



Latvijas Lauksaimniecības universitāte  
Latvia University of Agriculture

Pārtikas tehnoloģijas fakultāte  
Faculty of Food Technology



*Mg.chem.* Aleksandrs Kovaļčuks

## VISTU OLU EĻĻAS IEGUVE UN KVALITĀTE

### *HEN EGG OIL EXTRACTION AND QUALITY*

Promocijas darba KOPSAVILKUMS

*Dr. sc. ing.* zinātniskā grāda iegūšanai

#### SUMMARY

of the Doctoral thesis for the scientific degree of Dr. sc. ing.

Jelgava  
2017

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 zinātniskā vadītāja: **Māra Dūma**  
*Scientific supervisor:* *Asoc. prof., Dr. sc. ing.*

Promocijas darba zinātniskais konsultants: **Viesturs Kreicbergs**  
*Scientific advisor:* *Prof., Dr. chem.*

Oficiālie recenzenti / *Official reviewers:*

- Prof., *Dr. habil. sc. ing.* **Imants Atis Skrupskis** – Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Latvija / *Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Latvia*
- Prof., *Dr. sc. ing.* **Līga Skudra** – Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Latvija / *Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Latvia*
- Asoc. prof., *Dr. chem.* **Ida Jākobsone** – Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, Latvija / *Latvia University, Faculty of Chemistry, Latvia*

**Promocijas darba aizstāvēšana notiks** LLU Pārtikas zinātnes promocijas padomes atklātajā sēdē 2017. gada. 12. aprīlī, plkst. 11<sup>00</sup> Jelgavā, Rīgas iela 22, Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, 216. auditorijā.

*The defence of the PhD thesis in an open session of the Promotion Council of Food Science of Latvia University of Agriculture will be held at 11.00 a.m. on April 12<sup>th</sup>, 2017 in Room 216, Latvia University of Agriculture, Rīgas street 22, Jelgava.*

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā Lielā ielā 2, Jelgavā, LV 3001 un <http://llufb.llu.lv>. Atsauksmes sūtīt Pārtikas zinātnes nozares promocijas padomes sekretārei LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes *asoc. prof., Dr.sc.ing.* **I. Beitānei** (Rīgas iela 22, Jelgava, LV 3001 vai e–pasts: [ilze.beitane@llu.lv](mailto:ilze.beitane@llu.lv)).

*The PhD thesis is available for the review at the Research Library of Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava, LV 3001, and on the internet: <http://llufb.llu.lv>. References are welcome to be sent to **I. Beitāne**, *Dr.sc.ing.*, the Secretary of the Promotion Council in the sector of Food Science, at the Faculty of Food Technology, Latvia University of Agriculture, Rīgas street 22, Jelgava, LV–3001, Latvia, or e–mail: [ilze.beitane@llu.lv](mailto:ilze.beitane@llu.lv).*

## SATURS

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE .....	4
ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA.....	6
MATERIĀLI UN METODES.....	8
PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN DISKUSIJA .....	19
1. Olu eļļas ekstrakcijas procesa raksturojums .....	19
2. Olu dzeltenuma lipīdu un karotinoīdu dinamika olu eļļas ekstrakcijas procesā.....	24
3. Olu eļļas bioloģiski aktīvo vielu satura ietekmējošo faktoru analīze .....	25
4. Olu eļļas kvalitātes izmaiņas uzglabāšanas laikā .....	31
5. Olu eļļas pielietojums majonēzes pagatavošanā .....	33
Secinājumi .....	36

## CONTENT

<i>TOPICALITY OF THE RESEARCH.....</i>	<i>36</i>
<i>APPROBATION OF THE RESEARCH WORK.....</i>	<i>37</i>
<i>MATERIALS AND METHODS.....</i>	<i>38</i>
<i>RESEARCH RESULTS AND DISCUSSION.....</i>	<i>40</i>
<i>1. Characterization of egg yolk oil extraction process .....</i>	<i>40</i>
<i>2. Dynamics of egg yolk lipids and carotenoids during egg yolk oil extraction process.....</i>	<i>43</i>
<i>3. Analysis of factors affecting egg yolk oil bioactive compound content .....</i>	<i>44</i>
<i>4. Egg yolk oil quality changes during storage .....</i>	<i>46</i>
<i>5. Application of egg yolk oil in mayonnaise preparation.....</i>	<i>47</i>
<i>Conclusions .....</i>	<i>48</i>

## PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

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 olbaltumvielām (lipoproteīni), līdz ar to, veiksmīgākais paņēmieni 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 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 aktīvo vielu saturu, olu eļļas iegūšanas pētījumiem parādījās jauna aktualitāte.

**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) noteikt piemērotāko šķīdinātāju vai šķīdinātāju maisījumu olu eļļas ekstrakcijai no svaiga olu dzeltenuma,
- 3) pētīt 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, vairāksološu šķīdinātāju ekstrakcijas metode kvalitatīvās olu eļļas iegūšanai no svaiga 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.

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

Pētījuma rezultātā iegūta augstvērtīga olu eļļa var būt plaši pieejama patērētājiem, papildinot uzturu ar bioloģiski aktīvām vielām, kā nepiesātinātas taukskābes, A, D, E vitamīni, karotinoīdi un citi.

## ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

**Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti** 7 recenzējamās zinātniskajās izdevumos, četras publikācijas iekļautas datubāzēs *SCOPUS* un *Web Of Science*.

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 19<sup>th</sup> 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.

1. 7<sup>th</sup> 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 systems”. 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* „Purification 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 19<sup>th</sup> 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**

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

# MATERIĀLI UN METODEDES

## Pētījuma laiks un vieta

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 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).

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.

## Materiāli

### Olas

Olas pētījumam ieguva no *Lohman Brown Classic* šķirnes dējējvistām. 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.

Svaigas nešķīrotas 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.



### *Dējējvistu barība*

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. Vistām bija dota *ad libitum* piekļuve barībai (115-120 g barības uz vienu vistu dienā) un ūdenim. Vistu dzirdināšanai izmantoja nipeļa tipa dzirdnes.

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

### *Ekstrakcijas šķīdinātāji un slāpeklis*

Olu eļļas ekstrakcijai no svaiga olu dzeltenuma izmantoja vairākus organiskos šķīdinātājus, kā arī augstākās tīrības slāpekli šķīdinātāju atlieku noņemšanai (1. tabula).

1. tabula / Table 1

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

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

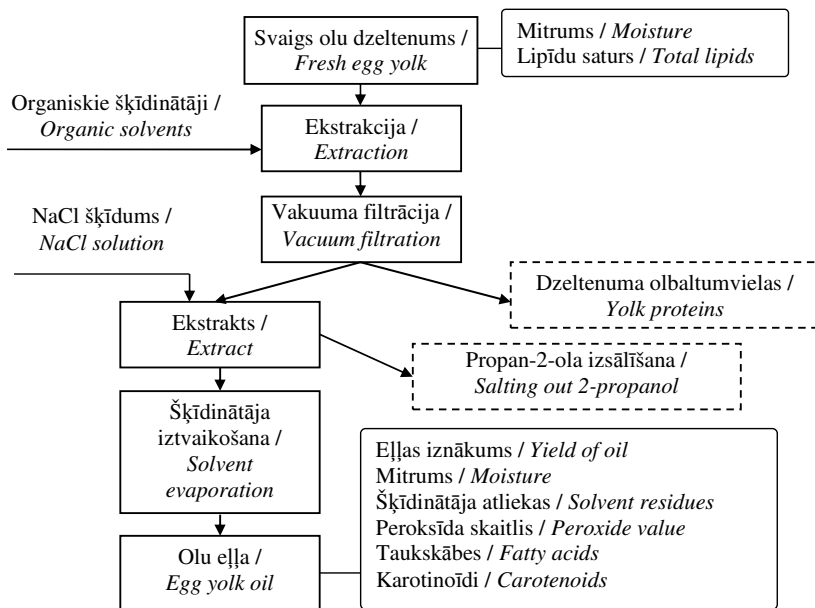
### *Pētījuma struktūra*

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

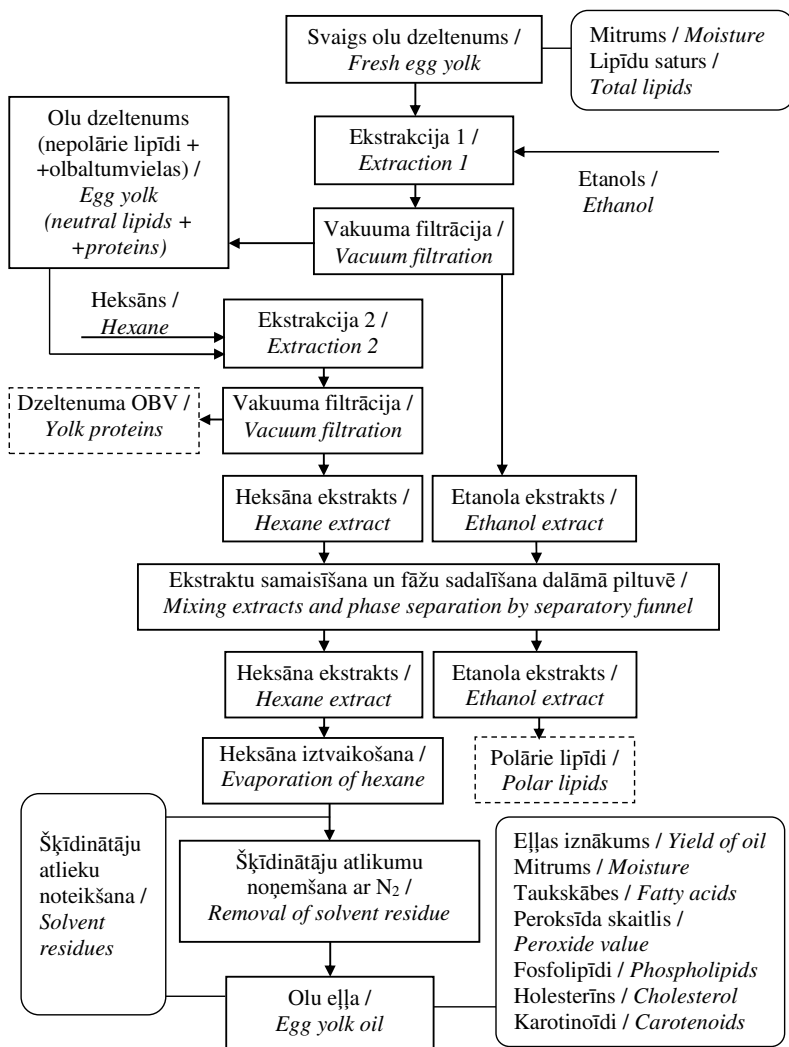
Olu eļļas ekstrakcijas process no svaiga olu dzeltenuma ar organiskajiem šķīdinātājiem sastāv no vairākiem posmiem, kuru rezultātā ir izstrādāta tehnoloģija kvalitatīvas olu eļļas iegūšanai (1. un 2. attēls).

Pētījuma otrajā posmā noteica vistu turēšanas metodes, barības sastāva un olu dzeltenuma mikrobioloģisko rādītāju ietekmi uz olu eļļas kvalitāti (3. attēls).

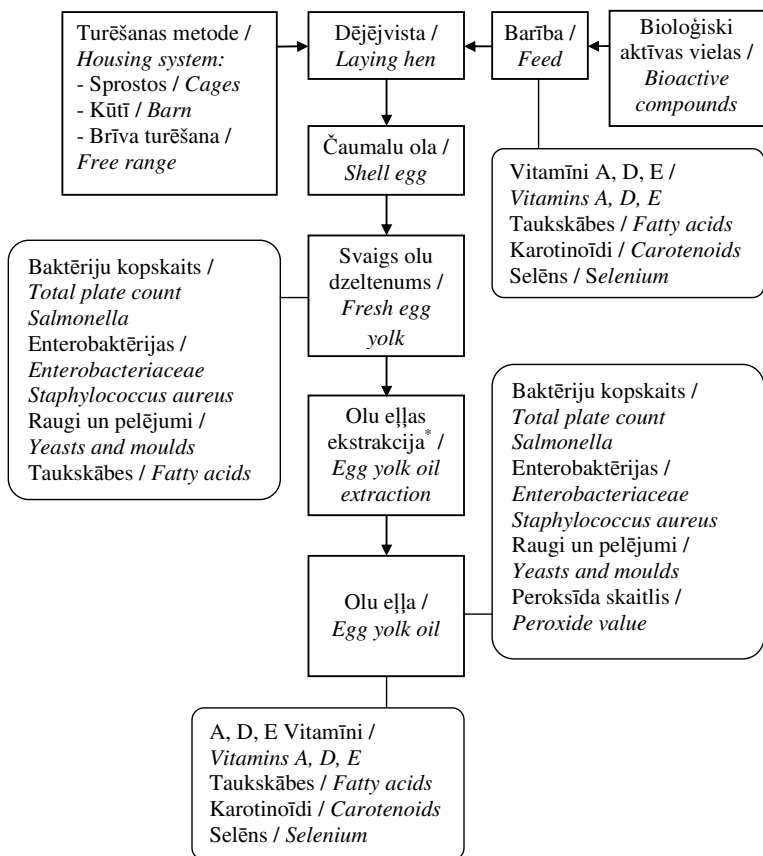
Pētījuma trešajā posmā olu eļļas pielietojumu pārtikā pārbaudīja majonēzes pagatavošanā. Majonēzes paraugiem, kuru pagatavošanā izmantoja olu eļļu, tika noteikti bioloģiski aktīvo vielu saturs, fizikālie, ķīmiskie, mikrobioloģiskie un sensorie rādītāji (4. attēls).



1. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas ekstrakcija /**  
*Fig. 1. Structure of the research – egg yolk oil extraction*

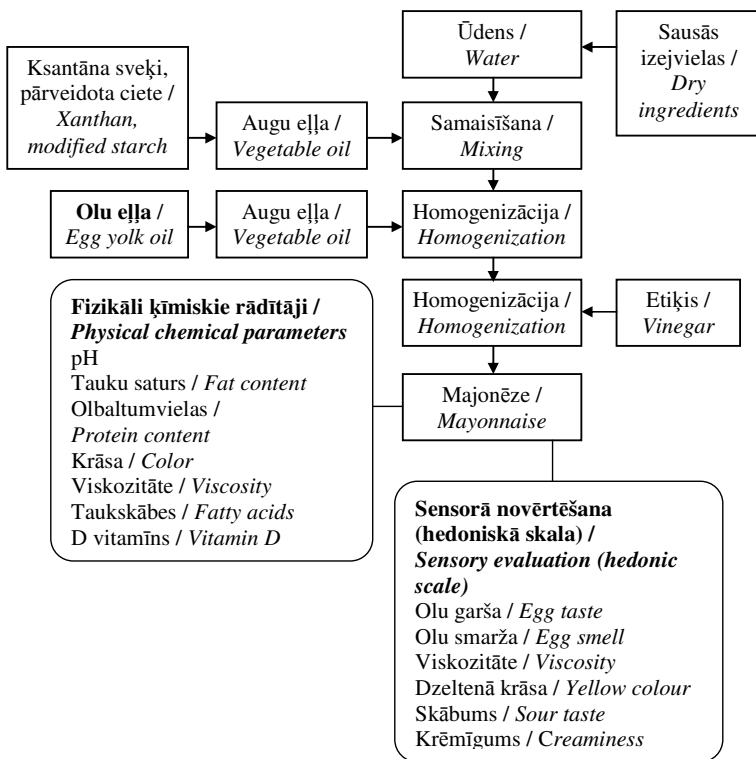


2. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas divsoļu ekstrakcija ar etanolu un heksānu /**  
**Fig. 2. Structure of the research – egg yolk oil two-step extraction with**  
**ethanol and hexane**



3. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas kvalitāti ietekmējošo faktoru noteikšana /**  
**Fig. 3. 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



4. att. **Pētījuma struktūra – olu eļļas izmantošana majonēzes gatavošanā /**  
*Fig. 4. Structure of the research – egg yolk application for mayonnaise production*

#### *Olu eļļas ekstrakcija*

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) sajauc 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<sup>-1</sup> 30 minūtes.

Lipīdu ekstraktu no olu dzeltenuma olbaltumvielām atdalīja ar vakuumfiltrācijas (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. tabulā.

2. tabula / Table 2

**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.

*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 izkļiedējas visā etanola tilpumā. Ekstrakciju turpināja +21°C temperatūrā maisot ar propellera tipa maisītāju (SciQuip Basic 20 Digital Overhead Stirrer, SciQuip Ltd, Lielbritānija) 180 min<sup>-1</sup> 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 vakuum 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. Pēc šķīdinātāja iztvaicēšanas polāros lipīdos noteica ūdens saturu.

Olu eļļu ieguva, iztvaicējot heksānu no heksāna ekstrakta, rotācijas ietvaicētājā IKA RV 10 Control (IKA-Werke GmbH & 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 minūtes.

#### *Majonēzes pagatavošana*

Majonēzes receptūras ar dažādām olu eļļas koncentrācijām ir apkopotas 3. tabulā.

3. tabula / Table 3

#### **Majonēzes receptūras / Recipes of mayonnaise, %**

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

Majonēzes pagatavošanai izmantoja mikseri Bosch MMB 1001 (Robert Bosch GmbH, Vācija). Cukuru, sāli, sauso vājšpienu, sinepju pulveri un olu dzeltenuma pulveri (kontroles receptē) samaisīja ūdenī un homogenizēja 1 minūti. Pārveidotu kartupeļu cieti un ksantāna sveķus izkļiedēja nelielā saulespuķu eļļas daudzumā attiecībā 1:3 un pievienoja ūdens fāzei maisot 12000 min<sup>-1</sup>. Maisījumu atstāja uz 5 minūtēm, lai ciete un ksantāna sveķi piebriestu. Attiecīgu olu eļļas daudzumu sajauc ar saulespuķu eļļu. Saulespuķu eļļu ar olu eļļas piedevu lēni ielēja mikserī, kuru darbināja uz maksimāliem apgriezieniem (21000 min<sup>-1</sup>). Kad visa eļļa bija pievienota, emulgēšanas 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).

*Pētījumā izmantotās analīžu metodes*

Pētījumā izmantotas analīžu metodes ir apkopotas 4. un 5. tabulās.

4. tabula / Table 4

**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.	<i>Salmonella</i>	ISO 6579:2002
4.	<i>E. coli</i>	ISO 16649-3:2015
5.	<i>S. aureus</i>	ISO 6888-1:1999
6.	Raugi un pelējumi / Yeasts and moulds	ISO 21527-1:2008; ISO 21527-2:2008

*Rezultātu matemātiskā apstrāde*

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  $\alpha=0.05$  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).



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

<b>Nr. / No.</b>	<b>Rādītāji / Parameters</b>	<b>Standarts vai metode / Standard or method</b>	<b>Dzeltenums / Yolk</b>	<b>Olu eļļa / Egg yolk oil</b>	<b>Majonēze / Mayonnaise</b>
1.	Mitrums / <i>Moisture</i>	Gravimetriski / <i>Gravimetrically</i>	+	+	-
2.	Olbaltumvielas / <i>Proteins</i>	AOAC 925.31 (AOAC, 1990)	-	+	+
3.	Lipīdi / <i>Total lipids</i>	AOAC 925.32 (AOAC, 1990)	+	+	+
4.	Olu eļļas iznākums / <i>Yield of egg yolk oil</i>	Gravimetriski / <i>Gravimetrically</i>	-	+	-
5.	Peroksīda skaitlis / <i>Peroxide value</i>	ISO 3960:2010: E29	-	+	-
6.	Heksāna atliekas / <i>Hexane residue</i>	ISO 9832:2002	-	+	-
7.	Etanola atliekas / <i>Ethanol residue</i>	Stenerson, Verma, 2011; Tiscione <i>et al.</i> , 2011; Restek, 2000	-	+	-
8.	Propan-2-ola atliekas / <i>2-propanol residue</i>	Restek, 2000	-	+	-
9.	Hloroforma atliekas / <i>Chloroform residue</i>	Restek, 2000	-	+	-
10.	Taukskābes / <i>Fatty acids</i>	ISO 12966-2:2011; ISO 12966-1:2014	+	+	+
11.	Holesterīns / <i>Cholesterol</i>	AOAC 994.10-1994 (2010)	+	+	-
12.	Fosfolipīdi / <i>Phospholipids</i>	Seri <i>et al.</i> , 2010; Yalçyn <i>et al.</i> , 2007; Mounts <i>et al.</i> , 1992	+	+	-
13.	Karotinoīdi / <i>Carotenoids</i>	Perry <i>et al.</i> , 2009; Chung <i>et al.</i> , 2004	+	+	-
14.	Selēns / <i>Selenium</i>	ISO 17294-2 (E29):2005-2	+	+	-
15.	E vitamīns / <i>Vitamin E</i>	BS EN 12822:2000	+	+	-
16.	A vitamīns / <i>Vitamin A</i>	BS EN 12823-1:2014	+	+	-

5. tabulas turpinājums / *Continue of table 5*

<b>Nr. / No.</b>	<b>Rādītāji / Parameters</b>	<b>Standarts vai metode / Standard or method</b>	<b>Dzeltenums / Yolk</b>	<b>Olu eļļa / Egg yolk oil</b>	<b>Majonēze / Mayonnaise</b>
17.	D vitamīns / <i>Vitamin D</i>	BS EN 12821:2009	+	+	+
18.	pH / <i>pH</i>	pH-metrs InoLab® pH 7110 + SenTix® 950	-	-	+
19.	Krāsas analīze / <i>Colour analysis</i>	ISO 11664-4:2008(E) / CIE S 014-4/E:2007	-	-	+
20.	Viskozitāte / <i>Viscosity</i>	Rotācijas reometrs Rheolab QC	-	-	+
21.	Sensorā vērtēšana / <i>Sensory evaluation</i>	ISO 4121:2003	-	-	+

# PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN DISKUSIJA

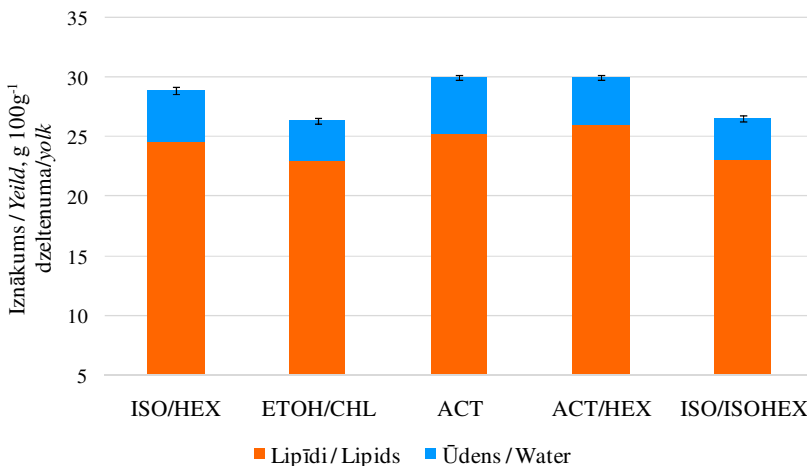
## 1. Olu eļļas ekstrakcijas procesa raksturojums

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).

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 5. attēlā.



5. att. Olu eļļas iznākums pēc dzeltenuma ekstrakcijas ar dažādiem šķīdinātājiem /

*Fig. 5. Yield of egg yolk oil using different solvents for yolk extraction*

Olu dzeltenums satur gan polārus, gan nepolārus lipīdus, un mazpolāra šķīdinātāja – acetona izmantošana olu eļļas ekstrakcijai bija pamatota ar vēlmi iegūt visaugstāko eļļas iznākumu. Olu eļļas iznākums, ekstrahējot dzeltenumu ar acetonu (ACT), bija  $29.99 \pm 0.18$  g 100g<sup>-1</sup>. 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  $28.90 \pm 0.27$  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,  $26.37 \pm 0.24$  g  $100\text{g}^{-1}$  un  $26.55 \pm 0.22$  g  $100\text{g}^{-1}$ .

Propan-2-ola/heksāna (ISO/HEX) un propan-2-ola/2-metilpentāna (izoheksāna) (ISO/ISOHEX) šķīdinātāju maisījumi ir ļoti līdzīgi pēc fizikāl-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.

#### *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.

#### *Peroksīda skaitlis*

Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka visos olu eļļas paraugos uzreiz pēc ekstrakcijas peroksīda skaitlis bija līdz  $0.02 \pm 0.02$  meq  $\text{O}_2$   $\text{kg}^{-1}$ , neatkarīgi no ekstrakcijai izmantotajiem šķīdinātājiem. Cilvēku patēriņam paredzētajos taukos un eļļās peroksīda skaitļa vērtība nedrīkst pārsniegt 10 meq  $\text{O}_2$   $\text{kg}^{-1}$  (FAO, 1999).

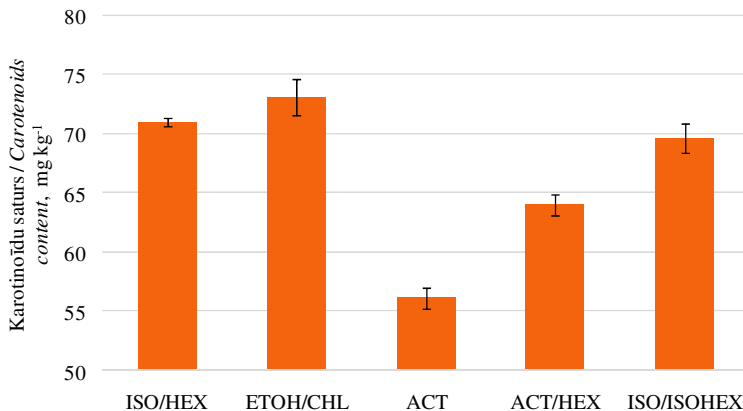
#### *Šķīdinātāju atliekas*

Pēc iegūtiem analīžu rezultātiem novērojam, ka lielākie šķīdinātāju atlikumi bija olu eļļās, kuru ekstrakcijai izmantoja šķīdinātājus ar augstāku viršanas temperatūru. Šķīdinātāju saturs iegūtajās eļļās pārsniedza atļauto daudzumu pārtikas produktos.

Šķīdinātāju atlieku pamatā ir to neefektīva iztvaikošanās no ekstrakta. Šķīdinātāju iztvaikošanu kavē arī ekstraktā esošie fosfolipīdi.

### *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. Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no ekstrakcijai izmantotiem šķīdinātājiem ir apkopots 6. attēlā.



6. att. **Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no izmantotā ekstrakcijas šķīdinātāja /**

*Fig. 6. Total carotenoid content of egg yolk oil extracted with different extraction solvents*

Mūsu pētījuma dati liecina, ka kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā mainījās atkarībā no ekstrakcijai izmantotiem šķīdinātājiem. Visaugstākā karotinoīdu koncentrācija bija atrodama ar etanolu/hloroformu (ETOH/CHL) ekstrahētajā olu eļļā  $73.16 \pm 1.53 \text{ mg kg}^{-1}$ , bet vismazākā ar acetonu (ACT) ekstrahētajā eļļā  $56.14 \pm 0.89 \text{ mg kg}^{-1}$ .

### *Taukskābju saturs*

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 taukskābju 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 6. tabulā.

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. 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.

6. tabula / Table 6

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

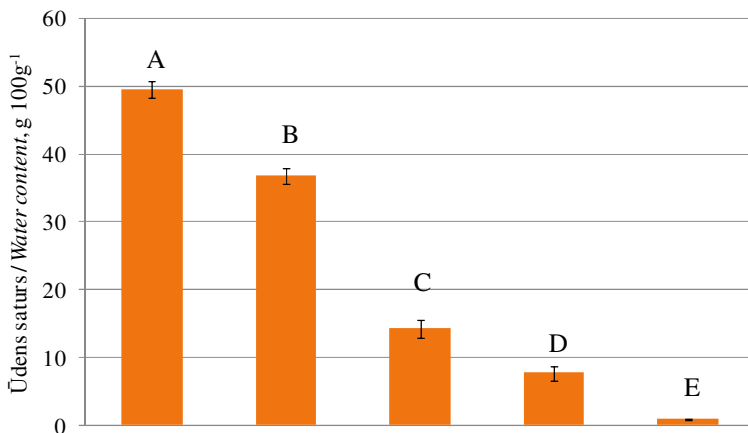
Taukskābes / Fatty Acids	Taukskābju saturs / Fatty acid content, g 100g <sup>-1</sup>				
	ISO / HEX	ETOH / CHL	ACT	ACT / HEX	ISO / ISOHEX
C14:0	0.14±0.02	0.09±0.01	0.16±0.02	0.15±0.01	0.10±0.01
C14:1	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
C15:0	0.08±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01
C16:0	<b>22.72±0.04</b>	<b>22.27±0.03</b>	<b>22.74±0.07</b>	<b>22.60±0.04</b>	<b>22.70±0.04</b>
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	<b>6.20±0.21</b>	<b>6.10±0.03</b>	<b>6.58±0.32</b>	<b>6.22±0.02</b>	<b>6.22±0.08</b>
C18:1	<b>52.61±0.06</b>	<b>53.21±0.13</b>	<b>50.43±0.09</b>	<b>50.92±0.08</b>	<b>52.60±0.20</b>
C18:2	<b>13.67±0.03</b>	<b>13.65±0.01</b>	<b>15.57±0.02</b>	<b>15.02±0.04</b>	<b>13.30±0.04</b>
C18:3	<b>1.72±0.01</b>	<b>1.77±0.01</b>	<b>1.83±0.02</b>	<b>1.78±0.02</b>	<b>1.68±0.02</b>
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	<b>1.02±0.02</b>	<b>0.95±0.02</b>	<b>1.02±0.19</b>	<b>1.00±0.01</b>	<b>0.98±0.02</b>
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

Iegūtajā olu eļļā bija liels ūdens saturs un arī šķīdinātāju saturs iegūtajās eļļās stipri pārsniedza pieļaujamās robežas. Lai uzlabotu ekstrahētas olu eļļas

kvalitātes īpašības un padarītu to drošu lietošanai, ir nepieciešams samazināt ūdens saturu tajā un atbrīvoties no šķīdinātāju klātbūtnes.

#### *Ūdens saturs samazināšana*

Liels ūdens saturs olu eļļā ir saistīts ar fosfolipīdiem (lecitīniem), kuri absorbē ūdeni no šķīdītajā olu dzeltenuma (7. attēls).



7. att. Ūdens saturs olu dzeltenumā, lecītīnā un olu eļļās /  
*Fig. 7. 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)*

Lai atdalītu polārus lipīdus (fosfolipīdus) no olu dzeltenuma, olu eļļas ekstrakcijai izmantojām etanolu un heksānu, kur sākumā no šķīdītajā dzeltenuma ar etanolu atdala polāros lipīdus un tad no palikušajam dzeltenuma nogulsnēm ar heksānu ekstrahē neitrālos lipīdus. 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  $0.88 \pm 0.13$  g 100g<sup>-1</sup>.

Polāro lipīdu frakciju pēc šķīdinātāju atdalīšanas, var izmantot kā fosfolipīdu avotu cilvēku uzturā vai kā izejvielu citu pārtikas produktu ražošanā.

#### *Šķīdinātāju atlieku noņemšana*

Pilnīgi atdalīt šķīdinātājus rotācijas ietvaicētājā nav iespējams, bet izlaižot cauri olu eļļai slāpekli, iespējams iegūt eļļu bez šķīdinātāju (etanols un heksāns) klātbūtnes (7. tabula).

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

Šķīdinātājs / Solvent	Ekstrakcijas šķīdinātāju maisījums / Extraction solvents	
	ETOH + HEX	ETOH + HEX + N <sub>2</sub>
Heksāns / Hexane, mg kg <sup>-1</sup>	1.16±0.06	<0.01
Etanols / Ethanol, mg kg <sup>-1</sup>	50.30±6.38	<0.01

*Taukskābju un kopējo karotinoīdu saturs olu eļļās*

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<sub>2</sub>), bija būtiski (p<0.05) mazāks nekā ar propan-2-ola/heksāna (ISO/HEX) ekstrahēta eļļā. Turpretim, linolēnskābes (C18:3) saturs ETOH+HEX+N<sub>2</sub> ekstrahētājā eļļā palielinājās, salīdzinājumā ar ISO/HEX eļļu.

Kopējo karotinoīdu saturs ETOH+HEX+N<sub>2</sub> ekstrahētājā olu eļļā bija 32.2±0.28 mg kg<sup>-1</sup>, kas ir būtiski mazāk nekā 71.02±0.37 mg kg<sup>-1</sup> olu eļļā, kuru ieguva, ekstrahējot dzeltenumu ar ISO/HEX maisījumu. Kopējo karotinoīdu satura starpības pamatā ir šo savienojumu polaritāte.

## 2. Olu dzeltenuma lipīdu un karotinoīdu dinamika olu eļļas ekstrakcijas procesā

Lai izvērtētu lipīdu un karotinoīdu dinamiku olu eļļas ekstrakcijas procesā, sākumā noteicām šo savienojumu saturu olu dzeltenumā un olu dzeltenuma eļļā un tad salīdzinājām to saturu ar teorētiski izrēķinātu fosfolipīdu un karotinoīdu saturu 100 g olu dzeltenuma lipīdos.

**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 / Hexane extract
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 saturs olu eļļā bija ļoti mazs, fosfatidilholīns  $0.582 \pm 0.009$  g  $100\text{g}^{-1}$  un fosfatidiletanolamīns  $0.011 \pm 0.009$  g  $100\text{g}^{-1}$ , kas ir 2.11% un 0.19%, attiecīgi no kopējā fosfatidilholīna un fosfatidiletanolamīna daudzuma olu dzeltenumā. Holesterīna saturs olu eļļā veidoja 3.105 g  $100\text{g}^{-1}$  vai 87.05% no kopēja holesterīna satura olu dzeltenuma lipīdos (8. tabula).

Karotinoīdu sadalījums divu šķīdinātāju sistēmā ir saistīta ar to polaritāti un šķīšanas pakāpi dotajos šķīdinātajos (Rivera, Canela, 2012). Olu dzeltenuma karotinoīdu sadalījums starp etanola un heksāna ekstraktiem ir apkopots 9. tabulā.

9. tabula / Table 9

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

<b>Karotinoīda nosaukums / Carotenoid name</b>	<b>Etanola ekstrakts / Ethanol extract</b>	<b>Heksāna ekstrakts / Hexane extract</b>
Luteīns / <i>Lutein</i>	88.74 %	11.26 %
Zeaksantīns / <i>Zeaxanthin</i>	91.22 %	8.78 %
Kantaksantīns / <i>Canthaxanthin</i>	10.16 %	89.84 %
$\beta$ -karotīns / <i><math>\beta</math>-carotene</i>	2.56 %	97.44 %

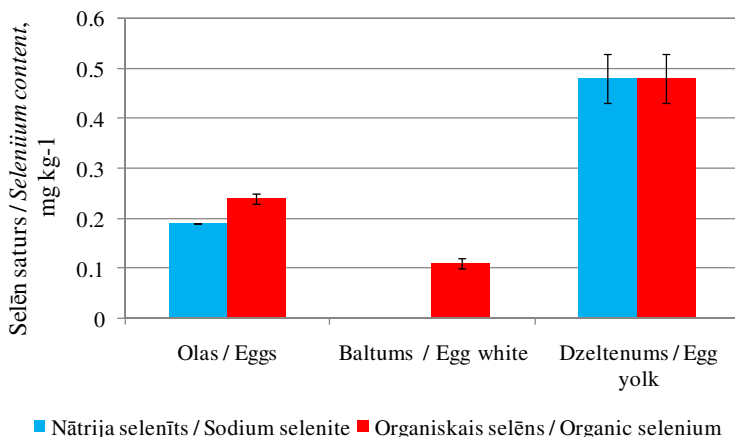
Luteīns un zeaksantīns, kā vispolārākie olu dzeltenuma karotinoīdi, tika ekstrahēti etanola/ūdens fāzē. Kantaksantīna koncentrācija heksāna ekstraktā bija 89.84% no kopējā kantaksantīna daudzuma olu dzeltenuma lipīdos, un tikai neliela daļa kantaksantīna tika ekstrahēta ar etanolu, ko var skaidrot ar kantaksantīna ieslēgšanu fosfolipīdu veidotā emulsijā.  $\beta$ -karotīns ir visnepolārākais no olu dzeltenuma karotinoīdiem, tāpēc tas gandrīz pilnīgi ekstrahējas nepolārajā heksānā un kopā ar kantaksantīnu kļūva par galveniem olu eļļas karotinoīdiem (pigmentiem).

### 3. Olu eļļas bioloģiski aktīvo vielu satura ietekmējošo faktoru analīze

#### *Dējējvistu barības sastāva ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā*

Daudzi pētījumi ir pierādījuši, ka, mainot bioloģiski aktīvo vielu saturu vistu barībā, iespējams izmainīt šo savienojumu saturu olās.

Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka selēna saturs olās mainās atkarībā no izmantotā selēna veida dējējvistu barībā (8. attēls). Mūsu pētījumā selēna saturs barībā bija neliels ( $0.20 \pm 0.02$  mg  $\text{kg}^{-1}$  receptūrā ar nātrija selenītu un  $0.30 \pm 0.03$  mg  $\text{kg}^{-1}$  receptūrā ar organisko selēnu – selenizētu raugu), arī šī mikroelementa saturs olās ( $0.19$  mg  $\text{kg}^{-1}$  nātrija selenīta gadījumā un  $0.24 \pm 0.01$  mg  $\text{kg}^{-1}$  – organiskā selēna gadījumā) ir mazāks nekā citu autoru darbos minētie lielumi (Ajmal, 2011; Bennet, Cheng, 2010; Mohiti-Asli *et al.*, 2008; Jiakui, Xialong, 2004).



8. att. **Selēna sadalījums olās /**  
*Fig. 8. Distribution of selenium in eggs*

Selēna saturs olu eļļā bija mazāks par analītiskās metodes jutības līmeni ( $<0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ ) un tas apstiprināja pieņēmumu, ka, ekstrahējot olu dzeltenumu ar organiskiem šķīdinātājiem, nav iespējams iegūt ar selēnu bagātu olu eļļu. Tā kā selēns olās ir iesaistīts olbaltumvielu sastāvā, tas pēc olu eļļas ekstrakcijas, palika dzeltenuma olbaltumvielu frakcijā.

Olu dzeltenumā un olu eļļā tika noteikts E vitamīna saturs. Olu dzeltenumā un olu eļļā galvenās E vitamīna formas ir  $\alpha$ -tokoferols un  $\gamma$ -tokoferols (10. tabula).

10. tabula / *Table 10*

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

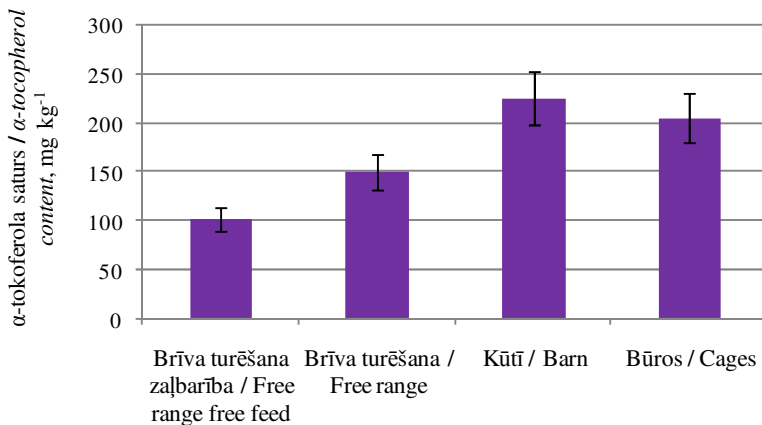
Rādītāji / Parameters	Nātrija selenīts / Sodium selenite		Organiskais selēns / Organic selenium	
	Olu dzeltenums / Egg yolk	Olu eļļa / Egg yolk oil	Olu dzeltenums / Egg yolk	Olu eļļa / Egg yolk oil
$\alpha$ -tokoferols / <i><math>\alpha</math>-tocopherol</i> , $\text{mg kg}^{-1}$	132±20	254±30	114.0±17	242±29
$\beta$ -tokoferols / <i><math>\beta</math>-tocopherol</i> , $\text{mg kg}^{-1}$	n.d.	65±1	n.d.	n.d.
$\delta$ -tokoferols / <i><math>\delta</math>-tocopherol</i> , $\text{mg kg}^{-1}$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
$\gamma$ -tokoferols / <i><math>\gamma</math>-tocopherol</i> , $\text{mg kg}^{-1}$	22±5	39±5	21±5	36±4

Ekspērimētos izmantotajās abās barības receptūrās (ar nātrija selenītu un selenizētu raugu) E vitamīna saturs bija mazs –  $25 \pm 2$  mg  $\text{kg}^{-1}$ , bet E vitamīna saturs olu dzeltenumā tika noteikts  $154 \pm 25$  mg  $\text{kg}^{-1}$  ar neorganiskā selēna piedevu un  $135 \pm 22$  mg  $\text{kg}^{-1}$  ar selēnizēta rauga 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  $\text{kg}^{-1}$ , kad vistu barība nebija bagātināta ar šo vitamīnu, bet ja barībā E vitamīna saturs tika palielināts līdz 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ , tad olu dzeltenumā tā saturs veidoja 485.37 mg  $\text{kg}^{-1}$  (Mohiti-Asli *et al.*, 2008). Tas nozīmē, ka olu dzeltenumā E vitamīna saturs ir 2.4 reizes lielāks nekā barībā. Mūsu iegūtajos rezultātos E vitamīna saturs olu dzeltenumā bija līdz 6 reizēm lielāks nekā barībā.

*Dējējvistu turēšanas metodes ietekme uz bioloģiski aktīvo vielu saturu olu eļļā E vitamīns*

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

9. attēlā redzams, ka vistu turēšana būros vai kūtī būtiski neietekmē ( $p > 0.05$ )  $\alpha$ -tokoferola saturu olu eļļā.



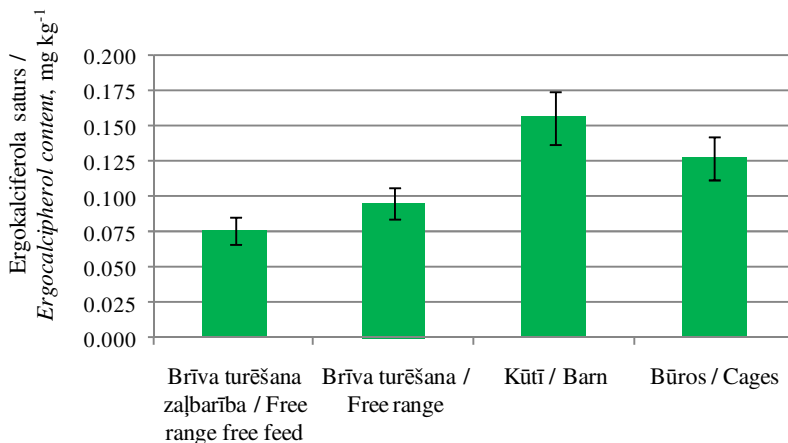
9. att.  $\alpha$ -tokoferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / Fig. 9.  $\alpha$ -tocopherol content in egg yolk oils from different hen housing method

Olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām,  $\alpha$ -tokoferola saturs bija ievērojami mazāks ( $p < 0.05$ ) par olu eļļu no būros un kūtī turēto vistu olām.

Taču vismazāko vitamīna saturu konstatējām olu eļļā, ko ieguva no brīvi turētu (zaļbarība) vistu olām.

#### *D vitamīns*

Olu dzeltenums satur arī D vitamīnu. Iegūtie rezultāti (10. 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.



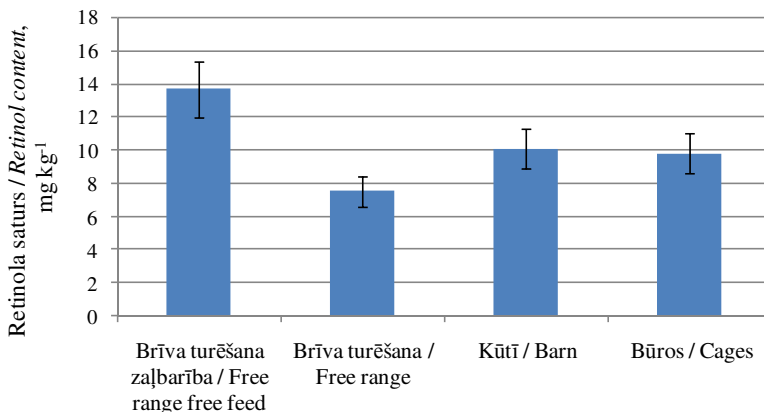
10. att. Ergokalciferola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / Fig. 10. Ergocalciferol content in egg yolk oils from different hen housing method

Netika konstatēta būtiska atšķirība ( $p > 0.05$ ) ergokalciferola saturā starp olu eļļu, kas iegūta no kūtī un būros izdētām olām. Olu eļļa, ko ieguva no brīvi turētu vistu olām (zaļbarība), saturēja mazāk D vitamīna nekā no vistām, kuras saņēma komerciālu barību.

#### *A vitamīns*

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.

Iegūtie rezultāti (11. 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  $\alpha$ -tokoferola saturs olu dzeltenumā (Mori *et al.*, 2003; Mendonca *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 1994).



11. att. Retinola saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes /  
 Fig. 11. Retinol content in egg yolk oils from different hen housing method

Salīdzinot iegūtos rezultātus, redzams, ka olu eļļā, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām, pastāv sakarības starp  $\alpha$ -tokoferola un retinola koncentrācijām – lielai retinola koncentrācijai atbilst maza  $\alpha$ -tokoferola koncentrācija.

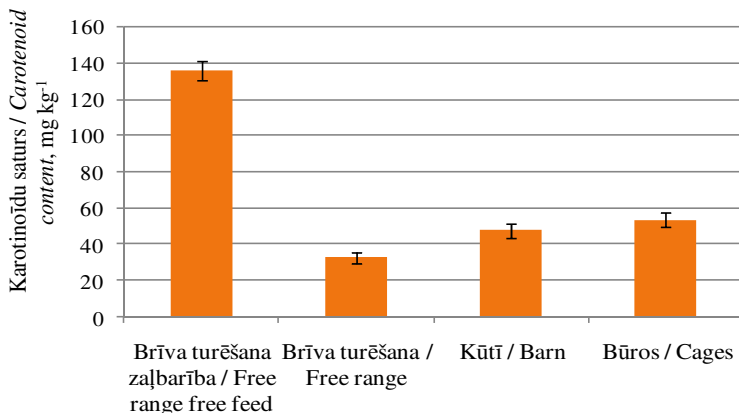
#### Karotinoīdi

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

Visvairāk karotinoīdu noteica olu eļļā, kas ekstrahēta no brīvi turētu (zaļbarība) vistu olām. Kopējo karotinoīdu saturs olu eļļā no kūti un būros turētu vistu olām bija līdzīgs ( $p > 0.05$ ), bet vismazākais karotinoīdu saturs konstatēts eļļā, kas iegūta no brīvi turētu, ar komerciālo barību barotu vistu olām.

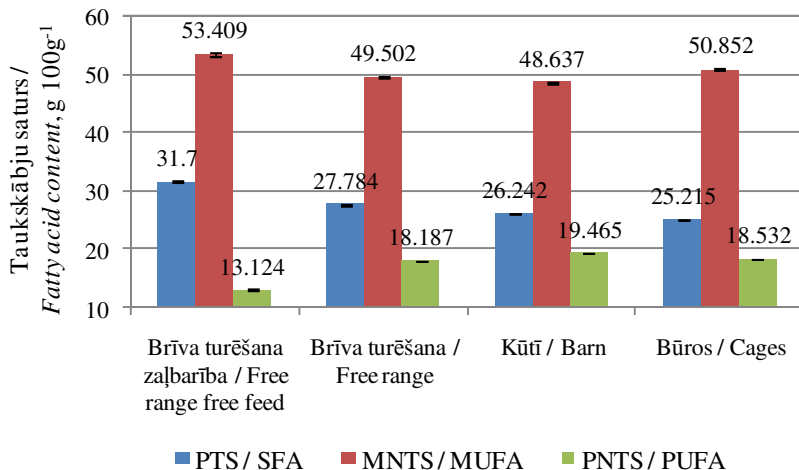
Salīdzinot abu brīvi turētu vistu olu sastāvu, varam apgalvot, ka karotinoīdu saturs olu eļļā ir saistīts ar vistu barības sastāvu. Literatūrā (Mendonca *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 1994) atrodami pētījumi par  $\beta$ -karotīna un retinola satura paaugstināšanas iespējām olu dzeltenumā, izmantojot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



12. att. **Kopējo karatinoīdu saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / Fig. 12. Total carotenoids content in egg yolk oils from different hen housing method**

#### 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.



13. att. **Taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas metodes / Fig. 13. Fatty acid profile of egg yolk oils from different hen housing method**

13. attēlā redzams, kā mainās kopējais piesātināto, mononepiesātināto un polinepiesātināto taukskābju saturs olu eļļā atkarībā no vistu turēšanas apstākļiem.

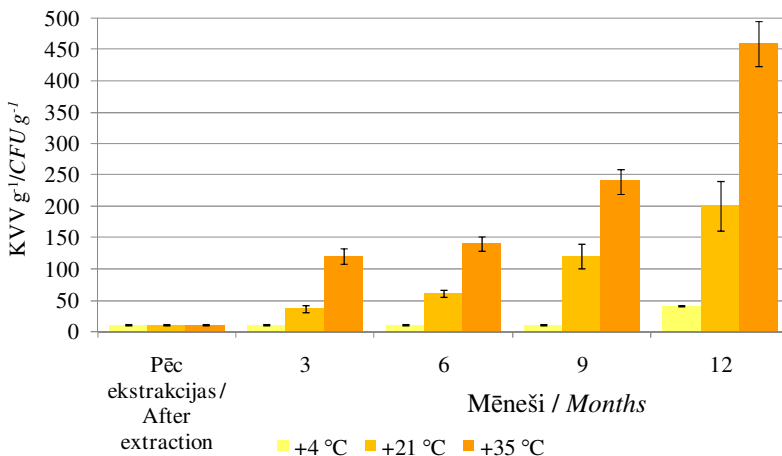
Vismazāk polinepiesātināto taukskābju satur olu eļļa, kas iegūta no brīvi turētu vistu olām, ar brīvu pieeju zaļbarībai. Visos pārējos olu eļļas paraugos polinepiesātināto taukskābju saturs bija ievērojami lielāks ( $p < 0.05$ ).

#### 4. Olu eļļas kvalitātes izmaiņas uzglabāšanas laikā

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 14. attēlā.



#### 14. att. Olu eļļas baktēriju kopskaita atkarība no eļļas uzglabāšanas temperatūras un ilguma /

*Fig. 14. Total plate count in egg yolk oil stored at different temperature and time*

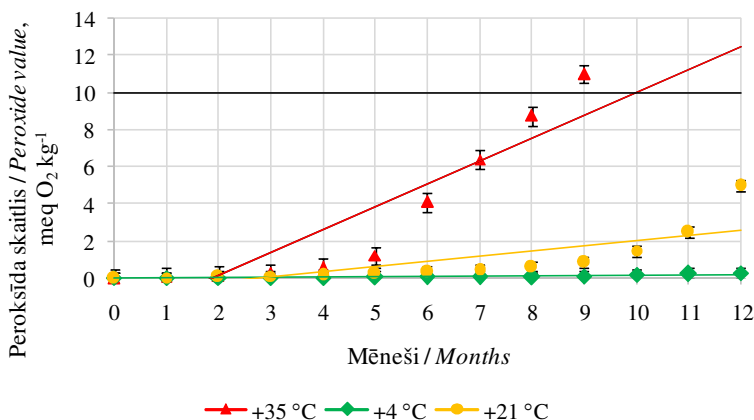
Olu eļļas uzglabāšanas laikā +4°C temperatūrā novēroja nenozīmīgu baktēriju kopskaita pieaugumu. Tādējādi, olu dzeltenuma mikrobioloģiskās tīrības saglabāšanai, olu eļļu ir nepieciešams uzglabāt zemā temperatūrā. Uzglabājot olu eļļu +21°C vai +35°C temperatūrā jau pēc 3 mēnešu ilgas

uzglabāšanas baktēriju KVV skaits būtiski ( $p < 0.05$ ) pārsniedz olu eļļas rezultātus, ko uzglabāja  $+4^{\circ}\text{C}$ .

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

### *Olu eļļas oksidācija*

Produktos ar augstu garķēžu polinepiesātināto taukskābju saturu vienmēr pastāv lipīdu autooksidācijas risks, oksidācijas uzņēmība pieaug ar tauku nepiesātinātības pakāpi. 15. attēlā redzams, ka olu eļļas peroksīda skaitļa vērtības ir mainījušās atkarībā no eļļas uzglabāšanas temperatūras.



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

*Fig. 15. 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  $+4^{\circ}\text{C}$  temperatūrā. Paaugstinoties olu eļļas uzglabāšanas temperatūrai, pieauga arī peroksīda skaitļa vērtība. Olu eļļa, kuru uzglabāja  $+35^{\circ}\text{C}$  temperatūrā, sasniedza maksimāli pieļaujamo peroksīda skaitļa vērtību ( $10 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) pēc 10 mēnešiem.



## 5. Olu eļļas pielietojums majonēzes pagatavošanā

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 10. tabulā.

10. tabula / Table 10

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

\* 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. Kopējo lipīdu saturs visos majonēzes paraugos bija robežās no 59.7±0.7 g 100g<sup>-1</sup> līdz 60.8±0.9 g 100g<sup>-1</sup>. Olbaltumvielu saturs majonēžu paraugos, kuriem pievienoja olu eļļu dažādās koncentrācijās, mainījās robežās no 1.38±0.04 līdz 1.41±0.09 g 100g<sup>-1</sup> un šīs atšķirības nav būtiskas (p>0.05). Pievienojot olu eļļu majonēzei, būtiski mainījās (p<0.05) tās viskozitāte, palielinot olu eļļas saturu majonēzē, viskozitāte samazinās. Pievienojot majonēzei 3, 5 un 7% olu eļļu, ir iespējams bagātināt majonēzi ar D vitamīnu. Kontroles paraugā, D vitamīna saturs bija mazāks par analītiskās metodes noteikšanas jutību <0.1 μg kg<sup>-1</sup>.

Patērētāji lielu uzmanību pievērš majonēzes vizuālajam izskatam, tai skaitā majonēzes krāsai. Majonēžu paraugu krāsas intensitātes mērījumi CIE L\*a\*b\* un ΔE vērtības atspoguļotas 11. tabulā.

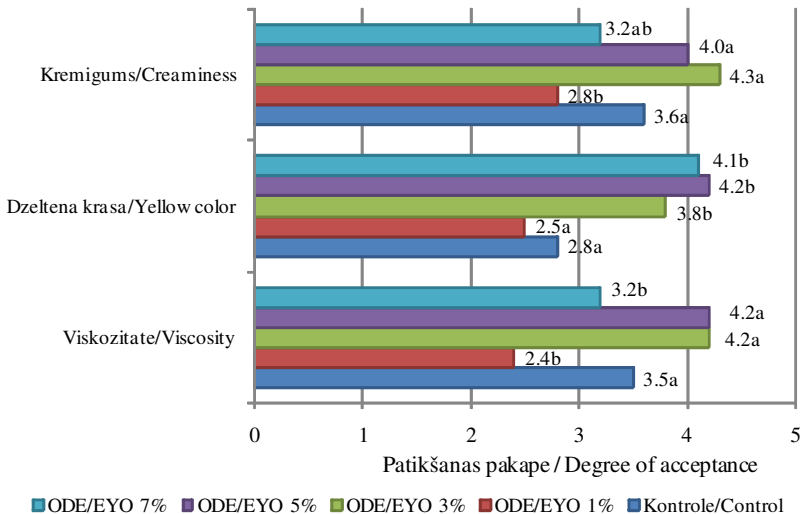
**Majonēžu paraugu krāsas CIE L\*a\*b\* vērtības atkarībā no olu dzeltenuma eļļas (ODE) koncentrācijas /  
The colour CIE L\*a\*b\* values of mayonnaise with different egg yolk oil (EYO) content**

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

\* 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 ( $p>0.05$ ).

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.



**16. att. Majonēzes sensoro īpašību novērtējums /**

*Fig. 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 ( $p>0.05$ ).

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 (16. attēls).

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%.

## 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  $56.14\pm 0.89$  mg  $\text{kg}^{-1}$  ar acetonu ekstrahētajā eļļā līdz  $73.16\pm 1.53$  mg  $\text{kg}^{-1}$  ar etanolu/hloroformu ekstrahētajā eļļā.
2. Kvalitatīvas olu eļļas iegūšanai no šķidra olu dzeltenuma jāizmanto divpakāpju šķīdinātāju ekstrakciju ar etanolu un heksānu, kuras rezultātā olu dzeltenuma polārie lipīdi tiek ekstrahēti polārajā etanola fāzē, bet nepolārie lipīdi heksāna fāzē. Divpakāpju olu eļļas ekstrakcija ar etanolu un heksānu nodrošina mazu ūdens saturu ( $0.88\pm 0.13$  g  $100\text{g}^{-1}$ ) 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  $\beta$ -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 piesātinājuma līmeni iegūst mikrobioloģiski tīru olu eļļu. Olu eļļas kvalitātes rādītāji saglabājas atbilstošā līmenī vismaz 12 mēnešus, uzglabājot olu eļļu  $+4^{\circ}\text{C}$  un  $+20^{\circ}\text{C}$  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”.

## TOPICALITY OF THE RESEARCH

Egg yolk is an important source of lipids for human nutrition. Lipid content in egg yolk oil is from 31 till 36% (Ahn *et al.*, 2006; Stadelman, Cotterill, 1995). As much important is essential (omega-3 and omega-6) fatty acid and fat-soluble vitamins content of egg yolk lipids. The consumption of egg yolk can be limited by individual egg allergy. Cholesterol content in egg yolk also have been criticized a lot. These both factors limits the usage of egg yolks in diet. But bioactive compounds of egg yolk are very important for developing bodies of childrens and teenagers (Mine, Kovacs-Nolan, 2004).

Vitamins A, D and E, carotenoids, phospholipids, sterols, omega-3 and omega-6 fatty acids are concentrated in egg yolk lipids. Extracting lipids from egg yolk will give the product rich in these essential compounds – egg yolk oil.

Bioactive compound content in egg is correlated to the content of these compounds in hen feed. It is well known methods how to increase the nutritional and biological value of the eggs through the feed, so called “designer eggs”.

Production of egg yolk oil was studied in the end of past century. The main egg yolk oil extraction problem is lipid connection with proteins (lipoproteins) that is why most successful way to extract egg yolk oil was to use organic solvents. But low quality, high production costs and limited application possibilities of extracted egg yolk oil was the reason to stop research in this direction. Today only a few companies worldwide are producing egg yolk oil and their production methods are not known.

Nowadays there is an egg overproduction and egg production companies need to find the way out from this situation. Production of new high-valued products can be the solution that is why production of egg yolk oil can be actual again.

**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 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 novelty of the research and scientific importance**

The unic egg yolk oil two-stage solvent extraction method from liquid egg yolk was developed.

Quality parameters of egg yolk oil depending on used solvents and raw material quality were determined.

Possibilities for increasement of biological value of egg yolk oil were explored.

Bioactive compound content in egg yolk oil was determined.

Application of egg yolk oil in mayonnaise production was evaluated.

#### **The economic importance of the research**

As a result of the research high-quality egg yolk oil was obtained. The egg yolk oil can be used as a supplement to human nutrition, increasing diet with polyunsaturated fatty acids, fat-soluble vitamins, carotenoids and other.

Egg yolk oil can be used in different food product production, increasing their nutritional value and provide with egg flavor and attractive yellow colour. Egg yolk oil can be used for individuals with egg allergy, because its do not contain egg proteins.

Production of new products from egg yolk gives a good opportunity for egg processing companies to develop ther business.

## **APPROBATION OF THE RESEARCH**

**The research results are summarised and published** in 7 peer-reviewed scientific issues in English; four publications are indexed in the SCOPUS and Web Of Science databases (list on page 6).

The research author has **reported on the research results** at 8 international scientific and scientifically-practical conferences in Latvia, Lithuania, Estonia, England, Austria and The Netherlands (list on pages 6 and 7).

**Participation in exhibitions:** the research results have been presented in Riga Food 2015 (page 7).

# MATERIALS AND METHODS

## **Time and plase of research**

The research has been elaborated between 2012 and 2016 in following organisations:

1. World Poultry Scientific Association Latvia branch scientific laboratory,
2. JSC Balticovo laboratories,
3. laboratory of food analysis of the Food Technology Department, Latvia University of Agriculture,
4. laboratory of packaging material investigation of the Food Technology Department, Latvia University of Agriculture,
5. the sensory evaluation laboratory of the Food Technology Department, Latvia University of Agriculture,
6. laboratory of chemistry of the Chemistry Department, Latvia University of Agriculture,
7. Eurofins, WEJ Contaminants GmbH laboratory, Germany.

**The object of investigation** is egg yolk and egg yolk oil obtained by solvent extraction from *Lohman Brown Classic* laying hen eggs.

## **Materials**

### *Eggs*

Eggs were collected from *Lohmann Brown-Classic* breed laying hens from three different laying hen housing systems: cages, barn and two groups of free range. The feed, commercially produced compound feed, was equal for all hens except second group of free range hens which had a free diet (green forage).

Eggs were collected from different laying hen groups (one group is one henhouse with 5000 to 130 000 birds each). During experiments laying hens were 30 to 60 weeks of age.

60 to 90 eggs from each laying hen group were collected directly from hen houses and delivered to the laboratory for egg yolk oil extraction and analysis.

### *Laying hen feed*

Laying hen compound feed was equal for cage, barn and one group of free range hens. There were 2 recipes of compound feed: phase 1 – for hens from 30 till 45 weeks of age and phase 2 – for hens from 45 till 60 weeks of age. Hens have *adlibitum* access to the feed (aproximately 115-120 g per hen per day) and water.

Second free range hen group was fed with feed available in particular farm (green forage, grains and other). Feed content was very variable and determination of feed nutritional value was senseless.

### *Extraction solvents and nitrogen*

For extraction of egg yolk oil different solvents and solvent mixtures were used. For solvent residue removal high purity nitrogen was used. All solvents and nitrogen used in the research for egg yolk oil extraction are mentioned in Table 1 on page 9.

### *Egg oil extraction*

For extraction of egg yolk oil from liquid egg yolk ethanol, chloroform, 2-propanol, acetone, hexane and isohexane were used.

To make solvent mixtures, solvents were mixed together by volume unpurified to the glass baker.

For each extraction process solvents were mixed by volume and poured in beaker. Liquid egg yolk was added to solvent mixture with a thin squirt vigorously mixing. The ratio 2:1 between solvent mixture and egg yolk was used. Extraction was done at +21 °C temperature vigorously mixing for 30 minutes. Extracts were filtered using vacuum filtration and collected in to a clean container. The oil was recovered by evaporation off the solvent mixture using rotary evaporator IKA RV 10 Control (IKA-Werke GmbH & Co. KG). Solvent evaporation parameters are mentioned in Table 2 on page 14.

### *Egg oil two-step extraction using ethanol and hexane*

Lipid extraction with ethanol and hexane from liquid egg yolk was made by following steps. First, polar lipids were extracted with ethanol from liquid egg yolk and then neutral lipids were extracted from precipitate with hexane (Schreiner, 2006). For lecithin extraction, 200 g of homogenized liquid egg yolk was added to 400 ml of ethanol and stirred until egg yolk proteins denatured and completely dispersed. Extraction was done at +20°C for 30 minutes. Then, the mixture was filtered by vacuum filtration, and the supernatant was collected and transferred to a separatory funnel. The precipitate was extracted with 400 ml hexane vigorously mixing for a 30 minutes at +20°C using a magnet stirrer. Extract was filtered by vacuum filtration and supernatant was collected and added to the same separatory funnel. Both ethanol and hexane extracts were thoroughly but gently, to avoid emulsion formation, mixed to extract polar lipids and impurities to a polar ethanol-water phase and neutral lipids to a non-polar hexane phase. Then the mixed extracts were left for 1 hour for phase separation. Bottom ethanol/water layer, containing polar lipids and water soluble compounds such as salts, sugars, soluble proteins, was drained from separatory funnel through the open stopcock and collected in a clean container. After evaporation in the rotary evaporator, crude lecithin was an object for water content determination.

Egg yolk oil was obtained from the extract by evaporation of the hexane in the rotary evaporator IKA RV 10 Control V (IKA®-Werke GmbH and Co. KG) at the temperature of 70°C and 400 mbar pressure.

### *Solvent residue removal*

After solvent evaporation in rotary evaporator, as a last step of the solvent removal, the pure nitrogen gas was laid through the egg oil for a 10 minutes in the same rotary evaporator with the same evaporation conditions by the means of plastic tube immersed in the oil.

### *Mayonnaise preparation*

Mayonnaises samples were prepared according to recipes on page 15.

The mayonnaise was prepared using a blender Bosch MMB 1001 (Robert Bosch GmbH, Germany). Sugar, salt, lactose free skimmed milk powder, mustard powder and egg yolk powder (in control recipe) were mixed in water and homogenized for 1 minute. The modified starch and xanthan gum were dispersed in sunflower oil in ratio 1:3 and then added to water phase at the low mixing speed (700 rpm min<sup>-1</sup>). Mixture was left for 5 minutes for swelling of starch and xanthan gum. Egg yolk oil was diluted in sunflower oil and added with a thin squirt to a blender operated on full speed. After all oil was added the emulsification process was continued for 120 seconds. As a final step, vinegar was added to the mayonnaise and homogenized for 30 seconds (Abu-Salem & Abou-Ara, 2008; Karas *et al.*, 2002)

### *Quality assessment of eggs, egg yolks, egg oil and mayonnaise*

The quality assessment methods of eggs, egg yolks, egg oil and mayonnaise in several research stages are summarised in Table 4 and 5 (pages 16 and 17).

### *Mathematical data processing*

*Microsoft Excel 7* software was used for the research purpose to calculate mean arithmetical values and standard deviations of the mathematical data used in the research.

*SPSS 19.0* software was used to determine the significance of research results, which were analysed using two-factor variance analysis (ANOVA) and the significance effect (p-value).

## **RESEARCH RESULTS AND DISCUSSION**

### **1. Characterization of egg yolk oil extraction process**

Based on scientific data, polarity and physical-chemical properties of solvents for extraction of egg yolk oil following solvents were chosen: acetone (ACT), ethanol/chloroform (ETOH/CHL), 2-propanol/hexane (ISO/HEX), acetone/hexane (ACT/HEX), 2-propanol/2-methylpentane (isohexane) (ISO/ISOHEX).



The following egg yolk oil quality parameters were used for characterisation of extraction process: yield of oil, water content, peroxide value, solvent residues, fatty acids and total carotenoids content.

#### *Yield of egg yolk oil*

The yield of oil is important technological parameter, which characterizes the effectiveness of extraction process. Figure 5 on page 19 shows the yield of egg yolk oil using different solvents for egg yolk extraction. Egg yolk contains both polar and non-polar lipids. The usage of semi-polar solvent such as acetone needs to extract as much as possible of total lipids from egg yolks. The yield of egg yolk oil after egg yolk extraction with acetone was  $29.99 \pm 0.18 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ . Acetone can extract both polar and non-polar egg yolk lipids. The same result ( $p > 0.05$ ) was observed extracting egg yolk oil with acetone/hexane mixture.

The yield of egg yolk oil extracted with 2-propanol/hexane was  $28.90 \pm 0.27 \text{ g } 100^{-1}$ .

Ethanol/chloroform and 2-propanol/isohehexane gave similar ( $p > 0.05$ ) extraction results, where yield of egg yolk oil was  $26.37 \pm 0.24 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  and  $26.55 \pm 0.22 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  respectively.

Ethanol/chloroform and 2-propanol/isohehexane solvent mixtures are very similar in terms of physical-chemical properties, but isohehexane has lower boiling temperature in comparison with hexane. Branched chain structure must have positive effect on extraction yield, but our observations confirm the opposite – the yield of egg yolk oil extracted with 2-propanol/isohehexane was significantly ( $p < 0.05$ ) lower than yield of oil extracted with 2-propanol/hexane.

#### *Water content*

All egg yolk oil samples contain a high amount of water. Water content in egg yolk oil samples was from 12.76% till 16.08%. High water content in edible oils can cause lipid oxidation and negatively affect egg yolk oil quality during storage.

#### *Peroxide value*

Peroxide value of egg yolk oil after extraction was low  $0.02 \pm 0.02 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$  regardless of used extraction solvents. Peroxide value of oils and fats for human consumption cannot exceed  $10 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$  (FAO, 1999).

#### *Solvent residues*

Results of analysis show that higher solvent residues in egg yolk oil were affected by solvent boiling temperature. Solvent residues in all egg yolk samples exceed allowed quantities for edible oils.

The reason for solvent residues in egg yolk oil is ineffective solvent evaporation from extract and phospholipids content in egg yolk oil.

### *Total carotenoids content*

Carotenoids provide the attractive yellow colour to egg yolk oil. Besides colour carotenoids are important bioactive nutrients, that is why it was necessary to know their content in egg yolk oil. Figure 6 on page 21 shows total carotenoid content in egg yolk oil samples depending on used extraction solvents.

Extraction solvents have direct impact on total carotenoids content in egg yolk oil. The highest carotenoids content was determined in ethanol/chloroform extracted egg yolk oil ( $73.16 \pm 1.53 \text{ mg kg}^{-1}$ ), but lowest carotenoids content was in acetone extracted oil ( $56.14 \pm 0.89 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

### *Fatty acids content*

Fatty acid profile was quite similar for all egg yolk oil samples, but there was difference in particular fatty acid content depending on used extraction solvent. Fatty acids content in yolk neutral lipids and phospholipids is different. Usage of different polarity solvents caused the different proportion of neutral lipids and phospholipids in egg yolk oil and respectively different fatty acids content. Fatty acid profile of egg yolk oil samples is given in Table 6 on page 22.

Saturated fatty acids content in egg yolk is quite stable and depends on hen genetics, but unsaturated fatty acids can be affected by the hen feed. Compound feed, used in the research, contains rapeseed oil rich in unsaturated fatty acids and it can affect fatty acids content in egg yolk.

Due to the high water content and solvent residues, egg yolk oil obtained by solvent extraction from liquid egg yolk needs to be purified.

### *Decreasement of water content in egg yolk oil*

Figure 7 on page 23 illustrates water content in egg yolk, crude lecithin and egg yolk oil before and after purification. High water content in egg yolk oil related to the lecithin which absorbs water contained in liquid egg yolk. The water content decreasing in egg yolk oil was obtained by elimination of phospholipids by extraction of liquid egg yolk oil with ethanol. Big difference in ethanol and hexane polarities allows to get neutral lipid extract in hexane almost without the water presence and low water content ( $0.88 \pm 0.13 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ) in egg yolk oil obtained by this method prove it.

Egg yolk polar lipids after solvent removal can be used as a supplement for human diet or for production of other food products.

### *Solvent residue removal*

There is no possible to remove totally solvents from egg yolk oil in rotary evaporator, but the usage of nitrogen in oil treatment allows removing any solvent residues.

### *Fatty acids and carotenoids content in purified egg yolk oil*

There was oleic (C18:1),  $\alpha$ -linolenic (C18:3) and docosahexaenoic (C22:6) acid changes after two-step egg yolk extraction with ethanol and hexane (ETOH+HEX+N<sub>2</sub>) observed. Docosahexaenoic acid content in purified egg yolk oil was significantly lower than in egg yolk oil extracted with 2-propanol/hexane (ISO/HEX) in single extraction process. But  $\alpha$ -linolenic fatty acid (C18:3) content in purified egg yolk oil was higher in comparison with ISO/HEX extracted.

Total carotenoid content in ETOH+HEX+N<sub>2</sub> egg yolk oil was  $32.2 \pm 0.28 \text{ mg kg}^{-1}$  and it is significantly lower in comparison with ISO/HEX extracted egg yolk oil ( $71.02 \pm 0.37 \text{ mg kg}^{-1}$ ). The reason of such difference is polarity of carotenoids.

## **2. Dynamics of egg yolk lipids and carotenoids during egg yolk oil extraction process**

For analysis of lipids and carotenoids dynamics during egg yolk oil extraction, first phospholipids, cholesterol and carotenoids content in egg yolk and egg yolk oil was determined and then compared with their theoretical content in 100 g of egg yolk lipids.

Phospholipids content in egg yolk oil was minimal,  $0.582 \pm 0.009 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  of phosphatidylcholine (PC) and  $0.011 \pm 0.009 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  of phosphatidylethanolamine (PE), which was 2.11% and 0.19% from total PC and PE content available in egg yolk lipids.

Cholesterol content in egg yolk oil was  $3105 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  or 87.05% from total available in egg yolk lipids.

Behaviour of carotenoids in two-solvent system is related with its polarity and degree of solubility in particular solvents (Rivera, Canela, 2012). Egg yolk carotenoid distribution between ethanol and hexane extracts is summarized in Table 9 (on page 25).

The majority of lutein and zeaxanthin, as most polar carotenoids presented in egg yolk, was extracted into ethanol/water phase. Lutein and zeaxanthin concentration in ethanol extract was 88.74% and 91.22% respectively from total available in egg yolk lipids.

Canthaxanthin also is a polar carotenoid, ketocarotenoid containing two carbonyl groups, but it is insoluble in ethanol and water. Canthaxanthin concentration in hexane extract was 89.84% from total content available in egg yolk lipids.

97.44% from total egg yolk  $\beta$ -carotene was extracted in to hexane extract.  $\beta$ -carotene is the most non-polar carotenoid from all egg yolk carotenoids, therefore almost all of its content was extracted in to non-polar hexane. As a

result,  $\beta$ -carotene, together with canthaxanthin, became major pigments of egg yolk oil.

### 3. Analysis of factors affecting egg yolk oil bioactive compound content

#### *Effect of laying hen feed on bioactive compound content of egg yolk oil*

A lot of studies reveal that supplementation of hen diet with bioactive compounds can increase bioactive compound content in eggs.

Figure 8 (on page 23) show selenium content in eggs. The selenium content in the hen feed was low ( $0.20\pm 0.02$  mg kg<sup>-1</sup> in feed with sodium selenite and  $0.30\pm 0.03$  mg kg<sup>-1</sup> in feed with organic selenium), therefore selenium content in both egg yolk samples was also low, on average  $0.19$  mg kg<sup>-1</sup> with inorganic selenium supplementation and  $0.24\pm 0.01$  mg kg<sup>-1</sup> with organic selenium supplementation. Due to the low selenium content in feed the selenium content in eggs was not so high as that was mentioned in other studies (Aljamal, 2011; Bennet and Cheng, 2010; Mohiti-Asli *et al.*, 2008; Jiakui and Xialong, 2004).

The results of selenium analysis using ICP-MS show that selenium content in both samples of egg yolk oil, extracted from inorganic and organic selenium enriched yolks, were below quantification level  $<0.05$  mg kg<sup>-1</sup>. It confirms our expectations about the absence of selenium in egg yolk oil, but it does not mean that there are no selenium traces in egg yolk oil. Because selenium is incorporated in proteins, it was left in protein part after the extraction of egg yolk oil from the egg yolks.

Vitamin E content in egg yolk and egg yolk oil samples is presented as a tocopherol profile and is given in Table 10 (on page 26). In our study the supplementation of hen feed with vitamin E was low. Vitamin E content in feed was  $25\pm 2$  mg kg<sup>-1</sup> in both diets that gave  $154\pm 25$  mg kg<sup>-1</sup> of vitamin E content in egg yolk with inorganic selenium diet and  $135\pm 22$  mg kg<sup>-1</sup> of vitamin E in egg yolk with organic selenium. A. Mohiti-Asli *et al.* (2008) in their research supplemented hen feed with  $200$  mg kg<sup>-1</sup> of vitamin E and as a result they received  $485.37$  mg kg<sup>-1</sup> of vitamin E in egg yolk. It means that vitamin E content in egg yolk was 2.4 times higher than the supplemented vitamin E in feed. Our results show 6 times higher vitamin E content in egg yolk than in feed.

#### *Effect of laying hen housing method on bioactive compound content of egg yolk oil*

##### *Vitamin E*

$\alpha$ -tocopherol content in egg yolk can be affected through the hen feed and fluctuates from  $10$  till  $967$  mg kg<sup>-1</sup> (Jiang *et al.*, 1994; Kang *et al.*, 1998; Grobas *et al.*, 2002; Mori *et al.*, 2003).  $\alpha$ -tocopherol is a lipid soluble compound and it can be extracted from egg yolk in egg yolk oil.

Figure 9 (on page 27) shows that  $\alpha$ -tocopherol content in egg yolk oils was similar ( $p>0.05$ ) for caged eggs and barn eggs,  $205.56\pm 24.67$  mg kg<sup>-1</sup> and  $225.54\pm 27.06$  mg kg<sup>-1</sup> respectively.  $\alpha$ -tocopherol content in egg yolk oil extracted from free range eggs was  $149.96\pm 17.99$  mg kg<sup>-1</sup>, that is significantly lower ( $p<0.05$ ) than in oil from barn and caged eggs. But the lowest  $\alpha$ -tocopherol content ( $101.32\pm 12.16$  mg kg<sup>-1</sup>) was determined in egg yolk oil extracted from eggs collected from free range free diet hens.

#### *Vitamin D*

Vitamin D is another representative of lipid soluble vitamins in egg yolk. Figure 10 (on page 28) clearly shows that ergocalciferol content in egg yolk oil extracted from both free range eggs was significantly ( $p<0.05$ ) lower than from barn and cage eggs. There was no difference in ergocalciferol content in barn egg yolk oil which contained  $0.157\pm 0.019$  mg kg<sup>-1</sup> and cage egg yolk oil which contained  $0.127\pm 0.015$  mg kg<sup>-1</sup> of ergocalciferol. But egg yolk oil extracted from free range free diet hen eggs contained less vitamin D than yolk oil from free range compound feed hen eggs,  $0.076\pm 0.009$  mg kg<sup>-1</sup> and  $0.096\pm 0.011$  mg kg<sup>-1</sup>, respectively.

#### *Vitamin A*

Animal form of vitamin A – retinol is presented in egg yolk in high concentrations. The higher content of retinol was determined in egg yolk oil from free range free diet hen eggs.

As in (Anderson, 2011) vitamin A content in eggs was not affected by the housing method. Vitamin A concentration in eggs can be significantly increased by addition of retinol in hen feed, but increased supplementation of vitamin A decreases  $\alpha$ -tocopherol content in egg yolk (Mori *et al.*, 2003; Mendonca *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 1994). Comparing our results for free range free diet group, we can confirm the relationship between  $\alpha$ -tocopherol and retinol levels in egg yolk oil, where high concentration of retinol results to lower content of  $\alpha$ -tocopherol.

#### *Carotenoids*

Carotenoids content in egg yolk oil plays an important role. It is not responsible only for very attractive orange color of egg yolk oil, but also, as a precursor of vitamin A, it gives additional nutritional value to egg yolk oil. Extraction process of egg yolk oil was based on different compound polarities which affect carotenoids content in egg yolk oil.

Carotenoids distribution among the egg yolk oils from different hen housing methods was similar to retinol results. The highest content of carotenoids ( $136\pm 5$  mg kg<sup>-1</sup>) was determined in egg yolk oil obtained from free range free diet hen egg yolk. Barn and cage system eggs gave  $48\pm 4$  mg kg<sup>-1</sup> and  $54\pm 4$  mg kg<sup>-1</sup> respectively of carotenoids in egg yolk oil, but the lowest content of

total carotenoids ( $33\pm 3$  mg kg<sup>-1</sup>) was determined in free range egg yolk oil where hens were fed with commercial compound feed. Comparing results from both free range systems we can ascertain that total carotenoids content in egg yolk oil is affected by the hen diet. The increase of  $\beta$ -carotene and retinol content in egg yolk by supplementing hen feed with  $\beta$ -carotene was also reported in other studies (Mendonca *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 1994).

#### *Fatty acids*

The total fatty acid profile of all egg yolk samples was similar that can be explained by the usage of hens with the same genetics.

Figure 13 (on page 30) shows total amount of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in egg yolk oils extracted from eggs collected from different hen housing systems. The lowest content of polyunsaturated fatty acids was determined in egg yolk oil from free range free diet eggs. Polyunsaturated fatty acid content in egg yolk oils from all other hen keeping systems was significantly ( $p<0.05$ ) higher than from free range free diet group.

### **4. Egg yolk oil quality changes during storage**

The quality of egg yolk oil can decrease during storage. The quality changes can be affected by lipid oxidation and microorganisms.

#### *Microbiological parameters*

Figure 14 on page 31 shows the CFU count of egg yolk oil during storage at different temperatures. We observe an insignificant CFU count increase in egg yolk oil stored at +4°C temperature, it means that, to ensure egg yolk oil microbiological quality, egg yolk oil must be stored at low temperatures. During storage of egg yolk oil at +21°C and +35°C, CFU count was higher ( $p<0.05$ ) than egg yolk stored at +4°C.

In 12 months storage period, regardless to storage temperature, we do not determine pathogens or yeasts and moulds in egg yolk oil.

#### *Egg yolk oil oxidation*

There is always a risk of lipid oxidation in products rich in polyunsaturated fatty acids, where oxidative susceptibility increases with the degree of unsaturation of fats. Figure 15 (on page 32) shows the changes of egg oil peroxide value during egg yolk oil storage at different temperatures. Temperature is one of the main factors affecting lipid oxidation that is why egg yolk oil, stored at +4°C, had the lowest peroxide value during storage. Higher storage temperature increased the peroxide value of egg yolk oil. Egg oil, which has been stored at +35°C, reached the maximum allowed peroxide value (10 meqO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) after 10 months.

## 5. Application of egg yolk oil in mayonnaise preparation

In order to evaluate egg oil applications, mayonnaise with 1, 3, 5, and 7% egg oil additive were prepared. As a control sample mayonnaise without egg oil additive was used. Mayonnaise samples physical and chemical parameters are mentioned in Table 10 (on page 33).

The results show that there is no significant difference ( $p>0.05$ ) in mayonnaise pH. Total lipid content in all mayonnaise samples was in range from  $59.7\pm 0.7$  g  $100\text{g}^{-1}$  till  $60.8\pm 0.9$  g  $100\text{g}^{-1}$ . The protein content of mayonnaise samples with different egg yolk oil concentrations was from  $1.38\pm 0.04$  to  $1.41\pm 0.09$  g  $100\text{g}^{-1}$  and there was no significant difference ( $p>0.05$ ) in protein content among these samples. The addition of egg yolk oil has a significant influence ( $p<0.05$ ) on mayonnaise viscosity. By increasing the egg yolk oil content, the viscosity of mayonnaise decreased. Addition of egg yolk oil at 3, 5 and 7% enriches mayonnaise with vitamin D. For control sample (with egg yolk powder) and mayonnaise sample with 1% of egg yolk additive vitamin D content was below detection limits –  $<0.1\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Colour of mayonnaise plays an important role in consumer's preference. Intensive yellow colour of mayonnaise usually associates with high content of eggs meaning additional nutritional and biological benefits and taste. The results of colour CIE  $L^*a^*b^*$  measurements and  $\Delta E$  of mayonnaise samples are presented in Table 11 (on page 34). We determined the significant difference ( $p<0.05$ ) in yellow colour (as a positive value of  $b^*$ ) within all mayonnaise samples with increase of egg yolk oil concentration. A strong correlation ( $r=0.999$ ) of egg yolk oil concentration and yellow colour intensity of mayonnaise was determined.

The sensory evaluation data shows insignificant difference ( $p>0.05$ ) in the degree of acceptance of egg taste, aroma and sour taste of mayonnaise samples. According to the 5 point hedonic scale, egg aroma, egg taste and sour taste of mayonnaise samples were rated in the range from 3 (neither like nor dislike) to 4 (like moderately).

The amount of added egg yolk oil significantly influenced ( $p<0.05$ ) the degree of acceptance of mayonnaise viscosity, yellow colour and creaminess.

Results of the hedonic scores showed the panellists preference for the sensory properties of mayonnaise with 3% and 5% egg yolk oil content. The lowest score of sensory properties (viscosity, yellow colour and creaminess) were determined for the sample with 1% of egg yolk oil content.

## CONCLUSIONS

1. Egg yolk oil extracted with different solvents (acetone, 2-propanol/hexane, ethanol/chloroform, acetone/hexane, 2-propanol/2-metilpentane) contains phospholipids and high water content. Total carotenoids content in egg yolk oil depends from used extraction solvent and varies from  $56.14 \pm 0.89 \text{ mg kg}^{-1}$  in acetone extracted oil to  $73.16 \pm 1.53 \text{ mg kg}^{-1}$  ethanol/chloroform extracted oil.
8. Qualitative egg yolk oil can be produced using two-stage 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 ( $0.88 \pm 0.13 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ), but nitrogen usage removes all solvent residues from egg yolk oil.
2. 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  $\beta$ -carotene and 89.84% of cantaxanthin, from their total content in egg yolk, were concentrated in hexane extract.
3. 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.
4. 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  $4^{\circ}\text{C}$  and  $+20^{\circ}\text{C}$  temperature.
5. 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.
6. The hypothesis of the PhD thesis is confirmed.