KIIRENDATUD SÄILIVUSKATSE METOODIKA ARENDUS PÄEVALILLEÕLIGA VALMISTATUD KARTULIKRÕPSUDELE

Magistritöö

Üliõpilane: Hanna Lang

Juhendaja: Kärt Leppik, MSc; Tallinna Tehnikaülikooli Keemia ja biotehnoloogia instituut, doktorant; AS Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskus, teadur

Kaasjuhendaja: Maria Kuhtinskaja, PhD; Tallinna Tehnikaülikool, Keemia ja biotehnoloogia instituut, dotsent

Õppekava: KATM 02/18 – Toidutehnoloogia ja -arendus

Tallinn 2022

Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Hanna Lang

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Kärt Leppik

[allkiri ja kuupäev]

Kaasjuhendaja: Maria Kuhtinskaja

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Toomas Paalme

[allkiri ja kuupäev]

Sisukord

Annotatsioon 5
Abstract 6
Lühendite ja mõistete sõnastik 7
Sissejuhatus 9
1. Kirjanduse ülevaade 10
1.1 Toidu säilivusaeg ja selle hindamine kiirendatult 10
1.1.1 Säilivusaeg 10
1.1.2 Kiirendatud säilivuskatsed 12
1.2 Lipiidide oksüdatsioon 16
1.2.1 Lipiidid ja rasvhapped 16
1.2.2 Lipiidide oksüdatsiooni mehhanismid 17
1.2.3 Lipiidide oksüdatsiooni mõjutavad tegurid 20
1.3 Päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude oksüdatsioon 21
1.3.1 Päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsud 21
1.3.2 Päevalilleõli oksüdatsioon 23
2. Töö eesmärk 26
3. Eksperimentaalne osa 27
3.1 Materjalid ja meetodid 27
3.1.1 Kartulikrõpsud ja pakendamine 27
3.1.2 Kiirendatud katse läbiviimine 27
3.1.3 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs 27
3.1.4 Hapnikusisalduse analüüs ja sensoorne analüüs 27
3.1.5 Rasvhappe metüülestrite (FAME) analüüs GC-MS meetodil 27
3.1.6 Lenduvate ühendite analüüs SPME-GC-MS ja GC-O meetodil 29
3.1.7 Reaktsioonikiiruse ja Q_{10} arvutamine 30
3.2 Tulemused ja arutelu 30
3.2.1 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs 30
3.2.2 Rasvhappelise koostise analüüs 30
3.2.3 Lenduvate ühendite analüüs 33
3.2.4 Pakendi hapnikusisalduse analüüs 36

3.2.5 Sensoorne analüüs 36
3.2.6 Reaktsioonikiiruse ja Q_{10} arvutused 37
3.3 Järeldused 39
Kokkuvõte 40
Tänuavaldused 41
Kasutatud kirjandus 42
LISA 1. 47
LISA 2. 48

Annotatsioon

Käesoleva töö eesmärk oli päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatse metoodika väljaarendamine. Kiirendatud säilivuskatse aitab hinnata toote säilivusaega ajaefektiivselt, mis omakorda võimaldab toiduainetööstuses uued tooted kiiremini turule tuua. Kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks on vajalik teada tootele iseloomulikku kiirendusfaktorit (Q_{10}-faktor), mis kirjeldab uuritava protsessi reaktsioonikiiruse muutust, kui temperatuur tõuseb 10 °C. Igale kiirendatavale protsessile on iseloomulik oma Q_{10}-faktor, mis sõltub konkreetse toote omadustest. Seega, teades päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele iseloomulikku kiirendusfaktorit, on olemas mudel edaspidiseks kiirendatud säilivuskatse tegemiseks. Kartulikrõpsude põhiliseks kvaliteedilangust põhjustavaks protsessiks on lipiidide oksüdatsioon. Seetõttu uuriti töö käigus oksüdatsiooni kirjeldavaid parameetreid erinevatel temperatuuridel (20 °C, 30 °C, 40 °C) 90 päeva hoiustatud kartulikrõpsudes. Tulemuste alusel leiti uuritud parameetrite muutuste reaktsioonikiirused ning selle alusel ka päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele iseloomulik Q_{10} väärtus.

Töö tulemused näitasid, et päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudes esines algselt kõige enam küllastumata linool- ja oleiinhapet ning nende sisaldus hoiustamiskatse kõigil temperatuuridel vähenes märkimisväärselt. Sellest saab järeldada, et tootes toimus pidev oksüdatsiooni protsess. Seda kinnitavad ka muutused analüüsitud lenduvate ühendite sisalduses. Kartulikrõpsudest tuvastatud lenduvate ühendite kontsentratsioonid tõusid kogu katse jooksul, kuid 40 °C juures toimus peale 70. päeva ajapunkti järsk kontsentratsioonide tõus. See näitab induktsiooniperioodi lõppu, pärast mida on oksüdatsioon tuntav ka sensoorselt. Samuti kinnitas induktsiooniperioodi lõppemist 40 °C juures hapnikusisalduse järsk langus viimases katse ajapunktis. Lenduvate ühendite analüüsi tulemusi saab seostada ka sensoorselt tuntava rääsunud lõhna tekkega, mille intensiivsus tõusis samuti kõige kiiremini 40 °C juures. Antud töös seostati rääsunud lõhna tekkega põhiliselt heksanaali, 1-pentanooli, 2-heptanooni, 1-okteen-3-ooli, oktanaali, 3-okteen-2-ooni, 2-oktenaali, ja 2,4-nonadienaali esinemist.

Oksüdatsiooni kirjeldavad reaktsioonikiirused ja Q_{10} väärtused leiti rasvhapete lagunemise ning sensoorselt hinnatud rääsunud lõhna tekke põhjal. Töö tulemuste põhjal leiti, et rääsunud lõhna tekkimist kirjeldab Q_{10} väärtus 2. Selle ilmnemine on tarbija jaoks kõige tuntavam muutus, kirjeldades selget kvaliteedilangust ja säilivusaja lõppu. Rasvhapete lagunemist iseloomustab Q_{10} väärtus 1.5, mis kirjeldab küll oksüdatsiooni toimumise kiirust, kuid ei määra sensoorselt tuntavat säilivusaega. Seetõttu tuleks kiirendatud säilivuskatset läbi viia Q_{10} väärtusega, mis kirjeldab rääsunud lõhna tekkimist. Seega saab antud töö tulemuste alusel öelda, et päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendusfaktoriks kiirendatud säilivuskatsel tuleks kasutada Q_{10} väärtust 2.

Abstract

Development of accelerated shelf-life testing methodology for sunflower oil-based potato chips

The aim of this study was to develop an accelerated shelf-life testing (ASLT) methodology for potato chips fried with sunflower oil. Accelerated shelf-life tests allow to accelerate the quality deterioration of food products by increasing the storage temperature, enabling the food industry to bring new products to the market faster. The ASLTs are based on the aging factor (Q_{10}-factor) which describes the main reactions during the deterioration of the product. Q_{10}-factor is defined as the increase in the reaction rate when the temperature is increased by 10 °C. Each accelerated process has its own specific Q_{10}-factor, which depends on the characteristics of the product. Knowing the acceleration factor of potato chips fried with sunflower oil, a methodology for further ASLT can be used. The main process that causes the deterioration of potato chips is lipid oxidation. Therefore, in this study, the potato chips were stored at different temperatures (20 °C, 30 °C, 40 °C) for 90 days and the oxidation parameters were monitored. Based on the results, the reaction rates and the Q_{10} value were calculated for potato chips fried with sunflower oil.

The results of the study showed that the potato chips fried with sunflower oil consisted mainly of unsaturated linoleic and oleic acids. In addition, their content decreased significantly at all storage temperatures during the test. Therefore it is concluded that a continuous oxidation process took place which was also confirmed by the changes in the content of volatile compounds. The concentrations of volatile compounds detected in potato chips increased throughout the experiment, but after 70 days at 40 °C there was a sharp increase in their concentrations. This indicates the end of the induction period, after which the oxidation is also sensorially noticeable. The end of the induction period at 40 °C was also confirmed by the sharp decrease in the oxygen content in the last time point of the experiment. In addition, the results of the analysis of volatile compounds can be associated with the development of organoleptical rancidity, which also increased most rapidly at 40 °C. In this work, the presence of hexanal, 1-pentanol, 2-heptone, 1-octen-3-ol, octanal, 3-octen-2-one, 2-octenal and 2,4-nonadienal were mainly associated with the formation of rancid odor.

Reaction rates and Q_{10} values describing oxidation were calculated based on the decomposition of fatty acids and the formation of rancid odor. The study results showed that the appearance of rancidity was described with Q_{10} value 2. This is an important noticeable change for the consumer as well, describing a clear decline in the quality of the product. On the other hand, the decomposition of fatty acids was described with Q_{10} value 1.5, which describes the rate of the oxidation process, but does not determine the sensory shelf-life. Therefore, the accelerated shelf-life test should be performed with a Q_{10} value that describes the development of the rancid odor. In conclusion, it can be said that the Q_{10} value of 2 should be used for the accelerated shelf-life test of potato chips fried with sunflower oil.

Lühendite ja mõistete sõnastik

Aktivatsioonienergia (Ea) – energia, mis protsessi algseisundis oleval molekulil peab olema enne, kui ta saab reaktsioonis osaleda

Antioksüdant – keemiline ühend, mis on võimeline pidurdama oksüdatsiooni reaktsiooni

Assessor – sensoorset hindamist läbiviiv inimene

Autooksüdatsioon – lipiidide lagunemise reaktsioon atmosfääri hapniku ja vabade radikaalide vahel

Cis-konfiguratsioon – vesiniku rühmade asetsemine rasvhappe molekulis samal küljel

Ekstraheerimine – füüsikalis-keemiline meetod vedelate või tahkete ainete eraldamiseks segudest või lahustest

Ensümaatiline oksüdatsioon – lipiidide oksüdatsioon ensümaatilise tegevuse tulemusena

Fotooksüdatsioon – lipiidide oksüdatsioon päikesevalguse ja UV-kiirguse mõjul

Fotosensibilisaator – molekul, mis neelab valgust ja edastab sellest saadud energia teise lähedalasuvasse molekuli

Hüdroperoksiid (LOOH) – lipiidide oksüdatsiooni primaarne produkt, mis tekib peroksüülradikaali reageerimisel mõne teise süsteemis oleva rasvhappega

Induktsiooniperiood – ajavahemik, mille jooksul on oksüdatsioonikiirus aeglane, kuid millele järgneb reaktsioonikiiruse hüppeline tõus

Initsiatsioon (*inglise k. initation*) – autooksüdatsiooni esimene etapp, mille käigus moodustuvad lipiidide molekulidest lipiidradikaalid

Kiirendatud säilivuskatse – toote kvaliteedi languse kiirendamine, kus esilekutsutud muutuste järjekord vastab tavasäilivusel toimuvatele muutustele

Kineetiline kiiruskonstant (k) – keemilise reaktsiooni kiiruse kvantitatiivne näitaja, mis sõltub temperatuurist ja aktivatsioonienergiast

Kolmikhapnik $^3O_2$ (*inglise k. triplet state oxygen*) – hapnikumolekuli põhiolek

Lipiidradikaal ehk alküülradikaal (L•) – oksüdatsiooni käigus lipiidi molekulist moodustuv vaba radikaal

LLDPE – lineaarse madala tihedusega polüetüleen

Peroksüülradikaal (LOO•) – süsinikukesksete radikaalide (lipiidradikaal) reaktsioonil hapnikuga tekkiv radikaal

PET – polüetüleentereftalaat

Propagatsioon (*inglise k. propagation*) – autooksüdatsiooni teine etapp, mille käigus toimub lipiidradikaali reageerimine hapnikuga ja hüdroperoksiidide moodustumine

Q_{10}-faktor – uuritava protsessi reaktsioonikiiruse muutus, kui temperatuur tõuseb 10 °C

Rafineerimisprotsess – õli töötlemis etapp, mille käigus eraldatakse ebasobivad komponendid, et tõsta õli kvaliteeti

Redutseerimispotentsiaal – keemiliste liikide kalduvus saada või kaotada elektrone ja seeläbi vastavalt redutseerida või oksüdeeruda

Singletthapnik $^1O_2$ (*inglise k. singlet oxygen*) – hapnikumolekuli ergastatud olek

Säilivusaeg – aeg, mille jooksul toidu nõuetekohase säilitamise juures, säilivad selle spetsiifilised omadused

Terminatsioon (*inglise k. termination*) – autooksüdatsiooni kolmas etapp, mille käigus vabad radikaalid reageerivad üksteisega moodustades mitteradikaalsed ühendid

Trans-konfiguratsioon – vesiniku rühmade asetsemine rasvhappe molekulis vastas külgedel

Vaba radikaal – iseseisvalt eksisteeriv molekul, mis sisaldab aatomiorbitaalil paaritut elektroni

Veeaktiivsus – toote aururõhk jagatud puhta vee aururõhuga, näitab tootes oleva vaba vee hulka, mis on kättesaadav keemilisteks, füüsikalisteks ja mikrobioloogilisteks protsessideks

Vesinikradikaal (H•) – oksüdatsiooni käigus lipiidi molekuli küljest eralduv vaba radikaal

Sissejuhatus

Toiduainetööstuses käib pidevalt töö uute toodete arenduse, tootmisprotsessi optimeerimise ja keskkonnasõbralikemate pakendite otsimisega. Nende protsesside läbiviimisel on üheks lahutamatuks osaks ka toote säilivusaja hindamine. Säilivusaeg on igale tootele iseloomulik parameeter, mille jooksul peavad säilima nii toidu kvaliteet kui ka ohutus. Seda mõjutavad toidu koostisosad, nende töötlemine, toote pakendamine ja ka ladustamistingimused.

Kauasäilivate toodete puhul võtab säilivusaja hindamine palju aega, aga tarbijad soovivad uusi tooteid regulaarselt. Seetõttu on taoliste toodete säilivusaja hindamiseks mõistlik kasutada kiirendatud säilivuskatse metoodikat. Kasutades kiirendamiseks sobilikke parameetreid, on võimalik tuua tootega säilivusaja jooksul toimuvad reaktsioonid kiiremini esile. Seeläbi on säilivuskatse protsess ajaefektiivsem ning toodete turule toomise protsess kiirem.

Kartulikrõpsud on populaarseks snäkitooteks kogu maailmas. Need valmivad kartuliviilude friteerimisel õlis, seega on toote põhikomponendiks rasv ning põhiliseks kvaliteedilangust põhjustavaks protsessiks lipiidide oksüdatsioon. Selle tulemusel tekivad tootes erinevad lõhna- ja maitseühendid, mis muudavad toote tarbijale vastuvõetamatuks. Lisaks toimub antud protsessi käigus toitainete ja bioaktiivsete ühendite kadu ning potentsiaalselt ka toksiliste ühendite teke.

Käesolevas töös uuritakse kartulikrõpsudega säilivusaja jooksul toimuvat lipiidide oksüdatsiooni, et arendada välja metoodika kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks. Autor on valinud selle teema, kuna tunneb huvi säilimisel toimuvate protsesside vastu. Laiemalt aitab arusaam antud teemast lahendada erinevaid toidu säilivusel tekkivaid probleeme ning leida võimalusi toiduainete säilivusaja optimeerimiseks.

Töö eesmärk on arendada päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatse metoodika. Selleks hoiustati kartulikrõpse erinevatel temperatuuridel ning hinnati oksüdatsiooni kirjeldavate indikaatorite muutust ajas. Katse jooksul hinnati rasvhapete ja lenduvate ühendite sisaldust, pakendi hapnikusisaldust ja toote sensoorsete parameetrite muutusi. Tulemuste põhjal leiti päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele iseloomulik kiirendamisfaktor (Q_{10}), mille põhjal on edaspidi võimalik teostada kiirendatud säilivuskatset sarnase tootega.

Antud töö kirjanduse osa saab jaotada kaheks suuremaks peatükiks, millest esimeses tutvustatakse toidu säilivusaega ja selle hindamist kiirendatult. Teises osas kirjeldatakse lipiidide oksüdatsiooni protsessi ning antakse ülevaade päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude oksüdatsioonist. Ekspermetaalne osa tutvustab kasutatud materjale ja meetodeid ning annab ülevaate saadud tulemustest. Sellele järgnevad tähtsamad järeldused ning kokkuvõte.

1. Kirjanduse ülevaade

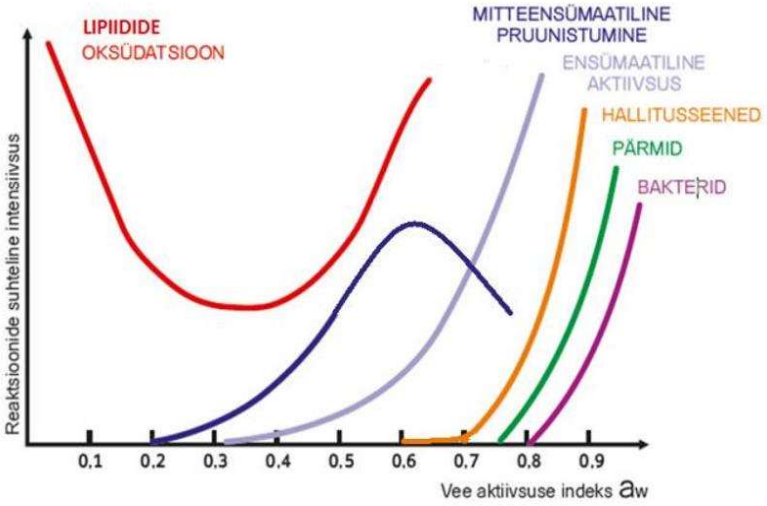
1.1 Toidu säilivusaeg ja selle hindamine kiirendatult

1.1.1 Säilivusaeg

Säilivusaeg kirjeldab aega, mille jooksul toidu nõuetekohase säilitamise korral säilivad selle spetsiifilised omadused (Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus (EL) nr 1169/2011). Säilivusaja jooksul toimub toidu kvaliteedi järkjärguline halvenemine, kuna esinevad erinevad keemilised, füüsikalised, biokeemilised ja mikrobioloogilised reaktsioonid. Toidu kõlblikkusaeg on määratletud kui ajavahemik, mille jooksul säilivad toidu ohutus, toiteväärtus ja sensoorsed omadused. Kui kiirestiriknevate toiduainete puhul määrab säilivusaja lõpu tavaliselt mikrobioloogiline riknemine, siis pikema säilivusaja jooksul jõuab toode kestvusaja lõppu, kui hakkavad toimuma füüsikalised, keemilised või biokeemilised reaktsioonid. Need põhjustavad kõrvallõhnade ja -maitsete teket, tekstuuri muutusi, toiteväärtuse vähenemist ning vitamiinide lagunemist (Corradini, 2018).

Minimaalse säilivusaja või tarvitamise tähtaeg peab olema toodud toote pakendil. Kui toidu säilitamiseks on vajalikud eritingimused, siis tuleb ka see info pakendile kirja panna. Vajadusel peavad kirjas olema ka säilitamistingimused ja tarbimisaeg peale pakendi avamist. Toitude puhul, mis on mikrobioloogiliselt kiiresti riknevad ning võivad seetõttu lühikese ajaga muutuda inimese tervisele ohtlikuks, kasutatakse sõnapaari „Kõlblik kuni". Nii on tähistatud näiteks lihatooted või valmistoidud. Pikema säilivusajaga toodete puhul kirjutatakse pakendile sõnapaar „Parim enne". See tähendab, et toitu on peale määratud kuupäeva ohutu süüa, kuid selle kvaliteet võib olla langenud. Selline tähistus märgitakse näiteks külmutatud, kuivatatud või konserveeritud toitudele (Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus (EL) nr 1169/2011).

Toidu riknemine sõltub nii säilitustingimustest kui ka toidu algsetest omadustest. Erinevaid protsesse säilivuse jooksul mõjutavad tegurid on temperatuur, pH, kokkupuude hapniku ja valgusega ning toidus sisalduvad toitained (Singh & Anderson, 2004). Üheks oluliseks toote omaduseks, mis mõjutab toiduga seonduvaid reaktsioone, on veeaktiivsus (joonis 1). See näitab tootes oleva vaba vee hulka, mis on kättesaadav keemilisteks, füüsikalisteks ja mikrobioloogilisteks protsessideks. Veeaktiivsus defineeritakse kui toote aururõhk jagatud puhta vee aururõhuga. Jooniselt 1 saab välja lugeda, et hüdrolüütiliste ja ensümaatiliste reaktsioonide kiirus ning pärmide, hallituste ja bakterite levik suureneb tootes veeaktiivsuse tõusuga. Lipiidide oksüdatsioon toimub kiiresti, kui veeaktiivsus on <0.1, vahemikus 0.2 – 0.5 on oksüdatsioon aeglasem ning edasisel veeaktiivsuse tõusul oksüdatsiooni kiirus jälle tõuseb. Lisaks sellele kiireneb Maillardi reaktsioon ehk mitteensümaatiline pruunistumine veeaktiivsuse tõusul; kuid hakkab aeglustuma, kui veeaktiivsus jõuab 0.7-ni (Esse & Saari, 2004).



Joonis 1. Säilivust mõjutavate protsesside sõltuvus veeaktiivsusest (Bleive, 2015)

Mikrobioloogilised reaktsioonid toimuvad eelkõige kõrge veeaktiivsusega toodetes nagu värske puuvili, köögivili, liha, kala, piim ning pagaritooted. Nende tekitajaks on erinevad bakterid ning pärm- ja hallitusseened, mis võivad põhjustada nii toidu riknemist kui ka toidumürgitusi. Enamike mikroorganismide kasvu saab ennetada või aeglustada säilitustemperatuuri reguleerimise, veeaktiivsuse vähendamise, pH alandamise, säilitusainete ja/või õigete pakkelahenduste kasutamisega. Siiski ei ole kõikide mikroorganismide kasv ebasoovitav, sest osad neist mängivad olulist rolli fermenteeritud toitude tootmisel, andes tootele soovitud omadused (Singh & Anderson, 2004). Näiteks kasutatakse erinevaid piimhappebaktereid mitmete piimatoodtete (jogurt, juust, keefir) valmistamisel. Need tagavad piimatoodete hapu maitse ja aitavad kaasa tekstuuri moodustumisele (Leroy & Vuyst, 2004).

Keemilised reaktsioonid toimuvad toiduainetes esinevate komponentidega, nagu valkude, süsivesikute ja lipiididega. Põhilised keemilised reaktsioonid, mis toidu säilivusaja jooksul esinevad, on oksüdatsioon ja Maillardi reaktsioon. Oksüdatsioon toimub näiteks lipiidide reageerimisel hapnikuga. Reaktsiooni tulemusena lipiidid lagunevad ning halveneb toote organoleptiline kvaliteet (Singh & Anderson, 2004). Lisaks võivad oksüdeeruda ka vitamiinid, mille tulemusel toote toiteväärtus langeb (Calligaris et al., 2019). Maillardi reaktsioon toimub valkude (aminorühmade) ja redutseerivate suhkrute vahel. Selle reaktsiooni tulemusel moodustuvad tumedad pigmendid, mis põhjustavad toiduainete värvuse muutust (Singh & Anderson, 2004).

Biokeemiliste reaktsioonidena esinevad toidus ensümaatilised reaktsioonid. Ensüümid on valgud, mis toimivad reaktsioonides katalüsaatoritena, kiirendades keemiliste reaktsioonide kiirust. Toidus leidub palju erinevaid ensüüme, mis on võimelised kiirendama säilivusaja jooksul esinevaid reaktsioone. Näiteks valkude lagunemine ehk proteolüüs toimub ensüümi proteaas toimel ning lipiidide lagunemist ehk lipolüüsi viib läbi ensüüm lipaas. Nende reaktsioonide tagajärjel väheneb toote toiteväärtus ning tekivad ebameeldivad kõrvallõhnad ja -maitsed. Samuti võivad ensümaatiliste reaktsioonide käigus laguneda toidu polü- ja oligosahhariidid. Näiteks võib puu- ja köögiviljades ensümaatiliselt laguneda

pektiin, mille tulemusena pehmeneb nende struktuur. Lisaks sellele võivad puu- ja köögiviljades ensümaatilise tegevuse tulemusena moodustuda ka pruunid pigmendid (Singh & Anderson, 2004).

Paljud füüsikalised muutused toidus on seotud veesisalduse muutumisega, mis on põhjustatud kas niiskuse tootesse absorbeerumisest või desorbeerumisest. Näiteks absorbeerivad kuivained õhus olevat niiskust, mille tagajärjel toimub nende paakumine. Samamoodi muutub ka teraviljahelveste krõbe tekstuur pehmeks, muutes toote kvaliteedi vastuvõetamatuks. Vastupidine protsess on desobeerumine, kus niisked pagaritooted muutuvad õhu käes seistes kõvaks ja rabedaks. Niiskuse ülekanne võib toimuda ka mitmekomponendiliste toiduainete vahel, kus niiskus liigub kõrgema veeaktiivsusega komponentidest madalama veeaktiivsusega komponentidesse, põhjustades sellega erinevaid muutusi toiduaine omadustes. Veel saab füüsikalise muutusena käsitleda kristalliseerumist. Külmutatud toodetes võib säilivusaja jooksul toimuda jääkristallide kasv, mis põhjustab toote tekstuuri muutusi (Singh & Anderson, 2004). Tärklist sisaldavates toodetes võib toimuda retrogradatsioon ehk polüsahhariidide (amüloos ja amülopektiin) ümberkristalliseerumine. Seda võivad põhjustada temperatuuri muutused või niiskuse migratsioon ning selle tulemusena toimub pagaritoodete vananemine (Kong & Singh, 2016). Lisaks võib toiduainetes toimuda ka sünerees ehk faaside eraldumine. Põhiliselt esineb seda piimatoodetes, näiteks jogurtis, kus säilivusaja jooksul toimub vadaku eraldumine (Singh & Cadwallader, 2004).

Toidu kvaliteedi vähenemist säilivusel põhjustavad ka erinevad mehhaanilised tegurid, mille alla kuuluvad ladustamisel või transpordil tekkinud kahjustused. Näiteks kartulikrõpsud, teraviljad või külmutatud toidud võivad paki sees puruneda või puu- ja köögiviljadele võivad kahjustuste tagajärjel tekkida muljutud osad. Samuti võib transpordil või ladustamisel toidupakend puruneda, mille tagajärjel jõuavad pakendiosad toitu, muutes toote tarbimise ohtlikuks. Selliseid kahjustusi aitab vähendada hästi läbimõeldud pakendisüsteem ehk tuleb kasutada antud tootele vastupidavaid pakendeid, mis kaitsevad mehhaaniliste kahjustuste eest ladustamisel või transpordil (Singh & Anderson, 2004).

Lisaks mõjutavad toidu säilivusaega ka erinevad hoiustamistingimused. Näiteks on puu- ja köögiviljade säilitamisel oluline hoiustamistemperatuur, mis mõjutab värske tooraine hingamiskiirust ja küpsemist. Madalamal temperatuuril väheneb viljade hingamiskiirus ning seetõttu aeglustub ka raku toitainete tarve ja säilivusaeg pikeneb. Samas võivad osadel toodetel tekkida ebasobiva hoiustamistemperatuuri tõttu ka külmakahjustused. Kui temperatuuri alandatakse aeglaselt ja toode külmub osaliselt, siis võivad toote rakud puruneda ning põhjustada kahjustusi. Külmakahjustuse tagajärjel muutub toote välimus ja tekivad ebasoovitavad sensoorsed omadused (Singh & Anderson, 2004).

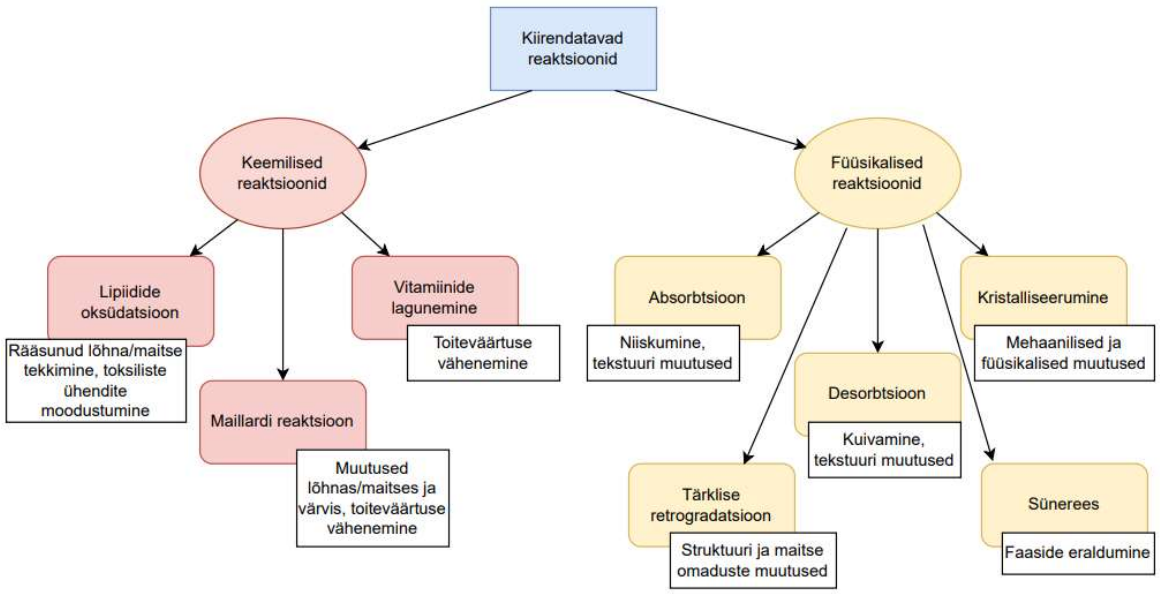
1.1.2 Kiirendatud säilivuskatsed

Toiduainetööstuses kasvab üha enam vajadus määrata toodete säilivusaega ajaefektiivselt. Soovitakse kiirelt turule tuua uusi tooteid või ka hinnata retsepti, tehnoloogia ja/või pakendi muudatuste mõju toote säilivusele (Mizrahi, 2004). Seda on võimalik saavutada kiirendatud säilivuskatsega, mille eesmärk on kiirendada toote kvaliteedi langust. Selle käigus tuuakse tootes toimuvad protsessid esile lühema aja jooksul, kus need muidu veel ei toimuks. Katse tingimused peavad tagama, et kiirendatult esile kutsutud muudatused on vastavad tavapärastes säilitustingimustes toimuvate muudatustega. Samuti

peab toote kiirendamisel toimuvate reaktsioonide järjekord vastama tavapärastes tingimustes toimuvate protsesside järjekorrale (Corradini, 2018).

Kiirendatud säilivuskatset kasutatakse eelkõige füüsikalis-keemiliste muutuste kiirendamiseks, kuna nende toimumine allub kiirendamise meetodile. Kiirendatud säilivuskatset ei saa kasutada mikrobioloogiliselt riknevate toodete puhul, kuna säilitamistingimusi muutes ei kiirendata ainult mikroorganismide kasvu, vaid muudetakse ka nende kasvukeskkonda. See loob tingimused mikroorganismide kasvuks, kes tavasäilivusel ei pruugi tootes esineda (Subramaniam, 2009).

Kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks võib kasutada erinevaid tegureid nagu temperatuur, hapnik, valgus või keskkonna suhteline niiskus. Kiirendamiseks kasutatavate tegurite valik sõltub toote omadustest ja säilivusaja jooksul toimuvatest protsessidest. Kõige sagedamini kasutatakse katse läbiviimiseks kõrgemat temperatuuri, kuna see mõjutab kõige enam reaktsioonide kineetikat. Temperatuuriga saab kiirendada näiteks õlides toimuvat lipiidide oksüdatsiooni või süsivesikute ja valkude vahel toimuvat Maillardi reaktsiooni (Calligaris et al., 2019). Lisaks temperatuurile võib toidu kvaliteedi languse kiirendamiseks kasutada ka valgust või temperatuuri ja valguse koosmõju. Seda koosmõju on samuti kasutatud õlides toimuva lipiidide oksüdatsiooni kiirendamiseks (Manzocco et al., 2012). Ühe kiirendustegurina muudetakse ka keskkonna suhtelist niiskussisaldust, mis mõjutab niiskuse absorbeerumist või desorbeerumist tootes. Seda saab kasutada dehüdreeritud pulbrite või kuivade maiustuste, nagu vahvlite säilivusaja hindamiseks (Jaya & Das, 2005). Tooteid, mis on tundlikud teatud gaasikeskkonna (hapniku või muu atmosfääri gaasi) suhtes, saab kiirendatud säilivuskatsel mõjutada pakkematerjalide valikuga. Näiteks kõrgema hapnikubarjääriga pakend hoiab toote hapniku eest rohkem kaitstud. Samas kui madala hapnikubarjääriga pakend kiirendab toote riknemist, kuna pakendimaterjali hapniku läbilaskvus on suurem (An et al., 2018). Põhilised reaktsioonid, mida on võimalik säilivuskatse jaoks kiirendada on toodud joonisel 2.



Joonis 2. Kiirendatavad reaktsioonid (mugandatud Boekel, 2008, Calligaris et al., 2019; Kong & Singh, 2016 alusel)

1884. aastal esitas Rootsi füüsik Svante Arrhenius võrrandi, mis kirjeldab reaktsioonikiiruse sõltuvust temperatuurist (Arrhenius, 1889). Pärast seda on antud võrrandit hakatud kasutama ühe põhialusena kõrgemal temperatuuril läbiviidavate kiirendatud säilivuskatsete meetodites:

$$k = k_0 * exp\,(\frac{-Ea}{RT})$$ (valem 1),

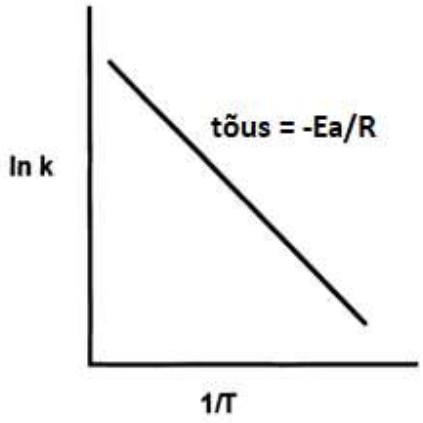
kus k on kineetiline kiiruskonstant, k_0 on eksponentsiaalne tegur, mis tähistab reageerivate molekulide kokkupõrke sagedust, E_a on aktivatsioonienergia (J), R on universaalne gaasikonstant (8,3144 J/mol*K) ja T on absoluutne temperatuur (K) (Taoukis & Giannakourou, 2004).

Kineetiline kiiruskonstant (k) on keemilise reaktsiooni kiiruse kvantitatiivne näitaja, mis sõltub temperatuurist ja aktivatsioonienergiast. Temperatuuri tõustes reaktsioonikiirus suureneb aktiivsete molekulide arvu suurenemise tagajärjel. Aktivatsioonienergia (E_a) tähistab energiat, mis protsessi algseisundis oleval molekulil peab olema enne, kui ta saab reaktsioonis osaleda (Palm & Past, 1974). Igal reaktsioonil on oma aktivatsioonienergia, mis võib kõikuda teatud vahemikus. See sõltub toidu omadustest ning töötlemis- ja ladustamistingimustest (Calligaris et al., 2019). Näiteid erinevate säilivusaja jooksul toimuvate reaktsioonide aktivatsioonienergiatest on toodud tabelis 1.

Tabel 1. Reaktsioonide aktivatsioonienergiad (Calligaris et al., 2019)

Reaktsioon	**Aktivatsioonienergia (kJ/mol)**
Ensümaatilised reaktsioonid	<50
Lipiidide oksüdatsioon	20 – 150
Maillardi reaktsioon	50 – 250

Uurides säilivusprotsesse ja mõõtes keemiliste reaktsioonide kiirust erinevatel temperatuuridel, saab joonestada Arrheniuse graafiku ja prognoosida säilivusaega soovitud temperatuuril (Fu & Labuza, 1997). Arrheniuse graafikul joonestatakse ln k sõltuvus 1/T suhtes (joonis 3). Saadakse sirgjoon, mille tõusu põhjal on võimalik arvutada aktivatsioonienergia. Tõus on võrdne negatiivse aktivatsioonienergia ja gaasikonstandi jagatisega (Taoukis & Giannakourou, 2004).



Joonis 3. Arrheniuse graafik (Fu & Labuza, 1997)

Arrheniuse graafiku alusel on võimalik hinnata reaktsioonikiirust erinevatel temperatuuridel. Lisaks on selle alusel võimalik leida kiirendusfaktor Q_{10}, mis kirjeldab uuritava protsessi reaktsioonikiiruse muutust, kui temperatuur tõuseb 10 °C. Arrheniuse võrrandist on Q_{10}-faktor tuletatud järgmiselt:

$$Q_{10} = (\frac{k_2}{k_1})^{\frac{10}{T_2 - T_1}} \text{ (valem 2),}$$

kus k_1 ja k_2 tähistavad reaktsioonikiirust vastavalt temperatuuridel T_1 ja T_2 (Fu & Labuza, 1997).

Igale kiirendatavale protsessile on oma iseloomulik Q_{10}-faktor. Näiteks keemiliste reaktsioonide, nagu lipiidide oksüdatsioon või Maillardi reaktsioon, Q_{10} on vahemikus 2 - 3. See tähendab seda, et kui Q_{10} on võrdne kahega, siis tõstes hoiustamistemperatuuri 10 °C on uuritav reaktsioon kaks korda kiirem (Toledo et al., 2018). Q_{10} väärtus on kõrgem toodetes, kus reaktsioonid toimuvad kiiremini. Sellised

tooted on näiteks erinevad joogid, kus molekulid liiguvad vabalt ning on seetõttu reaktsioonideks kättesaadavamad (Taoukis & Giannakourou, 2004). Näiteks on jookides leitud Q_{10} väärtuseks isegi 4 (Oliveira et al., 2012). Lisaks võib ühes tootes toimuda mitu kvaliteedilangust põhjustavat protsessi, kuid nende reaktsioonikiirus võib olla erinev. Näiteks piimapulbrites võivad toimuda samaaegselt nii lipiidide oksüdatsioon kui ka Maillardi reaktsioon, kuid nende toimumise kiirus on erinev ning seetõttu on ka nende reaktsioonide Q_{10} väärtus erinev (Singh & Cadwallader, 2004). Seega on Q_{10} väärtuse leidmine oluline, kuna nii saab edaspidi kiirendatud säilivuskatset läbiviia tootele iseloomuliku kiirendusfaktoriga. Lisaks saab selle alusel leida, milline ajaperiood vastab kiirendatud katse läbiviimisel tavasäilivusele. Teades kindlat Q_{10} väärtust tootele, on olemas mudel selle toote kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks (Bravi et al., 2020).

Temperatuuri muutusel on võimalik uurida ainult reaktsioone, mis alluvad kiirendamisel Arrheniuse graafikule. Kiirendatud säilivuskatse jaoks on õige temperatuuri valik oluline, et vältida kõrvalekaldeid Arrheniuse graafiku lineaarsusest. Lipiidide oksüdatsiooni kiirendamisel erinevates õlides või rasvarikastes toodetes on oluline, et temperatuur ei ületaks 100 °C. Vastasel juhul toimuks toodetes ekstreemne oksüdatsioon, mida tavatingimustel säilitades ei esineks. Aktsepteeritav on antud toodete lühiajaline kuumtöötlemine kõrgemal temperatuuril. Lisaks tuleb õlide või rasvarikaste toodete puhul arvestada ka konkreetse toote rasvhappelise koostisega. Kui õli sisaldab polüküllastumata rasvhappeid rohkem kui monoküllastumata rasvhappeid, siis tuleb kiirendamiseks kasutada madalamaid temperatuure. Näiteks põhiliselt polüküllastumata rasvhappeid sisaldava päevalilleõliga võib kiirendatud säilivuskatset läbi viia maksimaalselt temperatuuril 60 °C (Calligaris et al., 2016). Oliivõliga, mis sisaldab põhiliselt monoküllastumata rasvhappeid, on uuringuid tehtud kuni 75 °C juures (Gómez-Alonso et al., 2004). Lipiidide oksüdatsiooni on võimalik kiirendatult hinnata ka teistes rasvarikastes toodetes nagu kartulikrõpsudes, pähklites, kuivades pagaritoodetes või piimapulbrites. Kartulikrõpsudes on kiirendatud säilivuskatse uuringuid tehtud enamasti temperatuuridel 15 – 45 °C (Abong et al., 2011; Agarwal et al., 2018; Gallon et al., 2018). Pähklites ja madala veeaktiivsusega pagaritoodetes on kasutatud temperatuure kuni 75 °C (Manzocco et al., 2020; Shafiei et al., 2020) ning piimapulbrites kuni 55 °C (Thomsen et al., 2005).

1.2 Lipiidide oksüdatsioon

1.2.1 Lipiidid ja rasvhapped

Lipiidid hõlmavad laia spektrit ühendeid, millel on sarnane koostis ja omadused. Neid tuntakse kui orgaanilistes lahustites lahustuvaid ühendeid. Lipiidideks nimetatakse triatsüülglütseroole (TAG), diatsüülglütseroole (DAG), monoatsüülglütseroole (MAG), glükolipiide (GL), fosfolipiide (PL), sfingolipiide, rasvhappeid, pika ahelaga alkohole, vahasid, steroole ja rasvlahustuvad vitamiine. Neid ühendeid on võimalik liigitada lipiidiklassidesse nende füüsikaliste omaduste (rasvad või õlid), polaarsuse (neutraalne või polaarne) ning keemilise struktuuri (lihtne või keeruline) alusel (Shahidi & Zhong, 2010).

Lipiidid on bioloogiliste süsteemide oluline komponent, olles rakumembraanide põhiline struktuurne osa. Samuti on lipiidid inimesele üheks peamiseks energiaallikaks ning annavad toidule sobiva tekstuuri. Samas on lipiidide (näiteks teatud küllastunud lipiidide ja transrasvade) liigtarbimist seostatud mitme

haiguse ja halva terviseseisundiga, sealhulgas ülekaalulisuse, südame-veresoonkonna haiguste ja vähiga. Lipiide esineb looduslikult nii taimsetes (vetikad, õliseemned, puuviljad) kui ka loomsetes (maismaaloomad, kalad) allikates (Shahidi & Zhong, 2010).

Rasvhapped koosnevad süsinikuaatomitest, kus molekuli ühes otsas on metüülrühm ning teises otsas karboksüülrühm. Rasvhapped võivad olla nii küllastunud kui ka küllastumata. Küllastunud rasvhapped esinevad enamasti loomset päritolu toiduainetes ning koosnevad tavaliselt 12 - 22 süsinikuaatomist. Need on sirged süsivesikuahelad ehk ei sisalda kaksiksidemeid. Küllastumata rasvhapped võivad olla mono- või polüküllastumata ehk omavad ühte või mitut kaksiksidet. Need esinevad enamasti taimsetes rasvades. Tavaliselt on ahela pikkus 16-22 süsinikuaatomit ning esineb cis-konfiguratsiooniga kaksikside (vesinikuaatomid esinevad mõlemal pool kaksiksidet samas suunas). Trans-konfiguratsiooniga kaksikside (vesinikuaatomid esinevad mõlemal pool kaksiksidet erinevas suunas) tekib enamasti küllastumata õlide töötlemisel (hüdrogeenimisel) või mäletsejaliste seedetraktis. Polüküllastumata rasvhapete alla kuuluvad ka linoolhape (oomega-6 rasvhape) ja linoleenhape (oomega-3 rasvhape), mis on asendamatud rasvhapped ehk inimene ei suuda neid ise sünteesida (Rustan & Drevon, 2005).

1.2.2 Lipiidide oksüdatsiooni mehhanismid

Lipiidide oksüdatsioon on lipiidide lagunemise reaktsioon. See on peamine rasvarikaste toodete kvaliteedi halvenemise ja säilivusaja vähenemise põhjus. Toidu oksüdatiivsed muutused põhjustavad kõrvalmaitset, toitainete ja bioaktiivsete ainete kadu ning isegi potentsiaalselt mürgiste ühendite teket (Shahidi & Zhong, 2010). Oksüdatsiooni initsieerivad tegurid on temperatuur, valgus, kokkupuude metallide või hapnikuga ja toidus esinevad ensüümid. Oksüdatsioon võib toimuda auto-, foto- või ensümaatilise oksüdatsioonina või ka nende protsesside sümbioosis (Kiokias et al., 2009).

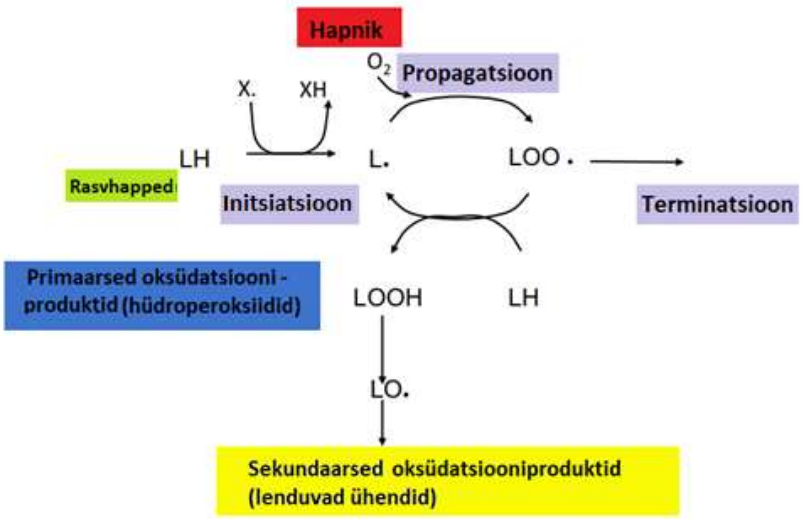
Lipiidide oksüdatiivne tundlikkus sõltub eelkõige nende rasvhappelisest koostisest. Oksüdatsioon saab toimuda, kui rasvhappe molekuli küljest eraldub vesinik ning tekib rasvhappe vaba radikaal. Küllastunud rasvhapetes on süsinik-vesiniksideme dissotsiatsioonienergia suurem ning vesinik ei saa nii kergelt eralduda. Seetõttu on need stabiilsed ning ei oksüdeeru märkimisväärsel kiirusel. Küllastumata rasvhapetes (eelkõige polüküllastumata) on oksüdatsioon kiirem, kuna need sisaldavad elektronirikkaid kaksiksidemeid. Sellised sidemed alandavad süsinik-vesiniksideme dissotsiatsioonienergiat, mis tähendab, et vesinik eraldub rasvhappe küljest kergemini (Johnson & Decker, 2015).

Autooksüdatsioon on üks levinumaid lipiidide oksüdatsiooni protsesse. Seda määratletakse kui lipiidide iseeneslikku reaktsiooni atmosfääri hapniku ja vabade radikaalide vahel ning seda saab kiirendada temperatuuritõusuga (Shahidi & Zhong, 2010). Autooksüdatsiooni on kiirendatud säilivuskatse abil uuritud erinevates õlides (Gómez-Alonso et al., 2004; Pangloli et al., 2002), krõpsudes (Abong et al., 2011), pähklites (Shafiei et al., 2020) ja piimapulbrites (Thomsen et al., 2005).

Autooksüdatsiooni mehhanism on esitatud joonisel 4. Esimene protsessi osa on initsiatsioon (*inglise k*. *initation*), mille käigus moodustuvad lipiidide molekulidest lipiidradikaalid ehk alküülradikaalid. Protsessi käivitavad temperatuur, valgus ja/või metallid. Need mõjutavad rasvhapet nii, et tekivad lipiidradikaal (L•) ja vesinikradikaal (H•) (Pignitter & Somoza, 2012). Nagu eelnevalt mainitud, toimub reaktsioon põhiliselt küllastumata rasvhapetega, kuna kaksiksidemete juures esinevad reaktiivsed

vesinikud (Johnson & Decker, 2015). Pärast vesinikuaatomi eemaldamist toimub alküülradikaaliga isomerisatsioon ning see moodustab stabiilsema trans-vormi (Pignitter & Somoza, 2012).

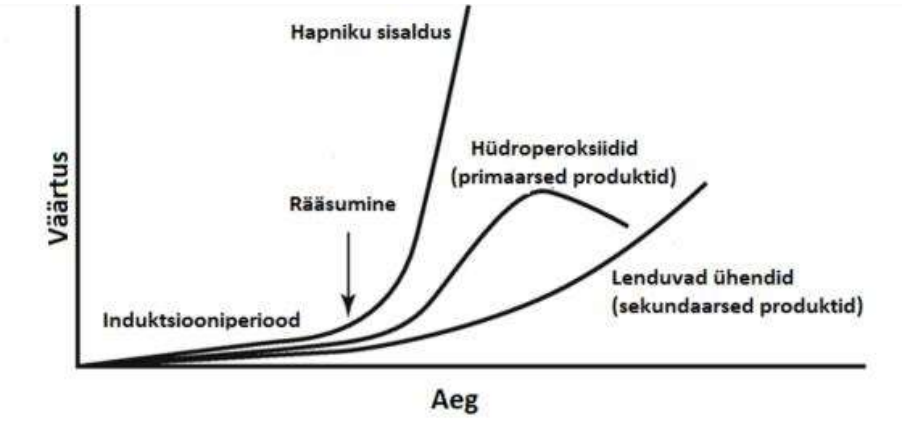
Järgneb propagatsioon (*inglise k. propagation*) ehk lipiidradikaalid reageerivad hapnikuga, moodustades peroksüülradikaale (LOO•). Need reageerivad mõne teise tootes oleva rasvhappemolekuliga, mille tulemusel tekivad hüdroperoksiidid (LOOH) ja uued lipiidradikaalid (L•) (Kiokias et al., 2009). Hüdroperoksiidid on lipiidide oksüdatsiooni primaarsed produktid. Nende lagunemisel tekivad alkoksüül-, peroksüül- ja hüdroksüülradikaalid, mis lagunevad omakorda sekundaarseteks oksüdatsiooni produktideks. Reaktsioonide käigus tekkinud vabad radikaalid on uuesti võimelised reageerima hapnikumolekuliga, jätkates nii ahelreaktsiooni (Shahidi & Zhong, 2010). Oksüdatsioon peatub terminatsiooni (*inglise k. termination*) faasis, kus reageerivad omavahel vabad radikaalid moodustades mitteradikaalsed ühendid (Kiokias et al., 2009).



Joonis 4. Autooksüdatsiooni mehhanism (Jacobsen, 2019)

Lipiidide oksüdatsiooni alguses on induktsiooniperiood (joonis 5), kus oksüdatsioon on aeglane ning kõrvallõhnad- ja maitsed ei ole tarbjale veel tuntavad (Gordon, 2004). Tekivad primaarsed oksüdatsiooniproduktid ehk hüdroperoksiidid, mis on mittelenduvad ühendid ning ei põhjusta seetõttu ka muutusi toidu maitses ja lõhnas (Jacobsen, 2018). Peale induktsiooniperioodi tõuseb oksüdatsioonikiirus järsult, millega kaasneb ka kõrvallõhnade- ja maitsete teke (Gordon, 2004). Seda põhjustavad sekundaarsed oksüdatsiooniproduktid ehk hüdroperoksiidide lagunemisel tekkivad madala molekulmassiga lenduvad ühendid nagu aldehüüdid, ketoonid, alkoholid, süsivesinikud ja lenduvad orgaanilised happed. Nende tüüp sõltub hüdroperoksiidide koostisest ja reaktsioonitingimustest (Shahidi & Zhong, 2010). Oksüdatsioonil tekkivad aldehüüdid põhjustavad näiteks rääsunud, rasvaseid, pähkliseid, metalliseid või ka roheliste lehtede ja kurgi noote. Ketoonide tekkimisel iseloomustavad toodet seenesed, kalased, metallised ja rasvased noodid (Belitz et al., 2009). Sekundaarseid oksüdatsiooniprodukte on võimalik hinnata gaas-kromotograaf/mass-spektomeetri (GC-MS) abil. See analüüs võimaldab tuvastada lenduvaid ühendeid, mis on tekkinud

oksüdatsiooniprotsessi käigus. Lisaks saab GC-MS analüüsi tulemusi seostada ka sensoorse analüüsi tulemustega, kus kirjeldakse tootes tuntavaid lõhnu ja maitseid (Gordon, 2004).



Joonis 5. Oksüdatsiooni toimumine ajas (Pike & O'Keefe, 2017)

Lisaks autooksüdatsioonile võib lipiididega toimuda ka fotooksüdatsioon, mille eelduseks on toiduainete või bioloogiliste organismide kokkupuude päikesevalguse ja UV-kiirgusega (Shahidi & Zhong, 2010). Erinevalt autooksüdatsioonist, kus osaleb kolmikhapnik ($^3O_2$) (*inglise k. triplet state oxygen*), toimub fotooksüdatsioon ka singletthapniku ($^1O_2$) (*inglise k. singlet oxygen*) abil. Singletthapnik on hapniku ergastatud olek, mis tekib kolmikhapnikust. Selle tootmiseks on vajalik fotosensibilisaatorite, nagu klorofüll, feofütiin, riboflaviin, müoglobiin või raskemetall, olemasolu. Need fotosensibilisaatorid neelavad energiat valgusest ja seeläbi aktiveeritakse kolmikhapnik ergastatud singlettolekusse (Kiokias et al., 2009). Fotooksüdatsiooni toimumiseks on kaks erinevat mehhanismi:

1. singletthapnik reageerib rasvhappega, mille tulemusel tekib hüdroperoksiid,
2. fotosensiblisaator reageerib rasvhappega, mille tulemusel tekib vaba lipiidradikaal, millest tekib hüdroperoksiid.

Sarnaselt autooksüdatsiooniga lagunevad hüdroperoksiidid lenduvateks ühenditeks (Ahmed et al., 2016). Samas fotooksüdatsioonil tekkivad sekundaarsed oksüdatsiooni produktid erinevad autooksüdatsioonil tekkivatest produktidest (Jacobsen, 2018). Seetõttu võib fotooksüdatsiooni tulemusel tekkida muid kõrvallõhnu ja -maitseid, mis annavad lisaks rasvasele ka rohkem seebiseid ja pähkliseid noote (Choe & Min, 2006; Petersen et al., 2011). Fotooksüdatsiooni on uuritud eelkõige toodetes, mis puutuvad ladustamise ajal kokku valgusega. Sellised tooted on näiteks õlid (Manzocco et al., 2012), kuid samuti on uuritud ka kartulikrõpse (Pangloli et al., 2002) ja vetikaid (Pan et al., 2004).

Lipiidide oksüdatsioon võib toimuda ensüümaatilise tegevuse tulemusena, näiteks lühikese säilivusajaga toiduainetes nagu piimatooted, liha, kala või köögivili. Põhiline oksüdatsiooni põhjustav ensüüm on lipoksügenaas, mis esineb nii taimsetes kudedes (sojauba, hernes, tomat) kui ka kalade ja teiste loomade kudedes. Ensüümid lõhuvad triglütseriidi glütserooliks ja vabadeks rasvhapeteks, misjärel toimub oksüdatsioon sarnaselt autooksüdatsiooniga. Esmalt tekivad hüdroperoksiidid ning

seejärel moodustuvad lenduvad ühendid nagu aldehüüdid ja ketoonid. Selle protsessi pidurdamiseks on võimalik lipoksügenaasi denatureerida kuumutamisega (Davies, 2004).

1.2.3 Lipiidide oksüdatsiooni mõjutavad tegurid

Erinevad keskkonnatingimused mõjutavad oksüdatsiooni toimumise kiirust. Lipiidid on vastuvõtlikud valgusele, temperatuurile ja hapnikule, kuid töötlemise ja säilitamise käigus puutuvad tooted kõige tihedamini kokku just nende teguritega (Shahidi & Zhong, 2010).

Temperatuuri tõus põhjustab oksüdatsiooni kiirenemist ning lühendab induktsiooniperioodi. Lipiidide oksüdatsiooni saab kontrollida, hoiustades toiduaineid ettenähtud optimaalses temperatuurivahemikus. Samas ei sobi madalal temperatuuril hoiustamine kõikidele rasvarikastele toiduainetele, kuna see võib põhjustada teatud õlide tahkumist ning välimuse muutusi. Lisaks on oluline jälgida ka toodete kuumutamise aega. Enamasti avaldab lipiidide oksüdeerumisele suuremat mõju pikem küpsetusaeg ja madalam temperatuur kui kõrgem temperatuur ja lühem küpsetusaeg (Johnson & Decker, 2015).

Teine oksüdatsioonikiirust mõjutav tegur on kokkupuude hapnikuga. Hapnik on kaheaatomiline gaasimolekul, mida leidub kõikjal atmosfääris (Johnson & Decker, 2015). Oksüdatsiooni mõjutavad nii eri hapnikutüübid kui ka nende kontsentratsioon. Oksüdatsioon on kiirem ergastatud hapnikuga ($^1O_2$), kuna see reageerib otse lipiidimolekuliga. Samas kui tavaolekus olev hapnik ($^3O_2$) reageerib lipiidradikaaliga ning seetõttu on reaktsioon aeglasem (Choe & Min, 2006). Hapniku kontsentratsiooni alandamisega luuakse tingimused oksüdatsiooni pidurdamiseks. Seda saab mõjutada pakkematerjali või pakendamiskeskkonna abil. Pakendikeskkonnas olev hapnik eemaldakse, kas vaakumpakendamise või modifitseeritud atmosfääri pakendamise (MAP) käigus. Samuti võib toote pakendada ka kõrge hapnikubarjääriga pakendisse, mis takistab veelgi hapniku ligipääsu tootele ning hoiab soovitud gaasikeskkonda. Lisaks on võimalik kasutada ka hapniku absorbereid, mis seovad keskkonnas oleva hapniku, takistades oksüdatsiooni toimumist (Cichello, 2015).

Nagu eelnevalt kirjeldatud, põhjustab kokkupuude valgusega toodetes fotooksüdatsiooni. Valgus mõjutab põhiliselt singletthapniku moodustumist, mis omakorda kiirendab oksüdatsiooni. Valguse mõju oksüdatsioonile väheneb temperatuuri tõustes (Choe & Min, 2006). Toodetes, kus toimub lipiidide fotooksüdatsioon, on oluline sobiva pakendi valik. Läbipaistvate plastpudelite kasutamine (näiteks õlide puhul) võimaldab kokkupuudet valgusega, mis omakorda suurendab oksüdatsiooni kiirust. Samas saab pakendisse lisada UV-absorberi, mis neelab pudelis olevat valgust. See võimaldab säilitada õlide fotooksüdatiivset stabiilsust (Azeredo et al., 2003).

Oksüdatsiooni võib mõjutada ka metallide olemasolu keskkonnas. Paljud looduslikud õlid sisaldavad metalle või puutuvad nendega kokku töötlemise käigus. Tihti tõuseb õlide metallisisaldus rafineerimisprotsessi käigus, kuna siis puutub õli kokku töötlemiseks kasutatavate seadmetega. Rafineeritud õli võib sisaldada koobaltit, rauda, magneesiumi või vaske. Vask soodustab lipiidide lagunemist rohkem kui raud, samas esineb rauda rohkem nii vee- kui ka õlikeskkonnas (Kiokias et al., 2009). Sobiva redutseerimispotentsiaaliga metallid saavad reageerida tavaolekus oleva hapnikuga, moodustades singletthapniku, mis omakorda soodustab oksüdatsiooni (Choe & Min, 2006). Lisaks

võivad metallid reageerida hüdroperoksiididiga, mille tulemusel tekivad reaktiivsed lipiidradikaalid (Johnson & Decker, 2015).

Siiski ei pruugi vabade radikaalide teke alati kaasa tuua toidu kvaliteedi muutumist, kuna toiduainetes sisalduvad antioksüdandid tagavad vastupidavuse oksüdatsioonile. Primaarsed antioksüdandid aeglustavad oksüdatiivseid protsesse, inaktiveerides vabu radikaale. Peamiselt loovutavad nad lipiidradikaalidele vesinikuaatomeid, et toota lipiididerivaate ja antioksüdantseid radikaale. Viimased on stabiilsemad ning oksüdatsiooniks vähem kättesaadavad. Sekundaarsed antioksüdandid soodustavad aga primaarsete antioksüdantide toimet, sidudes näiteks metalliioone (Kiokias et al., 2009). Antioksüdandid võivad olla nii looduslikud kui ka sünteetilised (tabel 2). Kui sünteetilised antioksüdandid on keemiliselt sünteesitud ühendid, siis looduslikke antioksüdante leidub paljudes toiduainetes. Näiteks erinevad puu- ja köögiviljad sisaldavad C- ja E-vitamiini ning fenoolseid ühendeid. Karotenoide leidub eelkõige oranžides puu- ja köögiviljades nagu porgand. Erinevad seemned, pähklid ja õlid sisaldavad tokoferoole ning fenoolseid ühendeid (Atta et al., 2017).

Tabel 2. Antioksüdandid (Atta et al., 2017)

Looduslikud antioksüdandid	**Sünteetilised antioksüdandid**
Vitamiin E (tokoferoolid)	Butüülhüdroksütolueen (BHT)
Karotenoidid	Butüülhüdroksüanisool (BHA)
Fenoolsed ühendid (fenoolhapped, flavonoidid)	TBHQ (tert-butüülhüdroksükinoon)
Seleen	Propüülgallaat (PG)
Vitamiin C (askorbiinhape)	Oktüülgallaat (OG)
Koensüüm Q	Etüleendiamiintetraäädikhape (EDTA)

1.3 Päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude oksüdatsioon

1.3.1 Päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsud

Kartulikrõpsud valmistatakse tavaliselt värskete kartuliviilude friteerimisel õlivannis. Kasutatud õli koos kartulikrõpsudes esinevate lõhna- ja maitseainetega on põhiliseks komponendiks krõpsude lõhna ja maitse moodustumisel. Säilivusaja jooksul võib antud tootega toimuda lipiidide oksüdatsioon, mille tulemusel tekivad rääsunud lõhna ja maitset põhjustavad ühendid (Arslan et al., 2018). Antud töös uuriti päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpse ning seetõttu keskendutakse ka päevalilleõli oksüdatsiooni uurimisele.

Päevalilleõli on päevalilleseemnetest pressitud või lahustiga ekstraheeritud õli. Ilma edasise töötluseta on võimalik saada rafineerimata päevalilleõli, mida lisatakse näiteks salatitesse. Edasise töötluse käigus õli rafineeritakse, et muuta kõrge happesusega ja võimalike organoleptiliste defektidega toorõli inimesele meeldivamaks. Samuti eemaldatakse protsessi käigus saasteained (näiteks pestitsiidid). Rafineeritud õli on sobilik praadimiseks ja seda kasutatakse laialdaselt toidu valmistamiseks (Gotor & Rhazi, 2016).

Päevalilleõli kogu rasvhappeline koostis on toodud tabelis 3. Tavalise päevalilleseemneõli koostises on kõige rohkem polüküllastumata linoolhapet (62.2%), vähem monoküllastumata oleiinhapet (28%) ning küllastunud palmitiinhapet (6.2%) ja steariinhapet (2.8%) (Orsavova et al., 2015).

Tabel 3. Päevalilleõli rasvhappeline koostis (Orsavova et al., 2015)

Rasvhape	**Kogus (% rasvhapetest)**
Lauriinhape C12:0	0,02 %
Müristiinhape C14:0	0.09 %
Palmitiinhape C16:0	6.2 %
Palmitoleiinhape C16:1(n-7)	0.12 %
Heptadekaanhape C17:0	0.02 %
Steariinhape C18:0	2.8 %
Oleiinhape C18:1cis (n-9)	28 %
Linoolhape C18:2cis (n-6)	62.2 %
Linoleenhape C18:3(n-3)	0.16 %
Arahidiinhape C20:0	0.21 %
Eikoseenhape C20:1(n-9)	0.18 %
Küllastunud rasvhapped	9.3 %
Monoküllastumata rasvhapped	28.3 %
Polüküllastumata rasvhapped	1.4 %

Lisaks kasutatakse toiduainetööstuses ka päevalilleõlisid, mis sisaldavad ühte järgmisest valikust:

- suures koguses oleiinhapet (75 – 90.7%),
- keskmises koguses oleiinhapet (43.1 – 71.8%),
- suures koguse oleiinhapet (69%) ja stеariinhapet (21%),
- suures koguses oleiinhapet (53 – 57%) ja palmitiinhapet (29%).

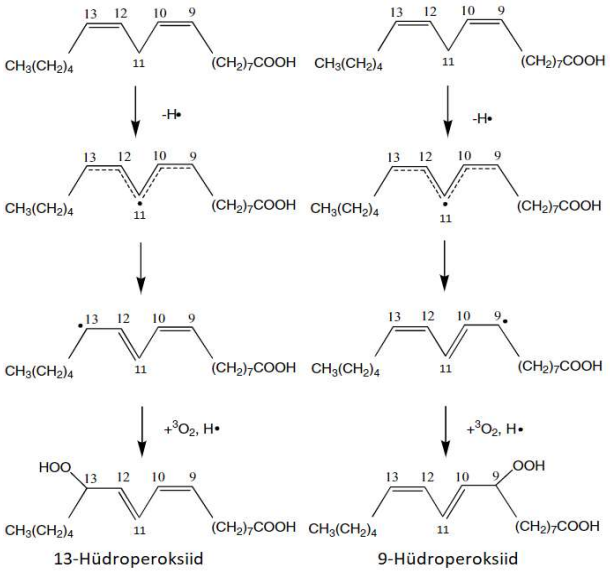
Kõrgema oleiinhappe sisaldusega õli on oksüdatiivselt stabiilsem, kuna see sisaldab peamiselt monoküllastumata rasvhapet. Samas on kõrge stеariinhape ja palmitiinhape sisaldusega õlid veel stabiilsemad, kuna need sisaldavad küllastunud rasvhappeid, mis tagavad veel parema kaitse oksüdatsiooni eest (Gotor & Rhazi, 2016).

Päevalilleõli sisaldab ka märkimisväärses koguses tokoferoole, neist kõige rohkem α-tokoferooli. Tokoferoolidel on antioksüdantsed omadused ehk nad stabiliseerivad vabu radikaale, takistades seeläbi oksüdatsiooni toimumist. Veel esineb päevalilleõlis taimseid steroole (fütosteroolid) ja fenoolhappeid (põhiliselt vanilliinhape ja kofeiinhape) (Gotor & Rhazi, 2016).

1.3.2 Päevalilleõli oksüdatsioon

Päevalilleõli oksüdatsioonil moodustuvad vabad radikaalid eelkõige polüküllastumata linoolhappest ja monoküllastumata oleiinhappest. Sellest tulenevalt tekivad ka spetsiifilised primaarsed ja sekundaarsed produktid (Keszler et al., 2000).

Autooksüdatsioonil tekkivad hüdroperoksiidid on lõhnatud ja maitsetud ning ei mõjuta toidu kvaliteeti. Linoolhappe (C18:2) kõige reaktiivsem vesinik asub positsioonis C11 ning selle eemaldumisel saavad tekkida radikaalid positsioonides C9 ja C13. Seega on linoolhappe peamisteks primaarseteks oksüdatsiooni produktideks 9-hüdroperoksiid ja 13-hüdroperoksiid (joonis 6) (Choe & Min, 2006). Lisaks reageerivad linoolhappes vähesel määral ka C8 ja C14 positsioonis olevad vesinikud, kuid see reaktsioon vajab rohkem energiat. Reaktsiooni tulemusel tekib neli hüdroperoksiidi (C8-, C10-, C12- ja C14-hüdroperoksiid), mille osakaal on linoolhappes ligikaudu 4% hüdroperoksiidide koguarvust. Oleiinhape on monoküllastumata rasvhape ning tema molekulis esineb vähem reaktiivseid vesinikke, mistõttu on ka vähem võimalusi vabade radikaalide tekkeks. Seega toimub oleiinhappes oksüdatsioon aeglasemalt, kuid tema lagunemine omab endiselt olulist rolli oksüdatsiooni produktide tekkel. Oleiinhappe puhul eemaldatakse vesinik kaksiksidemega külgnevatest metüleenrühmadest ehk positsioonides C8 või C11, mille tulemusel tekivad C8-, C9-, C10-, ja C11-hüdroperoksiidid (Belitz et al., 2009).



Joonis 6. Linoolhappest hüdroperoksiidide moodustumine (Choe & Min, 2006)

Hüdroperoksiidide lagunemisel tekivad sekundaarsed oksüdatsiooni produktid. Need on peamiselt lenduvad ühendid, mis isegi väikestes kogustes võivad mõjutada toidu lõhna ja maitset, muutes toote tarbijale vastuvõetamatuks (Belitz et al., 2009). Linool- ja oleiinhappe oksüdatsioonil tekivad erinevad aldehüüdid, ketoonid, alkoholid ja karboksüülhapped (tabel 4).

Tabel 4. Päevalilleõli sekundaarsed oksüdatsiooniproduktid (Belitz et al., 2009; Choe & Min, 2006; Franklin et al., 2017; Keszler et al., 2000)

Ühend	**Oleiinhape**	**Linoolhape**
Aldehüüdid	Oktanaal Nonanaal 2-Dekenaal Dekanaal Heptanaal	Heksanaal Pentanaal Heptanaal Oktanaal 2-Heptenaal 2-Oktenaal 2-Nonenaal 2-Dekenaal 2,4-Dekadienaal 2,4-Nonadienaal
Ketoonid	Pole informatsiooni	3-Okteen-2-oon 2-Heptanoon 1-oktanoon
Alkoholid	1-Heptanool	1-Pentanool 1-Okteen-3-ool 1-Penteen-3-ool
Karboksüülhapped	Heptaanhape Oktaanhape	Heptaanhape Oktaanhape Heksaanhape

Heksanaal on põhiline linoolhappest tekkiv aldehüüd, mis moodustub 13-hüdroperoksiidi lagunemisel ning võib tootele anda nii muruseid ja rohelise õuna kui ka rääsunud ja rasvaseid noote (Keszler et al., 2000; Petersen et al., 2011). Oksüdatsiooni tagajärjel suureneb heksanaali sisaldus ning seetõttu kasutatakse seda tihti ka ühe peamise lipiidide oksüdatsiooni indikaatorina (Agarwal et al., 2018). Samas võib heksanaal ka oksüdatsiooni ajal edasi reageerida, põhjustades metüülketoonide, nagu 2-heksanoon, 2-heptanoon ja 2-oktanoon teket (Grebenteuch et al., 2021).

Rääsunud lõhna tekkimisega on seostatud ka teisi lenduvaid ühendeid nagu pentanaal, heptanaal, oktanaal ja nonanaal (Franklin et al., 2017; Fu et al., 2020). Pentanaal tekib linoolhappe 13-hüdroperoksiidi lagunemisel, heptanaal 9-hüdroperoksiidi lagunemisel (Keszler et al., 2000). Samuti võib tekkida 2-4-dekadienaal, mis annab kartulikrõpsudele soovitud küpsetatud maitse. Suuremas koguses põhjustab see rääsunud ja õlist lõhna, mis on tarbijale vastuvõetamatu (Lee & Pangloli, 2013). 2-4-dekadienaalist võib tekkida 2-oktenaal (Keszler et al., 2000), mille lõhna kirjeldatakse peamiselt pähklisena (Petersen et al., 2011), kuid on leitud ka seoseid rääsunud nootidega. Veel on rääsunud lõhna tekkimist seostatud linoolhappe lagunemisel tekkiva 2,4-nonadienaaliga (Fu et al., 2020). Oleiinhappe põhilisteks sekundaarseteks oksüdatsiooni produktideks on oktanaal ja nonanaal (Belitz et al., 2009).

Lisaks eelnevalt nimetatud aldehüüdidele võivad tekkida ka ketoonid, mis annavad tootele seenese, metallilise või rasvase lõhna (Petersen et al., 2011). Näiteks on rääsunud lõhna esinemist seostatud 2-heptanooni tekkimisega (Franklin et al., 2017; Fu et al., 2020). Alkoholid omakorda võivad anda rohelist, palsamiäädika või seeneseid noote (Petersen et al., 2011). Samas on rääsunud ja rasvase lõhna tekkimist seostatud ka näiteks 1-okteen-3-ooli ja 1-pentanooli tekkimisega (Franklin et al., 2017; Fu et al., 2020; Lee & Choe, 2012). Karboksüülhapped tekitavad tootele põhiliselt juustuseid noote (Petersen et al., 2011).

2. Töö eesmärk

Käesoleva töö eesmärk oli arendada päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele kiirendatud säilivuskatse metoodika. Kiirendatud säilivuskatse aitab hinnata toote säilivusaega ajaefektiivselt, mis omakorda võimaldab toiduainetööstuses uued tooted kiiremini turule tuua. Kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks on vajalik teada tootele iseloomulikku kiirendusfaktorit (Q_{10}-faktor), mis kirjeldab uuritava protsessi reaktsioonikiiruse muutust, kui temperatuur tõuseb 10 °C. Teades päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude Q_{10}-faktorit, on olemas mudel edaspidiseks kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks.

Kartulikrõpsude põhiliseks kvaliteedilangust põhjustavaks protsessiks on lipiidide oksüdatsioon ning seetõttu keskenduti antud töös päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude oksüdatsiooni uurimisele. Selleks hoiustati kartulikrõpse erinevatel temperatuuridel ning hinnati erinevate oksüdatsiooni kirjeldavate indikaatorite muutust ajas. Tulemuste alusel leiti uuritud parameetrite muutuste reaktsioonikiirused ning selle alusel ka päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele iseloomulik Q_{10} väärtus.

3. Eksperimentaalne osa

3.1 Materjalid ja meetodid

3.1.1 Kartulikrõpsud ja pakendamine

Päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsud (Coop, Pata S.P.A, Italy) sisaldasid pakendil oleva info järgi 100 g kohta: 33 g rasva, millest 3.7 g olid küllastunud rasvhapped; 50 g süsivesikud; 4.2 g valgud ning 1 g soola. 42 g kartulikrõpse pakendati ümber 20 cm x 20 cm 12 µm PET/40 µm LLDPE (AS Estiko-Plastar, Eesti) pakendisse. Pakendi hapniku läbilaskvus oli 130 cc/m^2/24h ning niiskuse läbilaskvus <3 g/m^2/24h.

3.1.2 Kiirendatud katse läbiviimine

Ümberpakendatud kartulikrõpse hoiti kliimakappides 20 °C (Panasonic, MLR-325H), 30 °C (MMM grup, Venticell LSIS-B2V / VC 222) ning 40 °C (Memmert, UN750) juures. Enne katse algust analüüsiti krõpsude veeaktiivsust (aw) ja niiskussisaldust. Katse kestis kokku 90 päeva ning iga 10 päeva tagant võeti kolm bioloogilist paralleeli kliimakapist välja. Säilivuskatse jooksul analüüsiti pakendite hapnikusisaldust ning tehti sensoorne analüüs. Seejärel asetati krõpsud -20 °C juurde edasiste analüüsideni. Peale 90 päevase katse lõppu analüüsiti krõpsude rasvhapete sisaldust GC-MS-FAME (FAME – *Fatty Acid Methyl Ester*) meetodil ja lenduvate ühendite sisaldust SPME-GC-MS ja GC-O meetodil.

3.1.3 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs

Veeaktiivsuse ja niiskussisalduse analüüsimiseks purustati kartulikrõpsud uhmriga. Mõlemad analüüsid tehti 1 g krõpsudega kolmes paralleelis. Veeaktiivsust mõõdeti Rotronic HC2-AW anlüsaatoriga (Šveits) ning niiskussisalduse analüüsiks kasutati Mettler Toledo HR38 halogeen niiskus analüsaatorit (Šveits).

3.1.4 Hapnikusisalduse analüüs ja sensoorne analüüs

Kolmel erineval temperatuuril hoiustatud krõpsude pakenditest teostati iga 10 päeva tagant, kolmes bioloogilises paralleelis, hapnikusisalduse analüüs ja kirjeldav sensoorne analüüs. 0-punkti ehk värskete proovide analüüsid tehti enne krõpsude asetamist kliimakappi.

Pakendi hapnikusisalduse hindamiseks analüüsiti gaasisisaldust, milleks kasutati Oxybaby 6.0 gaasianalüsaatorit (Wittgas, Saksamaa).

Kvantitatiivne kirjeldav sensoorne analüüs viidi läbi 8 treenitud assessori poolt ning saadud andmed koguti RedJade tarkvaraga (RedJade Sensory Solutions LLC, Martinez, USA). Hinnati rääsunud lõhna intensiivsust 9-pallisel skaalal (0 – “puudub”, 1 – “väga nõrk”, 5 – “keskmine” ja 9 – “väga tugev”). Katse jooksul hinnatud kartulikrõpse võrreldi 4 °C juures säilinud referentsiga.

3.1.5 Rasvhappe metüülestrite (FAME) analüüs GC-MS meetodil

Rasvhappelise koostise analüüsil hinnati kartulikrõpsudest ekstraheeritud õlis sisalduvaid vabu rasvhappeid. Analüüsiti 3 bioloogilises paralleelis 0-punkti kartulikrõpse ning 70 päeva ja 90 päeva 20 °C, 30 °C ja 40 °C juures säilinud kartulikrõpse.

Iga bioloogilise paralleeli krõpsudest ekstraheeriti õli, kasutades Soxhleti masinat (Velp Scientifica, SER158, Itaalia). Seda tehti kartulikrõpsudele mõeldud AOAC meetodi 963.15 alusel, mis mugandati töös kasutatud seadmele. Esmalt homogeniseeriti krõpsud uhmriga ning analüüsiks kaaluti (Mettler Toledo, Viper SW3 kaal) 3 g uhmerdatud proovi. Ekstraheerimiseks kasutati 100 ml petrooliumeetrit (Sigma-Aldrich, Israel). Protsessis toimus 20 minutit krõpsude immutamist, 15 minutit lahustunud osa kokkukogumist, 20 minutit pesemist, 10 minutit lahusti kokkukogumist ning 5 minutit jahutamist. Peale protsessi lõppemist aurustati petrooliumeeter. Saadud õli hoiustati tumedates viaalides -20 °C juures.

Õlis esinevad vabad rasvhapped derivatiseeriti rasvhapete metüülestriteks (FAME). See viidi läbi mugandatult NREL meetodi: „Determination of Total Lipids as Fatty Acid Methyl Esters (FAME) by in situ Transesterification" alusel (Wychen, et al., 2015). Kaaluti (Precisa Gravimetrics AG Dietikon, 390HF, 125SM-FR kaal) 100 mg õli ning sellele lisati 900 mg heksaani (Honeywell, Saksamaa), et valmistada stock-lahus iga bioloogilise paralleeli kohta. Edasi jätkati proovi ettevalmistamisega, kus igast bioloogilisest paralleelist tehti veel kolm tehnilist paralleeli. Prooviviaali võeti pipetiga 200 µl stock-lahust ning lisati 200 µl kloroform:metanool 2:1 lahust (kloroform ja metanool: Sigma-Aldrich, Saksamaa) ja 300 µl HCl:metanool 0,6M lahust (HCl: Honeywell, Austria). Viaali kuumutati inkubaatorkapis (SANYO, MOV-112S, Jaapan) 100 °C juures 60 minutit. Optimaalse kuumutamise temperatuuri ja aja leidmiseks viidi eelnevalt läbi optimeerimine. Selleks hinnati metüülpalmitaadi sisaldust kirjeldatatava meetodi alusel, kuid kuumutamine viidi läbi neljal erineval temperatuuril ning viiel erineval ajal. Optimaalsed kuumutamise tingimused valiti reaktsiooni toimumise graafiku alusel (Lisa 1). Peale kuumutamist lisati proovile 200 µl heksaani ning segati 5 minutit Vortexil (VWR, Saksamaa). Proove hoiti üleöö -20 °C juures ning järgmisel päeval võeti 5 µl kihistunud proovi ülemisest kihist, lisati 450 µl heksaani ning alustati kromatograafilise analüüsiga.

Metüleeritud rasvhapped eraldati kromatograafiliselt gaas-kromatograafiga (Agilent Technologies 7890A, USA), mis sisaldas üliinertset spitless linerit (Agilent Technologies, tüüp 5190-2293, USA). Gaas-kromatograafiga oli ühendatud Agilent 5975C mass-spektromeeter (USA) koos elektroni-ionisatsiooni allika ja kvadrupooli massianalüsaatoriga. Rasvhappe metüülestrite analüüsiks kasutati ZB5-MSi kapillaarkolonni (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Agilent Technologies, USA)) ning kandegaasina heeliumi (6.0 puhtus) konstantsel voolukiirusel 1 ml/min. Proovi (2.5 µl) süstiti *spitless*-režiimis temperatuuril 275 °C. Temperatuurirežiim oli järgmine: algtemperatuuril 32 °C hoiti 4 minutit, seejärel tõsteti 225 °C-ni kiirusega 10 °C/min, hoiti 6 minutit ja lõpuks tõsteti temperatuurile 300 °C kiirusega 10 °C/min ja hoiti 5 minutit. Analüüsi koguaeg oli 41 minutit. Mass-spektrid saadi 70 eV ionisatsioonienergia juures SCAN režiimis ja masside skaneerimise vahemikuks oli m/z 35–600. Ülekandeliin GC kolonnist MS-i oli 250 °C, allika temperatuur 230 °C ja kvadrupooli temperatuur 150 °C. Andmed koguti Agilent Mass Hunter Workstationi kvalitatiivse analüüsi tarkvara abil. Rasvhapped identifitseeriti nii standardlahuse (Supelco, 37 komponendiline FAME standard) retentsiooniindeksite (RI) alusel kui ka NIST17 andmebaasi otsingu abil. Kvalitatiivne analüüs viidi läbi viiepunktiliste kalibratsioonigraafiku abil. Lisas 2 on toodud kahe põhiliselt uuritud rasvhappe kalibratsioonigraafikud.

3.1.6 Lenduvate ühendite analüüs SPME-GC-MS ja GC-O meetodil

Antud analüüsid tehti koostöös Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskuse teaduritega. Lenduvaid ühendeid analüüsiti 0-punkti krõpsudega ning 10, 30, 50, 70 ja 90 päeva punktides 20 °C, 30 °C ja 40 °C juures hoitud proovidega. Analüüsid teostati kolmes bioloogilises paralleelis.

Lenduvate ühendite ekstraktsiooniks kasutati tahke faasi mikroekstraktsiooni (SPME). 0.5 g krõpse homogeniseeriti uhmriga ning kaaluti 10 ml-sse SPME viaali, millele lisati sisestandard ja magnetsegaja. Viaali eelkuumutati 50 °C juures 5 minutit, mille järel adsorbeeriti/absorbeeriti lenduvad ühendid SPME fiibrile (30/50 µm DVB/Car/PDMS Stableflex, 2 cm) 50 °C juures 20 minuti jooksul. Adsorbeerunud/absorbeerunud ühendid desorbeeriti GC süstimispordis 5 minuti jooksul.

GC-MS analüüsiks kasutati gaas-kromatograafi süsteemi (2030; Shimadzu, Kyoto, Japan), mis oli ühendatud mass-spektromeetriga (8050NX Triple Quadrupole; Shimadzu, Kyoto, Japan) ja AOC-6000 automaatse proovi sisestus süsteemiga (Shimadzu, Kyoto, Japan). Analüüsis kasutati ZB5-MS kolonni (30 m × 0.25 mm × 1.0 µm (Phenomenex, Torrance, CA, USA)) ja kandegaasina heeliumit. Temperatuurirežiim oli järgmine: algtemperatuurist 40 °C tõsteti 7.5 °C/min kuni 280 °C, kus hoiti 4 minutit (kogu programmi pikkus 36 min). Mass-spektrid saadi 70 eV ionisatsioonienergia juures Q3-SCAN režiimis ja masside skaneerimise vahemik oli m/z 35-250.

Lenduvate ühendite identifitseerimiseks kasutati GCMS Solution tarkvara (Shimadzu, Japan) ja eelmises lõigus kirjeldatud GC meetodiga süstitud n-alkaanide abil kalkuleeritud retentsiooniindekseid. Ainete identifitseerimine kinnitati võrdluses eksperimentaalsete retentsiooniindeksitega NIST17 ja FFNSC mass-spektrite andmebaasides. Identifitseeritud ühendid kvantifitseeriti semi-kvantitatiivselt sisestandardi suhtes (4-metüül-2-pentanool; 200 ppb) ja tulemused on esitatud ppb-des sisestandardi ekvivalentidena.

90 päeva 40 °C juures hoitud krõpsudele viidi läbi ka lenduvate ühendite analüüs, kasutades *headspace* tahkefaasilist mikroekstraktsiooni ning gaas-kromatograaf/olfaktomeetria meetodit (HS-SPME/GC-O). Proovi ettevalmistuseks kaaluti 1 g uhmriga homogeniseeritud krõpse ning proovisisestamiseks kasutati *headspace* tahkefaasilist mikroekstraktsiooni sarnaselt eespool kirjeldatud meetodile. Kromatograafiline eraldamine ning ühendite identifitseerimine teostati käevolevas peatükis eelnevalt kirjeldatud meetodi alusel.

GC-O analüüs viidi läbi gaasikromatograafiga (Agilent 7890A; Agilent Technologies Inc., Ameerika Ühendriigid), mis oli varustatud nuusutamispordiga (ODP; Gerstel Inc.). Kasutatud kolonniks oli ZB5-MS 30 m × 0,25 mm × 1,0 µm ning temperatuuri režiim oli järgmine: algtemperatuurist 35 °C tõsteti 45 °C/min kuni 85 °C, seejärel tõsteti 9 °C/min kuni 200 °C ning edasi 45 °C/min kuni 280 °C, kus hoiti 4 minutit. Kogu analüüsiaeg oli 16.67 minutit. Analüüs viidi läbi nelja treenitud assessori poolt, kes kirjeldasid kolonnist elueeruvaid lenduvaid ühendeid ja hindasid lõhna üldist intensiivsust skaalal 1–5. Iga assessor hindas proove kaks korda.

3.1.7 Reaktsioonikiiruse ja Q_{10} arvutamine

Reaktsioonikiiruse arvutamine toimub teoreetiliselt Arrheniuse võrrandi alusel, aga käesolevas töös kasutati reaktsioonikiiruse leidmiseks lihtsustatud valemit:

$$k = \frac{\Delta c}{\Delta t} \text{ (valem 3),}$$

kus k tähistab reaktsioonikiirust, Δc kontsentratsiooni muutust ning Δt aja muutust (Toledo, 2007).

Reaktsioonikiirus leiti kõigil kolmel temperatuuril vastavalt rasvhappelise koostise analüüsi ja sensoorse analüüsi tulemustele. Seejärel leiti uuritavate protsesside Q_{10} väärtus, kasutades kirjanduse osas välja toodud valemit (valem 2). Q_{10} arvutamiseks kasutati reaktsioonikiiruseid 20 °C ja 40 °C juures, kuna uuritud toote puhul imiteerib 20 °C kõige paremini säilitamist tavatingimustes ning 40 °C säilimist kiirendatud tingimustes.

3.2 Tulemused ja arutelu

3.2.1 Niiskussisalduse ja veeaktiivsuse analüüs

Kartulikrõpsudes mõõdeti veeaktiivsust ja niiskusesisaldust enne nende ümberpakendamist (0-punktis). Niiskussisaldus oli 0.83 ± 0.12%, mis on ootuspärane tulemus. Kartulikrõpsude valmistamise ajal toimub niiskusisalduse langus ning valmistootes on see tavaliselt alla 3%. Madal niiskusesisaldus on oluline toote kvaliteedi säilimiseks säilivusaja jooksul (Abong et al., 2011).

Mõõdetud veeaktiivsuse tulemuseks oli 0.132 ± 0.005. Põhiline kartulikrõpsude kvaliteedilanguse põhjus on lipiidide oksüdatsioon, mis toimub kiiresti, kui veeaktiivsus on <0.1. Vahemikus 0.2 – 0.5 on oksüdatsioon aeglasem ning edasisel veeaktiivsuse tõusul oksüdatsioonikiirus tõuseb (Esse & Saari, 2004). Seega saab järeldada, et kartulikrõpsudes mõõdetud veeaktiivsusega ei toimu oksüdatsioon küll maksimaalsel kiirusel, kuid siiski on reaktsiooni toimumine hapniku juuresolekul soodustatud.

3.2.2 Rasvhappelise koostise analüüs

Oksüdatsiooni toimumise kirjeldamiseks analüüsiti kartulikrõpsudest ekstraheeritud päevalilleõli vabade rasvhapete koostist FAME meetodil. Hinnati oksüdatsiooni käigus toimuvat rasvhapete kontsentratsiooni langust tootes. Tabelis 5 on toodud kartulikrõpsude rasvhappeline koostis 0-punktis enne säilivuskatse tegemist ning kõikidel temperatuuridel (20 °C, 30 °C ja 40 °C) 70 ja 90 päeva ajapunktis. 0-punktis esines kartulikrõpsudes kõige rohkem polüküllastumata linoolhapet (49.05%) ja monoküllastumata oleiinhapet (47.22%). See oli ootuspärane tulemus, kuna ka kirjanduse põhjal on neid rasvhappeid päevalilleõlis kõige rohkem (Gotor & Rhazi, 2016). Lisaks on tegu küllastumata rasvhapetega, mis tähendab, et neil on elektronirikkaid kaksiksidemeid, mis võimaldavad vesinikumolekulil rasvhappe küljest kergemini eralduda ja lipiidradikaalidel tekkida. Seega on need oksüdatsioonile tundlikumad ja lagunevad kiiremini kui küllastunud rasvhapped (Johnson & Decker, 2015). Seetõttu keskenduti antud töös just nende kahe rasvhappe sisalduse muutuse uurimisele. Vähem esines õlis küllastunud palmitiinhapet (1.79%) ja steariinhapet (1.47%).

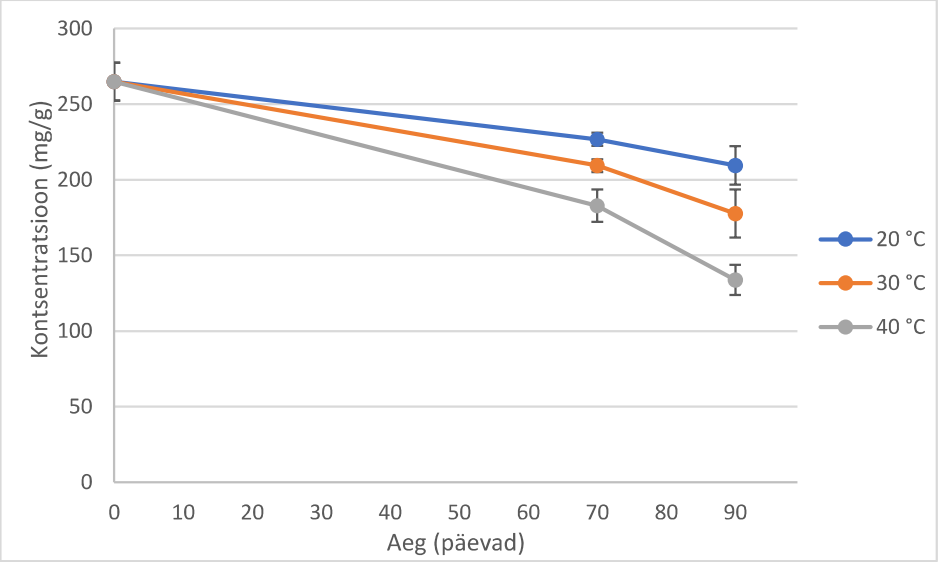
Tabel 5. Rasvhappelise koostise analüüsi tulemused

Rasvhappe nimetus	Kogus (mg/g)						
	0-punkt	20 °C		30 °C		40 °C	
		70 päeva	90 päeva	70 päeva	90 päeva	70 päeva	90 päeva
Metüülmüristaat	0.08± 0.003	0.09± 0.011	0.08± 0.013	0.08± 0.002	0.08± 0.010	0.06± 0.005	0.04± 0.009
Metüüllingostereaat	0.10± 0.014	0.09± 0.001	0.09± 0.009	0.09± 0.000	0.09± 0.004	0.08± 0.013	0.08± 0.006
cis-10-heptadekaan happe metüülester	0.12± 0.020	0.10± 0.021	0.09± 0.010	0.08± 0.013	0.07± 0.008	0.08± 0.005	0.04± 0.021
Metüülheptadekonaat	0.14± 0.029	0.15± 0.004	0.14± 0.013	0.14± 0.013	0.13± 0.001	0.12± 0.012	0.10± 0.037
Metüülbeheneaat	0.18± 0.029	0.12± 0.026	0.09± 0.025	0.09± 0.021	0.06± 0.025	0.1± 0.050	0.04± 0.023
Metüülpalmitoleaat	0.80± 0.051	0.71± 0.006	0.68± 0.021	0.71± 0.004	0.69± 0.018	0.66± 0.017	0.47± 0.060
Metüülarahhidaat	1.11± 0.111	1.08± 0.030	1.08± 0.123	1.07± 0.054	1.01± 0.040	0.91± 0.069	0.76± 0.127
Metüülstearaat	7.93± 0.347	6.98± 0.094	6.71± 0.089	6.25± 0.174	5.59± 0.324	5.24± 0.577	3.57± 0.690
Metüülpalmitaat	9.69± 0.575	8.52± 0.193	8.04± 0.413	7.89± 0.192	7.25± 0.333	6.79± 0.518	4.97± 0.706
cis-9-oleiinhappe metüülester	255.00± 11.845	231.00± 2.386	223.70± 11.557	220.40± 11.444	198.44± 1.466	211.20± 10.677	174.42± 8.515
Metüüllinoleaat	264.90± 12.499	226.83± 4.252	209.54± 12.738	209.35± 4.193	177.69± 15.865	182.91± 10.712	133.82± 9.931

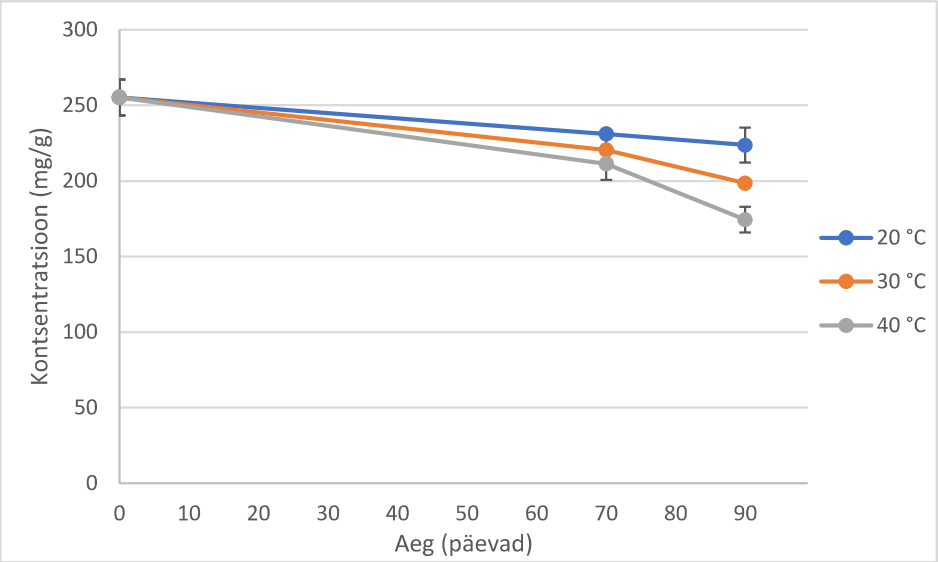
Oksüdatsiooni protsessis toimub rasvhapete lagunemine, mis algab vesiniku eemaldumisega rasvhappemolekuli küljest. Selle tulemusel tekivad lipiidradikaalid, mis reageerivad hapnikuga, moodustades peroksüülradikaale. Viimaste reageerimisel mõne teise süsteemis esineva rasvhappega tekivad hüdroperoksiidid ehk primaarsed oksüdatsiooniproduktid. Hüdroperoksiidide lagunemisel

moodustuvad lenduvad ühendid ehk sekundaarsed oksüdatsiooniproduktid. Säilivuskatse jooksul toimus rasvhapete pidev lagunemine, mis viitab oksüdatsiooniprotsessi toimumisele (tabel 5). Joonisel 7 on toodud linoolhappe kontsentratsiooni muutus katse jooksul. Kõrgemal temperatuuril (40 °C) oli oksüdatsioon kõige kiirem ning linoolhappe kontsentratsioon langes 90 päeva jooksul 49%. Madalamal temperatuuril oli oksüdatsioon aeglasem, kusjuures 30 °C juures langes linoolhappe kontsentratsioon 32% ning 20 °C juures 21%. Oleiinhappe lagunemine toimus sarnaselt, kus 40 °C juures vähenes selle sisaldus päevalilleõlis 31%, samas kui 30 °C juures oli langus 22% ning 20 °C juures 12% (joonis 8). See tulemus kinnitab, et temperatuuri tõus põhjustab oksüdatsiooni kiirenemist ning rasvarikaste toodete puhul on õigete hoiustamistingimuste valimine väga oluline.

Katse alguses olid linool- ja oleiinhappe kogused üsna sarnased, kuid linoolhappe sisaldus vähenes säilivuskatse kõikidel temperatuuridel 90 päeva jooksul kiiremini kui oleiinhappe sisaldus. Seda saab seletada nende rasvhapete erineva küllastuvuse astmega. Polüküllastumata linoolhappel on 2 elektonirikast kaksiksidet, aga monoküllastumata oleiinhappes on vaid 1 kaksikside. Kui rasvhappe molekulis on rohkem kaksiksidemeid, siis esineb ka rohkem reaktiivseid vesinike, mistõttu on ka rohkem võimalusi vabade radikaalide tekkeks (Johnson & Decker, 2015).



Joonis 7. Linoolhappe kontsentratsiooni langus säilivuskatse jooksul

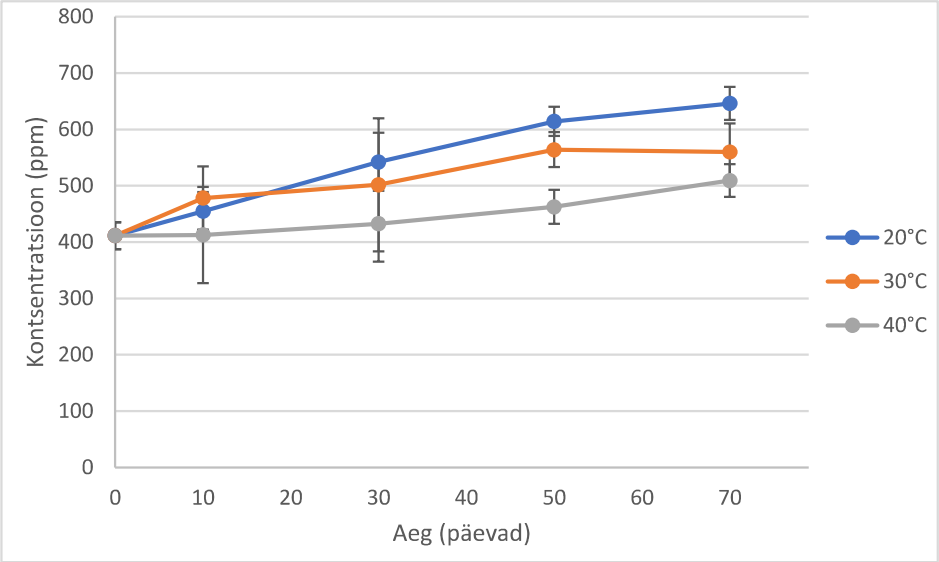


Joonis 8. Oleiinhappe kontsentratsiooni langus säilivuskatse jooksul

3.2.3 Lenduvate ühendite analüüs

Lenduvate ühendite analüüs tehti säilivuskatse jooksul SPME-GC-MS meetodil, et hinnata sekundaarsete oksüdatsiooniproduktide tekkimist kartulikrõpsudes. Kirjanduse ülevaate alusel saab öelda, et linoolhappe ja oleiinhappe oksüdatsioonil tekib mitmeid aldehüüde nagu heksanaal, heptanaal, pentanaal, nonanaal ja oktanaal (Lee & Pangloli, 2013). Need aldehüüdid tuvastati ka antud katses uuritud kartulikrõpsudest (tabel 6). Lisaks sellele tekkisid oksüdatsiooni käigus mitmed ketoonid (2-heptanoon, 3-okteen-2-oon ja 2-oktanoon) ja alkoholid (1-pentanool, 1-okteen-3-ool ja 1-penteen-3-ool), mida on tuvastatud ka varasemalt oksüdatsioonireaktsiooni toimumisel erinevatest maatriksitest (Franklin et al., 2017; Grilo & Wang, 2021).

Kõige suuremas kontsentratsioonis oli kartulikrõpsudes heksanaali, mis on linoolhappe põhiline oksüdatsioonisaadus (Agarwal et al., 2018). Tulemustest selgus, et 20 °C juures oli kuni 70. päeva ajapunktini heksanaali sisalduse tõus kõige suurem, kuid 40 °C juures oli kontsentratsiooni tõus kõige väiksem (joonis 9). Seda saab seletada heksanaali lagunemisega metüülketoonideks (näiteks 2-heptanoon) (Grebenteuch et al., 2021), mille sisaldus oli kõrgemal hoiustamistemperatuuril suurem ka antud katses (tabel 6).



Joonis 9. Heksanaali kontsentratsiooni muutus 70 päeva jooksul

Säilivuskatse jooksul suurenes lenduvate ühendite ehk sekundaarsete oksüdatsiooniproduktide sisaldus (tabel 6). Madalamal temperatuuril (20 °C ja 30 °C) suurenes lenduvate ühendite kontsentratsioon ühtlaselt kuni 90. päeva ajapunktini. Kõrgemal temperatuuril (40 °C) tõusis lenduvate ühendite kontsentratsioon ühtlaselt kuni 70. päeva ajapunktini, kuid pärast seda suurenes kontsentratsioon järsult. Seda saab seletada oksüdatsiooni alguses esineva induktsiooniperioodiga, mille jooksul on oksüdatsioon aeglane, kuid millele järgneb järsk oksüdatsioonikiiruse tõus. Induktsiooniperioodi pikkust lühendab kõrgem temperatuur (Gordon, 2004). Seega saab tulemustest järeldada, et kõrgemal temperatuuril (40 °C) jõudis lipiidide oksüdatsioon induktsiooniperioodi lõppu. Madalamal temperatuuril (20 °C ja 30 °C) veel induktsiooniperioodi lõppu ei jõutud, seega ei toimunud ka sekundaarsete oksüdatsiooniproduktide hüppelist kontsentratsiooni tõusu.

Lenduvad ühendid on põhilised toote lõhna ja maitse mõjutajad. Seetõttu viidi läbi ka GC-O analüüs kartulikrõpsudega, mis olid säilinud 90 päeva 40 °C juures. Selle abil hinnati tekkinud ühendite lõhna intensiivsust. Tulemuste alusel saab öelda, et kõige suuremas kontsentratsioonis esinenud heksanaali lõhna tunti ka kõige intensiivsemalt (hinne: 4) (tabel 6). Heksanaal annab tootele oksüdeerumise käigus rääsunud lõhna, mis on põhiliseks riknemise parameetriks rasvarikastes toodetes. Samuti võivad rääsunud lõhna tekkimist mõjutada mitmed teised ühendid või nende ühendite koosmõju. GC-O analüüsil tunti keskmise lõhnaintensiivsusega (3 või 3.5) veel 1-pentanooli, 2-heptanooni, 1-okteen-3-ooli, oktanaali, 3-okteen-2-ooni, 2-oktenaali, ja 2,4-nonadienaali, mille esinemist on ka kirjanduses seostatud rääsunud lõhna tekkimisega (Franklin et al., 2017; Fu et al., 2020; Lee & Choe, 2012).

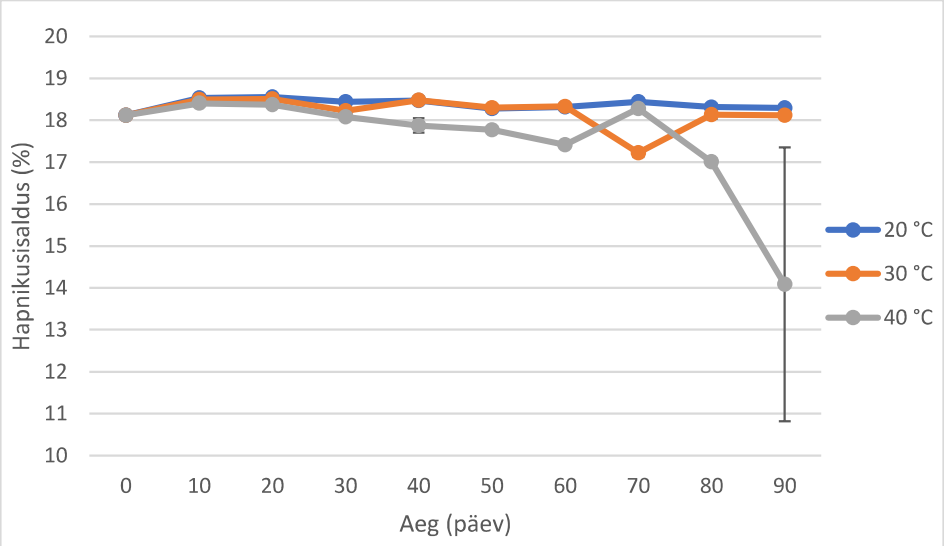
Tabel 6. Lenduvate ühendite analüüsi tulemused

RT, min	Ühend	GC-MS (ppm)																GC-O (hinne)
		0 punkt	20 °C					30 °C					40 °C					40 °C
			10 päeva	30 päeva	50 päeva	70 päeva	90 päeva	10 päeva	30 päeva	50 päeva	70 päeva	90 päeva	10 päeva	30 päeva	50 päeva	70 päeva	90 päeva	90 päeva
4.86	1-Penteen-3-ool	24.37 ±1.36	24.89 ±0.23	30.55 ±5.48	33.95 ±4.07	35.28 ±2.44	42.39 ±15.69	27.81 ±1.64	25.68 ±0.59	24.32 ±0.70	35.76 ±4.85	36.09 ± 4.10	23.45 ±1.36	26.64 ±0.26	23.92 ±2.30	26.50 ±1.36	69.25 ±19.90	2
5.19	Pentanaal	22.04 ±2.22	23.12 ±2.64	28.20 ±4.02	34.74 ±2.22	35.73 ±3.84	32.80 ±2.29	25.61 ±5.82	30.82 ±0.98	31.96 ±1.75	34.92 ±3.99	38.18 ±3.11	26.59 ±2.90	29.00 ±2.14	35.90 ±1.91	47.05 ±2.89	2474.66 ±204.29	2
6.94	1-Pentanool	22.17 ±0.75	29.70 ±1.87	38.37 ±0.53	42.17 ±0.63	48.28 ±2.51	48.91 ±2.44	30.90 ±1.70	37.94 ±0.92	41.86 ±0.49	56.56 ±4.67	56.59 ±0.54	31.49 ±0.04	43.24 ±4.32	49.88 ±3.59	70.07 ±4.51	1644.14 ±46.06	3
7.43	2-Heksanoon	0.04 ±0.00	0.19 ±0.02	0.18 ±0.07	0.23 ±0.02	0.22 ±0.05	0.45 ±0.31	0.16 ±0.01	0.27 ±0.04	0.38 ±0.02	0.72 ±0.23	1.04 ±0.27	0.28 ±0.06	0.80 ±0.04	1.30 ±0.10	1.75 ±0.10	15.05 ±0.84	-
7.82	Heksanaal	411.38 ±23.65	454.88 ±33.91	542.43 ±51.38	614.22 ±26.07	646.11 ±29.21	653.15 ±159.36	478.19 ±56.12	501.77 ±118.11	564.03 ±31.09	559.80 ±50.87	621.90 ±44.75	412.66 ±85.27	432.40 ±66.93	462.67 ±30.21	509.13 ±29.11	15967.14 ±1386.70	4
9.83	2-Heptanoon	2.70 ±0.06	4.74 ±0.49	6.46 ±0.37	7.58 ±0.36	7.67 ±0.45	9.94 ±2.25	5.81 ±0.56	7.45 ±1.15	9.61 ±0.29	12.47 ±1.54	15.78 ±2.09	7.68 ±0.09	11.77 ±1.36	16.48 ±1.71	20.93 ±1.23	468.37 ±0.88	3.5
10.15	Heptanaal	7.78 ±0.28	16.75 ±2.16	18.17 ±1.43	22.15 ±0.75	24.51 ±1.56	18.63 ±0.48	18.66 ±1.44	18.55 ±4.33	20.75 ±7.77	22.89 ±1.06	32.12 ±5.19	21.94 ±0.60	26.00 ±0.93	30.87 ±4.85	32.24 ±1.45	248.29 ±23.32	2
11.90	1-Okteen-3-ool	22.70 ±1.07	29.68 ±3.92	36.44 ±0.29	36.56 ±4.41	35.17 ±3.27	33.08 ±1.69	32.59 ±0.44	36.43 ±0.29	34.22 ±1.66	39.27 ±3.11	46.11 ±3.44	28.03 ±0.47	36.74 ±3.15	43.65 ±0.18	46.08 ±0.77	1400.54 ±114.85	3
12.16	2-Oktanoon	0.46 ±0.01	2.25 ±0.50	2.84 ±0.19	3.41 ±0.39	3.35 ±0.32	4.51 ±0.68	2.71 ±0.22	3.38 ±0.59	3.58 ±1.18	4.71 ±0.68	7.24 ±0.93	2.85 ±0.64	4.93 ±0.83	6.68 ±0.91	7.09 ±0.42	46.63 ±3.92	-
12.49	Oktanaal	3.47 ±0.10	7.51 ±1.48	7.67 ±0.21	8.84 ±0.58	9.63 ±1.23	7.58 ±0.78	8.28 ±0.73	9.14 ±0.02	10.55 ±1.03	9.19 ±0.00	11.30 ±0.50	7.22 ±2.20	10.53 ±0.98	11.79 ±2.01	12.59 ±0.29	198.00 ±10.55	3
13.28	3-Okteen-2-oon	34.51 ±0.12	52.07 ±3.06	52.12 ±.5.03	54.39 ±2.65	45.81 ±0.38	45.29 ±1.05	42.90 ±2.81	49.69 ±1.75	48.46 ±1.84	52.54 ±5.25	65.25 ±2.82	40.67 ±2.23	47.54 ±3.24	61.31 ±2.64	66.91 ±2.31	858.83 ±4.08	3
13.78	2-Oktenaal	6.65 ±0.16	9.23 ±1.59	9.98 ±0.66	9.46 ±0.79	8.33 ±0.96	9.11 ±2.19	8.83 ±1.05	8.86 ±0.06	7.22 ±0.67	6.91 ±0.81	9.29 ±1.57	7.16 ±0.07	5.94 ±0.49	5.73 ±0.51	7.45 ±0.17	3208.71 ±354.03	3.5
14.78	Nonanaal	10.81 ±0.04	12.30 ±2.18	12.22 ±0.41	13.20 ±1.05	13.33 ±2.02	12.67 ±0.30	13.00 ±0.34	12.79 ±1.35	12.49 ±0.81	11.35 ±0.84	11.95 ±0.53	10.74 ±0.61	10.44 ±0.01	10.34 ±0.01	9.35 ±0.02	245.60 ±1.76	1
16.94	Dekanaal	0.32 ±0.01	1.05 ±0.60	1.42 ±0.05	1.96 ±0.18	1.96 ±0.30	1.72 ±0.23	1.12 ±0.12	1.37 ±0.03	1.76 ±0.14	1.82 ±0.11	2.22 ±0.49	1.17 ±0.12	1.33 ±0.14	1.72 ±0.24	1.71 ±0.01	11.94 ±0.41	1.5
17.26	2,4-Nonadienaal	0.92 ±0.28	1.37 ±0.30	1.47 ±0.05	1.79 ±0.32	1.71 ±0.22	1.80± 0.28	1.44 ±0.13	1.40 ±0.36	1.65 ±0.17	1.54 ±0.17	2.81 ±0.61	1.28 ±0.07	1.40 ±0.14	1.70 ±0.16	2.15 ±0.15	152.10 ±29.54	3

3.2.4 Pakendi hapnikusisalduse analüüs

Hapnikusisaldust analüüsiti iga 10 päeva tagant kolme bioloogilise paralleeli pakendist. Antud töös on oluline hapnikusisalduse muutuse jälgimine katse jooksul, kuna hapnik on lipiidide autooksüdatsiooni üks käivitaja. Krõpsud pakendati õhukeskkonda ning kasutatud pakendi hapniku läbilaskvus oli üsna suur (OTR = 130 cc/m^2/24h). See tähendab, et hapnik oli krõpsudele kättesaadav ning oksüdatsiooniks olid vajalikud tingimused olemas.

Hapnikusisalduse analüüsi tulemused on toodud joonisel 10. Katse alguses püsis hapnikusisaldus kõikides pakendites 18% ümber. Madalamal temperatuuril (20° C ja 30 °C) oli hapnikusisaldus katse lõpuni stabiilne. Kõrgemal temperatuuril (40 °C) toimus alates 40. päeva ajapunktist hapnikusisalduse langus, olles kõige järsem peale 80. päeva ajapunkti. Viimases ajapunktis oli hapnikusisaldus kolmes paralleelis erinev (keskmiselt 14%). Suurt standardhälvet saab seletada pakkide erineva keevitustugevusega. Tugevama ja stabiilsema keevituse korral on hapniku ligipääs pakendisse väiksem ning seetõttu ei saa väliskeskkonnast läbi pakendimaterjali piisavalt palju hapnikku juurde lisanduda. Seega reageerib pakendis olev jääkhapnik tekkivate lipiidradikaalidega ja hapnikusisaldus pakendis langeb. Nõrgema keevituse korral toimub oksüdatsioon samamoodi, kuid pakendi hapnikusisaldus ei lange, kuna keskkonnast imbub pidevalt hapniku juurde. Seega näitab tulemus, et oksüdatsiooni reaktsioon jõudis 40 °C juures induktsiooniperioodi lõppu. See tulemus toetab lenduvate ühendite analüüsi tulemusi, kus 40 °C juures tõusis lenduvate ühendite sisaldus järsult.



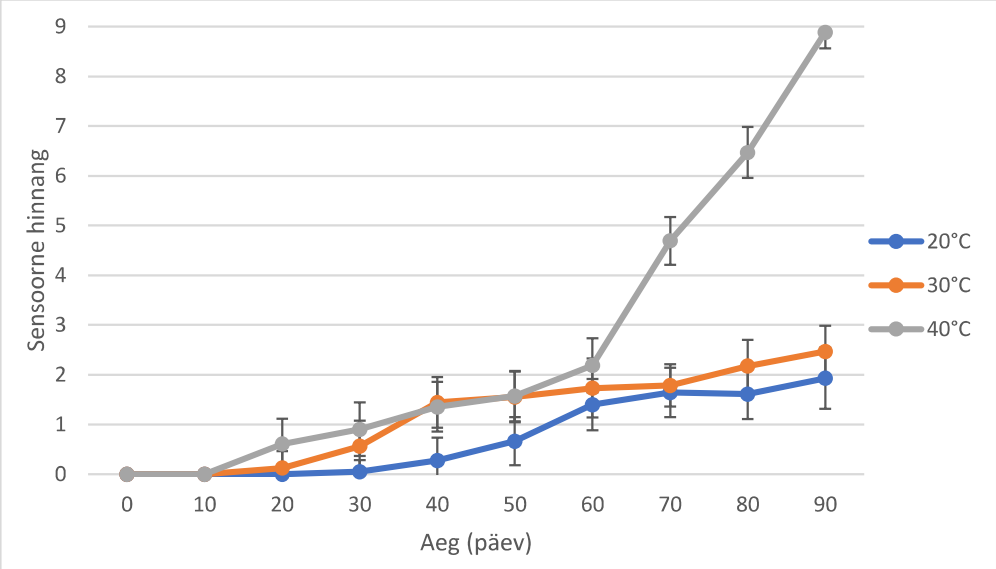
Joonis 10. Hapnikusisalduse muutus säilivuskatsel

3.2.5 Sensoorne analüüs

Sensoorne analüüs viidi läbi iga 10 päeva tagant kolme bioloogilise paralleeli pakendist. Põhiliseks hinnatud atribuudiks oli rääsunud lõhn, mis on lipiidide oksüdatsiooni iseloomulik lõhnaparameeter. Samuti on lõhn tuntav tarbijale, mis teeb sellest toote säilivusaja hindamisel ühe oluliseima faktori. Joonisel 11 on toodud rääsunud lõhna muutus 90-päevase katse jooksul. 20 °C juures oli rääsunud lõhna

tunda alates 40. päeva ajapunktist, 30 °C juures alates 30. päeva ajapunktist ning 40 °C juures juba alates 20. päeva ajapunktist. Madalamal temperatuuril (20 °C ja 30 °C) tõusis rääsunud lõhna intensiivsus stabiilselt. Viimases ajapunktis hinnati 20 °C juures lõhna keskmise hindega 1.9 ning 30 °C juures hindega 2.5. Kõrgemal temperatuuril (40 °C) tõusis rääsunud lõhna intensiivsus stabiilselt kuni 60. päeva ajapunktini. Peale seda intensiivistus rääsunud lõhna tundmine ning viimases ajapunktis hinnati seda hindega 8.9.

Krõpsudes suures kontsentratsioonis esinenud heksanaal on üks põhilisi rääsunud lõhna indikaatoreid (Agarwal et al., 2018). Samas on lenduvate ühendite analüüsi tulemusest näha, et heksanaali kontsentratsioon tõusis 40 °C juures põhiliselt peale 70. päeva ajapunkti, aga sensoorselt tundsid assessorid rääsunud lõhna tugevamalt juba peale 60. päeva ajapunkti. Seega on rääsunud lõhna tekkimisel olulised ka teised lenduvad ühendid, mille sisaldus 40 °C juures tõusis juba varasemates ajapunktides. Alates 50. päeva ajapunktist esines kõrgemas kontsentratsioonis oktanaali, 2-heptanooni, 1-okteen-3-ooli ja 1-pentanooli. Lisaks oli 70. päeva ajapunktiks tõusnud ka 2,4-nonadienaali ja 3-okteen-2-ooni kontsentratsioon (tabel 6). Nende ühendite sisaldust on ka kirjanduses seostatud rääsunud lõhna tekkimisega (Franklin et al., 2017; Fu et al., 2020; Lee & Choe, 2012) ning samuti esinesid need ühendid keskmise intensiivsusega GC-O analüüsil (tabel 6). Seega saab alates 60. päeva ajapunktist sensoorselt tuntava rääsunud lõhna intensiivistumist selgitada mitmete aldehüüdide, ketoonide ja alkoholide kontsentratsiooni tõusuga.



Joonis 11. Rääsunud lõhna teke säilivuskatsel

3.2.6 Reaktsioonikiiruse ja Q_{10} arvutused

Rasvhapete lagunemine kirjeldab oksüdatsiooni toimumist, seega arvutati nende lagunemise reaktsioonikiirus (valem 3). Selle arvutamiseks kasutati kahe põhilise, krõpsudest ekstraheeritud päevalilleõlis, esinenud rasvhappe kontsentratsiooni (linool- ja oleiinhape) summat. Tabelis 7 on toodud linool- ja oleiinhappe lagunemise reaktsioonikiirused (k_{FAME}) 20 °C, 30 °C ja 40 °C juures.

Kõrgemal temperatuuril (40 °C) oli reaktsioon kõige kiirem, olles 1.4 korda suurem kui 30 °C juures ning 2.3 korda suurem kui 20 °C juures.

Teiseks oksüdatsiooni kirjeldavaks indikaatoriks on rääsunud lõhn, mille tekkekiirus ($k_{rääsunud}$) 20 °C ja 30 °C juures oli sarnane (tabel 7). Kõrgema temperatuuril (40 °C) tekkis aga rääsunud lõhn 3 korda kiiremini kui 30 °C juures ja 3.6 korda kiiremini kui 20 °C juures.

Tabel 7. Kvaliteediparameetrite reaktsioonikiirused

Hoiustamis-temperatuur	**Linool ja oleiinhappe lagunemine (FAME)**		**Rääsunud lõhna tekkimine**	
	k_{FAME} (mg/g/päevas^{-1})	**R^2**	**$k_{rääsunud}$ (hinne/päevas)**	**R^2**
20 °C	0.9446	0.9957	0.0250	0.9875
30 °C	1.5182	0.9732	0.0299	0.9454
40 °C	2.2085	0.9599	0.0908	0.8290

Kiirendusfaktor (Q_{10}) arvutatakse rasvhapete lagunemisele ning rääsunud lõhna tekkele. Nende reaktsioonikiiruste puhul on korrelatsioon (R^2) piisavalt suur, et lugeda neid muutusi vastavaks Arrheniuse graafikule (tabel 7). Töös uuritud lenduvate ühendite tekkimine kirjeldab küll oksüdatsiooni toimumist, aga nende moodustumine ei olnud lineaarne ning ei allunud Arrheniuse graafikule. Seega ei ole võimalik nende tekke kiirust arvesse võtta Q_{10} arvutamisel.

Kiirendusfaktori (Q_{10}) arvutamiseks kasutati reaktsioonikiiruseid 20 °C ja 40 °C juures, kuna kartulikrõpsude puhul imiteerib 20 °C kõige paremini tavatingimustes säilimist ning 40 °C kasutatakse kõige sagedamini kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks sarnastes toodetes. Lisaks toimus 40 °C juures induktsioonietapi lõpp, mis tähendab, et arvutamisel kasutatud reaktsioonikiirus näitab kogu oksüdatsiooni protsessi toimumist. Sellisel viisil leitud Q_{10} väärtus sobib kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks kõikidel temperatuuridel, kuna see kirjeldab uuritava protsessi muutust kõige täpsemalt.

Kiirendusfaktorid on arvutatud kirjanduse osas välja toodud valemi (valem 2) alusel:

$$Q_{10(FAME)} = \left(\frac{2.2085}{0.9446}\right)^{\frac{10}{40-20}} = 1.5$$

$$Q_{10(RÄÄSUNUD)}\left(\frac{0.0908}{0.0250}\right)^{\frac{10}{40-20}} = 2$$

Tulemustest on näha, et linool- ja oleiinhappe lagunemist kirjeldav Q_{10} väärtus on 1.5 ning rääsunud lõhna kirjeldav väärtus on 2. See tähendab, et kui tõsta hoiustamistemperatuuri 10 °C, on rasvhapete lagunemine antud toote puhul 1.5 korda kiirem ning rääsunud lõhna tekkimine 2 korda kiirem standardsest hoiustamistemperatuurist. Rasvhapete lagunemine kirjeldab küll oksüdatsioonikiirust,

aga selle alusel ei saa hinnata sensoorselt tuntavat säilivusaja lõppu. Seetõttu peaks kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatses rakendama Q_{10} väärtust, mis kirjeldab rääsunud lõhna muutust.

3.3 Järeldused

Käesoleva töö eesmärk oli päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele kiirendatud säilivuskatse metoodika arendamine. Selleks uuriti kartulikrõpsudes säilivusaja jooksul toimuvat oksüdatsiooniprotsessi ning leiti põhiliste protsessi kirjeldavate indikaatorite reaktsioonikiirus. Reaktsioonikiiruste põhjal saadi protsessi kirjeldavad kiirendusfaktorid ehk Q_{10} väärtused, mille alusel saab edaspidi teha päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatset.

Põhilised päevalilleõlis esinenud rasvhapped olid küllastumata linool- ja oleiinhapped. Nende kontsentratsioon langes säilivuskatse jooksul pidevalt kõikidel hoiustamistemperatuuridel ning kõrgemal temperatuuril oli langus suurem. Sellest saab järeldada, et kartulikrõpsudes toimus pidev oksüdatsiooniprotsess, mis kõrgemal temperatuuril on kiirem.

Sensoorselt hinnatud rääsunud lõhna intensiivsus tõusis madalamal temperatuuril (20 °C ja 30 °C) aeglaselt. Kõrgemal temperatuuril (40 °C) intensiivistus rääsunud lõhn alates 60. päeva ajapunktist, millele viitas ka lenduvate ühendite kontsentratsiooni tõus. SPME-GC-MS analüüsist selgus, et peale 50. päeva ajapunkti oli kõrgemal temperatuuril tõusnud mitme ühendi kontsentratsioon (oktanaal, 2-heptanoon, 1-okteen-3-ool, 1-pentanool, 2,4-nonadienaal ja 3-okteen-2-oon), mille esinemist tootes seostatakse rääsunud lõhna tekkimisega. Samuti toimus 40 °C juures peale 70. päeva ajapunkti kõikide lenduvate ühendite kontsentratsioonide hüppeline tõus, millest saab järeldada, et oksüdatsiooniprotsess jõudis induktsiooniperioodi lõppu. Madalamal temperatuuril (20 °C ja 30 °C) induktsiooniaja lõppu veel ei jõutud ning seega ei esinenud ka järsku lenduvate ühendite kontsentratsiooni tõusu. Seda tulemust toetas ka hapnikusisalduse langus 90 päeva 40 °C juures säilinud pakis. Lenduvate ühendite kontsentratsiooni muutus ajas ei allunud Arrheniuse graafikule ning seetõttu ei saa neid tulemusi ka oksüdatsiooni kiirendusfaktori arvutamisel arvesse võtta. Samas on lenduvate ühendite teke heaks indikaatoriks rääsunud lõhna tekkimise hindamisel ja induktsiooniperioodi lõpu määramisel.

Töös leiti rasvhapete lagunemise ning rääsunud lõhna tekkimise protsessi reaktsioonikiirused ja kiirendusfaktori Q_{10} väärtused. Kui rasvhapete langust kirjeldavaks Q_{10} väärtuseks leiti 1.5, siis rääsunud lõhna tekkimist kirjeldab Q_{10} väärtus 2. Kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatse teostamisel peaks arvesse võtma rääsunud lõhna kiirendusfaktorit, kuna just see kirjeldab sensoorse kvaliteedi langust, olles ka tarbija jaoks kõige tuntavam muutus.

Kokkuvõte

Käesoleva töö eesmärk oli välja arendada metoodika päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendatud säilivuskatse läbiviimiseks. Kiirendatud säilivuskatse aitab hinnata toote säilivusaega ajaefektiivselt, mis omakorda võimaldab toidutootjatel kiiremini turule tuua uued või muudetud retseptuuri, töötlemistehnoloogia ja/või pakkelahendusega tooted. Taolise katse läbiviimiseks on oluline teada toodet iseloomustavat kiirendamisfaktorit (Q_{10}-faktor), mis kirjeldab uuritava protsessi reaktsioonikiiruse muutust, kui temperatuur tõuseb 10 °C. Kartulikrõpsude põhiliseks kvaliteedilangust põhjustavaks protsessiks on lipiidide oksüdatsioon ning seetõttu keskenduti antud töös päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude oksüdatsiooni uurimisele. Selleks hoiustati kartulikrõpse erinevatel temperatuuridel ning hinnati oksüdatsiooni kirjeldavate indikaatorite muutust ajas. Tulemuste alusel leiti uuritud parameetrite muutuste reaktsioonikiirused ning selle alusel ka Q_{10} väärtus päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude edaspidiseks säilivuskatsete läbiviimiseks.

Töö tulemused näitasid, et päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudes esines algselt kõige enam küllastumata linool- ja oleiinhapet, vastavalt 49% ja 47%. Antud rasvhapete sisaldus hoiustamiskatse kõigil temperatuuridel vähenes märkimisväärselt, kus oleiinhappe sisaldus vähenes 20° C juures 12%, 30 °C juures 22% ja 40 °C juures 31% ning linoolhappe sisaldus vähenes samadel hoiustamistemperatuuridel vastavalt 21%, 32% ja 49%. Taolisest rasvhapete pidevast lagunemisest saab järeldada, et tootes toimus pidev oksüdatsiooniprotsess. Seda kinnitavad ka muutused analüüsitud sekundaarsete oksüdatsiooniproduktide ehk lenduvate ühendite sisalduses, mille kontsentratsioonid kogu katse jooksul tõusid. Kõrgema temperatuuri (40 °C) juures toimus alates 70. päeva ajapunktist ühendite kontsentratsiooni hüppeline tõus, mis näitab induktsiooniperioodi lõppu. See kirjeldab ajaperioodi, mille jooksul on oksüdatsioon aeglane, kuid millele järgneb oksüdatsioonikiiruse järsk tõus ning seejärel on oksüdatsioon tuntav ka sensoorselt. Induktsiooniperioodi lõppemist 40 °C juures kinnitas ka hapnikusisalduse järsk langus viimases katse ajapunktis. Lisaks saab lenduvate ühendite analüüsi tulemusi seostada sensoorselt tuntava rääsunud lõhna tekkega, mille intensiivsus tõusis kõige kiiremini just 40 °C juures. Antud töös seostati rääsunud lõhna tekkega põhiliselt heksanaali, 1-pentanooli, 2-heptanooni, 1-okteen-3-ooli, oktanaali, 3-okteen-2-ooni, 2-oktenaali ja 2,4-nonadienaali esinemist.

Oksüdatsiooni kirjeldavad reaktsioonikiirused ja Q_{10} väärtused leiti rasvhapete lagunemise ning sensoorselt hinnatud rääsunud lõhna tekke põhjal. Töö tulemustest selgus, et rääsunud lõhna tekkimist kirjeldab Q_{10} väärtus 2. Selle ilmnemine on tarbija jaoks kõige tuntavam muutus, kirjeldades selget kvaliteedilangust ja säilivusaja lõppu. Rasvhapete lagunemist kirjeldab Q_{10} väärtus 1.5, mis kirjeldab küll oksüdatsiooni toimumise kiirust, kuid ei määra sensoorselt tuntavat säilivusaega. Seetõttu tuleks kiirendatud säilivuskatset läbi viia Q_{10} väärtusega, mis kirjeldab rääsunud lõhna tekkimist. Seega saab antud töö tulemuste alusel öelda, et päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsude kiirendusfaktoriks kiirendatud säilivuskatsel tuleks kasutada Q_{10} väärtust 2.

Tänuavaldused

Töö autor soovib tänada oma juhendajaid Kärt Leppikut ja Maria Kuhtinskajat, hea koostöö, asjakohaste nõuannete ja juhendamise eest. Lisaks tänab autor Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia arenduskeskuse sensoorika paneeli ning analüütika osakonda, kes aitasid kaasa töö eksperimentaalse osa läbiviimisel.

Samuti tänab autor kõiki lähedasi inimesi, kes autorit toetasid ning töö valmimisele kaasa aitasid.

Kasutatud kirjandus

Abong, G., Okoth, M., Imungi, J., & Kabira, J. (2011). Effect of Packaging and Storage Temperature on the Shelf Life of Crisps from four Kenyan Potato Cultivars. *American Journal of Food Technology*, 6, (10), 882–892. https://doi.org/10.3923/ajft.2011.882.892

Agarwal, D., Mui, L., Aldridge, E., Mottram, R., McKinney, J., & Fisk, I. D. (2018). The impact of nitrogen gas flushing on the stability of seasonings: Volatile compounds and sensory perception of cheese & onion seasoned potato crisps. *Food & Function*, 9, (9), 4730–4741. https://doi.org/10.1039/c8fo00817e

Ahmed, M., Pickova, J., Ahmad, T., Liaquat, M., Farid, A., & Jahangir, M. (2016). Oxidation of Lipids in Foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, 32, (3), 230–238. https://doi.org/10.17582/journal.sja/2016.32.3.230.238

An, D. S., Lee, J. H., & Lee, D. S. (2018). Shelf life model of powdered infant formula as function of temperature and oxygen concentration. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 130–133. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.006

Arrhenius, S. (1889). Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren. *Zeitschrift Für Physikalische Chemie*, 4, (1), 226–248. https://doi.org/10.1515/zpch-1889-0416

Arslan, M., Xiaobo, Z., Shi, J., Rakha, A., Hu, X., Zareef, M., Zhai, X., & Basheer, S. (2018). Oil Uptake by Potato Chips or French Fries: A Review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120, (10), 1800058. https://doi.org/10.1002/ejlt.201800058

Atta, E., Mohamed, N., & Abdelgawad, A. (2017). Antioxidants: An Overview on the Natural and Synthetic Types. *European Chemical Bulletin*, 6, (8) 365-375. https://doi.org/10.17628/ecb.2017.6.374-384

Azeredo, H. M. C. de, Faria, J. A. F., & Silva, M. A. A. P. da (2003). The Efficiency of TBHQ, β-carotene, Citric Acid, and Tinuvin 234® on the Sensory Stability of Soybean Oil Packaged in PET Bottles. *Journal of Food Science*, 68, (1), 302–306. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14156.x

Bleive, U. (2015). Puuviljade ja marjade kuivatamine: loengukonspekt. Tartu: Eesti Maaülikool.

Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry 4th Edition*. Berliin: Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7

Boekel, M. A. J. S. Van (2008). Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, (1), 144–158. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00036.x

Bravi, E., Sileoni, V., Perretti, G., & Marconi, O. (2020). Accelerated shelf-life model of gluten-free rusks by using oxidation indices. *Food Chemistry*, *326*, 126971. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126971

Calligaris, S., Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M. C. (2019). Accelerated shelf life testing. C. M. Galanakis (Toim), *Food Quality and Shelf Life* (359–392). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817190-5.00012-4

Calligaris, S., Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M. C. (2016). Shelf-life Assessment of Food Undergoing Oxidation - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, (11), 1903–1912. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.807222

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, (4), 169–186. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x

Cichello, S. A. (2015). Oxygen absorbers in food preservation: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, (4), 1889–1895. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1265-2

Corradini, M. (2018). Shelf Life of Food Products: From Open Labeling to Real-Time Measurements. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, (1). https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012433

Davies, C. (2004). Lipolysis in lipid oxidation. R. Steele (Toim), *Understanding and measuring the shelf life of food* (lk 142–161). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Esse, R., & Saari, A. (2004). Shelf-life and moisture management. R. Steele (Toim), *Understanding and measuring the shelf-life of food* (lk 24–41). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Euroopa Parlamendi ja Nõukogu määrus (EL) nr 1169/2011.

Franklin, L. M., Chapman, D. M., King, E. S., Mau, M., Huang, G., & Mitchell, A. E. (2017). Chemical and Sensory Characterization of Oxidative Changes in Roasted Almonds Undergoing Accelerated Shelf Life. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(12), 2549–2563. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05357

Fu, B., & Labuza, T. P. (1997). Shelf-Life Testing: Procedures and Prediction Methods. M. C. Erickson & Y.-C. Hung (Toim), *Quality in Frozen Food* (lk 377–415). Minnesota: Springer US.

Fu, M., Shen, X., Peng, H., Zhou, Q., Yun, J., Sun, Y., Ho, C.-T., Cai, H., & Hou, R. (2020). Identification of rancidity markers in roasted sunflower seeds produced from raw materials stored for different periods of time. *LWT - Food Science and Technology*, 118, 108721. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108721

Gallon, M., Cortés Rodríguez, M., & Cotes Torres, J. M. (2018). Kinetics of the quality attributes degradation for potato chips (Solanum phureja cv Primavera) during storage. *Contemporary Engineering Sciences*, 11, 3043–3054. https://doi.org/10.12988/ces.2018.87309

Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Desamparados Salvador, M., & Fregapane, G. (2004). Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25–75 °C). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, (6), 369–375. https://doi.org/10.1002/ejlt.200300921

Gordon, M. H. (2004). Factors affecting lipid oxidation. R. Steele (Toim), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food* (lk 128–141). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Gotor, A. A., & Rhazi, L. (2016). Effects of refining process on sunflower oil minor components: A review. *OCL*, 23, (2), 207. https://doi.org/10.1051/ocl/2016007

Grebenteuch, S., Kanzler, C., Klaußnitzer, S., Kroh, L. W., & Rohn, S. (2021). The Formation of Methyl Ketones during Lipid Oxidation at Elevated Temperatures. *Molecules*, 26, (4), 1104. https://doi.org/10.3390/molecules26041104

Grilo, F. S., & Wang, S. C. (2021). Walnut (Juglans regia L.) Volatile Compounds Indicate Kernel and Oil Oxidation. *Foods*, 10, (2), 329. https://doi.org/10.3390/foods10020329

Jacobsen, C. (2019). Oxidative Rancidity. P. Valeris (Toim), *Encyclopedia of Food Chemistry* (lk 261–269). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21672-7

Jaya, S., & Das, H. (2005). Accelerated Storage, Shelf Life and Color of Mango Powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29, (1), 45–62. https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2005.00012.x

Johnson, D. R., & Decker, E. A. (2015). The Role of Oxygen in Lipid Oxidation Reactions: A Review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6, (1), 171–190. https://doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015532

Keszler, Á., Kriska, T., & Németh, A. (2000). Mechanism of Volatile Compound Production during Storage of Sunflower Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, (12), 5981–5985. https://doi.org/10.1021/jf000444e

Kiokias, S., Varzakas, T., Arvanitoyannis, I., & Labropoulos, A. (2009). Lipid Oxidation and Control of Oxidation. *Advances in Food Biochemistry*, 383–408. https://doi.org/10.1201/9781420007695-c12

Kong, F., & Singh, R. P. (2016). Chemical Deterioration and Physical Instability of Foods and Beverages. P. Subramaniam (Toim), *The Stability and Shelf Life of Food (Second Edition)* (lk 43–76). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00002-2

Lee, E., & Choe, E. (2012). Changes in oxidation-derived off-flavor compounds of roasted sesame oil during accelerated storage in the dark. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1, 89–93. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2011.08.003

Lee, J. H., & Pangloli, P. (2013). Volatile Compounds and Storage Stability of Potato Chips Fried in Mid-Oleic Sunflower Oil. *International Journal of Food Properties*, 16, (3), 563–573. https://doi.org/10.1080/10942912.2010.526279

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15, (2), 67–78. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004

Manzocco, L., Panozzo, A., & Calligaris, S. (2012). Accelerated Shelf Life Testing (ASLT) of Oils by Light and Temperature Exploitation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, (4), 577–583. https://doi.org/10.1007/s11746-011-1958-x

Manzocco, L., Romano, G., Calligaris, S., & Nicoli, M. (2020). Modeling the Effect of the Oxidation Status of the Ingredient Oil on Stability and Shelf Life of Low-Moisture Bakery Products: The Case Study of Crackers. *Foods*, 9, 749. https://doi.org/10.3390/foods9060749

Mizrahi, S. (2004). Accelerated shelf-life tests. R. Steele (Toim), *Understanding and measuring the shelf life of food* (lk 317–339). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Oliveira, A. do N., Ramos, A. M., Minim, V. P. R., & Chaves, J. B. P. (2012). Sensory stability of whole mango juice: Influence of temperature and storage time. *Food Science and Technology*, 32, (4), 819–825. https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000115

Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, (6), 12871–12890. https://doi.org/10.3390/ijms160612871

Palm, U., & Past, V. (1974). *Füüsikaline keemia*. Tallinn: Valgus.

Pan, X., Ushio, H., & Ohshima, T. (2004). Photo-oxidation of lipids impregnated on the surface of dried seaweed (Porphyra yezoensis Ueda). Characterization of volatiles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, (8), 773. https://doi.org/10.1007/s11746-004-0977-5

Pangloli, P., Melton, S. l., Collins, J. l., Penfield, M. P., & Saxton, A. M. (2002). Flavor and Storage Stability of Potato Chips Fried in Cottonseed and Sunflower Oils and Palm Olein/Sunflower Oil Blends. *Journal of Food Science*, 67, (1), 97–103. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11366.x

Petersen, K., Kleeberg, K., Jahreis, G., & Fritsche, J. (2011). Assessment of the oxidative stability of conventional and high-oleic sunflower oil by means of solid-phase microextraction-gas chromatography. *International journal of food sciences and nutrition*, 63, 160–169. https://doi.org/10.3109/09637486.2011.609158

Pignitter, M., & Somoza, V. (2012). Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20, (4) 772–777. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2024

Pike, O. A., & O'Keefe, S. (2017). Fat Characterization. S. S. Nielsen (Toim), *Food Analysis* (lk 407–429). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_23

Rustan, A., & Drevon, C. (2005). Fatty Acids: Structures and Properties. J. Wiley (Toim), *Encyclopedia of Life Sciences* (lk 1-7). Inglismaa: John Wiley and Sons. https://doi.org/10.1038/npg.els.0003894

Shafiei, G., Ghorbani, M., Hosseini, H., Sadeghi Mahoonak, A., Maghsoudlou, Y., & Jafari, S. M. (2020). Estimation of oxidative indices in the raw and roasted hazelnuts by accelerated shelf-life testing. *Journal of Food Science and Technology*, 57, (7), 2433–2442. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04278-9

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39, (11), 4067–4079. https://doi.org/10.1039/B922183M

Singh, R., & Anderson, B. A. (2004). The major types of food spoilage: An overview. R. Steele (Toim), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food* (lk 3–23). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Singh, T. K., & Cadwallader, K. R. (2004). Ways of measuring shelf-life and spoilage. R. Steele (Toim), *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food* (lk 165–183). Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Subramaniam, P. J. (2009). Shelf-life prediction and testing. G. Talbot (Toim), *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products* (lk 233–254). Woodhead Publishing Series in Food Science. https://doi.org/10.1533/9781845696436.2.233

Taoukis, P. S., & Giannakourou, M. C. (2004). Temperature and food stability: Analysis and control. R. Steele (Toim), *Understanding and measuring the shelf-life of food* (lk 42–68). Inglismaa: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

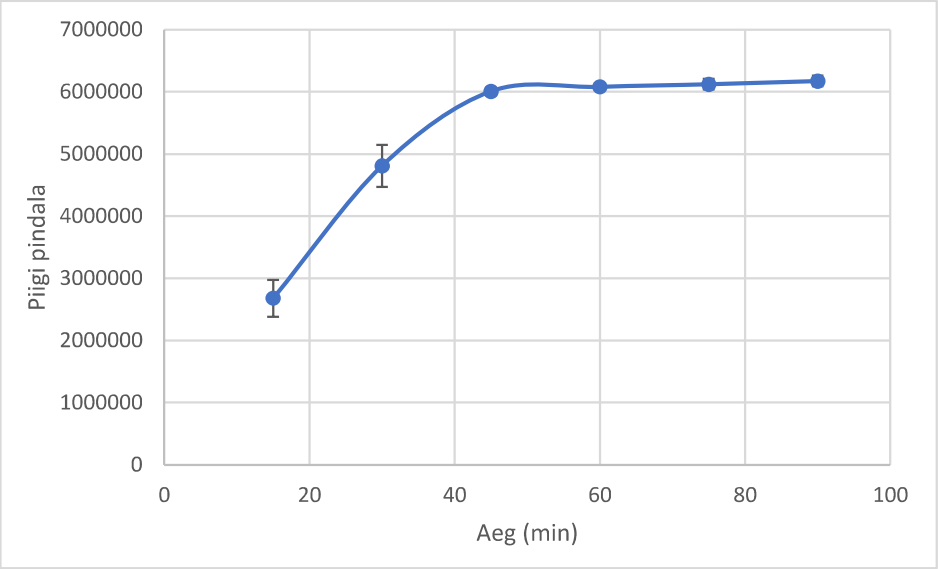
Thomsen, M. K., Lauridsen, L., Skibsted, L. H., & Risbo, J. (2005). Temperature effect on lactose crystallization, maillard reactions, and lipid oxidation in whole milk powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, (18), 7082–7090. https://doi.org/10.1021/jf050862p

Toledo, R. T. (2007). Kinetics of Chemical Reactions in Foods. R. T. Toledo (Toim), *Fundamentals of Food Process Engineering* (lk 285–299). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-29241-1_8

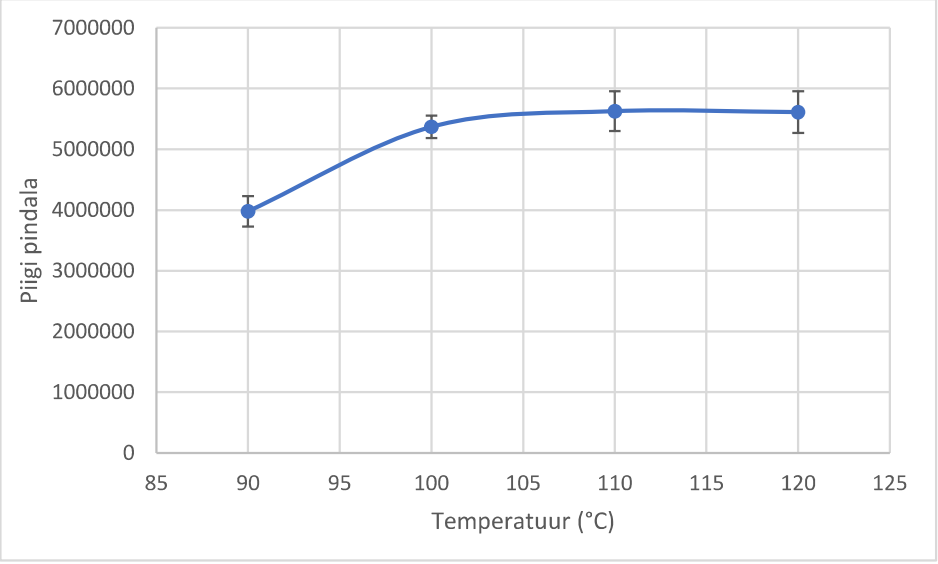
Toledo, R. T., Singh, R. K., & Kong, F. (2018). Kinetics of Chemical Reactions in Foods. R. T. Toledo, R. K. Singh, & F. Kong (Toim), *Fundamentals of Food Process Engineering* (lk 183–194). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90098-8_7

Wychen, S. V., Ramirez, K., & Laurens, L. M. L. (2015). *Determination of Total Lipids as Fatty Acid Methyl Esters (FAME) by in situ Transesterification*. National Renewable Energy Laboratory.

LISA 1. Derivatiseerimis protsessi kuumutamiseaja ja temperatuuri optimeerimine

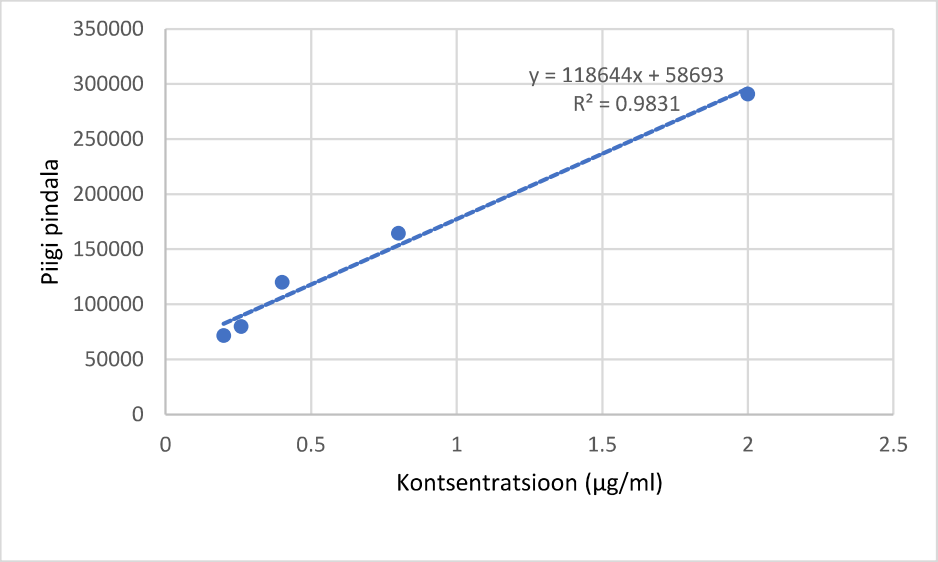


Joonis 1. Derivatiseerimisprotsessi kuumutusaja optimeerimine metüülpalmitaadi alusel

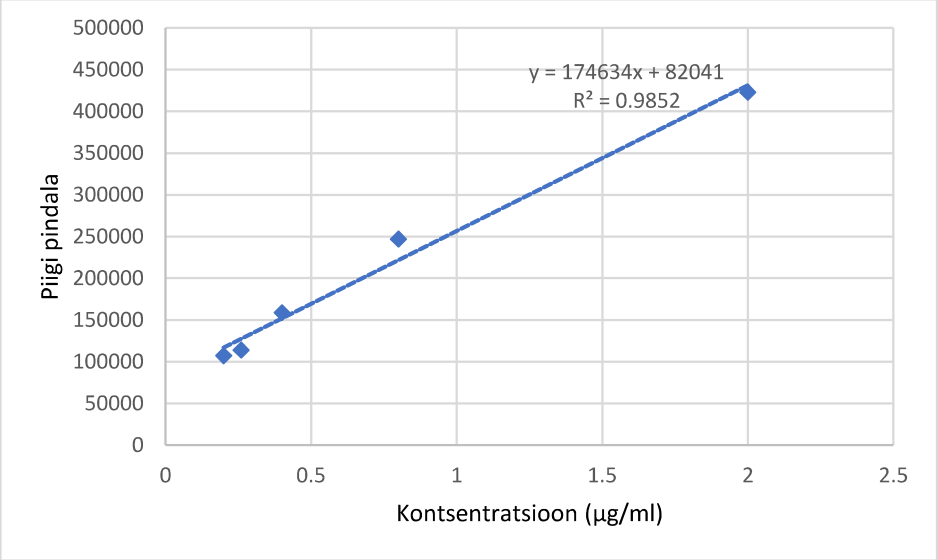


Joonis 2. Derivatiserrimisprotsessi kuumutustemperatuuri optimeerimine metüülpalmitaadi alusel

LISA 2. Kalibratsioonigraafikud põhiliselt uuritud rasvhapetele



Joons 3. Metüül linoleaati kalibratsioonigraafik



Joonis 4. cis-9-oleiinhappe metüülestri kalibratsioonigraafik

Lisa
rektori 07.04.2020 käskkirjale nr 1-8/17

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks[1]

Mina Hanna Lang

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose
Kiirendatud säilivuskatse metoodika arendus päevalilleõliga valmistatud kartulikrõpsudele,

mille juhendaja on Kärt Leppik ja kaasjuhendaja Maria Kuhtinskaja,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

20.05.2022

[1] *Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.*