

# Sastav masnih kiselina ulja bijele i smeđe gorušice

---

**Mamić, Petra**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2015**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:181633>

*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 Nutricionizam**

**Petra Mamić**

6649/N

**SASTAV MASNIH KISELINA ULJA BIJELE I  
SMEĐE GORUŠICE  
ZAVRŠNI RAD**

**Modul: Osnove prehrambenih tehnologija**

**Mentor: izv.prof.dr.sc. Dubravka Škevin**

**Zagreb, 2015.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno- tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

### SASTAV MASNIH KISELINA ULJA BIJELE I SMEĐE GORUŠICE

*Petra Mamić, 6649/N*

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je odrediti kvalitetu sjemena gorušice i sastav masnih kiselina u ulju sjemenki gorušice. Za analizu smo koristili 4 uzorka bijele i 4 uzorka smeđe gorušice, uzgojene na eksperimentalnom polju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Udio vode se kretao između 6,4% i 6,5% u uzorcima bijele gorušice te između 6,2% i 6,4% u uzorcima smeđe gorušice. Udio ulja je bio veći u uzorcima smeđe gorušice i kretao se od 30,9% do 34,0% dok se u uzorcima bijele gorušice kretao od 25,1% do 25,4%. Pokazalo se da uzorci bijele gorušice imaju veći udio eruka (35,6%- 40,0%) i oleinske masne kiseline (20,9%-21,4%) za razliku od uzoraka smeđe gorušice u kojima se udio kretao od 22,2% do 22,6% za eruka odnosno od 18,8% do 19,4% za oleinsku masnu kiselinu. Udio esencijalne alfa linolenske ( $\omega$ -3) masne kiseline je bio veći u uzorcima bijele gorušice (10,4%-15,0%) za razliku od smeđe gorušice koja je imala veći udio linolne ( $\omega$ -6) masne kiseline (22,4%-23,2%).

**Ključne riječi:** sjeme gorušice, ulje gorušice, masne kiseline

**Rad sadrži:** 21 stranica, 3 slike, 4 tablice, 20 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *Izv.prof.dr.sc. Dubravka Škevin*

**Pomoć pri izradi:** *Dr. sc. Marko Obranović, Dr. sc. Klara Kraljić*

**Rad predan:** rujan, 2015.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Nutrition

Department of Food Engineering

Laboratory for Oil and Fat Technology

### FATTY ACID COMPOSITION OF WHITE AND BROWN MUSTARDS' OIL

*Petra Mamić, 6649/N*

**Abstract:** The aim of this study was to determine the quality of a mustard seed and the composition of fatty acids present in the oil of mustard seeds. For this analysis we used the 4 samples of white and 4 samples of brown mustard grown in the experimental field of the Faculty of Agriculture in Zagreb. The water content was between 6,4% and 6,5% in samples of white mustard and between 6,2% and 6,4% in samples of brown mustard. The share of oil was slightly higher in samples of brown mustard and ranged from 30,9% to 34,0% while in samples of white mustard ranged from 25,1% to 25,4%. It was shown that the samples of white mustard have a higher level of erucic (35,6% - 40,0%) and oleic fatty acid (20,9% -21,4%) in contrast to brown mustard samples in which the proportion ranged from 22,2 % to 22,6% for erucic or from 18,8% to 19,4% of oleic fatty acid. The share of essential alpha-linolenic ( $\omega$ -3) fatty acid was higher in samples of white mustard (10,4% -15,0%) in contrast to the brown mustard that had a higher proportion of linoleic fatty ( $\omega$ -6) acid (22,4% -23,2%).

**Keywords:** mustard seed, mustard oil, fatty acids

**Thesis contains:** 21 pages, 3 figures, 4 tables, 20 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *PhD, Dubravka Škevin, Associate professor*

**Technical support and assistance:** Mark Obranovic, PhD. Scientific Assistant, PhD Klara Kraljic, Scientific Assistant

**Thesis delivered:** September, 2015.

## SADRŽAJ

<b>1. Uvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Teorijski dio</b> .....	<b>2</b>
2.1. Agronomski opis .....	2
2.1.1. Bijela gorušica.....	2
2.1.2 Smeđa gorušica .....	4
2.2. Kemijski sastav.....	4
2.3. Sastav masnih kiselina .....	4
2.4. Fitosteroli, skvalen i tokoferoli u sjemenu gorušice.....	5
2.5. Oksidacijska stabilnost ulja gorušice.....	6
2.6. Gorušica i alergije.....	7
2.6.1. Patofiziologija alergijske reakcije .....	8
2.6.2. Simptomi alergijske reakcije i liječenje .....	8
2.7. Glavni protein u gorušici .....	9
2.7.1. Otkrivanje alergena gorušice i markera u hrani .....	9
<b>3. Eksperimentalni dio</b> .....	<b>10</b>
3.1. Analiza sjemena .....	10
3.2. Analiza ulja.....	12
<b>4. Rezultati</b> .....	<b>13</b>
<b>5. Rasprava</b> .....	<b>15</b>
<b>6. Zaključak</b> .....	<b>18</b>
<b>7. Literatura</b> .....	<b>19</b>

## 1. UVOD

Gorušica je među najstarije zabilježenim začinima prema sanskrit zapisima koji datiraju oko 3000 godine prije Krista te je bila jedna od prvih domaćih usjeva. Uzgaja se gotovo u cijelom svijetu, ali najviše u Kanadi, Indiji, Japanu, Francuskoj, Ujedinjenom Kraljevstvu, Njemačkoj i Americi. Popularnost gorušice kao začina širila se Europom gdje se koristila za začinjavanje mesa i ribe. Osim kao začim gorušica se upotrebljavala i kao lijek protiv uboda škorpiona kako navodi Pitagora 530 godine prije Krista te kao protuotrov kod ugriza zmije kako navode Grci. Oblaganje senfom se koristilo da se pokrene cirkulacija krvi, zagriju hladna stopala, opuste ukočeni mišići te za liječenje artritisa i reumatizma. Moderna era gorušice započela je 1720. godine kada je gospođa Clements od Durhama, Engleska, pronašla način mljevenja srca sjemena u fino brašno.

Danas postoji bezbroj vrsta gorušice dostupnih širom svijeta, a tri vrste sjemena gorušice se koriste kao začini: bijela gorušica (*Brassica alba*), smeđa ili orijentalna (*Brassica juncea*) i crna ili tamno smeđa gorušica (*Brassica nigra*). Ona se koristi i kao zeleno povrće, salata, zeleno gnojivo i stočna hrana, a ulje gorušice je zanimljivo zbog sastava masnih kiselina od kojih su najzastupljenije eruka i linolenska kiselina. Tijekom 2002. godine gorušica je rasla na površini od 663697 ha s ukupnom proizvodnjom sjemena od 468725 mega tona. Od ukupne svjetske prodaje sjemena gorušice, oko 60% otpada na sjeme *B. alba*, a ostatak na *B. juncea* (Thomas i sur., 2012).

Cilj ovoga rada bio je odrediti glavne parametre kvalitete sjemena te sastav masnih kiselina ulja bijele i smeđe gorušice. Sjeme gorušice uzgojeno je 2014. na eksperimentalnom polju Agronomskog fakulteta u Zagrebu.

## 2. TEORIJSKIDIO

### 2.1. AGRONOMSKI OPIS

Gorušica pripada porodici *Cruciferae* ili krstašica. Rod *Brassica* sastoji se od 150 vrsta jednogodišnjeg ili dvogodišnjeg bilja. Sjeme bijele (*Sinapis alba*), smeđe (*Brassica juncea*) i crne (*Brassica nigra*) ima začinsku vrijednost.

#### 2.1.1. Bijela gorušica- *Sinapis alba* (L.)

Sjeme žute/ bijele gorušice poznato je i kao sufed rai (hindi), moutarde blanche (francuski), senape bianca (talijanski), biji sawi (malezijski, indonezijski) ili mostaza blanca/mostaza silvestre (španjolski). Bijela gorušica je autohtona u južnoj Europi. Danas se uzgaja u Australiji, Kini, Čileu, Njemačkoj, Italiji, Japanu, Ujedinjenom Kraljevstvu, Nizozemskoj, Sjevernoj Africi, Kanadi i Americi (Thomas i sur., 2012). Bijela gorušica je jednogodišnja biljka, visoka do 120 cm, sa žutim cvjetovima (Slika 1.). Ima snažan korijenov sustav s brojnim korijenovim dlačicama koje doprinose otpornosti na sušu. Kod preuranjene sjetve, biljka brzo ulazi u fazu cvjetanja. Uzgaja se zbog mladih listova oštra mirisa, koji se sirovi upotrebljavaju u salatama. To je zimska biljka koja se na visokim temperaturama vrlo brzo osjemenjuje; ako se uzgaja u područjima koja obiluju kišom, listovi joj postaju grubi. Samoniklo raste na poljima, ali se i uzgaja. Cvate od svibnja do lipnja žutim cvjetovima od četiri latice, koji se javljaju u malim skupinama. Sjemenke su kuglaste i žućkaste (Slika 2.), veličine od 1,5-3 mm, sjemena ljuska je tanka, endosperm oskudan i nevidljiv golim okom, embrij velik, žućkast sa zakrivljenim hipokotilama, korijenčić djelomično okružen dvjema sklopljenim supkama (Thomas i sur., 2012), a ispuštaju miris tek kada se samelju i pomiješaju s tekućinom. Primjerena je prvenstveno za zelenu gnojidbu koja predstavlja planirano unošenje u tlo nadzemne mase pojedinih kultura. Na taj način kulture obogaćuju tlo organskom tvari, poboljšavaju biološku aktivnost tla te povećavaju kapacitet tla za vodu. Smatra se da je dobra predkultura za šećernu repu jer povoljno utječe na smanjenje nematoda- parazita u tlu. Vrlo je otporna na niske temperature pa se preporučuje za proizvodnju i u područjima visoke nadmorske visine.



Slika 1. Polje bijele gorušice (Anonymus 1, 2015)



Slika 2. Sjeme bijele gorušice (Anonymus 2, 2015)



### 2.1.2. Smeđa gorušica- *Brassica juncea* (L.)

Izvorno je uvezena iz Kine u sjevernu Indiju od kuda preko Punjaba dospjeva u Afganistan. Poznata je i kao rai ili indijska gorušica, moutarde de Chine (francuski), Indischer senf (njemački), senape Indiana (talijanski) i mostaza India (španjolski). Ova vrsta nastala je hibridizacijom *Brassice nigre* s *Brassica campestris* u jugozapadnoj Aziji i Indiji gdje se prirodna distribucija ove dvije vrste preklapa. Smeđa gorušica sadrži dvije vrste: „Oriental“ koju uglavnom koriste Kinezi i drugu tamniju i jaču smeđu vrstu koju koriste Indijci. Jednogodišnja je zeljasta, uspravna i razgranata biljka te glavni izvor oporosti među kultiviranim gorušicama. Cvjetovi su mali i svjetlo žute boje, a sjemenke su male (Slika 3.) i sadrže 35% ulja. U SAD-u prije 1940. godine *B. juncea* se smatrala inferiornom *B. nigra*. Međutim uvođenjem novog žutog sjemena iz Kine ona je postala vrlo popularna jer je kultura podložna kombiniranoj žetvi (Thomas i sur., 2012).



Slika 3. Sjeme smeđe gorušice (Anonymus 3, 2015)

### 2.2 Kemijski sastav

Bijela i smeđa gorušica sadrže sinalbin koji hidrolizom uz pomoć enzima mirozinaze ili glukozinolaze daje p-hidroksibenzil-izotiocijanat, p-hidroksibenzilamin i druge slične spojeve (proteine, ulja, sluz, itd.) Najvažnije komponente smeđe gorušice su glukozinolati, sinigrin (kalijev mironat), enzim mirozinaza, sinapska kiselina i sinapin. Hidrolizom sinigrina uz enzim mirozinazu nastaju alil izotiocijanati, glukoza i kalijev biosulfat. Alil izotiocijanati su hlapljivi i njihova koncentracija u *B. juncea* je 0,3-1,4%. Manje hlapljive komponente oslobođene enzimatskom hidrolizom uključuju metil, izopropil, sec-butil, butil, 3-butenil, 4-pentenil, fenil, benzil i  $\beta$ -feniletil izotiocijanate (Thomas i sur., 2012).

### 2.3. Sastav masnih kiselina

Ulje gorušice sadrži visoke koncentracije eruka kiselina (22-60%) koja općenito nije dobra za ljudsku konzumaciju budući da ju povezuju s lipidozom miokarda te oštećenjem srca u testiranih životinja (Shrestha i sur., 2013). Ulje gorušice proizvedeno bez kondicioniranja sadrži visoke koncentracije linolne (24,8%), oleinske (24,7%) i eruka (21,6%) kiseline, umjerene koncentracije linolenske (11,1%) i eikosneske (12,8%) kiseline i niske koncentracije palmitinske (3,8%) i stearinske kiseline (1,3%) od ukupnih masnih kiselina (Vaidya i sur., 2010).

#### **2.4. Fitosteroli, skvalen i tokoferoli u sjemenu gorušice**

Fitosteroli, skvalen i tokoferol su komponente neosapunjivog dijela lipidne tvari hrane. Smatra se da fitosteroli imaju širok spektar bioloških efekata uključujući antioksidativnu i antikancerogenu aktivnost pa je samim time njihovo snižavanje kolesterola najopsežnije istraženo. Nekoliko studija je pokazalo da biljni steroli inhibiraju crijevnu apsorpciju kolesterola čime se snižava ukupni kolesterol u plazmi i razina lipoproteina niske gustoće (LDL). Skvalen, 30 ugljikohidratni izopren je ključni međuprodukt biosinteze kolesterola kojim obiluje jetra morskog psa i maslinovo ulje. Nekoliko istraživanja je pokazalo da je kolesterol važan dijetalni kemopreventiv. Tokoferoli, skupina koju neki nazivaju vitamin E, su liposolubilni antioksidansi koji rade kao čistači lipidnih peroksidnih radikala. 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).

Sjeme gorušice sadrži tokoferole i karotenoide kao što su lutein i  $\beta$ -karoten. Antioksidacijska aktivnost tokoferola ovisi o njihovim izomerima i koncentracijama. Kad se nalaze u visokoj koncentraciji u ulju pokazuju prooksidativnu aktivnost. Iako se karotenoidi u ulju smatraju antioksidansima,  $\beta$ -karoten, lutein i likopen mogu ubrzati oksidaciju u specifičnim uvjetima. U radu Vaidya i sur. (2010) proučavao se efekt prženja sjemena na udio tokoferola i karotenoida u gorušici. Prženje sjemena prije ekstrakcije daje karakteristično dobar okus i zabilježeno je da poboljšava stabilnost nekih ulja djelomično zbog Maillardovih reakcija. Produkti Maillardovih reakcija produžuju period indukcije oksidacije ulja i smanjuju brzinu oksidacije u fazi propagacije. Efekt prženja sjemena na stabilnost karotenoida i tokoferola u ulju gorušice tijekom zagrijavanja je pokazao smanjenje luteina što znači da se postepeno razgrađuje tijekom zagrijavanja na 160 °C. Stopa smanjenja luteina bila je manja kod ulja proizvedenog iz prženog sjemena u odnosu na ulje iz sjemena koje nije prethodno prženo što znači da prženo ulje gorušice sadrži određene korisne

spojeve za povećanje stabilnosti luteina tijekom zagrijavanja. Rezultati su pokazali da prženje sjemena poboljšava stabilnost tokoferola tijekom zagrijavanja zbog manje razgradnje u prženom u odnosu na ne prženo sjeme. Rezultati rada Jham i sur. (2009) pokazali su da ulje gorušice većinom sadrži  $\alpha$ -tokoferol ( $200 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i  $\gamma$ -tokoferol ( $585 \text{ mg kg}^{-1}$ ), a manje  $\beta$ -tokoferola ( $1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i  $\delta$ -tokoferola ( $14 \text{ mg kg}^{-1}$ ) dok je ukupni udio tokoferola iznosio  $800 \text{ mg kg}^{-1}$ . Od fitosterola najviše je bilo  $\beta$ -sitosterola ( $6,0 \text{ mg g}^{-1}$ ) i kampesterola ( $3,6 \text{ mg g}^{-1}$ ).

## 2.5 Oksidacijska stabilnost ulja gorušice

Ulje podliježe oksidaciji tijekom zagrijavanja i mehanizam je uglavnom isti kao kod autooksidacije s vrlo visokom brzinom reakcije. Tijekom zagrijavanja termolitičke i oksidacijske reakcije se odvijaju uz nastanak hlapljivih i ne hlapljivih razgradnih produkata. Hlapljivi razgradni produkti uključuju ugljikovodike, aldehide, ketone, furane i karboksilne kiseline te značajno doprinose mirisu ulja. Oksidacijska polimerizacija rezultira stvaranjem nehlapljivih produkata koji uključuju polarne i nepolarne cikličke i necikličke monomere, dimere, trimere i spojeve velike molekularne mase. Povećanje vrijednosti dienske kiseline rezultira transformacijom nekonjugirane linolne kiseline u stabilniju konjugiranu linolensku kiselinu tijekom zagrijavanja. Povećanje vrijednosti dienske kiseline tijekom zagrijavanja bilo je niže u ulju proizvedenom prženjem sjemena u odnosu na ulje proizvedeno bez postupka prženja sjemena iako je početna vrijednost u ulju proizvedenom iz prženog sjemena gorušice bila veća što dokazuje da prženje povećava oksidacijsku stabilnost ulja gorušice tijekom zagrijavanja i potvrđuje proizvodnju korisnih spojeva kao što su produkti Maillardovih reakcija tijekom prženja i njihov prijenos u ulje, navode Vaidya i sur. (2010) u svom radu.

Shrestha i sur. (2013) su u svom radu procijenili oksidacijsku stabilnost prženih i ne prženih uzoraka gorušice prikupljenih s nepalskog tržišta praćenjem peroksidnog broja i konjugiranih diena tijekom skladištenja u mraku pri  $50^\circ \text{ C}$ . Poznato je da prženjem sjemena gorušice i uljarica dekarboksilacijom sinapinske kiseline nastaje kanolol (2,6-dimetil-4-vinilfenol), sakupljač radikala. Kako je koncentracija sinapinske kiseline prije prženja niska, glavina sinapinske kiseline potrebne za nastanak kanolola nastaje parcijalnom hidrolizom drugih derivata sinapinske kiseline tijekom prženja. Kanolol ima dobru sposobnost hvatanja radikala i njegova reaktivnost s radikalima peroksida se uglavnom prepisuje prijenosu atoma vodika iz fenolnog dijela. Povećana

oksidacijska stabilnost prženog ulja repice pripisuje se stvaranju kanolola. Prženje također povećava termo-oksidativnu stabilnost eruka kiseline ulja gorušice zajedno s povećanom stabilnošću tokoferola i luteina tijekom skladištenja. Povećana oksidacijska stabilnost povezana je sa malim povećanjem sadržaja tokoferola i luteina zajedno s Maillardovim reakcijama. Rezultati su pokazali da boja ulja može biti u korelaciji sa stabilnošću ulja. Tamniji uzorci su bili stabilniji od svjetlijih. Manje stabilna grupa je bila blijedo žute i bistre boje, dok je vrlo stabilna grupa uzoraka bila tamno smeđe boje. Umjereno stabilna grupa je imala nekoliko nijansi smeđe boje. Uzorci su pokazali široku varijabilnost u oksidacijskoj stabilnosti kako je izmjerena peroksidna vrijednost u rasponu od 5,2 do 42,1 mmol kisika/ kg ulja nakon 69 dana skladištenja. Peroksidni broj nakon 40 dana (PB40) kao indeks oksidacijske stabilnosti različitih uzoraka nije značajno korelirao sa ukupnom koncentracijom sakupljača radikala (suma tokoferola, plastokromanola-8 i kanolola) i ukupnom sposobnošću radikala koji vežu ulja pomoću DPPH testa. Dakle ti antioksidansi nisu isključivo odgovorni za razlike u oksidacijskoj sposobnosti među uzrocima ulja. S druge strane PB40 je pokazao negativnu korelaciju s koncentracijom kanolola, fosfolipida i različitih markera reakcija posmeđivanja kao što su apsorbanca na 350 nm, fluorescencija i koncentracija piroliziranih fosfolipida. Štoviše svi markeri reakcija posmeđivanja i sadržaj fosfolipida su bili u međusobnoj pozitivnoj korelaciji. Fosfolipidi i vrste produkta Maillardovih reakcija posmeđivanja zajedno s kanololom nastalim tijekom prženja sjemena su bili odgovorni za visoku oksidacijsku stabilnost uzoraka ulja. Kada je prisutna dovoljna količina čistača radikala, fosfolipidi i produkti Maillardovih reakcija mogu učinkovito kontrolirati oksidaciju na radikalnom koraku inicijacije i produžiti indukcijski period. Ovo saznanje može imati širok raspon mogućih primjena u kontroli oksidacije ulja koja je jedna od najvažnijih mehanizama za kemijsko propadanje različite hrane.

## **2.6. Gorušica i alergije**

U posljednjih nekoliko desetljeća broj oboljelih od raznih alergijskih bolesti naglo je porastao u industrijaliziranom svijetu. Učestalost alergija na hranu slijedi sličan trend, sa sve većim brojem oboljelih. Osim uobičajenih prehrambenih alergena (npr. mlijeko i jaja) pojavile su se „nove“ alergije na određene proteine hrane. Među njima je i nekoliko na orašaste plodove i sjemenke. (Cochard i sur., 2011). Gorušica je jedan od najznačajnijih začina koji izazivaju alergije zato što je rasprostranjena i ima visoki alergijski potencijal (Chen i sur., 2015). Alergija na gorušicu često

počinje u ranijoj dobi, a klinički simptomi alergije kod djece nisu tako ozbiljni kao u odraslih (Figuroa i sur., 2005). Procjenjuje se da je 1-7% pacijenata alergičnih na hranu, alergično na gorušicu. Zbog različitih prehrambenih navika prevalencija alergije na gorušicu različita je među različitim zemljopisnim regijama (Palle-Reisch i sur., 2013). Francuska je najveći proizvođač gorušice u Europi, ispred Njemačke i Velike Britanije što objašnjava povećanu učestalost alergije na gorušicu u Francuskoj (Rancé, 2002.). Jedna je od najreaktivnijih začina kad se testira *in vivo* te je ocijenjena kao četvrti najznačajniji alergen za djecu u Francuskoj. Senf uglavnom potječe od tri vrste: *Sinapis alba* L. (žuta gorušica), *Brassica nigra* (crna gorušica) i *Brassica juncea* (orijentalna gorušica). Sve vrste pripadaju *Brassicaceae* obitelji uključujući *B. napus*, *B. rapa*, *B. napa*, *B. oleracea*, *Raphanus sativus* i *R. raphanistrum* i mnoge od njih su alergeni. *S. alba* i *B. nigra* se najviše konzumiraju u Europi dok se *B. juncea* dolazi iz SAD-a i Japana. Glavni alergeni gorušice su otporni na toplinu i ostaju nepromijenjeni preradom hrane. Ljudi alergični na senf će reagirati na bilo koju hranu koja dolazi iz gorušice uključujući senf, prah gorušice, lišće, sjemenke, cvijeće i ulje gorušice.

### **2.6.1. Patofiziologija alergijske reakcije**

Alergija je abnormalna, neprimjerena, pretjerana reakcija imunološkog sustava koja se javlja nakon dodira sa stranim proteinom (alergenom). Imunološke reakcije koje se odnose na hranu zahtijevaju početni susret sa antigenom koji se uglavnom događa kroz crijevo, sluznicu ili kožu. Postoje dva tipa imunoloških reakcija obzirom na uključeni mehanizam: IgE posredovane i IgE neposredovane. U IgE posredovanom tipu reakcije, početno izlaganje antigenu dovodi do prepoznavanja zrelih T limfocita preko antigen prezentirajućih stanica. Ova stimulacija T limfocita stimulira produkciju interleukina koji potiču specifičnu IgE produkciju plazmocita. IgE antitijela prisutna u serumu će se zatim vezati na receptore mastocita. Nakon ponovnog izlaganja antigenu dolazi do aktivacije veze između receptora mastocita i IgE. Mastociti će otpustiti upalne medijatore (interleukine, citokine, itd.) aktivirajući upalu posredovanu stanicama i razne simptome poznate kao alergija (Cochard i sur., 2011).

### **2.6.2. Simptomi alergijske reakcije i liječenje**

Simptomi se javljaju nekoliko minuta nakon unosa hrane. Različiti su i uključuju mučninu, povraćanje, bol u trbuhu, grčeve ili dijareju. Respiratorne reakcije manifestiraju se kao teško

disanje, disfonija, disfagija, itd. Simptomi alergije na hranu mogu biti u rasponu od vrlo blagih do po život opasnih reakcija. Reakcija koja uključuje nekoliko organa je poznata kao anafilaksija i obično je ocjenjena u 4 stupnja. Stupanj reakcije određuje hitnost liječenja kao i prognozu i dugoročno liječenje. (Cochard i sur., 2011) Unatoč opasnostima od teških alergijskih reakcija pa čak i smrti ne postoji učinkovit tretman za alergije na gorušicu ili druge. Prema tome strogo izbjegavanje hrane koja izaziva alergiju je jedini način da se izbjegne alergijska reakcija. (Chen i sur., 2015).

## **2.7. Glavni proteini u gorušici**

Identifikacija i karakterizacija alergena ključne su točke u napretku dijagnostičkih metoda uključujući kožne testove, in vitro testove i detekciju alergena u procesiranoj hrani i gotovim jelima. Do danas su tri alergena Sin a 1, Bra j i 11s globulin (kruciferin) otkriveni u sjemenu gorušice. Sin a 1 i Bra j pripadaju obitelji 2s albumina poznatoj kao napini koji su građeni od malog i velikog lanca povezanog disulfidnim vezama i otporni su na razgradnju pepsinom i denaturaciju uzrokovanu temperaturom i niskim pH. Zbog toga je moguće da se ne oštećuju tijekom konvencionalne obrade hrane (Puumalainen i sur., 2014). Glavna biološka funkcija napina je opskrba dušikom u prokljaloj sadnici, a također imaju i antifungalno djelovanje. (Chen i sur., 2015). Glavni skladišni protein u sjemenu, 11S globulin (kruciferin) građen je od dvije podjedinice koje se sastoje od kiselih i bazičnih lanaca povezanih cistein S-S mostom (Puumalainen i sur., 2014).

### **2.7.1 Otkrivanje alergena gorušice i markera u hrani**

Kako bi se osigurala sigurnost hrane za alergične osobe, provode se strogi propisi o označavanju i postupcima osiguravanja kvalitete. I industrija i regulatorna tijela trebaju pouzdane metode za otkrivanje alergena na relevantnim razinama u složenim prehrambenim proizvodima. Postoji nekoliko tehničkih mogućnosti za otkrivanje potencijalnih alergena u proizvodima hrane, a od metoda koje djeluju ili direktno na alergene ili markere, koji ukazuju na prisutnost alergena u hrani, se trenutno u rutinskoj analizi hrane koristi ELISA zbog visoke preciznosti, jednostavnosti za rukovanje i dobrog potencijala za standardizaciju (Chen i sur., 2015). Kao markeri za prisutnost potencijalno alergeni prehrambenih proizvoda i sastojaka ciljani su specifični proteini ili DNA fragmenti.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

Kao materijal u ovom radu korištena su četiri uzorka sjemena bijele i četiri uzorka sjemena smeđe gorušice, uzgojena 2014. na eksperimentalnom polju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Uzorcima smo određivali udio vode i ulja u sjemenu te sastav masnih kiselina. U Tablici 1 nalazi se opis uzoraka.

Tablica 1. Opis uzoraka

Uzorak	Vrsta
31	Bijela gorušica
32	Bijela gorušica
33	Bijela gorušica
34	Bijela gorušica
35	Smeđa gorušica
36	Smeđa gorušica
37	Smeđa gorušica
38	Smeđa gorušica

#### 3.1 ANALIZA SJEMENA

##### Određivanje udjela vode i hlapljivih tvari

Za procjenu kakvoće sjemena uljarica važni su podaci udjela ulja, vode i nečistoća. U ovom radu korištena je standardna metoda (HRN EN ISO 665:2004) za određivanje vode u sjemenu uljarica, sušenje do konstantne mase u sušioniku pri temperaturi od  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ . U osušenu i izvaganu posudicu izvaže se 5 g samljevenog sjemena s točnošću od 0,001 g. Posudica se sa podignutim poklopcem stavi u sušionik, koji je prethodno zagrijan na  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nakon 2 sata posudica se u sušioniku zatvori poklopcem i stavi u eksikator hladiti. Kada se ohladi do sobne temperature,

izvaže se i ponovo stavi s podignutim poklopcem u sušionik 1 sat. Nakon toga ponovo se hladi i važe. Sušenje se nastavlja po 1 sat dok razlika između dva uzastopna mjerenja ne bude najviše 0,005 g. Za svaki uzorak naprave se dva paralelna određivanja, među kojima razlika ne smije biti veća od 0,5%. Kao rezultat uzima se srednja vrijednost dva paralelna određivanja. Udjel vode izražava se u postocima prema formuli :

$$\% \text{ vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

Gdje je:

$m_0$  = masa prazne posudice (g)

$m_1$  = masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

$m_2$  = masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

### **Određivanje udjela ulja (metoda po Soxhletu)**

Udjel ulja u sjemenu uljarica jedan je od osnovnih parametara za procjenu njegove kakvoće. Za određivanje udjela ulja koriste se metode propisane nacionalnim ili međunarodnim normama, među kojima je i metoda po Soxhletu, kao i različite konvencionalne metode za brzo i orijentacijsko određivanje (Rade i sur., 2001). U ovom radu korištena je standardna metoda (HR EN ISO 659:2010). U tuljcu za ekstrakciju izvaže se 5-10 g samljevenog očišćenog sjemena gorušice. Mljevenje je izvršeno u električnom mlinu za kavu. Izvagani uzorak u tuljcu zatvori se vatom. Tuljac se nakon toga stavi u aparat za ekstrakciju, doda potrebni volumen otapala, a ekstrakt se skuplja u izvaganu tikvicu u koju su stavljene 1-2 staklene kuglice za vrenje. Ekstrakcija se provodi 8 sati u aparatu po Soxhletu. Nakon završene ekstrakcije, otpari se otapalo, a ostatak suši 60 minuta pri  $103 \pm 2$  °C, ohladi i važe. Sušenje se nastavlja po 30 minuta do konstantne mase. Rezultati se izražavaju kao srednja vrijednost dva paralelna određivanja s tim da razlika ne prelazi 0,5%, a izražava se jednom decimalom. Maseni udjel ulja izračuna se prema formuli:

$$\text{ulje}(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

gdje je:



$m_0$  = masa uzorka sjemena (g)

$m_1$  = ukupna masa ekstrahiranog ulja (g)

## 3.2 ANALIZA ULJA

### Sastav masnih kiselina

Sastav masnih kiselina određen je plinskom kromatografijom. Metilni esteri masnih kiselina, pripremljeni prema metodi HRN EN ISO 5509:2004, injektirani su u plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N Network GC System (Santa Clara, SAD) opremljen plamenio-inizacijskim detektorom (FID) slijedeći metodu HRN EN ISO 5508:1999. Metilni esteri razdvojeni su na DB-23 kapilarnoj koloni ( $60\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$ ) s cijanopropil-silikonom kao stacionarnom fazom (Agilent, Santa Clara, SAD). Helij je korišten kao plin nosioc s protokom od  $1,5\text{ ml min}^{-1}$ . Temperatura injektora postavljena je na  $250^\circ\text{C}$ , a temperatura detektora na  $280^\circ\text{C}$ . Temperatura pećnice bila je programirana da raste  $7^\circ\text{C min}^{-1}$ : od  $60^\circ\text{C}$  do konačne temperature od  $220^\circ\text{C}$  na kojoj se zadržavala još 17 min. Split omjer bio je postavljen na 30:1. Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E.) poznatog sastava. Za izračunavanje kvantitativnog sastava masnih kiselina korištena je metoda normalizacije površina.

#### 4. REZULTATI

U ovom istraživanju provedene su analize udjela ulja metodom po Soxhletu i udjela vode u uzorcima sjemena bijele i smeđe gorušice te sastav masnih kiselina plinskom kromatografijom. Analize su provedene u laboratoriju Prehrambeno- biotehnoškog fakulteta u Zagrebu. Rezultati su prikazani u tablicama.

Tablica 2. Udio vode i ulja u uzorcima sjemena bijele i smeđe gorušice

UZORAK	UDIO VODE (%)	UDIO ULJA NA SUHU TVAR (%)
<b>BIJELA GORUŠICA</b>		
31	6,5	25,2
32	6,5	25,4
33	6,4	25,3
34	6,4	25,1
<b>SMEĐA GORUŠICA</b>		
35	6,2	32,7
36	6,2	30,9
37	6,4	34,0
38	6,3	31,3

Tablica 3. Sastav masnih kiselina uzoraka bijele gorušice (% od ukupnih)

Uzorak	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C20:2	C22:0	C22:1	C24:1	ND
31	3,2%	1,3%	20,9%	10,3%	15,0%	0,6%	9,1%	0,7%	ND	35,6%	2,4%	1,0%

<b>32</b>	3,0%	1,0%	21,3%	10,0%	11,6%	0,6%	9,8%	0,7%	ND	38,4%	2,6%	1,0%
<b>33</b>	3,0%	0,9%	21,4%	9,7%	10,6%	0,6%	10,1%	0,7%	ND	39,2%	2,6%	1,0%
<b>34</b>	3,0%	0,9%	21,0%	9,7%	10,4%	0,6%	10,1%	0,7%	ND	40,0%	2,7%	1,0%

Tablica 4. Sastav masnih kiselina uzoraka smeđe gorušice (% od ukupnih):

<b>Uzora k</b>	<b>C16:0</b>	<b>C18:0</b>	<b>C18:1</b>	<b>C18:2</b>	<b>C18:3</b>	<b>C20:0</b>	<b>C20:1</b>	<b>C20:2</b>	<b>C22:0</b>	<b>C22:1</b>	<b>C24:1</b>	<b>ND</b>
<b>35</b>	3,4%	1,5%	19,4%	22,4%	13,2%	1,0%	12,1%	0,8%	1,1%	22,3%	1,2%	1,7%
<b>36</b>	3,5%	1,5%	19,3%	23,0%	13,4%	1,0%	12,1%	0,8%	1,1%	22,6%	ND	1,7%
<b>37</b>	3,5%	1,5%	18,8%	23,0%	13,1%	1,0%	11,8%	0,8%	1,1%	22,5%	1,3%	1,7%
<b>38</b>	3,5%	1,5%	18,8%	23,2%	13,1%	1,0%	11,8%	0,8%	1,1%	22,2%	1,3%	1,7%

## 5. RASPRAVA

Cilj ovog završnog rada bilo je odrediti osnovne parametre kvalitete sjemena bijele i smeđe gorušice te odrediti sastav masnih kiselina ulja bijele i smeđe gorušice. U radu su provedene analize na uzorcima sjemena bijele i smeđe gorušice uzgajanih na polju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Analize su provedene na uzorcima sjemena bijele i smeđe gorušice (Tablica 1.) kojima smo odredili udio ulja i vode te sastav masnih kiselina.

Udio vode je bitno odrediti i poznavati kako ne bi došlo do mikrobiološkog kvarenja tijekom skladištenja. Pravilno osušeno sjeme je ono kod kojeg je udio vode manji od 9% te takvo sjeme nije podložno mikrobiološkom kvarenju pri skladištenju. Udio vode se u uzorcima bijele gorušice (Tablica 2.) kretao između 6,5 i 6,4% dok je u uzorcima smeđe gorušice varirao od 6,2% u uzorcima 35 i 36 do 6,3% u uzorku broj 38 i 6,4% u uzorku broj 37. Thomas i sur. (2012) u svom radu navode udio vode od 6,9% što je u skladu s dobivenim rezultatima.

Udio ulja na suhu tvar u uzorcima bijele gorušice kao što se vidi u Tablici 3. je iznosio oko 25%, najveći je bio u uzorku broj 32 (25,4%), a najmanji u uzorku broj 34 gdje je iznosio 25,1%.

U uzorcima smeđe gorušice (Tablica 4) udio ulja bio je veći u odnosu na uzorke bijele gorušice i kretao se između 30-34%. Najveći udio ulja bio je u uzorku broj 37 i iznosio je 34,0%, a najmanji u uzorku broj 36 gdje je iznosio 30,9%. Thomas i sur. (2012) u radu navode udio od 28,8% što je nešto manje od dobivenih rezultata.

Udio palmitinske kiseline (C16:0) u uzorcima bijele gorušice se kretao od 3,0 do 3,2% što odgovara standardnim podacima u kojima je raspon palmitinske kiseline od 0,5 do 4,5% kako se navodi u Pravilniku (2012). Udio palmitinske kiseline u uzorcima je nešto veći i kreće se u rasponu od 3,4 do 3,5% što je u također u skladu sa podacima iz Pravilnika (2012).

Udio stearinske kiseline (C18:0) je bio najveći u uzorku broj 31 i iznosio je 1,3% dok je u ostalim uzorcima bio u rasponu od 0,9 do 1,0% što odgovara rasponu od 0,5 do 2,0% kako je navedeno u Pravilniku (2012). U znanstvenom radu Ryan i sur., (2007) udio stearinske kiseline je iznosio

1,4%, a u radu Jhama i sur. (2009) 0,9%. U uzorcima smeđe gorušice udio stearinske kiseline je iznosio 1,5% što odgovara podacima iz Pravilnika (2012).

Najviši udio oleinske kiseline u bijeloj gorušici (C18:1) imao je uzorak broj 33 (21,4%) dok je najmanji udio imao uzorak broj 31 (20,9%). U Pravilniku (2012) se navodi raspon od 8,0 do 23,0% što odgovara navedenim podacima. U uzorcima smeđe gorušice udjeli su bili nešto niži i kretali su se od 18,8% u uzorcima 37 i 38 do 19,4% u uzorku broj 35.

Udio linolne kiseline (C18:2) se u Pravilniku (2012) navodi u rasponu od 10,0 do 24,0% što odgovara udjelu od 10,0 i 10,3% uzorka 32 i 31 bijele gorušice dok je u uzorcima 33 i 34 bijele gorušice udio iznosio 9,7% što je vrlo slično dobivenim rezultatima. Ryan i sur. (2007) također navode udio od 10,7%, a Jham i sur. (2009) 14,2%. U uzorcima smeđe gorušice udio se kretao bliže gornjem rasponu te je iznosio 22,4% u uzorku broj 35, 23,0% u uzorcima 36 i 37 te je najveći udio bio u uzorku broj 38. U znanstvenom radu Vaidya i sur. (2010) udio je iznosio 24,8%.

Alfa linolenska odnosno  $\omega$ -3 masna kiselina (C18:3) je imala najveći udio u uzorku 31 bijele gorušice koji je iznosio 15,0%, a najniži u uzorku 34 (10,4%) što odgovara standardnim podacima iz Pravilnika (2012) od 6,0 do 18,0%. Vaidya i sur. (2010) i Ryan i sur. (2007) navode udio od 11,1% i 8,2% što je u skladu sa standardnim podacima i analiziranim uzorcima. Udio  $\omega$ -3 masne kiseline u smeđoj gorušici bio je općenito veći u odnosu na bijelu gorušicu, ali manji u odnosu na maksimalni udio uzorka 31 bijele gorušice. Kretao se od 13,1% u uzorcima 37 i 38 do 3,2% u uzorku 35 te 13,4% u uzorku 36.

U analiziranim uzorcima bijele gorušice udio arahinske kiseline (C20:0) iznosio je 0,6%, a u uzorcima smeđe gorušice 1,0% što odgovara rasponu od ne detektiranog ( $<0,05\%$ ) do 1,5% kako je navedeno u Pravilniku (2012). Jham i sur. (2009) u svom radu navode udio od 0,8% što je u skladu sa standardnim podacima.

Udio gadoleinske kiseline (C20:1) u uzorcima bijele gorušice se kretao od 9,1% u uzorku 31 do 9,8% u uzorku 32 i najvećeg udjela 10,1% u uzorcima 33 i 34. Analizirani podaci odgovaraju standardnim podacima navedenim u Pravilniku (2012) (5-13%). U uzorcima smeđe gorušice udjeli su bili nešto viši, ali također u rasponu navedenom u Pravilniku (2012) Najveći udio su imali uzorci 35 i 36 (12,1%), a nešto manji uzorci 37 i 38 (11,8%). Vaidya i sur., (2010) u svom radu navode udio 11-eikosenoične kiseline od 12,8% što odgovara uzorcima smeđe gorušice.

Udio eiksadienske kiseline (C20:2) bi prema literaturnim navodima Pravilnika (2012) trebao biti u rasponu od ND (< 0,05%) do 1% što odgovara udjelu u analiziranim uzorcima bijele gorušice (ND). U uzorcima smeđe gorušice udio eikosadienske kiseline je bio veći i iznosio je 1,1%.

Eruka kiselina (C22:1) je jedna od najzastupljenijih kiselina u gorušici. U analiziranim uzorcima bijele gorušice najveći udio je bio u uzorku 34 i iznosio je 40,0%. Nešto manji udio je bio u uzorku 33 sa 39,2% i 38,4% u uzorku 32 te najmanji u uzorku 31 sa 35,6%. Ryan i sur. (2007) također navode udio od 38,8% što je u skladu s analiziranim podacima te standardnim podacima iz Pravilnika (2012) (22,0- 50,0%) kao i Jham i sur. (2009) kod kojih je udio iznosi 45,7%. U uzorcima smeđe gorušice najveći udio je imao uzorak 36 sa 22,6%, slijedi uzorak 37 sa 22,5% te potom uzorak 35 sa 22,3% te naposljetku uzorak 38 sa 22,2%. Općenito je udio eruka kiseline bio nešto manji u analiziranim uzorcima smeđe gorušice za razliku od bijele gorušice, ali unutar raspona od 22,0 do 50,0% kako je navedeno u Pravilniku (2012).

Udio nervonske kiseline (C24:1) u uzorcima bijele gorušice je bio u rasponu od 2,4% u uzorku 31 do 2,6% u uzorcima 32 i 33 te 2,7% u uzorku 34 što je neznatno više od standardnih podataka iz Pravilnika (2012) (0,5-2,5%). Jham i sur. (2009) su naveli udio od 2,5% što ulazi u raspon podataka navedenih u Pravilniku (2012) U analiziranim uzorcima smeđe gorušice udjeli su bili malo manji od uzoraka bijele gorušice i iznosili su 1,2% u uzorku 35, 1,3% u uzorcima 37 i 38 te u uzorku 36 nije detektiran udio nervonske kiseline.

Osim ovih poznatih i detektiranih kiselina u uzorcima bijele gorušice je zabilježen udio od 1,0% te u uzorcima smeđe gorušice udio od 1,7 % kiseline koja nije detektirana.

Uzorci bijele gorušice su imali nešto veći udio oleinske i eruka masne kiseline dok je u uzorcima smeđe gorušice u prosjeku bilo više svih ostalih analiziranih masnih kiselina te značajniji udio linolne kiseline.

## **6. ZAKLJUČAK**

Na temelju provedenog istraživanja te dobivenih i obrađenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Udio ulja i udio vode u sjemenu bijele i smeđe gorušice bio je u skladu s literaturnim navodima.
2. Najveći udio ulja je imao uzorak 37 smeđe gorušice i iznosio je 34,0%.
3. Dominantne masne kiseline uzoraka smeđe i bijele gorušice su oleinska masna kiselina, linolna masna kiselina i eruka masna kiselina.
4. Uzorci bijele gorušice imali su veći udio eruka kiseline (od 35,6% do 40,0%), oleinske (od 20,9% do 21,4%) i alfa linolenske ( $\omega$ -3) masne kiseline (10,4-15,0%), u odnosu na uzorke smeđe gorušice koji su imali veći udio linolne ( $\omega$ -6) kiseline (od 22,4% do 23,2%).

## 7. LITERATURA

Anonymus (1) (2015) < <http://blogs.oregonstate.edu/seedproduction/research/sinapsis-alba/>>.

Pristupljeno 17.6.2015.

Anonymus (2) (2015) < <http://www.savoryspiceshop.com/spices/mustye1.html>>. Pristupljeno

10.5.2015.

Anonymus (3) (2015) < <http://denverspice.com/product/mustard-seed-brown/>>. Pristupljeno

10.5.2015.

Anonymus (4) (2015) < <http://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/gorusica-bijela-87/>>. Pristupljeno 20.4.2015.

Chen, Y., Wu, Y. J. and Deng, T. T. (2015) Detection and control of mustard and sesame as food allergens. U: Handbook of Food Allergen Detection and Control, (Flanagan, S., ured.), Woodhead Publishing, Philadelphia, str. 391-408.

Cochard, M. M. and Eigenmann, P. A. (2011) Allergies to Nuts and Seeds. U: Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention, (Preedy, V. R., i ured.), Academic Press, San Diego, str.137-143.

Figuroa, J., Blanco C., Dumpiérrez, A. G., Almeida, L., Ortega, N., Castillo, R., Navarro, L., Pérez, E., Gallego, M. D., Carrillo, T. (2004) Mustard allergy confirmed by double-blind placebo-controlled food challenges: clinical features and cross-reactivity with mugwort pollen and plant-derived foods. *Allergy* **60**, 48–55.

HRN EN ISO 5009:2004, Životinjske i biljne masti i ulja - Priprava metilnih estera masnih kiselina.



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

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

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

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., and Stelly, D. M. (2009) Wild Brazilian Mustard (*Brassica juncea* L.) Seed Oil Methyl Esters as Biodiesel Fuel. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **86**, 917-926.

Palle-Reisch, M., Cichna-Markl, M., Hochegger, R. (2013) Development and validation of a duplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of three mustard species (*Sinapis alba*, *Brassica nigra* and *Brassica juncea*) in food. *Food Chem.* **153**, 66-73.

Pravilnik o jestivim uljima i mastima (2012) *Narodne novine* **41**, Zagreb

Puumalainen, T.J., Puustinen, A., Poikonen, S., Turjanmaa, K., Palosuo, T., Vaali, K. (2014) Proteomic identification of allergenic seed proteins, napin and cruciferin, from cold-pressed rapeseed oils. *Food Chem.* **175**, 381-385.

Rancé, F. (2002) Mustard allergy as a new food allergy. *Allergy* **58**, 287-288.

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 Food Hum. Nutr.* **62**, 85-91.

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 Res. Int.* **54**, 587-594.

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

Vaidya, B., Choe, E. (2010) Effects of Seed Roasting on Tocopherols, Carotenoids, and Oxidation in Mustard Seed Oil During Heating. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **88**, 83-90.