

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Vliv různých skladovacích technik na nutriční parametry  
vlašských ořechů**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Jakub Šimandl**

**Obor studia: Kvalita produkce**

**Vedoucí práce: Ing. Pavel Nový, Ph.D.**

© 2018 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vliv různých skladovacích technik na nutriční parametry vlašských ořechů " jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2018

---

### **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Pavlu Novému, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce, za ochotu, věnovaný čas a cenné rady poskytované v průběhu zpracování práce. Dále děkuji Katedře kvality zemědělských produktů za možnost provedení měření v laboratořích.

# Vliv různých skladovacích technik na nutriční parametry vlašských ořechů

## Souhrn

Cílem bakalářské práce bylo založení dlouhodobého skladovacího pokusu vlašských ořechů a následné vyhodnocení vlivu skladování na kvalitativní parametry.

Literární rešerše zahrnuje poznatky o botanickém zařazení, historii a rozšíření vlašského ořechu. Zejména se pak zabývá jeho nutričními složkami a jejich vlivem na lidský organismus. Vlašské ořechy mají příznivé účinky na lidský organismus, působí na snížení hladiny cholesterolu v těle, snižují riziko koronárních srdečních onemocnění a výrazně podporují správnou funkci mozku. Důležitým faktorem pro udržení kvalitativní parametrů je jejich správné skladování. Při skladování je důležité zabránit oxidaci, žluknutí tuků, rozvoji mikroorganismů a vzniku mykotoxinů, které představují potenciální riziko pro zdraví lidí. Literární rešerše se dále věnuje technickým normám a vyhlášce vztahující se ke skořápkovým plodům.

V praktické části byl založen dlouhodobý skladovací pokus a byly porovnány kvalitativní parametry ořechů na začátku skladovacího pokusu při různých způsobech skladování. Pro zjištění kvalitativních parametrů byly použity ořechy zamražené, vakuované, tepelně ošetřené a část ořechů byla ponechána ve skořápce. Byly sledovány změny v profilu mastných kyselin, obsahu fenolických látek, peroxidového čísla a počtech mikroorganismů.

Výsledkem práce je založení dlouhodobého skladovacího pokusu a výchozí měření. Naměřené hodnoty slouží k porovnání nutričních parametrů vlašských ořechů. V důsledku toho, že se jedná pouze o prvotní měření, nemůžeme s jistotou určit, který způsob skladování je nejvhodnější a nejvíce ovlivní kvalitativní parametry ořechů. Jako optimální uskladnění vlašských ořechů se z naměřených výsledků jeví metoda zmrazení, při které došlo k minimálnímu vlivu na nutriční parametry.

**Klíčová slova:** vlašské ořechy, *Juglans regia* L., nutriční hodnota, TPC, profil mastných kyselin, skladování

# The influence of storage techniques on walnut nutritional value

## Summary

The aim of this thesis was establishing a long-term storage experiment of walnuts to evaluate the effect of storage on qualitative parameters.

Literary research includes knowledge on botanical classification, history and walnut distribution around the world. It particularly deals with its nutritional components and their influences on the human organisms. Walnuts have beneficial effects on the human body, reduce cholesterol levels in the body, reduce the risk of coronary heart disease and significantly promote proper brain function. An important factor in maintaining qualitative parameters is proper storage. An important factor in maintaining qualitative parameters is their proper storage. During storage, it is important to prevent oxidation, rancidification, the development of micro-organisms and the formation of mycotoxins that pose as a potential risk to human health. Literary research also focuses on the technical standards for the quality characteristics and the public notice relating to shelled fruits.

In the practical part, a long-term storage experiment was established, and the qualitative parameters were compared at the beginning and end of the storage experiment using different storage methods. To determine the qualitative parameters, some nuts were frozen, some vacuum packed, some heat-treated and some left in their shell. Changes in the fatty acid profile, phenolic content, peroxide number and microbial changes were monitored.

The result of the work is the establishment of a long-term storage experiment and initial measurement. The measured values serve to compare walnut nutrition parameters. Since this is only an initial measurement, we cannot reliably determine which storage method is the most appropriate and most likely affects the qualitative parameters of the nuts. As an optimal storage of walnuts with minimal effect on nutritional parameters seems that the freezing method is the best one.

**Keywords:** walnuts, *Juglans regia* L., nutritional value, TPC, fatty acid profile, storage

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše .....</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Ořešák královský (<i>Juglans regia</i> L.).....</b>	<b>3</b>
<b>3.2</b>	<b>Historie.....</b>	<b>3</b>
<b>3.3</b>	<b>Geografické rozšíření.....</b>	<b>3</b>
<b>3.4</b>	<b>Pomologické dělení odrůd .....</b>	<b>4</b>
<b>3.5</b>	<b>Stavba ořechu .....</b>	<b>4</b>
<b>3.6</b>	<b>Nejvýznamnější škůdci, choroby a fyziologické poruchy .....</b>	<b>5</b>
3.6.1	Hniloba vlašského ořechu .....	5
3.6.2	Hnědnutí listů ořešáku .....	5
3.6.3	Zdobnatka ořechová ( <i>Panaphis juglandis</i> ).....	5
<b>3.7</b>	<b>Nutriční parametry .....</b>	<b>5</b>
3.7.1	Tuky a mastné kyseliny .....	5
3.7.2	Bílkoviny .....	7
3.7.3	Sacharidy .....	7
3.7.4	Minerální látky.....	8
3.7.5	Vitamíny .....	9
3.7.6	Fytochemikálie.....	10
3.7.6.1	Karotenoidy.....	10
3.7.6.2	Fytosteroly.....	10
3.7.6.3	Tokoferoly.....	10
3.7.6.4	Fenoly.....	11
<b>3.8</b>	<b>Legislativa vztahující se ke skořápkovým plodům.....</b>	<b>11</b>
<b>3.9</b>	<b>Zdravotní účinky vlašských ořechů.....</b>	<b>12</b>
3.9.1	Vliv na zdraví člověka .....	12
3.9.2	Alergie na vlašské ořechy .....	12
<b>3.10</b>	<b>Skladování.....</b>	<b>13</b>
<b>3.11</b>	<b>Technické normy na znaky jakosti.....</b>	<b>14</b>
3.11.1	Skořápka .....	15
3.11.2	Jádro.....	15
3.11.3	Třídy jakosti.....	16
3.11.3.1	Výběr.....	16
3.11.3.2	I. jakost.....	16
3.11.3.3	II. jakost.....	16
<b>3.12</b>	<b>Mykotoxiny .....</b>	<b>17</b>
3.12.1	Aflatoxiny .....	17

<b>4</b>	<b>Materiály a metody .....</b>	<b>19</b>
4.1	Použité chemikálie.....	19
4.2	Použité pomůcky a přístroje .....	20
4.3	Založení skladovacího pokusu .....	21
4.4	Stanovení peroxidového čísla .....	21
4.4.1	Příprava roztoků.....	21
4.4.2	Příprava vzorků.....	22
4.4.3	Vlastní stanovení.....	22
4.5	Obsah fenolických látek.....	23
4.5.1	Příprava vzorků k analýze.....	23
4.5.2	Provedení analýzy .....	24
4.6	Stanovení profilu mastných kyselin.....	24
4.6.1	Příprava roztoku 0,4 M hydridu sodného v metanolu .....	24
4.6.2	Postup stanovení .....	24
4.7	Stanovení počtu kolonií bakterií a plísní.....	25
4.7.1	Příprava fyziologického roztoku (0,9% vodný roztok chloridu sodného) .....	25
4.7.2	Příprava médií SDA a PCA .....	25
4.7.3	Vlastní stanovení.....	25
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>27</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>30</b>
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>32</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>33</b>
<b>9</b>	<b>Seznam zkratk .....</b>	<b>38</b>
<b>10</b>	<b>Seznam tabulek a grafů .....</b>	<b>39</b>

# 1 Úvod

Vlašské ořechy patří mezi nejrozšířenější komerčně vypěstované stromové ořechy na světě. Jedná se o jedlá semena ze stromů rodu *Juglans*. Největším producentem na světě je Čína, USA a Turecko. Využití vlašského ořechu je víceúčelové, využívá se k jídlu, k cukrářské výrobě, na pekařské účely, na výrobu léků, barviv, lepidel, kosmetiky, oleje, nábytku a řezbářské předměty. Ořech je ceněn pro svou výživovou hodnotu. Vlašské ořechy obsahují v průměru 60 - 80 % lipidů. Jsou bohaté na polyenové mastné kyseliny s obzvláště vysokým poměrem Omega6:Omega3 - nejvyšší u všech stromových ořechů. Důležitý je i zdroj vitamínů jako je vitamín E, thiamin, riboflavin, niacin, kyselina pantothenová a kyselina listová, stejně jako minerály jako vápník, železo, hořčík, fosfor, draslík, sodík a zinek. Vlašské ořechy obsahují také další důležité minerály, jako je beta-karoten, lutein a zeaxantin. Jsou dobrým zdrojem vlákniny. Bohatý je i zdroj antioxidantů, jako je kyselina ellagová, katechin, melatonin a kyselina fytová.

Konzumací vlašských ořechů bylo prokázáno mnoho přínosů pro zdraví, včetně sníženého rizika kardiovaskulárních onemocnění, koronárních srdečních onemocnění, snížení cholesterolu, léčby diabetu typu II a prevence a léčby některých nádorových onemocnění a zmírnění příznaků způsobených věkem a jinými neurologickými poruchami. Vlašské ořechy byly vždy považovány za “mozkové potraviny“, možná proto, že povrchová struktura ořechů má vzhled jako mozek. Z tohoto důvodu byly považovány za symbol inteligence, což vedlo k přesvědčení, že skutečně zvyšují intelekt. Studie prokázaly, že konzumace těchto semen pomáhá při podpoře mozkových funkcí. Vlašské ořechy mají i své nežádoucí účinky a to, že někteří jedinci mohou být na ně alergičtí.

Vlašské ořechy, stejně jako ostatní stromové ořechy, musí být řádně zpracovány a uloženy. Špatné skladování dělá vlašské ořechy náchylné k žluknutí, napadení hmyzem a plísním. Nejzávažnější je výskyt aflatoxinu - silný karcinogen.

Zkoumají se proto jak možnosti, jak včas závadné vzorky odhalit, tak různé způsoby, jak kažení ořechů předcházet.



## **2 Cíl práce**

Cílem práce bylo založení dlouhodobého skladovacího pokusu a porovnání různých způsobů skladování vlašských ořechů pro zachování jejich kvalitativních hodnot. Dílčím cílem bylo sledování vlivu skladování na profil mastných kyselin, obsah fenolických látek, peroxidového čísla a mikrobiálních změn. Souhrnným cílem práce bylo porovnat výsledky získané v experimentální části s dostupnými údaji v odborné literatuře.

Hypotéza: Lze předpokládat, že různé způsoby skladování mohou ovlivnit kvalitativní parametry vlašských ořechů.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Ořešák královský (*Juglans regia* L.)

Ořešák královský neboli ořech vlašský patří do řádu ořešákovitých (*Juglandales*), čeledi ořešákovitých (*Juglandaceae*), rodu *Juglans* L. (Richter, 2004). Jedná se o pomalu rostoucí stromy, které dosahují výšky 20 – 25 m a ve zvláště příznivých podmínkách mohou některé typy dosáhnout výšky až 32 m. Kmen i větve jsou válcovité, mají šedobílou borku, které praská v podélném směru k zemi a mezi trhlinami tvoří pravidelné ploché pláty (Šobek, 1958). Listy jsou velké, 15 – 40 cm dlouhé, lichozpeřené. Ořešák je strom jednodomý s květy větrosnubnými a jednopohlavními. Samičí květy jsou nenápadné, samčí květy tvoří tzv. jehnědy. Plodem je nepravá peckovice. (Hladík a kol., 1966).

### 3.2 Historie

Vlašské ořechy mají bohatou historii, která se datuje tisíce let. První historický záznam o pěstování pochází z roku 2000 př. n. l. z Babylonu (dnešní Irák). Archeologické vykopávky z jihozápadní oblasti Périgord ve Francii objevily opečené skořápky z období neolitu, což naznačuje, že v Evropě byly vlašské ořechy konzumovány před 8000 lety. Ve starověku býval vlašský ořech symbolem plodnosti a erotiky. Rodový název vznikl spojením slov „gla“ a „Jovis“, což v překladu znamená Jupiterův žalud. Druhové jméno „regia“ znamená královský. Odráží tak úctu, kterou lidé k ořechům chovali. Antičtí Řekové začali výběrové pěstování ořechů. Poté byl ořech široce kultivován v Evropě a částech severní Afriky Římany. Ořešák se dostal až na sever do Anglie. Na počátku 18. století byly vlašské ořechy převezeny z Anglie do Ameriky a vzniklo jméno „anglický vlašský ořech“. Podle keltských legend je ořech symbolem koncentrované moudrosti pro svůj vzhled připomínající lidský mozek (Fruit and Nut, 2017).

### 3.3 Geografické rozšíření

Přirozeně roste ořešák na Balkánu, ve Střední a Malé Asii a dosahuje až k úpatí Himalájí. Na začátku 18. století byl převezen i do Ameriky. Dnes se řadí mezi nejpěstovanější dřeviny na světě. Na našem území se nejvíce vyskytuje po celé Moravě a v severozápadních Čechách. Nejčastěji se pěstuje v zahradách a parcích. Upřednostňuje světlá stanoviště a vlhké humózní půdy bohaté na vápník (Richter, 2004).

### 3.4 Pomologické dělení odrůd

Rozlišujeme několik skupin, z nichž jsou z pěstitelského a šlechtitelského hlediska významné:

- **kamenáče** (var. *durissima*) s tvrdou tlustostěnnou skořápkou a obtížnou leštitelností, nevyluštěné plody mají dlouhou skladovatelnost min. 2 roky,
- **křapáče** (var. *maxima*) s velkými plody a s velmi rozbrázděnou skořápkou, dobrá luštitelnost jader. Obsahují hodně vody, skladovatelnost jader je krátká, po sklizni vhodné ihned dosušit pouze jádra nebo zamrazit.
- **papírky** (var. *tenera*) s velmi tenkou a hladkou skořápkou, luštitelnost jader velmi dobrá, skladovatelnost 1/2 roku,
- **polopapírky** (var. *tenera*) s polotvrdou skořápkou, lehce luštitelné, skladovatelnost min. 1. rok,
- **hroznovité kamenáče** (var. *racemosa*)
- **hroznovité polopapírky** (var. *fertilis*)
- **červenojádré** (var. *rubra*) s červeně zbarveným osemením (Nesrsta a kol., 2013).

V roce 2017 bylo ve Státní odrůdové knize ČR zapsáno 13 odrůd ořešáku vlašského: Apollo; Bohumil; Jupiter; Kardinál; Lake; Mars; Moravský karmín; Saturn; Seifersdorfský; Senický; Sychro; Victoria; Vilém (ÚKZÚZ, 2017).

### 3.5 Stavba ořechu

Plodem jsou peckovice, kde zdřevnatělou vnitřní vrstvu (endokarp nazývaný ořech) obaluje ve zralosti pukající zdužnatělý perikarp (epikarp s mezokarpem). V obalu je jen jeden ořech.

Vnější zelený obal je v mládí dočasně pokryt bělavými chloupky a větším množstvím bílých skvrn. Obsahuje mnoho junonu a taninu. Střední část vyživuje plod hustými sítěmi cév.

Vnitřní obal, skořápka, se skládá ze dvou vrstev. Vnější vrstva je silnější než vnitřní, vnitřní přirůstá k vnější. Vnější vrstvu pokrývají sítě rýh a vrásek, které dávají charakteristickou podobu povrchu skořápky. Tloušťka skořápek je u každé odrůdy různá. Čtyřdílné jádro je od sebe odděleno zdřevnatělými příhrádkami. Jádro je pokryto tenkou světle žlutou/hnědou (červenou) slupkou, která u čerstvého plodu je olejovitá, snadno snímatelná a mírně nahořklá. Časem pak ztrácí chuť, vyschne a přilne na jádro (Šobek, 1958).

## **3.6 Nejvýznamnější škůdci, choroby a fyziologické poruchy**

### **3.6.1 Hniloba vlašského ořechu**

Bakterióza, která může ve vlhčích letech poškozovat už zelené plody, kdy na rubině se objevují vpadlé černé skvrny. Zasažené bývá i jádro (měkké, nekonzumní), ale poškozeny mohou být i pupeny, květenství, výhony a listy (Nesrsta a kol., 2013).

### **3.6.2 Hnědnutí listů ořešáku**

Jedná se o houbovou chorobu, kdy se na listech a plodech objevují hranaté nebo okrouhlé šedožluté skvrny, které jsou hnědě olemované. Při silném napadení, může docházet i k předčasnému opadu. Jako prevence je vhodné shrabování a likvidace napadených listů - houba v nich přezimuje. Při opakovaném a silném výskytu je vhodné aplikovat přípravek s obsahem mědi (Nesrsta a kol., 2013).

### **3.6.3 Zdobnatka ořechová (*Panaphis juglandis*)**

Zdobnatka je žlutavě zbarvená mšice s hnědou kresbou, která saje na vrchní straně listů. Nezpůsobuje vážnější škody (Nesrsta a kol., 2013).

## **3.7 Nutriční parametry**

### **3.7.1 Tuky a mastné kyseliny**

Vlašský ořech (*J. regia* L.) je po celou dobu konzumován díky své vysoké nutriční hodnotě. Obsahuje velké množství tuku v rozmezí 50-80% (Mitrovic et al., 1997). Hlavní prvky tuku jsou triglyceridy, které jsou bohaté na monoenoové (zejména kyselina olejová) a polyenoové mastné kyseliny (linolové a  $\alpha$ -linolenové kyseliny). Navíc i přítomnost dalších bioaktivních složek, jako jsou fenoly, tokoferoly a fytosteroly - je významné (Martínez et al., 2006).

Mastné kyseliny v ořechovém oleji jsou převážně nenasycené. Ve srovnání s jinými skořápkovými plody obsahující převážně monoenoové mastné kyseliny (MUFA), vlašský ořech (*J. regia* L.) je poměrně bohatý o polyenoové mastné kyseliny (PUFA), jako jsou Omega-6 a Omega-3. Složení mastných kyselin může ovlivnit různé fyziologické a biochemické procesy, včetně regulace krevního tlaku, metabolismu glukózy, lipidický metabolismus, agregaci trombocytů a deformovatelnost erytrocytů (Amaral et al., 2003).

Poměr tuku a profil mastných kyselin ořechů se liší mezi kultivary a genotypy (Zwarts et al., 1999).

Simsek (2015) zjistil měření u různých typů vlašských ořechů (*J. regia* L.) v Turecku, že hlavními kyselinami byly kyselina linolová následovaná kyselinou olejovou a kyselinou linolenovou. Kyselina linolová byla nejrozšířenější mastnou kyselinou u všech analyzovaných typů vlašských ořechů v rozmezí od 50,24 do 60,6 %. Kyselina olejová, druhá nejhojnější mastná kyselina, se pohybovala v rozmezí od 20,7 do 28,33 %, následovala kyselina linolenová (5,04 až 10,93 %). Ze zbývajících mastných kyselin byly přítomny pouze kyseliny palmitová a stearová v znatelných množstvích v rozmezí od 1,8 do 5,53 % a 1,17 až 2,22 %. Celkové složení mastných kyselin bylo 4 - 7,86 % nasycených mastných kyselin (SFA), 22,17 - 29,73 % monoenoových mastných kyselin (MUFA) a 62,73 - 71,43 % polyenoových mastných kyselin (PUFA). Kompozice mastných kyselin různých typů vlašských ořechů (*J. regia* L.) jsou uvedeny v tabulce 1.

Složení mastných kyselin z vlašských ořechů je ovlivněno druhem ořechů, kultivarů, hnojivy aplikovanými během růstu, geografickým umístěním, zpracováním, klimatickými a půdními podmínkami (Davis et al., 2007).

**Tabulka 1:** Kompozice mastných kyselin různých typů vlašských ořechů (Simsek, 2015)

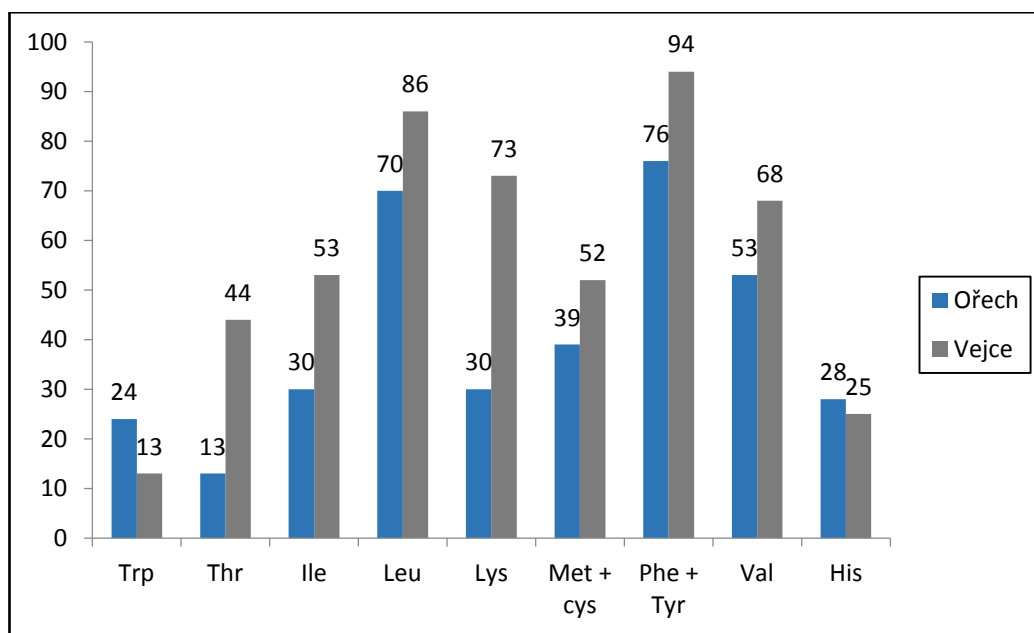
Mastné kyseliny	Vzorky ořechů a hodnoty									
	YE 3	YE 8	YE15	YE18	YE23	YE26	YE30	YE34	YE39	YE48
<b>Linolová kys.</b>	60,60	57,62	50,24	54,78	56,16	52,05	57,05	56,60	55,74	53,20
<b>Linolenová kys.</b>	11,49	15,04	12,49	10,93	12,09	11,55	14,25	11,92	11,96	14,86
<b>Total PUFA</b>	71,43	70,93	62,73	65,71	68,25	63,61	71,30	68,53	67,70	68,06
<b>Olejová kys.</b>	21,41	20,70	28,33	26,62	23,39	27,61	22,03	24,94	25,54	26,81
<b>Total MUFA</b>	22,17	22,18	29,73	27,97	24,51	28,53	22,83	26,05	26,92	28,04
<b>Palmitová kys.</b>	4,26	3,96	4,74	3,54	4,26	4,74	3,76	3,40	2,49	1,80
<b>Stearová kys.</b>	2,22	1,77	1,64	1,37	1,47	1,21	1,37	1,27	1,82	1,17
<b>Myristová kys.</b>	0,06	0,14	0,23	0,51	0,32	0,62	0,23	0,18	0,04	0,08
<b>Total SFA</b>	6,52	7,09	7,29	6,39	7,31	7,86	6,05	5,46	5,44	4,00

### 3.7.2 Bílkoviny

Celkový obsah bílkovin je u některých ořechů poměrně vysoký, což je činí dobrým zdrojem rostlinných bílkovin. Vlašské ořechy společně s arašídami, mandlemi, pistáciemi a kešu ořechy mají nejvyšší obsah bílkovin, následují lískové ořechy a piniové oříšky. Nejnižší obsah bílkovin mají pekanové a makadamové ořechy. Při pražení ořechů dochází k poklesu bílkovin důsledkem zvýšení tuku. Obsah bílkovin ve 100 g vlašských ořechů (*J. regia* L.) se pohybuje okolo 16 g, složený je převážně z albuminu (6,8 %), globulinu (17,6 %), prolaminu (5,3 %) a glutelinu (70,1 %) (Sze-Tao and Sathe, 2000). I když je celkové množství bílkovin v ořeších vysoké, biologická hodnota ořechů není příliš vysoká, protože jsou omezující v některých esenciálních aminokyselinách. Aminokyselinové složení vlašských ořechů (*J. regia* L.) bylo porovnáno s vejcem graf. 1.

Bílkovinný profil podle složení aminokyselin není moc optimální, protože jedna nebo více aminokyselin je přítomna v malém množství. Obsah bílkovin a aminokyselin v ořeších se také liší v závislosti na různých kultivarech (Brufau et al., 2006).

**Graf 1:** Srovnání aminokyselin (mg/g bílkovin) vlašského ořechu a bílkoviny vejce



(Brufau et al., 2006)

### 3.7.3 Sacharidy

Zahrnuje cukry, škroby, vlákninový komplex a jiné. Jsou základním zdrojem energie (měly by tvořit až 60 % energie z denního příjmu potravy), která se uvolňuje látkovou

přeměnou. Velký význam mají i v dalších procesech látkové přeměny. Kromě stravitelných složek jsou z hlediska výživy důležité i složky nestravitelné, především vláknina. Příznivě ovlivňují činnost trávicího traktu, Mají úlohu v prevenci aterosklerózy, cukrovky a rakoviny tlustého střeva. Vlašské ořechy (*J. regia* L.) obsahují průměrnou hodnotu 14,45 g/100 g celkových sacharidů, kde jednotlivé složky jsou glukóza 0,618 g/100 g, fruktóza 0,200 g/100 g, sacharóza 3,021 g/100 g, škrob 2,101 g/100 g, hrubá vláknina 2,715 g/100 g, celulóza 1,351 g/100 g a potravinová vláknina 5,925 g/100 g (Vojtaššáková a kol., 2000).

Podle databáze USDA (Ministerstvo zemědělství Spojených států) vlašské ořechy obsahují 13,71 g/100 g celkových sacharidů.

### 3.7.4 Minerální látky

Minerální látky jsou složkami všech živých organismů, lidské tělo se neskládá jen z organických látek a vody, ale v určitém množství obsahuje i minerální látky. V organismu se netvoří, přijímáme je v potravě. Jsou nevyhnutelnou součástí tělesných tekutin a nelze je ničím nahradit. Při jejich nedostatku se objevují různé poruchy funkcí organismu. Zúčastňují se různých biochemických dějů (Vojtaššáková a kol., 2000).

Vlašské ořechy jsou považovány za dobrý zdroj minerálních látek. Simsek (2015) zjistil měření u různých kultivarů ořechů průměrné hodnoty minerálních látek. Pořadí minerálních látek bylo  $K > P > S > Ca > Mg > Na > Fe > Mn > Zn > Cu$ . Průměrné hodnoty (mg/100 g) se pohybovaly u draslíku (K) 534,3-778,6; u fosforu (P) 346-584,8; u síry (S) 153,9-256,9; u vápníku (Ca) 100,9-233,9; u hořčíku (Mg) 117,8-181,4; u sodíku (Na) 8,67-19,29; u železa (Fe) 3,13-5,37; u manganu (Mn) 2,02-4,50; u zinku (Zn) 1,44-3,63 a u mědi (Cu) 0,77-2,44 (mg/100 g).

V jiné studii Yerlikaya et al. (2012) uvádějí, že průměrné hodnoty na různých genotypech a kultivarů z ořechů v mg/100 g byly K 359,7-483; Ca 109,5-336; Mg 126-165; Cu 0,92-1,8; Fe 2,78-4,85; Mn 1,52-4,79; Zn 2,45-4,3 a Na 2,45-9,99.

Je známo, že elementární složení půdy výrazně ovlivňuje minerální absorpci ořechem. Obecně, kyselé půdy zvyšují absorpci Mn a Cu a křídové půdy sníží absorpci železa. Takže elementární složení jader vlašských ořechů může být ovlivňováno typem a kultivarem vlašského ořechu, tak i rozdíly v prostředí a podmínkách růstu (Simsek, 2015).

### 3.7.5 Vitamíny

Jedná se o nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy. Heterotrofními organismy jsou syntetizovány jen v omezené míře (např. niacin z tryptofanu u člověka) a získávají je především potravou a některé z nich prostřednictvím střevní mikroflóry. V minimálním množství jsou nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Vitamíny nejsou stavebním materiálem a ani zdrojem energie, ale mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí. Vitamíny mají různou chemickou strukturu (Velíšek, 2002).

Vitamíny rozdělujeme podle rozpustnosti na vitamíny rozpustné ve vodě (hydrofilní vitamíny) a vitamíny rozpustné v tucích (lipofilní vitamíny). Vitamíny rozpustné ve vodě zahrnují hlavně vitamíny skupiny B (thiamin, riboflavin, niacin, pyridoxin, pantotenová kyselina, biotin, folacin a karinoidy) a vitamín C. Vitamíny rozpustné v tucích jsou A, D, E, K. Při nadbytku vodorozpustných vitamínů v organismu, dochází k jejich vyloučení močí a tak předávkování není možné. Zatímco vitamíny rozpustné v tucích se při nadměrné konzumaci hromadí v těle, čím může nastat škodlivé předávkování (Vojtaššáková a kol., 2000).

Ořechy vykazují dobrý zdroj vitamínů. Obsah vitamínů u vlašského ořechu (*J. regia* L.) je dobrý, zvláště u vitamínů B a E (tokoferol) (Cannella and Dernini, 2006). Vitamín E je nejvýznamnější lipofilní antioxidant. Spolu s  $\beta$ -karotenem a koenzymy Q chrání strukturu a integritu buněčných membrán (Velíšek, 2002). Obsah vitamínů u vlašského ořechu je uveden v tabulce 2.

**Tabulka 2:** Obsah vitamínů (USDA, 2018)

<b>Vitamín</b>	<b>Obsah</b>
<b>Folaty</b>	98 $\mu$ g
<b>Niacin</b>	1,125 mg
<b>Pantotenová kys.</b>	0,570 mg
<b>Pyridoxin</b>	0,537 mg
<b>Riboflavin</b>	0,150 mg
<b>Thiamin</b>	0,341 mg
<b>Vitamín A</b>	20 IU
<b>Vitamín C</b>	1,3 mg
<b>Vitamín E</b>	20,83 mg
<b>Vitamín K</b>	2,7 $\mu$ g



### 3.7.6 Fytochemikálie

Fytochemikálie jsou definovány jako bioaktivní složky živin v rostlinných potravinách. Jsou to sloučeniny obsahující dusík, karotenoidy, organosírové sloučeniny, fenoly a fytosteroly.

Ořechy obsahují bioaktivní složky, jako jsou fenoly, karotenoidy, fytosteroly a tokoferoly, o kterých bylo zjištěno, že mají biologické účinky na kardiovaskulární onemocnění, rakoviny a dalších typů chronického onemocnění (Davis, 2011).

#### 3.7.6.1 Karotenoidy

Jedná se o lipofilní organické látky z kategorie tetraterpenoidů. Jsou to pigmenty, které se vyskytují u rostlin, řas, hub a fotosyntetických bakterií (Davis, 2011). Existuje více než 600 známých karotenoidů, které byly izolovány z přírodních zdrojů a charakterizovány. Jsou rozděleny do dvou hlavních skupin, a to na xantofyly (ve své struktuře obsahují kyslík) a karoteny (jedná se o uhlovodíky a ve své struktuře neobsahují kyslík). Hlavní karotenoidy nacházející se v ořeších jsou zeaxantin,  $\beta$ -kryptoxantin,  $\beta$ -karoten a lutein. Jejich koncentrace je ale velice nízká (Chen and Blumberg, 2008).

#### 3.7.6.2 Fytosteroly

Jedná se o skupinu více než 200 přirozeně se vyskytujících rostlinných sterolů, které mají schopnost inhibovat absorpci cholesterolu ve stravě a snižovat hladinu cholesterolu. (Brauner, 2012). Převládajícími fytosteroly v ořeších byly sitosterol ( $\beta$ -sitosterol), stigmasterol a campesterol. Ořechy jsou známé jako bohaté zdroje fytosterolů a celkový obsah fytosterolů ořechů (v mg / 100g), jak uvádějí Chen and Blumberg (2008), jsou následující: pistácie 280; makadamiové 198; mandle 187; pekanové 150; kešu 138; lískové ořechy 120; vlašské ořechy 113; Brazílské ořechy 95 mg/100 g.

#### 3.7.6.3 Tokoferoly

Tokoferoly jsou přírodní chemické sloučeniny, z nichž mnohé mají aktivitu vitamínu E. Jedná se o silné antioxidanty, které chrání buněčné membrány před volnými radikály. Byly zhodnoceny obsahy  $\alpha$ -tokoferolu (v mg) z devíti typů ořechů. Mandle a lískové ořechy měly hodnotu více než 20 %. Brazílské ořechy a arašídové měly hodnotu mezi 10,0 a 19,9 %; kešu,

makadamové ořechy, pekanové oříšky, pistácie a vlašské ořechy obsahovaly hodnotu nižší než 10 %. Doporučená denní dávka (15 mg  $\alpha$ -tokoferolu/den). Ačkoli se ořechy liší v obsahu  $\alpha$ -tokoferolu, mohou přispět k plnění DDD pro vitamín E. V ořeších byly zjištěny i  $\beta$ -tokoferoly,  $\gamma$ -tokoferoly a stopy  $\delta$ -tokoferolu (Davis, 2011).

#### 3.7.6.4 Fenoly

Jedná se o skupinu aromatických organických sloučenin sestávajících z jedné nebo více hydroxylových skupin připojených k aromatické uhlovodíkové skupině. Jsou často označovány jako fenolické látky. Fenol je derivát benzenu a je nejjednodušším členem fenolické chemie. Jeho chemický vzorec je  $C_6H_5OH$  a jeho struktura je hydroxylová skupina (-OH) vázaná na fenylový kruh (Martins, 2011). Fenolické sloučeniny jsou všudypřítomné v rostlinných potravinách s celkovým denním příjmem odhadovaným na 500-1000 mg (Chen and Blumberg, 2008).

Celkové fenoly byly zjištěny ve stromových ořeších a arašídech. Profily z celkového množství fenolů a flavonoidů, včetně rozpustných volných i vázaných forem, vlašské ořechy obsahovaly nejbohatší celkový obsah fenolů a flavonoidů ( $1580,5 \pm 58,0$  mg/100 g,  $744,8 \pm 93,3$  mg/100 g v suchých ořeších) (Davis, 2011).

### 3.8 Legislativa vztahující se ke skořápkovým plodům

„Podle Vyhlášky č. 157/2003Sb. pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich se skořápkovými plody rozumí: plody nebo jejich semena, v surovém stavu nebo upražené či solené“. Vlašskými ořechy se rozumí: „jádra plodů ořešáku vlašského a jeho odrůd“.

“Označování:

Kromě údajů uvedených v zákoně a ve vyhlášce o způsobu označování potravin se skořápkové plody dále označí názvem skupiny a podskupiny, u kokosových ořechů a směsí skořápkových plodů pouze názvem podskupiny.“

Vyhláška stanovuje také požadavky na smyslovou a fyzikálně-chemickou jakost vlašských ořechů, uvedené v tabulce 3.

**Tabulka 3:** Smyslová a fyzikálně-chemická jakost (Vyhláška č. 157/2003Sb.)

Skupina	Podskupina	Vzhled	Barva	Chuť a vůně	Obsah vody nejvýše (%hmot.) jádra	Cizí příměs nejvýše (%hmot.)
vlašské ořechy	jádra	jádro dobře oddělené od skořápky, vyvinuté, zcela vyplňující skořápku	osemení žlutohnědé, jádro na lomu bílé až nažloutlé, pokryté světle hnědou až nahnědlou slupkou	ořechová, příjemně olejnatá, přirozeně natrpklá až mírně nahořklá	5,0	0,1

### 3.9 Zdravotní účinky vlašských ořechů

#### 3.9.1 Vliv na zdraví člověka

Stejně jako ostatní stromové oříšky mají i vlašské ořechy zvláštní zájem mezi světovou populací, jelikož jejich spotřeba je často spojena se zdravými návyky a rovnovážnými dietami. Pravidelná konzumace ořechů zlepšuje lipidový profil, což přispívá ke snížení hladiny cholesterolu a snižuje riziko koronárních srdečních onemocnění. Kromě toho mohou být přínosem příznivých účinků na zdraví jejich aktivní účinek na zánětlivé procesy, oxidační stres, vaskulární reaktivitu a kontrolu glykemie (Ros et al., 2010). Jedlé části vlašských ořechů jsou jádra, ačkoli obaly také představují zvýšený obchodní zájem, zvláště ty z *Juglans nigra* kvůli vysokému obsahu pigmentů (juglone a plumbagin) a taninům. V důsledku toho mají obaly z vlašských ořechů mnoho použití nejen jako barviva a inkousty, ale také jako silné antibakteriální, antimikrobiální a antimykotické látky (Costa et al., 2014).

#### 3.9.2 Alergie na vlašské ořechy

Znamé účinky vlašského ořechu v kombinaci s jeho příjemnou chutí vedly k jeho zařazení (semena nebo olej) do několika kuchařských pokrmů a pečiva. Spotřeba vlašských ořechů je velká a je oceňována mnoha jedinci. U části obecné populace však může příjem ořechů představovat zdravotní riziko vzhledem k možnému vyvolání přecitlivělosti u citlivých/alergických jedinců. Jako preventivní opatření od roku 1985 navrhla Komise Codex Alimentarius povinné označování potravin, které mohou obsahovat potenciálně

alergenní složky. Od roku 1993 byl ořech a další stromové ořechy definovány jako jedna z osmi skupin, které jsou zodpovědné za téměř 90 % lidských potravinových alergií. Od té doby byla legislativa vydávána a dále aktualizována, aby chránila citlivé/alergické jedince.

Alergie vyvolané potravinami mohou být klasifikovány jako imunoglobulin-E (IgE) zprostředkovaný, ne-IgE zprostředkovaný, nebo kombinace obou. Většina reakcí zprostředkovaných IgE je charakterizována řadou symptomů (zahrnujících kůži, gastrointestinální, kardiovaskulární a respirační trakt), které se běžně objevují během prvních dvou hodin po požití potraviny. Alergie na vlašské ořechy jsou častější v USA spolu s alergiemi na mandle a kešu, oproti Evropě, kde je hlášena alergie na lískové ořechy. Na základě rozsáhlého celoevropského výzkumného projektu (EuroPrevall) financovaného Evropskou komisí, který byl konkrétně zvolen k vyhodnocení výskytu a výdajů na potravinové alergie, byly poskytnuty údaje o výskytu alergie na ořechy (Mills et al., 2007). V rámci tohoto projektu, zahrnujícího množství center z celkem 13 zemí (USA, Austrálie a jedenácti zemí z Evropy), bylo testováno 5 alergenů z celkem 24 potravin, které byly předtím definovány jako priority (včetně ořechů) proti sérum citlivých/alergických předmětů. Francie vykazovala nejvyšší výskyt pacientů s alergií na ořechy (3,7 %), následuje Německo (3,3 %), Itálie (3,1 %) a Španělsko (3,1 %). Z celkového počtu 24 potravin, které byly v uvedené studii zkoumány, byly vyhodnoceny pouze dva ořechy (lískové ořechy a vlašské ořechy). Alergie z vlašských ořechů byla patnáctá, první místo obsadila alergie na lískové ořechy (Costa et al., 2014).

### **3.10 Skladování**

Nejvhodnějším skladování ořechů je ve skořápce. Skořápka je ideální ochranná bariéra, která napomáhá regulaci vlhkosti a teploty. Jádra ořechů, která jsou vystavena množství kyslíku, můžou začít oxidovat, žluknout.

Po sklizni je nejdůležitější ořechy pořádně vysušit, protože obsahují množství vody a mohlo by docházet k tvorbě plísní. U plesnivějících ořechů vznikají Aflatoxiny, které mají vysokou toxicitu. Nejideálnější je ořechy sušit rozprostřené na síť (ořechy nesmějí být ve vrstvách na sobě) a dát na slunce. Vhodné je i proudění čerstvého vzduchu. Podobné sušení je v dřevěných přepravkách, kde ořechy jsou do šesti týdnů proschlé. Uchování vysušených ořechů ve skořápce je nejlepší v rašlových pytlích, zavěšené na suché půdě nebo uložené v papírových sáčcích v chladném, suchém a tmavém místě. Ořechy ve skořápce, které jsou dobře skladované, vydrží až rok (do další sezóny). Vyloupané ořechy můžeme skladovat více

způsoby, například zamražené, tepelně ošetřené, chlazené, na sucho ve sklenici nebo i naložené v medu (Čepelíková, 2015).

**Mražené ořechy** – pro ořechy skladované v mrazáku je nejlepší je uložit do dobře uzavíratelných igelitových sáčků, aby nedošlo k absorbování pachů z jiných potravin. V mrazáku vydrží ořechy při teplotě -18 °C celý rok. Nedoporučuje se delší skladování, poté ořechy ztrácejí svou ořechovou chuť.

**Tepelně ošetřené ořechy** – ořechy se vloží do vymytých, suchých sklenic a uzavrou se. Zavařují se v troubě při 80 °C přibližně 20 minut. Zavařené ořechy vydrží i několik let.

**Naložené v medu** – v poměru 1:1 se smíchají ořechy s medem, zahřívají se na mírném plameni a plní do sklenic.

Ořechy uložené v lednici vydrží cca 2 – 3 měsíce (Čepelíková, 2015).

Bakkalbasi et al. (2012) sledovaly během dvanácti měsíční skladovací doby účinky skladovací teploty, propustnost kyslíku obalových materiálů a rozdíly oxidační stability vakuově zabalených jader vlašských ořechů. Oxidační experimenty byly použity na dvě odrůdy vlašských ořechů (Yalova 1 a Yalova 2), které jsou pěstovány v Turecku. Peroxidové číslo a hexanový obsah vzorků vlašských ořechů se značně zvýšil, když byly ořechy skladovány při teplotě 30 °C. Největší hexanový obsah (4464,5 – 6406,9 mg/kg) byl zpozorován ve vzorku Yalova-3, který byl skladován dvanáct měsíců při 30 °C v polyamidových/polyethylenových plastových vacích (propustnost kyslíku: 63,4 +/-) s tloušťkou 90 mm. Zjistilo se, že účinky skladovacích teplot a druhů měly vyšší podíl oxidaci lipidů než propustnost kyslíku na obalovém materiálu. Bylo vyvozeno, že pro vakuově balená jádra vlašských ořechů v polyamidových/polyethylenových plastových vacích s propustností kyslíku je dostatečné na jejich ochranu proti oxidaci po dobu dvanácti měsíců při teplotě 20 °C.

### **3.11 Technické normy na znaky jakosti**

Vlašskými ořechy čerstvými se označují ořechy uvedené do oběhu brzy po sklizni, nevhodné pro dlouhodobé skladování. Skořápka byla zbavena oplodí a ořechy nebyly nijak ošetřeny za účelem změny jejich přirozeného obsahu vody.

Vlašskými ořechy suchými se označují ořechy schopné pro dlouhodobé skladování za běžných podmínek skladování (ČSN 463082, 2003).

### **3.11.1 Skořápka**

Skořápka vlašských ořechů všech tříd jakosti musí být:

- a) neporušená
  - lehká povrchová poškození nejsou považována za vadu;
  - částečně otevřené ořechy se považují za neporušené, pokud zůstane jádro fyzicky chráněno;
- b) zdravá
  - bez vad, které by mohly ovlivnit přirozenou uchovatelnost plodů;
  - bez poškození škůdci;
- c) čistá, bez viditelných cizích látek;
- d) suchá, bez nadměrné povrchové vlhkosti;
- e) zbavená oplodí;

Skořápka vlašských ořechů suchých nesmí vykazovat stopy po odstranění oplodí (ČSN 463082, 2003).

### **3.11.2 Jádro**

Jádro vlašských ořechů všech tříd jakosti musí být:

- a) dostatečně suché, k zajištění zachování jakosti;
- b) pevné;
- c) zdravé, není dovoleno napadení hnilobou nebo s vadami, které jsou nevhodnými pro lidskou spotřebu;
- d) dostatečně vyvinuté, nedovolují se scvrklá jádra;
- e) čisté, bez viditelných cizích látek a skořápek;
- f) bez hmyzu nebo roztočů v jakémkoliv stádiu jejich vývoje;
- g) nepoškozené škůdci;
- h) nežluklé, bez olejovitého vzhledu;
- i) bez plísní
- j) bez nadměrné povrchové vlhkosti;
- k) bez cizího pachu a/nebo chuti;

Jádra vlašských ořechů musí být v takovém stavu, aby snesla přepravu, manipulaci a aby mohla být do místa určení doručena v odpovídající jakosti (ČSN 463083, 2003).

### **3.11.3 Třídy jakosti**

#### **3.11.3.1 Výběr**

Vlašské ořechy ve skořápce v této třídě musejí vykazovat vynikající jakost. Vykazují znaky typické pro odrůdu nebo směs odrůd, úředně stanovenou pěstitelskou zemí a uvedenou na obale. Jsou bez vad s výjimkou velmi lehkých povrchových poškození, pokud nezhoršují celkový vzhled, uchovatelnost a jakost výrobku a jeho obchodní úpravu v obalu.

U odrůd, u nichž není zaručena odrůda nebo u nichž není stanoveno složení směsi, nesmějí být do této kategorie zařazeny.

V této třídě jakosti mohou být zařazeny pouze ořechy ve skořápce z poslední sklizně (ČSN 463082, 2003).

#### **3.11.3.2 I. jakost**

Vlašské ořechy ve skořápce zařazené do této třídy musí být dobré jakosti. Musejí vykazovat znaky typické pro odrůdu, tržní druh nebo směs určitých odrůd, úředně stanovenou pěstitelskou zemí a uvedenou na obale.

Jsou povoleny lehké vady, které nezhoršují celkový vzhled, jakost a uchovatelnost výrobku a jeho obchodní úpravu v obalu.

Vlašské ořechy ve skořápce, u kterých není zaručena odrůda nebo u nichž není stanoveno složení směsi, nesmějí být do této kategorie zařazeny (ČSN 463082, 2003).

#### **3.11.3.3 II. jakost**

V této třídě jakosti jsou zařazeny vlašské ořechy ve skořápce, které nemohou být zařazeny do vyšších tříd jakosti, ale odpovídají minimálním požadavkům. Jsou dovoleny vady, pokud zůstanou zachovány základní znaky jakosti, uchovatelnosti a obchodní úpravy výrobku (ČSN 463082, 2003).

### 3.12 Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity produkované houbami. Rostou na zemědělských produktech před sklizní, po sklizni, během přepravy nebo skladování. Hlavní mykotoxinové houby jsou druhy *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* (Kumar et al., 2008). Je identifikováno více než 400 mykotoxinů ve světě, ale nejdůležitější skupiny mykotoxinů, které jsou významným zdravotním problémem pro člověka a zvířata nacházející se často v potravinách jsou: aflatoxiny, ochratoxin A, trichoteceny, zearalenon a fumonisiny. (Bennett and Klich, 2003). Mykotoxiny obvykle vstupují do těla při požití kontaminované potravy, ale i cestou inhalací toxigenních spor a přímým kožním kontaktem. Vzhledem k jejich tepelné stabilitě, tyto látky představují potenciální riziko pro zdraví lidí a zvířat. Chemické a biologické vlastnosti mykotoxinů jsou různé a jejich toxické účinky jsou velmi variabilní. Tyto účinky jsou karcinogenita, genotoxicita, teratogenita, nefrotoxicita, hepatotoxicita a imunotoxicita (Zinedine and Manes, 2009).

Mykotoxiny se mohou vyskytovat jak v mírných, tak tropických oblastech světa, v závislosti na druhu hub. Hlavními potravinami postižené mykotoxiny jsou obiloviny, ořechy, sušené ovoce, káva, kakao, koření, olejná semena (Turner et al., 2009).

#### 3.12.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou karcinogenní sekundární metabolity produkované několika houbami, jako jsou *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. Aflatoxiny se mohou vyskytovat v potravinách kontaminovaných těmito houbami. To způsobuje potenciální ohrožení zdraví lidí a i ztráty hospodářské. Různé faktory působí vzájemně na ovlivnění růstu plísní a produkci aflatoxinů. Tyto faktory jsou obecně fyzikální, chemické a biologické. Fyzikální faktory zahrnují podmínky prostředí podporující kolonizaci hub a produkci mykotoxinu, jako je teplota, relativní vlhkost a zamoření hmyzem. Mezi chemické faktory patří použití fungicidů nebo hnojiv. Stresy, jako je sucho, zvýšení teploty a zvýšení relativní vlhkosti, mohou selektivně měnit kolonizaci a metabolismus mykotogenních hub, a tím změnit produkci mykotoxinu. Aflatoxiny mají nepříznivý vliv na lidi, zvířata a plodiny, které vedou k nemoci a ekonomickým ztrátám (Gurses, 2006).

Kontaminace *Aspergillus* spp. sušeného ovoce (arašídů, lískový ořech, vlašský ořech a mandle) se vyskytuje během sklizně, zpracování a skladování. Na celém světě byla zavedena řada legislativních kontrol mykotoxinů v potravinách a krmivech. V lednu 1999



stanovila Evropská unie hladiny maximálních aflatoxinů v zemědělských komoditách na 4 ppb, aflatoxin B<sub>1</sub> při 2 ppb. V USA federální zákon o potravinách a kosmetických výrobcích upravuje aflatoxiny na prahové hodnoty 20 ppb pro potraviny a krmiva (Hussein and Brasel, 2001). Plno zemí si stanovilo limity aflatoxinu B<sub>1</sub> pro některé potraviny, jako jsou pistácie, arašídy, vlašské ořechy a lískové ořechy. Limity jsou 0 ppb v Nizozemsku, 1 ppb ve Švýcarsku, 2 ppb v Německu, 2 ppb ve Finsku a 20 ppb v USA (Creppy, 2002).

Gurses (2006) detekoval Aflatoxin B<sub>1</sub> u vzorků vlašských ořechů (*J. regia* L.). Bylo testováno 24 vzorků, z kterých bylo 18 vzorků negativních a 6 vzorků pozitivních na Aflatoxin B<sub>1</sub>, průměrná hodnota aflatoxinu B<sub>1</sub> byla 22,1 ppb.

## 4 Materiály a metody

Úkolem bylo založit dlouhodobý skladovací pokus a porovnat vybrané kvalitativní parametry na začátku skladovacího pokusu při různých způsobů skladování. Analýzou byly sledovány změny u profilu mastných kyselin, obsahu fenolických látek, peroxidového čísla a mikrobiálních změn.

### 4.1 Použité chemikálie

Chemikálie použité pro stanovení peroxidového čísla:

- jodid draselný (Penta, Chrudim, ČR)
- škrob rozpustný p.a. (Lach-Ner Neratovice, ČR)
- thiosíran sodný pentahydrát (Lach-Ner Neratovice, ČR)
- dichroman draselný (Lach-Ner Neratovice, ČR)
- petrolether (Penta, Praha, ČR)
- chloroform (Penta, Praha, ČR)
- octová kyselina (Penta, Praha, ČR)
- chlorovodíková kyselina (Lach-Ner Neratovice, ČR)

Chemikálie použité pro stanovení profilu mastných kyselin:

- petrolether (Penta, Praha, ČR)
- benzen (Lach-Ner Neratovice, ČR)
- methanol (Penta, Chrudim, ČR)
- hydrid sodný

Chemikálie použité pro stanovení počtu kolonií bakterií a plísní:

- chlorid sodný (Dorapis, Praha, ČR)
- Plate Count Agar (Oxoid Ltd., Velká Británie)
- Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid Ltd., Velká Británie)

Chemikálie použité pro stanovení obsahu fenolických látek:

- uhličitan sodný bezvodý (Lach-Ner Neratovice, ČR)
- Folinovo činidlo (Merck KGaA, Darmstadt, Německo)
- gallová kyselina
- methanol (Penta, Chrudim, ČR)

## 4.2 Použité pomůcky a přístroje

### Pomůcky:

- laboratorní sklo
- automatické pipety Eppendorf
- Petriho misky
- mikrotitrační destičky (Gama Group, ČR)
- centrifugační zkumavky (VWR)
- filtrační papír
- vialka šroubovací 2 ml
- zavařovací skleničky
- PE pytlíčky 10x10
- louskáček Sandrik V-53

### Přístroje:

- magnetické míchadlo (Variomag)
- předvážky Kern EMB 600-2 (VERKON)
- analytické váhy (FR-200 MK II, AND)
- odparka rotační vakuová Heidolph
- mlýnek (IKA A11 basic)
- autokláv (Chirana)
- třepačka SHO-1D WISD (VERKON)
- termostat BT 120
- inkubátor KBC G-100/250
- Laminární box
- sonikátor (Logic ultrasonic PE cleaner)
- Multiskant Ascent Microplate Reader
- hořák Fuego – basic (WLD-TEC)
- mrazák (BOSCH)
- vakuovačka
- centrifuga ROTANA 460R (Hettich Zentrifugen)
- plynový chromatograf Agilent 7890A GC (Agilent, Santa Clara, CA, USA)
- hmotnostní spektrometr Agilent 5975C MSD (Agilent, Santa Clara, CA, USA)
- kolona Rt-2560 (100m x 0,25mm x 0,2 $\mu$ m) (Chromservis, Praha, Česká republika)

### 4.3 Založení skladovacího pokusu

K založení skladovacího pokusu byly použity vlašské ořechy (*J. regia* L.) z jednoho zdroje. Ořechy byly čerstvé, nasbírané v říjnu roku 2017. Ořechy byly loupány ručně pomocí kovového louskáčku. K pokusu byly použity jen zdravé ořechy, plesnivé nebo nějak znehodnocené byly vyloučeny z pokusu. Ořechy byly rozděleny na čtyři části.

První část ořechů byla ponechána ve skořápce.

Druhá část ořechů vyloupaných byla zavařena v zavařovacích skleničkách v inkubátoru KBC – 100/250 při 80 °C 30 minut. V každé skleničce bylo 20 gramů ořechů.

Třetí část vyloupaných ořechů byla dána do PE sáčku (10x10) a byla uložena do mrazáku při teplotě -18 °C. V každém PE sáčku bylo naváženo 20 g ořechů.

Čtvrtá část vyloupaných ořechů byla vakuově zabalena, kde v každém vakuovém pytlíčku bylo naváženo 20 g ořechů.

Všechny čtyři části byly označeny, jak je uvedeno v tab. 4. Pro počáteční měření se nebudou používat vakuované ořechy, protože by vykazovaly stejné hodnoty jako ořechy ponechané ve skořápce.

**Tabulka 4:** Druh, označení a počet ořechů

<b>Druh</b>	<b>Označení + počet</b>
Zavařené	<b>Z</b> 1–24
Mražené	<b>M</b> 1–24
Vakuované	<b>V</b> 1–24
Ve skořápce	<b>S</b>

### 4.4 Stanovení peroxidového čísla

#### 4.4.1 Příprava roztoků

Pro metodu stanovení peroxidového čísla byly připraveny následující roztoky:

##### a) Roztok jodidu draselného

Bylo naváženo 36 g jodidu draselného, který byl převeden do 100 ml kádinky a přidáno 25 ml destilované vody. Obsah byl promíchán na magnetickém míchadle.

#### **b) Roztok škrobového mazu**

Bylo naváženo 0,503 g rozpustného škrobu, který byl rozmíchán v 10 ml destilované vody. Tato směs byla přidána do 100 ml vařící destilované vody a celý obsah se vařil po dobu 3 minut.

#### **c) Roztok thiosíranu sodného**

Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 0,025 g thiosíranu sodného. Odměrná baňka byla doplněna po rysku destilovanou vodou.

#### **d) Roztok dichromanu draselného**

Dichroman o hmotnosti 1 mg byl kvantitativně převeden do kádinky a rozpuštěn v 40 ml destilované vody.

Pro měření byl dále použit petrolether, chloroform, kyselina octová, kyselina chlorovodíková (1:5) a destilovaná voda.

### **4.4.2 Příprava vzorků**

Vybrané vzorky vlašských ořechů Z03; Z06; Z20; M03; M06; M20; S1; S2; S3 byly rozemlety v mlýnku. Po každém rozemletí jednotlivého vzorku se musel mlýnek důkladně vyčistit.

Byly naváženy navážky o hmotnosti 3 g s přesností 0,001 g od každého vzorku a navážky byly převedeny do baněk se zábrusem a zátkou. Do každé baňky bylo odpipetováno 10 ml petroletheru a po dobu 1 minuty byly baňky protřepávány. Vzorky byly filtrovány přes suché skládané filtry do předem zvážených suchých odpařovacích baněk.

Byla připravena rotační vakuová odparka. Teplota vodní lázně byla nastavena na 40 °C. Rotace otáček byly nastaveny na 90 RPM. Jednotlivá baňka s filtrátem byla odpařována po dobu cca 7 minut, aby došlo k odparu petroletheru. Baňky byly poté znovu zváženy a byla zjištěna výtěžnost oleje ze vzorků vlašských ořechů.

### **4.4.3 Vlastní stanovení**

Byla připravena titrační aparatura. Byreta 10 ml byla naplněna roztokem thiosíranu sodného.

### a) Dichroman draselný

Do titrační baňky bylo odpipetováno 10 ml připraveného roztoku dvojchromanu, 1 ml jodidu draselného, 5 ml kyseliny chlorovodíkové (1:5) a několik kapek škrobového mazu. Titrovalo se roztokem thiosíranu sodného do odbarvení.

### b) Vzorky ořechů

Do vzorků po odpaření bylo odpipetováno 10 ml chloroformu, 10 ml kyseliny octové a 1 ml jodidu draselného. Baňky byly uzavřeny, 1 minutu byly protřepávány a poté byly ponechány 5 minut v temnu při laboratorní teplotě. Po vyndání ze tmy bylo přidáno 70 ml destilované vody, obsah prudce protřepán a po přidání několika kapek škrobového mazu jako indikátoru, se titrovalo roztokem thiosíranu sodného o koncentraci 1 mmol/l do odbarvení.

### c) Slepý pokus

Při slepém pokusu se do Erlenmayerovy baňky odpipetovalo 10 ml chloroformu, 10 ml kyseliny octové a 1 ml jodidu draselného. Baňka byla uzavřena a 1 minutu prudce protřepána. Poté byl roztok ponechán reagovat po dobu 5 minut v temnu při laboratorní teplotě. Po uplynutí 5 minut bylo přidáno 70 ml destilované vody, baňka byla prudce protřepána a bylo přidáno několik kapek škrobového roztoku.

### d) výpočet

Peroxidové číslo, bylo vypočteno podle vzorce:

$$x = \frac{(V_1 - V_0) \cdot c}{m}$$

kde

$V_0$  – objem roztoku thiosíranu sodného použitého při titraci slepého pokusu v ml

$V_1$  – objem roztoku thiosíranu sodného použitého při titraci vzorku

$c$  – koncentrace použitého roztoku thiosíranu sodného v mmol/l

$m$  – hmotnost zkušební vzorku v g

## 4.5 Obsah fenolických látek

### 4.5.1 Příprava vzorků k analýze

#### a) Roztok uhličitanu sodného

Bylo naváženo 6 g uhličitanu sodného, který byl rozpuštěn v 50 ml destilované vody. Roztok byl důkladně promíchán.

#### **b) Roztok kyseliny gallové**

Ve 20 ml methanolu a 80 ml destilované vody bylo rozpuštěno navážené množství 0,01 g kyseliny gallové.

#### **4.5.2 Provedení analýzy**

Vzorky vlašských ořechů byly rozemlety těsně před analýzou, kvůli nestabilitě polyfenolických látek na vzduchu a světle. Do centrifugačních zkumavek byl navážen 1 g rozemletých ořechů. Do zkumavky se odpipetovalo 5 ml methanolu, zkumavka byla uzavřena a po dobu 1 minuty se třepala. Poté byly zkumavky vloženy do sonikátoru na 5 minut. Pomocí centrifugy došlo k rozdělení homogenní směsi na supernatant a pelet.

Byly připraveny titrační destičky. Do prvních jamek v řádku bylo odpipetováno 200  $\mu$ l supernatantu od každého vzorku a do jedné řádky do první jamky bylo odpipetováno 200  $\mu$ l kyseliny gallové jako kontroly. Do ostatních jamek, kromě posledních, bylo odpipetováno 100  $\mu$ l methanolu. Provedlo se desetinné ředění, kdy z prvních jamek bylo odpipetováno 100  $\mu$ l roztoku, který byl napipetován do druhých jamek, promíchán, a tak se pokračovalo až na konec destičky. V každé jamce nakonec bylo vždy 100  $\mu$ l roztoku. Poté bylo do každé jamky odpipetováno 25  $\mu$ l Folinova činidla a 75  $\mu$ l připraveného roztoku uhličitanu sodného. Destičky byly ponechány 30 minut temnu reakci. Výsledky byly stanovovány na přístroji Multiskant Ascent Microplate Reader.

### **4.6 Stanovení profilu mastných kyselin**

#### **4.6.1 Příprava roztoku 0,4 M hydridu sodného v metanolu**

Bylo naváženo 0,48 g hydridu sodného, který byl rozpuštěn v 50 ml methanolu. Roztok byl důkladně promíchán.

#### **4.6.2 Postup stanovení**

Používané vzorky vlašských ořechů byly rozemlety těsně před stanovením. Po rozemletí bylo naváženo 100 mg od každého vzorku do odměrných baněk 10 ml. Do každé

odměrné baňky bylo odpipetováno 0,5 ml petroletheru, 0,5 ml benzenu a 1 ml připraveného roztoku 0,4 M hydridu sodného. Vzorky byly ponechány reagovat. Po 20 minutách se odměrné baňky doplnily destilovanou vodou po rysku a vyčkalo se, dokud se neobjevily dvě oddělené frakce, vzorky byly esterifikovány. Horní frakce od každého vzorku byla převedena do vialek. K analýze byl využit plynový chromatograf Agilent 7890A GC, spojený s hmotnostním spektrometrem Agilent 5975C MSD, který byl vybaven kolonou Rt-2560 (100m x 0,25mm x 0,2 $\mu$ m). Do injektoru vyhřátého na 225°C byl proveden nástřik o objemu 1 $\mu$ l ve splitovém poměru 1:50., Jako nosný plyn bylo použito helium a byl nastaven konstantní průtok 1,2 ml/min. Teplotní program byl nastaven na počáteční teplotu 70°C po dobu 2 minut, poté došlo ke zvyšování teploty 5°C/min až na 225°C. Tato teplota byla udržována 9 minut, dále vystoupala na 240°C opět rychlostí 5°C/min, kde byla držena 15 minut. Celkový čas analýzy byl 60 minut. Identifikace byla provedena porovnáním retenčních časů s autentickými standardy esterů mastných kyselin a s literaturou. Kvantifikace byla vyhodnocena jako relativní procentické zastoupení ploch jednotlivých píků oproti celkové ploše všech píků.

## **4.7 Stanovení počtu kolonií bakterií a plísní**

### **4.7.1 Příprava fyziologického roztoku (0,9% vodný roztok chloridu sodného)**

Na předvážkách bylo naváženo 8,1 g chloridu sodného, který byl rozpuštěn v 900 ml destilované vody. Fyziologický roztok byl sterilován v autoklávu 20 minut při 120 °C.

### **4.7.2 Příprava médií SDA a PCA**

Oba agary byly připraveny dle návodu. Na předvážkách bylo naváženo 3,6 g PCA, který byl rozpuštěn v 360 ml destilované vodě. Obsah musel být důkladně promíchán na magnetickém míchadle. SDA bylo naváženo 23,4 g a bylo přidáno 360 ml destilované vody, celý roztok musel být důkladně promíchán.

Oba roztoky byly sterilovány v autoklávu při 120 °C 20 minut. Média po sterilaci a vychladnutí byla nalita do Petriho misek, 18 misek pro PCA a 18 misek pro SDA. Agar se nechal zatuhnout a Petriho misky se obrátily dnem vzhůru.

### **4.7.3 Vlastní stanovení**

Na předvážkách bylo naváženo 10 g vlašských ořechů od každého vzorku, ořechy byly dány do předem vysterilovaných Erlenmayerových baněk. Do každé baňky ke vzorkům bylo



přidáno 100 ml fyziologického roztoku a takto připravené vzorky byly vloženy na 10 minut třepat na třepačku. Do předem připravených Petriho misek bylo od každého vzorku automatickou pipetou odpipetováno 100  $\mu$ l roztoku. Roztok byl rozmístěn po celé misce. Petriho misky byly poté ponechány inkubovat, PCA při 35 °C na jeden den a SDA při 25 °C na dva dny, po té byly stanoveny počty kolonií. Výsledky měření byly statisticky vyhodnoceny pomocí Neményiho metody mnohonásobného porovnání.

## 5 Výsledky

### Profil mastných kyselin

Naměřené hodnoty u vzorků (viz. Tabulka 5) ukazují převahu PUFA nad MUFA. Obsah PUFA byl zastoupen v průměru 59,29 %. Nejvyšší množství tvořila kyselina linolová v rozmezí (42,29 – 47,40) %, následovaná kyselinou linolenovou (10,37 – 15,70) %. Obsah MUFA tvořil 25,85 %, z kterého byla nejvíce zastoupena kyselina olejová (20,89 – 32,57) %. Obsah SFA byl zastoupen v průměru 14,46 %. Z SFA bylo nejvíce kyseliny palmitové (9,70 – 11,64) % a kyseliny stearové (3,10 - 3,88) %.

**Tabulka 5:** Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vlašských ořechách

RT	Mastná kyselina <sup>a</sup>	Z	M	S
28,23	myristová (14:0) <sup>b</sup>	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02
31,14	palmitová (16:0) <sup>b</sup>	9,70 ± 0,39	10,81 ± 0,31	11,64 ± 0,08
32,01	palmitolejová (16:1) <sup>b</sup>	0,30 ± 0,09	0,20 ± 0,02	0,17 ± 0,01
32,60	margarová (17:0) <sup>b</sup>	0,11 ± 0,08	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
33,89	stearová (18:0) <sup>b</sup>	3,42 ± 0,18	3,88 ± 0,28	3,10 ± 0,09
34,66	olejová (18:1) <sup>b</sup>	32,57 ± 4,94	22,62 ± 0,92	20,89 ± 0,19
35,85	linolová (18:2) <sup>b</sup>	42,29 ± 3,46	46,92 ± 0,91	47,40 ± 0,65
36,43	arachová (20:0) <sup>b</sup>	0,11 ± 0,06	0,15 ± 0,01	0,10 ± 0,02
37,13	eikosenová (20:1) <sup>b</sup>	0,23 ± 0,03	0,33 ± 0,02	0,25 ± 0,06
37,27	linolenová (18:3) <sup>b</sup>	10,37 ± 1,75	14,49 ± 0,22	15,70 ± 0,22
39,18	behenová (22:0) <sup>b</sup>	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01
49,86	arachidonová (20:4) <sup>b</sup>	0,02 ± 0,01	0,26 ± 0,07	0,41 ± 0,06
	Celkem identifikováno	99,21	99,83	99,84

Hodnoty vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka (n=3) z každé skladovací metody; a – identifikace na základě porovnání hmotnostních spekter s databází NIST; b – identifikace potvrzená autentickým standardem; RT – retenční čas (min); Z – zavařeně ořechy; M – zamražené ořechy; S – ořechy ponechány ve skořápce.

## Počet kolonií mikroorganismů

U 18 vzorků vlašských ořechů byly bakterie nejvíce zastoupeny u ořechů ponechaných ve skořápce. Nejmenší výskyt bakterií byl u vzorků mražených ořechů, kde dva ze tří testovaných vzorků byly zcela bez nálezu.

Oproti bakteriím byl výskyt plísní větší. U všech 18 vzorků byly nalezeny plísně. Nejvyšší nálezy byly ve vzorcích ořechů ve skořápce. Naopak nejmenší množství plísní bylo nalezeno ve vzorcích mražených (viz. Tabulka 6).

**Tabulka 6:** Počet kolonií bakterií a plísní

Vzorky	bakterie (CFU/g)	plísně (CFU/g)
Z	$1,33 \cdot 10^2 \pm 1,55 \cdot 10^2$ <sup>a</sup>	$1,17 \cdot 10^4 \pm 1,58 \cdot 10^4$
M	$1,67 \cdot 10^1 \pm 2,36 \cdot 10^1$ <sup>b</sup>	$4 \cdot 10^2 \pm 0,82 \cdot 10^2$ <sup>c</sup>
S	$7,02 \cdot 10^4 \pm 5,06 \cdot 10^4$ <sup>a, b</sup>	$1,19 \cdot 10^4 \pm 0,75 \cdot 10^4$ <sup>c</sup>

Hodnoty vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3) z každé skladovací metody.  
<sup>a, b, c</sup> – u měření označených stejným písmenem byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ );  
CFU – jednotky tvořící kolonie; Z – zavařené ořechy; M – zamražené ořechy;  
S – ořechy ponechány ve skořápce.

## Peroxidové číslo

Nejvyšší hodnoty peroxidového čísla u vzorků vlašských ořechů byly naměřeny u zavařených ořechů v průměru  $6,85 \pm 0,75$  (meq O<sub>2</sub>/kg), následovaly ořechy uložené ve skořápce  $6,35 \pm 1,19$  (meq O<sub>2</sub>/kg) a nejmenší obsah peroxidového čísla měly ořechy mražené  $5,45 \pm 0,49$  (meq O<sub>2</sub>/kg) (viz. Tabulka 7).

**Tabulka 7:** Obsah peroxidového čísla

Vzorky	Peroxidové číslo (meq O <sub>2</sub> /kg)
Z	$6,85 \pm 0,75$
M	$5,45 \pm 0,49$
S	$6,35 \pm 1,19$

Hodnoty vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3) z každé skladovací metody.  
Z – zavařené ořechy; M – zamražené ořechy; S – ořechy ponechány ve skořápce

## Obsah fenolických látek

Celkový obsah fenolických látek ve vzorcích vlašských ořechů je vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE) (Tabulka 8). Nejnižší obsah fenolických látek  $979,58 \pm 133,79$  (mg GAE/ 100 g) byl naměřen u zavařených vzorků, následovaly vzorky mražených ořechů, u kterých bylo naměřeno  $1039,51 \pm 115,60$  (mg GAE/ 100 g) obsahu fenolických látek. Volně uložené ořechy ve skořápce vykazovaly nejvyšší hodnotu a to  $1759,44 \pm 468,96$  (mg GAE/ 100 g).

**Tabulka 8:** Obsah fenolických látek

Vzorky	TPC (mg GAE/100 g)
Z	$979,58 \pm 133,79$
M	$1039,51 \pm 115,60$
S	$1759,44 \pm 468,96$

Hodnoty vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (n=3) z každé skladovací metody.

Z – zavařené ořechy; M – zamražené ořechy; S – ořechy ponechány ve skořápce.

## 6 Diskuze

Vlašské ořechy řadíme mezi světově rozšířené ořechy, díky své výživové hodnotě a prospěšným přínosům pro zdraví. Ořechy se konzumují celoročně a tak je důležité správné uchovávání, aby nedocházelo k zhoršení kvalitativních parametrů. Tato práce směřovala ke správnému dlouhodobému uskladnění ořechů a počátečním měřením. Byly sledovány změny u profilu mastných kyselin, peroxidového čísla, obsahu fenolických látek a stanovení celkového počtu mikroorganismů. Tyto analýzy byly podkladem pro diskuzi.

### Profil mastných kyselin

Vzorky vlašských ořechů obsahovaly vysoký podíl kyseliny linolové (45,54 %) a kyseliny linolenové (13,52 %). Naměřený obsah kyseliny linolenové v této bakalářské práci je v souladu s databází USDA (2018), kde je udávána hodnota 9,1 g/100 g hmotnosti plodu, což je po přepočtu přibližně 14,5 % celkového obsahu mastných kyselin a také s autory Venkatachalam and Sathe (2006), kteří udávají hodnotu 13,2 %. Naopak Kim et al. (2013) naměřili pouze 3,4 % kyseliny linolenové. Hodnota kyseliny linolové (45,54 %) je v souladu s údaji (50,4 %), které publikoval autor Simsek (2016) a s autory Li et al. (2017), kteří uvádějí hodnotu v rozmezí 44,22 – 63,99 %. Lze tedy zhodnotit, že vlašské ořechy použité v této práci jsou dobrým zdrojem kyseliny linolové a kyseliny linolenové. Obsah monoenové kyseliny olejové byl zastoupen v průměrném množství 25,36 %. Toto množství je v souladu s autorem Simsek (2016), který získal hodnotu 24,44 % a s autory Kim et al. (2013), kteří naměřili hodnotu 29,01 %. Nižší hodnotu 14,2 % udává USDA (2018). Zřetelné ovlivnění poměrného zastoupení mastných kyselin lze pozorovat u tepelně ošetřených vzorků, kde došlo v porovnání se zamraženými a neošetřenými vzorky ke snížení podílu k. linolenové o 4,12 a 5,33 %. Naopak u kyseliny olejové došlo k navýšení o 9,95 respektive o 11,68 % u zavařených a tepelně ošetřených v porovnání s neošetřenými vzorky.

Důležitým výsledkem je i poměr Omega-6 a Omega-3 mastných kyselin. Naměřené výsledky ukazují poměr 3:1 (Omega-6 : Omega-3), tím se nám potvrdilo tvrzení, že z výživového hlediska je vlašský ořech vhodný ke konzumaci v důsledku optimálního poměru Omega-6 : Omega-3 esenciálních mastných kyselin (Ros and Mataix, 2006).

### Počet kolonií mikroorganismů

I když skořápka ořechů tvoří ochrannou bariéru, existuje řada možných příležitostí pro mikrobiální kontaminaci jader vlašských ořechů. Například přímým kontaktem

s kontaminovanou půdou během sklizně, při sklizni a sušení po sklizni, při praskání a vylupování nebo během dalšího zpracování.

U vzorků vlašských ořechů v této práci byly naměřeny největší počty mikroorganismů u ořechů ve skořápce, následoval ořechy tepelně ošetřené a nejmenší počet mikroorganismů byl zjištěn u ořechů zamražených. Naměřené hodnoty počtu mikroorganismů jsou v souladu s autory Riyaz-UI-Hassan et al. (2003), kteří hodnotili mikrobiální aktivitu u vlašských ořechů. Dle studie těchto autorů, kteří udávají  $<10^5$  CFU/g počtu mikroorganismů jako uspokojivou kategorii,  $10^5 - <10^6$  CFU/g počtu mikroorganismů jako přijatelnou kategorii a  $\geq 10^6$  CFU/g jako neuspokojivou kategorii, můžeme 100 % našich vzorků zařadit do kategorie uspokojivé ( $<10^5$  CFU/g). Autoři Riyaz-UI-Hassan et al. (2003) hodnotili mikrobiální aktivitu u 50 vzorků vlašských ořechů a naměřili, že 2 % vzorků spadají do kategorie uspokojivé, 68 % vzorků do přijatelné kategorie a 30 % do kategorie neuspokojivé. V našem případě ani jeden vzorek nebyl zařazen do kategorie přijatelné a neuspokojivé, protože výsledky nepřekročily hodnotu  $\geq 10^5$  CFU/g počtu mikroorganismů.

## **Peroxidové číslo**

Peroxidová hodnota oleje ořechů je důležitý indikátor určující kvalitu oleje. Hodnota peroxidu závisí na řadě faktorů včetně oxidačního stavu, použité metody extrakce oleje, typu mastných kyselin a přírodních antioxidantů přítomných v oleji (Gharibzahedi, 2014).

Naměřené hodnoty peroxidového čísla u vzorků v této práci se pohybovaly v rozmezí 6,85 - 5,45 meq O<sub>2</sub>/kg. Naměřené údaje jsou v souladu s hodnotou 6,1 meq O<sub>2</sub>/kg u neošetřených ořechů, kterou publikoval autor Moser (2012) a s autory Amaral et al. (2003), kteří uvádějí hodnoty peroxidového čísla u vzorků neošetřených, tepelně ošetřených, a zamražených v rozmezí 2 – 18 meq O<sub>2</sub>/kg. Naopak Martínez and Maestri (2008) ve své publikaci uvádějí hodnoty u neošetřených ořechů v rozmezí 0,05 - 0,47 meq O<sub>2</sub>/kg.

## **Obsah fenolických látek**

Obsah fenolických látek u vzorků vlašských ořechů byl v rozmezí 979,58 - 1759,44 mg GAE/100 g. Tyto naměřené hodnoty se shodují s výsledky práce autorů Kornsteiner et al. (2006), kteří udávají hodnotu obsahu fenolických látek u vlašských ořechů v rozmezí 1020 – 2052 mg GAE/100 g a také s autory Alasalvar and Bolling (2015), kteří uvádějí hodnoty 1558 – 1625 mg GAE/100 g.

## 7 Závěr

Byl založen skladovací pokus pro porovnání vlivu různých způsobů skladování na vybrané kvalitativní parametry vlašských ořechů. Ihned po založení pokusu byly provedeny analýzy profilu mastných kyselin, obsahu fenolických látek, peroxidového čísla a mikrobiálních změn.

Měřením bylo potvrzeno, že vlašské ořechy jsou bohaté na polyenové mastné kyseliny, na kyselinu linolovou a kyselinu linolenovou. Opomenout nelze i velmi příznivý poměr 3:1 Omega 6 : Omega 3 mastných kyselin. Potvrdil se také příznivý obsah fenolických látek. Všechny výsledky byly porovnány s dostupnými údaji v odborné literatuře. Jelikož se jedná o počáteční měření, nemůžeme s přesností určit, který způsob skladování je nejvhodnější a nejvíce ovlivní kvalitativní parametry ořechů z dlouhodobého hlediska. Z naměřených výsledků se zatím jeví jako optimální uskladnění vlašských ořechů pomocí zmrazení, kde došlo k redukci počtu mikroorganismů a minimálnímu vlivu na nutriční parametry, zatímco u tepelného ošetření bylo pozorováno výrazné negativní ovlivnění profilu mastných kyselin a obsahu fenolických látek.

V rámci dalšího výzkumu bude zajímavé sledovat, jak se budou sledované parametry lišit po časových intervalech, a který způsob bude vyhodnocen jako nejvhodnější pro dlouhodobé skladování.

## 8 Seznam literatury

- Alasalvar, C., Bolling, B. W. 2015. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition*. 113 (S2). S68-S78.
- Amaral, J. S., Casal, S., Pereira, J. A., Seabra, R. M., Oliveira, B. P. P. 2003. Determination of Sterol and Fatty Acid Compositions, Oxidative Stability, and Nutritional Value of Six Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars Grown in Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (26). 7698-7702.
- Bakkalbasi, E., Yilmaz, O. M., Javidipour, I., Artik, N. 2012. Effects of packaging materials, storage conditions and variety on oxidative stability of shelled walnuts. *LWT - Food Science and Technology*. 46 (1). 203-209.
- Bennett, J. W., Klich, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 16 (3). 497-516.
- Brauner, R., Johannes, Ch., Ploessl, F., Bracher, F., Lorenz, R. L. 2012. Phytosterols Reduce Cholesterol Absorption by Inhibition of 27-Hydroxycholesterol Generation, Liver X Receptor  $\alpha$  Activation, and Expression of the Basolateral Sterol Exporter ATP-Binding Cassette A1 in Caco-2 Enterocytes. *The Journal of Nutrition*. 142 (6). 981-989.
- Brufau, G., Boatella, J., Rafecas, M. 2006. Nuts: source of energy and macronutrients. *British Journal of Nutrition*. 96 (1). S24-S28.
- Cannella, C., Dernini, S. 2006. Proceedings of the fifth international walnut symposium. *Acta Horticulturae*. 705. 547-+.
- Costa, J., Carrapatoso, I., Oliveira, M. B. P. P., Mafra, I. 2014. Walnut allergens: molecular characterization, detection and clinical relevance. *Clinical & Experimental Allergy*. 44 (3). 319-341.
- Creppy, E. E. 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*. 127 (1-3). 19-28.



Čepelíková, K. Jak uchovat vlašské ořechy? Zavařte je [online]. Vitalia.cz. 7. prosince 2015 [cit. 2018-03-09]. Dostupné z <<https://www.vitalia.cz/clanky/jak-uchovat-vlasske-orechy-zavarte-je/>>

Česko. Vyhlášky č. 157/2003 Sb. ze dne 12. května 2003, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. Dostupné z: <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-157>>.

ČSN 46 3082. Vlašské ořechy ve skořápce. 2003. Český normalizační institut. Praha. 12s.

ČSN 46 3083. Jádra vlašských ořechů. 2003. Český normalizační institut. Praha. 8 s.

Davis, I. M. 2011. Nuts properties, consumption and nutrition. Nova Science Publishers. New York. p. 173. ISBN: 9781611223705.

Davis, L., Stonehouse, W., Loots, D. T., Mukuddem-Petersen, J., van der Westhuizen, F. H., Hanekom, S. M., Jerling, J. C. 2007. The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. *European Journal of Nutrition*. 46 (3). 155-164.

Fruit and Nut. The Sustainability Institute. Cooloughra. Westport. [cit. 2017-10-11]. Dostupné z: <<http://www.fruitandnut.ie/walnuts.html>>

Gharibzahedi, S. M. T., Mousavi, S. M., Hamedi, M., Khodaiyan, F. 2014. Determination and characterisation of kernel biochemical composition and functional compounds of Persian walnut oil. *Journal of Food Science and Technology*. 51 (1). 34-42.

Gurses, M. 2006. Mycoflora and aflatoxin content of hazelnuts, walnuts, peanuts, almonds and roasted chickpeas (leblebi) sold in Turkey. *International Journal of Food Properties*. 9 (3). 395-399.

Hladík, F. a kol. 1966. Malá pomologie 4: Meruňky, broskve, mandle, ořechy vlašské a lískové. SZN. Praha. 321 s. ISBN:07-002-66.

- Hussein, H. S., Brasel, J. M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 167 (2). 101-134.
- Chen, C. Y. O., Blumberg, J. B. 2008. Phytochemical composition of nuts. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17 (1). 329-332.
- Li, Q., Yin, R., Zhang, Q. R., Wang, X. P., Hu, X. J., Gao, Z. D., Duan, Z. M. 2017. Chemometrics analysis on the content of fatty acid compositions in different walnut (*Juglans regia* L.) varieties. *European Food Research and Technology*. 243 (12). 2235-2242.
- Kim, J. K., Shin, E. C., Kim, C. R., Park, G. G., Choi, S. J., Cho, H. Y., Shin, D., H. 2013. Composition of Fatty Acids in Commercially Available Tree Nuts and Their Relationship with Protective Effects against Oxidative Stress-induced Neurotoxicity. *Food Science and Biotechnology*. 22 (4). 1097-1104.
- Kornsteiner, M., Wagner, K. H., Elmadfa, I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*. 98 (2). 381-387.
- Kumar, V., Basu, M. S., Rajendran, T. P. 2008. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Protection*. 27 (6). 891-905.
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martinez-Avila, G., Montanez-Saenz, J., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*. 29 (3). 365-373.
- Martínez, M. L., Maestri, D. M. 2008. Oil chemical variation in walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Argentina. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110 (12). 1183-1189.
- Martínez, M. L., Mattea, M. A., Maestri, D. M. 2006. Varietal and crop year effects on lipid composition of walnut (*Juglans regia*) genotypes. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 83 (9). 791-796.

Mills, E. N. C., Mackie, A. R., Burney, P. 2007. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Allergy*. 62 (7). 717-722.

Mitrovic, M., Stanisavljevic, M., Gavrilovic-Danjanovic, J. 1997. Biochemical composition of fruits of some important walnut cultivars and selections. *Acta Horticulturae*. (442). 205-208.

Moser, B. R., 2012. Preparation of fatty acid methyl esters from hazelnut, high-oleic peanut and walnut oils and evaluation as biodiesel. *Fuel* . 92 (1). 231-238.

Nesrsta, D., Jan, T., Hanč, M. 2013. Drobné ovoce a skořápkoviny. Baštan. Olomouc. 216s. ISBN: 978-80-87091-40-1

Richter, M. 2004. Malý obrazový atlas odrůd ovoce 5. TG TISK. Lanškroun. 90 s. ISBN:80-903487-4-2.

Riyaz-Ul-Hassan, S., Verma, V., Malik, A., Qazi, G. N. 2003. Microbiological quality of walnut kernels and apple juice concentrate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 19 (8). 845-850.

Ros, E., Mataix, J. 2006. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. *British Journal of Nutrition*. 96 (2). 29-35.

Ros, E., Tapsell, L. C., Sabate, J. 2010. Nuts and Berries for Heart Health. *Current Atherosclerosis Reports*. 12 (6). 397-406.

Simsek, M. 2016. Chemical, mineral and fatty acid composition of various types of walnut (*Juglans regia* L.) in Turkey. *Bulgarian Chemical Communications*. 48 (1). 66-70.

Sze – Tao, K. W. C., Sathe, S. K. 2000. Walnuts (*Juglans regia* L.): proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80 (9). 1393-1401.

Šobek, J. 1958. Ořešák a jeho pěstování. ČSAV. Praha. 336 s.

Turner, N. W., Subrahmanyam, S., Piletsky, S. A. 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*. 632 (2). 168-180.

USDA Food Composition Databases. 2018. United States Department of Agriculture [online]. [cit. 2018-03-05]. Dostupné z: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>

ÚKZÚZ. Státní odrůdová kniha. Praha. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Zapsáno 15. 6. 2017. [cit. 2017-12-11]. Dostupné z: <<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudah/odrudy-registrovane-v-cr/seznam-odrud/>>

Velíšek, J. 2002. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS. ISBN 80-86659-01-1.

Venkatachalam, M., Sathe K. S. 2006. Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (13). 4705-4714.

Vojtaššáková, A., Kováčiková, E., Simonová, E., Holčíková, K., Pastorová, J., Klvanová, J. 2000. *Tuky, olejniny, oleje a ořechy*. ÚVTIP. Bratislava. 203 s. ISBN: 80-85330-83-0.

Yerlikaya, C., Yucel, S., Erturk, Ü., Korukluoglu, M. 2012. Proximate composition, minerals and fatty acid composition of *Juglans Regia L.* genotypes and cultivars grown in Turkey. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 55 (5). 677-683.

Zinedine, A., Manes, J. 2009. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*. 20 (4). 334-344.

Zwarts, L., Savage, G. P., McNeil, B. L. 1999. Fatty acid content of New Zealand-grown walnuts (*Juglans regia*L.). *International Journal of Food Science and Nutrition*. 50 (3). 189-194.

## 9 Seznam zkratk

MUFA	Mono Unsaturated Fatty Acids (monoenvé mastné kyseliny)
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acids (polyenvé mastné kyseliny)
SFA	Saturated Fatty Acids (nasyčené mastné kyseliny)
USDA	United States Department of Agriculture (Ministerstvo zemědělství USA)
IgE	Imunoglobulin E
DDD	Doporučená denní dávka
ppb	part per billion
PE	Polyethylen
CFU	Colony Forming Units (jednotky tvořící kolonie)

## 10 Seznam tabulek a grafů

<b>Tabulka 1:</b> Kompozice mastných kyselin různých typů vlašských ořechů.....	6
<b>Tabulka 2:</b> Obsah vitamínů.....	9
<b>Tabulka 3:</b> Smyslová a fyzikálně-chemická jakost.....	12
<b>Tabulka 4:</b> Druh, označení a počet ořechů.....	21
<b>Tabulka 5:</b> Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vlašských ořechách.....	26
<b>Tabulka 6:</b> Počet kolonií bakterií a plísní.....	27
<b>Tabulka 7:</b> Obsah peroxidového čísla.....	27
<b>Tabulka 8:</b> Obsah fenolických látek.....	28
<b>Graf 1:</b> Srovnání aminokyselin (mg/g bílkovin) vlašského ořechu a bílkoviny vejce.....	7