

Sastav masnih kiselina uljarica iz porodice Brassicaceae

Barošević, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:894122>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Lucija Barošević

7006/PT

SASTAV MASNIH KISELINA ULJARICA IZ PORODICE

BRASSICACEAE

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija ulja i masti

Mentor: Doc. dr. sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambenu tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Sastav masnih kiselina uljarica iz porodice *Brassicaceae*

Lucija Barošević, 1903996305043

Sažetak:

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj sorte i načina uzgoja sjemena porodice *Brassicaceae* (uljane repice i gorušice) na osnovne parametre kvalitete sjemena kao i na sastav masnih kiselina. Utjecaj sorte i načina uzgoja na kvalitetu sjemena odredili smo na temelju rezultata analize udjela vode, udjela ulja, sastava masnih kiselina kao i rezultata određivanja tehničko-tehnoloških svojstava sjemena (veličina i oblik sjemena i masa 1000 sjemenki). Rezultati su pokazali kako sorta ima značajan utjecaj na udio ulja, udio vode ali i na sastav masnih kiselina sjemena uljane repice, dok način uzgoja ima značajan utjecaj na udio ulja u sjemenu uljane repice kao i na udio palmitoleinske, stearinske, linolne, α -linolenske i arahinske masne kiseline. U analiziranim uzorcima sjemena gorušice pokazalo se kako način uzgoja sjemena značajno utječe samo na udio ulja.

Ključne riječi: bijela gorušica, način uzgoja, sorta, sastav masnih kiselina, uljana repica

Rad sadrži: 28 stranica, 4 tablice, 36 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Klara Kraljić

Datum obrane:

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Sastav masnih kiselina uljarica iz porodice *Brassicaceae*

Lucija Barošević, 1903996305043

Abstract:

The aim of this study was to determine the influence of cultivar and breeding methods of the *Brassicaceae* seeds (rapeseed and white mustard) on the basic seed quality parameters and on fatty acid composition. The influence of cultivar and breeding methods of cultivation on seed quality was determined based on the results of water and oil content analysis, fatty acid composition and results from the assessment of technical technology properties of seeds (form and size of seed and weight of 1000 seeds) as well. The results showed that cultivars have a significant effect on the oil content, water content, and also on the composition of fatty acid of rapeseed, while breeding methods have a significant effect on the rapeseed oil content as well as on the content of palmitoleic, stearic, linoleic, α -linolenic and arachidic fatty acids. In analyzed samples of mustard seed it was shown that breeding methods have a significant effect only on the oil content.

Keywords: rapeseed, cultivar, breeding methods, white mustard, fatty acid composition

Thesis contains: 28 pages, 4 tables, 36 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Klara Kraljić

Defence date:

SADRŽAJ

| | | |
|-----------|--|----|
| 1. | UVOD | 1 |
| 2. | TEORIJSKI DIO | 2 |
| | 2.1. Osnovne karakteristike | 2 |
| | 2.1.1. Uljana repica..... | 2 |
| | 2.1.2. Bijela gorušica..... | 4 |
| | 2.2. Sastav ulja | 6 |
| | 2.2.1. Uljana repica..... | 6 |
| | 2.2.2. Bijela gorušica..... | 10 |
| 3. | MATERIJALI I METODE | 12 |
| | 3.1. Materijal | 12 |
| | 3.2. Metode rada | 13 |
| | 3.2.1. Određivanje tehničko-tehnoloških svojstava sjemena..... | 13 |
| | 3.2.2. Određivanje udjela vode u sjemenu..... | 13 |
| | 3.2.3. Određivanje udjela ulja u sjemenu..... | 14 |
| | 3.2.4. Određivanje sastava masnih kiselina..... | 14 |
| 4. | REZULTATI I RASPRAVA | 16 |
| 5. | ZAKLJUČAK | 25 |
| 6. | LITERATURA | 26 |

1. UVOD

Uljanu repicu i bijelu gorušicu svrstavamo u vrlo brojnu porodicu *Brassicaceae* koju karakteriziraju zeljaste biljke, a iznimno postoje i grmovi.

Uljana repica se najviše uzgaja u Kini, Indiji i Kanadi, dok ju u Europi najviše proizvode Njemačka i Francuska. Uglavnom se sije u hladnijim područjima kao ozima, a u ekstremno hladnim područjima kao jara. Ulje uljane repice se može proizvesti prešanjem ili ekstrakcijom organskim otapalima čime se dobije i sačma koja se primjenjuje kao stočna hrana zbog izrazito povoljnog aminokiselinskog sastava. Uljana repica je jedna od rijetkih uljarica s optimalnim 2 : 1 odnosom linolne i α -linolenske masne kiseline, što pozitivno utječe na zdravlje čovjeka. Osim u prehrambene svrhe, ulje se koristi u proizvodnji biodizela zbog čega je i porasla njegova proizvodnja u posljednjih nekoliko godina.

Gorušica je jednogodišnja biljka otporna na niske temperature. Biljka gorušice, a posebno sjeme, sadrži glukozinolate koji su odgovorni za karakteristični opori okus gorušice i njezinih proizvoda. Gorušica se koristi kao salata, zeleno gnojivo i stočna hrana. Sadrži do 30% ulja koje je bogato linolnom i oleinskom kiselinom. Uglavnom se koristi u prehrambene svrhe, a najvećim dijelom u proizvodnji senfa.

Cilj ovog rada je odrediti i usporediti utjecaj sorte i načina uzgoja sjemena porodice *Brassicaceae* (uljane repice i gorušice) na osnovne parametre kvalitete sjemena kao i na sastav masnih kiselina sjemena. Sjeme uljane repice i gorušice uzgojeno je 2017. godine na eksperimentalnom polju Agronomskog fakulteta u Zagrebu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Osnovne karakteristike

2.1.1. Uljana repica

Uljana repica (*Brassica napus* L. Subsp. *Oleifera* (Metzg.) Sinsk.) je najraširenija kultura porodice krstašica (*Brassicaceae*), a danas po važnosti i treći izvor jestivih biljnih ulja u svijetu, nakon palme i soje. Uljana repica pripada redu *Capparales*, a rodu *Brassica*. Porodica *Brassicaceae* obuhvaća oko 3000 vrsta koje su jedna od gospodarski najvažnijih skupina kritosjemenjača. Vrsta *Brassica napus* L. nastala je spontanom interspecifičnom hibridizacijom između repe *Brassica rapa* L. i kupusa *Brassica oleracea* L. (Vollmann i Rajcan, 2010).

Najveće površine pod uljanom repicom nalaze se u Kini (6,5 milijuna ha), zatim slijede Indija (6,3 milijuna ha) i Kanada (6,2 milijuna ha). Prosječni prinos sjemena uljane repice u svijetu iznosi 1,84 t/ha. Najveći proizvođači uljane repice u Europi su Njemačka, Francuska, Poljska i Velika Britanija. Prosječan prinos sjemena uljane repice varira od 2,02 do 3,01 t/ha (Pospišil, 2013).

Uljana repica ima razgranatu i zeljastu stabljiku, visine 1,5 do 1,8 m. Cvjetovi su dvospolni, a latice intenzivno žute boje. Repica je samooplodna biljka visokog postotka stranooplodnje. Listovi repice su izduženi, plavkasto-zelene boje, a plod je komuška duga 5 – 9 cm koju središnja lamela uzdužno dijeli na dvije pregrade. Sjemenka uljane repice je sitna, okruglasta, crno-smeđe do plavičasto-crne boje i glatke površine, promjera 1,8 - 2,8 mm. Korijen repice je vretenast, sastoji se od glavnog korijena iz kojega se granaju brojni kratki korjenčići. Upravo zbog finog korijenja koje se lako razgrađuje i koje rano napušta tlo kako bi se omogućilo dovoljno vremena za obradu tla, što pozitivno djeluje na strukturu tla i život mikroorganizama, uljana repica se smatra odličnim predusjevom za sve vrste žitarica (Pospišil, 2013).

Uljana repica pokazuje veliku potrebu za brojnim hranjivima kao što su magnezij, sumpor i kalij koji je značajan za kvalitetu masnih kiselina, a posebno za dušikom koji pozitivno utječe na prinos sjemena (broj plodnih grana, broj cvjetova, broj komuški i masu 1000 sjemenki). Tijekom primjene dušika potrebno je pripaziti na količinu, jer uslijed prekomjerne gnojide dušikom dolazi do pada udjela ulja u sjemenu te do povećanja udjela bjelančevina (Mustapić, 1982).

Općenito, uljana repica klije, niče i raste pri nižim temperaturama pa se uglavnom uzgaja u hladnijim područjima kao ozima (forma *biennis*), a u ekstremno hladnim područjima kao jara kultura (forma *annua*). Razlika između zimske i proljetne forme je određena genetskim mehanizmom kojim se kontrolira potreba vernalizacije kako bi se ubrzao početak cvatnje. Proljetna forma uljane repice ne zahtjeva vernalizaciju i nije otporna na zimu, stoga se sijanje provodi u proljeće, a razvoj stabljike započinje odmah nakon klijanja. Zimska forma uljane repice se sije u jesen, a zimu preživljava u obliku lisne rozetice na površini tla. U proljeće se razvija dugačka, vertikalna stabljika, a neposredno prije razvoja cvjetova formiraju se bočne grane. Do cvatnje obično dolazi tijekom kasnog proljeća, uz razvoj i sazrijevanje mahune tijekom razdoblja od oko 6-8 tjedana do sredine ljeta (Vollmann i Rajcan, 2010).

Za rast i razvoj uljanoj repici najviše odgovaraju duboka, ilovasto-glinasta tla mravičaste strukture koja su bogata humusom i kalcijem. U našim agroklimatskim uvjetima repica dozrijeva krajem lipnja – početkom srpnja. O vremenu žetve ovisi visina prinosa i kvaliteta sjemena. U periodu od početka cvatnje do zriobe temperatura je odlučujući čimbenik važan za visinu prinosa i kvalitetu sjemena i ulja. Potrebna suma temperatura ozime repice u ovom periodu iznosi 870 do 900 °C (Schrimpe, 1953).

Na razvijenost biljaka uljane repice prije zime, kao i na prinos sjemena bitno utječu sorte, odnosno hibridi. U odnosu na sorte, hibridi pokazuju bitno veći prinos sjemena zbog debljeg korijena, veće mase suhe tvari stabljike i mase suhe tvari korijena (Pospišil, 2013).

Zbog povoljnog sastava ulja sjemena, ulje uljane repice ili ulje uljane repice sa niskim udjelom eruka kiseline je vrijedan izvor prehrambenih ulja i masti (salatno ulje, margarin). Na primjer, od ukupnog ulja uljane repice proizvedenog i prerađenog u Njemačkoj (otprilike 2.5 milijuna tona) oko 0.5 milijuna tona se koristi u prehrambene svrhe. Međutim, većina se koristi za proizvodnju transportnog goriva; oko 1.5 milijuna tona se prerađuje u biodizel (metil ester repičinog ulja) dok se oko 0.5 milijuna tona prerađenog ulja direktno koristi u dizelskim motorima traktora ili kamiona. Potrošnja biljnog ulja u neprehrambene svrhe se trenutno sve više povećava u svijetu (Vollmann i Rajcan, 2010).

Kod formiranja cijene sjemena uljane repice vrlo je bitna čistoća i kvaliteta sjemena. Uljana repica u otkupu mora sadržavati minimalno 40 % ulja te najviše 9 % vlage i 2 % nečistoća. Ukoliko kvaliteta sjemena uljane repice odstupa od navedenog minimuma, pri obračunu troškova otkupna cijena se za svaki dodatni postotak proporcionalno smanjuje, odnosno povećava. Također, sjeme repice ne smije biti onečišćeno sjemenom divlje gorušice ili

gorčice jer se zbog botaničke sličnosti razvijaju, rastu i daju sjeme u isto vrijeme kad i uljana repica. Pomiješane s uljanom repicom ulju daju gorak okus i negativno utječu na njegovu kvalitetu (Pospišil, 2013).

2.1.2. Bijela gorušica

Bijela gorušica (*Sinapis alba* L. = *Brassica alba* L.) pripada porodici *Brassicaceae*, a rodu *Brassica* koja se sastoji od 150 vrsta jednogodišnjeg ili dvogodišnjeg bilja.

Gorušica spada među najstarije začine prema zapisima od oko 3000 godine prije Krista te je bila jedna od prvih kutiviranih usjeva. Uzgaja se gotovo u cijelom svijetu, ali najviše u Kanadi, Indiji, Japanu, Francuskoj, Ujedinjenom Kraljevstvu, Njemačkoj i Americi. Od ukupne svjetske prodaje sjemena gorušice, oko 60% otpada na sjeme *Brassica alba* L. (Thomas i sur., 2012).

Bijela gorušica je jednogodišnja biljka visoka do 120 cm, sa žutim cvjetovima. Ima snažan korijenov sustav s brojnim korijenovim dlačicama koje doprinose otpornosti na sušu. U ljusci ploda nepravilnog oblika nalazi se 3 – 8 sjemenki okruglastog oblika, svijetložute boje. Bijela gorušica se sije u proljeće za sjeme ili svaka tri tjedna zbog lišća koje se sirovo koristi u salatama.

Gorušica je biljka koja je vrlo otporna na niske temperature, zbog čega se preporučuje za proizvodnju i u područjima visoke nadmorske visine. Voli sunčan položaj, a ljeti blagi hlad te bogato i propusno tlo. Gorušica uspijeva na svim tipovima tla iako joj najviše odgovaraju duboka, vapnenasta tla velikog kapaciteta za vodu (Medved, 2017). Na zimu je otpornija ako se pravodobno posije, a gnojidba provede ispravno.

Cvate od svibnja do lipnja žutim cvjetovima od četiri latice, koji se javljaju u malim skupinama. Sjemenke su kuglaste veličine 1,5-3 mm, bijele, smeđe ili crne, ovisno o sorti, a ispuštaju miris tek kada se samelju i pomiješaju s tekućinom (Thomas i sur., 2012). Na visokim temperaturama se vrlo brzo osjemenjuje, a ako se uzgaja na područjima koja obiluju kišom, listovi joj postaju grubi. Samoniklo raste na poljima, ali se i uzgaja. Primjerena je prvenstveno za zelenu gnojidbu čime obogaćuje tlo organskom tvari, povećava kapacitet tla za vodu, poboljšava biološku aktivnost tla te smanjuje zaraženost tla nematodama.

Primjerena je za proizvođače šećerne repe i sve one koji žele sačuvati trajnu rodnost, mikrobiološku aktivnost i visoki sadržaj humusa u tlu (Anonymous, 2018).

Biljka gorušice, a posebno sjeme, sadrži glukozinolate koji su odgovorni za karakteristični opori okus gorušice i njezinih proizvoda. Glavni glukozinolat prisutan u bijeloj gorušici je sinalbin. Opori okus se razvija u prisutnosti vode kroz aktivnost endogenog enzima mirozinaze. Enzim mirozinaza otpušta izotiocijanate iz glukozinolata što stvara oštar okus (Schuster-Gajzágó i sur., 2006). Rezultati objavljenih u posljednjih 10-15 godina pokazuju da razgradni produkti glukozinolata imaju zaštitni učinak na zdravlje (Fahey i sur., 2001).

Sjeme gorušice sadrži do 30 % ulja, oko 25 % bjelančevina, 2,5 % sumpornih heterozida koji mu daju oštar okus i 0,2 – 1,0% eteričnog ulja. Koristi se u prehrambenoj industriji kao dodatak aromi i kao konzervans, a u medicini u liječenju raznih reumatskih bolesti. Uglavnom se sjeme bijele gorušice koristi za proizvodnju senfa (Medved, 2017).

Nakon uvođenja i rasprostranjenja kultivara uljane repice bez eruka masne kiseline i sa smanjenim udjelom glukozinolata (Mukherjee i Kiewitt, 1984) pažnja je bila usredotočena na alternativne usjeve, poput sjemena gorušice, kao potencijalnog izvora dugolančanih mononezasićenih masnih kiselina, koje su od interesa kao sirovine za kemijsku industriju. Issariyakul i suradnici su u svom radu (2011) izvijestili o proizvodnji biodizela dobivenog iz sjemena bijele gorušice postupkom transesterifikacije s metanolom, etanolom, propanolom i butanolom s ciljem procjene svojstava gorušičinog biodizela kao aditiva za regularni biodizel. Dobiven je vrlo nizak udio metilnih estera što je najvjerojatnije posljedica ne provedene rafinacije sirovog ulja. Proučavanjem sadržaja i kakvoće sjemena bijele gorušice iz Istočne Europe, Ciubota-Rosie i suradnici (2013) su naveli kako je sjeme sadržavalo više od 41% ulja što ga čini odličnom sirovinom za dobivanje biodizela.

2.2. Sastav ulja

Općenito se lipidi u uljima i mastima, pa tako i u ulju uljane repice i gorušice, mogu podijeliti u dvije frakcije, točnije na gliceridnu i negliceridnu frakciju. Gliceridnu frakciju čine esteri glicerola i masnih kiselina – triacilgliceroli, masne kiseline i glicerol. Negliceridnu frakciju čine spojevi koji u svojoj strukturi ne sadrže glicerol i prirodno se nalaze u uljima i mastima, a tu spadaju tokoferoli, steroli, skvalen, pigmenti i vitamini (A, D i K). Tokoferoli su snažni antioksidansi ulja i masti koji stabiliziraju staničnu membranu, ali i spojeve kao što su enzimi, hormoni, vitamin A i ubikinon. Razlikujemo 4 izomera tokoferola koji se razlikuju po svojoj antioksidacijskoj sposobnosti, a to su α , β , γ i δ . Najsnažnije biološko djelovanje ima α -tokoferol (vitamin E), a najsnažnije antioksidacijsko djelovanje ima γ -tokoferol. Steroli su visokomolekularni ciklički alkoholi derivati ciklopentanofenantrena od kojih su najznačajniji β -sitosterol, kampesterol i stigmasterol. Skvalen je triterpenski ugljikovodik sa 6 dvostrukih veza i biokemijski je prekursor sterola koji također kao i fitosteroli imaju bitnu ulogu u snižavanju kolesterola i LDL-kolesterola. Negliceridna frakcija je ujedno i neosapunjivi dio ulja i masti. Naime, ulja i masti imaju mogućnost formiranja sapuna u reakciji s lužinama saponifikacijom, pa tako razlikujemo osapunjivu i neosapunjivu frakciju ulja i masti. Osapunjivu frakciju čine masne kiseline, trigliceridi i fosfolipidi.

Jestiva ulja i masti, pa tako i repičino i gorušičino ulje, se prvenstveno sastoje od triacilglicerola (TAG), estera molekule glicerola i tri molekule masnih kiselina. Triacilgliceroli predstavljaju ključ za razumijevanje fizikalnih svojstava ulja i jedinstvena je metoda identifikacije. Analizom repičinog ulja dokazano je da trigliceridi čine 94,4% do 99,1% od ukupnih lipida (Przybylski i sur., 2005).

2.2.1. Uljana repica

Ulje uljane repice se proizvodi prešanjem i ekstrakcijom organskim otapalima, a kao nusproizvod se dobije pogača ili sačma koja se primjenjuje u hranidbi stoke kao izvor bjelančevina. Sjeme uljane repice sadrži 40 – 48 % ulja i 15 – 25 % bjelančevina (Pospišil, 2013). Ulje je važan izvor esencijalnih masnih kiselina, te je karakterizirano niskim udjelom zasićenih i visokim udjelom mononezasićenih masnih kiselina i zamjetnim udjelom α -linolenske masne kiseline (ω 3) (Bauer i sur., 2015).

Najvažniji dio molekule triglicerida su masne kiseline jer se većina kemijskih reakcija odvija upravo na njima. Masne kiseline mogu biti zasićene i nezasićene. U ulju uljane repice od zasićenih masnih kiselina najzastupljenije su palmitinska masna kiselina (C16:0) u udjelu 2,5-7,0% i stearinska masna kiselina (C18:0) u udjelu 0,8-3,0% od ukupnih masnih kiselina u ulju. U manjem udjelu su zastupljene još i arahinska (C20:0), behenska (C22:0), miristinska (C14:0) i lignocerinska masna kiselina (C24:0) (Pravilnik, 2012). Nezasićene masne kiseline dijelimo na mononezasićene i polinezasićene masne kiseline koje sadrže nezasićenu, dvostruku vezu zbog koje imaju sposobnost stvaranja optičkih izomera masnih kiselina. U prirodi je većina masnih kiselina u *cis* obliku, dok su *trans* izomeri vrlo rijetki. *Trans* masne kiseline nastaju tijekom procesa rafinacije i hidrogenacije. Iako su stabilniji od *cis* izomera i imaju višu točku topljenja pokazuju negativan učinak na zdravlje čovjeka povećavajući razinu LDL i rizik od krvožilnih bolesti (Lichenstein, 1997). U repičinom ulju najzastupljenija jednostrukonezasićena masna kiselina je oleinska masna kiselina (C18:1) u udjelu od 51,0-75,0%. Ostale zastupljene mononezasićene masne kiseline su gadoleinska (C20:1) u udjelu od 0,1-4,3%, palmitoleinska (C16:1) u udjelu do 0,6% i eruka masna kiselina (C22:1) u udjelu do 2% (Pravilnik, 2012). Od višestrukonezasićenih masnih kiselina prisutne su linolna (ω 6) i α -linolenska (ω 3) masne kiseline. U repičinom ulju linolna masna kiselina (C18:2) je prisutna u udjelu od 10,0-30,0%, dok je α -linolenska (C18:3) prisutna u udjelu od 4,0-14,0% od ukupnih masnih kiselina. Linolna i α -linolenska masna kiselina su esencijalne masne kiseline koje ljudski organizam ne može sam sintetizirati te ih je potrebno u organizam unositi putem hrane. Udio linolne i α -linolenske masne kiseline i u repičinom i u gorušičinom ulju zadovoljavaju preporučeni omjer (2:1) ω 6 i ω 3 masnih kiselina u prehrani koji je vrlo bitan za poboljšanje kvalitete ljudskog zdravlja (Przybylski i sur., 2005). Ulje uljane repice ima viši sadržaj esencijalnih masnih kiselina nego maslinovo ulje, osobito α -linolenska. Ona je jedna od rijetkih uljarica s optimalnim 2 : 1 odnosom linolne i α -linolenske masne kiseline. Postoje i dokazi da omega-3 masne kiseline imaju ulogu u prevenciji i terapiji brojnih kroničnih bolesti, posebno u smanjenju rizika od srčanih bolesti (Trautwein, 2001).

Tokoferoli u repičinom ulju su prisutni u relativno visokim koncentracijama, čak i do 770 mg/kg, od čega najviše u obliku γ -tokoferola (do 423 mg/kg) i α -tokoferola (do 272 mg/kg) (Przybylski i sur., 2005). Najmanja koncentracija tokoferola pronađen je u hladno prešanom repičinom ulju. Kada se temperatura proizvodnje ulja poveća, količina tokoferola u ulju se udvostruči. Ulja ekstrahirana otapalom sadrže veće količine tokoferola nego hladno prešana ulja, no značajan se dio tokoferola uklanja tijekom procesa deodorizacije (Przybylski i sur., 2005).

U ulju uljane repice, ukupna koncentracija sterola iznosi 4800-11300 mg/kg. Od toga, najzastupljeniji sterol u repičinom ulju je β -sitosterol sa udjelom od 45,1-57,9 %. U značajnom udjelu zastupljeni su još i kampesterol (24,7-38,6 %), brasikasterol (5-13,0 %) te Δ 5-avenasterol (3,1-6,6 %). Od ostalih sterola u manjem udjelu su prisutni još i kolesterol, stigmasterol, Δ 7-stigmastenol i Δ 7-avenasterol (Pravilnik, 2012).

Pigmenti prisutni u repičinom ulju uzrokuju neželjenu boju ulja. Također potiču fotooksidaciju te inhibiraju katalizatore koji se koriste za hidrogenaciju. Klorofili bez fitola kao što su klorofilni derivati mogu imati utjecaja na zdravlje zbog svoje fototoksičnosti, što može posljedično uzrokovati fotoosjetljivi dermatitis. Osim klorofilnih pigmenata u repičinom ulju su prisutni i karotenoidi. U sirovom ulju bili su prisutni u koncentracijama oko 130 mg/kg, uglavnom sastavljeni od ksantofila (90%) i karotena (10%). Tijekom rafiniranja i izbjeljivanja količina karotenoida smanjena je na 10 mg/kg. Vrsta i koncentracija klorofila i njihovih derivata u sjemenu određuju kvalitetu ekstrahiranog i prerađenog ulja uljane repice (Przybylski i sur., 2005).

Ulje starih sorata uljane repice sadržavalo je nepovoljan odnos masnih kiselina i čak do 50 % dugolančane masne eruka kiseline (C22:1) koja u visokim količinama dovodi do raznih kardiovaskularnih bolesti. Intenzivnim oplemenjivačkim radom 1970-ih stvorene su „0” sorte kod kojih je smanjen sadržaj eruka kiseline ispod 2% (Pospišil, 2013). Smanjenje eruka masne kiseline u repičinom ulju rezultiralo je značajnim povećanjem oktadekanske kiseline. Uzgajivači biljaka su također razvili i repičino ulje sa sadržajem linolenske kiseline smanjenim na 2%. Time se poboljšala stabilnost skladištenja ovakvog ulja u usporedbi sa standardnim uljem. Također je poboljšana i učinak prženja ovakvog ulja, kao i bolja stabilnost skladištenja prženih proizvoda kao što su prženi krumpirići. Warner i Mounts (2003) otkrili su da je potrebno do 2% linolenske kiseline u ulju za prženje kako bi se postigle pozitivne senzorske karakteristike pržene hrane. Uzrok tome su oksidacijski produkti linolenske kiseline koji najviše utječu na karakteristike pržene hrane. Canola se također dodatno genetski modificirala za proizvodnju ulja s udjelom oleinske kiseline u rasponu od 60% do 85%. Također je razvijeno i Canola ulje s visokim udjelom laurinske kiseline (39%) koja se koristi za konditorske premaze. Dostupno je i ulje s udjelom stearinske masne kiseline do 40% koje se koristi kao zamjena za hidrogenirane masti u pekarnicama, kao i ulje koje sadrži oko 10% palmitinske kiseline s boljim kristalizacijskim svojstvima (Przybylski i sur., 2005).

Iako se intervencijama u sastavu masnih kiselina uljane proizvelo ulje koje može imati veću nutritivnu u tehnološku vrijednost, vrijednost uljane repice je i dalje bila smanjena zbog visoke količine glukozinolata u sjemenu što je ograničavalo korištene sačme uljane repice u

hranidbi stoke (Pospíšil, 2013). Hidrolizirani proizvodi glukozinolata, izotiocijanati i drugi spojevi koji sadrže sumpor, pokazali su da ometaju unos joda u štitnjaču, pridonose bolesti jetre i smanjuju rast te uzrokuju smanjenje težine kod životinja (Przybylski i sur., 2005). Kod današnjih „00“ sorata i hibrida uljane repice, dobivene oplemenjivačkim radom 1980-ih godina u Kanadi, sadržaj sumpornih spojeva – glukozinolata u sačmi iznosi ispod 15 $\mu\text{mol/g}$ što se smatra bezopasnim po zdravlje životinja (Pospíšil, 2013). Na temelju istraživanja svojstava novih „00 – kultivara“ uljane repice u odnosu na svojstva „0 – sorti“ nisu utvrđene statističke razlike u količini ulja u sjemenu, iako su novi kultivari pokazali povećani postotak ulja kao i veći prinos sirovog ulja (Mustapić i sur., 1984).

Repičino ulje se danas proizvodi od sorata i/ili hibrida uljane repice s niskim sadržajem eruka kiseline i niskim sadržajem glukozinolata u sačmi. Danas se za repičino ulje ovakvih karakteristika koristi naziv „Canola ulje“. Odlučujući čimbenici za izbor hibrida su visok prinos sjemena, visok udio ulja u sjemenu, otpornost na smrzavanje, bolesti i polijeganje te pucanje komuški (Pospíšil, 2013). U Hrvatskoj se proizvodnja repice također zasniva na hibridima i linijskim sortama kvalitetnog ulja i niskog sadržaja glukozinolata u sačmi (10 – 15 $\mu\text{mol/g}$). Ovisno o ekološkim uvjetima i tehnologiji proizvodnje, hibridi uljane repice postižu 5 – 10 % veći prinos u odnosu na linijske sorte (Pospíšil i sur., 2005; Pospíšil i sur., 2007).

2.2.2. Bijela gorušica

Bijela gorušica ima vrlo povoljan kemijski sastav kao i vrlo dobro izbalansiran aminokiselinski sastav, bogata je prehranbenim vlaknima i prirodnim antioksidansima (Schuster-Gajzágó i sur., 2006). Kao i kod uljane repice, u ulju gorušice od zasićenih masnih kiselina najzastupljenije su palmitinska masna kiselina (C16:0) u udjelu 0,5-4,5 %, stearinska (C18:0) u udjelu 0,5-2,0 % ali i behenska masna kiselina (C22:0) koja je u ulju gorušice zastupljena u većem udjelu (0,2-2,5 %) nego kod repičinog ulja. U manjem udjelu zastupljene su još i miristinska (C14:0), arahinska (C20:0) i lignocerinska (C24:0) masna kiselina (Pravilnik, 2012). Za razliku od uljane repice gdje je Pravilnikom (2012) određena granična vrijednost postotka eruka masne kiseline od 2%, u gorušičinom ulju je eruka masna kiselina najzastupljenija jednostrukozasićena masna kiselina (C22:1) sa udjelom od 22,0-50,0 %. Visoki udio eruka masne kiseline može negativno djelovati na ljudsko zdravlje, točnije povezujemo ju sa lipidozom miokarda te oštećenjem srca kod testiranih životinja (Shrestha i sur., 2013). Slijede ju oleinska (C18:1) sa udjelom od 8,0-23,0 % i gadoleinska masna kiselina (C20:1) u udjelu od 5,0-13,0 %. U manjem udjelu zastupljene su još i palmitoleinska i (C24:1) (Pravilnik, 2012). Od višestrukozasićenih masnih kiselina u gorušičinom ulju, linolna masna kiselina je zastupljena u udjelu od 10,0-24,0 % što je slično kao i kod repičinog ulja, dok je α -linolenska zastupljena u udjelu od 6,0-18,0 % što je malo više nego u repičinom (Pravilnik, 2012).

U sjemenu gorušice prisutni su fitosteroli, skvalen, tokoferoli i karotenoidi koji čine neosapunjivi dio ulja. Poznato je da fitosteroli pokazuju antioksidativno i antikancerogeno djelovanje, kao i njihova uloga u snižavanju razine kolesterola. Kao i kod repičinog ulja, u ulju gorušice su od fitosterola najviše zastupljeni β -sitosterol (6,0 mg/g) i kampesterol (3,6 mg/g) (Jham i sur., 2009).

Ulje gorušice sadrži veće koncentracije ukupnih tokoferola nego repičino ulje, a iznosi 800 mg/kg (Jham i sur., 2009). Kao i repičino ulje, ulje gorušice uglavnom sadrži γ - tokoferol (585 mg/kg) i α -tokoferol (200 mg/kg) te male koncentracije β -tokoferola (1 mg/kg) i δ -tokoferola (14 mg/kg). Visoka razina tokoferola u gorušičinom ulju je prednost kada se masti gorušičinog brašna koriste kao aditivi, jer doprinose dužem roku trajanja konačnog proizvoda (Schuster-Gajzágó i sur., 2006). U zadnjih nekoliko desetljeća povoljni učinci na zdravlje koji se prepisuju fitosterolima i tokoferolima i u manjoj mjeri skvalenu potaknuli su interes u kvantificiranju tih spojeva u namirnicama (Ryan i sur., 2007).

Iako se karotenoidi u ulju smatraju antioksidansima, β -karoten, lutein i likopen u specifičnim uvjetima mogu ubrzati oksidaciju. Proučavanjem efekta prženja sjemena na udio tokoferola i karotenoida u gorušici pokazalo se da je stopa smanjenja luteina manja kod ulja proizvedenog iz kondicioniranog sjemena u odnosu na ulje dobivenog iz sjemena koje nije termički obrađeno. To znači da prženo ulje gorušice sadrži određene spojeve koji povećavaju stabilnost luteina tijekom zagrijavanja, čime se povećava stabilnost tokoferola. Također je zabilježeno da prženje sjemena prije ekstrakcije poboljšava okus i stabilnost ulja, djelomično zbog Maillardovih reakcija. Produkti Maillardovih reakcija produžuju period indukcije oksidacije ulja i smanjuju brzinu oksidacije u fazi propagacije (Vaidya i Choe, 2010).

Ulje gorušice podliježe oksidaciji tijekom zagrijavanja pri čemu dolazi do termolitičkih i oksidacijskih reakcija pri čemu nastaju hlapljivi i ne hlapljivi razgradni produkti koji sudjeluju u formiranju mirisa ulja. Povećanjem vrijednosti konjugirane masne kiseline s dvije nezasićene veze dolazi do transformacije nekonjugirane linolne u stabilniju konjugiranu linolensku kiselinu tijekom zagrijavanja. Zabilježeno je da je povećanje vrijednosti konjugirane masne kiseline s dvije nezasićene veze bilo niže u ulju proizvedenom od sjemena koje je prženo nego u ulju proizvedenom od sjemena koje nije bilo prženo iako je njezina početna vrijednost bila veća u ulju proizvedenom od prženog sjemena što dokazuje da se prženjem povećava oksidacijska stabilnost ulja gorušice tijekom zagrijavanja, te potvrđuje prisutnost korisnih spojeva kao što su produkti Maillardovih reakcija koji nastaju tijekom prženja, kao i njihov prijelaz u ulje (Vaidya i Choe., 2010).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijal

U eksperimentalnom dijelu korišteno je sjeme uljarica iz porodice *Brassicaceae* uzgojeno na eksperimentalnom polju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Korištena su 4 kultivara uljane repice od kojih je svaki uzgojen na 5 različitih načina te 1 kultivar gorušice uzgojen na 4 načina, kao što je prikazano u tablicama 1 i 2.

Tablica 1. Popis korištenih kultivara uljane repice

| Broj uzorka | Kultura | Sorta | Način uzgoja |
|-------------|-------------------|------------|--------------|
| 1. | Uljana repica 1-1 | PT 234 | P1 |
| 2. | Uljana repica 1-2 | PT 234 | P2 |
| 3. | Uljana repica 1-3 | PT 234 | P3 |
| 4. | Uljana repica 1-4 | PT 234 | P4 |
| 5. | Uljana repica 1-5 | PT 234 | P5 |
| 6. | Uljana repica 2-1 | PX 113 | P1 |
| 7. | Uljana repica 2-2 | PX 113 | P2 |
| 8. | Uljana repica 2-3 | PX 113 | P3 |
| 9. | Uljana repica 2-4 | PX 113 | P4 |
| 10. | Uljana repica 2-5 | PX 113 | P5 |
| 11. | Uljana repica 3-1 | Ametyst | P1 |
| 12. | Uljana repica 3-2 | Ametyst | P2 |
| 13. | Uljana repica 3-3 | Ametyst | P3 |
| 14. | Uljana repica 3-4 | Ametyst | P4 |
| 15. | Uljana repica 3-5 | Ametyst | P5 |
| 16. | Uljana repica | Janja Lipa | 1 |
| 17. | Uljana repica | Janja Lipa | 2 |
| 18. | Uljana repica | Janja Lipa | 3 |
| 19. | Uljana repica | Janja Lipa | 4 |
| 20. | Uljana repica | Janja Lipa | 5 |

Tablica 2. Opis korištenih uzoraka gorušice

| Broj uzorka | Kultura | Sorta | Način uzgoja |
|-------------|-----------------|-------|----------------------------------|
| G-1. | Bijela gorušica | 2017. | 1 (50 sjemenki/m ²) |
| G-2. | Bijela gorušica | 2017. | 2 (70 sjemenki/m ²) |
| G-3. | Bijela gorušica | 2017. | 3 (90 sjemenki/m ²) |
| G-4. | Bijela gorušica | 2017. | 4 (110 sjemenki/m ²) |

3.2. Metode rada

3.2.1. Određivanje tehničko - tehnoloških svojstava sjemena

Veličina i oblik sjemena

Iz svakog pojedinog uzorka izmjeren je promjer 10 nasumično izabranih sjemenki pomoću pomične mjerke. Nakon provedenog mjerenja izračunata je srednja vrijednost promjera sjemena za svaki uzorak (Rade i sur., 2001).

Masa 1000 sjemenki

Mjerenje je provedeno prema metodi Rade i suradnika (2001) na način da se iz svakog uzorka izbrojalo 500 zrna sjemenki kojima se zatim izmjerila masa. Masa 1000 sjemenki je izračunata prema formuli [1]:

$$\text{Masa 1000 sjemenki} = \text{masa 500 sjemenki} \cdot 2 \quad [1]$$

3.2.2. Određivanje udjela vode u sjemenu

Za određivanje udjela vode u sjemenu korištena je standardna metoda (HRN EN ISO 665:2004) sušenja sjemena do konstantne mase u sušioniku. U prethodno izvaganu i osušenu aluminijsku posudu izvaganu je 5 g uzorka nesamljevenog sjemena s točnošću 0,001 g. Aluminijske posudice s uzorkom sušene su u sušioniku s podignutim poklopcem do konstantne mase (odnosno kada je razlika između dva mjerenja bila najviše 0,005 g). Iz razlike mase prije i nakon sušenja sjemena izračunat je udio vode. Provedena su dva paralelna mjerenja za svaki uzorak. Kao rezultat je uzeta srednja vrijednost dva mjerenja.

3.2.3. Određivanje udjela ulja u sjemenu

Za određivanje udjela ulja u sjemenu korištena je standardna metoda ekstrakcije po Soxhletu (HRN EN ISO 659:2010). U čahuru za ekstrakciju izvagano je 10 g samljevenog uzorka s točnošću 0,001 g. Čahura se odozgo zatvori vatom i postavi u aparaturu po Soxhletu. Kao otapalo je korišten petroleter.

Ekstrakcija je trajala 8 sati, a dobiveni ekstrakt se skupljao u prethodno izvaganu tikvicu u koju su dodane 3-4 kuglice za vrenje. Nakon provedene ekstrakcije otapalo je otpareno, a ostatak je sušen u sušoniku do konstantne mase. Provedena su dva paralelna mjerenja za svaki uzorak a iz mase ekstrahiranog ulja i sjemena uzetog za ekstrakciju izračunat je udjel ulja u sjemenu.

3.2.4. Određivanje sastava masnih kiselina

Sastav masnih kiselina u uzorcima ulja dobivenih prethodnom ekstrakcijom po Soxhletu (potpoglavlje 3.2.3) određen je pomoću plinske kromatografije. Prije same analize potrebno je masne kiseline prevesti u metilne estere.

Priprema metilnih estera masnih kiselina

Za prevođenje masnih kiselina u metilne estere korištena je standardna metoda transesterifikacije (HRN EN ISO 5509:2004) pomoću metanolne otopine KOH.

U epruvetu je odvagano 60 mg uzorka ulja i dodano 4 mL izooktana. Zatim je dodano 200 µL 2M metanolne otopine kalij hidroksida i snažno protreseno 30 sekundi na vortexu.

Pripremljena otopina je ostavljena nekoliko minuta na sobnoj temperaturi kako bi reagirala.

Nakon završene reakcije, tj. nakon što se smjesa izbistrila i gliceridni sloj odvojio na dnu epruvete, smjesa je neutralizirana dodatkom 1 g natrij hidrogensulfata monohidrata.

Supernatant je odvojen u vijalicu te su tako pripremljeni uzorci injektirani u plinski kromatograf.

Analiza metilnih estera plinskom kromatografijom

Metilni esteri su analizirani plinskom kromatografijom prema HRN EN ISO 5508:1999 normi na plinskom kromatografu ATI Unicam 610 opremljenom plameno ionizacijskim detektorom (FID).

Ra razdvajanje metilnih estera korištena je kapilarna kolona TR-FAME (30 m x 0,22 mm,

debljine filma 0,25 μm). Kao plin nosioc korišten je helij protoka 0,7 mL min^{-1} konstantnog tlaka tijekom cijelog vremena trajanja analize. Temperatura pećnice programirana je da prvo raste 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ od 120 do 160 $^{\circ}\text{C}$ a zatim 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 190 $^{\circ}\text{C}$. Konačna je temperatura zadržana još 10 minuta. Injektiran je 1 μL otopine metilnih estera u injektor čija je temperatura bila 250 $^{\circ}\text{C}$, a omjer splita postavljen na 75:1. Temperatura FID-a bila je 280 $^{\circ}\text{C}$.

Za određivanje kvantitativnog sastava masnih kiselina korištena je metoda normizacije površine. Na kromatografu je zabilježen udio pojedine masne kiseline, a na osnovu usporedbe vremena zadržavanja metilnih estera pripremljenog uzorka s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese provedena je i identifikacija pojedinih masnih kiselina u ispitivanim uzorcima.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Porodica *Brassicaceae* je kozmopolitski velika porodica sa oko 338 rodova i preko 3700 vrsta (Al-Shehbaz, 1984 ; Warwick i Al-Shehbaz 2006). Biljke su uglavnom zeljaste, a iznimno postoje i polugrmovi. Neke od vrsta koje pripadaju porodici *Brassicaceae* uzgajaju se za dobivanje ulja, senfa, stočne hrane ili se uzgajaju kao povrće. Na kvalitetu finalnog proizvoda značajnu ulogu mogu imati i sorta i način uzgoja biljke (Crisp, 1976; Simmonds, 1986). Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj sorte i načina uzgoja sjemena uljarica iz porodice *Brassicaceae* (uljane repice i gorušice) na kvalitetu sjemena i sastav masnih kiselina.

Kako bi se ispravno provele određene operacije pripreme sjemena i proizvodnje ulja (transport, čišćenje, skladištenje i prerada) vrlo je bitno poznavanje tehničko – tehnoloških svojstava korištene uljane kulture. Poznavanjem tehničko – tehnoloških svojstava moguće je bolje optimiranje uvjeta tijekom provođenja pojedinog tehnološkog postupka proizvodnje ulja, sprječavanje negativnih promjena kao i održavanje kvalitete proizvoda (Rade i sur., 2001). Provedena je analiza promjera sjemena te masa 1000 sjemenki, a dobiveni rezultati su prikazani u Tablici 1. za uljanu repicu, a za gorušicu u Tablici 2.

Veličina i oblik sjemena su vrlo bitni kod odabira uređaja i načina transporta sjemena. Također je važno poznavati oblik i veličinu sjemena prilikom odabira veličine sita prilikom čišćenja kao i ljuštilice prilikom ljuštenja. Analizom sjemena uljane repice prosječna vrijednost promjera sjemena iznosi 1,7 mm što odgovara vrijednosti od 1,8-2,8 mm koja je navodena u literaturi (Pospišil, 2013). Statističkom obradom podataka je utvrđeno da način uzgoja ima značajan utjecaj na promjer sjemena uljane repice. Prosječna vrijednost promjera analiziranog zrna gorušice iznosi također 1,7 mm isto kao i kod sjemena uljane repice.

Masa 1000 sjemenki ovisi o kvaliteti i punoći sjemena, dakle punije zrno ima veću vrijednost mase 1000 sjemenki iz čega proizlazi da je takvo sjeme veće kvalitete. Masa 1000 sjemenki daje grubi uvid u kvalitetu sjemena. Analizom sjemena uljane repice, prosječna vrijednost mase 1000 sjemenki iznosi 4,14 g što odgovara literaturnom navodu od 4 - 8 g (Pospišil, 2013), no dobiveni rezultati se razlikuju od vrijednosti koju navode Mustapić i suradnici u svom radu, gdje se masa 1000 sjemenki kreće u rasponu između 4,4 g i 5,2 g (Mustapić i sur, 1984).

Tablica 1. Osnovni parametri kvalitete analiziranog sjemena uljane repice

| SORTA | NAČIN UZGOJA | UDIO VODE [§] (%) | UDIO ULJA ^{§,¥} (%) | MASA 1000 SJEMENKI (g) | PROMJER (mm) |
|-------|--------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------|-----------------|
| 1 | 1 | 6,2 | 38,3 | 3,92 | 1,7 |
| | 2 | 6,2 | 35,8 | 3,78 | 1,6 |
| | 3 | 6,1 | 40,4 | 3,72 | 1,8 |
| | 4 | 6,2 | 40,3 | 4,00 | 1,8 |
| | 5 | 6,1 | 38,1 | 3,72 | 1,8 |
| 2 | 1 | 6,0 | 38,9 | 3,82 | 1,8 |
| | 2 | 6,0 | 39,4 | 3,78 | 1,8 |
| | 3 | 5,8 | 40,1 | 3,68 | 1,7 |
| | 4 | 6,1 | 41,7 | 3,80 | 1,7 |
| | 5 | 5,8 | 40,4 | 3,90 | 1,8 |
| 3 | 1 | 6,1 | 40,8 | 4,46 | 1,6 |
| | 2 | 6,0 | 40,2 | 4,58 | 1,8 |
| | 3 | 5,8 | 42,6 | 4,60 | 1,9 |
| | 4 | 5,8 | 44,3 | 4,82 | 1,9 |
| | 5 | 5,9 | 42,2 | 4,78 | 1,8 |
| 4 | 1 | 5,9 | 39,2 | 4,00 | 1,8 |
| | 2 | 5,9 | 40,4 | 4,52 | 1,7 |
| | 3 | 5,9 | 40,5 | 4,28 | 1,8 |
| | 4 | 5,9 | 38,3 | 4,22 | 1,8 |
| | 5 | 6,4 | 39,9 | 4,38 | 1,8 |

[§]sorta ima značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

[¥]način uzgoja ima značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

Tablica 2. Osnovni parametri kvalitete analiziranog sjemena gorušice

| Uzorak | UDIO VODE (%) | UDIO ULJA [‡] (%) | MASA 1000 SJEMENI (g) | PROMJER (mm) |
|--------|---------------|----------------------------|-----------------------|--------------|
| G-1 | 7,0 | 21,10 | 4,72 | 1,60 |
| G-2 | 6,90 | 21,10 | 4,74 | 1,80 |
| G-3 | 7,0 | 21,80 | 5,34 | 1,70 |
| G-4 | 7,0 | 21,50 | 5,28 | 1,70 |

[‡]način uzgoja ima značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

Statističkom obradom podataka je utvrđeno kako sorta ima značajan utjecaj na masu 1000 sjemenki uljane repice. Za razliku od uljane repice, gorušica pokazuje nešto veću vrijednost mase 1000 sjemenki čija prosječna vrijednost analiziranog sjemena iznosi 5,02 g.

Statističkom obradom podataka je utvrđeno da način uzgoja nema značajan utjecaj na promjer zrna gorušice niti na masu 1000 sjemenki.

Udio vode, ulja i nečistoća parametri su kojima se procjenjuje kvaliteta sjemena kao i kvaliteta završnog proizvoda. Osim toga, navedeni parametri su vrlo važni prilikom formiranja cijene sjemena. Prema Kodeksu otkupa žitarica i uljarica, sjeme uljane repice u otkupu mora sadržavati minimalno 40 % ulja, te najviše 10 % vlage i najviše 4 % nečistoća (Kodeks, 2014). U slučaju da vrijednosti odstupaju od navedenih, prilikom obračuna se otkupna cijena smanjuje ili povećava za svaki postotak odstupanja (Pospišil, 2013). Prema Pravilniku o stavljanju na tržište sjemena žitarica, sjeme gorušice mora imati čistoću najmanje 98%, a udio vlage najviše 12% (Pravilnik, 2005).

Osnovni parametri kvalitete sjemena koje smo određivali u ovom radu su udio ulja, udio vode i sastav masnih kiselina. Dobiveni rezultati za udio vode i udio ulja prikazani su u Tablici 1. za uljanu repicu i u Tablici 2. za gorušicu, a sastav masnih kiselina je prikazan u Tablici 3. za uljanu repicu i u Tablici 4. za gorušicu.

Udio vode u sjemenu ovisi o njegovom stupnju zrelosti, vremenskim prilikama kao i o žetvi. Kod uskladištenog sjemena bitno ovisi i o relativnoj vlažnosti zraka tijekom skladištenja. Povećani udio vode u sjemenu dovodi do biokemijskih reakcija u samom sjemenu što posljedično uzrokuje razgradnju, klijanje te razvoj plijesni i drugih mikroorganizama. Prisutna voda u povećanom udjelu u sjemenu postaje centar kvarenja vežući na sebe čestice nečistoća čime se umanjuje kvaliteta takvog sjemena i posljedično rastu troškovi proizvodnje jer je takvo sjeme prije skladištenja i prerade potrebno osušiti. Kako bi se spriječilo kvarenje sjemena i dobilo ulje visoke kvalitete, potrebno je udio vode u sjemenu smanjiti ispod kritične vlažnosti. Kritična vlažnost predstavlja granični udio vode koji uzrokuje prijelaz sjemena iz stanja anabioze u stanje intenzivne razgradnje (Rade i sur., 2001). Prema Kodeksu (2014) sjeme uljane repice ne smije sadržavati više od 10% vode. U analiziranim uzorcima sjemena uljane repice prosječni udio vode iznosi 6,0% što je sukladno propisima Kodeksa (2014) iz čega proizlazi da se takvo sjeme može skladištiti bez opasnosti od potencijalnog kvarenja uslijed povećanog udjela vode. Statističkom obradom podataka je utvrđeno da na udio vode u sjemenu uljane repice sorta ima značajan utjecaj. Dobiveni rezultati su sukladni i rezultatima istraživanja (Bernardini, 1982) u kojem se udio vode u sjemenu uljane repice kreće u rasponu od 6 % do 9 %, dok Rac (1964) navodi raspon udjela

vode od 5% do 9%. Za razliku od uljane repice, analizirani uzorci sjemena gorušice sadrže nešto veći prosječni udio vode od 7,01 % što je slično podacima iz literature od 6,9 % (Thomas i sur., 2012). Dobiveni rezultati zadovoljavaju kriterij određen Pravilnikom (2005) gdje se navodi da sjeme gorušice ne smije sadržavati više od 12% vlage. Iz toga proizlazi da se uzorci sjemena gorušice, kao i uzorci uljane repice, mogu skladištiti bez opasnosti od kvarenja.

Udio ulja u sjemenu jedan je od osnovnih parametara kojim se određuje kakvoća sjemena. U Tablici 1. i 2. prikazane su dobivene vrijednosti udjela ulja u ispitivanim uzorcima uljane repice i gorušice. Prosječni udio ulja u uzorcima uljane repice iznosi 40,1% što je sukladno istraživanju (Bernardi, 1982) u kojem se udio ulja kreće u rasponu između 39% i 42%. Nešto veću vrijednost od 44,3% pokazuje uzorak sorte 3, način uzgoja 4 što je sukladno rezultatima istraživanja (Oštrić-Matijašević i Turkolov, 1980) gdje se navodi udio ulja u sjemenu u rasponu od 30% do 49%. Nešto nižu vrijednost od prosječnog postotka pokazuje uzorak sorte 1, način uzgoja 2 gdje je udio ulja u sjemenu 35,8%. Statističkom obradom podataka je utvrđeno kako i sorta i način uzgoja imaju značajan utjecaj na udio ulja u sjemenu uljane repice što potvrđuje i literatura koja navodi da ovisno o ekološkim uvjetima i tehnologiji proizvodnje, hibridi uljane repice postižu 5 – 10 % veći prinos u odnosu na linijske sorte (Pospišil i sur., 2005; Pospišil i sur., 2007). U literaturi se također navodi da na visinu prinosa, kao i na kvalitetu sjemena i ulja bitno utječe gnojidba i odgovarajuća temperatura u razdoblju od početka cvatnje do zriobe (Pospišil, 2013).

Za razliku od uljane repice, analizirani uzorci sjemena gorušice pokazuju znatno nižu vrijednost prosječnog udjela ulja od 21,35 %. Dobivena prosječna vrijednost udjela ulja u sjemenu gorušice znatno je niža od rezultata istraživanja (Schuster-Gajzágó i sur., 2006) koje navodi udio od 28-32%. Dobivena niža vrijednost udjela ulja može biti posljedica različitih klimatskih uvjeta uzgoja. Statističkom obradom podataka je utvrđeno kako način uzgoja sjemena (gustoća usjeva) ima značajan utjecaj na udio ulja u sjemenu.

Sastav masnih kiselina je važan za procjenu kvalitete ulja. Osim toga, bitno utječe na oksidacijsku stabilnost, fizikalna svojstva i nutritivnu vrijednost ulja. Prema dobivenim vrijednostima prikazanim u Tablici 3. i 4. vidljivo je da je u repičinom ulju najzastupljenija oleinska masna kiselina (C18:1) čiji udio u prosjeku od svih ispitanih uzoraka iznosi 65,36%. U uzorcima sorte 3 udio oleinske kiseline je nešto veći (oko 69%), dok je u uzorcima sorte 4 nešto niži (oko 61%) što odgovara prosječnoj vrijednosti od 61,6% navedenoj u literaturi (Przybylski i sur., 2005).

Tablica 3. Sastav masnih kiselina (izražen kao % od ukupnih) u uzorcima sjemena uljane repice

| SORTA | NAČIN UZGOJA | C16:0 [§] | C16:1 ^{§¥} | C17:0 [§] | C18:0 ^{§¥} | C18:1 [§] | C18:2 ^{§¥} | C18:3 ^{§¥} | C20:0 ^{§¥} | C20:1 [§] | C22:0 |
|-------|--------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------|
| 1 | 1 | 4,66 | 0,21 | 0,04 | 1,72 | 65,58 | 18,32 | 7,51 | 0,53 | 1,00 | 0,24 |
| | 2 | 4,69 | 0,25 | 0,07 | 1,71 | 65,54 | 18,36 | 7,41 | 0,56 | 1,06 | 0,25 |
| | 3 | 4,61 | 0,21 | 0,14 | 1,72 | 65,82 | 18,17 | 7,49 | 0,50 | 1,01 | 0,23 |
| | 4 | 4,62 | 0,21 | 0,04 | 1,74 | 65,82 | 18,14 | 7,52 | 0,52 | 0,96 | 0,24 |
| | 5 | 4,63 | 0,21 | 0,07 | 1,74 | 65,77 | 18,21 | 7,55 | 0,53 | 1,01 | 0,14 |
| 2 | 1 | 4,92 | 0,22 | 0,08 | 1,68 | 64,71 | 18,37 | 8,17 | 0,55 | 1,04 | 0,14 |
| | 2 | 4,88 | 0,22 | 0,22 | 1,73 | 65,09 | 18,01 | 7,94 | 0,53 | 0,96 | 0,26 |
| | 3 | 4,99 | 0,22 | 0,04 | 1,72 | 64,96 | 17,99 | 7,87 | 0,53 | 0,98 | 0,25 |
| | 4 | 4,97 | 0,23 | 0,07 | 1,72 | 65,04 | 18,08 | 8,01 | 0,53 | 0,99 | 0,24 |
| | 5 | 4,87 | 0,22 | 0,07 | 1,69 | 65,27 | 17,99 | 8,00 | 0,53 | 0,97 | 0,24 |
| 3 | 1 | 4,34 | 0,20 | 0,07 | 2,03 | 69,07 | 16,72 | 5,63 | 0,59 | 0,97 | 0,26 |
| | 2 | 4,34 | 0,20 | 0,03 | 2,04 | 69,08 | 16,59 | 5,72 | 0,63 | 0,94 | 0,23 |
| | 3 | 4,32 | 0,21 | 0,07 | 2,05 | 69,05 | 16,54 | 5,83 | 0,58 | 0,92 | 0,24 |
| | 4 | 4,28 | 0,20 | 0,03 | 2,05 | 69,31 | 16,39 | 5,73 | 0,57 | 0,93 | 0,24 |
| | 5 | 4,35 | 0,20 | 0,07 | 2,07 | 69,13 | 16,53 | 5,76 | 0,58 | 0,94 | 0,23 |
| 4 | 1 | 4,59 | 0,21 | 0,11 | 1,35 | 61,70 | 21,00 | 9,03 | 0,44 | 1,00 | 0,21 |
| | 2 | 4,70 | 0,22 | 0,23 | 1,39 | 61,69 | 20,86 | 9,05 | 0,47 | 1,06 | 0,24 |
| | 3 | 4,56 | 0,22 | 0,15 | 1,34 | 61,76 | 20,84 | 9,06 | 0,47 | 1,04 | 0,25 |
| | 4 | 4,62 | 0,22 | 0,11 | 1,38 | 61,35 | 21,00 | 9,18 | 0,47 | 1,06 | 0,25 |
| | 5 | 4,54 | 0,22 | 0,14 | 1,37 | 61,51 | 21,05 | 9,17 | 0,46 | 1,04 | 0,23 |

[§]sorta ima značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

[¥]način uzgoja ima značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

Tablica 4. Sastav masnih kiselina (izražen kao % od ukupnih) u uzorcima sjemena gorušice

| UZORAK | C16:0 | C16:1 | C17:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 | C20:0 | C20:1 | C22:0 | C22:1 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| G-1 | 3,22 | 0,17 | 0,99 | 0,92 | 24,50 | 11,41 | 9,74 | 0,60 | 9,19 | 0,49 | 37,85 |
| G-2 | 3,29 | 0,17 | 2,35 | 0,95 | 24,45 | 11,02 | 9,41 | 0,61 | 9,26 | 0,54 | 37,10 |
| G-3 | 3,14 | 0,16 | 0,00 | 0,99 | 24,35 | 11,17 | 9,66 | 0,61 | 9,40 | 0,51 | 38,29 |
| G-4 | 2,94 | 0,19 | 0,07 | 0,90 | 23,55 | 11,29 | 9,85 | 0,60 | 9,33 | 0,51 | 37,56 |

Ove rezultate potvrđuje statistička obrada podataka kojom je utvrđeno da sorta ima značajni utjecaj na udio oleinske kiseline u repičinom ulju. U ulju gorušice (Tablica 4), najzastupljenija je eruka masna kiselina (C22:1) prosječnog udjela od 37,7. U svim ispitanim uzorcima gorušice, udio eruka masne kiseline zadovoljava granice udjela od 22,0-50,0 % utvrđene Pravilnikom (2012). Literatura također navodi prosječni udio eruka masne kiseline od 38,8% (Ryan i sur., 2007) što je vrlo slično dobivenim eksperimentalnim vrijednostima u ovom istraživanju. Za razliku od gorušice kod koje je eruka najzastupljenija masna kiselina, vrlo važno je naglasiti kako u analiziranim uzorcima uljane repice nije detektirana eruka masna kiselina. Time je zadovoljen kriterij određen Pravilnikom za jestiva ulja i masti (2012) da repičino ulje ne smije sadržavati više od 2 % eruka masne kiseline. Zaključujemo da analizirani uzorci uljane repice spadaju u Canola kultivare s niskim udjelom eruka masne kiseline. Zbog štetnog djelovanja eruka masne kiseline na ljudsko zdravlje, povećani udio eruka masne kiseline u ulju gorušice može biti smanjen načinom uzgoja. U nekoliko zemalja se provodi kultivacija genotipova sa niskim sadržajem eruka masne kiseline (Schuster-Gajzágó i sur., 2006).

U ulju uljane repice osim oleinske, u povećanom udjelu je zastupljena i linolna masna kiselina čiji prosječni udio u ispitanim uzorcima iznosi 18,46% što odgovara granicama utvrđenim Pravilnikom (2012) od 10,0 % do 30,0 %. Ovaj udio je nešto veći u uzorcima sorte 4 (oko 21%) i nešto manji u uzorcima sorte 3 (16,5%). Prisutna je i α -linolenska masna kiselina u prosječnom udjelu od 7,58 % što odgovara granicama od 4-14% određenim Pravilnikom (2012). Nešto veću vrijednost (oko 9%) pokazuju uzorci sorte 4, dok uzorci sorte 3 pokazuju nižu vrijednost prosječnog postotka od 5,7%. U uzorcima sorte 3 primijećen je porast udjela mononezasićene oleinske masne kiseline, a smanjenje udjela polinezasićenih masnih kiselina (linolne i α -linolenske). S druge strane, u uzorcima sorte 4 primijećeno je smanjenje udjela mononezasićene oleinske masne kiseline, a povećanje polinezasićenih masnih kiselina. Statističkom obradom podataka je utvrđeno da i sorta i način uzgoja imaju značajni utjecaj na udio linolne i α -linolenske masne kiseline u repičinom ulju. Važno je istaknuti kako je analizom utvrđen povoljan omjer linolne i α -linolenske masne kiseline u analiziranim uzorcima uljane repice koji u prosjeku iznosi 2,4:1. Njihov povoljan omjer pomaže u očuvanju ljudskog zdravlja s obzirom da se linolna i α -linolenska masna kiselina ne mogu sintetizirati u ljudskom organizmu već ih je potrebno unositi putem hrane. Palmitinska masna kiselina zastupljena je u prosječnom udjelu od 4,62% što odgovara rasponu od 2,5-7% navedenom u Pravilniku (2012). Literatura navodi vrijednost od 3,6% (Przybylski i sur., 2005). Od ostalih masnih kiselina prisutne su stearinska (C18:0) 1,71%, gadoleinska (C20:1) 0,99%, arahinska (C20:0) 0,53%, palmitoleinska (C16:1) 0,22%, behenska (C22:0) 0,23% i

heksadekanska masna kiselina (C17:0) 0,09%. Dobivene prosječne vrijednosti odgovaraju граниčnim vrijednostima određenim Pravilnikom (2012). Statističkom obradom podataka je utvrđeno da sorta i način uzgoja imaju značajan utjecaj na udio palmitoleinske, stearinske i arahinske masne kiseline, dok na udio gadoleinske masne kiseline utjecaj ima samo sorta.

U ulju gorušice, osim eruka masne kiseline u većem udjelu je zastupljena i oleinska masna kiselina prosječnog udjela od 24,21% što prelazi granicu od 8,0-23,0% određenu Pravilnikom (2012). Linolna masna kiselina (C18:2) prisutna je u prosječnom udjelu od 11,22 % što je slično vrijednosti od 10,7 % koju navodi literatura (Ryan i sur., 2007). U analiziranim uzorcima ulja gorušice, α -linolenska masna kiselina prisutna je u prosječnom udjelu od 9,66 % što je više od 8,2 % kako navodi literatura (Ryan i sur., 2007). Postoci obje masne kiseline zadovoljavaju granice određene Pravilnikom (2012), 10,0-24,0 % za linolnu i 6,0-18,0 % za α -linolensku. Analizom uzoraka gorušice utvrđen je čak i povoljniji odnos linolne i α -linolenske masne kiseline nego u repičinom ulju, koji u prosjeku iznosi 1,2:1. Udio palmitinske masne kiseline (C16:0) u analiziranim uzorcima u prosjeku iznosi 3,15% što odgovara rasponu od 0,5-4,5% navedenom u Pravilniku (2012). Gadoleinska masna kiselina (C20:1) prisutna je u prosječnom udjelu od 9,29% što odgovara rasponu od 5-13% navedenom u Pravilniku (2012). Od ostalih masnih kiselina u analiziranim uzorcima gorušice, prisutne su stearinska (C18:0) 0,94%, arahinska (C20:0) 0,60%, behenska (C22:0) 0,51%, palmitoleinska (C16:1) 0,17% i heksadekanska masna kiselina (C17:0) 0,85%. Sve dobivene vrijednosti odgovaraju rasponu određenom Pravilnikom (2012). Statističkom obradom podataka je utvrđeno da način uzgoja nema značajan utjecaj na udio masnih kiselina u ulju gorušice.

5.ZAKLJUČAK

Na temelju provedene analize možemo zaključiti:

- Izbor sorte značajno utječe na kvalitetu sjemena uljane repice (na udio ulja i udio vode u sjemenu) uljane repice.
- Na udio ulja u sjemenu analiziranih uljarica iz porodice *Brassicaceae* značajno utječe način uzgoja sjemena.
- Sorta također ima značajan utjecaj na udio svih detektiranih masnih kiselina, osim na udio behenske masne kiseline, dok način uzgoja ima značajan utjecaj na udio palmitoleinske, stearinske, linolne, α -linolenske i arahinske masne kiseline u ulju uljane repice.
- Gustoća usjeva u proizvodnji bijele gorušice nema nikakav utjecaj na sastav masnih kiselina ulja gorušice.

6. LITERATURA

Al-Shehbaz I. A. (1984) The tribes of *Cruciferae* (*Brassicaceae*) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* **65**: 343-373.

Anonymous (2018) Gorušica bijela, <<https://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/gorusica-bijela-87/>>. Pristupljeno 22. svibnja 2018.

Bauer B., Kostik V., Gjorgeska B. (2015) Fatty acid composition of seed oil obtained from different canola varieties, *Farmaceutski glasnik* **71**: 1-7.

Bernardini E. (1982) Oilseeds, oils and fats, Vol. 1., Oil publishing House. str.173-178.

Ciubota-Rosie C., Macoveanu M., Fernandez C. M., Ramos M. J., Pérez A., Moreno A. (2013) *Sinapis alba* seed as a prospective biodiesel source. *Biomass and bioenergy* **51**: 83 – 90.

Crisp P. (1976) Trends in the breeding and cultivation of cruciferous crops. U: *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Vaughan G., MacLeod A. J., Jones B. M. G., ur., Academic Press. str. 69-118.

Fahey J. W., Zalcmann A. T., Talalay P. (2001) The chemical diversity and distribution of glukosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, **56**: 5-51.

HRN EN ISO 5508:1999 Životinjske i biljne masti i ulja - Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom.

HRN EN ISO 5509:2004 Životinjske i biljne masti i ulja - Priprava metilnih estera masnih kiselina.

HRN EN ISO 659:2010 Uljarice - Određivanje udjela ulja (referentna metoda).

HRN EN ISO 665:2004 Uljarice - Određivanje količine vode i hlapljivih tvari.

Issariyakul T., Dalai A. K., Desai P. (2011) Evaluating esters derived from mustard oil (*Sinapis alba*) as potential diesel additives. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **88**: 391-402.

Jham G. N., Moser B. R., Shah S. N., Holser R. A., Dhingra O. D., Vaughn S. F., Berhow M. A., Winkler-Moser J. K., Isbell T. A., Holloway R. K., Walter E. L., Natalino R., Anderson J. C., Stelly D. M. (2009) Wild Brazilian Mustard (*Brassica juncea* L.) Seed Oil Methyl Esters as Biodiesel Fuel. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**: 917-926.

Kodeks otkupa žitarica i uljarica (2014) Ministarstvo poljoprivrede, Zagreb.

Lichenstein A. H. (1997) *Trans* Fatty Acids, Plasma Lipid Levels, and Risk of Developing Cardiovascular Disease: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* **95**: 2588-2590.

Medved I. (2017) Uzgoj gorušice, <<http://www.agroportal.hr/ljekovite-biljke/17721>>. Pristupljeno 22. svibnja 2018.

Mukherjee K. D., Kiewitt I. (1980) Changes in fatty acid composition of lipid classes in developing mustard seed. *Phytochemistry* **23**: 349-352.

Mustapić Z., Ostojić Z., Danon V., Cvjetković B. (1984) Uljana repica, Sveučilišna naklada Liber.

Mustapić Z. (1982) Reakcija novih sorata uljane repice (*Brassica napus* L. ssp. *Oleifera*) na količine i oblik dušika. *Poljoprivredna smotra* **59**: 201-224.

Oštrić-Matijašević B., Turkulov J. (1980) Tehnologija ulja i masti, 1. dio. Tehnološki fakultet Novi Sad. str. 150-153, 238-240.

Pospišil M. (2013) Ratarstvo II dio – industrijsko bilje, Zrinski d.d. str. 46-81.

Pospišil M., Pospišil A., Mustapić Z., Butorac J., Gunjača J. (2005) Prinos sjemena i ulja, te sadržaj ulja hibrida uljane repice u agroekološkim uvjetima sjeverozapadne Hrvatske. Zbornik radova XL. Znanstvenog skupa hrvatskih agronoma, Opatija, str. 493-494.

Pospišil M., Škevin D., Mustapić Z., Neđeral Nakić S., Butorac J., Matijević D., (2007) Fatty acid composition in oil of recent rapeseed hybrids and 00 - cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **3**: 187-193.

Pravilnik o jestivim uljima i mastima (2012) *Narodne novine* **41** (NN 41/2012).

Pravilnik o stavljanju na tržište sjemena žitarica (2005) *Narodne novine* **4** (4/2005).

Przybylski R., Mag T., Eskin N. A. M., McDonald B. E. (2005) Canola Oil. U: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Vol. 2., Edible Oil and Fat Products: Edible Oils, Shahidi F., ur., Wiley. str. 61-121.

Rac M. (1964) Ulja i masti, Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja i masti Jugoslavije. str. 110-111, 199-203, 227-230.

Rade D., Mokrovčak Ž., Štrucej D. (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux.

Ryan E., Galvin K., O'Connor T. P., Maguire A. R., O' Brein N. M. (2007) Phytosterol, Squalene, Tocopherol Content and Fatty Acid Profile of Selected Seeds, Grains, and Legumes. *Plant Foods for Human Nutrition* **62**: 85-91.

Schuster-Gajzágó I., Kiszter A. K., Tóth-Márkus M., Baráth Á., Márkus-Bednarik Z., Czukor B. (2006) The effect of radio frequency heat treatment on nutritional and colloid-chemical properties of different white mustard (*Sinapis alba* L.) varieties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **7**: 74-79.

Shrestha K., Gemechu F. G., De Meulenaer B. (2013) A novel insight on the high oxidative stability of roasted mustard seed oil in relation to phospholipid, Maillard type reaction products, tocopherol and canolol contents. *Food Research International* **54**: 587-594.

Simmonds N. W. (1986) Evolution of Crop Plants, Longman.

Thomas J., Kuruvilla K. M., Hrideek, T. K. (2012) Mustard. U: Handbook of Herbs and Spices, Peter K. V., ur., Woodhead Publishing. str. 388-398.

Vaidya B., Choe E. (2010) Effects of Seed Roasting on Tocopherols, Carotenoids, and Oxidation in Mustard Seed Oil During Heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **88**: str. 83-90.

Vollmann J., Rajcan I. (2010): Handbook of plant breeding, Springer. str. 91-155.

Warwick S. I., Al-Shehbaz I. A. (2006) Brassicaceae: Chromosome Number Index and database on CD-Rom. *Plant Systematics and Evolution* **259**: 237-248.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Ludija Barošević

ime i prezime studenta