešu ilgas uzglabāšanas baktēriju KVV skaits būtiski ($p<0.05$) pārsniedz olu eļļas rezultātus, ko uzglabāja +4°C. Olu eļļas mikrobioloģiskās tīrības izvērtēšanai lietderīgāk ir izmantot rādītājus noteiktus nevis olu produktiem, bet dzīvnieku taukiem, piemēram, sviestam. ГОСТ Р 52969-2008 nosaka, ka sviestam baktēriju kopskaits nedrīkst pārsniegt 1×10^5 KVV g^{-1}, tādējādi visi olu eļļas paraugi pēc 12 mēnešu uzglabāšanas atbilst nekaitīguma prasībām.

Olu eļļā 12 mēnešu uzglabāšanas laikā, neatkarīgi no uzglabāšanas temperatūras, netika konstatēta patogēnu, arī raugu un pelējumu vairošanās (3.13. tabula).

3.13. tabula / *Table 3.13*

Olu eļļas mikrobioloģiskie rādītāji /
Egg yolk oil microbiological parameters

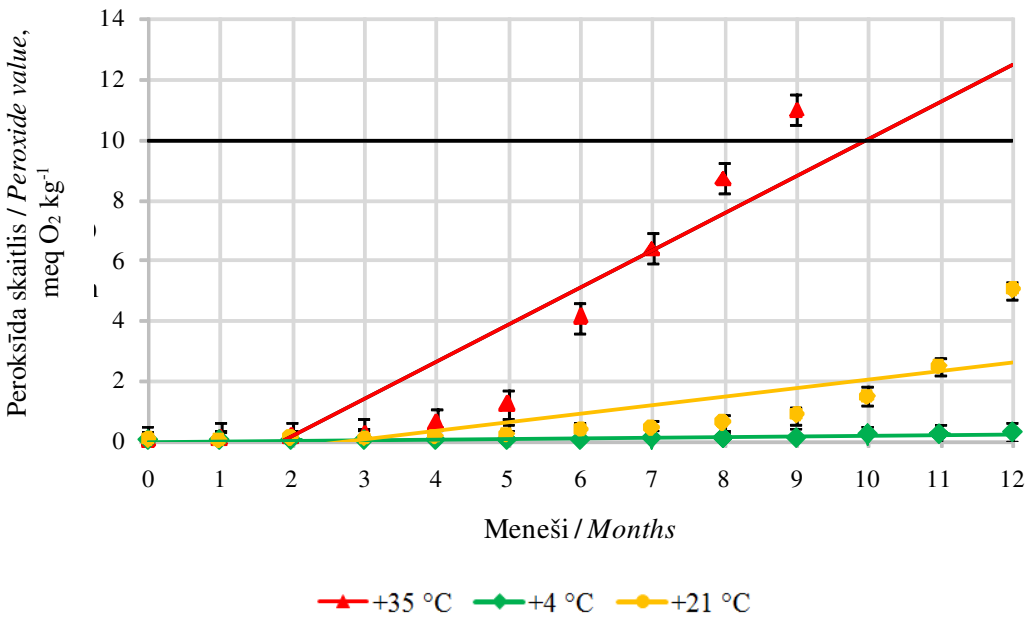
Mikroorganismi/ *Microorganisms*	**Uzglabāšanas temperatūra / *Storage temperature***		
	+4°C	**+21°C**	**+30°C**
Enterobaktērijas / *Enterobacteriaceae*, KVV g^{-1}/ *CFU* g^{-1}	< 10	< 10	< 10
Salmonella, 25 g	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*
E. coli, 0.1 g	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*
S.aureus, 0.1 g	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*	Nesatur / *Absent*
Raugi un pelējumi / *Yeasts and moulds*, KVV g^{-1}/ *CFU* g^{-1}	< 100	< 100	< 100

Patogēnu, raugu un pelējumu klātbūtni pārtīkas produktos stigri kontrolē ar normatīviem aktiem, tā, pēc ГОСТ Р 52969-2008 raugu un pelējumu daudzums sviestā nedrīkst pārsniegt 100 KVV g^{-1}, kā arī 25 g produktā nedrīkst būt atrasta *Salmonella spp.* un 0.1 g *S. aureus*.

Olu eļļas oksidācija

Produktos ar augstu garķēžu polinepiesātināto taukskābju saturu vienmēr pastāv lipīdu autooksidācijas risks, oksidācijas uzņēmība pieaug ar tauku nepiesātinātības pakāpi. Šis risks skar olas, kas ir bagatinātas ar omega-3 taukskābēm, olu eļļu un zīdaiņu pārtiku, kas satur olu lipīdus (Watson, 2008; Huopalahti *et al.*, 2007). Līnsēklu pievienošana dējējvistu barībai sekmē nepatīkamas zivju smakai olās vai olu produktu sensoro īpašību pasliktināšanai uzglabāšanas laikā. Šis izmaiņas ir saistītas ar līpīdu bojāšanos dējējvistu barībā vai olu lipīdu peroksidāciju. Pēc 10 dienu uzglabāšanas īstabas temperatūrā olām, ko ieguva no dējējvistām, kas saņēma barību tikai ar 2.5% sojas eļļas pievienošanu, novēroja daudz zemāku olu dzeltenuma lipīdu oksidāciju nekā olām ko iegūva no dējējvistām kas saņēma barību ar 5% līnsēklu eļļas un 2.5% sojas eļļas pievienošanu (Faitarone *et al.*, 2016). Taukskābju oksidācijas rezultātā veidojas gaistošie savienojumi, no kuriem lielākai daļai ir nepatīkama smaka, kas rada garšas un smaržas problēmas pārtikas produktos (Grosch, 1993).

3.14. attēlā redzams, ka olu eļļas peroksīda skaitļa vērtības ir mainījušās atkarībā no eļļas uzglabāšanas temperatūras.



3.14. att. **Olu eļļas peroksīda skaitļa vērtības uzglabāšanas laikā dažādās uzglabāšanas temperatūrās /**

Fig. 3.14. ***Egg yolk oil peroxide value during storage at different storage temperatures***

Temperatūra ir viens no galveniem faktoriem, kas ietekmē lipīdu oksidāciju, tāpēc viszemākā peroksīda skaitļa vērtība bija olu eļļai, kuru uzglabāja +4°C temperatūrā. Paaugstinoties olu eļļas uzglabāšanas temperatūrai, pieauga arī peroksīda skaitļa vērtība. Olu eļļa, kuru uzglabāja +35°C temperatūrā, sasniedza maksimāli pieļaujamo peroksīda skaitļa vērtību (10 meq O_2 kg^{-1}) pēc 10 mēnešiem. Pētījumos (Faitarone *et al*., 2016; Mohiti-Asli *et al*., 2008; Franchini *et al*., 2002; Galobart *et al*., 2001b) par olu dzeltenuma lipīdu oksidatīvām izmaiņām peroksīda skaitlis maksimāli pieļaujamās vērtības sasniedza ātrāk, jo olu dzeltenums satur ūdeni un citas vielas, kas var ietekmēt dzeltenuma lipīdu oksidatīvo stabilitāti. Savukārt ūdens saturs olu eļļā nepārsniedz 1%, kā arī oksidāciju kavē augsts dabīgo antioksidantu (A, E vitamīni, karotinoīdi) saturs eļļā (Galobart *et al*., 2001a; Cherian *et al*., 1996a). Piemērām, pievienojot dējējvistu barībai α-tokoferil acetātu un kantaksantīnu var ievērojami samazināt olu lipīdu oksidāciju uzglabāšanas laikā (Galobart *et al*., 2001a). Turpat Galobart *et al*., (2001a) atzīmē, ka svaigām olām primāro un sekundāro lipīdu oksidācijas produktu saturs ir ļoti zems, tas paliek zemā līmenī uzglābājot olas +4°C temperatūrā līdz 6 nedēļām.

3.2. nodaļas kopsavilkums

Daudzu bioloģiski aktīvo vielu (selēns, taukos šķīstošie vitamīni, polinepiesātinātas taukskābes) saturu olās ietekmē dējējvistu barības sastāvs. Bagātinot olas ar selēnu, tas koncentrējas olu dzeltenumā. Selēna palielināšanai olās var izmantot gan organisko (selēnizēts raugs) gan neorganisko (nātrija selenīts) selēnu, bet labāka selēna pāreja no barības olās ir neorganiskajam selēnam. Selēna saturs olu dzeltenumā neietekmē E vitamīna saturu olu dzeltenumā un olu eļļā. Olu eļļa nesatur selēnu, bet var kalpot par labu E vitamīna avotu.

Bioloģiski aktīvo savienojumu koncentrācija olu eļļā ir atkarīga no vistu barības sastāva un no vistu turēšanas apstākļiem. E vitamīna, D vitamīna un polinepiesātināto taukskābju saturs bija lielāks olu eļļā, kas iegūta no vistam, kuras bija barotas ar komerciālo barību neatkarīgi no turēšanas apstākļiem. Kopējo karotinoīdu un retinola saturs būtiski lielāks

($p<0.05$) bija olu eļļā, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām, jo tām iespējama brīva piekļuve svaigai zālei. Bioloģiski aktīvo vielu saturs olu eļļā var samazināties vistu fiziskās slodzes dēļ. Lai iegūtu olu eļļu ar lielu bioloģiski aktīvo vielu saturu un piemērotu cenu, jāizmanto olas, kuras iegūtas no būros turētām vistu olām.

Olu eļļai, ko iegūst, ekstrahējot sķidru olu dzeltenumu ar etanolu un heksānu, ir zems mikrobiālais piesarņojuma līmenis, kas saglabājas ne mazāk kā 12 mēnešu garumā, uzglabājot eļļu +4°C temperatūrā. Olu eļļas oksidācijas pakāpē ir atkarīga no eļļas uzglabāšanas temperatūras. Iegūtās olu eļļas peroksīda skaitlis neparsniedz 10 meq O_2 kg^{-1} 12 menešus uzglabājot eļļu +4°C temperatūrā. Oksidatīvas stabilitātes pamatā ir augsts dabīgo antioksidantu (E vitamīns, karotinoīdi, retinols) saturs olu eļļā.

Summary of chapter 3.2

Many of egg bioactive compounds (selenium, fat-soluble vitamins, PUFA) can be affected by hen feed content. For egg enrichment with selenium organic selenium (selenium yeast) and inorganic selenium (sodium selenite) can be used, but inorganic selenium gives better results. Majority of selenium in eggs is located in the egg yolk. Selenium content in eggs do not affect vitamin E concentration in egg yolk. There is no selenium found in egg yolk oil, but high concentration of vitamin E makes egg yok oil the one of the richest vitamin E product.

Bioactive compound content in egg yolk oil depends from hen feed and hen housing method. Concentration of vitamin E and D and PUFA was higher in egg yolk oil obtained from hens feeded with comercial feed, regardless to hen housing method. Total carotenoid content was higher ($p<0.05$) in egg yolk oil from free range hens which have access to green forage. Some bioactive compound content in egg yolk oil decreases by hens physical activities in free range housing method. Eggs from cage system are best for extraction of egg yolk oil in terms of bioactive compound content and price.

Egg yolk oil obtained by two-stage extraction with ethanol and hexane has a very low microbial polution. In order to mantain low microbial level, egg yolk oil need to be stored at +4°C. Oxidative stability of egg yolk oil depends from its storage temperature. The lowest peroxide value in 12 months period was determined egg yolk oil stored at +4°C. The high oxidative stability of egg yolk oil is based on high natural antioxidant (vitamin E, carotenoids, retinol) content in egg yolk oil.

3.3. Olu eļļas pielietojuma iespējas /
Application possibilities of egg yolk oil

3.3.1. Olu eļļas pielietojums majonēzes pagatavošanā /
Application of egg yolk oil in mayonnaise preparation

Lai izvērtētu iegūtās olu eļļas pielietojuma iespējas pārtikas produktu ražošanā, pagatavoja majonēzi ar 1, 3, 5 un 7% olu eļļas piedevu. Salīdzināšanai izmantoja majonēzi bez olu eļļas. Majonēžu paraugu fizikālie un ķīmiskie rādītāji atspoguļoti 3.14. tabulā.

3.14. tabula / *Table 3.14*

pH, viskozitāte, lipīdu, olbaltumvielu un D vitamīna saturs majonēzēs ar dažādu olu dzeltenuma eļļas (ODE) saturu /
The pH, viscosity, lipids, protein and D vitamin concentration of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) content

Paraugs / ***Sample***	**pH**	**Viskozitāte /** ***Viscosity*****, cP**	**Lipīdi /** ***Lipids*****, g 100g^{-1}**	**Olbaltumvielas /** ***Protein*****, g 100g^{-1}**	**D vitamīns /** ***Vitamin D*****, µg kg^{-1}**
Kontrole / *Control*	4.06±0.02^{a}	476.2±1.5^{a}	60.3±0.6^{a}	1.68±0.12^{a}	< 0.1^{a}
ODE / *EYO* 1%	4.05±0.01^{a}	444.8±2.7^{b}	60.8±0.9^{a}	1.38±0.04^{b}	< 0.1^{a}
ODE / *EYO* 3%	4.06±0.01^{a}	398.4±1.3^{c}	60.7±0.6^{a}	1.40±0.13^{b}	2.4±0.2^{b}
ODE / *EYO* 5%	4.07±0.01^{a}	210.0±1.2^{d}	59.9±0.5^{a}	1.41±0.09^{b}	2.3±0.2^{b}
ODE / *EYO* 7%	4.06±0.02^{a}	170.0±1.6^{e}	59.7±0.4^{a}	1.38±0.09^{b}	5.6±0.6^{c}

* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas (p>0.05).
* *Values, marked with the same subscript letters in rows, are not significantly different (p>0.05).*

Iegūtie eksperimentālie rezultāti parādīja, ka iegūto produktu pH būtiski neatšķiras (p>0.05) atkarībā no pievienotā olu eļļas daudzuma. Eksperimentālo majonēžu paraugu pH mainījās nelielās robežās no 4.05±0.02 līdz 4.07±0.01. Šīs pH vērtības ir tajās robežās (3.5-4.5), kas nepieciešamas, lai nodrošinātu majonēzes mikrobioloģisko drošību (Radford, Board, 1993). Zemas pH vērtības saistītas ar etiķskābes klātbūtni, kas nodrošina arī majonēzes smaržu (Depree, Savage, 2001).

Kopējo lipīdu saturs visos majonēzes paraugos būtiski (p>0.05) neatšķirās un bija robežās no 59.7±0.7 g 100g^{-1} līdz 60.8±0.9 g 100g^{-1}, kas atbilst vidēji 60% no aprēķinātā tauku daudzuma majonēžu receptēs.

Olbaltumvielu saturs majonēžu paraugos, kuriem pievienoja olu eļļu dažādās koncentrācijas, mainījās robežās no 1.38±0.04 līdz 1.41±0.09 g 100g^{-1} un šīs atšķirības nav būtiskas (p>0.05). Lielāks olbaltumvielu saturs kontroles paraugā skaidrojams ar to, ka šīm paraugam pagatavošanas laikā tika pievienots 1% olu dzeltenuma pulvera, kas satur olbaltumvielas.

Pievienojot olu eļļu majonēzei, būtiski mainījās (p<0.05) tās viskozitāte, palielinot olu eļļas saturu majonēzē, parauga viskozitāte samazinās. Šī parādība var atstāt negatīvu ietekmi uz patērētāju izvēli, jo majonēze ar biezāku struktūru asociējas ar produkta kvalitāti un lielāku tauku saturu (Amin *et al.*, 2014). Lai paaugstinātu viskozitāti majonēzei ar olu eļļas piedevu, nepieciešams vairāk izmantot emulgatorus vai biezinātājus, turpretim, visaugstākā viskozitāti (476.2±1.5 cP) eksperimentāli konstatēja majonēzes kontroles paraugam ar olu dzeltenuma pulveri. Tas skaidrojams ar to, ka ne tikai olu dzeltenuma pulverī esošie lecitīni kalpo kā emulgators majonēzei emulsijas veidošanā, bet arī olu dzeltenuma olbaltumvielām ir

emulģēšanas īpašības (Alleoni, 2006; Stadelman, 1999), kas palīdz nodrošināt stabilāku emulsiju un blīvāku majonēzes konsistenci.

Zināms, ka tikai daži no pārtikas produktiem satur D vitamīnu un olas ir viens no tiem. D vitamīns ir taukos šķīstošs savienojums un atrodams olu dzeltenumā. Šī vitamīna saturs olās mainās atkarībā no vistu barības sastāva un var būt robežās no 34 līdz 58 μg kg^{-1} (Schmid, Walther, 2013). Atkarībā no tauku satura olu dzeltenumā, ekstrakcijas metodes un ekstrakcijas efektivitātes, D vitamīna saturs olu eļļā teorētiski var būt 3-3.5 reizes lielāks nekā olu dzeltenumā, ar nosacījumu, ka viss olu dzeltenuma esošais vitamīns D koncentrējas olu eļļā. Pievienojot majonēzei 3, 5 un 7% olu eļļu, ir iespējams bagātināt majonēzi ar vitamīnu D. D vitamīna saturs kontroles paraugā bija mazāks par analītiskās metodes noteikšanas robežu <0.1 μg kg^{-1}. Tas nozīmē, ka olu dzeltenuma pulvera daudzums majonēzē ir pārāk mazs, lai ietekmētu vitamīna D saturu majonēzē. Līdzīgu rezultātu ieguva majonēzei ar 1% olu eļļas pievienošanu, kur D vitamīna saturs majonēzē ir zem noteikšanas robežās.

Patērētāji lielu uzmanību pievērš majonēzes vizuālajam izskatam, tai skaitā majonēzes krāsai. Izteikti dzeltena majonēzes krāsa parasti asociējas ar lielu olu saturu tajā, kas vienlaicīgi nozīmē arī palielinātu uzturvērtību, bioloģisko vērtību un arī garšu.

Majonēžu paraugu krāsas intensitātes mērījumi CIE L*a*b* un ΔE vērtības atspoguļotas 3.15. tabulā.

3.15. tabula / *Table 3.15*

Majonēžu paraugu krāsas CIE L*a*b* vērtības atkarībā no olu dzeltenuma eļļas (ODE) koncentrācijas /

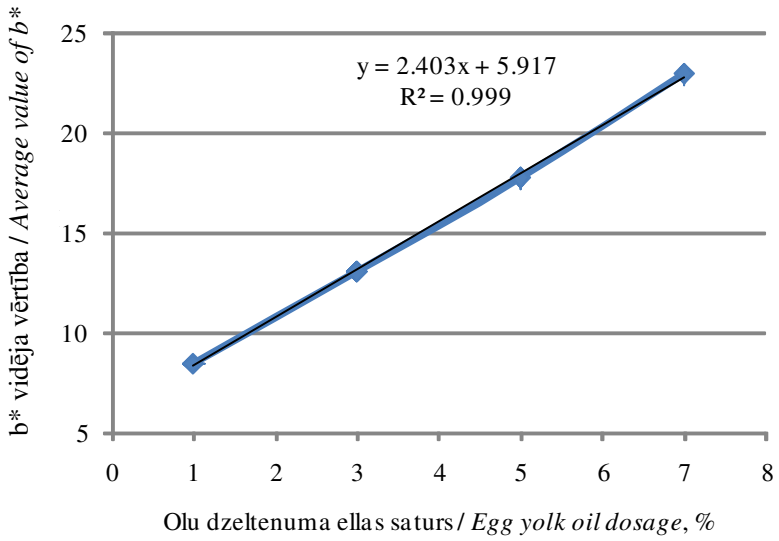
The colour CIE L*a*b* values of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) content

Paraugi / ***Samples***	**CIE L*a*b*vērtības /** ***CIE L*a*b*values***			**ΔE**
	L*	**a***	**b***	
Kontrole/*Control*	87.14±1.10[a]	0.69±0.45	7.68±0.92[a]	0
ODE/*EYO* 1%	85.62±0.71[a]	0.23±0.35	8.45±0.74[a]	2.3±0.73[a]
ODE/*EYO* 3%	85.14±0.74[a]	0.18±0.27	13.03±0.81[b]	5.74±0.41[b]
ODE/*EYO* 5%	81.40±0.46[b]	0.27±0.19	17.72±0.15[c]	11.61±1.04[c]
ODE/*EYO* 7%	79.66±0.15[b]	0.52±0.05	22.91±0.17[d]	17.02±1.28[d]

* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas (p>0.05).

* *Values, marked with the same subscript letters in rows, are not significantly different (p>0.05).*

Raksturojot majonēzes no disperso sistēmu klasifikācijas viedokļa, tās ir emulsija eļļa/ūdenī, ar izteiktu saskares virsmu starp abām fāzēm. Šīs saskares virsmas izkliedē caur emulsiju izejošu gaismu, tāpēc tās izskatās dūmakainas vai reizēm baltas (ja visa gaisma tiek izkliedēta vienmērīgi) (McClements *et al.,* 1998). Eksperimentāli pagatavoto majonēžu paraugu L* vērtības no 79.66±0.15 līdz 87.14±1.10 raksturo to krāsu no ļoti gaišas līdz praktiski baltai. Pievienojot majonēzei olu eļļu 3, 5 vai 7%, novērojams būtisks (p<0.05) L* vērtības samazinājums. Palielinot olu eļļas koncentrāciju majonēzē, eksperimentāli konstatēja būtiskas dzeltenās krāsas atšķirības (p<0.05), kas parādās kā pozitīvas b* vērtības visiem eksperimentālajiem majonēžu paraugiem. Datu matemātiskā apstrāde parādīja ciešu korelāciju (r=0.999) starp olu dzeltenuma koncentrāciju majonēzē un parauga dzelteno krāsu (3.15. attēls). Aprēķinātās ΔE vērtības parāda būtiskās atšķirības (p<0.05) starp visiem analizētajiem majonēzes paraugiem.



3.15. att. **Olu eļļas koncentrācijas ietekme uz majonēzes dzelteno krāsu /**
Fig. 3.15. ***The influence of egg yolk oil additive on yellow colour of mayonnaise***

Eksperimentāli iegūtajos majonēžu paraugos taukskābju saturu nosaka gan saulespuķu eļļā, gan olu eļļā, no kurām būtiskākās (>0.05 g $100g^{-1}$) atspoguļotas 3.16. tabulā.

3.16. tabula / *Table 3.16*

Taukskābju saturs majonēzēs ar pievienotu olu eļļu (ODE) /
Fatty acid content of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) additions

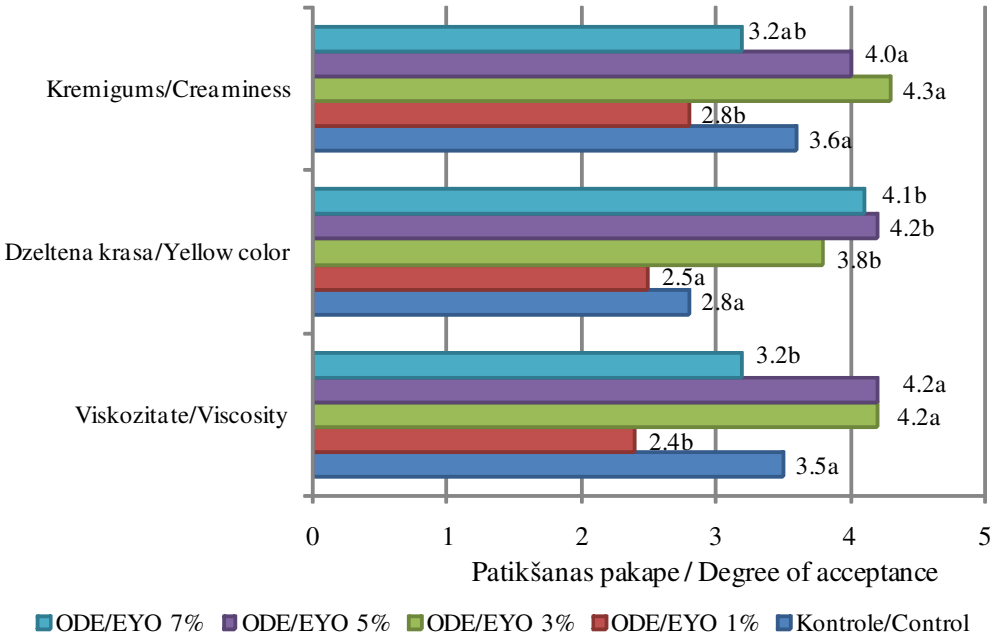
Taukskābe / *Fatty acid*	**Taukskābju saturs / *Fatty acid content*, g $100g^{-1}$**						
	Saules puķu eļļa / *Sunflower oil*	**Olu eļļa / *Egg yolk oil***	**Majonēzes paraugi / *Mayonnaise samples***				
			Kontrole / *Control*	**ODE / *EYO*, 1%**	**ODE / *EYO*, 3%**	**ODE / *EYO*, 5%**	**ODE / *EYO*, 7%**
C16:0	7.00±0.03	24.08±0.04	4.25±0.02	4.20±0.04	4.25±0.02	4.48±0.03	4.94±0.01
C16:1	0.07±0.01	5.35±0.02	0.10±0.01	0.10±0.02	0.14±0.01	0.20±0.02	0.27±0.02
C18:0	3.50±0.02	6.53±0.04	2.09±0.02	2.11±0.02	2.12±0.03	2.20±0.02	2.31±0.01
C18:1	21.77±0.08	48.05±0.06	13.71±0.04	14.21±0.06	14.28±0.07	14.60±0.04	15.62±0.04
C18:2	65.09±0.08	11.12±0.03	38.15±0.05	38.10±0.08	37.68±0.05	37.53±0.08	37.27±0.10
C18:3	0.13±0.02	1.44±0.02	0.05±0.02	0.06±0.01	0.07±0.01	0.09±0.01	0.11±0.02
C20:2	0.67±0.02	0.11±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.05±0.01
C22:6	n.d.	0.76±0.01	n.d.	n.d.	n.d.	0.02±0.01	0.03±0.01

Majonēze parasti satur 60-70% augu eļļas, kas ir bagāta ar nepiesātinātām taukskābēm. Šajā pētījumā majonēzes pagatavošanai izmantoja saulespuķu eļļu, kas bagāta ar linolēnskābi (65.09±0.08 g $100g^{-1}$).

Olu dzeltenuma un saulespuķu eļļās esošās taukskābes kompensē vienā vai otrā eļļā iztrūkstošās taukskābes, kā rezultātā majonēzē palielinās vai samazinās kādas taukskābes saturs. Galvenais ieguvums olu eļļas pievienošanai majonēzei ir tas, ka produkts tiek bagātināts ar cervonskābi, taču šis palielinājums ir novērojams tikai tad, ja olu eļļas koncentrācija majonēzē ir 5% vai 7%. Jāatzīst, ka pārbaudītās olu eļļas koncentrācijas majonēzēs ir pārāk mazas, lai būtiski ietekmētu taukskābju saturu produktos.

Produktu sensorās vērtēšanas rezultāti parādīja, ka nav būtiskas atšķirības (p>0.05) majonēzes paraugu garšas, smaržas un konsistences patikšanas pakāpē. Pamatojoties uz 5 punktu hedonisko skalu, majonēzes paraugu olu smaržu, garšu un konsistenci novērtēja ar 3

punktiem (ne patīk, ne nepatīk) līdz 4 punktiem (mazliet patīk). Pievienotās olu eļļas koncentrācija būtiski ietekmēja ($p<0.05$) majonēzes paraugu viskozitātes, dzeltenās krāsas un krēmīguma patikšanas pakāpi (3.16. attēls).



3.16. att. **Majonēzes sensoro īpašību novērtējums /**
Fig. 3.16. ***Sensory properties of mayonnaise with egg yolk oil***
* Vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas ($p>0.05$).
* *Values, marked with the same subscript letters, are not significantly different ($p>0.05$).*

Sensorās vērtēšanas rezultāti parādīja, ka vērtētāji dod priekšroku majonēzēm ar olu eļļas koncentrāciju 3% un 5%. Viszemāko vērtējumu ieguva majonēzes paraugs, kurā olu eļļas koncentrācija bija 1%.

3.3.2. Olu eļļa kā bioloģiski aktīvo vielu avots zīdaiņiem / *Egg yolk oil as a bioactive compound source for infant nutrition*

Izstrādājot adaptēta piena maisījumu receptūras, ražotāji mēģina tuvināt šo maisījumu sastāvu mātes pienam. Lipīdiem ir liela loma zīdaiņu uzturā. Lipīdi ne tikai nodrošinā lielāko daļu uzņemto kaloriju, bet tie satur arī svarīgas bioloģiski aktīvas vielas. Izvēloties lipīdus zīdaiņu barošanai ir svarīgi salīdzināt to bioloģiski aktīvo vielu saturu ar mātes pienu, jo mātes piena sastāvs ir optimālākais zīdaiņiem.

Olu eļļas bioloģiski aktīvo vielu salīdzināsanai ar mātes pienu bija izvēlēts nobriedis piens, jo jaunpiena ķīmiskais sastāvs ir ļoti mainīgs, kā arī bērns tos saņem tikai dažas nedēļas pēc dzimšanas.

Mātes piena tauku saturs svārstās no 3 līdz 5% (Sala-Vila *et al.*, 2005). Parasti bioloģiski aktīvo vielu saturs mātes pienā un adaptētajos piena maisījumos izsaka uz 100 ml. Lai salīdzinātu mātes piena bioloģiski aktīvo vielu saturu ar olu eļļas datiem, bioloģiski aktīvo vielu saturu mātes pienā un adaptētajos piena maisījumos pārrēķinājām uz 100% tauku, kur vidējais tauku saturs mātes pienā un adaptētajos piena maisījumos bija pieņemts kā 4%.

Taukskābes

Taukskābju saturs mātes pienā ir atkarīgs ne tikai no uztura, stresa, bet arī no mātes dzīvesvietas – no valsts, kur dzīvo māte (Lassek, Gaulin, 2014). Daži autori (Ballard, Morrow, 2013; Soleimani *et al*., 2013) taukskābju satura svārstības mātes pienā saista galvenokārt ar mātes uzturu. Svarīgāko taukskābju saturs mātes pienā ir apkopots 3.17. tabulā.

3.17. tabula / *Table 3.17*

Olu eļļas un mātes (no dažādam valstīm)* piena taukskābju saturs / *Composition of essential fatty acid in egg yolk oil and breast milk of mothers from different countries**

(Saphier *et al*., 2013; Yuhas *et al*., 2006).

Tauksakābes / *Fatty Acids*	**Taukskābju saturs / *Fatty acid content*, g 100g^{-1} kopējo tauku / *total lipids***	
	Olu eļļa / *Egg yolk oil*	**Mātes piens / *Human breast milk*****
C14:0	0.16±0.02	3 – 12
C16:0	20.74±0.07	20 – 23
C16:1	2.08±0.18	3 – 4
C18:0	6.58±0.32	5 – 7
C18:1	50.43±0.89	31 – 38
C18:2	15.57±0.02	12 – 20
C18:3	1.83±0.02	1 – 2
C20:4	0.02±0.01	0.4 – 0.5
C22:6	1.17±0.19	0.17 – 0.30

* Izraela, Austrālija, Kanada, Čīle, Ķīna, Japāna, Meksika, Filipīnes, Anglija, Amerika

* *Israel, Australia, Canada, Chile, China, Japan, Mexico, Philippines, United Kingdom, United States*

** tauku saturs 4% / *fat content 4.0%*

Saphier *et al*. (2013) ziņoja, ka 70% no visām mātes piena tauskābēm sastāv no palmitīnskābes (C16:0), oleīnskābes (C18:1) un linolskābes (C18:2). Savukārt palmitīnskābes, oleīnskābes un linolskābes saturs olu eļļā pārsniedz 85% no kopējo taukskābju satura. Piesātināto taukskābju saturs mātes pienā nav atkarīgs no mātes uztura (Yuhas *et al*., 2006). Vistu olu piesātināto taukskābju saturs arī nav atkarīgs no vistu barības (González-Muñoz *et al*., 2009). Palmitīnskābes (C16:0) un stearīnskābes (C18:0) saturs mātes piena taukos un olu eļļā bija vienādi. Pretēji piesātināto taukskābju saturam, nepiesātināto taukskābju saturs ir atkarīgs no uztura un dējējvistu barības sastāva (Saphier *et al*., 2013; Soleimani *et al*., 2013). Linolskābes (C18:2) un α–linolēnskābes (C18:3) saturs olu eļļā bija līdzīgs to saturam mātes piena lipīdos, bet oleīnskābes (C18:1) saturs olu eļļā bijā lielāks nekā mātes piena lipīdos. Pateicoties tam, ka nepiesātināto taukskābju saturu olās var ietekmēt ar dējējvistu barības sastāvu, ir iespējams ražot olas, kas precizāk var imitēt mātes piena nepiesātināto taukskābju saturu (Simopoulos, Salem, 1992). Arahidonskābes (C20:4) un cervonskābes (C22:6) augstās bioloģiskās vērtības dēļ, šo taukskābju saturam zīdaiņu barošanā vienmēr tika veltīta īpaša uzmanība. Arahidonskābes un cervonskābes saturs mātes pienā ir ļoti zems un bieži nonosedz bērna vajadzību pēc šiem svarīgiem savienojumiem (Lassek, Gaulin, 2014). Mūsu iegūtā olu eļļa ir bagāta ar cervonskābi, bet arahidonskābes saturs ir zems. Šīs divas taukskābes pārsvarā nāk no fosfolipīdiem un to saturs ir atkarīgs no fosfolipīdu satura olu lipīdos (olu eļļā).

Taukos šķīstošie vitamīni

A, D un E vitamīnu saturs olu eļļā un mātes pienā, ka arī rekomendācijas par šo vitamīnu saturu adaptētajos piena maisījumos ir apkopots 3.18. tabulā.

3.18. tabula / *Table 3.18*

Taukos šķīstošo vitamīnu un luteīna saturs olu eļļā, mātes pienā un rekomendācijas šo vielu saturam adaptētiem piena maisījumiem / *Fat-soluble vitamin and lutein content in egg yolk oil, breast milk and recommendations of these compounds for infant formula*

Bioloģiski aktīva viela / *Bioactive compound*	**Koncentrācija / *Concentration*, mg kg^{-1} tauku / *fat***		
	Olu eļļa / *Egg Yolk Oil*	**Mātes piens / *Breast Milk****	**Rekomendēts / *Recommended*****
A vitamins / *Vitamin A*	9.80±1.18	av. 18.75	15 – 45
D vitamins / *Vitamin D*	0.127±0.015	av. 0.015	0.25 – 1.25
E vitamins / *Vitamin E*	205.56±24.67	25 – 246	125 – 1250
Luteīns / *Lutein*	0.33±0.07	0.375 – 1.425	≤6.25

* tauku saturs 4% / *fat content 4%*

** adaptētiem piena maisījumiem (4% tauku saturs gatava produktā / *for infant formulas (calculated for 4% fat content in ready product)*

Viszemākais A vitamīna saturs ir tieši nobriedušā pienā (Fujita *et al*., 2011). Pēc Lawrence, Lawrence (2016) vidējais A vitamīna saturs nobriedušā mātes pienā ir 18.75 mg kg^{-1} tauku. Bet rekomendācijas A vitamīna pievienošanai adaptētajos piena maisījumos svārstās no 15 līdz 45 mg kg^{-1} tauku (Berthold *et al*., 2005). Ļoti daudz bērnu pasaulē cieš no A vitamīna trūkuma (WHO, 2011). Bet tajā paša laikā A vitamīns lielās devas ir toksisks. Ir stingras rekomendācijas par pieļaujamo A vitamīna devu zīdaiņu barošanā (Olson, 1989). A vitamīna saturs olu eļļā bija 2 reizes mazāks nekā tā vidēja koncentrācijā mātes pienā, bet, ņemot vērā, ka A vitamīna saturu olās var ietekmēt caur dējējvistu barību (Jiang *et al*., 1994), olu eļļa var kļūt par labu A vitamīna avotu.

D vitamīna saturs mātes pienā ir ļoti mazs un ir nav pietiekošs normālai bērnu attistībai. Tāpēc rekomendācijas D vitamīna saturam mākslīgā piena maisījumos paredz augstāku D vitamīna koncentrāciju nekā mētes pienā (Berthold *et al*., 2005). Olu eļļa satur 0.127±0.015 mg kg^{-1} un var tikt izmantota kā dabisks D vitamīna avots zīdaiņu barošanā.

α-tokoferols ir visaktīvākā E vitamīna forma un tāpēc E vitamīna satura salīdzināšana mātes pienā un olu eļļā bija veikta pēc α-tokoferola koncentrācijas. E vitamīna saturs mātes pienā ir ļoti individuāls un svārstās robežās no 25 līdz 246 mg kg^{-1} tauku (Lima *et al*., 2014). Zīdaiņiem no 0 līdz 1 gada vecumam ir nepieciešama lielāka E vitamīna deva un, pamatojoties uz šo faktu, rekomendācijas E vitamīna koncentrācijai adaptētajos piena maisījumos ir no 125 līdz 1250 mg kg^{-1} tauku (Berthold *et al*., 2005).

Luteīns

Pēc Canfield *et al*. (2003) datiem luteīna saturs mātes pienā ir no 0.375 līdz 1.425 mg kg^{-1} tauku (3.18. tabula) un ir uzskatāms par ļoti zemu un nepietiekošu normālai zīdaiņu attīstībai. Tāpēc rekomendācijas luteīna saturam adaptētajos piena maisījumos ir līdz pat 6.25 mg kg^{-1} tauku (FSANZ, 2008). Starpība luteīna saturā mātes pienā un rekomendācijās tā saturam adaptētajos piena maisījomos pamatojas uz to, ka mātes piena luteīna bioloģiskā uzņēmība ir vairākas reizes lielāka par luteīnu, ko izmanto adaptēto piena maisījumu ražošanā (Alexander *et al*., 2004). Luteīna saturs mātes pienā ir atkarīgs no mātes uztura. Ar luteīnu bagāto produktu lietošana uturā palielinā luteīna saturu mātes pienā (Sherry *et al*., 2014). Luteīna saturs olu eļļā bija 0.33±0.07 mg kg^{-1}, kas ir mazāk par zemāko luteīna saturu mātes pienā. Luteīns ir polārs savienojums un tāpēc olu dzeltnemuma polāro lipīdu frakcija var būt par labu luteīna avotu zīdaiņu uzturam.

Fosfolipīdi

Salīdzinājumā ar mātes pienu, olu dzeltenuma lipīdos ir augsts fosfolipīdu saturs, aptuveni 30% no kopējo lipīdu satura. Galvenie olu dzeltenuma fosfolipīdi ir fosfatidīlholīns (PC) un fosfatidīletanolamīns (PE) (Ahn *et al*., 2006). Olu eļļa satur 0.582±0.009 mg 100g^{-1} PC un 0.015±0.002 mg 100g^{-1} PE (3.19. tabula).

3.19. tabula / *Table 3.19*

Fosfolipīdu un holesterīna saturs olu eļļā, mātes pienā un adaptētos piena maisījumos / *Phospholipids and cholesterol content in egg yolk oil, breast milk and infant formula*

Bioloģiski aktīva viela / *Bioactive compound*	**Koncentrācija / C*oncentration*, mg 100g^{-1} tauku / *fat***		
	Olu eļļa / *Egg Yolk Oil*	**Mātes piens / *Breast Milk****	**Adaptētais piena maisījums / *Infant formula****
Fosfatidilholīns / *Phosphatidylcholine* (PC)	0.58±0.009	77 – 295	~5000
Fosfatidiletanolamīns / *Phosphatidylethanolamine* (PE)	0.015±0.002	80 – 240	
Holesterīns / *Cholesterol*	3,105	84 – 492	23 – 137

* tauku saturs 4% / *fat content 4 %*

Mazs fosfolipīdu saturs olu eļļā, līdzīgi kā luteīna saturs, ir saistīts ar šo savienojumu polaritāti. Fosfolipīdi ir polāri savienojumi un to vairākums ekstrahēts no olu dzeltenuma ar etanolu polarājā lipīdu frakcijā. Pateicoties mazam fosfolipīdu saturam olu eļļā, to nevar nosaukt par labu šī bioloģiski aktīva savienojuma avotu zīdaiņu uzturam. Mazs fosfolipīdu saturs olu eļļā negatīvi ietekmē arī arahidonskābes saturu tajā. Pēc Guiffrida *et al*. (2013) datiem mātes piens satur 77-295 mg 100g^{-1} tauku fosfatidīlholīna un 80-240 mg 100g^{-1} tauku fosfatidīletanolamīna. Fosfolipīdu saturu adaptētajos piena maisījumos aprēķina pēc vēlamā arahidonskābes un cervonskābes, kā arī holīna satura. Vidējā fosfolipīdu deva adaptētajos piena maisījumos var būt 2 g l^{-1} vai 5000 mg 100g^{-1} tauku.

Holesterīns

Holesterīna saturs mātes pienā ir stabils un veido 240 mg 100g^{-1} tauku (Lawrence, Lawrence, 2016). Bet pēc Kamelska *et al*. (2012) datiem holesterīna saturs mātes pienā svārstās no 84 līdz 492 mg 100g^{-1} tauku. Holesterīna saturs mātes pienā ir individuāls un mainās, barojot bērnu ar krūti. Holesterīna saturs komerciāli ražotos adaptētajos piena maisījumos ir ļoti mazs un svārstās robežās no 23 līdz 137 mg 100g^{-1} tauku (Kamelska *et al*., 2012). Olu dzeltenums dabīgi satur lielu holesterīna daudzumu (Mattila *et al*., 1999). Mūsu pētītā olu eļļa satur 3,105 mg 100g^{-1} holesterīna, kas ir 10 reizes vairāk par holesterīna saturu mātes pienā, bet zīdaiņu attāstībai varbūt to var uzskatīt par priekšrocību.

3.3. nodaļas kopsavilkums

Pievienojot majonēzei olu eļļu no 1-7%, tā būtiski neietekmē (p>0.05) majonēzes pH, lipīdu un olbaltumvielu koncentrāciju. Palielinot olu eļļas koncentrāciju, samazinās majonēzes viskozitāte, bet izteiktāka kļūst majonēzes dzeltenā krāsa. Pievienojot majonēzei olu eļļu, iespējams to bagātināt ar D vitamīnu un cervonskābi. Sensorās vērtēšanas rezultāti parādīja, ka vērtētāji dod priekšroku majonēzēm ar olu eļļas koncentrāciju 3% un 5%.

Olu eļļas taukskābes saturs ir tūvs mātes piena taukskābju saturam. Pateicoties A, D, E vitamīnu un holesterīna saturam olu eļļā tā var būt izmantojama adaptēto piena maisījumu pagatavošanā nodrošinot zīdainim šīs svarīgas bioloģiski aktīvas vielas.

Summary of chapter 3.3

Addition of egg yolk oil enriches biological value of food products and adds egg flavour and yellow color to the product.

Egg yolk oil at 1-7 % concentration has no influence (p>0.05) on mayonnaise pH, lipid and protein content. Increase in egg yolk oil content decreases the viscosity of mayonnaise.

Increasing amount of egg yolk additive resulted in more intensive yellow color of mayonnaise. Additions of egg yolk oil enriched mayonnaise with vitamin D and docosahexaenoic acid. Sensory evaluation of mayonnaise samples showed panellists' preference for mayonnaise with 3% and 5% egg yolk oil additive.

Fatty acids of egg yolk lipids more closely mimic the fatty acid composition of human breast milk. High content of bioactive compounds of egg yolk oil makes it an good ingredient for infant formulas, supplying infants with PUFA, fat-soluble vitamins and cholesterol.

SECINĀJUMI

1. Ekstrahējot olu dzeltenumus ar šķīdinātājiem (acetons, propan-2-ols/heksāns, etanols/hloroforms, acetons/heksāns, propan-2-ols/2-metilpentāns), iegūtā olu eļļa satur fosfolipīdus un ūdeni. Atkarībā no izmantotā šķīdinātāja nozīmīgi izmainās kopējo karotinoīdu saturs, no 56.14±0.89 mg kg^{-1} ar acetonu ekstrahētajā eļļā līdz 73.16±1.53 mg kg^{-1} ar etanolu/hloroformu ekstrahētajā eļļā.
2. Kvalitatīvas olu eļļas iegūšanai no šķidra olu dzeltenuma jāizmanto divsoļu šķīdinātāju ekstrakciju ar etanolu un heksānu, kuras rezultātā olu dzeltenuma polārie lipīdi tiek ekstrahēti polārajā etanola fāzē, bet nepolārie lipīdi heksāna fāzē. Divsoļu olu eļļas ekstrakcija ar etanolu un heksānu nodrošina mazu ūdens saturu (0.88±0.13 g $100g^{-1}$) eļļā, bet slāpekļa izmantošana ekstrakcijas procesa beigās pilnībā noņem šķīdinātāju atliekas eļļā.
3. Olu eļļas ekstrakcijas procesā dzeltenuma lipīdi sadalās starp etanola un heksāna ekstraktiem atbilstoši savai polaritātei. 87.05% holesterīna ekstrahējas ar nepolāro heksānu, bet gandrīz visi fosfolipīdi (98.22%) un lielāka daļa luteīna (88.74%) un zeaksantīna (91.22%) koncentrējas etanola ekstraktā. Heksāna ekstraktā koncentrējas 97.44% olu dzeltenumā esošā β-karotīna un 89.84% kantaksantīna.
4. Olu eļļas bioloģiski aktīvo vielu saturu ietekmē vistu barības sastāvs. Pastāv cieša korelācija starp polinepiesātinātu taukskābju, taukos šķīstošu vitamīnu un karotinoīdu saturu vistu barībā un olas dzeltenumā.
5. Izmantojot etanolu olu eļļas ekstrakcijai no dzeltenuma ar augstu piesārņojuma līmeni iegūst mikrobioloģiski tīru olu eļļu. Olu eļļas kvalitātes rādītāji saglabājas atbilstošā līmenī vismaz 12 mēnešus, uzglabājot olu eļļu +4°C un +20°C temperatūrā.
6. Izmantojot olu eļļu majonēzes ražošanai, tā piešķir olai raksturīgu garšu, smaržu un krāsu, kā arī bagātina ar polinepiesātinātām taukskābēm un D vitamīnu. Sensorās vērtēšanas rezultāti parādīja, ka vērtētāji dod priekšroku majonēzēm ar olu eļļas devu 3% un 5%.
7. Pētījumā iegūtie dati apstiprina izvirzīto hipotēzi – „ar šķīdinātāju ekstrakcijas metodi no svaiga, šķidra olu dzeltenuma var iegūt augstvērtīgu un kvalitatīvu olu eļļu”.

CONCLUSIONS

1. *Egg yolk oil extracted with different solvents (acetone, 2-propanol/hexane, ethanol/chloroform, acetone/hexane, 2-propanol/isohexane) contains phospholipids and high water content.Total carotenoids content in egg yolk oil depends from used extraction solvent and varies from 56.14±0.89 mg kg^{-1} in acetone extracted oil to 73.16±1.53 mg kg^{-1} ethanol/chloroform extracted oil.*
2. *Qualitative egg yolk oil can be produced using two-step extraction with ethanol and hexane, where polar lipids of egg yolk are concentrated in polar ethanol extract, but non-polar lipids in hexane extract. Two-step extraction with ethanol and hexane significantly decreases water content in egg yolk oil (0.88±0.13 g $100g^{-1}$), but nitrogen usage removes all solvent residues from egg yolk oil.*
3. *Distribution of egg yolk lipids between ethanol and hexane extracts depends on lipids polarity. 87.05% of total egg yolk cholesterol was extracted to hexane extract, but majority of phospholipids (98.22%) were concentrated in ethanol extract. 97.44% of β-carotene and 89.84% of cantaxanthin, from their total content in egg yolk, were concentrated in hexane extract.*
4. *Egg yolk oil bioactive compound content is affected by hen's feed. There is a correlation between PUFA, fat-soluble vitamins and carotenoids content in feed and egg yolk.*
5. *Using ethanol for the extraction of egg oil from highly contaminated egg yolk, microbiologically safe product can be produced. Egg yolk oil meets quality standards at least for 12 months stored at 4°C and +20°C temperature.*
6. *Egg yolk addition provides egg flavour and color to a mayonnaise, and enriches it with PUFA and vitamin D. Results of sensoral analysis shows panellists preference for mayonnaise with 3% and 5% of egg yolk oil addition.*
7. *The hypothesis of the PhD thesis is confirmed.*

INFORMĀCIJAS AVOTI / *INFORMATION SOURCES*

1. Abril R., Barclay W. (1998) Production of docosahexaenoic acid-enriched poultry eggs and meat using an algae-based feed ingredient. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 83, pp. 77–88.
2. Abu-Salem F. M., Abou-Ara A. A. (2008) Chemical, microbiological and sensory evaluation of mayonnaise prepared from ostrich eggs. *Grasas y Aceites*, 59 (4), pp. 352–360.
3. Ahn D. U., Lee S. H., Singam H., Lee E. J., Kim J. C. (2006) Sequential separation of main components from chicken egg yolk. *Food Science and Biotechnology*, 15 (2), pp. 189–195.
4. Aljamal A. (2011) The Effect of Vitamin E, Selenomethionine and Sodium Selenite Supplementation in Laying Hens. Theses and Dissertations in Animal Science, Paper 36. Avialable at: http://digitalcommons.unl.edu/animalscidiss/36. [Accessed on: 6.03.2013.]
5. Alleoni A. C. C. (2006) Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Scientia Agricola*, 63 (30), pp. 291–298.
6. Amin M. H., Elbeltagy A. E., Mustafa M., Khalil A. H. (2014) Development of low fat mayonnaise containing different types and levels of hydrocolloid gum. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 20 (1), pp. 54–63.
7. Anderson K. E. (2011) Comparison of fatty acid, cholesterol, and vitamin A and E composition in eggs from hens housed in conventional cage and range production facilities. *Poultry Science*, 90 (7), pp. 1600–1608.
8. Anton M. (2007) Composition and Structure of Hen Egg Yolk. In *Bioactive Egg Compounds.* R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, and R. Schade, (Eds). Springer Science & Business Media, pp. 1–6.
9. AOAC (1990) Official methods of analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, Virginia.
10. AOAC (2005) Official Methods of Analysis. 18th edition. AOAC International, Gaithersburg, USA.
11. AOAC 994.10-1994 (2010) Cholesterol in foods. Direct saponification-gas chromatographic method.
12. Arhipova I., Bāliņa S. (2003) Statistika ekonomikā. Risinājumi ar SSPS un Microsoft Excel. Rīga: Datorzinību centrs, 352 lpp.
13. Ballard O., Morrow A. L. (2013) Human milk composition: Nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics of North America*, 60 (1), pp. 49–74.
14. Baluja S., Gajera R., Vekariya N., Bhatt M., Bhalodia R., (2009) Solubility of cholesterol in some alcohols from 293.15 to 318.15 K. *Archives of Applied Science Research*, 1 (2), pp. 263–270.
15. Baxter C., Jones R. C. (1991) Egg Hygiene: Microbial Contamination, Significance and Control. In: *Avian Incubation*, Tullet, S.G. (Ed.). Butterworth-Heinemann, London, p. 269–276.
16. BC SPCA The housing of egg-laying hens. Avialable at: www.spca.bc.ca/farm (cfhs.ca/files/bcspca_factsheet_housing_of_egg_laying_hens.pdf). [Accessed on: 01.09.2015.]
17. Belitz H. D., Grosch W., Schieberle P. (2004) *Food Chemistry*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Inc., New York, pp. 409–414.
18. Bennet D. C., Cheng K. M. (2010) Selenium enrichment of table eggs. *Poultry Science*, 89, pp. 2166–2172.
19. Berthold K., Baker S., Cleghorn G., Neto U. F., Gopalan S., Hernel O., Hock Q. S., Jirapinyo P., Lonnerdal B., Pencharz P., Pzyrembel H., Ramirez-Mayans J., Shamir R., Turck D., Yamashiro Y., Zong-Yi D. (2005) Global Standard for the Composition

of Infant Formula: Recommendations of an ESPGHAN Coordinated International Expert Group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41, pp. 584–599.

20. Blesso C. N. (2015) Egg Phospholipids and Cardiovascular Health. *Nutrients*, 1 (7), pp. 2731–2747.
21. Boselli E., Velazco V., Caboni M. F., Lercker G. (2001) Pressurized liquid extraction of lipids for the determination of oxysterols in egg-contained food. *Journal of Chromatography A*, 917, pp. 239–244.
22. Bradley D. G., Min D. B. (1992) Singlet oxygen oxidation of foods. *Critical Review Food Science and Nutrition*, 31 (3), pp. 211–236.
23. Bradley R. L. (1991) Removing cholesterol from milkfat using supercritical carbon dioxide. In: *Fat and Cholesterol Reduced Foods: Technologies and Strategies*, Haberstroch C., Morris C.E. (Eds.), *Advances in Applied Biotechnology Series*, 12, pp. 221–232.
24. Brown K. M., Arthur J. R. (2001) Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition*, 4 (2B), pp. 593–599.
25. BS EN 12821:2009 Foodstuffs - Determination of vitamin D by high performance liquid chromatography-Measurement of cholecalcipherol (D3) or ergocalcipherol (D2), p. 28.
26. BS EN 12822:2000 Foodstuffs - Determination of vitamin E by high performance liquid chromatography - Measurement of α-, β-, γ- and δ-tocopherols, p. 20.
27. BS EN 12823-1:2014 Foodstuffs - Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography. Measurement of all-E-retinol and 13-Z-retinol, p. 20.
28. Bulley N. R., Labayb L., Arntfield S. D. (1992) Extraction/fractionation of egg yolk using supercritical CO2 and alcohol entrainers. *The Journal of Supercritical Fluids*, 5 (1), pp. 13–18.
29. Burdge G. C., Wootton S. A. (2002) Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *British Journal of Nutrition*, 88 (4), pp. 411–420.
30. Canfield L. M., Clandinin M. T., Davies D. P., Fernandez M. C., Jackson J., Hawkes J., Goldman W. J., Pramuk K., Reyes H., Sablan B., Sonobe T., Bo X. (2003) Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. *European Journal of Nutrition*, 42 (3), pp. 133–141.
31. Chen J. Y., Latshaw J. D., Lee H. O., Min D. B. (1998) α-tocopherol content and oxidative stability of egg yolk as related to dietary α-tocopherol. *Journal of Food Science*, 63, pp. 919–922.
32. Chen W., Su B., Xing H., Yang Y., Ren Q. (2009) Solubilities of cholesterol and desmosterol in binary solvent mixtures of n-hexane + ethanol. *Fluid Phase Equilibria*, 287 (1), pp. 1–6.
33. Cherian G., Wolfe F. W., Sim J. S. (1996a) Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids and oxidative stability. *Poultry Science,* 75, pp. 423–431.
34. Cherian G., Wolfe F. W., Sim J. S. (1996b) Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. *Journal of Food Science*, 61, pp. 15–18.
35. Cherian G., Sim J. S. (1991) Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs, embryos and newly hatched chicks. *Poultry Science*, 70 (4), pp. 917–922.
36. Chung H. Y., Rasmussen H. M., Johnson E. J. (2004) Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *Journal of Nutrition*, 134, pp. 1887–1893.
37. Cizkova V., Prokoratova V., Voldrich M., Kvasnicka F., Soukupova V. (2004) Determination of egg content in pasta. *Czech Journal of Food Science*, 22, pp. 197–203.

38. Commission Implementing Regulation (EU) 2015/1486 of 2 September 2015 concerning the authorisation of canthaxanthin as feed additive for certain categories of poultry, ornamental fish and ornamental birds. Available on: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2015/1486/oj. [Accessed on 03.06.2016.]
39. Coodley G. O., Coodley M. K., Lusk R., Green T. R., Bakke A. C., Wilson D., Wachenheim D., Sexton G., Salveson C. (1996) Beta-carotene in HIV infection: an extended evaluation. *AIDS*, 10, pp. 967–973.
40. Cortinas L., Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Grashorn M. A. (2003) Change in α-tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain ω-3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, pp. 820–829.
41. Craft N. E. (1992) Relative Solubility, Stability, and Absorptivity of Lutein and β-Carotene in Organic Solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, pp. 431–434.
42. Daragan V. A., Voloshin A. M., Chochina S. V., Khazanovich T. N., Wood W. G., Avdulov N. A., Mayo K. H. (2000) Specific Binding of Ethanol to Cholesterol in Organic Solvents. *Biophysical Journal*, 79, pp. 406–415.
43. De Lorgeril M., Salen P. (2004) Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 14 (3), pp. 162–169.
44. Depree J. A., Savage G. P. (2001) Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12, pp. 157–163.
45. DG AGRI (2015) Avialable at: https://ec.europa.eu/agriculture/eggs/presentations_en. [Accessed on 03.10.2015.]
46. Directive 2009/32/EC (2009) Official Journal of European Union, L141, Vol. 52, Available at: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:141:FULL:EN:PDF. [Accessed on 17.03.2014.].
47. Duguid J. P, North R. A. E. (1991) Eggs and salmonella food-poisoning: an evaluation. *Journal of Medical Microbiology*, 34, pp. 65–72.
48. Dutta-Roy A. K., Gordon M. J., Campbell F. M., Duthie G. G., James W. P. T. (1994) Vitamin E requirements, transport, and metabolism: role of α-tocopherol-binding proteins. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 5, pp. 562–570.
49. EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to Propan-2-ol as a carrier solvent for Flavourings, No. 202, pp. 1–10. Available: http://www.efsa.eu.int/science/afc/catindex_en.html. [Accessed on 17.02.2014.].
50. EFSA (2014) Scientific opinion on the safety and efficacy of canthaxanthin as a feed additive for poultry and for ornamental birds and ornamental fish. *EFSA Journal*, 12 (1), pp. 352–357.
51. Egg nutritional council (2014) Position Statement for Healthcare Professionals. The role of eggs in healthy diet. Australia. Available at: http://www.enc.org.au/position-statements/eggs-and-a-healthy-diet. [Accessed on: 02.07.2014.]
52. Faitarone A. B. G., Garcia E. A., Roça R. O., Andrade E. N., Vercese F., Pelícia, K. (2016) Yolk Color and Lipid Oxidation of the Eggs of Commercial White Layers Fed Diets Supplemented with Vegetable Oils. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 18 (1), pp. 9–16.
53. FAO (1999) Codex Standard for Edible Fats and Oils not covered by Individual Standards (CODEX STAN 19-1981), Rev. 2. Available at: www.fao.org/input/download/standards/74/CXS_019e_2015.pdf. [Accessed on: 06.06.2015.]

54. Favrelière S., Perault M. C., Huguet F., De Javel D., Bertrand N., Piriou A. (2003) DHA-enriched phospholipid diets modulate age-related alterations in rat hippocampus. *Neurobiology of Aging*, 24, pp. 233–243.
55. Filardi R. S., Junqueira O. M., De Laurentiz A. C., Casartelli E. M., Rodrigues E. A., Araujo L. F. (2005) Influence of different fat sources on the performance, egg quality, and lipid profile of egg yolks of commercial layers in the second laying cycle. *Journal of Applied Poultry Research,* 14, pp. 258–264.
56. Finley J. W. (2007) Increased intakes of selenium-enriched foods may benefit human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, pp. 1620–1627.
57. Flachowsky G., Engelman D., Sünder A., Halle I., Sallmann H. P. (2002) Eggs and poultry meat as tocopherol sources in dependence on tocopherol supplementation of poultry diets. Food Research International, 35, pp. 239–243.
58. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. H. (1957) A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, pp. 497–509.
59. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) (2008) Addition of lutein as a nutritive substance to infant formula, FSANZ, p. 85.
60. Franchini A., Sirri F., Tallarico N., Minelli G., Iaffaldano N., Meluzzi A. (2002) Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poultry Science*, 81, pp. 1744–1750.
61. Frankel E. N. (1996) Antioxidants in lipid food and their impact on food quality. *Food Chemistry*, 57, pp. 51–55.
62. Frigg M., Whitehead C. C., Weber S. (1992) Absence of effects of dietary α-tocopherol on egg yolk pigmentation. *British Poultry Science*, 33, pp. 347–353.
63. Froning G. W., Wehling R. L., Cuppett S. L., Pierce M. M., Niemann L., Siekman D. K. (1990) Extraction of Cholesterol and Other Lipids from Dried Egg Yolk Using Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Food Science*, 55, pp. 95–98.
64. Fujita M., Shell-Duncan B., Ndemwa P., Brindle E., Lo Y. J., Kombe Y., O'Connor K. (2011) Vitamin A dynamics in breastmilk and liver stores: A life history perspective. *American Journal of Human Biology*, 23, pp. 664–673.
65. Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Codony R., Ternes W. (2001) Effect of dietary supplementation with rosemary extract and a-tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with ω3-fatty acids. *Poultry Science*, 80, pp. 460–467.
66. Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Cortinas L., Guardiola F. (2001a) Alpha-tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with omega 3-polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 80, pp. 1496–1505.
67. Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Guardiola F. (2001b) Lipid oxidation in fresh and spraydried eggs enriched with omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science*, 80, pp. 327–337.
68. Galobart J., Barroeta A. C., Cortinas L., Baucells M. D., Codony R. (2002) Accumulation of alphatocopherol in eggs enriched with omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 81, pp. 1873–1876.
69. Garrett R. H., Grisham C. M. (1995). *Biochemistry*. Saunders College Publishing, Harcourt Brace, Orlando, FL, p. 1154.
70. Gaziano J. M. (2004) Vitamin E and cardiovascular disease: observational studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1031, pp. 280–291.
71. Gebert S., Messikommer R., Pfirter H. P., Bee G., Wenk C. (1998) Dietary fats and vitamin E in diets for laying hens: Effects on laying performance, storage stability and fatty acid composition of eggs. *Archiv für Geflügelkunde*, 62, pp. 214–222.
72. Gil A., Ramirez M., Gil M. (2003) Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57 (S1), pp. S31–S34.

73. Giuffrida F., Cruz–Hernandez C., Flück B., Tavazzi I., Thakkar S. K., Destaillats F., Braun M. (2013) Quantification of phospholipids classes in human milk. *Lipids* 48, pp. 1051–1058.
74. Glomset J. A. (2006) Role of docosahexaenoic acid in neuronal plasma membranes, *Science's STKE*, 321, PE6
75. González-Muñoz M. J., Bastida S., Jiménez O., Lorenzo de C., Vergara G., Sánchez-Muniz F. J. (2009) The effect of dietary fat on the fatty acid composition and cholesterol content of the eggs from Hy-line and Warren hens. *Grasas Y. Aceites*, 60 (4), 350–359.
76. Goodrow E. F., Wilson T. A., Houde S. C., Vishwanathan R., Scollin P. A., Handelman G., Nicolosi R. J. (2006) Consumption of One Egg Per Day Increases Serum Lutein and Zeaxanthin Concentrations in Older Adults without Altering Serum Lipid and Lipoprotein Cholesterol Concentrations. *The Journal of Nutrition*, 136 (10), pp. 2519–2524.
77. Granado F., Olmedilla B., Blanco I. (2003) Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *British Journal of Nutrition*, 90, pp. 487–504.
78. Griffin H. D. (1992) Manipulation of egg yolk cholesterol: A physiologist's view. *World's Poultry Science Journal*, 48, pp. 101–112.
79. Grobas S., Méndez J., Lázaro R., de Blas C., Mateos G. G. (2001) Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. *Poultry Science*, 80, pp. 1171–1179.
80. Grobas S., Mendez J., Lopez Bote C., De Blas C., Mateos G. G. (2002) Effect of vitamin E and A supplementation on egg yolk α-tocopherol concentration. *Poultry Science*, 81 (3), pp. 376–381.
81. Grosch W. (1993) Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 4, pp. 68–73.
82. Hammershoj M., Kidmose U., Steenfeldt S. (2010) Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (Daucus carota) varieties as forage material for egg-laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, pp. 1163–1171.
83. Hamulka J., Koczara J., Gronek M. (2005) Lutein content of selected Polish foods and estimation of its intake. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14/55 (2), pp. 201–206.
84. Hardardottir I., Kinsella J. E. (1988) Extraction of Lipid and Cholesterol from Fish Muscle with Supercritical Fluids. *Journal of food science*, 53 (6), pp. 1656–1658.
85. Hargis P. S., Van Elswyk M. E. (1991) Modifying yolk fatty acid composition to improve health quality of egg. In: *Fat and Cholesterol Reduced Foods: Technologies and Strategies*, Haberstroh, C., Morris, C.E. (Eds), Huston, Texas, Gulf Publishing Company, pp. 249–260.
86. Hartmann C., Wilhelmson M. (2001) The hen's egg yolk: a source of biologically active substances. *World Poultry Science Journal*, 57, pp. 13–28.
87. Hasseine A., Meniai A. H., Korichi M. (2009) Salting-out effect of single salts NaCl and KCl on the LLE of the systems (water + toluene + acetone), (water + cyclohexane + 2-propanol) and (water + xylene + methanol). *Desalination*, 242, pp. 264–276.
88. Hencken H. (1992) Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, 71, pp. 711–717.
89. Herald T. J., Abugoush M., Aramoouni F. (2009) Physical and sensory properties of egg yolk and egg yolk substitutes in a model mayonnaise system. *Journal of Texture Studies*, 40 (6), pp. 692–709.
90. Holick M. F. (2007) Vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine*, 357, pp. 266–281.

91. Horrocks L. A., Yeo Y. K. (1999) Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*, 40, pp. 211–225.
92. Horsted K., Hammershoj M., Allesen-Holn B. H. (2010) Effect of grass–clover forage and whole wheat feeding on the sensory quality of eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (2), pp. 343–348.
93. Huang Z. B., Leibovitz H., Lee C. M., Millar R. (1990) Effect of dietary fish oil on ω-3 fatty acids levels in chiken eggs and thigh flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, pp. 743–747.
94. Humphrey T. J. (1994) Contamination of egg shell and contents with Salmonella enteritidis: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 21 (1–2), pp. 31–40.
95. Huopalahti R., Lopez-Fandino R., Anton M., Schade R. (2007) Bioactive egg compounds. Heidelberg, Springer, p. 298.
96. ISO 11664-4:2008(E)/CIE S 014-4/E:2007. (2007) Joint ISO/CIE Standard. CIE Colorimetry - Part 4: 1976 L*a*b* Colour Space.
97. ISO 12966-1:2014 Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 1: Guidelines on modern gas chromatography of fatty acid methyl esters, p. 7.
98. ISO 12966-2:2011 Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids, p. 15.
99. ISO 16649-3:2015 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli - Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-ß-D-glucuronide, p. 10.
100. ISO 17294-2:2003 Water quality - Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) - Part 2: Determination of 62 elements, p. 46.
101. ISO 21527-1:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95, p. 8.
102. ISO 21527-2:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95, p. 9.
103. ISO 21528-2:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count method, p. 10.
104. ISO 3960:2010: E29 Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value – Iodometric (visual) endpoint determination, p. 9.
105. ISO 4121:2003 Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales, p. 9.
106. ISO 4833-1:2013 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique, 9 p.
107. ISO 4833-2:2013 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 degrees C by the surface plating technique, p. 12.
108. ISO 6579:2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella spp., p. 27.
109. ISO 6888-1:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium, p. 11.
110. ISO 9832:2002 Animal and vegetable fats and oils - Determination of residual technical hexane content, p. 10.

111. Jacob J., Miles R. (2000) Designer and Specialty Eggs. Available at: http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PS/PS04800.pdf. [Accessed on: 1.03.2013].
112. Jewell V. C., Mayes C. B. D., Tubman T. R. J., Northrop-Clewes C. A., Thurnham D. I. (2004) A comparison of lutein and zeaxanthin concentrations in formula and human milk samples from Northern Ireland mothers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, pp. 90–97.
113. Jiakui L., Xiaolong W. (2004) Effect of dietary organic versus inorganic selenium in laying hens on the productivity, selenium distribution in egg and selenium content in blood, liver and kidney. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, pp. 65–68.
114. Jiang Y. H., McGeachin R. B., Bailey C. A. (1994) α-tocopherol, b-carotene, and retinol enrichment of chicken eggs. *Poultry Science*, 73 (7), pp. 1137–1143.
115. Jiang Y., Noh S. K., Koo S. I. (2001) Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats. *The Journal of Nutrition*, 131 (9), pp. 2358–2563.
116. Jiang Z., Sim J. S. (1992) Effects of dietary n-3 fatty acid-enriched chicken eggs on plasma and tissue cholesterol and fatty acid composition of rats. *Lipids*, 27 (4), pp. 279–284.
117. Kamelska A. M., Pietrzak–Fiećko R., Bryl K. (2012) Variation of the cholesterol content in breast milk during 10 days collection at early stages of lactation. *The Journal of the Polish Biochemical Society and of the Committee of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences*, 59 (2), pp. 243–247.
118. Kang J. X., Leaf A. (1996) Antiarrhytmic effect of polyunsaturated fatty acids. Recent studies. *Circulation*, 94, pp. 1774–1780.
119. Kang K. R., Cherian G., Sim J. S. (1998) Tocopherols, retinol and carotenes in chicken egg and tissues as influenced by dietary palm oil. *Journal of Food Science*, 63 (4), pp. 592–596.
120. Karas R., Skvarča M., Žlender B. (2002) Sensory quality of standard and light mayonnaise during storage. *Food Technology and Biotechnology*, 40 (2), pp. 119–127.
121. Karsten H. D., Patterson P. H., Stout R., Crews G. (2010) Vitamins A, E and fatty acid composition of the eggs of caged hens and pastured hens. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 25 (1), pp. 45–54.
122. Kljak K., Drdić M., Karolyi D., Grbeša D. (2012) Pigmentation Efficiency of Croatian Corn Hybrids in Egg Production. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 7 (Special Issue), pp. 23–27.
123. Kotrbacek V., Skrivan M., Kopecky J., Penkava O., Hudeckova P., Uhrikova I., Doubek J. (2013) Retention of carotenoids in egg yolks of laying hens supplemented with heterotrophic Chlorella. *Czech Journal of Animal Science*, 58, pp. 193–200.
124. Kovacs-Nolan J., Phillips M., Mine Y. (2005) Advances in the value of eggs and egg components for human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp. 8421–8431.
125. Kovalcuks A., Duma M. (2013) Interaction of selenium and vitamin E in eggs and egg yolk oil. In: *Proceedings of Annual 19th International Scientific Conference Research for Rural Development 2013*. Latvija, Jelgava, pp. 136–140.
126. Kovalcuks A. (2014) Purfication of egg yolk oil obtained by solvent extraction from liquid egg yolk. In: *Proceedings of annual 20th international scientific conference Research for Rural Development 2014.* Latvija, Jelgava, pp. 142–147.
127. Kuk M. S., Tetlow R., Dowd M. K. (2005) Cottonseed Extraction with Mixtures of Acetone and Hexane. *JAOCS*, 82 (8), pp. 609–612.
128. Kwan L., Li-Chan E., Helhig N., Nakai S. (1991) Fractionation of water soluble and insoluble components from egg yolk with minimum use of organic solvents. *Journal of Food Science*, 56, pp. 1537–1541.

129. Laca A., Saenz M. C., Paredes B., Diaz M. (2010) Rheological properties, stability and sensory evaluation of low cholesterol mayonnaise prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *Journal of Food Engineering*, 97 (2), pp. 243–252.
130. Lands W. E. M. (2000) Stories about acyl chains. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1483, pp. 1–15.
131. Larsen J. E., Froning G. W. (1981) Extraction and processing of various components from egg yolk. *Poultry Science*, 60, pp. 160–167.
132. Lassek W. D., Gaulin S. J. C. (2014) Linoleic and docosahexaenoic acids in human milk have opposite relationships with cognitive test performance in a sample of 28 countries. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 91 (5), pp. 195–201.
133. Lawrence R. A., Lawrence R. M. (2016) *Breastfeeding: A Guide for the Medical Professional (8 edition).* Elsevier Health Sciences, Inc., Philadelphia, p. 800.
134. Lay Jr. D. C., Fulton R. M., Hester P. Y., Karcher D. M., Kjaer J. B., Mench J. A., Mullens B. A., Newberry R. C., Nicol C. J., O'Sullivan N. P., Porter R. E. (2011) Hen welfare in different housing systems. *Poultry Science*, 90 (1), pp. 278–294.
135. Layman K. L., Rodriguez N. R. (2009) Egg protein as a source of power, strength and energy. *Nutrition Today*, 44 (1), pp. 43–48.
136. Leeson S., Caston L. (2004) Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Science*, 83, pp. 1709–1712.
137. Leeson S., Caston L. J. (2003) Vitamin enrichment of eggs. *Journal of Applied Poultry Research*, 12, pp. 24–26.
138. Alexander D. E., Lewis B., Dana S. (2004) Lutein Concentrations during Pregnancy and infant care. Kemin Health, L.C. Available at: https://www.kemin.com. [Accessed on: 01.03.2015.]
139. Lewis N. M., Seburg S., Flanagan N. L. (2000) Enriched eggs as a source of N-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poultry Science*, 79 (7), pp. 971–974.
140. Lima M. S. R., Dimenstein R., Ribeiro K. D. S. (2014) Vitamin E concentration in human milk and associated factors: a literature review. *Jornal de Pediatria*, 90 (5), pp. 440–448.
141. Liu X., Zhao H. L., Thiesen S., House J. D., Jones P. J. H. (2010) Effect of plant sterol-enriched diets om plasma and egg yolk cholesterol concentration and cholesterol metabolism in laying hens. *Poultry Science*, 89, pp. 270–275.
142. Lohmann Tierzucht GmbH (2005) Lohmann brown management guide. Available at: <htpp://www.ltz.de/produkte/Layers/LOHMANNBROWN-CLASSIC.htm>. [Accessed on: 12.03.2013.]
143. MacDougall D. B. (2002) Colour measurement of food: principles and practice. In *Colour in Food: Improving Quality*. MacDougall D.B. (Ed.), Boca Raton: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, pp. 33–63.
144. Masuda M., Osawa M., Shigematsu N., Harada N., Lopes R. B., Kusano K., Fujiwara K. (1998) Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1, CD31) is involved in mechano-signal transduction in endothelial cells. In: *Cell Volume Regulation: the Molecular Mechanism and Volume Sensing Machinery*. Okada Y. (Ed). Elsevier Science Publishing Co. Inc., Amsterdam, pp. 23–33.
145. Mathews-Roth M. M. (1993) Carotenoids in erythropoieticprotoporphyria and other photosensitivity diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691, pp. 127–138.
146. Mattila P., Lehikoinen K., Kiiskinen T., Piironen V. (1999) Cholecalciferol and 25- hydroxycholecalciferol content of chicken egg yolk as affected by the cholecalciferol content of feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp. 4089–4092.
147. Mattila P., Rokka T., Konko K., Valaja J., Rossow L., Ryhanen E. L. (2003) Effect of cholecalciferolenriched hen feed on egg quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp. 283–287.

148. Mattila P., Valaja J., Rossow L., Venäläinen E., Tupasela T. (2004) Effect of vitamin D2- and D3-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. *Poultry Science*, 83 (3), pp. 433–440.
149. Maximiano F. A., Silva M. A., Daghastanli K. R. P., Araujo P. S., Chaimovich H., Iolanda M., Cuccovia I. M. (2008) A convenient method for lecithin purification from fresh eggs. *Química Nova*, 31 (4), pp. 910–913.
150. Mayne S. T. (1996) Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *FASEB Journal*, 10 (7), pp. 690–701.
151. Mazalli M. R., Faria D. E., Salvador D., Ito D. T. (2004) A comparison of the feeding value of different sources of fat for laying hens: 2. Lipid, cholesterol and vitamin E profiles of egg yolk. *The Journal of Applied Poultry Research*, 13 (2), pp. 280–290.
152. McClements D. J., Chantrapornchai W., Clydesdale F. (1998) Prediction of food emulsion color using light scattering theory. *Journal of Food Science*, 63, pp. 935–939.
153. McKenzie R. C., Rafferty T. S., Beckett G. J. (1998) Selenium: an essential element for immune function. *Immunology Today*, 19 (8), pp. 342–345.
154. Meluzzi A., Sirri F., Manfreda G., Tallarico N., Franchini A. (2000) Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with omega-3 long chain fatty acids. *Poultry Science*, 79, pp. 539–545.
155. Meluzzi A., Sirri F., Tallarico N., Vandi L. (1999) Dietary vitamin E in producing eggs enriched with n-3 fatty acids. In: Proceedings of VIII European symposium on the quality of eggs and egg products. Bologna, Sep 19–23, p. 153–159.
156. Mendonca Jr. C. X., Almeida C. R. M., Mori A. V., Watanabe C. (2002) Effect of dietary vitamin A on egg yolk retinol and tocopherol levels. *The Journal of Applied Poultry Research*, 11 (4), pp. 373–378.
157. Mensink R. P., Katan M. B. (1992) Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 12 (8), pp. 911–919.
158. Milinsk M. C., Murakami A. E., Gomes S. T. M., Matsushita M., De Souza, N. E. (2003) Fatty acid profile of egg yolk lipids from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 83, pp. 287–292.
159. Mine Y., Kovacs-Nolan J. (2004) Biologically active hen egg components in human health and disease. *Journal of Poultry Science*, 41, pp. 1–29.
160. Mohiti-Asli M., Shariatmadari F., Lotfollahian H., Mazuji M. T. (2008) Effects of supplementing layer hen diets with selenium and vitamin E on egg quality, lipid oxidation and fatty acid composition during storage. *Canadian Journal of Animal Science*, 88, pp. 475–483.
161. Mori A. V., Mendonca Jr. C. X., Almeida C. R. M., Pit M. C. G. (2003) Supplementing hen diets with vitamins A and E affects egg yolk retinol and α-tocopherol levels. *The Journal of Applied Poultry Research*, 12 (2), pp. 106–114.
162. Mounts T. L., Abidi S. L., Rennick K. A. (1992) HPLC Analysis of phospholipids by evaporative laser light-scattering detection. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69 (5), pp. 438–442.
163. Muggli R. (1994) Physiological requirements of vitamin E as a function of the amount and type of polyunsaturated fatty acid. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 75, pp. 166–168.
164. Murcia M. A., Martínez-Tomé M., Del Cerro I., Sotillo F., Ramírez A. (1999) Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: losses by cooking in a microwave oven. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, pp. 1550–1556.
165. Naber E. C. (1993) Modifying vitamin composition of eggs: a review. *Journal of Applied Poultry Research*, 2, pp. 385–393.
166. Nakai S., Modler H. W. (1996) *Food Proteins: Properties and Characterization*. John Wiley & Sons, p. 560.

167. Nelson K. A., Labuza T. P. (1992) Lipid Oxidation in Food. *ACS Symposium Series*, 500 (6), pp. 93–103.
168. Noble R. C., Cocchi M., Turchetto E. (1990) Egg fat – A case for concern. *World's Poultry Science Journal,* 46, pp. 109–118.
169. Nogala-Kalucka M., Gogolewski M. (2000) Alteration of fatty acid composition, tocopherol content and peroxide value in margarine during storage at various temperatures. *Nahrung*, 44, pp. 431–433.
170. Novak R. A., Reightler W. J., Pasin G., King A. J., Zeidler G. (1991) Supercritical fluid extraction of cholesterol from liquid egg. In Fat and Cholesterol Reduced Foods, pp. 289–298 Haberstroh C. and Morris C. E. (Eds). Gulf Publishing Co., Houston, TX.
171. Oh S. Y., Ryue J., Hsieh C. H., Bell D. E. (1991) Eggs enriched in ω-3 fatty acids and alterations in lipid concentrations in plasma and lipoproteins and in blood pressure. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 54, pp. 689–695.
172. Olson J. A. (1989) Upper limits of vitamin A in infant formulas, with some comments on vitamin K. *The Journal of Nutrition*, 119 (12), pp. 1820–1824.
173. Ovesen L., Brot C., Jakobsen J. (2003) Food contents and biological activity of 25-hydroxyvitamin D: a vitamin D metabolite to be reckoned with? *Annals of Nutrition and Metabolism*, 47, pp. 107–113.
174. Owen C. G, Whincup P. H., Kaye S. J., Martin R. M., Smith G. D., Cook D. G. (2008) Does initial breastfeeding lead to lower blood cholesterol in adult life? A quantitative review of the evidence. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88, pp. 305–314.
175. Paik L. K., Blair R. (1996) Atherosclerosis, cholesterol and egg. *AJAS*, 9 (1), pp. 1–25.
176. Palacios L. E., Wang T. (2005a) Egg-Yolk Lecithin Fractionation and Characterization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82 (8), pp. 571–578.
177. Palacios L. E., Wang T. (2005b) Extraction of Egg-yolk Lecithin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82 (8), pp. 565–569.
178. Papp L. V., Lu J., Holmgren A., Khanna K. K. (2007) From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants and Redox Signaling*, 9 (7), pp. 775–806.
179. Paraskevopoulou A., Kiosseoglou V. (1994) Cholesterol and Other Lipid Extraction from Egg Yolk Using Organic Solvents: Effects on Functional Properties of Yolk. *Journal of Food Science*, 59, pp. 766–768.
180. Payne R. L., Lavergne T. K., Southern L. L. (2005) Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science*, 84, pp. 232–237.
181. Perry A., Rasmussen H., Johnson E. J. (2009) Xantophyll (lutein, zeaxanthin) conten in fruits, vegetables and corn and egg products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 (1), pp. 9–15.
182. Petrovič M., Gačic M., Karačic V., Gottsteinc Ž., Mazijac H., Medic H. (2012) Enrichment of eggs in n-3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. *Food Chemistry*, 135, pp. 1563–1568.
183. Pita E., Piber L. N., De Mendonça Jr C. X. (2004) Effect of dietary supplementation of unsaturated fatty acids and vitamin E upon yolk lipid composition and α-tocopherol incorportation into the egg yolk. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41, pp. 25–31.
184. Qi G. H., Sim J. S. (1998) Natural tocopherol enrichment and its effect in n-3 fatty acid modified chicken eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp. 1920–1926.
185. Qian C., Zhang T., Pi S., Chen X. (2009) Solubility of Canthaxanthin in Pure Solvents from (293.15 to 343.15) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54 (3), pp. 1115–1116.

186. Radford S., Board R. (1993) Review: Fate of pathogens in home-made mayonnaise and related products. *Food Microbiology*, 10 (4), pp. 269–278.
187. Ramalho H. M., Santos V. V., Medeiros V. P., Silva K. H., Dimenstein R. (2006). Effect of thermal processing on retinol levels of free-range and caged hen eggs. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57 (3–4), pp. 244–248.
188. Restek (2000) A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC. Restek Technical Guide, Lit.Cat. No. 59895B. Available: http://www.restek.com/pdfs/59895B.pdf. [Accessed on 03.03.2014.].
189. Rivera S., Canela R. (2012) Influence of Sample Processing on the Analysis of Carotenoids in Maize. *Molecules*, 17, pp. 11255–11268.
190. Ross A. (2006) Vitamin A and Carotenoids. In *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. Shils M., Shike M., Ross A., Caballero B., Cousins R., (Eds). Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 351–375.
191. Salem Jr. N., Pawlosky R., Wegher. B., Hibbeln J. (1999) In vivo conversion of linoleic acid to arachidonic acid in human adults. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 60 (5–6), pp. 407–410.
192. Sala-Vila A., Castellote A. I., María Rodriguez-Palmero M., Campoy C., López-Sabater M. C. (2005) Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition*, 21, pp. 467–473.
193. Sammon AM (1999) Dietary linoleic acid, immune inhibition and disease. *Postgraduate Medical Journal*, 75, pp. 129–132.
194. Sanovo Egg Group. Available on: http://www.sanovo.com/media/150-5_Egg_yolk_powder.pdf. [Accessed at: 02.06.2015].
195. Saphier O. Blumenfeld J., Silberstein T., Tzor T., Burg A. (2013) Fatty acid composition of breastmilk of Israeli mothers. *Indian Pediatrics*, 50, pp. 1044–1046.
196. Schmid A., Walther B. (2013) Natural vitamin D content in animal products. *Advances in Nutrition*, 4 (4), pp. 453–462.
197. Schneider M. (2001) Phospholipids for functional food. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, pp. 98–101.
198. Schneider M. (2010) Egg phospholipids. Nutrients of choice for infant nutrition. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 21 (6), pp. 14–16.
199. Scientific Committee on Food (2003) Opinion of the Scientific Committee on Food on the revision of reference values for nutrition labeling. SCF/CS/NUT/GEN/18 Final, 6 March. Accessed at: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/.../sci-com_scf_out171_en.pdf. [Accessed on 04.04.2015.]
200. Seddon J. M., Ajani U. A., Sperduto R. D. (1994) Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA*, 272 (18), pp. 1413–1420.
201. Seri H. I., Naim H. Y., Hassan T. (2010) A high performance liquid chromatography (HPLC) method with evaporative light scattering detector for quantification of major phospholipids classes of donkey serum. *Veterinarski arhiv*, 80 (3), pp. 365–373.
202. Shebuski J. R., Freier T. A (2009) Microbiological Spoilage of Eggs and Egg Products, In: *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. Sperber W. H., Doyle M. P. (Eds.), Springer, New York, pp. 121–134.
203. Sherry C. L., Jeffery S. Oliver J. S., Renzi L. M., Marriage B. J. (2014) Lutein supplementation increases breast milk and plasma lutein concentrations in lactating women and infant plasma concentrations but does not affect other carotenoids. *Journal of Nutrition*, 144, pp. 1256–1263.
204. Sherwin C. M., Richards G. J., Nicol C. J. (2010) Comparison of the welfare of layer hens in 4 housing systems in the UK. *British Poultry Science*, 51 (4), pp. 488–499.
205. Sigma-Aldrich. Available at: http://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html

206. Sim J. S. (1994) New extraction and fractionation method for lecithin and neutral oil from egg yolk. In: *Egg uses and process technology – new developments*. Sim J. S., Nakai S. (Eds). CAB International, Inc., Wallingford, UK, pp. 128–138.
207. Simopoulos A. P. (2000) Human Requirement for N-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Poultry Science*, 79, pp. 961–970.
208. Simopoulos A. P., Salem N. (1992) Egg yolk as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant feeding. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55 (2), pp. 411–414.
209. Simopoulos A. P. (1991) Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54 (3), pp. 438–463.
210. Simopoulos A. P., Salem N. (1992) Egg yolk as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant feeding. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55(2), pp. 411–414.
211. Smallwood I. M. (1996) *Handbook of organic solvent properties*, Arnold, London, UK, 306 p.
212. Soleimani S., Khaghani S., Narjes Ardestani N., Asa P., Shams A., Boushehri H., Mirmiranpour H. (2013) Fatty Acid composition of mature human milk in mothers who referring to the health care centers of south of Tehran. *Papirex – Indian Journal of Research*, 3 (4), pp. 272–274.
213. Souza J. G., Costa F. G. P., Queiroga R. C. R. E., Silva J. H. V., Schuler A. R. P., Goulart C. C. (2008) Fatty Acid Profile of Eggs of Semi-Heavy Layers Fed Feeds containing Linseed Oil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 10 (1), pp. 37–44.
214. Squires M. W., Naber E. C. (1993) Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: vitamin A study. *Poultry Science*, 72, pp. 154–164.
215. St. Angelo A. J. (1996) Lipid oxidation in foods. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 36 (3), pp. 175–224.
216. Stadelman W. J. (1999) The incredibly functional egg. *Poultry Science*, 78, pp. 807–811.
217. Stadelman W. J., Pratt D. E. (1989) Factors influencing composition of the hens egg. *World's Poultry Science Journal*, 45, pp. 247–266.
218. Stadelman W. J., Cotterill O. J. (1995) *Egg Science and Technology. Fourth edition.* The Haworth Press, Inc., New York, 592 p.
219. Stenerson K. K., Verma S. (2011) The Utility of Headspace Grade Solvents in the Analysis of Organic Volatile Impurities. Supelco Publication T411031. Available: http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Posters/1/t411031h.pdf. [Accessed on 25.03.2014.].
220. Stibilj V., Koman Rajšp M., Holcman A. (1999) Fatty acid composition of eggs enriched with omega-3 fatty acids on the market. *Zootehnika*, 74, pp. 27-36. Available at: http://aas.bf.uni-lj.si/zootehnika/74-1999/PDF/74-1999-2-27-36.pdf. [Accessed on 03.03.2014.].
221. Sugino H., Ishikawa M., Nitoda T., Koketsu M., Juneja L. R., Kim M., Yamamoto T. (1997) Antioxidative activity of egg yolk phospholipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4, pp. 551–554.
222. Surai P. F., Dvorska J. E. (2001) Is organic selenium better than inorganic sources? *Feed Mix*, 9, pp. 8–10.
223. Surai P. F., Ionov I. A., Buzhin A., Buzhina N. (1995) Vitamin E and egg quality. In: Proceedings of the VI European Symposium on the quality of eggs and egg products. Zaragoza, Spain, Sep 25–29, pp. 387–394.
224. Surai P. F., Ionov I. A., Kuklenko V., Kostjuk I. A., MacPherson A., Speake B. K., Noble R. C., Sparks N. H. C. (1998) Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamin A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in embryonic liver. *British Poultry Sciencei*, 39, pp. 257–263.

225. Surai P. F., Papazyan T. T., Sparks N. H. C., Speake B. K. (2008) Simultaneous Enrichment of Eggs with PUFAs and Antioxidants. *The Columbus Concept, Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention*, pp. 139–153.
226. Surai P. F. (2006) *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, p. 974.
227. Surai P. F., Speake B. K. (1998) Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, pp. 645– 651.
228. Swanson D., Block R., Shaker A. M. (2012) Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. *Advances in Nutrition*, 3, pp. 1–7.
229. Tabata M., Kumamoto M., Nishimoto J. (1994) Chemical Properties of Water-Miscible Solvents Separated by Salting-out and Their Application to Solvent Extraction. *Analytical Science*, 10, pp. 383–388.
230. Tan J. W., Joshi P. (2014) Egg allergy: an update. *Journal of Pediatrics and Child Health*, 50 (1), pp. 11–15.
231. Tiscione N. B., Alford I., Yeatman D. T., Shan X. (2011) Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. *Journal of Analytical Toxicology*, 35, pp. 501–511.
232. Traber M. G., Sies H. (1996) Vitamin E in humans: Demand and delivery. *Annual Review of Nutrition*, 16, pp. 321–347.
233. Tuberoso C. I. G., Kowalczyk A., Sarritzu E., Cabras P. (2007) Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*, 103 (4), pp. 1494–1501.
234. Vorlova L., Sieglova E., Karpiškova R., Kopriva V. (2001). Cholesterol content in eggs during the laying period. *Acta Veterinaria Brno*, 70, pp. 387–390.
235. Vugia D. J., Mishu B., Smith M., TAVRIS D. R. (1993) Salmonella enteritidis outbreak in a restaurant chain: thecontinuing challenges of prevention. *Epidemiology and Infection Journal*, 110, pp. 49–61.
236. Wahle K. W. J., Hoppe P. P., McIntosh G. (1993) Effect of storage and various intrinsic vitamin E concentrations on lipid oxidation in dried egg powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, pp. 463–469.
237. Warren W. H., Morris M. W., Kalish M. (1988) Perception of translational heading from optical flow. *Journal of Experimental Psychology Human Perception & Performance*, 14, pp. 646–660.
238. Watkins B. A. (1991) Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. *Journal of Nutrition*, 121, pp. 1475–1485.
239. Watkins B. A., Elkin R. G. (1992) Dietary modulation of oleic and stearic acids in egg yolks. *Journal of Food Composition & Analysis*, 5, pp. 209–215.
240. Watson R.R. (2008) *Eggs and health promotion*. John Wiley & Sons, Iowa, p. 202.
241. Wehling R. L., Froning G. W., Cuppet S. L., Wiemann L. (1992) Extraction of cholesterol and other lipids from dehydrated beef using supercritical carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, pp. 1204–1207.
242. WHO (2004) Chloroform, Concise International Chemical Assessment Document 58. World Health Organization Available: http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad58.pdf. [Accessed on 4.03.2014].
243. WHO (2011) Guideline: Vitamin A supplementation in infants and children 6–59 months of age. Geneva, World Health Organization. Available at: whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501767_eng.pdf. [Accessed on: 03.03.2015.]
244. Yalçyn H., Ünal M. K., Basmacyoolu H. (2007) The fatty acid and cholesterol composition of enriched egg yolk lipids obtained by modifying hens' diets with fish oil and flaxseed. *Grasas y Aceites*, 58 (4), pp. 372–378.

245. Yamamoto T., Lekh R. J., Hajime H., Mujo K. (1996) *Hen Eggs Basic and Applied Science,* CRC Press, p. 204.
246. Yao L., Wang T., Persia M., Horst R. L., Higgins M. (2013) Effects of vitamin D3-enriched diet on egg yolk vitamin D3 content and yolk quality. *Journal of Food Science*, 78 (2), pp. C178-183.
247. Yuhas R., Pramuk K., Lien E. L. (2006) Human milk fatty acid composition from nine countries varies most in DHA. *Lipids*, 41 (9), pp. 851–858.
248. Zambiazi R. Z., Zambiazi M. W. (2000) Vegetable oil oxidation: effect of endogenous components. Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. *Campinas*, 34 (1), pp. 2–32.
249. Zeidler G., Pasin G., King A. (1994) Removing cholesterol from liquid egg yolk by carbon dioxide supercritical carbon dioxide. In: *Egg Uses and Processing Technologies – New Developments*. Sim J. S. and Nakai S. (Eds.), CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 115–127.
250. ГОСТ Р 52969-2008 Масло сливочное. Технические условия, 23 с.
251. Пунегова Л. Н., Шитова Т. С., Курбанова И. И., Альфонсов В. А., Коновалов А. И., Волкова Ю. Н. (2002) Способ извлечения яичного масла из яичных желтков Патент: RU №2223305, от 08.01.2002. Available on: http://www.findpatent.ru/patent/222/2223305.html. [Accessed on 12.02.2014.]