



UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Mojca PODGORŠEK

**VPLIV TEMPERATURE PRAŽENJA BUČNIH  
SEMEN NA VSEBNOST POLICIKLIČNIH  
AROMATSKIH OGLJIKOVODIKOV  
V BUČNEM OLJU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana

Ljubljana, 2018

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Mojca PODGORŠEK

**VPLIV TEMPERATURE PRAŽENJA BUČNIH SEMEN NA  
VSEBNOST POLICIKLIČNIH AROMATSKIH OGLJIKOVODIKOV  
V BUČNEM OLJU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana

**INFLUENCE OF ROASTING TEMPERATURE OF PUMPKIN SEED  
ON THE CONTENT OF POLYCYCLIC AROMATIC  
HYDROCARBONS IN PUMPKIN SEED OIL**

B. SC. THESIS

Academic Study Programmes: Field Food Science and Nutrition

Ljubljana, 2018

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študijskega programa 1. stopnje Živilstvo in prehrana na Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Rajka Vidriha in za recenzenta izr. prof. dr. Tomaža Polaka.

Mentor: prof. dr. Rajko VIDRIH  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Recenzent: izr. prof. dr. Tomaž POLAK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Mentor:

Recenzent:

Datum zagovora:

Mojca Podgoršek

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du1
- DK UDK 664.34:635.62:615.9(043)=163.6
- KG bučno olje, bučna semena, policiklični aromatski ogljikovodiki, onesnaževala, praženje
- AV PODGORŠEK, Mojca
- SA VIDRIH, Rajko (mentor), POLAK, Tomaž (recenzent)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2018
- IN VPLIV TEMPERATURE PRAŽENJA BUČNIH SEMEN NA VSEBNOST POLICIKLIČNIH AROMATSKIH OGLJIKOVODIKOV V BUČNEM OLJU
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij - 1. stopnja Živilstvo in prehrana)
- OP VIII, 23 str., 3 pregl., 29 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen diplomskega dela je bil na osnovi znanstvenih virov ugotoviti, kako temperatura praženja bučnih semen vpliva na tvorbo policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH) in posledično na prisotnost le-teh v bučnem olju. S pomočjo literature smo želeli določiti, katera temperatura praženja bučnih semen zagotavlja olje z vsebnostjo PAH znotraj predpisanih mejnih vrednosti in katera temperatura praženja zagotavlja tipično aromo bučnega olja ob čim nižji vsebnosti PAH. Ugotovili smo, kot je bilo pričakovano, da višja kot je temperatura praženja bučnih semen, večja je vsebnost PAH v bučnem olju. Primerjava treh študij je pokazala, da temperatura praženja do 150 °C zagotavlja varno olje z zelo nizko koncentracijo PAH. Praženje bučnih semen pri temperaturi 150 °C povzroči opazno povečanje koncentracije PAH, vendar vsebnosti benzo(a)pirena in skupne vsebnosti štirih PAH (benzo(a)pirena, benzo(a)antracena, benzo(b)fluorantena in krizena) v nobenem primeru niso presegle predpisanih mejnih vrednosti (2,0 µg/kg za benzo(a)piren in 10,0 µg/kg za vsoto štirih PAH). S povišanjem temperature se bistveno spremeni tudi sestava hlapnih spojin (arome). Zaključimo lahko, da praženje bučnih semen pri temperaturi 120 °C daje bučno olje, ki je varno za potrošnika, saj vsebuje zelo nizke koncentracije PAH, hkrati pa zagotavlja značilno in zaželeno aromo bučnega olja po svežem, zelenem, sadnem in hkrati po praženem ter oreških. Koraka praženja torej ni smiselno izpustiti, saj zagotavlja značilne senzorične lastnosti in ob pravih pogojih ne vodi v prekomerno tvorbo PAH.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du1
- DC UDC 664.34:635.62:615.9(043)=163.6
- CX pumpkin seed oil, pumpkin seeds, polycyclic aromatic hydrocarbons, contaminants, roasting
- AU PODGORŠEK, Mojca
- AA VIDRIH, Rajko (supervisor), POLAK, Tomaž (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2018
- TI INFLUENCE OF ROASTING TEMPERATURE OF PUMPKIN SEED ON THE CONTENT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN PUMPKIN SEED OIL
- DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes: Field Food Science and Nutrition)
- NO VIII, 23 p., 3 tab., 29 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The aim of this B. Sc. thesis was to determine how the roasting temperature of pumpkin seeds influences the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and consequently, the presence of PAH in pumpkin seed oil. We wanted to establish which roasting temperature ensures the oil with PAH content within the prescribed limit values and which roasting temperature provides a typical aroma of pumpkin seed oil with the lowest possible content of PAH. We have determined, as expected, that PAH concentration increases with the increase of the roasting temperature. A comparison of three studies has shown that a roasting temperature up to 150 °C provides a safe oil with a very low PAH concentration. The roasting of pumpkin seeds at 150 °C results in a noticeable increase in the PAH concentration, however the content of benzo(a)pyrene and the total content of four PAHs (benzo(a)pyrene, benz(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and chrysene) do not exceed the prescribed limit values (2.0 µg/kg for benzo(a)pyrene and 10.0 µg/kg for the sum of four PAHs) in any of the samples. The composition of volatile compounds also changes significantly with increase of roasting temperature. We can therefore conclude that the roasting of pumpkin seeds at 120 °C gives an oil which is safe for the consumer, because it contains very low PAH concentration and at the same time provides a characteristic and desirable fresh, green, fruity, and also roasted, nutty aroma of pumpkin seed oil. It is not useful to omit the roasting step because it is necessary for the characteristic sensory properties and does not lead to excessive PAH formation.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VII</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>2</b>
2.1 BUČNO OLJE .....	2
2.1.1 Tehnologija izdelave bučnega olja .....	3
2.1.2 Kemijska sestava bučnega olja .....	4
2.1.2.1 Maščobne kisline .....	4
2.1.2.2 Vitamini .....	4
2.1.2.3 Minerali .....	4
2.1.2.4 Fitosteroli .....	5
2.1.2.5 Pigmenti .....	5
2.1.2.6 Spojine, odgovorne za aromo .....	5
2.1.2.7 Fenolne spojine .....	5
2.1.3 Vplivi bučnega olja na zdravje .....	6
2.1.4 Skladiščenje bučnega olja .....	6
2.1.5 Kemični kontaminanti .....	6
2.2 POLICIKLIČNI AROMATSKI OGLJIKOVODIKI (PAH) .....	7
2.2.1 Kemijske značilnosti PAH .....	8
2.2.2 PAH v živilih .....	9
2.2.2.1 PAH v surovih živilih .....	9
2.2.2.2 PAH v toplotno obdelanih živilih .....	9
2.2.3 Presnova PAH .....	10
2.2.4 Vpliv PAH na zdravje .....	10
2.2.5 Razgradnja PAH v okolju .....	11
2.3 PAH V BUČNEM OLJU .....	12
2.3.1 Praženje bučnih semen .....	12
2.3.2 Predpisane mejne vrednosti za vsebnost PAH v oljih in maščobah .....	13
2.3.3 Določanje PAH v oljih .....	13
2.4 VPLIV TEMPERATURE PRAŽENJA BUČNIH SEMEN NA VSEBNOST POLICIKLIČNIH AROMATSKIH OGLJIKOVODIKOV V BUČNEM OLJU .....	13

<b>2.4.1 Študija o vplivu temperature praženja bučnih semen na vsebnost PAH in sestavo arome v bučnem olju .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2 Študija o vplivu temperature praženja bučnih semen na vsebnost PAH, tokoferolov in polifenolov v bučnem olju .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4.3 Raziskovalni projekt: Analiza onesnaženosti in možnosti za zmanjšanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih.....</b>	<b>17</b>
<b>3 POVZETEK.....</b>	<b>20</b>
<b>4 VIRI .....</b>	<b>21</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Primer štirih PAH, za katere je po Uredbi (ES) št. 835/2011 določena meja za skupno vrednost (EFSA, 2008).....	8
Preglednica 2: Vsebnost PAH ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) v vzorcih bučnega olja iz semen praženih pri različnih temperaturah (srednja vrednost treh vzporednih določitev) (Potočnik in Košir, 2017).....	14
Preglednica 3: Vsebnost PAH ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) v bučnem olju pri različnih temperaturah praženja bučnih semen (Zaključno poročilo ..., 2014).....	18



## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

BaA	benzo(a)antracen
BaP	benzo(a)piren
BbF	benzo(b)fluoranten
Kri	krizen
LOD	meja zaznavnosti
LOQ	meja določljivosti
PAH	policiklični aromatski ogljikovodiki
ZGO	zaščitena geografska označba

## 1 UVOD

Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) so vseprisotni onesnaževalci okolja, ki nastajajo pri nepopolnem zgorevanju organskih snovi (Phillips, 1999). Ljudje smo jim izpostavljeni z neposrednim vdihavanjem, zaužitjem ali stikom preko kože. Njihova prisotnost v okolju se odraža tudi v hrani. Pojav PAH v živilih je posledica akumulacije le-teh iz zraka na površino rastlin, lahko pa nastanejo tudi med nekaterimi postopki predelave in priprave živil, kot so sušenje, dimljenje, pečenje na žaru in praženje (Abdel-Shafy in Mansour, 2016).

Nekateri PAH in predvsem njihovi epoksidi so poznani kot možni povzročitelji poškodb DNK in kromosomov (genotoksičnost), raka (kancerogenost), negativnih vplivov na imunski sistem (imunotoksičnost) in razvojnih nepravilnosti zarodka (teratogenost) (Abdel-Shafy in Mansour, 2016). Ugotovili so, da je prehrana glavni vir izpostavljenosti PAH pri ljudeh, zato je prisotnost le-teh v hrani zaskrbljujoča in zahteva stalno spremljanje (Phillips, 1999).

Bučno olje (*Cucurbita pepo* L.) je tradicionalni izdelek iz vzhodne Slovenije in se uporablja za hladne jedi kot so solate. Praženje bučnih semen je bistvenega pomena za razvoj tipične barve, arome in okusa bučnega olja, pri tem pa so semena izpostavljena temperaturam nad 100 °C, v času do 60 min. Visoke temperature praženja lahko vodijo do nastanka PAH. Do prisotnosti teh v olju lahko pride tudi zaradi kontaminacije med postopkom sušenja semen, če se uporablja odprt ogenj za pridobivanje vročega zraka. Zaradi njihove lipofilne narave predstavljajo maščobe glavni vir PAH v prehrani (Potočnik in Košir, 2017). Postopek (predvsem temperatura) praženja bučnih semen posledično vpliva na kakovost in varnost bučnega olja.

Namen diplomskega dela je bil na osnovi literaturnih podatkov ugotoviti, kako temperatura praženja bučnih semen vpliva na tvorbo PAH in posledično na prisotnost le-teh v bučnem olju. S pomočjo že objavljenih znanstvenih virov smo želeli določiti najvišjo temperaturo praženja, ki še zagotavlja olje brez zaznavnih vsebnosti PAH, oziroma z vsebnostjo PAH znotraj predpisanih mejnih vrednosti in tudi optimalno temperaturo praženja bučnih semen, ki zagotavlja tipično aromo bučnega olja ob čim nižji vsebnosti PAH.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 BUČNO OLJE

Bučno olje je jedilno nerafinirano rastlinsko olje, saj proizvodni proces vključuje korak praženja, ne pa tudi rafinacije. Proizvedeno je po tradicionalnem postopku s stiskanjem praženih bučnih semen. Je temno zelene do rdeče barve, z značilnim vonjem in okusom (Specifikacija ..., 2015).

Kot bučno olje ima še posebej pomembno vrednost Štajersko prekmursko bučno olje, ki nosi zaščiteno geografsko označbo (ZGO). Da je lahko razvrščeno kot izdelek z ZGO po evropski zakonodaji, mora iti skozi več korakov nadzora kakovosti, vse stopnje predelave bučnih semen v Štajersko prekmursko bučno olje pa morajo potekati znotraj določenega geografskega območja (Specifikacija ..., 2015).

Oljne buče (*Cucurbita pepo* L. var. *oleifera*), ki dajejo semena za olje, so vzgojili z žlahtnjenjem navadne buče (*Cucurbita pepo* L.) iz botanične družine bučevk (*Cucurbitaceae*). Na področju severovzhodne Slovenije, v Avstriji in delno na Madžarskem se je razširilo pridelovanje buč golic, ki so brez čvrste semenske lupine. Slednje v semenu vsebujejo 48 do 55 % olja in so v pridelavi razširjene, ker semen pri predelavi v olje ni potrebno oluščiti (Kocjan Ačko, 1999). Seme je prekrito le s tanko kožico, skozi katero preseva barva iz notranjosti in daje semenu značilno olivno do temno zeleno barvo (Stuart, 1983). Belice je pred praženjem in mletjem ali stiskanjem olja iz jedrc potrebno še oluščiti (Kocjan Ačko, 1999).

Filogenetske študije so pokazale, da skupen prednik vseh sedanjih *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* sort izvira iz južne Mehike (Sanjur in sod., 2002). V obdobju po Kolumbu so jih uvozili v Evropo, danes pa jih gojijo za prehrano in za dekorativne namene v skoraj vseh toplih in zmerno toplih delih sveta. V jugovzhodni Evropi, v več afriških državah in na Kitajskem se jedilna olja pridobivajo iz različnih sort *Cucurbita pepo*. Jedilna olja iz *Cucurbita* spp. so navadno bistra, svetlo rumene barve. Vendar pa je bučno olje, proizvedeno na območju severovzhodne Slovenije, Avstrije in Madžarske, temno zelene barve z rdečimi odtenki (dikroizem), saj se pridobiva iz posebne sorte znotraj podvrste *Cucurbita pepo* subsp. *pepo*, ki se je pojavila v prvi polovici 19. stoletja na tem območju. *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *Styriaca* je nastala zaradi naključne mutacije, ki je vodila do nastanka golic. Danes so številne sorte/hibridi ustvarjeni iz prvotne »štajerske oljne buče«, da bi se izboljšal pridelek in vsebnost semena ali odpornost proti škodljivcem (Fruhvirth in Hermetter, 2008).

### 2.1.1 Tehnologija izdelave bučnega olja

Oljne buče običajno dozoriijo septembra, takrat semena ločijo od plodu in jih posušijo do vsebnosti vlage 5-7 ut. % (Fruhvirth in Hermetter, 2008), po Specifikaciji za Štajersko prekmursko bučno olje (2015) do 9 ut. %. Za kakovostno bučno olje morajo biti semena zrela, zdrava, temno zelene barve, brez tujega vonja ali okusa. Pomembni parametri so vsebnost nečistoč, vsebnost vlage, vsebnost olja in vsebnost poškodovanih semen. Ob morebitni prisotnosti nečistoč (posušeni deli buč, ostale mehanske primesi), je le-te potrebno odstraniti. Bučna semena se lahko do same predelave tudi skladišči. Če je vsebnost vlage v semenih večja od predpisane vrednosti, jih je potrebno sušiti. V tem primeru poteka sušenje bučnih semen pri temperaturi 60-70 °C. Ustrezno očiščena in suha semena se zmelje v grobo moko. Z mletjem se povzroči razbitje celic in posledično povečanje površine ter lažjo in boljše izcejo olja iz celic. Celične stene bi sicer zavirale izstop olja iz semen. K zmletim semenom se doda jedilna sol (NaCl) in voda, nato se vse skupaj zmeša, da nastane gosta kaša. Sledi gnetenje, ki poteka, dokler se drobne kapljice olja, katere se izločajo iz celic semen, ne začnejo združevati in postajati vedno večje, da se lažje izločijo. Z gnetenjem se torej pospeši izločanje olja iz celic, kar vpliva tudi na izkoristek pri stiskanju. Kašo se nato praži do 60 min, pri temperaturi do 120 °C, do nastanka peščene mase temno rjave barve z vonjem po orehah (Specifikacija ..., 2015). Praženje povzroči koagulacijo beljakovinske frakcije in omogoči enostavnejšo ločevanje lipidne frakcije. Proces praženja je odgovoren za tvorbo tipične barve, vonja in okusa končnega izdelka. Nadaljnji proces stiskanja pražene mase se izvede pri tlaku med 300 in 600 bar, kar vodi do temno zelene barve olja kot končnega izdelka (Fruhvirth in Hermetter, 2008). Kot stranski proizvod stiskanja ostane bučna pogača, ki je zaradi velike vsebnosti beljakovin iskano krmilo. V olju so po stiskanju prisotni drobni delci mletih semen. Motnost olja se prepreči z naravno sedimentacijo prisotnih drobnih delcev. Sledi polnjenje olja v embalažo z različno prostornino (Specifikacija ..., 2015).

Bučno olje ima tudi velik gospodarski pomen. Povprečni pridelek bučnih semen omenjene sorte je močno odvisen od vremenskih pogojev in se giblje od približno 400 kg/ha v sušnih razmerah, do 1000 kg/ha pri optimalnih pogojih, s povprečnim pridelkom 500-600 kg/ha. Za proizvodnjo 1 litra bučnega olja je potrebno približno 2,5 kg bučnih semen, kar ustreza količini 30-40 oljnih buč. Vendar na to vrednost močno vplivajo lastnosti sorte in tudi sama pridelava (Fruhvirth in Hermetter, 2008).

## 2.1.2 Kemijska sestava bučnega olja

Zrela posušena bučna semena vsebujejo, računano na brezvodni material, okoli 35–55 % olja, 25–30 % beljakovin, 4–8 % ogljikovih hidratov, 2–4 % vlaknin, 4–5 % mineralov in mikroelementov (K, Ca, P, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, Se), vitamine (A, D, E, K), sterole, redke aminokisliline (citrulin, kukurbitin), naravno barvilo (klorofil) in mnoge druge snovi (Specifikacija ..., 2015).

### 2.1.2.1 Maščobne kisline

Triacilgliceroli predstavljajo največji delež bučnega olja, ki vsebuje tudi nekaj pomembnih sekundarnih rastlinskih komponent. Sestava maščobnih kislin bučnega olja je zelo podobna kot pri bučnih semenih. Analiza več štajerskih bučnih olj je pokazala, da je vsebnost večkrat nenasičenih maščobnih kislin (45 %) znatno višja od vsebnosti enkrat nenasičenih maščobnih kislin (35 %) ali nasičenih maščobnih kislin (20 %) (Fruhworth in sod., 2003). Prevladujejo linolna (C18:2; 38–58 %), oleinska (C18:1; 24–43 %), palmitinska (C16:0; 8–13 %) in stearinska (C18:0; 3–16 %) maščobna kislina (Specifikacija ..., 2015). Visoka vsebnost linolne kisline predstavlja pomembno prehransko vrednost bučnega olja, saj je esencialna n-6 maščobna kislina (Fruhworth in Hermetter, 2008). Po drugi strani pa bučno olje vsebuje zelo malo (< 1%)  $\alpha$ -linolenske kisline in ima neugodno razmerje n-6/n-3 maščobnih kislin.

### 2.1.2.2 Vitamini

Tokoli (tokoferoli in tokotrienoli) so glavni lipofilni antioksidanti, ki jih najdemo v bučnih semenih in v oljih nastalih iz njih, v katerih se med proizvodnjo olja še obogatijo. Tokoferoli in tokotrienoli, zlasti njihovi  $\gamma$ - in  $\alpha$ -izomeri, so najbogatejši derivati tokolov v bučnem olju. Bučno olje iz različnih proizvodnih serij vsebuje zelo različne količine tokoferolov z  $\gamma$ -tokoferolom kot vedno prevladujočim izomerom (Murkovic in sod., 2004). Visoko kvalitetna bučna olja vsebujejo do 800 mg/kg  $\gamma$ -tokol izomerov, koncentracija  $\alpha$ -tokoferola pa se giblje med 18 in 282 mg/kg (Fruhworth in sod., 2003). V produktih bučnih semen so prisotni tudi vitamin A in ostali karotenoidi (lutein,  $\beta$ -karoten, kriptoksantin) (Fruhworth in Hermetter, 2008).

### 2.1.2.3 Minerali

V bučnih semenih so bili analizirani različni minerali (Na, K, Mg, Ca in P). Koncentracije niso odvisne le od stanja kulture, ampak tudi od pogojev gojenja. Omeniti velja, da so koncentracije mineralov v bučnem olju večje kot v semenih, ker se med pridobivanjem olja dodaja namizna sol za izboljšanje izkoristka (Juranović in sod. 2003).

#### 2.1.2.4 Fitosteroli

Bučno olje vsebuje visoke vsebnosti fitosterolov (3,5-4,0 g/kg), kar je približno 2 do 2,5-krat več kot v semenih (Murkovic in sod., 2004). Za razliko od večine drugih jedilnih olj iz semen, so glavni fitosteroli v bučnem olju  $\Delta^7$ -steroli in ne  $\Delta^5$ -steroli. Čeprav se absolutna vsebnost fitosterolov med vzorci razlikuje, so razmerja posameznih molekularnih vrst v različnih vzorcih skoraj enaka (Mandl in sod., 1999). Sestava fitosterolov je specifična in na osnovi le-teh se lahko ugotavlja pristnost bučnega olja (Specifikacija ..., 2015).

#### 2.1.2.5 Pigmenti

Visoko kakovostno bučno olje je temno zelene barve in sočasno kaže oranžno do rdečo fluorescenco. Ustrezne optične lastnosti olja so posledica različnih tetrapirolnih spojin, kot sta protoklorofil in protofeofitin. Pigmenti iz bučnih semen s tanko semensko ovojnico (golice) preidejo v olje. Poleg zelene barve obstajajo tudi drugi, rumenkasti pigmenti v bučnem olju, to so karotenoidi z luteinom kot prevladujočo komponento (Fruhwirth in Hermetter, 2008).

#### 2.1.2.6 Spojine, odgovorne za aromo

Bučno olje je cenjeno zaradi njegovega okusa in arome. Ima zelo značilno aromo po orehah in po praženem, kar je tesno povezano s proizvodnim procesom, ki vključuje korak praženja. Za razvoj značilne arome sta potrebna precej visoka temperatura in dolg čas praženja (> 45 min) (Siegmond in Murkovic, 2004). Spojine, odgovorne za okus bučnega olja, so različni derivati pirazina. Aroma je opisana tudi kot "maščobna", za katero so večinoma odgovorni oksidacijski produkti (večkrat) nenasičenih maščobnih kislin. Poleg tega je bilo identificiranih tudi več drugih spojin v bučnem olju, ki so povezane z občutki po "zelenem" (npr. heksanal) ali po sladu (npr. 2-metilpropanal ali 3-metilbutanal), ki so pomembni za zaokrožen okus. Oksidativna razgradnja maščobnih kislin privede do nastajanja aldehidnih oksidacijskih produktov, ki so povezani z žarkostjo in kislostjo (Matsui in sod., 1998).

#### 2.1.2.7 Fenolne spojine

Ugotovili so, da imajo polarni ekstrakti bučnih semen in ustrezna olja precejšnjo antioksidativno aktivnost. Precejšen delež (do 40 %) skupne antioksidativne učinkovitosti bučnega olja je posledica prisotnih polarnih komponent. Ta "polarna antioksidativna učinkovitost" je tesno povezana s skupno vsebnostjo fenolov v bučnem olju. Rafiniranje olja naj bi vodilo do zmanjšanja antioksidativne učinkovitosti, kar se lahko opazi v primeru proizvodnje oljčnega olja (rafinirana oljčna olja imajo znatno nižjo antioksidativno

učinkovitost v primerjavi z deviškim oljčnim oljem). Podrobne kemijske strukture teh polarnih antioksidantov še vedno niso znane (Fruhworth in sod., 2003).

### **2.1.3 Vplivi bučnega olja na zdravje**

Veliko rastlinskih homologov holesterola (fitosteroli in fitostanoli) naj bi ugodno vplivalo na zniževanje holesterola v krvni plazmi (Marinangeli in sod., 2006). Prosti fitosteroli v olju naj bi, skupaj z visoko vsebnostjo linolne kisline, pozitivno učinkovali pri aterosklerozi (Fruhworth in Hermetter, 2008). Izvlečki bučnih semen naj bi imeli tudi koristne učinke pri zdravljenju benigne hiperplazije prostate faze I in II, vendar aktivne spojine in mehanizmi, ki so odgovorni za te snovi, še vedno niso znani (Fruhworth in Hermetter, 2007).

### **2.1.4 Skladiščenje bučnega olja**

Rok uporabnosti bučnega olja je v glavnem določen z njegovo občutljivostjo na svetlobo. Oksidacijo olja lahko učinkovito preprečimo s shranjevanjem izdelka v temi pri nizkih temperaturah. Pri optimalnih pogojih skladiščenja je rok uporabnosti bučnega olja lahko okoli 12 mesecev. Njegovi zeleni pigmenti delujejo kot vzpodbujevalci oksidacije maščobnih kislin, ki jo povzroča svetloba. Visoka občutljivost bučnega olja na oksidacijo je predvsem posledica visoke vsebnosti večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Čeprav bučno olje vsebuje precejšnje količine lipofilnih in polarnih antioksidantov, slednji ne morejo ustaviti že enkrat začete verižne reakcije radikalov znotraj lipidne faze. Nasprotno bi lahko nekateri izomeri tokoferolov delovali kot prooksidativne molekule v lipofilni fazi. Ko pride do oksidacije, bučno olje hitro izgubi svojo dvojno barvo (zeleno in rdečo), zaradi uničenja pigmentov, in postane svetlo rumena, žarka lipidna zmes. Tako se lahko barva olja uporablja kot hitro in enostavno merilo za optično kontrolo kakovosti (Fruhworth in Hermetter, 2008).

### **2.1.5 Kemični kontaminanti**

Okoljska onesnaževala je mogoče razdeliti na dve glavni skupini, na težke kovine in obstojna organska onesnaževala, oboje pretežno antropogenega izvora. Čeprav so nekatere težke kovine prisotne le v sledovih, lahko njihove vsebnosti v rastlinskih materialih (npr. v semenih, posledično v oljih) daleč presegajo dovoljene meje. Pojavljajo se precejšnje razlike v kontaminaciji s težkimi kovinami med regijami, odvisno od obsega onesnaženja in v manjši meri od naravne prisotnosti težkih kovin v tleh. Poleg tega obstaja veliko razširjenih toksičnih organskih spojin, ki jih lahko najdemo v tleh in sedimentih v različnih koncentracijah, odvisno od regije. Obstojna organska onesnaževala so večinoma hidrofobna in s tem se lahko potencialno nalagajo v maščobnih tkivih. Vendar pa je privzem teh onesnaževal in kopičenje, npr. v z maščobami bogatih semenih, lahko zelo

različno med različnimi rastlinskimi vrstami. Policiklični aromatski ogljikovodiki (PAH) so še en razred povsod prisotnih okoljskih onesnaževal, katerih vrednost se lahko močno poveča v jedilnih oljih. V bučnem olju so lahko prisotni bodisi zaradi absorpcije iz onesnažene prsti ali zaradi same proizvodnje olja, ki vključuje korak praženja. Spremljanje vsebnosti PAH v bučnem olju, ki se proizvaja za trg, je priporočljivo, saj se majhne vsebnosti (v območju  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), zlasti težkih frakcij PAH (z večjo molekulsko maso), splošno štejejo kot zdravju nevarne spojine (Fruhirth in Hermetter, 2008).

## 2.2 POLIČIKLIČNI AROMATSKI OGLJIKOVODIKI (PAH)

PAH so organske spojine, ki so večinoma brezbarvne, bele ali blede rumene trdne snovi. Najpomembnejši vir je ozračje, zato so razširjeni povsod v okolju. So skupina več sto kemično sorodnih, okoljsko obstojnih spojin, z različnimi strukturami in raznovrstno toksičnostjo. Na splošno PAH vstopajo v okolje preko različnih poti in običajno jih najdemo kot mešanico različnih spojin. Razširjeni so v zraku, v tleh in v vodi, zato je izpostavljenost PAH neizogibna (Abdel-Shafy in Mansour, 2016). Številni izmed njih so rakotvorni in mutageni in možno je, da v veliki meri prispevajo k splošni pojavnosti raka pri ljudeh (Phillips, 1999).

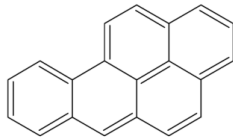
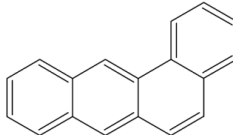
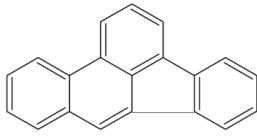
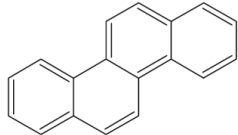
PAH prehajajo v ozračje predvsem z nepopolnim zgorevanjem organskih snovi (npr. premoga, nafte, bencina in lesa). Izvirajo predvsem iz antropogenih dejavnosti, kljub temu pa nekateri izvirajo tudi iz naravnih virov kot so gozdni požari, naravne izgube ali pronicanje naftnih ali premogovnih zalog in vulkanske aktivnosti. Glavni antropogeni viri PAH vključujejo ogrevanje stanovanj, saje, proizvodnjo asfalta, koksa in aluminija, dejavnosti v rafinerijah nafte in druge industrijske dejavnosti, nepopolno zgorevanje motornih goriv ter kajenje. PAH se običajno nahajajo v večjih koncentracijah v urbanih okoljih kot na podeželju, saj je večina njihovih virov v mestnih središčih ali blizu njih. Vire PAH predstavljajo tudi oceanska in sladkovodna razlitja nafte, puščanje podzemnih in nadzemnih skladiščnih rezervoarjev in kopičenje velikega števila manjših izpustov bencina, motornega olja in sorodnih snovi. Izvor PAH je lahko tudi biološki. Sintetizirajo jih nekatere rastline in bakterije ali nastanejo med razgradnjo rastlinskih materialov (Ravindra in sod., 2008). Atmosferski PAH se nenehno odlagajo na zemljo s suhim ali mokrim usedanjem (padavine), kar je tudi glavni vir le-teh v tleh. PAH se močno adsorbirajo na organsko frakcijo in v večino tal ne prodrejo, tako je omejeno izpiranje v podzemne vode in razpoložljivost za vnos v rastline (Abdel-Shafy in Mansour, 2016). Prisotni so tudi v mnogih ozvezdijih v vesolju, pojavili naj bi se par milijard let po velikem poku (NASA, 2015).



## 2.2.1 Kemijske značilnosti PAH

Izraz "PAH" se nanaša na spojine, ki jih sestavljajo samo atomi ogljika in vodika. Kemijsko so sestavljeni iz dveh ali več benzenovih obročev, vsebujejo pa lahko tudi dodatne obroče, ki niso šeststranski. Najbolj znan je benzo(a)piren (BaP), ki vsebuje 5 obročev. Slabo so topni v vodi in imajo nizek parni tlak. Topnost v vodi se zmanjša z vsakim dodatnim obročem. Zaradi njihovega nizkega parnega tlaka so nekateri PAH pri sobni temperaturi v plinastem stanju ali pa so v trdni fazi, vezani na prašne delce. Lahke PAH, kot je fenantren (trije obroči), najdemo skoraj izključno v plinski fazi, medtem ko so težji PAH, kot je BaP, adsorbirani na delce (Ravindra in sod., 2008). PAH so zelo dobro topni v organskih topilih, ker so lipofilni. Imajo značilne UV absorpcijske spektre. Različne strukture obročev specifično absorbirajo UV svetlobni spekter, torej vsak PAH ima drugačen spekter absorpcije. To je še posebej koristno pri njihovem določevanju. Večina PAH tudi fluorescira, ob vzbujanju oddajajo svetlobo karakteristične valovne dolžine (Abdel-Shafy in Mansour, 2016).

Preglednica 1: Primer štirih PAH, za katere je po Uredbi (ES) št. 835/2011 določena meja za skupno vrednost (EFSA, 2008)

PAH	Skeletna formula
Benzo(a)piren	
Benzo(a)antracen	
Benzo(b)fluoranten	
Krizen	

## 2.2.2 PAH v živilih

Prisotnost PAH v okolju se odraža v njihovi prisotnosti v številnih vrstah surovih živil. Poleg tega se lahko PAH tvorijo tudi med toplotno obdelavo živil. Ugotovili so, da je v večini primerov hrana glavni vir izpostavljenosti PAH pri ljudeh, zato prisotnost le-teh v hrani zahteva stalno spremljanje. Za nekadilce se več kot 70 % izpostavljenosti PAH lahko pripisuje prehrani. Glavni prehranski viri PAH so žita, olja in maščobe ter zelenjava, bolj kot meso, razen ob veliki porabi mesa, pripravljenega nad odprtim plamenom (Phillips, 1999).

Pojav PAH v živilih je posledica njihovega nalaganja iz zraka na površino rastlin ter naknadne kontaminacije, ki izhaja iz priprave živil, kot so sušenje, praženje ali dimljenje. Živila z žara, dimljeno meso ter ribe lahko vsebujejo sorazmerno visoke ravni PAH (Abdel-Shafy in Mansour, 2016).

### 2.2.2.1 PAH v surovih živilih

Surova živila praviloma ne vsebujejo visoke ravni PAH, na splošno pa se povprečne vrednosti nahajajo v območju od 0,01 do 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Zaradi lipofilnosti se lahko kopičijo v lipidnih tkivih rastlin in živali. Vsebnost PAH je večinoma večja na površini rastlin (lupina, zunanji listi) kot v notranjih tkivih, zato je listnata zelenjava lahko velik vir le-teh. Pranje lahko odstrani do 50 % skupnih PAH (Abdel-Shafy in Mansour, 2016). Kontaminacija atmosfere s PAH se kaže v spojinah, ki se posedajo in kopičijo, adsorbirani PAH pa končajo v sladkih vodah ali morskih sedimentih. Viri kontaminacije lahko vključujejo tudi razlitja olja in odtekanje industrijskih odplak (Phillips, 1999). Kontaminacija vode lahko povzroči vnos PAH v pitno vodo in posledično v kuhano hrano. V pitni vodi je vsebnost PAH običajno manjša od 1  $\text{ng}/\text{L}$  (Abdel-Shafy in Mansour, 2016). Iz vode jih lahko prevzamejo vodni organizmi in tako vstopijo v prehransko verigo. PAH se koncentrirajo v morskih sedimentih, zlasti v obalnih vodah, kjer se na dnu hranijo ribe in nevretenčarji, ki se prehranjujejo s filtriranjem. Na splošno imajo ribe večjo sposobnost presnavljanja PAH kot pa mehkužci. Školjke (npr. dagnje in ostrige) filtrirajo velike količine vode in imajo nizko presnovno zmogljivost za PAH, zato se ti lahko kopičijo. Ena od poti izpostavljenosti ljudi PAH je torej skozi morske organizme, ki jih uživamo ali jih plenijo višji plenilci, ki so prav tako del človeške prehrane (Meador in sod., 1995).

### 2.2.2.2 PAH v toplotno obdelanih živilih

Obdelava hrane, npr. sušenje in dimljenje ter priprava živil pri visokih temperaturah, kot so pečenje na žaru, praženje in cvrtje, je glavni viri nastanka PAH. Konzerviranje hrane z uporabo dima je proces, ki se uporablja že od antike. Dimljenje mesa in rib je danes v glavnem visoko industrializiran proces, ki vključuje sodobno nadzorovane dimne komore;

kljub temu se še vedno precej uporabljajo tradicionalne prekajevalnice. Nastajanje lesnega dima je primer nepopolnega zgorevanja, pri tem nastajajo PAH. Kadar se hrana, zlasti meso, pripravlja nad odprtim plamenom, se tvorijo PAH. Če je meso v direktnem stiku s plamenom, piroliza maščob v mesu privede do nastanka PAH, ki se lahko nalagajo v mesu. Tudi če ni v neposrednem stiku, maščobe kapljajo na ogenj ali vroče oglje in ustvarjajo PAH, ki se nato prenesejo na meso. Nastanek PAH s peko nad ogljem je odvisen od vsebnosti maščobe v mesu in oddaljenosti živila od vira toplote. Vsebnost PAH v živilih je mogoče zmanjšati s pečenjem za daljši čas pri nižjih temperaturah (Phillips, 1999).

Kontaminacija rastlinskih olj s PAH običajno poteče med tehnološkimi postopki, kot je neposredno sušenje nad ognjem. Tako lahko produkti zgorevanja pridejo v stik z oljnicami (semeni) ali olji (Potočnik in Košir, 2017).

### **2.2.3 Presnova PAH**

Glavne poti izpostavljenosti PAH pri splošni populaciji so vdihavanje onesnaženega zraka, uživanje hrane, ki vsebuje PAH, kajenje ali vdihavanje dima iz odprtega ognja. Zaradi visoke lipofilnosti teh spojin, se le-te po zaužitju in vdihavanju kopičijo v telesu (Lewtas, 2007). Znanstvene raziskave so pokazale, da se zaznavne ravni PAH pojavijo v skoraj vseh notranjih organih, zlasti v organih, ki so bogati z maščobnimi tkivi. Ti organi lahko služijo kot depoji za skladiščenje, iz katerih se ogljikovodiki lahko postopoma sproščajo. Ko PAH vstopijo v organizem, je potrebnih več metabolnih korakov aktivacije s specifičnimi encimi. Encimski sistem, ki je v prvi vrsti odgovoren za metabolizem PAH, je oksidazni sistem. Prva reakcija je epoksidacija, PAH epoksidi se nato lahko konjugirajo z glutationom in to velja za reakcijo razstrupljanja. Epoksidi, ki niso konjugirani z glutationom, se pretvorijo v fenole in diole. Takšni metaboliti PAH kljub temu včasih niso dovolj polarni, da bi se izločili, zato se morajo konjugirati z glukuronsko ali žvepleno kislino. Večina metabolitov PAH se izloča z blatom in urinom (Campo in sod., 2010).

### **2.2.4 Vpliv PAH na zdravje**

Nekateri PAH so znani kot rakotvorni, mutageni in teratogeni ter predstavljajo resno grožnjo za zdravje ljudi, od teh se najpogosteje omenja BaP (Phillips, 1999). Ker so dobro topni v maščobah, se zlahka absorbirajo v gastrointestinalnem traktu sesalcev. Hitro se porazdelijo v različna tkiva z izrazito težnjo po lokalizaciji v telesni maščobi. Vpliv PAH na zdravje ljudi je odvisen predvsem od časa in načina izpostavljenosti, količine ali koncentracije PAH ter relativne toksičnosti PAH. Vplivajo lahko tudi različni drugi dejavniki, kot so že obstoječi zdravstveni status in starost. Akutna izpostavljenost visokim ravnam mešanice onesnaževal, ki vsebujejo PAH, povzroča simptome, kot so draženje oči, slabost, bruhanje, drisko in zmedenost. Zdravstveni učinki pri dolgoročni ali kronični izpostavljenosti PAH lahko vključujejo zmanjšano imunsko delovanje, katarakto, ledvične

in jetrne poškodbe (npr. zlatenico), težave z dihanjem, simptome podobne astmi in nenormalno pljučno funkcijo. Ponavljajoči stik s kožo lahko povzroči pordelost in vnetje kože (Abdel-Shafy in Mansour, 2016).

Večina PAH ni genotoksičnih v osnovni obliki, ampak po presnovi v diolne epoksidge, ki reagirajo z DNA, kar povzroči genotoksične poškodbe. Glavna skrb so reaktivni metaboliti PAH, kot so epoksidi in dihidrodioli nekaterih PAH, ki se vežejo na celične proteine in DNA, s čimer povzročajo napake pri replikaciji. Biokemijske motnje in poškodbe celic povzročajo mutacije, razvojne deformacije, tumorje in raka. Dokazi kažejo, da so mešanice PAH rakotvorne za ljudi, predvsem bi naj bilo povečano tveganje za kožnega in pljučnega raka ter raka na mehurju in gastrointestinalnem traktu. Izpostavljenost PAH vedno vključuje zapletene mešanice, ki lahko povzročijo sinergistične ali antagonistične učinke na genotoksične lastnosti, kar otežuje oceno tveganja (Lewtas, 2007).

Natančni mehanizmi imunotoksičnosti, ki jih povzročajo PAH, še vedno niso jasni. Ugotovljeno je bilo, da je imunsko zaviranje lahko vključeno v mehanizme, s katerimi PAH inducirajo raka. Imunsko potenciranje povzroči povečano izločanje citokinov v celicah imunskega sistema, kar vodi v vnetje. V posebnih okoliščinah to lahko pripomore k razvoju tumorjev, izražanju preobčutljivosti (alergije, kontaktna preobčutljivost) ali avtoimunosti (Burchiel in Luster, 2001).

Izpostavljenost PAH med nosečnostjo naj bi bila povezana z neželenimi izidi poroda, vključno z nizko porodno težo, prezgodnjim porodom in deformacijami srca (Perera in sod., 2005).

### **2.2.5 Razgradnja PAH v okolju**

V prizadevanju za odstranitev PAH iz okolja je bilo preizkušenih več različnih sanacijskih tehnologij. Med njimi se kot varna in ekonomsko učinkovita možnost kaže bioremediacija, ki služi kot orodje za pretvorbo takšnih spojin v manj nevarne/nenevarne oblike z manjšim vnosom kemikalij, energije in časa. Izolirani in označeni so bili različni rodovi gram-pozitivnih in negativnih bakterij, gliv in alg, s sposobnostjo izkoriščanja PAH. Drugi načini razgradnje PAH so še fotoliza in oksidacija (Abdel-Shafy in Mansour, 2016).

## 2.3 PAH V BUČNEM OLJU

### 2.3.1 Praženje bučnih semen

Postopek priprave tradicionalnega bučnega olja temelji na toplotni obdelavi mletih semen, z namenom ločevanja lipidne frakcije in pridobitve arome praženega olja (Van Hoed in sod., 2017). Med praženjem so bučna semena izpostavljena temperaturam nad 100 °C (običajno okoli 110 °C) do 60 minut, nato se semena stisne in dobimo temno zeleno olje s tipično aromo in okusom (Potočnik in Košir, 2017). Na splošno višje temperature zahtevajo krajši čas praženja potreben za pridobivanje olja, nasprotno pa nižje temperature podaljšajo potreben čas praženja. V praksi je ta čas prilagojen glede na pridobitev kvalitetnega olja (Van Hoed in sod., 2017). Ker se z uporabo višjih temperatur skrajša čas praženja, so pričakovani stroški nižji (Potočnik in Košir, 2017).

Kot že omenjeno, je praženje bučnih semen ključnega pomena za razvoj tipične arome bučnega olja. Spojine, ki prispevajo h končni aromi, so različni derivati pirazina. Najpogostejše spojine so 2-etil-3,5-dimetilpirazin, 2,3-dietil-5-metilpirazin in 3-etil-2,5-dimetilpirazin. Aroma bi naj bila tudi "maščobna", ta izvira predvsem iz produktov oksidacije nenasičenih maščobnih kislin (Matsui in sod., 1998). Pomembno vlogo pri aromi imajo tudi različni aldehidi, ki izhajajo iz Streckerjeve razgradnje in dajo občutek svežine in po zelenem (Siegmund in Murkovic, 2004).

Naraščajoča temperatura praženja je odgovorna za spremembe v sestavi hlapnih spojin. Aroma se razlikuje od zelene in sveže do pražene in zažgane. Kupec pričakuje, da bo bučno olje imelo značilno aromo, torej je izbira temperature bistvenega pomena. Ustrezna temperatura praženja pa je pomembna tudi iz drugega razloga, saj lahko visoke temperature vodijo do nastanka PAH (Potočnik in Košir, 2017). Pri visokih temperaturah se organske spojine razgrajujejo na manjše, bolj reaktivne komponente, večinoma radikale, ki se lahko spremenijo v stabilne PAH. Zaradi njihove lipofilne narave, masti in olja predstavljajo enega od glavnih virov PAH v prehrani (Moret in Conte, 2000).

Obstajajo različne možnosti kontaminacije bučnega olja s PAH med tehnološkim procesom izdelave olja. Omenjene so bile že visoke temperature, ki se uporabljajo med praženjem. Drugi razlog vključuje kontaminacijo med postopkom sušenja semen, če se uporablja odprt ogenj za pridobivanje vročega zraka (Potočnik in Košir, 2017). Rafinacija lahko drastično zmanjša količino PAH (Moret in Conte, 2000), vendar pa pri proizvodnji bučnega olja tega ne rafiniramo, zato je nastanek PAH potrebno preprečiti (Potočnik in Košir, 2017).

### **2.3.2 Predpisane mejne vrednosti za vsebnost PAH v oljih in maščobah**

Uredba Komisije (EU) št. 835/2011 z dne 19. avgusta 2011 o spremembi Uredbe Komisije (ES) št. 1881/2006 glede mejnih vrednosti policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih predpisuje različne mejne vrednosti glede na vrsto živila. Za olja in maščobe (razen kakavovega masla in kokosovega olja), namenjene neposredni prehrani ljudi ali uporabi kot sestavini živil, velja mejna vrednost BaP 2,0 µg/kg. Določena je tudi meja za skupno vrednost BaP, benzo(a)antracena (BaA), benzo(b)fluorantena (BbF) in krizena (Kri) in sicer 10,0 µg/kg (Uredba ..., 2011).

Posledično pogoji praženja ne smejo temeljiti le na senzoričnih lastnostih in razlikah v sestavi, temveč je potrebno nadzorovati tudi ravni PAH v olju (Van Hoed in sod., 2017). Pomembno je določiti najvišjo temperaturo praženja, pri kateri se PAH še ne tvorijo, aroma pa je še vedno tipična (Potočnik in Košir, 2017).

### **2.3.3 Določanje PAH v oljih**

Določanje PAH je razmeroma težavno, saj so prisotni v zelo nizkih koncentracijah. Metode za določanje PAH običajno vključujejo saponifikacijo in ekstrakcijo tekoče-tekoče, čemur sledi čiščenje ekstrakta s pomočjo polnjene kolone ali z uporabo ekstrakcije na trdni fazi (Potočnik in Košir, 2017).

Najpogosteje uporabljene kromatografske tehnike za separacijo in kvantifikacijo PAH so plinska kromatografija z masno spektrometrijo (GC-MS) in tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) skupaj s fluorescenčno detekcijo (Dost in Ideli, 2012).

## **2.4 VPLIV TEMPERATURE PRAŽENJA BUČNIH SEMEN NA VSEBNOST POLICIKLIČNIH AROMATSKIH OGLJIKOVODIKOV V BUČNEM OLJU**

### **2.4.1 Študija o vplivu temperature praženja bučnih semen na vsebnost PAH in sestavo arome v bučnem olju**

Potočnik in Košir (2017) sta določala vpliv temperature praženja bučnih semen na nastanek PAH v bučnem olju in ugotavljala spremembe v sestavi arome (hlapnih komponent) v vzorcih bučnega olja. Uporabljene so bile različne temperature praženja, od 90 do 200 °C.

Sveža bučna semena so pridobili iz proizvodnega obrata v vzhodni Sloveniji (Jeruzalem Ormož SAT, Oljarna in mešalnica Središče d.o.o.). Bučna semena (10 kg) so posušili v sušilniku pri 60 °C ter jih zmleli. Kot tipičen del proizvodnega procesa so dodali 0,5 L raztopine natrijevega klorida (0,5 %). Zmleta semena so razdelili na sedem vzorcev in jih

segrevali pri nadzorovanih temperaturah 90, 110, 130, 150, 180 in 200 °C, 60 min, z neprekinjenim mešanjem. En vzorec je ostal nepražen. Po praženju so vse vzorce mehansko stisnili, da so dobili olje (Potočnik in Košir, 2017).

Zaradi dobre selektivnosti in občutljivosti so za določitev PAH uporabili tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti s fluorescenčno detekcijo. PAH v vzorcih olja so bili identificirani s primerjavo njihovih retencijskih časov s tistimi iz standardne mešanice PAH (acenaftilen, antracen, benzo(a)antracen, benzo(a)piren, benzo(b)fluoranten, benzo(g,h,i)perilen, benzo(k)fluoranten, krizen, dibenzo(a,h)antracen, indeno(1,2,3-cd)piren, fenantren, piren). Koncentracije PAH so bile določene z uporabo eksternih standardov (Potočnik in Košir, 2017).

Za pridobitev čim več informacij o dinamiki nastajanja določenih PAH je bil uporabljen širok razpon temperatur praženja (od 90 do 200 °C). Čas praženja je bil vedno 60 minut. V vzorcih bučnega olja je bilo od dvanajstih PAH zaznanih in količinsko določenih samo pet (Potočnik in Košir, 2017). Rezultati so predstavljeni v preglednici 2.

Meje zaznavnosti (LOD) so bile naslednje: za fenantren 0,05 µg/kg, za antracen 0,03 µg/kg, za piren 0,04 µg/kg, za benzo(k)fluoranten 0,007 µg/kg in za benzo(a)piren 0,008 µg/kg. Meja določljivosti (LOQ) za benzo(a)piren je bila 0,02 µg/kg (Potočnik in Košir, 2017).

Preglednica 2: Vsebnost PAH (µg/kg) v vzorcih bučnega olja iz semen praženih pri različnih temperaturah (srednja vrednost treh vzorednih določitev) (Potočnik in Košir, 2017)

PAH	nepražena	90 °C	110 °C	130 °C	150 °C	180 °C	200 °C
Fenantren	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,60	2,24	7,85
Antracen	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,07	0,08	0,09
Piren	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,21	0,22	0,26
Benzo(k)fluoranten	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,03	0,03	0,04
Benzo(a)piren	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	0,02	0,02
Skupni PAH	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,91	2,59	8,26

V vzorcih olja, stisnjenih iz bučnih semen, praženih pri temperaturi do 150 °C, niso zaznali PAH. Po praženju semen pri 150 °C, 1 uro, se je v vzorcu pojavilo nekaj PAH, vsi v zelo nizkih koncentracijah. Od petih prisotnih PAH je bilo najmanj BaP, katerega vsebnost je bila pod mejo določljivosti, največ je bilo fenantrena s koncentracijo 1,60 µg/kg. Določeni so bili še antracen, piren in benzo(k)fluoranten. Pri 180 °C je BaP ostal PAH z najnižjo izmerjeno koncentracijo pri omenjeni temperaturi, in sicer 0,02 µg/kg. Najvišja izmerjena koncentracija je bila pri 180 °C, 2,24 µg/kg za fenantren. Vsebnost BaP je bila enaka tudi v vzorcu bučnega olja praženega pri 200 °C. Največje povečanje je bilo pri fenantrenu, kjer je bila pri 200 °C koncentracija 7,85 µg/kg. Koncentracije antracena, pirena in

benzo(k)fluorantena so se le rahlo povečevale s porastom temperature. Fenantren, antracen in piren so bili določeni kot najpogostejši PAH med vsemi vzorci (Potočnik in Košir, 2017).

Kot že omenjeno, je najvišja dovoljena raven BaP v rastlinskih oljih v skladu z Uredbo (EU) št. 835/2011 2 µg/kg. Noben od vzorcev ni presegel te meje. Koncentracija BaP je bila 0,02 µg/kg pri 180 in 200 °C. V vzorcih, katerih semena so bila pražena pri 200 °C, so izmerili najvišje koncentracije vseh zaznanih PAH, skupna vsebnost PAH pa je bila 8,26 µg/kg (Potočnik in Košir, 2017).

V vzorcu olja iz semen, ki niso bila pražena, ni bilo zaznanih PAH. To potrjuje, da prisotnost PAH, ki so bili zaznani v vzorcih olja iz semen, ki so bila izpostavljena praženju, ni posledica onesnaženosti ali tvorbe PAH med postopkom sušenja. Podatki kažejo, da je kontaminacija s PAH rezultat uporabe visokih temperatur med praženjem. Temperatura praženja semen, nižja od 150 °C, se je izkazala za varno in ne povzroča nastanka PAH v bučnem olju. Visoke temperature praženja, nad 150 °C, lahko povzročijo nastanek PAH, zlasti fenantrena, kar lahko privede do nesprejemljivosti olja za uživanje (Potočnik in Košir, 2017).

Povečanje temperature praženja je vplivalo tudi na spremembo sestave hlapnih spojin. V vzorcu bučnega olja, pridobljenega iz nepraženih semen, so med hlapnimi spojinami prevladovali aldehidi in alkoholi (Potočnik in Košir, 2017). Ti prispevajo k zeleni, travnati, sadni, maščobni in sveži aromi bučnega olja (Siegmund in Murkovic, 2004). Podobna sestava je bila opažena tudi pri vzorcu olja, praženega pri 90 °C. Med aldehidi je prevladoval 3-metilbutanal. Ko se je temperatura praženja povečala, so se vsebnosti nekaterih alkoholov in aldehydov (pentanal, heksanal, 2-metilbutanal, heksanol, feniletanol, 1-pentanol) zmanjšale, predvsem zaradi njihove hlapnosti. Vendar pa so začeli naraščati produkti drugih reakcij, ki zahtevajo višje temperature, kot je Maillardova reakcija. V vzorcih olja iz semen, praženih pri 110 in 130 °C, je bila prisotna mešanica vseh omenjenih produktov. Še vedno so bili prisotni nekateri aldehidi in alkoholi, pojavili pa so se tudi različni pirazinski derivati. Posledično imajo ta olja najbolj značilno in zaželeno aromo, ki vključuje svežo, zeleno in sadno aromo zaradi aldehydov in hkrati tudi aromo po praženem in oreških zaradi pirazinov. Hladno stisnjena olja torej nimajo tipične arome bučnega olja (zaradi pomanjkanja pirazina). V vzorcih olja iz bučnih semen, praženih pri temperaturah nad 150 °C, so bili prisotni predvsem derivati pirazina (Potočnik in Košir, 2017).



#### **2.4.2 Študija o vplivu temperature praženja bučnih semen na vsebnost PAH, tokoferolov in polifenolov v bučnem olju**

Tudi Van Hoed in sod. (2017) so v študiji primerjali bučno olje iz semen, praženih pri različnih temperaturah (60 °C-150 °C), z oljem iz nepraženih semen. Raziskovali so vpliv pogojev praženja na vsebnost antioksidantov (tokoferolov, fenolnih spojin) v bučnem olju, pri čemer so uporabili optimalne kombinacije temperature in časa za dobro sproščanje olja (pri višji temperaturi praženja je bil potreben krajši čas za sprostitvev olja). Poleg tega so, kljub temu da temperature praženja niso presegle 150 °C, ugotavljali prisotnost PAH, da bi se zagotovila sprejemljivost za prehrano ljudi.

Vzorci so pridobili iz serije semen, ki so jih pridelali kmetje po integriranem načinu iz prekmurske in podravske regije ter jih zmleli v mlinu na kamen. Dodali so sol in vodo. Po mletju in homogenizaciji so maso segreli v posodi na ustrezno temperaturo. Čas praženja se je razlikoval glede na zmožnost izločanja olja iz mletih semen, na katerega je vplivala temperatura obdelave. Vsi vzorci so bili shranjeni v temnih steklenicah pod dušikom, v zamrzovalniku do analize. Analizo PAH v vzorcih so, prav tako kot Potočnik in Košir (2017), opravili s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti s fluorescenčno detekcijo (Van Hoed in sod., 2017).

Za tokoferole in fenolne spojine ni bilo opaženo, da bi se njihova vsebnost zmanjševala z naraščanjem temperature. Nasprotno pa je imelo olje iz nepraženih semen relativno nizko raven tokoferolov in fenolov ter ni imelo tipične arome. V vseh vzorcih je bil  $\gamma$ -tokoferol (547-632 mg/kg) najbolj zastopan (približno 92-95 %). V omenjeni študiji se je potreben čas za sproščanje olja zmanjšal s povišano temperaturo praženja, kar je verjetno razlog za podobno vsebnost tokoferolov pri vseh kombinacijah. Na prvi pogled presenetljivo, vendar ni bilo opaziti trenda upadanja fenolnih spojin s povišano temperaturo praženja. Poleg tega se je pri vzorcih z različno temperaturo praženja, vendar enakim časom, zdelo, da se vsebnosti fenolnih spojin s temperaturo zvišujejo. To bi lahko bilo povezano z boljšo ekstrakcijo polifenolov pri višjih temperaturah. Na splošno so v identificiranih in kvantificiranih fenolnih spojinah bile večje spremembe kot v vsebnosti tokoferolov (Van Hoed in sod., 2017).

Iz podatkov, predstavljenih zgoraj, lahko sklepamo, da povišana temperatura praženja bučnih semen ni imela škodljivih učinkov na vsebnost antioksidantov v olju. Vendar je znano, da postopek praženja lahko povzroči prisotnost kontaminantov, kot so PAH (Van Hoed in sod., 2017).

Vzorci so bili pripravljani pod različnimi pogoji praženja, zato so bile vrednosti PAH pomemben parameter kakovosti. Vsebnosti PAH v vzorcih so bile zelo nizke, od nezaznavnih v vzorcu olja iz nepraženih semen, do 13,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  v vzorcu olja iz semen, ki so

se pražila 45 minut pri 150 °C (najvišja uporabljena temperatura). Ta vzorec je bil tudi edini, v katerem je bil zaznan BaP, in sicer v koncentraciji 1,0 µg/kg, torej pod mejo 2,0 µg/kg, ki jo je določila Evropska komisija. Poleg tega je bila vsota štirih PAH (BaP, BaA, BbF in Kri) vedno pod 10 µg/kg, pri čemer je bila najvišja vrednost 8,1 µg/kg za vzorec pražen pri 150 °C (Van Hoed in sod., 2017).

Van Hoed in sod. (2017) trdijo, da ni mogoče opaziti značilne korelacije vsebnosti PAH s temperaturo praženja, kar je verjetno povezano s prilagajanjem časa praženja različnim temperaturam (90-150 °C); pri višjih temperaturah so semena pražili krajši čas. Na splošno je bila vsebnost PAH v vseh vzorcih zelo nizka, kar je mogoče pripisati neprestanemu iskanju optimalnih pogojev praženja (Van Hoed in sod., 2017). Te ugotovitve se ujemajo z ugotovitvami Potočnikove in Koširja (2017), ki sta ugotovila, da pri vzorcih, praženih do temperature 150 °C ni prisotnih PAH, z vzorcem praženem pri 150 °C pa so se ti tvorili v majhnih količinah. Izbira pogojev praženja je torej lahko bolj odvisna od senzoričnih ocen kot od vsebnosti antioksidantov ali PAH (Van Hoed in sod., 2017).

#### **2.4.3 Raziskovalni projekt: Analiza onesnaženosti in možnosti za zmanjšanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih**

Na Biotehniški fakulteti (Univerza v Ljubljani) so izvedli raziskovalni projekt o onesnaženosti in možnosti za zmanjšanje PAH v živilih. Namen raziskave je bil analizirati stanje vsebnosti PAH v prekajenih mesnih izdelkih, suhem sadju, suhih dišavnicah in začimbah ter v bučnem olju, ki so se tržili v Sloveniji (Zaključno poročilo ..., 2014).

Določenih je bilo 16 PAH: benzo(c)fluoren, benzo(a)antracen, ciklopenta(cd)piren, krizen, 5-metilkrizen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(j)fluoranten, benzo(a)piren, indeno(1,2,3-cd)piren, dibenzo(a,h)antracen, benzo(ghi)perilen, dibenzo(a,l)piren, dibenzo(a,e)piren, dibenzo(a,i)piren, dibenzo(a,h)piren, in vsota – BaP, BaA, BbF in Kri. Za določanje so bili uporabljeni devterirani standardi (Zaključno poročilo ..., 2014).

PAH so določili s plinsko kromatografijo z masno spektrometrijo. Vrednost LOD je znašala 0,5 µg/kg, LOQ je bila 1,0 µg/kg (Zaključno poročilo ..., 2014).

Prvotno so analizirali vsebnosti PAH v desetih vzorcih bučnega olja, kupljenih na slovenskem trgu. V treh vzorcih bučnega olja so rezultati analiz pokazali, da so določene vsebnosti BaP in vsote PAH – BaA, Kri, BbF in BaP presegale mejne vrednosti (2,0 µg/kg za benzo(a)piren in 10,0 µg/kg za vsoto štirih PAH). Pri oceni rezultatov niso upoštevali merilne negotovosti. Če bi jo pri navedenih vzorcih upoštevali, mejne vrednosti ne bi bile presežene (Zaključno poročilo ..., 2014).

Glede na presežene dovoljene mejne vsebnosti PAH v nekaterih vzorcih bučnega olja, kupljenih na slovenskem trgu, so dodatno opravili poskus vpliva različne toplotne obdelave bučnih semen na vsebnost PAH v olju. Bučna semena so toplotno obdelali pri treh različnih temperaturah, olje pa pri vseh vzorcih pridobili po enaki metodi (Zaključno poročilo ..., 2014).

Bučna semena so pražili pri 90 °C, 120 °C in 150 °C. Vzorec olja, katerega semena so bila pražena pri 150 °C, je imel najvišjo skupno vrednost določenih štirih PAH (1,5 µg/kg), vendar še vedno precej pod dovoljeno mejo 10 µg/kg (preglednica 3). Vzorca olja, ki sta bila pridobljena iz semen praženih pri 90 in 120 °C sta imela podobne vsebnosti vsote štirih PAH, in sicer 0,7 µg/kg in 0,6 µg/kg. V nobenem od treh vzorcev, pridobljenih z različno temperaturo praženja, koncentracija BaP ni presegala 0,5 µg/kg (vrednost LOD) in je tudi pod dovoljeno vrednostjo 2,0 µg/kg. Kot je bilo pričakovano, več PAH nastane pri višjih temperaturah, vendar mejne vrednosti za BaP in vsoto PAH v nobenem primeru niso bile presežene (Zaključno poročilo ..., 2014).

Preglednica 3: Vsebnost PAH (µg/kg) v bučnem olju pri različnih temperaturah praženja bučnih semen (Zaključno poročilo ..., 2014)

PAH	90 °C	120 °C	150 °C
Benzo(c)fluoren	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(a)antracen	<LOD	<LOD	0,5
Ciklopenta(c,d)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Krizen	0,7	0,6	1,0
5-metilkrizen	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(b)fluoranten	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(k)fluoranten	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(j)fluoranten	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(a)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Indeno(1,2,3-cd)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo(a,h)antracen	<LOD	<LOD	<LOD
Benzo(g,h,i)perilen	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo(a,l)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo(a,e)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo(a,i)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Dibenzo(a,h)piren	<LOD	<LOD	<LOD
Vsota BaA, Kri, BbF, BaP	0,7	0,6	1,5

Na podlagi rezultatov, ki so jih pridobili v okviru omenjenega projekta, so podali predlog, da se za zmanjšanje vsebnosti PAH v bučnem olju uporabijo temperature praženja bučnih semen do 120 °C (Zaključno poročilo ..., 2014).

S primerjavo vseh treh študij ugotovimo, da temperature praženja bučnih semen do 150 °C z vidika PAH zagotavljajo povsem varno bučno olje. Tudi temperatura praženja semen pri 150 °C še ne povzroči nastanka PAH, katerih vsebnosti bi presegale predpisane mejne vrednosti, vendar se vsebnosti PAH že precej povečajo, zato je potrebna večja pazljivost. Med študijami je sicer prišlo do posameznih odstopanj. Za vsebnost BaP pri 150 °C so Van Hoed in sod. (2017) določili 1,0 µg/kg, Potočnik in Košir (2017) pod mejo določljivosti (0,02 µg/kg) in v Zaključnem poročilu ... (2014) pod mejo zaznavnosti (0,5 µg/kg). Vsota štirih PAH (BaA, Kri, BbF, BaP) je v Zaključnem poročilu ... (2014) znašala 1,5 µg/kg, Van Hoed in sod. (2017) so jo določili v vrednosti 8,1 µg/kg. Kljub precejšnji razliki, nobena koncentracija ne presega predpisane mejne vrednosti. Po podatkih iz literature bi lahko sklepali, da praženje bučnih semen pri temperaturi 120-130 °C daje olje, ki je varno za potrošnika, saj vsebuje zelo nizke koncentracije PAH, hkrati pa zagotavlja značilno in zaželeno aromo po svežem, zelenem, sadnem in hkrati po praženem in oreških.

### 3 POVZETEK

Prisotnost PAH v živilih je posledica kontaminacije iz zraka na površino rastlin, lahko pa nastanejo tudi med nekaterimi postopki predelave in priprave živil (sušenje, dimljenje, pečenje na žaru, praženje). Nekateri PAH in predvsem njihovi epoksidi so poznani kot genotoksični, kancerogeni, imunotoksični in teratogeni. Prehrana predstavlja enega od glavnih virov izpostavljenosti PAH pri ljudeh, zato prisotnost le-teh v hrani zahteva stalno spremljanje.

Praženje bučnih semen je bistvenega pomena za razvoj tipične barve, arome in okusa bučnega olja, pri tem pa so semena izpostavljena temperaturam nad 100 °C, do 60 min, kar lahko vodi do nastanka PAH. Uredba ... (2011) predpisuje mejno vrednost BaP 2,0 µg/kg in skupno vrednost BaP, BaA, BbF in Kri 10,0 µg/kg. Posledično pogoji praženja ne smejo temeljiti le na senzoričnih lastnostih, temveč je treba nadzorovati tudi vsebnosti PAH v olju.

Izkazalo se je, da višja temperatura praženja bučnih semen poveča vsebnost PAH v bučnem olju. Primerjava treh študij je pokazala, da temperatura praženja nižja od 150 °C zagotavlja povsem varno bučno olje z nizko vsebnostjo PAH. Praženje bučnih semen pri temperaturi 150 °C je povzročilo opazno povečanje vsebnosti, zato je pri tej temperaturi že potrebna večja pazljivost, vendar vsebnosti BaP in skupne vsebnosti štirih PAH (BaP, BaA, BbF in Kri) v bučnem olju niso presegle predpisanih mejnih vrednosti. Vsebnosti PAH v vzorcih so bile na splošno nizke, od nezaznavnih v vzorcih bučnega olja iz nepraženih semen, do najvišje skupne vsebnosti PAH 13,8 µg/kg v vzorcu olja, praženem pri 150 °C. Med študijami je sicer prišlo do posameznih odstopanj. Vsebnosti BaP v olju iz semen, praženih pri 150 °C so bile pod mejo določljivosti (0,02 µg/kg) pa vse do 1,0 µg/kg. Vsota štirih PAH (BaA, Kri, BbF, BaP) je znašala od 1,5 µg/kg, do 8,1 µg/kg. Izbira temperature je zato lahko odvisna predvsem od senzoričnih značilnosti bučnega olja.

Naraščajoča temperatura praženja bučnih semen vpliva na spremembe v sestavi hlapnih spojin (arome). Aroma se spreminja od zaznave po zelenem, svežem, sadnem (zaradi aldehydov in alkoholov) do arome po praženem, oreških in zažganem (posledica tvorbe pirazinov). Kupec pričakuje, da bo bučno olje imelo značilno aromo, torej je izbira temperature bistvenega pomena.

Zaključimo lahko, da praženje bučnih semen pri temperaturi 120 °C daje bučno olje z zelo nizkimi vsebnostmi PAH, hkrati pa zagotavlja značilno in zaželeno aromo bučnega olja po svežem in zelenem ter hkrati po praženem in oreških. Koraka praženja torej ni smiselno izpustiti, saj zagotavlja značilno aromo, ob pravilnih pogojih ne vodi v prekomerno tvorbo PAH, hkrati pa se je izkazalo, da ne vpliva na zmanjšanje vsebnosti antioksidantov (tokoferolov in fenolnih spojin) v bučnem olju.

#### 4 VIRI

- Abdel-Shafy H. I., Mansour M. S. M. 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remedation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25, 1: 107-123
- Burchiel S. W., Luster M. I. 2001. Signaling by enviromental polycyclic aromatic hydrocarbons in human lymphocytes. *Clinical Immunology*, 98, 1: 2-10
- Campo L., Rossela F., Pavanello S., Mielzynska D., Siwinska E., Kapka L., Bertazzi A., Fustinoni S. 2010. Urinary profiles to assess polycyclic aromatic hydrocarbons exposure in coke-oven workers. *Toxicology Letters*, 192, 1: 72-78
- Dost K., Ideli C. 2012. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and barbecued food by HPLC/ UV-Vis detection. *Food Chemistry*, 133, 1: 193–199
- EFSA. 2008. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA Journal*, 6, 8: 724, doi: 10.2903/j.efsa.2008.724: 114 str.
- Fruhwith G. O., Wenzl T., El-Toukhy R., Wagner F. S., Hermetter A. 2003. Fluorescence screening of antioxidant capacity in pumpkin seed oils and other natural oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 6: 266-274
- Fruhwith G. O., Hermetter A. 2007. Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 11: 1128-1140
- Fruhwith G. O., Hermetter A. 2008. Production technology and characteristics of Styrian pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 7: 637-644
- Juranovic I., Breinhoelder P., Steffan I. 2003. Detemination of trace elements in pumpkin seed oils and pumpkin seeds by ICP-AES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, 1: 54–58
- Kocjan Ačko D. 1999. Pozabljene poljščine. Ljubljana, Kmečki glas: 187 str.
- Lewtas J. 2007. Air pollution combustion emissions: Characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive and cardiovascular effects. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 636, 1-3: 95-133

- Mandl A., Reich G., Lindner W. 1999. Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific  $\Delta^7$ -phytosterols. *European Food Research and Technology*, 209, 6: 400-406
- Marinangeli C. P. F., Varady K. A., Jones P. J. H. 2006. Plant sterols combined with exercise for the treatment of hypercholesterolemia: overview of independent and synergistic mechanisms of action. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17, 4: 217-224
- Matsui T., Guth H., Grosch W. 1998. A comparative study of potent odorants in peanut, hazelnut, and pumpkin seed oils on the basis of aroma extract dilution analysis (AEDA) and gas chromatography-olfactometry of headspace samples (GCOH). *Chemische Revue über die Fett- und Harz-Industrie*, 100, 2: 51-56
- Meador J. P., Stein J. E., Reichert W. L., Varanasi U. 1995. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 143: 79-165
- Moret S., Conte L. S. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, 882, 1-2: 245-253
- Murkovic M., Piironen V., Lampi A. M., Kraushofer T., Sontag G. 2004. Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds). *Food Chemistry*, 84, 3: 359-365
- NASA. 2015. Why comets are like deep fried ice cream. Pasadena, Jet Propulsion Laboratory, California Institute of Technology: 3 str.  
<https://www.jpl.nasa.gov/news/news.php?feature=4480> (7. avg. 2018)
- Perera F., Tang D., Whyatt R., Lederman S. A., Jedrychowski W. 2005. DNA damage from polycyclic aromatic hydrocarbons measured by benzo(a)pyrene-DNA adducts in mothers and newborns from Northern Manhattan, the World Trade Center Area, Poland, and China. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14, 3: 709-714
- Phillips D. H. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research/Genteic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443, 1-2: 139-147
- Potočnik T., Košir I. J. 2017. Influence of roasting temperature of pumpkin seed on PAH and aroma formation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119, 3: 1500593, doi: 10.1002/ejlt.201500593: 8 str.

- Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R. 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*, 42, 13: 2895-2921
- Sanjur O. I., Piperno D. R., Andres T. C., Wessel-Beaver L. 2002. Phylogenetic relationships among domesticated and wild species of *Cucurbita* (Cucurbitaceae) inferred from a mitochondrial gene: Implications for crop plant evolution and areas of origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 1: 535-540
- Siegmund B., Murkovic M. 2004. Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 2: volatile compounds). *Food Chemistry*, 84, 3: 367-374
- Specifikacija za Štajersko prekmursko bučno olje. 2015. Slovenska Bistrica, Gospodarsko interesno združenje Golica: 54 str.
- Stuart S. G. 1983. Comparative biochemical and genetic studies of testa development in normal and hull-less phenotypes of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Doctoral Dissertation. Durham, University of New Hampshire: 80 str.
- Uredba Komisije (EU) št. 835/2011 z dne 19. avgusta 2011 o spremembi Uredbe Komisije (ES) št. 1881/2006 glede mejnih vrednosti policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih. 2011. Uradni list Evropske unije, L 215: 4-8
- Van Hoed V., Sampaio K. A., Felkner B., Bavec F., Scippo M. L., Brose F., Bavec M., Verhe R. 2017. Tocopherols and polyphenols in pumpkin seed oil are moderately affected by industrially relevant roasting conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119, 12: 1700110, doi: 10.1002/ejlt.201700110: 27 str.
- Zaključno poročilo ciljnega raziskovalnega projekta: Analiza onesnaženosti in možnosti za zmanjšanje policikličnih aromatskih ogljikovodikov v živilih. 2014. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, ARRS: 39 str.