

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

MAGISTRSKO DELO

GLUKOZINOLATI V STRANSKIH PROIZVODIH
PREDELAVE OLJNE OGRŠČICE
(*Brassica napus* L. var. *napus*)

KATJA MIHALIČ

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Magistrsko delo

Glukozinolati v stranskih proizvodih predelave oljne ogrščice
(*Brassica napus* L. var. *napus*)

(Glucosinolates in rapeseed (*Brassica napus* L. var. *napus*) by-products)

Ime in priimek: Katja Mihalič

Študijski program: Varstvo narave, 2. stopnja

Mentorica: doc. dr. Ana Miklavčič Višnjevec

Delovna somentorica: dr. Kelly Peeters

Koper, marec 2021

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Katja MIHALIČ

Naslov magistrskega dela: Glukozinolati v stranskih proizvodih predelave oljne ogrščice (*Brassica napus* L. var. *napus*)

Kraj: Koper

Leto: 2021

Število listov: 96

Število slik: 15

Število tabel: 6

Število prilog: 2

Število strani prilog: 15

Število referenc: 206

Mentorica: doc. dr. Ana Miklavčič Višnjevec

Delovna somentorica: dr. Kelly Peeters

UDK: 582.683.2:664.761(043.2)

Ključne besede: *Brassica napus* L. var. *napus*, predelava, ogrščična moka, glukozinolati, zdravje.

Izvleček:

Oljna ogrščica (*Brassica napus* L. var. *napus*), predstavnica družine križnic (Brassicaceae), je v svetu tretja ekonomsko najpomembnejša oljnica. Največ jo porabimo za pridelavo olja oljne ogrščice. Stranski proizvod pri pridelavi olja je ogrščična moka, ki jo danes v glavnem uporabljamo za visokobeljakovinsko krmo za živali. Je bogat vir beljakovin, številnih vitaminov in drugih bioaktivnih spojin. Vsebuje tudi glukozinolate, ki lahko glede na strukturne razlike in različne koncentracije koristijo zdravju ali pa predstavljajo tveganje za zdravje ljudi. Glavni namen naloge je določiti vsebnost glukozinolatov v osnovni surovini semen oljne ogrščice in iz njih predelanih beljakovinskih pripravkov. Glukozinolate smo določili s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC), sklopljeno s tandemskim masnim spektrometrom (MS/MS). V začetni surovini, v semenih oljne ogrščice, smo prepoznali sedem različnih glukozinolatov, v končnih proizvodih pa smo zaznali glukozinolat le v vzorcih, ki so bili encimsko obdelani in stiskani s toplotno obdelavo. V prihodnje bodo potrebne dodatne in podrobnejše raziskave glukozinolatov, saj so njihove učinkovine na področju zdravja še premalo raziskane. Stranski proizvodi, kot je moka oljne ogrščice, so morda zelo pomembna surovina, ki bi v prihodnje lahko služila v farmacevtski in živilski industriji.

Key document information

Name and SURNAME: Katja MIHALIČ

Title of the thesis: Glucosinolates in rapeseed (*Brassica napus* L. var. *napus*) by-products

Place: Koper

Year: 2021

Number of pages: 96 Number of figures: 15 Number of tables: 6

Number of appendix: 2 Number of appendix pages: 15

Number of references: 206

Mentor: Assist. Prof. Ana Miklavčič Višnjevec, PhD

Co-Mentor: Kelly Peeters, PhD

UDC: 582.683.2:664.761(043.2)

Keywords: *Brassica napus* L. var. *napus*, cultivation, rapeseed meal, glucosinolates, health

Abstract:

Rapeseed (*Brassica napus* L. var. *napus*), a representative of the cruciferous family (Brassicaceae), is the third most economically important oil plant in the world. The largest part is needed for the production of rapeseed oil. As a by-product of oil production, rapeseed meal is used today mainly for high protein animal feed. It is a rich source of protein, many vitamins and other bioactive compounds. It contains also glucosinolates that depending on structural differences and different concentrations they may benefit or pose a risk to the human health. In this thesis, the main purpose was to determine the glucosinolates in the rapeseed raw material and its processed protein preparations. Glucosinolates were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with tandem mass spectrometry (MS/MS). 7 different glucosinolates were identified in rapeseed raw material. Glucosinolates were detected in the final products, only in samples that were enzymatically treated and compressed by heat treatment. Further and more detailed analyzes of glucosinolates are needed in the future, as their active ingredients in the field of health are still insufficiently researched. By-products, such as rapeseed meal, can be a very important raw material that could be used in the pharmaceutical and food industries in the future.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD	1
1.1 Namen in cilj magistrskega dela	4
1.2 Hipoteze in vprašanja	4
2 TEORETIČNA IZHODIŠČA	5
2.1 Oljna ogrščica	5
2.1.1 Splošni podatki o vrsti	5
2.1.1.1 Seme oljne ogrščice	7
2.2 Predelava oljne ogrščice	7
2.2.1 Pridelava oljne ogrščice v Sloveniji	8
2.2.2 Postopek pridobivanja olja in stranski proizvodi	10
2.2.3 Sestava proizvodov iz oljne ogrščice.....	10
2.3 Vpliv gojenja oljne ogrščice na okolje	14
2.3.1 Opraševanje in vpliv na okolje.....	15
2.4 Vpliv zavržkov oljne ogrščice na okolje in njihov pomen	20
2.4.1 Zavržki pri pridelavi in predelavi hrane	20
2.4.2 Zavržki in vpliv na okolje.....	22
2.5 Možnost ponovne uporabe zavržkov in stranskih proizvodov pri predelavi oljne ogrščice.....	23
2.6 Sekundarni metaboliti	24
2.6.1 Glukozinolati	25
2.6.2 Kemijska struktura glukozinolatov.....	26
2.6.3 Hidroliza glukozinolatov in mirozinaza	27
2.6.4 Izotiocianati	28
2.6.5 Pozitiven pomen glukozinolatov za zdravje ljudi.....	29
3 METODE DELA	32
3.1 Princip metode	32
3.1.1 Kromatografija	32
3.1.1.1 Visokozmogljiva tekočinska kromatografija (HPLC).....	32
3.1.1.2 Sestavni deli HPLC	33
3.1.2 Masna spektrometrija	34
3.1.2.1 Masni analizator na osnovi časa poleta (»time of flight«) ali TOF	35
3.2 Reagenti in material	36
3.2.1 Kemikalije	36
3.2.2 Laboratorijski material	36
3.2.3 Laboratorijska oprema.....	36
3.3 Priprava vzorcev	36
3.4 Analizni postopki	37

3.4.1 Ekstrakcija glukozinolatov	37
3.4.2 Določanje glukozinolatov	38
3.4.2.1 Obdelava podatkov	39
4 REZULTATI Z RAZPRAVLJANJEM	40
4.1 Interpretacija MS spektrov standardne raztopine sinigrin hidrata.....	40
4.1.1 Identifikacija glukozinolatov v moki oljne ogrščice	41
4.1.2 Identifikacija glukozinolatov med predelavo moke oljne ogrščice v beljakovinski pripravek	43
4.1.3 Identificirani glukozinolati v beljakovinskih pripravkih po različnih postopkih.....	44
4.1.3.1 Glukozinolati c prehodno hladno stiskanih končnih produktov beljakovinskih pripravkov.....	44
4.1.3.2 Glukozinolati v končnih produktih beljakovinskih pripravkov, predhodno obdelanih pri višjih temperaturah in encimski obdelavi	45
4.2 Vpliv identificiranih glukozinolatov na zdravje	46
4.2.1 Progoitrin.....	47
4.2.2 Glukonapin	48
5 ZAKLJUČEK	50
6 LITERATURA IN VIRI.....	52

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Sestava olja oljne ogrščice (Tanjšek 1986, Salunkhe 1992).	11
Preglednica 2: Glukozinolati, identificirani v začetnem vzorcu pred obdelavo moke oljne ogrščice, m/z vrednost med fragmentoma 96 in 97.	41
Preglednica 3: Vzorci in postopki hladne in toplotno-encimske obdelave biološkega materiala semen oljne ogrščice.	44
Preglednica 4: Primerjava identificiranih glukozinolatov v vzorcih VSP1 in VSP2.	45
Preglednica 5: Glukozinolati iz toplotno stiskane moke oljne ogrščice (serija 13).	45
Preglednica 6: Glukozinolati iz toplotno stiskane moke oljne ogrščice (serija 14).	45

KAZALO SLIK

Slika 1: Rastlina oljna ogrščica (Vir: Wikipedia)	6
Slika 2: Pridelava oljne ogrščice v Sloveniji v obdobju 1991–2011 (Pipan in sod. 2013)...	9
Slika 3: Snovna in energijska izraba oljne ogrščice (<i>Brassica napus</i> L.var. <i>napus</i>) (prirejeno in dopolnjeno po Godeša T. 2010).	12
Slika 4: Osnovna struktura glukozinolatov (Verkek in sod. 2008).....	27
Slika 5: Encimska razgradnja glukozinolatov (Fahey in sod. 2001).....	28
Slika 6: Sestava sistema HPCL in njegovi deli.	34
Slika 7: Celotna shema Agilent 6520 Q-TOF LC/MS, vključno z ionskim izvorom ESI, optiko za prenos ionov, optiko za prenos ionov, optiko za oblikovanje žarka, ionskim pulzorjem, cevjo za letenje in detektorjem.....	35
Slika 8: Diagram poteka postopka delovanja različnih enot za predelavo oljne ogrščice/pogače v projektu ProEnrich.....	37
Slika 9: Vzorci (zgoraj), merilne bučke, lij in filtrirni papir (spodaj), vodna kopel s termostato (desno).	38
Slika 10: HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS.	39
Slika 11: MS1 spekter sinigrina.	40
Slika 12: MS2 spekter sinigrina pri energiji trkov 40 eV. Obkrožena sta začetna iona m/z 96/97 s signali 86,67 in 29703 (torej v razmerju 1:3,4).	40
Slika 13: Vzorci oljne ogrščice.	43
Slika 14: Struktura progoitrin glukozinolata.	47
Slika 15: Struktura glukonapin glukozinolata.	48

KAZALO PRILOG

PRILOGA A *Identificirani glukozinolati v semenih oljne ogrščice*

PRILOGA B *Iskani glukozinolati*

SEZNAM KRATIC

DAD	detektor s serijo diod (<i>angl.</i> diode array detector)
ESI	ionizacija z elektrosprejem (<i>angl.</i> electrospray ionization)
EU	Evropska unija
EUROSTAT	Statistični urad Evropske unije
FAOSTAT	Organizacija Združenih narodov za prehrano in kmetijstvo
HPLC	visokozmogljiva tekočinska kromatografija (<i>angl.</i> high performance liquid chromatography)
KIS	Kmetijski inštitut Slovenije
LOQ	meja kvantitativne določljivosti (<i>angl.</i> Limit of Quantification)
MS/MS	tandemski masni spektrometer
SURS	Statistični urad Republike Slovenije
RS	Republika Slovenija
TM	telesna masa
qTOF	masni analizator na osnovi časa poleta (<i>angl.</i> quadrupole time-of-flight)

ZAHVALA

Za strokovno vodenje, nasvete in pomoč pri izdelavi magistrskega dela se iskreno zahvaljujem mentorici doc. dr. Ani Miklavčič Višnjevec in delovni somentorici dr. Kelly Peeters.

Hvala članom komisije za pregled magistrskega dela.

Zahvala gre tudi mojim staršem, partnerju ter prijateljem za podporo v času študija in pri pisanju magistrskega dela.

1 UVOD

Svetovno prebivalstvo hitro narašča, kar zahteva vse večjo proizvodnjo hrane. Zaskrbljujoči so predvsem podatki glede zavržkov pri pridelavi in predelavi hrane. Na različnih ravneh proizvodnje hrane je namreč zavržemo kar tretjino. To pomeni, da moramo zmanjšati količino zavržkov ter tako tudi vpliv pridelave hrane na okolje in hrano obravnavati kot nekaj dragocenega in nezapravljivega ter samoumevnega (WRAP 2011 Bandelj in sod. 2014). Zato je zelo pomemben razvoj tehnologij za ponovno uporabo zavržkov in v predelavi čim boljši izkoristek celotne rastline, zlasti, če so stranski proizvodi predelave bogati z bioaktivnimi spojinami, kot so predvsem pri rastlinski pridelavi in predelavi hrane (Tlais in sod. 2020).

Oljna ogrščica (*Brassica napus* L. var. *napus*), predstavnica družine križnic (Brassicaceae) (Ačko Kocjan 2015), je ena izmed ekonomsko najpomembnejših oljnic (Shao in sod. 2014). Takoj za sojo in palmami je tretji najpomembnejši vir rastlinskih olj na svetu in drugi najpomembnejši vir beljakovin (Čeh 2009). Uporabna je kot vir olja za človeško prehrano in proizvodnjo biodizla.

Stranski proizvod pri predelavi oljne ogrščice v olje je ogrščična moka, ki jo trenutno uporabljamo predvsem kot visokobeljakovinsko krmo za živali (Faarag in sod. 2012). Vsebuje veliko količino beljakovin ter številne vitamine in druge bioaktivne spojine. Ima bogato aminokislinsko sestavo z veliko hranilno vrednostjo ter vlaknine in minerale, kot so kalcij, magnezij, cink in baker (Vuorela 2005). Med zanimive bioaktivne spojine sodijo glukozinolati, z žveplom bogati sekundarni presnovki. Najdemo jih predvsem v rastlinah roda Brassicales (Clarke 2010). Glukozinolati so v zadnjih desetletjih čedalje bolj prisotni v prehranski industriji. Različne stroke skušajo razumeti in ugotoviti njihovo funkcionalnost.

Dekker in Verkerk (2003) opredeljujeta »funkcionalna živila« kot živila, ki lahko, če so običajne sestavine prehrane, zagotavljajo zadostne količine bioaktivnih sestavin, ki dokazano blagodejno vplivajo na zdravje ljudi. Za uspešno uporabo funkcionalnih živil moramo poznati variabilnost vsebnosti bioaktivnih spojin v rastlinah in njihov vpliv (Velasco 2007). To vodi v podrobnejše raziskave glukozinolatov in njihovega vpliva na človeka. Glukozinolati in njihovi presnovki na organizem učinkujejo različno. Strukturne razlike med glukozinolati in nekaterimi njihovimi presnovki v prehrani so lahko ključne pri metabolni transformaciji in biološki razpoložljivosti, in lahko vplivajo na to, ali so glukozinolati koristni ali predstavljajo tveganje za zdravje (Andersen in sod. 2010).

Po njihovem zaužitju se lahko v nespremenjeni obliki delno absorbirajo skozi sluznico prebavil, vendar se največja frakcija presnovi v črevesni svetlini. Brez predelave lahko encim mirosinaza, prisoten v rastlinah družine križnic, hidrolizira glukozinolate v prebavilih v različne presnovke, kot so izotiocianati, nitrili, oksazolidin-2-tioni in indol-3-karbinoli (Barba 2016). Izotiocianati, produkti hidrolize glukozinolatov, lahko delujejo kot kemoprotektivni agensi proti rakotvornim snovem (Bellostas in sod. 2007a) ter pozitivno učinkujejo pri srčno-žilnih in nevroloških boleznih (Dinkova-Kostova 2012). Lahko delujejo kot zaviralci mitoze in stimulatorji apoptoze v človeških tumorskih celicah (Geng in sod. 2011, Smith in sod. 2004, Pham in sod. 2004).

Glede na koncentracijo in dejansko strukturo glukozinolatov in njihovih metabolitov zavirajo delovanje procesov v telesu in negativno vplivajo na hranilno vrednost, okus in vonj hrane in krme za živali (Bjerg in sod. 1989, Hansen in sod. 1997).

Verkek (2008) navaja, da se glukozinolati pojavljajo v vseh delih rastlin, a v različnih profilih in koncentracijah. Posamezna vrsta rastline običajno vsebuje do štiri različne glukozinolate v pomembnih količinah, medtem ko je v isti rastlini mogoče najti do 15 različnih glukozinolatov. Čeprav se koncentracija in sestava glukozinolatov lahko zelo razlikujeta in se med razvojem rastlin tudi spremenita, večino najdemo v vseh rastlinskih organih.

Ena izmed najbolj učinkovitih in selektivnih metod odkrivanja koncentracije in vsebnosti glukozinolatov je HPLC kromatografija, sklopljena z masnim detektorjem ali diodnim (DAD) detektorjem. Zaradi kompleksnosti bioloških vzorcev je kromatografija primerna analitična metoda za separacijo omenjenih vzorcev na njihove kemijske komponente. Spojine se med seboj razlikujejo v koloni v kromatografu na podlagi različnih fizikalnih in kemijskih lastnosti spojin (Villas-Bôas in sod. 2007, Han in sod. 2011). Ker je ogrščična moka pomemben vir bioaktivnih spojin, v okviru Evropskega projekta Proenrich (Obzorje 2020) razvijajo izdelke z visoko dodano vrednostjo, ki bi lahko bili zanimivi za trg. V teh izdelkih iz stranskih proizvodov predelave oljne ogrščice je zlasti pomembno določiti glukozinolate in njihove metabolne produkte izotiocianate.

Zaradi fiziologije je oljna ogrščica tudi medonosna rastlina in pomembno vpliva na okolje. Na onesnaženih območjih jo uporabljamo kot remediacijsko sredstvo pri prečiščevanju tal s težkimi kovinami (Romih in sod. 2010), v kmetijstvu pa v poljedelskem kolobarjenju zaradi posrednih učinkov na rodovitnost tal (Ačko Kocjan 1999) in kot podorino za t. i. zeleno gnojenje. Zemlja pridobi potrebno organsko snov, s katero posredno izboljšamo strukturo tal, aktivnost mikroorganizmov ter zračni in vodni režim tal (Kos in sod. 2003, Romih in sod. 2010).

Socvetje oljne ogrščice sestavljajo posamezni rumeni cvetovi, ki jih lahko opazimo na poljih v obdobju cvetenja, od aprila do septembra (Zdešar 2011). V osnovi je samoprašna rastlinska vrsta. Zaradi svoje oblike in rumene obarvanosti socvetja je privlačna za številne opraševalce. Pri tujeprašnosti ima pomebno vlogo tudi veter, ki lahko cvetni prah raznaša na dolge razdalje (Creswell in sod. 2004). Ustrezno kontrolirano gojenje oljne ogrščice lahko koristno vpliva na okolje in na organizme. Pri tem moramo upoštevati več dejavnikov, kot so primerna velikost in razdalja med polji oljne ogrščice, uporaba naravnih ali seminaravnih gnojil, primerna podlaga in bližina gozdov. Prav bližina gozdov pripomore k povečani raznolikosti opraševalcev, kar izboljša donos pridelkov (Hoehn 2008, Kremen 2002) in biotsko pestrost krajine, primernih habitatov za opraševalce in rodovitnost tal (Bailey 2014).

1.1 Namen in cilj magistrskega dela

Namen in cilji magistrskega dela so bili:

- 1.) poudariti pomen ponovne uporabe stranskih produktov rastline oljne ogrščice (*Brassica napus* L.var. *napus*) in vpliv zavržkov na okolje;
- 2.) na osnovi že poznanih postopkov ekstrakcije spojin iz organskih snovi določiti glukozinolate v osnovni surovini (iz semen oljne ogrščice), med samo predelavo moke oljne ogrščice in v končnih beljakovinskih pripravkih iz moke oljne ogrščice;
- 3.) identificirati različne spojine glukozinolatov in jih primerjati z literaturo.
- 4.) identificirati različne spojine glukozinolatov glede na strukturo in koncentracijo ter ugotoviti in določiti njihov vpliv na zdravje ljudi.

1.2 Hipoteze in vprašanja

Hipoteza: Glukozinolatov v končnem produktu ne bomo zaznali,

- 1.) ker se bodo pretvorili v izoticianate,
- 2.) zaradi različne obdelave vzorcev.

V sklopu magistrske naloge smo izpostavili naslednja raziskovalna vprašanja:

- 1.) Kako obdelava oljne ogrščice (*Brassica napus* L. var. *napus*) vpliva na koncentracijo glukozinolatov?
- 2.) Kako potencialni določeni glukozinolati v končnih produktih oljne ogrščice (*Brassica napus* L. var. *napus*) vplivajo na zdravje ljudi?

2 TEORETIČNA IZHODIŠČA

2.1 Oljna ogrščica

2.1.1 Splošni podatki o vrsti

Slovensko ime Repna ogrščica/Oljna ogrščica

Znanstveno ime *Brassica napus* L. var. *napus*

Oljna ogrščica (*Brassica napus* L. var. *napus*) naj bi se pojavila šele v 17. stoletju z naravnim križanjem samoraslega zelja (*Brassica oleracea*) in repice (*Brassica campestris*). Izvira iz Sredozemlja in jugovzhodne Azije. Dobro se je prilagodila tudi na hladnejše podnebje, saj jo množično gojijo tudi v severni Evropi in Kanadi, kjer gojenje toploljubnih oljnic ni mogoče (Ačko Kocjan 2000).

Oljna ogrščica je dvoletna rastlina, ki jo uvrščamo v družino križnic (Brassicaceae) (Ačko Kocjan 2000). S kalitvijo semena oljne ogrščice se sproži razrast vretenastih korenin, s katerimi se rastlina zasidra v tla. Iz dveh ledvičastih kličnih listov se do jeseni oblikuje pet do deset pravih listov. Čez zimo odmrle liste nadomestijo novi in prične se intenzivna rast in prehod v stebljenje (Ačko Kocjan 2015). Steblo je pri tleh ščetinasto-dlakavo, višje pa je oljna ogrščica brez dlačic in razvejana (Zdešar 2011). Doseže višino 80–140 centimetrov. Na višini 40–80 centimetrov, v odvisnosti od dednih lastnosti sorte in gostote setve, požene 2–7 stranskih stebelnih poganjkov (Ačko Kocjan 2015). Stebelni listi so spiralasto nameščeni, spodnji listi pa so gladki, pernato sestavljeni in na obeh straneh porasli z majhnimi togimi ščetinami. Gladki so tudi srednji in zgornji listi, ki so modrozeleno barve in suličasti (Zdešar 2011). Oljna ogrščica ima srčaste in pecljate klične liste z globoko zarezo na vrhu (Zdešar 2011).

Socvetje oljne ogrščice sestavljajo posamezni rumeni cvetovi, ki jih lahko opazimo na poljih v obdobju cvetenja, od aprila do septembra (Zdešar 2011). Cvet je sestavljen iz štirih časnih listov, štirih zlatorumenih venčnih listov, enega pestiča in šestih prašnikov, od katerih so štirje notranji daljši, dva zunanja pa krajša. Pogosto je pestič daljši ali krajši od prašnikov. Za cvetove je značilna raznovrstnost ali heterostilija, ki preprečuje samolastno oprашitev. Na cvetnem dnu so štirje medovniki, kjer čebele kot glavne oprășevalke pri srkanju medicine oprimejo cvetni prah, ki ga raznesejo na sosednje cvetove. V grozdastem socvetju najprej zacvetijo zgornji cvetovi, potem pa še spodnji (Ačko Kocjan 2015).



Slika 1: Rastlina oljna ogrščica (Vir: Wikipedia)

Najugodnejši pogoji za njeno rast so grudičasta, humusna, ilovnato-peščena tla (Ačko Kocjan 1999). Delež humusa v tleh naj bi znašal več kot 1,5 %. Najbolje uspeva na zračnih, odcednih in globokih tleh (pH 6,6–7,6). Za setev so neprimerne peščene njive, saj imajo korenine slabo črpalno moč za hranila in vodo (Ačko Kocjan 1999), ter področja z vrednostjo pH, manjšo od 5,8 (Mihelič in sod. 2010).

Po kemijski sestavi se sorte oljne ogrščice razlikujejo glede na vsebnost škodljivih snovi. V preteklosti so jih vsebovale več, kot jih imajo zdaj. V prehrabene namene seme ne sme vsebovati snovi, ki negativno vplivajo na zdravje ljudi in živali. To so eruka kislina, nekateri glukozinolati ali povišane koncentracije glukozinolatov in linolenska kislina, ki so lahko prisotni le v določenih majhnih količinah (Jeroch 2005). Previsoka vsebnost glukozinolatov in eruka kisline lahko na ljudi in živali delujeta toksično (prebavne motnje, nenormalno delovanje notranjih organov itd.) ter zmanjšujeta prehransko vrednost (Snowdon in sod. 2007). Njihova najvišja dovoljena količina v semenu je zakonsko predpisana v Uredbi o ureditvi trga s poljščinami (Ur. list RS, št. 22/2004). Določeno je, da vsebnost eruka kisline v olju ne sme presegati 2 % celotne vsebnosti maščobnih kislin (Hasan in sod. 2006). V preteklosti je bila dovoljena vsebnost 50 %. Vsebnost linolenske kisline v olju mora biti manjša od 5 %, sicer se olje hitreje kvari. Te kisline povzročajo srčno-žilne bolezni (Jeroch 2005). Vsebnost skupnih glukozinolatov ne sme presegati 25 mikromolov v gramu semena (Hasan in sod. 2006), saj lahko povzroči hipertrofijo jeter in ščitnice. Z žlahtnenjem so vse te škodljive snovi omejili na dovoljeno stopnjo (Jeroch 2005).

2.1.1.1 Seme oljne ogrščice

Na rastlini oljne ogrščice v času cvetenja zacveti do 2000 cvetov. Najprej zacvetijo zgornji cvetovi. Dozoreli luski, dolgi 5–10 cm, ležijo pravokotno na steblo. V lusku je 20–30 modročrnih semen s premerom 1,8–2,8 mm. Lusk se odpira po hrbtnem in trebušnem šivu (Ačko Kocjan 2000). Površina semena ogrščice je fino pikčasta do slabo mrežasta. Pri nekaterih novejših, kanadskih sortah oziroma hibridih ogrščice je semenska lupina obarvana rumeno (Ačko Kocjan 2015).

Zaradi fizikalnih lastnosti je njeno seme zelo mobilno in zato nagnjeno k raztrosu (Pipan in sod. 2013). Posamezna rastlina oljne ogrščice proizvede do 20.000 semen, ki se lahko v tleh obdržijo tudi do 10 let. Semena najpogosteje uporabljajo za prehrano, v proizvodnji olj in pri pridobivanju biogoriv (Zdešar 2011).

Eden najpomembnejših ciljev gojenja oljne ogrščice je izboljšanje kakovosti semen za zadovoljevanje potreb po jedilnem olju v prihodnosti (Shengwu in sod. 2003, El-Beltagi 2010). Semena vsebujejo veliko olja, približno 38–42 % mase celotnega semena, in 30 % beljakovinske frakcije celega semena. Vključno s filmom, ki obdaja seme, beljakovine predstavljajo 16–19 % celotne mase semena. Polisaharidi in vlaknine so glavne sestavine filma, ki obdaja semena, kar predstavlja 20–28 % celotne mase semena (Perrier in sod. 2017).

2.2 Predelava oljne ogrščice

Vrsta *Brassica napus* L. je vsesplošno uporabna rastlina. Vključuje po namenu pridelave dve precej različni podvrsti. Prva podvrsta so zelenjadni predstavniki, med njimi podzemna (rumena) koleraba (*B. napus* L. subsp. *napobrassica* (L.) Hanelt), druga podvrsta (*B. napus* L. subsp. *napus* L.) pa združuje ozimno in jaro oljno ogrščico ter krmno obliko navadne ogrščice (Snowdon in sod. 2007).

Ekonomsko jo uvrščamo med najpomembnejše oljnice (Shao in sod. 2014). Za sojo in bombaževcem je ozimna oljna ogrščica s 26 milijoni hektarov na tretjem mestu med vsemi oljnicami (Ačko Kocjan 2000).

Največ površin, na katerih gojijo seme oljne ogrščice, je na Kitajskem, sledijo EU, Indija in Kanada. Zaradi nizkih pridelkov semen je celotna pridelava na Kitajskem, v Indiji in Kanadi nižja kot v EU, kjer najvišji pridelki dosežejo v povprečju več kot 3 tone na hektar (Evropska komisija 2010, EUROSTAT 2011, FAOSTAT 2011).

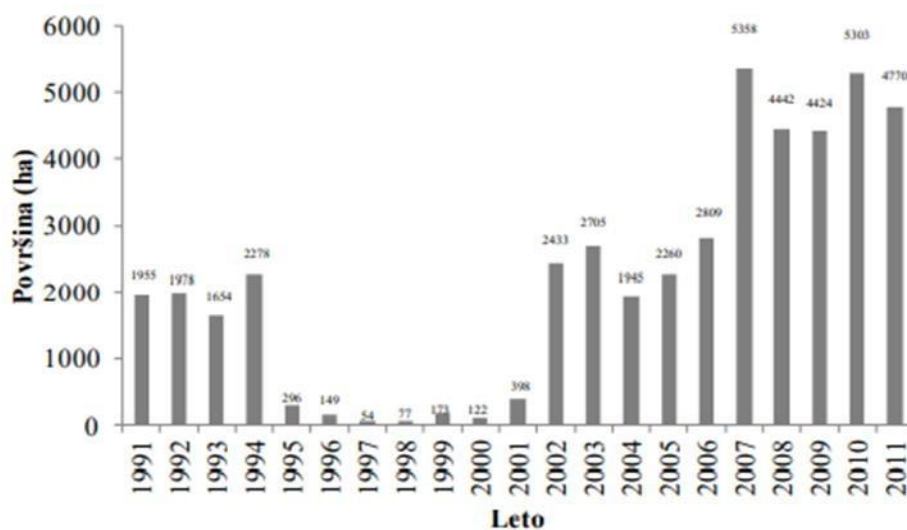
Povprečni svetovni pridelek oljne ogrščice je 1.900 kg/ha. Majhni posestniki zemljišč v Indiji ali na Kitajskem nabirajo le 500–800 kg/ha, medtem ko velike kmetije v Kanadi ali Avstraliji pridelajo 1.000–2.000 kg/ha. V Evropi je ekonomski pridelek ozimne oljne ogrščice 3–4 tone na hektar, kar ustreza 3–10 tonam stebel. Zato je bilo v letu 2009 v povprečju v Evropi proizvedenih približno 46 milijonov ton stebela oljne repice (Tofanica in sod. 2011).

2.2.1 Pridelava oljne ogrščice v Sloveniji

Oljna ogrščica je ena izmed najbolj perspektivnih oljnic tudi v Sloveniji, predvsem zaradi možnosti večnamenske uporabe za prehrano, živalsko krmo, biogorivo, farmakologijo in v ekološke namene. Najdemo jo v vseh sistemih kmetijske pridelave. Je pomemben člen v kolobarju ter omogoča oprashaevanje s samosevnimi in podivjanimi populacijami znotraj in zunaj pridelovalnih površin (Pipan in sod. 2011, Pipan 2013). Pomembno funkcijo ima tudi kot medovita rastlina. Konec aprila lahko na poljih opazimo cvetoče rastline oljne ogrščice, ki nudijo čebelarom prvo obilnejšo pašo (Ačko Kocjan 1999).

V Sloveniji so s pridelovanjem oljne ogrščice pričeli v 18. stoletju (Ačko Kocjan 1999), natančneje leta 1780 (Maček 1993). Pobude za njeno gojenje je spodbudila dunajska vlada. Kmetom je koroška kmetijska družba dajala premije (Maček 1993). Na Kranjskem so po letu 1868 ogrščico pridelovali v manjšem obsegu (Maček 1993). Šele v drugi polovici dvajsetega stoletja se je razširilo industrijsko stiskanje (Ačko Kocjan 1999).

V Sloveniji so pred letom 1995 pridelovali ogrščico na 2200 hektarih in je bila med najpomembnejšimi prehranskimi oljnicami. Glavna nosilka in organizatorica pridelovanja semena oljne ogrščice v Sloveniji je bila tovarna olja Gea. Leta 1995 je zaradi dotrajane tehnologije stiskanja semen prekinila pogodbeno sodelovanje s kmeti. Od leta 1995 ni več organizirane pridelave oljne ogrščice, pridelovanje ogrščice pa se je zmanjšalo na 269 hektarov njiv. Večje slovenske oljarne za proizvodnjo olja kupujejo surovo olje oljne ogrščice v tujini, v Sloveniji pa poteka proizvodnja od rafiniranja do skladiščenja (Ačko Kocjan 1999).



Slika 2: Pridelava oljne ogrščice v Sloveniji v obdobju 1991–2011 (Pipan in sod. 2013).

Na Sliki 2 nazorno prikazujemo pridelavo oljne ogrščice v Sloveniji med letoma 1991 in 2011. Njena predelava je predvsem skoncentrirana v vzhodni kohezijski regiji (Pipan in sod. 2013). Vzrok za nihanja v njeni predelavi je predvsem slaba mehanizacija v oljarnah, zaradi česar so kmetje prenehali pridelovati oljno ogrščico. Po kar šestih letih prekinitve so jo leta 2001 ponovno pričeli zasajevati, kar je sprožilo velik preskok v njeni pridelavi. Iz leta v leto je zasedala več kmetijskih površin, največ pa so je pridelali med letoma 2007 in 2011.

V letu 2011 so oljno ogrščico pridelovali na približno 1 % vseh pridelovalnih površin v Sloveniji (Pipan in sod. 2011, Rastlinska pridelava 2011).

Površina, posejana z oljno ogrščico, je v jeseni 2016 znašala 4.189 hektarov njivskih površin, kar je skoraj za petino (za 18,7 %) več kot jeseni 2015 ter za 50 % več kot v za setev te industrijske poljščine neugodni jeseni 2014 (SURS 2016). Jeseni 2020 je bilo v Sloveniji z ozimno oljno ogrščico posejanih 3.841 hektarov njiv, kar je za 2,3 % več kot v jeseni 2019 (SURS 2020), a mnogo manj kot v letih 2007–2014, ko je bilo te oljnice na slovenskih njivah največ. Letina oljne ogrščice v letu 2020 je bila z 2,6 t/ha mnogo slabša od lanske (12 %), saj je ostala na ravni zadnjega petletnega obdobja (2015–2019). Kljub nekoliko večji površini so zaradi slabše letine pridelali približno 8,5 tisoč ton oljne ogrščice, kar je približno desetina manj kot v predhodnem letu in za 12 % več v primerjavi z zadnjim petletnim povprečjem (Kmetijski inštitut Slovenije 2020).

2.2.2 Postopek pridobivanja olja in stranski proizvodi

Pridobivanje olja iz oljne ogrščice poteka tako, da semena najprej očistimo vseh nečistoč, kot so žetveni ostanki in prah. Nato gre skozi mlin, v katerem se seme zdrobi (Jeroch 2005). S postopkom ekstrakcije s topilom ločimo olje od ogrščične moke; vključuje čiščenje, predpripravo in luščenje semen in njihovo kuhanje ter stiskanje semen, da bi mehansko izločili olje (Nnewkirk 2009). Da bi pridobili bolj tekoče olje, maso zberemo in segrejemo v vročih kotlih. Tako se lažje in boljše iztisne v stiskalnici (Jeroch 2005). Po mehanskem stiskanju nastane pogača, pri kateri opravimo prav tako ekstrakcijo s topilom, da bi odstranili preostalo olje (Nnewkirk 2009). Stisnjene pogače lahko uporabimo neposredno za krmo živali. Pomanjkljivost tovrstnih pogač je prevelika vsebnost glukozinolatov, zato gredo še za 1–2 uri v ekstraktor, da olje odteče. V toasterju vsebnost glukozinolatov zmanjšajo na dovoljeno raven z vodno paro (Jeroch 2005), nato pa iz moke odstranijo topilo in moko nazadnje še prepražijo (Nnewkirk 2009). Dobljeno surovo olje, preden pride do končnega potrošnika, še rafinirajo (Vuorela 2005).

2.2.3 Sestava proizvodov iz oljne ogrščice

Rastlinska olja so v primerjavi z živalskimi maščobami v prehrani ljudi vse bolj uporabna in zaželena sestavina. Imajo bolj ugodno razmerje maščobnokislinske sestave in ne vsebujejo holesterola (Snowdon in sod. 2007, Pipan, 2013). Olje oljne ogrščice za prehrano ljudi je prečiščeno, zato je svetlorumene barve in nežnega okusa (Piazza in Foglia 2001). Uvrščamo ga med visokokakovostna rastlinska olja, ki so primerna za cvrtje, pripravo solat in za kuhanje. So tudi sestavni del pri izdelavi margarin, majonez, solatnih prelivov in otroške hrane. Lastnosti, ki ga uvrščajo med pomembna rastlinska olja, so vsebnost nasičenih maščobnih kislin (le 6–8 % vseh maščobnih kislin), ugodno razmerje med oleinsko, linolno in linolensko kislino ter ugodno razmerje med maščobnimi kislinami n-6 in n-3 (2:1). Bogato je z rastlinskimi steroli in vsebuje tudi zadostne količine vitamina E (Snowdon in sod. 2007, Pipan 2013).

Z obdelavo semen se delež prostih maščobnih kislin poveča. Pri prvem stiskanju iz mastnih pogač pridobljeno olje vsebuje 18 % olja in 1 % prostih maščobnih kislin. Če nadaljujemo s stiskanjem, kar je zaželeno, dobimo več olja. Tropine s pomočjo cikloheksana ekstrahiramo ter dobimo le še 2,65 % olja in 3 % prostih maščobnih kislin. Take tropine vsebujejo manj olja, so manj podvržene kvarjenju in bolj zdrave za živali (Andoljšek 2007).

Preglednica 1: Sestava olja oljne ogrščice (Tanjšek 1986, Salunkhe 1992).

SESTAVA OLJA OLJNE OGRŠČICE	NASTANEK IN POMEN	VSEBNOST (%)
triacilgliceroli	ester glicerola, v katerem so vse tri hidroksilne skupine zaestrene z maščobno kislino, t. i. nasičene maščobne kisline	95–98
proste maščobne kisline	nastanejo s parcialno hidrolizo, reakcijo pospešijo visoka temperatura, tlak in dodajanje vode, t. i. nenasičene maščobne kisline	2–3
fosfati	soli fosforjeve kisline.	
glikolipidi – gliceridi (monogliceridi, digliceridi)	ena ali dve OH-skupini glicerola se zaestrta s sladkorjem	
minerali in vitamini	vsebnost odvisna od sestave tal.	
barvila	naravna barvila ogrščice so posledica prisotnih lipokromov in pigmentov, predvsem karotenov in klorofilov; prisotna sta predvsem betakaroten (70–75 % karotenov v olju) in feofitin A, ki je produkt klorofila in je najpomembnejši v surovem olju.	
žveplo	žveplo v olju ni zaželeno, saj v njem ocvrta hrana dobi neprijeten okus; že v sami rastlini se deaktivirajo encimi, ki povzročajo spajanje žvepla, večino ostalega pa odstranimo z prezračevanjem	
voda	odvisna od kakovosti sušenja semena	< 0,2

2.2.4 Snovna in energijska izraba oljne ogrščice

Funkcionalne in hranilne vrednosti različnih rastlinskih olj so odvisne od narave različnih maščobnih kislin, ki so vgrajene v olje (triacilgliceroli) (Khan in sod. 1985, El-Beltagi 2010).

Oljno ogrščico kot energijsko rastlino lahko izrabimo snovno in energijsko (Romih in sod. 2010). Uporabljamo jo za različne namene. Najpogosteje jo omenjajo v proizvodnji olja za človeško prehrano, v kemični industriji kot vir obnovljive energije, kot okolju prijazno mazivo za stroje ter beljakovinsko in energijsko krmo za živali (pogače in tropine), pašo za čebele ter posevek za podor in zeleno krmo (Čeh 2009).

Na onesnaženih območjih jo uporabljamo kot remediacijsko sredstvo pri prečiščevanju tal s težkimi kovinami. Eden od ekonomsko najbolj donosnih ukrepov remediacije je pozelenitev onesnaženih območjih, s čimer polepšamo izgled pokrajine, izboljšamo kakovost življenja ljudi in ponovno vzpostavimo pogoje za gojenje kmetijskih rastlin za prehrano živali (Romih in sod. 2010).

V kmetijstvu je znana v poljedelskem kolobarjenju zaradi posrednih učinkov na rodovitnost tal (Ačko Kocjan 1999). Poleg njene uporabe v pridelavi olj in biodizla jo lahko koristno uporabimo že prej kot podorino za t. i. zeleno gnojenje. S podoranjem oljne ogrščice omogočimo, da zemlja pridobi potrebno organsko snov, s katero posredno izboljšamo strukturo tal, aktivnost mikroorganizmov ter zračni in vodni režim tal (Kos in sod. 2003, Romih in sod. 2010).



Slika 3: Snovna in energijska izraba oljne ogrščice (*Brassica napus* L.var. *napus*) (prirejeno in dopolnjeno po Godeša T. 2010).

Slika 3 prikazuje snovno in energijsko izrabo oljne ogrščice in njenih stranskih produktov. Pridobimo jih pri obdelavi sestavnih delov oljne ogrščice, kot so seme in slama. Podatke smo pridobili v letu 2010 in prikazujejo njeno količinsko izrabo na hektar površine. Najbolj izkoriščen stranski produkt oljne ogrščice je slama. Na hektar površine pridobimo kar 4 tone slame. Uporabljamo jo kot podorino, za proizvodnjo bioplina, kot ogrejevalni produkt in za električno energijo. Sledi obdelava semen (3 t/ha), iz katerih s hladnim stiskanjem pridobimo stranske produkte, ogrščično olje (1 t/ha) in koncentriran beljakovinski ostanek semena, t. i. ogrščično pogačo (2 t/ha), ki v postopku ekstrakcije tropin z organskim topilom postane odličen dodatek za krmo živali, olje pa v človeški prehrani kot jedilno olje, v gospodarstvu pa kot tehnično olje in kot gorivo za biodizel. Kot medonosna rastlina je v času cvetenja oljne ogrščice z ekonomskega vidika pomembna tudi pri pridobivanju medu (Ačko Kocjan 2000, Čeh 2009).

V slovenskih oljarnah se v zadnjih letih mehanizacija za stiskanje olja precej nadgradila in modernizirala. Uporabljajo predvsem stiskalnice, ki ne zahtevajo posebnega nadzora nad strojem in opravljajo kontinuirano hladno stiskanje semen oljnic. Popolnoma očiščeno olje pridobimo z dodatnim kontinuiranim prefiltriranjem v posebnem rezervoarju. Kot stranski produkt stiskanja vzporedno nastaja tudi oljna pogača oziroma tropine. Še večje količine olja pridobimo z dodatnim stiskanjem pogač.

Večji izkoristek stiskanja olja iz semen oljne ogrščice dosežejo s pregrevanjem semen v zalogovniku pri temperaturi 15–20 °C, ki sprejme dnevno približno 300 kg semen. Izkoristek dvofaznega stiskanja je 36–40 %. Olje, pridobljeno z dvojnim stiskanjem, lahko vsebuje več ali manj mulj, ki se kontinuirano ločuje v separatorju. Pridobljeno olje se ponovno vrne v dvostopenjsko stiskalnico, iz katere nadaljuje pot v težnostni ločevalnik – težnostni filter, kjer se v treh prekatih fini mulj odsede iz olja. Z gravitacijsko silo se trdni delci v olju počasi spuščajo proti dnu sedimentacijske posode. Skozi niz več med seboj povezanih posod, se olje pretaka in postaja vse bolj čisto. Preko črpalke olje nadaljuje pot v ploščni tlačni fini filter, kjer se še enkrat dobro prefiltrira. Pridobljeno olje je primerno za skladiščenje oziroma za končno uporabo.

V drugi fazi stiskanja nastane oljna pogača brez olja, ki jo toplotno obdelamo v 5 m dolgi tunelski peči (transporter s tunelskim ogrevanjem pogače). Tako pogačo lahko uporabimo kot visokovredno živinsko krmo.

Za pridobitev kakovostnih končnih produktov iz semen oljne ogrščice moramo upoštevati več dejavnikov. V postopku stiskanja semen je zelo pomembna vlažnost semena, ki mora biti 6–9 %. Večja vlažnost onemogoča kakovostno stiskanje. Poleg vlažnosti je pomembna tudi temperatura semena. Najboljše rezultate pri stiskanju dosežemo pri ustreznih

temperaturi semena na vhodu v stiskalnico, ki je približno 20 °C (Poje in sod. 2011).

2.3 Vpliv gojenja oljne ogrščice na okolje

Po letih neuporabe se je oljna ogrščica (*Brassica napus* L. var. *napus*) ponovno intenzivno vrnila na evropske in slovenske njive. Poleg tega je pomembna ekološka rastlina, ki posredno in neposredno vpliva na okolje in na organizme.

Območje gojenja glavne oljnice v EU se je med letoma 2003 in 2018 povečalo za 66 %, in sicer s 4,1 milijona ha na 6,8 milijona ha. Glavne države proizvajalke oljne ogrščice so Francija, Nemčija in Poljska. V zadnjih letih potrošniki zahtevajo spoštovanje strožjih standardov glede gojenja oljne ogrščice, njenega vpliva na okolje (podnebne spremembe/krčenje gozdov) in vrste proizvodnje (na podlagi ekološke ali gensko nespremenjene krme, regionalne dobavne verige) ter strožjih standardov v smislu dobrobiti živali (EU 2018).

Oljna ogrščica je rastlina, ki se odlično vključuje v kolobar za ali pred stročnicami, strnimi žiti in krmnimi rastlinami. Njeno sejanje na isto njivo ni priporočljivo prej kot na tri do štiri leta, saj lahko privede do številnih bolezni, škodljivcev ali enostranske zapleveljenosti posevka ogrščice (Ačko Kocjan 2015). Kot križnica je velika porabnica bora (B) in žvepla (S) v tleh, zato je priporočljivo osnovno gnojenje (hlevski gnoj in gnojevka). Poleg gnoja lahko uporabimo briketirana organska gnojila, ki so rastlinskega izvora in ne vsebujejo semen plevelov ali povzročiteljev okužb, vsebujejo pa velik delež organske snovi ter oživijo talno floro in favno (Agroruše 2020).

Znana je kot poljščina, ki razvije zelo gost in razvejan koreninski sistem. Po spravilu zrnja ostanki korenin v njivskih tleh in zaorana slama postanejo dober vir organske mase. V sodelovanju s talno mikrofavno spreminjajo ostanke korenin v trajno obliko organske snovi, ki v tleh trajno dvignejo in spremenijo rodovitnost in strukturo tal ter povečajo njihovo prepustnost za vodo in zrak (Oljna ogrščica 2020).

Uporabljamo jo tudi kot podorino za zeleno gnojenje. Zeleno gnojenje ima pozitivne učinke na okolje. S tem poskrbimo, da so tla vedno pokrita in zaščitena, izpiranje hranil v globlje plasti pa je manjše. Zmanjša se tudi tveganje onesnaženja voda, hkrati pa se izboljšajo mikrobiološka aktivnost, struktura in zračnost tal. V humusnih tleh se voda bistveno bolje veže na talne agregatne delce in je zato rastlinam bolj dostopna. Poleg tega se v takih tleh se zelo povečajo volumen koreninskega sistema, površina koreninskih laskov in moč črpanja vode in hranil v rastlino. Rastline so tako bolj odporne na bolezni in škodljivce. Manjša sta tudi nevarnost erozije ter negativni vpliv dežja in vetra, tudi za 50–

90 %. Zeleni podor zmanjšuje tudi prisotnost agresivnih plevelov in povečuje biotsko pestrost rastlin v okolju ter je zatočišče za številne koristne organizme. Velika vsebnost glukozinolatov v tleh zaradi žveplove spojine delujejo razkužilno, saj razkužijo tla v globino (Kmetijski zavod 2020).

Negativna plat gojenja oljne ogrščice je povečano zatiranje plevela, kar povzroči manj hrane za različne poljske organizme ter manj cvetja za oprasovalce in koristne vrste (Hayes in sod. 2004, Devos in sod. 2004, Schütte in sod. 2004, Senior and Dale 2002, Bohan in sod. 2005, Owen 1999, Firbank in sod. 2003a, Krebs in sod. 1999). Zmanjšana količina herbicidov, zmanjšano število škropiv in uporaba samo enega širokopasovnega herbicida manj neugodno vpliva na poljske organizme in zbijanje tal (Schütte in sod. 2004, Senior and Dale 2002, Madsen in sod. 1999, Canola Council of Canada 2001, Benbrook 2004, Champion in sod. 2003).

Oljna ogrščica je v osnovi samoprašna rastlinska vrsta. Zaradi oblike socvetja ima možnost samooprašitve. Delež tujeprašnosti se spreminja glede na posamezni genotip in specifične vplive okolja (Friedt in Snowdon 2009). Variabilna stopnja tujeprašnosti privede do znotrajvrstne oprašitve. Oprasujejo jo predvsem čebele in veter. Intraspecifična križanja potekajo znotraj pridelovalnih površin med posevki pri samosevni rastlinah, med podivjanimi populacijami pa zunaj pridelovalnih površin. Zaradi neustreznih agrotehničnih ukrepov je prisotnost teh rastlin v pridelovalnem prostoru privedla do izgube semena. S svojimi specifičnimi lastnostmi, okroglo obliko, gladko površino in majhnostjo se med žetvijo, pri dodelavi, predelavi, transportu ter skladiščenju seme lahko nenadzorovano izgublja (Pipan in sod. 2011, Pipan 2013).

Poleg tega so možna tudi interspecifična križanja. Nenadzorovana medvrstna opraševanja oljne ogrščice se lahko križajo z njenimi spolno kompatibilnimi sorodniki iz družine križnic. V naravi se te rastline pojavljajo predvsem kot plevelne rastline na obrobjih njiv, lahko pa tudi kot divjerastoče na neobdelanih območjih (Treu in Emberlin 2000, Pipan 2013).

V zimskem času je na poljih v bližini gozdov oljna ogrščica pomemben vir hrane za zajce, srne in divjad. Na zorenje ogrščice nas opozarjajo tudi ptiči, ki tik pred žetvijo iz luskov kljuvajo semena (Ačko Kocjan 2015).

2.3.1 Oprasovanje in vpliv na okolje

V različnih raziskavah so se podrobneje posvetili raziskovanju različnih načinov opraševanja pri oljni ogrščici in njihovem vplivu na okolje.

Creswell in sod. (2004) so v svoji raziskavi posvetili pozornost aerodinamiki oprasha vetra v zoofilnih cvetovih oljne ogrščice, vprašanju, v kolikšni meri je cvetna arhitektura specializirana za mehanizme oprasha, in dilemi, ali so zoofilni cvetovi zaradi svoje arhitekture specializirani za določeno vrsto oprasha (Waser in sod. 1996, Vazquez in Aizen 2003). Analizirali so aerodinamiko cvetnega prahu v zraku v bližini cveta oljne ogrščice ter določili razmerje med njeno cvetlično arhitekturo in učinkovitostjo oprasha vetra (Creswell in sod. 2004).

Oljna ogrščica sprosti < 10 % pelodnih zrn v agregatih treh zrn ali manj, medtem ko preostali ostanejo v večjih grudah. Proizvodnja lepljivega cvetnega prahu je prilagoditev na razprševanje živali in ne vetra (Whitehead 1983). Njeni cvetovi so arhitekturno neprilagojeni za navzkrižno oprasha z vetrom in zaradi radialne razporeditve okoli stebela lahko kadar koli ujame prihajajoči cvetni prah le polovica cvetov, medtem ko so preostali neučinkovito obrnjeni proti vetru. Radialna razporeditev cvetov je bolj primerna za privabljanje oprasha iz katere koli smeri. Pri oljni ogrščici je majhnost stigme temeljna omejitev za oprasha z vetrom. Stigma je receptor s premerom 1 mm za pelodna zrna, ki so v zračnem toku med seboj oddaljena približno 100 mm, tudi pri največjih koncentracijah neposredno nad njivami (Creswell in sod. 2004). Ugotovili so, da njen cvet ne koncentrira cvetnega prahu v zraku nad stigmo in da je neučinkovit zbiralec cvetnega prahu v zraku, ko je obrnjen proti vetru. Zrna cvetnega prahu se povežejo v kepe in niso primerni za razprševanje po zraku (Creswell in sod. 2004). Kljub neprilagojenosti cvetja vetrnemu načinu oprasha to ne pomeni, da tak način ni izvedljiv (Goodwillie 1999). Oprasha z vetrom je pri tej vrsti izvedljivo, a dokazov, da oljna ogrščica kaže prilagoditve za oprasha z vetrom v katerem koli od obravnavanih lastnosti (cvetna struktura, povezanost cvetnega prahu, struktura socvetja), ni. Sklepali so, da je arhitektura vrste brezkompromisno zoofilna (Creswell in sod. 2004).

Drugi razlog ocene oprasha z vetrom na videz zoofilnega cvetja je pridobitev znanja za pomoč pri ocenah tveganja za razširjanje gensko spremenjenih genov (Creswell in sod. 2004). Oljna ogrščica kot gospodarsko pomemben pridelek vzbuja zaskrbljenost zaradi razširjenosti gensko spremenjenih (GS) sort (Ingram 2000, Ellstrand 2001, Perry 2002, Snow 2002). Oprasha z vetrom obstaja, ker veliko rastlin na sodobnih obdelovalnih poljih v zraku proizvede suspenzije cvetnega prahu, ki se približujejo 1000 zrn m^{-3} (McCartney & Lacey 1991). Navzkrižno oprasha se zgodi med polji, oddaljenimi do 3 km (Rieger in sod. 2002), razpršenost genov na velike razdalje pa pogosto pripisujejo oprashu z vetrom (Timmons in sod. 1996, Wilkinson in sod. 2003). Pri oljni ogrščici navajajo, da veter ni pomemben za razpršitev genov na velike razdalje, kot so tisti iz gensko spremenjenih sort. Namesto tega so oprasha žuželke (Creswell in sod. 2004). Mednje uvrščamo socialne čebele (čmrlji in čebele), ki so glavni oprasha oljne

ogrščice. Do paše lahko letijo več kilometrov (Von Frisch 1950, Cresswell in sod. 2000) in imajo potencial za prenos genskega pretoka med poljščinami na poljih (Cresswell in sod. 2002).

Tudi Timmons in sod. (1995) so v raziskavi preučevali gibanje zrn cvetnega prahu v zraku s polj oljne ogrščice in ocenili njihovo sposobnost pretoka genov na velike razdalje.

Crawley in sod. (1993) so opredelili tri zaskrbljujoča področja, povezana s sproščanjem gensko spremenjenih pridelkov. Gensko spremenjene rastline lahko same postanejo plevel in/ali napadejo naravne habitate, sproščanje gensko spremenjenih pridelkov pa lahko omogoči spolni prenos vstavljenih genov na sosednje komercialne ali naravne populacije, katerih potomci lahko nato postanejo bolj pleveli ali invazivni, gensko spremenjene rastline pa so lahko neposredna nevarnost za zdravje ljudi ali živali.

Takšni modificirani pridelki vsebujejo transgene za odpornost na herbicide (Miki in sod. 1990, Mariani in sod. 1991), povečan metionin v semenski moki (Altenbach 1992), gene za moško sterilnost (Mariani in sod. 1990, 1992), toleranco na težke kovine (Misra in Gedamu 1989) in odpornost na antibiotike (Arnoldo in sod. 1992).

Ugotovili so, da se je gostota cvetnega prahu v zraku z razdaljo zmanjševala in je bila pri 360 m 10 % tiste na robu polja. Koncentracijo cvetnega prahu 0–22 pelodnih zrn na m³ so opazili 1,5 km od izvirskih polj. Cvetni prah oljne ogrščice ima večjo sposobnost razprševanja na velike razdalje. Povprečna ločenost polj oljne repice na območju raziskovanja je bila 410 m, povprečna razdalja od »divjih« populacij do komercialnih polj pa 700 m. Šestdeset odstotkov »divjih« populacij z več kot 10 rastlinami se je prenašalo z vetrom znotraj 2 km polja oljne ogrščice. Ti podatki kažejo, da se transgeni verjetno preseljujejo na gensko nespremenjena polja ali »divje« populacije (Timmons in sod. 1995).

Genetski pretok se lahko pojavi s polja gensko spremenjene oljne ogrščice do divjih sorodnikov, »divjih« populacij ali drugih (gensko nespremenjenih) polj pridelka. Dokazano je, da se oljna ogrščica hibridizira s številnimi vrstami, vključno z divjimi populacijami *B. rapa* (Kapteijns 1993), *B. adpressa* (Lefol in sod. 1991), *Raphanus raphanistrum* (Chevre in sod. 1992) in *Hirschfeldia incana* (Darmency in sod. 1992). Kljub temu sta Raybould in Gray (1993) navedla, da oljna ogrščica kaže majhno verjetnost pretoka genov med pridelkom in njenimi divjimi sorodniki.

Obseg pretoka genov med gensko spremenjenimi in gensko nespremenjenimi polji ali med nekdanjimi in »divjimi« populacijami je v veliki meri odvisen od obsega emisij in razpršitve cvetnega prahu ter od razdalje med izvornimi in prejemnimi populacijami (Timmons in sod. 1995).

Stanley in sod. (2013) so raziskovali žuželke, ki obiskujejo cvetje in so jih našli na komercialnih poljih oljne ogrščice, ter ocenjevali pomen različnih skupin oprasovalcev. Raziskali so, kolikšen je prispevek oprasovanja žuželk k pridelavi semen oljne ogrščice, in ocenili ekonomsko vrednost oprasovanja žuželk na pridelek. Oljno ogrščico obiskujejo najrazličnejše vrste žuželk, vključno s čebelami, čmrlji, samotnimi čebelami in muhami. Glede na število pelodnih zrn, ki jih nosijo, stopnjo obiska na cvet in njihovo relativno številčnost na polju so bili najboljši oprasovalci medonosne čebele, muharice *Eristalis* in čmrlji (zlasti *Bombus sensu stricto* in *B. lapidarius*) (Stanley in sod. 2013).

Raznolikost oprasovalcev lahko izboljša donos nekaterih pridelkov (Hoehn 2008, Kremen 2002) in je lahko pomembna iz več razlogov (Klein 2008): en oprasovalec lahko deluje kot »zavarovalna policica« za drugega in ga, če eden odkloni, lahko zavzame drug (»ekološka odvečnost«); večja raznolikost lahko podaljša obdobje aktivnosti oprasovalcev ali zagotovi, da se storitve oprasovanja izvajajo v različnih vremenskih razmerah (saj se lahko različne vrste oprasovalcev razlikujejo po svoji fenologiji in aktivnosti z vremenom; Willmer in sod. 1994). Večja raznolikost oprasovalcev tudi pomeni, da lahko posamezniki medsebojno vplivajo na povečanje svoje učinkovitosti (Greenleaf in Kremen 2006, Brittain in sod. 2013).

Nekateri oprasovalci so lahko bolj občutljivi na vremenske razmere kot drugi, kar lahko vpliva na njihov pomen oprasovalcev. Čmrlji se lahko prehranjujejo dlje časa in v slabšem vremenu kot čebele (Willmer in sod. 1994).

Izsledki drugih raziskav kažejo, da so lahko divji oprasovalci pomembni za stabilnost pridelave poljščin, tudi če so prisotne čebele (Garibaldi in sod. 2011). Čeprav med cvetjem oljne ogrščice niso bili prevladujoči obiskovalci (Jauker in Wolters 2008, Jauker in sod. 2012), lahko povečana številčnost teh taksonov na kmetijskih območjih potencialno s kmetijsko-okoljskimi shemami (Haenke in sod. 2009) postanejo bolj učinkoviti oprasovalci pridelka ali lahko pomagajo povečati biokontrolo škodljivcev na posevkih, saj so njihove ličinke lahko učinkoviti plenilci (Leroy in sod. 2010).

Vendar je večina skupin oprasovalcev na robovih polj kot v središču polj (Stanley in Stout 2013, Power in Stout 2011), sestava oprasovalcev pa se lahko spreminja tudi z naraščajočo oddaljenostjo od pridelka. Indeksi pomembnosti oprasovalcev se zato lahko razlikujejo na

bolj osrednjih območjih poljščin (Carvalho in sod. 2012, Garibaldi in sod. 2011).

Ugotovili so, da rastline, pri katerih so bili opraševalci izključeni, ustvarijo manj semen (in s tem manjšo težo semen na lusk in povprečno maso semen) kot tiste, ki so odprte za opraševanje. To so prikazali tudi v drugih državah (Sabbahi in sod. 2005, Bommarco in sod. 2012) in lahko vodi do razlik v vsebnosti olja, vsebnosti klorofila in tržne vrednosti (Bommarco in sod. 2012). Opraševanje lahko na primer poveča kakovost semen v smislu večje vsebnosti olja in nižje vsebnosti klorofila (Bommarco in sod. 2012), lahko pa tudi skrajša obdobje cvetenja pridelka (Sabbahi in sod. 2006).

Vendar so opraševalci in storitve opraševanja, ki jih zagotavljajo, ogroženi zaradi številnih pritiskov, ki jih vodi predvsem okrepitev kmetijstva (Kremen in sod. 2002, Klein in sod. 2007). V številnih skupinah opraševalcev tako beležijo upad (Biesmeijer in sod. 2006), zato je lahko opraševanje pridelkov ogroženo, ima ekonomske posledice in je grožnja za svetovno proizvodnjo hrane (Gallai in sod. 2009).

Na večje potrebe po storitvah v prihodnosti je za ohranitev sedanjih storitev opraševanja nujno ohraniti obstoječe opraševalce na kmetijskih zemljiščih in njihovo številčnost ter povečati njihovo raznolikost (Stanley in sod. 2013).

Bailey in sod. (2014) so se v raziskavi usmerili na pomembnost gozdnih robov, ki je delni življenjski prostor potencialnih opraševalcev oljne ogrščice. Ugotovili so, da je gozdni rob pomembno gnezdišče in/ali območje parjenja za opraševalce. Zato je ob upoštevanju deleža gozdnih robov okoli polja lahko posreden način merjenja neposrednih dejavnikov, kot so razpoložljivost hrane in prisotnost primernih gnezdišč in/ali mest parjenja v pokrajini (Roulston in Goodell 2011).

Dokazali so, da divji opraševalci pospešujejo opraševanje vrste oljne ogrščice in s tem povečujejo njeno tržno vrednost. V številnih raziskavah so že pokazali, da so storitve opraševanja večje pri pridelkih, ki mejijo na gozdne površine ali druge polnaravne habitate kot pri pridelkih, ki so popolnoma obkroženi z drugimi pridelki. Ugotovili so, da na številčnost čebel in bogastvo taksonov negativno vpliva oddaljenost od roba gozda. Gozdni robovi dejansko delujejo kot rezervar potencialnih opraševalcev in neposredno koristijo kmetijskim pridelkom, saj zagotavljajo mesta za gnezdenje ali parjenje pomembnih zgodnjih pomladnih opraševalcev (Bailey 2014).

Z razdaljo od polja oljne ogrščice se zmanjšuje tudi število opraševalcev in povečuje povprečna velikost čebel. Brosi in sod. (2008) so predlagali vzorčno konfiguracijo kmetije, ki bi povečala donos pridelka. Kmetije z največjim donosom so bile tiste z razmeroma

majhno površino rezervarjev oprasovalcev, kar kaže na strategijo ohranjanja majhnih parcel habitata za zagotavljanje storitev, razpršenih po delovnih krajinah. Vendar majhni rezervarji oprasovalcev sami po sebi verjetno niso popolni habitati. Zasnova kmetije je odvisna od obsega dometa čebeljega leta in sposobnosti čebel, da se razpršijo po matriki pridelkov (Bommarco in sod. 2010). Ti rezultati torej kažejo, da so robovi gozdov pomemben vir oprasovalcev, ker čebelam ponujajo različne »delne habitate« (Westrich 1996).

Kmetije drevesa pogosto obravnavajo negativno, ker s pridelki tekmujejo za sončno svetlobo, hranila ali vodo (Huth 2010). Gozdni robovi ali drevesa lahko nudijo več dodatnih ekosistemskih storitev, kot so zatiranje škodljivcev (Bianchi in sod. 2005, Stutz in sod. 2011), izboljšanje kakovosti tal in regulacija vode (Tsonkova in sod. 2012), ter preprečijo vetrolome (Brandle in sod. 2004).

Zaradi različnih vzrokov medonosne čebele (Van Engelsdorp 2009) in populacije divjih čebel upadajo (Potts in sod. 2010). Izgube v večini pripisujejo uporabi agrokemikalij, povečanju monokultur, izgubi polnaravnih habitatov in krčenju gozdov (Steffan-Dewenter 2002, Steffan Dewenter in Westphal 2008, Brittain in Potts 2011).

Oblikovalci politike in upravljavci zemljišč bi morali upoštevati gozdne robove in spodbujati njihovo zaščito v kmetijski matriki za promocijo divjih čebel in njihovih oprasovalnih služb. Izgubo pridelka, ki jo povzročajo gozdni robovi, moramo zato pretehtati glede na morebitne pridobljene ekološke koristi (Bailey 2014).

2.4 Vpliv zavržkov oljne ogrščice na okolje in njihov pomen

2.4.1 Zavržki pri pridelavi in predelavi hrane

Po podatkih FAO (*angl.* Food and Agriculture Organization of the United Nations) v svetu vsako leto med procesom predeleve zavržejo približno tretjino vse pridelane hrane, tj. 1,3 milijarde ton hrane. Zavržena in neuporabljena hrana vpliva na okolje in ima tudi ekonomske posledice. S sociološkega vidika, tako v državah v razvoju kot v industrializiranih državah, so kmetijski pridelki pomemben vir energije in pomenijo prehransko varnost (Beretta in sod. 2013, Bandelj in sod. 2014).

Združeni narodi napovedujejo, da se bo število prebivalstva do leta 2050 povečalo na 9 milijard. Da bi lahko zagotovili zadostne količine hrane za rastoče prebivalstvo, bi bilo obseg kmetijske pridelave morali podvojiti. Kmetijstvo kot pomembna gospodarska panoga in dejavnost s posebnim družbenim pomenom si v sodelovanju z živilsko industrijo s pomočjo različnih tehnologij prizadeva zagotoviti zadostne količine varne hrane in s tem

zadovoljevanje ene osnovnih človekovih potreb (Bandelj in sod. 2014).

V industrializiranih državah potrošniki zavržejo 222 milijonov ton hrane, kar je toliko, kot znaša neto proizvodnja hrane v Subsaharski Afriki (230 milijonov ton) (Gustavsson in sod. 2011, Bandelj in sod. 2014).

Leta 2015 je tudi Slovenija sprejela Agendo 2030 za trajnostni razvoj, s katero se je zavezala, da odpravi lakoto, zagotovi prehransko varnost in boljšo prehrano ter spodbudi trajnostno kmetijstvo. Število lačnih v svetu je leta 2015 s 777 milijonov prebivalcev povečalo na 815 milijonov prebivalcev do leta 2016. Leta 2016 je OZN oznanila, da je bilo podhranjenih kar 11 % svetovnega prebivalstva – torej vsak deveti zemljan. Na drugi strani pa se soočamo z zavrženo hrano, ki postaja pereč problem (Žitnik in sod. 2016, SURS 2015).

Do izgub hrane pride tudi v različnih fazah pridelave in manipulacije pridelka. Vzroki za izgube so največkrat odvisne od geografske lege pridelovalnega območja, letnega časa, vremenskih in podnebnih vplivov, vrste kmetijskega pridelka ter sistemov in tehnologij pridelovanja in metod spravila pridelkov (Beretta in sod. 2013, Bandelj in sod. 2014).

V državah v razvoju se ob spravilu pridelka in procesih pridelave izgubi več kot 40 % hrane. Enak delež izgube se v industrializiranih državah pojavlja na ravni potrošnje (Gustavsson in sod. 2011, Bandelj in sod. 2014).

Zavržke hrane dobimo na različnih ravneh prehranske preskrbovalne verige. In sicer z začetkom pri samem pridelovalcu pa vse do končne potrošnje v domačih gospodinjstvih. Raziskave so pokazale, da letno količina zavržkov zelenjave in sadja znaša približno tri milijone ton (WRAP 2011), kar je v povprečju 46-odstotni delež izgube in najvišji delež vseh izgub (Bandelj in sod. 2014).

V industrializiranih območjih zaradi predpisanih standardov kakovosti in relativno visokih zahtev potrošnikov pridelke sortirajo. Največ sadja in zelenjave zavržejo po sami pridelavi, od tega kar 15–30 % kupljenega sadja in zelenjave. Države v razvoju se z zavržki soočajo največ pri kmetijski pridelavi, pa tudi po spravilu pridelka in pri distribuciji. Najverjetneje je to posledica propada hitro pokvarljivega sadja in zelenjave v vročem in vlažnem podnebnju ter sezonske narave sadja in zelenjave (Gustavsson in sod. 2011, Bandelj in sod. 2014).

V Sloveniji so leta 2015 odvrgli 151.000 ton hrane, od tega kar 55.000 ton užitne hrane, ki naj ne bi končala v smeteh, ampak bi jo lahko koristno uporabili. Povprečna in približna količina zavržene užitne hrane je bila leta 2015 27 kilogramov na prebivalca Slovenije (Žitnik in Vidic 2016).

2.4.2 Zavržki in vpliv na okolje

Odpadki in zavržki hrane globalno pomembno vplivajo na okolje (UNEP 2014, Bandelj in sod. 2014).

V okolju se v variabilnih pogojih organske snovi različno razgrajujejo. Približno 90 % razkrojenih organskih ogljikovih spojin se pretvori v odlagališčni plin, manjše količine biološko razgrajenih snovi pa preidejo v izcedne vode. Ob primernih temperaturah in vlažnosti se organske snovi razgrajujejo relativno hitro. Emisije plina izhajajo že 20–30 let. Na odlagališčih v izcednih vodah so biološko težko razgradljive snovi in dušikove spojine, ki so lahko prisotne celo 100–200 let. Odlagališča so tretji največji izvor antropogenega metana v svetu, saj se že iz tone nepredelanih odpadkov sprosti 120–180 m³ deponijskega plina, ki je pretežno sestavljen iz 60 % metana (CH₄) in 40 % ogljikovega dioksida (CO₂).

Problematika izcednih vod, ki uhajajo z odlagališča, je predvsem lokalni problem, medtem ko so emisije deponijskega plina lokalni, regionalni in globalni problem (Odpadki 2014, Bandelj in sod. 2014).

Po raziskavah organizacije WRAP (2011) je količina emisij toplogrednih plinov iz zavrženega sadja ali zelenjave 0,12–0,40 kg CO₂ na kilogram sadja oz. zelenjave. Največ emisij nastane pri avokadu (0,403 kg), sledita krompir (0,351 kg) in paradižnik (0,249 kg). Najmanjše vrednosti emisij toplogrednih plinov pa so pri brokoliju (0,121 kg).

Sodobna tehnologija, dobro razvita infrastruktura, razpoložljivi strokovnjaki s področja kmetijstva in ugodni okoljski pogoji znatno znižajo zgube kmetijskih pridelkov v industrializiranih državah (Bandelj in sod. 2014). Odpadki lahko vsebujejo ponovno uporabne snovi, ki se pretvorijo v tržno zanimive izdelke z visoko vrednostjo. Ponovno uporabno surovino lahko uporabimo, odvisno od razpoložljive tehnologije, bodisi kot surovino za sekundarne postopke, kot obratovni material ali kot sestavino novih izdelkov (Bandelj in sod. 2014).

Oljna ogrščica je v zadnjih letih ena najpomembnejših oljnic tudi v Sloveniji, saj sta se povečali njena zasajevanje in predelava. Na podlagi podatkov glede snovne in energijske izrabe oljne ogrščice iz leta 2010 (Slika 3) smo leta 2020 v Sloveniji na 3841 hektarih njiv, pridelali 15.364 ton slame, 11.523 ton semen oljne ogrščice, 3.841 ton olja in 7.682 ton oljne pogače oziroma oljnih tropin. Prav tropine so pomemben vir in sestavni del prehrane živali. Kot beljakovinsko bogata surovina je zadnja leta pozornost usmerjena tudi v analize in možnost izkoriščanja za vključitev v človeško prehrano, saj za človeško zdravje nikakor ni škodljiva. Glede na podatke je zelo pomembna ponovna uporaba zavržkov in stranskih proizvodov pri predelavi oljne ogrščice, saj je zelo razširjena rastlina.

2.5 Možnost ponovne uporabe zavržkov in stranskih proizvodov pri predelavi oljne ogrščice

Oljna ogrščica je bogat vir olj z nizko vsebnostjo nasičenih maščobnih kislin. Pri proizvodnji olja je njen stranski proizvod ogrščična moka (Frag in sod. 2012). Ogrščično seme vsebuje približno 60 % tropin in 40 % olja, zato je pomembno, da izkoristimo seme v celoti in ne le za olje (Jeroc 2005). Večina rezerv semen (olja in beljakovin) je znotraj celic. Celice imajo dvojno celično steno, ki je sestavljena iz celuloze, hemiceluloze, lignina in pektina. Z analizo razmerja med holocelulozo, celulozo in ligninom (Tofanica in sod. 2011) so ugotovili, da so lastnosti stebelnih ogrščičnih vlaken podobne tistim iz trdega in nelesnegalesa, ki se uporabljajo v proizvodnji celuloze in papirja. Semena z nepomembno količino eruka kisline in glukozinolatov vsebujejo 8,1 % vlage, 18,7 % beljakovin, 45,2 % olja, 20,3 % surovih vlaken in 3,7 % pepela (Laoretani in sod. 2014). Ogrščično olje lahko blagodejno vpliva na zdravje ljudi zaradi ugodne vsebnosti maščobnih kislin, saj vsebuje veliko mononenasičenih maščobnih kislin (MUFA) in polinenasičenih maščobnih kislin (PUFA) ter nizko vsebnost nasičenih maščobnih kislin (SFA). Hladnostiskano olje ogrščice ima izrazito aromo in specifičen okus s pridihom oreščkov ter na splošno boljše ohranjene naravne lastnosti v primerjavi z drugimi vrstami olj, ki so toplotno obdelana (Azadmard-Damirchi in sod. 2010, Chew 2020). Kisline v semenu so oleinska kislina, linolna kislina, γ -linolenska kislina in palmitinska kislina ter so prevladujoče maščobne kisline v hladno stiskanem repičnem olju. Oleinska kislina je povezana z nizko pojavnostjo koronarnih boleznih in raka debelega črevesa, dojke in kože (Chew 2020).

Olje, ki ga pridobivamo iz sort oljne ogrščice z nizko vsebnostjo eruka kisline ($< 2\%$) in glukozinolatov ($< 30\text{ mmol/g}$), imenujemo tudi »canola« olje (Chew 2020). Pridobivati so ga začeli v Kanadi leta 1942 (Snowdon in sod. 2007). Uporaba »canola« olja mora izpolnjevati predpisane standarde, ki zahtevajo stabilnost pri cvrtju hrane. Zato mora biti v olju 70 % oleinske kisline, linolenske kisline pa manj kot 3,5 % (Gororo 2007, Piazza in Foglia 2001, Pipan 2013).

Stranski proizvod, ogrščična moka, vsebuje veliko beljakovin, njena aminokislinska sestava pa ima veliko hranilno vrednost. Bogata je z vlakninami in minerali, kot so kalcij, magnezij, cink in baker. Vsebuje tudi številne vitamine in druge bioaktivne spojine (Vuorela 2005). Oljna pogača je odličen krmni dodatek, ki ga v mešalnicah močnih krmil obogatijo še z minerali in vitamini. Tropine, stisnjene v brikete, imajo glede na kakovost in shranjevanje prednost (Ačko Kocjan 1999). Toplotno obdelane in z vodo dobro sprane tropine morajo vsebovati do 36 % beljakovin in do 10 % maščob. V preteklosti je bil delež tropin omejen na 10–15 %, danes pa je pri novejših sortah lahko večji.

Tropine ponekod tudi sežgejo in pri pridelavi tal pridobljeni pepel potrosijo za naslednjo poljščino (Ačko Kocjan 1999). Po stiskanju v ogrščični moki ostanejo bioaktivne spojine, med njimi fenolne spojine (Frag in sod. 2012). Sinapinska kislina je najpogostejša fenolna

spojina, ki je prisotna v hladno stisnjenem ogrščičnem olju, najdemo pa tudi njene derivate, ki v ogrščičnem semenu prispevajo 80 % fenolnih spojin (Kraljic in sod. 2013). Najpogostejši je sinapin, holinski ester sinapinske kisline. Poleg sinapinske kisline so prisotne še ferulična, *o*-kumarinska, *p*-kumarinska, kofeinska, 4-hidroksibenzojska, vanilinska, gentisična, protokatehinska, siringična in klorogenska ter salicilna in cimetova kislina, ki jih prav tako uvrščamo med hidroksicimetne kisline (Vuorela 2005). Med zavržke predelave oljne ogrščice uvrščamo tudi liste in stebela, ki so prav tako užitni in bogati s fenolnimi spojinami (Farag in sod. 2012).

Pri pridelavi je produktivnost biomase ozimne oljne ogrščice odvisna od stopnje rasti in trajanja vegetacijskega obdobja, indeks letine pa je delež suhe snovi semen v nadzemni biomasi (Diepenbrock 2000). Skupni biološki pridelek ozimne ogrščice je 10–20 ton suhe krme na hektar. Tako semena predstavljajo 28–50 % celotne biomase, preostali ostanki pridelkov, zlasti pecelj, pa 50–72 % celotne biomase (Rathke in sod. 2006). Stebla oljne ogrščice zaradi težav pri nabiranju pecljev po obiranju semen redko nabiramo kot alternativno gorivo za ogrevanje. Zato stebela v glavnem uporabljamo v kolobarju za povečanje vsebnosti humusa v tleh (Bernesson in sod. 2004) ter za vgradnjo, imobilizacijo in pretvorbo razpoložljivega dušika in žvepla v stabilne organske oblike v tleh, revnih s hranili (Singh in sod. 2006).

Oljna ogrščica je vsestranska rastlina, ki jo uporabljamo v različnih gospodarskih panogah. Zanimanje za njeno uporabnost v prehrani ljudi se v zadnjih letih povečuje in se kaže predvsem v analizah njenih sestavnih delov in snovi, ki jih vsebuje. Glede na podatke o hranilnih snoveh, ki jih vsebujejo sestavni deli rastline kot njeni stranski proizvodi, ima oljna ogrščica velik potencial za razvoj in uporabo v farmaceutskih izdelkih in prehrambeni industriji.

2.6 Sekundarni metaboliti

Sekundarni metaboliti so spojine, ki niso neposredno vpletene v rast, razvoj in razmnoževanje rastlin, a sodelujejo pri procesih zaščite rastline ob različnih stresih (biotskih in abiotskih) (Ali in sod. 2010). Rastline varujejo pred rastlinojedci, patogeni in boleznimi ali privabljajo oprasovalce in raznašalce semen. Nimajo pa neposredne vloge v procesih fotosinteze in celičnega dihanja ter pri prenosu snovi in asimilaciji hranil, sintezi ogljikovih hidratov, beljakovin in maščob (Teiz in Zeiger 2002, Thaler in Bajc 2013).

V rastlinah nastajajo poleg snovi, ki se tvorijo v primarnih biosintetskih poteh, in služijo za rast in razvoj rastlin. Nimajo primarne vloge, saj gre za snovi, ki se sintetizirajo sekundarno in niso nujne za njihovo delovanje. Za razliko od primarnih metabolitov se nekateri sekundarni metaboliti, ki so razširjeni po vsem rastlinskem svetu, pojavljajo le pri specifičnih rastlinskih vrstah.

Prisotnost sekundarnih metabolitov v rastlinah je odziv na neugodne okoljske razmere, lahko pa se proizvajajo le v določenih razvojnih fazah (Veberič 2010).

Zanimivi so predvsem zaradi uporabnosti za ljudi, saj jih uporabljamo kot barvila, vlakna, lepila, olja, arome, začimbe in prehranske dodatke. Zaradi njihovega delovanja jih v različnih raziskavah obravnavajo kot potencialne vire za nova naravna zdravila, antibiotike in pesticide (Demain 1999, Crozier in sod. 2006, Wink 2010), saj lahko delujejo protibakterijsko, protivirusno, protivnetno in antioksidativno. Njihovo protimikrobno delovanje pa lahko selektivno vpliva na mikroorganizme (Demain 1999).

Razpoložljivost rastlinskih metabolitov je odvisna od rastnih dejavnikov, ravnanja po obiranju, časa in načina skladiščenja ter tudi od načina predelave. Med bioaktivne snovi uvrščamo vitamine, minerale, vlaknine in različne sekundarne metabolite, ki jih proizvajajo rastline in se ob zaužitju vključijo v življenjsko pomembne metabolne procese ali opravljajo varovalno funkcijo (D'Archivio in sod. 2010).

Med rastline, ki vsebujejo sekundarne metabolite, uvrščamo tudi oljno ogrščico. Najbolj prepoznavni in zadnja leta raziskani sekundarni metaboliti v oljni ogrščici so glukozinolati, ki imajo poleg obrambne funkcije pri sami rastlini tudi pomembno vlogo v prehrani ljudi in neposredno vplivajo na njihovo zdravje.

2.6.1 Glukozinolati

Glukozinolati (β -tioglukozidni-N-hidroksisulfati) so pomembne spojine, ki jih uvrščamo v skupino sekundarnih metabolitov (Fahey in sod. 2001, Vig in sod. 2009). Prisotni so v kar šestnajstih družinah dvokaličnic, najbolj značilne rastlinske vrste pa uvrščamo v družino križnic (Brassicaceae) (Fahey in sod. 2001).

Vrtnine iz družine Brassicaceae, v kateri so prisotni glukozinolati, so brstični ohrovt (*Brassica oleracea* var. *gemmifera* L.), listnati ohrovt (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.), zelje (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.), cvetača (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), redkev (*Raphanus sativus* L.), kolerabica (*Brassica oleracea* var. *gongylodes* L.), rukvica (*Eruca sativa* Mill.) in še nekatere druge. Glukozinolati se pojavljajo tudi v nekaterih poljščinah, kot so repa (*Brassicarapa* L.), oljna ogrščica (*Brassica napus* L.) in gorčica (*Brassica juncea* L. Czern) (Verkerk in sod. 2008, Halkier in Gershenzon 2006).

Do leta 2001 so identificirali približno 120 glukozinolatov. V nadaljnjih letih se je s številnimi raziskavami poznavanje glukozinolatov okrepilo in povzročilo povečanje števila identificiranih struktur. Danes poznamo približno 200 glukozinolatov (Bennet in sod. 2004, Bellostas in sod. 2007, Clarke 2010), le nekaj pa jih je prisotnih v užitnih rastlinah (Tian in sod. 2005).

Na spremembe v količini glukozinolatov in drugih komponent v rastlinah vplivajo številni dejavniki, ki njihovo vsebnost občutno spreminjajo že med pridelavo. Mednje uvrščamo biotsko raznovrstnost, agrotehniške ukrepe in klimatske pogoje. V procesu predelave, ki ga začnemo s skladiščenjem ter nadaljujemo s procesiranjem in pakiranjem, lahko s fizikalnimi parametri, kot so vlaga, temperatura, sestava atmosfere, barierne lastnosti embalažnih materialov ter tudi čas skladiščenja in obdelave, pomembno vplivamo na vsebnost in sestavo bioaktivnih snovi (Dekker in sod. 2000, Štrukelj 2012).

Glukozinolati se kot žveplo vsebujoči glukozidi nahajajo v celotni rastlini. Vsebnost žvepla v rastlini se kaže tudi v rumeni obarvanosti cvetov. Glukozinolati v rastlini so njena trpkogrenka sestavina. Žveplo pa deluje tudi protimikrobno, kar je uporabno tudi v smislu ekološkega varstva rastlin pred patogenimi organizmi (Piazza in Foglia 2001, Pipan 2013).

2.6.2 Kemijska struktura glukozinolatov

Glukozinolati so naravni rastlinski proizvodi, ki vsebujejo dušik in žveplo, in so vse bolj pomembni kot predhodniki arome, sredstva za preprečevanje raka in zaščitna sredstva za pridelke (Graser in sod. 2000, El-Beltagi 2010).

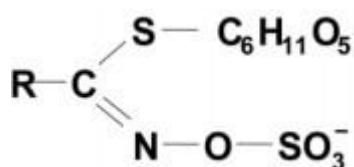
Prva znana glukozinolata, sinigrin in glukozalbinbin, so osamili iz semen črno-bele gorčice leta 1830, kar je začetek raziskav te skupine naravnih organskih spojin. Na podlagi elementarne analize in analize produktov njihove razgradnje je Gadamer leta 1897 za glukozinolate predlagal splošno strukturno formulo. Čeprav je netočna, pa je predlagana struktura vztrajala do leta 1956, ko sta Ettliger in Lundeen predlagala novo, bolj natančno strukturo in opisala prvo sintezo glukozinolatov (Fahey in sod. 2001).

V osnovi so glukozinolati sestavljeni iz ostanka β -D-glukopiranoze, ki je preko žvepla vezan na (Z)-cis-N-hidroksiaminosulfatni ester (Slika 1). Variabilna stranska veriga (R) lahko izvira iz ene izmed osmih aminokislin in vpliva na heterogeno strukturo (Halkier in Gershenzon 2006) ter opredeljuje biološko aktivnost razgradnih produktov (Verkerk in sod. 2008). Na podlagi variabilne stranske verige (R) lahko glukozinolate razvrstimo v tri skupine: alifatske glukozinolate, ki izhajajo iz alanina, levcina, izolevcina, metionina ali valina; aromatske glukozinolate s prekursorjema fenilalaninom ali tirozinom; in indolne (heterociklične) glukozinolate, ki so derivati triptofana (Halkier in Gershenzon 2006, Jones in sod. 2006). Glukozinolati, ki jih najdemo v naravi, so izključno beta-D-glukopiranozili (Verkerk in Deker 2008, Štrukelj 2012).

Alifatski glukozinolati so večinoma prisotni v rodu *Brassica*. Indoli glukozinolatov so v vrstah rodu *Brassica* v sledovih (Zukalova in Vasak 2002). Indolil glukozinolati so glavni

glukozinolati v vegetativnih delih vrst *Brassica*, a naj bi jih primanjkovalo v semenih (Bergmann 1970, Josefsson 1970). Razlike v količini in vzorcu glukozinolatov v rastlinah *Brassica* pripisujejo genetskimi in okoljskim dejavnikom, vključno s starostjo rastlin, temperaturo, vodnim stresom in vrsto tal (Rosa 1997, El-Beltagi 2010). Najdemo jih v vseh rastlinskih delih, a se njihove količine med organi lahko zelo razlikujejo (Kjaer 1976, Font in sod. 2005, El-Beltagi 2010). Vsebnost glukozinolata v semenu nadzira več genov in je v celici kompleksno uravnavana (Uzunova in sod. 1995, El-Beltagi, 2010).

Zaradi prisotnosti ostankov glukoze in zaradi ionske oblike so glukozinolati hidrofilne in nehlapne spojine (Larsen, 1981).



Slika 4: Osnovna struktura glukozinolatov (Verkek in sod. 2008).

2.6.3 Hidroliza glukozinolatov in mirozinaza

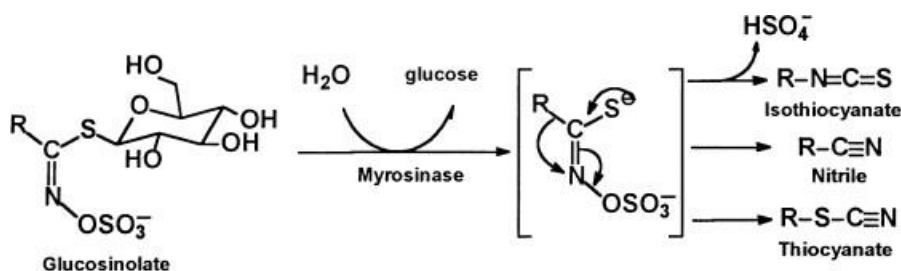
Glukozinolati sami po sebi niso strupeni, a so lahko strupeni njihovi hidrolitični bioaktivni produkti, pridobljeni iz cepitve z mirosinazo (tioglukozid glukohidrolaze; EC 3.2.3.1 (Fenewick 1983).

Sistem glukozinolati-mirozinaza v rastlinah deluje kot obrambni sistem in ima pomembno funkcijo. Razgradni produkti so lahko toksični za različne organizme, kot so patogene bakterije in glive pa tudi žuželke in rastlinojede živali (Travers-Martin in sod. 2008).

Pri poškodbi rastlinskega tkiva (rezanje ali žvečenje) se poškoduje struktura celic, kar omogoči sprostitvev encima mirozinaze in s tem hidrolizo glukozinolatov (Andréasson in sod. 2001, Travers-Martin in sod. 2008). Mirozinaza je endogeni encim, ki ga uvrščamo med tioglukozidaze oz. β -tioglukozid glukohidrolaze, in sodeluje pri razgradnji glukozinolatov. Mirozinaza je v rastlinskih celicah ločena od glukozinolatov. Navadno se nahaja v t. i. mirozinskih celicah, medtem ko so glukozinolati skoncentrirani v S-celicah (Andréasson in sod. 2001). Te celice najdemo v semenu, parenhimskem tkivu, povrhnjici in v zaščitnih celicah (Lüthy 1984).

Hidroliza glukozinolatov poteka v dveh fazah (Slika 5). V prvi fazi se odcepi D-glukoza in nastanejo aglikoni (tiohidroksimat-O-sulfonati) kot primarni reakcijski produkti. V drugi fazi se nestabilni aglikoni razgradijo na sulfat in številne sekundarne reakcijske produkte,

kot so izotiocianati, nitrili, tiocianati, epitionitrili ali oksazolidin-2-tioni (Travers-Martin in sod. 2008).



Slika 5: Encimska razgradnja glukozinolatov (Fahey in sod. 2001).

Verkerk in sod. (2008) poročajo, da na potek razgradnje vplivajo številni dejavniki. Eden izmed njih je pH raztopine vzorca med hidrolizo, ki vpliva na vrsto razgradnih produktov. Pri pH 5–7 se običajno tvorijo izotiocianati, pri nekoliko nižji vrednosti pH pa se tvorijo nitrili.

Glukozinolati se s pomočjo hidrolize, encimske ali kemične, a tudi pod vplivom povišane temperature (toplotne) razgradijo na svoje produkte. Kemična (ne-encimska) razgradnja glukozinolatov povzroči različne produkte, odvisno od pogojev. Tako se pri povišani temperaturi in v zelo kislih pogojih glukozinolati razgradijo na karboksilno kislino in glukozo, v alkalnih pogojih pa nastanejo aminokisliline in tioglukoza.

Zaradi pomena glukozinolatov v človeški prehrani, zlasti glede njihove protirakave aktivnosti, prispevkov, povezanih s preučevanjem toplotne razgradnje glukozinolatov, ni veliko. MacLeod in sod. (1981) so preučevali toplotno razgradnjo glukozinolatov pri različnih temperaturah plinskih kromatografskih kolon in injektorjev. Njihova raziskava je ena prvih, v kateri so pokazali, da tudi izotiocianati nastajajo ne-encimsko. Ugotovili so namreč, da se pri temperaturi 200 °C prop-2-en-1-il glukozinolat razgradi, da dobimo 44 % nitrila in 32 % izotiocianata, medtem ko se benzil glukozinolat razgradi, da dobimo 63 % nitrila in 13 % izotiocianata (Bones & Rositer 2006).

2.6.4 Izotiocianati

Glukozinolati pogosto imenujemo predhodniki izotiocianatov in tiocianatov, spojin, ki vsebujejo žveplo, ter nitrilov in indolov, spojin, ki v svoji strukturi nimajo žvepla. Izotiocianati in indoli so najbolj znane biološko aktivne spojine, ki nastanejo z encimsko hidrolizo glukozinolatov. Pri pH 7 pride do Lössenove prerazporeditve in kot glavni produkti razgradnje nastanejo reaktivni, hlapni in vonjni izotiocianati (Agerbirk in Olsen 2012).

Izotiocianati na splošno veljajo za potencilano najbolj bioaktivne produkte hidrolize glukozinolata (Morra 2002). Sodelujejo z beljakovinami (Kawakishi in Kaneko 1985) in so torej splošni biocidi, ki zavirajo najrazličnejše rastlinske škodljivce (Brown in Morra 1997, Rosa in sod. 1997).

Največje možno sproščanje izotiocianatov ob razpadu tkiva lahko ocenimo, ko poznamo identitete in koncentracije glukozinolotov v rastlinskih tkivih skupaj z ustrezno količino biomase. Relativna toksičnost različnih produktov hidrolize glukozinolata je pomembna tudi za povečanje verjetnosti učinkovitega zatiranja škodljivcev (Sarwar in sod. 1998, Borek in sod. 1998).

Imajo zaščitne aktivnosti proti številnim vrstam raka. V raziskavah *in vitro* in *in vivo* so ugotovili, da vplivajo na številne stopnje razvoja raka, vključno z indukcijo encimov za razstrupljanje (encimi faze II) in zaviranjem aktivacijskih encimov (encimi faze I) (Zhang in Talalay 1994, Hecht 2000, Fahey in sod. 2002, Anilakumar in sod. 2006).

So hlapne spojine z močnim vonjem in aromo. Propenil izotiocianati so na primer odgovorni za značilno aromo gorčice in hrena, zato so jih včasih imenovali tudi »gorčično olje«. V človeški presnovi se izotiocianati z encimom glutation-S-transferazo vežejo na glutation in se nato presnovijo v merkaptansko kislino. Količina izotiocianatov, ki nastanejo iz glukozinolotov, je različna in je delno odvisna od priprave in obdelave rastline. Izotiocianati so zaradi toksičnosti možni kandidati za uporabo kot pesticidi (Brown in Morra 2000–2002).

2.6.5 Pozitiven pomen glukozinolotov za zdravje ljudi

V zadnjih letih se raziskovanju učinkov glukozinolotov in njihovih razgradnih produktov namenja precej pozornosti, saj imajo poleg obrambne funkcije pri rastlinah lahko tudi velik pomen za človekovo zdravje (Vig in sod. 2009, Tian in sod. 2005)

Glukozinolati (beta-tioglukozidni-N-hidroksisulfati) uvrščamo v skupino sekundarnih rastlinskih metabolitov in glede na kemijsko zgradbo sodijo med tioglikozide (Fahey in sod. 2001). Tveganja za zdravje in koristi za zdravje, povezani z uživanjem glukozinolotov in sestavin, pridobljenih iz glukozinolotov, so opredeljene s strukturo, vključno s stereokemijo prehranskih spojin in njihovimi koncentracijami v prehrani. Tako nedotaknjeni glukozinolati kot njihovi presnovki lahko dajejo različne vrste bioloških učinkov (Andersen in sod. 2010). Koristi za zdravje, kot je manjše tveganje degenerativnih bolezni, v veliki meri pripisujejo rastlinski vsebnosti sekundarnih snovi, kot so glukozinolati (Forte in sod. 2008, Van Horn in sod. 2008, Virgili in Marino 2008).

Med različnimi podskupinami glukozinolatov, pridobljenimi s hrano, so najmočnejšo negativno povezavo s tveganjem za raka izkazali alifatski glukozinolati. Glukozinolati in njihovi razgradni produkti razgradnje vplivajo na zmanjšanje tveganja več vrst raka, kot so rak debelega črevesa (Van Poppel in sod. 1999, Seow in sod. 2002), rak mehurja (Bhattacharya in sod. 2010), pljučni rak (London in sod. 2000) in morda tudi rak dojk (Fowke in sod. 2003) in rak prostate (Cohen in sod. 2000, Kirsh in sod. 2007).

Skoraj 30–40 % primerov rakavih bolezni je neposredno povezanih z nepravilno prehrano in z njo povezanimi dejavniki (Czapski 2009). Poročajo, da lahko prehranski glukozinolati inhibirajo pretvorbo endogenih ali eksogenih snovi v rakotvorne molekule, s čimer preprečijo začetek karcinogeneze (Vig in sod. 2009).

Oljna ogrščica je ena najbolj pomembnih rastlinskih prehranskih komponent na severni polobli, a kemijske sestave njenih sekundarnih metabolitov in kemopreventivnih snovi še niso dobro raziskali. Veliko raziskav s področja glukozinolatov za modelni organizem uporablja brokoli. Brokoli vsebuje v relativno veliki koncentraciji glukorafanin. Ta po hidrolizi razpade v izotiocianat sulforafan, ki naj bi imel najmočnejše protirakotvorne lastnosti (Verkerk in Dekerr 2008, Štrukelj 2012).

Sposobnost rakotvornih snovi, da izvajajo svoje učinke, je v veliki meri odvisna od interakcije med aktivirajočimi encimi in deaktivirajočimi encimi. Morebitno neravnovesje povzroči spremembo biološkega učinka. Številne spojine, ki se naravno pojavljajo v človeški prehrani, lahko ublažijo biotransformacijo več rakotvornih snovi, kar se odrazi v manjši pojavnosti tumorjev (Wright 1980, Kumar in sod. 2012).

Presnovni produkti glukozinolatov, izotiocianati, nakazujejo delovanje na številnih točkah v razvoju tumorja tako, da s svojo biološko transformacijo v telesu ljudi blokirajo presnovo rakotvornih spojin (Tawfiq in sod. 1995, Fahey in sod. 1997, Smith in sod. 1990, Conaway in sod. 1996, Kumar in sod. 2012). Tako glukozinolati kot izotiocianati ter nitrili lahko delujejo na metabolizirajoče encime, celični metabolizem in apoptozo.

Kemopreventivna aktivnost izotiocianata bi bila lahko posledica njegove močne inhibicije različnih encimov, kot so glutation S-transferaze (GST) pri ljudeh (Seow in drugi 2002, Ambrosone in drugi 2004). Ugotovili so tudi, da je še en potencialni učinek blokiranja raka, opisan tako za glukozinolate, obdelane z inkontraktiranimi kot s tioglukozidnimi glukohidrolazami, ocenjen z indukcijo aktivnosti GST, odvisen od narave stranske verige matičnega glukozinolata (Tawfiq in sod 1995). Verjetno lahko prav s kombinacijo teh odzivov pojasnimo kemopreventivne značilnosti družine križnic in sklepamo, da kombinacija različnih križnic zelenjave morda zagotavlja optimalno zaščito (Smith in Yang 2000, Lund 2003).

S postopkom kuhanja zelenjave uničimo večino naravno dostopne mirosinaze, a se v telesu glukozinolati še vedno lahko pretvorijo v izotiocianate, a veliko manj učinkovito, kot če je na voljo mirosinaza. Pretvorba se lahko zgodi v debelem črevesu, kjer avtohtone bakterije hidrolizirajo glukozinolate (Getachum in Hung 1999, Johanson 2002).

Izsledki raziskav kažejo, da lahko ista vrsta in koncentracija glukozinolata različno vplivata na različne vrste organizmov (spodbujanje ali odvrčanje hranjenja). Pri žvečenju rastlinskega tkiva se sprosti encim mirozinaza, ki sodeluje pri razgradnji glukozinolatov na izotiocianate, tiocianate in nitrile, ki lahko na organizem delujejo toksično (Bohinc in sod. 2012).

Imajo tudi antioksidativno delovanje. Vitamin C, vitamin E in karotenoidi so neposredni antioksidanti, saj nevtralizirajo proste radikale, ki lahko škodujejo celicam. Glukozinolati in njihovi hidrolizni produkti so posredni antioksidanti, ker prostih radikalov ne nevtralizirajo neposredno, temveč to storijo z modulacijo ksenobiotskih metabolnih encimov (encimi faze I in faze II) (Holst in Williamson, 2004, Vig in sod. 2009).

Prosti radikali so zelo nestabilni zaradi prisotnosti prostih elektronov. Zato pri oksidaciji lahko pride do poškodb celičnega tkiva (beljakovin, DNK, aminokislin in celičnih membran). Zaradi okvare pomembnih celičnih komponent je večje tveganje različnih bolezni. Glukozinolati so zato pomemben obrambni mehanizem pred škodljivimi učinki prostih radikalov (Vig in sod. 2009).

3 METODE DELA

3.1 Princip metode

Glukozinolati lahko določamo z visokozmogljivo tekočinsko kromatografijo (HPLC), z detekcijo v ultravijoličnem (UV) območju ali z detekcijo s pomočjo masnega sprektrofotometra LC-MS (tekočinska kromatografija – masna spektroskopija) (Ugrinovič 2006, Harris 1996).

Tehnike imajo številne prednosti. Manjše je število korakov priprave vzorcev, ki zagotavljajo višjo vzorčno prepustnost, visoko občutljivost in selektivnost ter omogočajo analizo analitov v zelo nizkih koncentracijah. LC tandemsko masna spektrometrija (LC-MS/MS) je povečala učinkovitost tehnike z izboljšanjem selektivnosti, specifičnosti in natančnosti. Moč te tehnologije je, da poveča specifičnost ciljne identifikacije analitov (Harris 1996).

3.1.1 Kromatografija

Kromatografija je separacijski proces, s katerim najprej ločimo posamezne komponente vzorca in jih nato zaznamo z ustrezno detekcijo. Posamezne komponente se med seboj razlikujejo glede na različne fizikalne in kemijske interakcije s stacionarno in mobilno fazo (Žorž 1991). Doseči skušamo čim boljše ločitev v čim krajšem času z optimizacijo vseh parametrov in komponent kromatografskega sistema (Brodnjak-Vončina 2006).

3.1.1.1 Visokozmogljiva tekočinska kromatografija (HPLC)

Kromatografija je splošen izraz za separacijske tehnike. Temelji na porazdelitvi vzorca med mobilno in stacionarno fazo. Mobilna faza je lahko plin ali tekočina, za stacionarno fazo pa lahko uporabimo trdno snov ali tekočino (Skoog in sod. 1997).

Visokozmogljiva tekočinska kromatografija (HPLC) je najbolj razširjena in uporabljena analitska separacijska tehnika. Razlogi za njeno razširjenost so visoka občutljivost in avtomatiziranost, zmožnost natančne količinske določitve ter, najpomembnejše, da jo uporabljamo v analitiki snovi, ki so bistvenega pomena za industrijo in znanost (Skoog in sod. 1997).

V sodobnih napravah tekočinske kromatografije so črpalke, ki potiskajo z močjo nekaj sto MPa. Ta moč je potrebna za doseganje enakomernega pretoka v območju velikosti 3–10 nm (Skoog in sod. 1998). Ob tako visokih tlakih (približno 400 atmosfer) lahko

uporabljamo mnogo manjšo velikost delcev, ki nam dajejo veliko večjo površino interakcij med stacionarno fazo, in molekul, ki jih določamo. To omogoča boljše ločevanje sestavin mešanice (Clark 2007).

3.1.1.2 Sestavni deli HPLC

Glavni sestavni deli enostavnega HPLC so rezervoarji za mobilno fazo, črpalka, injektor, kromatografska kolona in detektor.

Rezervoarji za mobilno fazo, kjer hranimo mobilno fazo in iz katerih jo med delom črpamo, so najpogosteje primerne steklene posode.

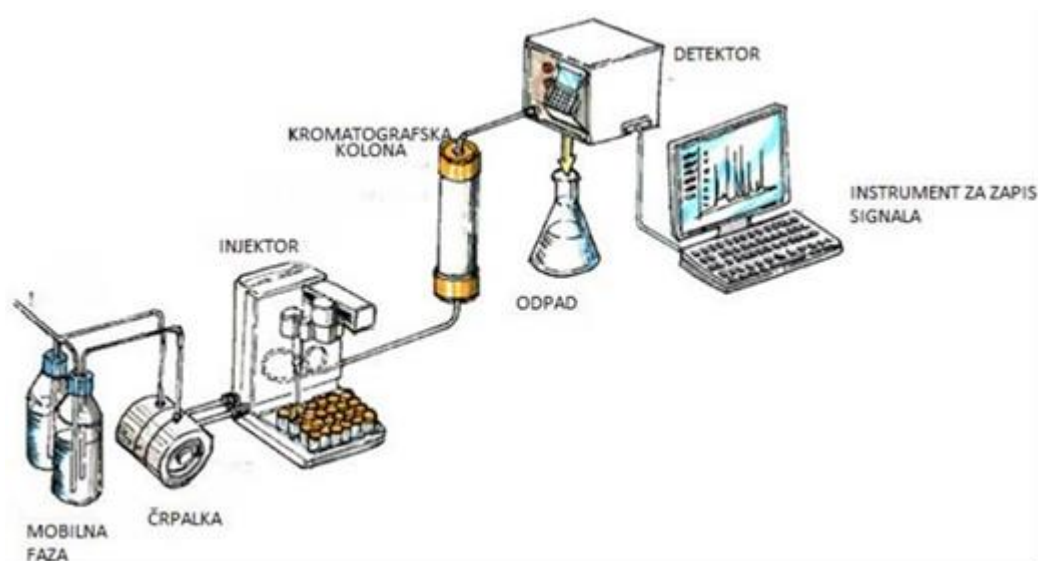
Črpalka mora zagotavljati enakomeren pretok mobilne faze skozi kolono. Od stabilnosti pretoka je odvisna natančnost analize.

Injektor mora omogočiti dobro ponovljivost med posameznimi odmerjanji.

Kromatografska kolona je bistveni del sistema HPLC, saj v njej potekajo najpomembnejši procesi separacije. Separacija na koloni je odvisna od velikosti in oblike polnila ter od učinkovitosti kolone (oblika in dimenzija). Daljša kot je kolona, večji je padec tlaka v sistemu HPLC. Krajše kolone poslabšajo ločljivost.

Detektor je tisti del sistema HPLC, ki »naredi« substance, ločene na koloni »vidno«. Vsi detektorji so osnovani tako, da merijo spremembo neke fizikalne količine, ki jo povzroči prehod substance skozi merilno pretočno celico detektorja. Instrument za zapis signala so računalniki z ustrežno programsko opremo. Omogočajo neskončno možnosti shranjevanja podatkov o pogojih analize, kromatogramov in naknadnih obdelav, do popolne kontrole ne le kvantizacije, temveč celotnega sistema HPLC (Žorž 1991, Brodnjak-Vončina 2006).

Za kemijsko analizo glukozinolatov navadno uporabljamo detektorje, kot je UV/VIS. Detekcija poteka z absorpcijo vidne in ultravijolične svetlobe z detektorjem s serijo diod (*angl.* diode array detector). Z žganjem poliamidne zaščitne plasti kapilare se ustvari zelo majhno detekcijsko okno tako, da lahko merimo UV svetlobo pri prehodu skozi kapilaro. UV pa je najbolj občutljiv pri nizkih valovnih dolžinah (Rouessac in sod. 2013).



Slika 6: Sestava sistema HPCL in njegovi deli.

3.1.2 Masna spektrometrija

Masna spektrometrija je spektroskopska analitska metoda, ki poda osnovne informacije o molekulski masi, kemijski strukturi in elementni sestavi spojin. Uporabljamo jo na številnih področjih naravoslovja ter medicinskih in tehničnih ved. Masni spektrometer sodi med najpomembnejša orodja za kvalitativno in kvantitativno analizo makrokomponent in sledi spojin v enostavnih ali kompleksnih zmesih in materialih (IJS2021).

Temelji na atomski oziroma molekulski masi posameznega vzorca. Z masno spektrometrijo določamo molekulsko formulo molekule, strukturo molekule in tudi njihovo molekulsko maso. MS igra ključno vlogo pri identifikaciji snovi na osnovi analize ionov (Downard 2007, Veber 1993).

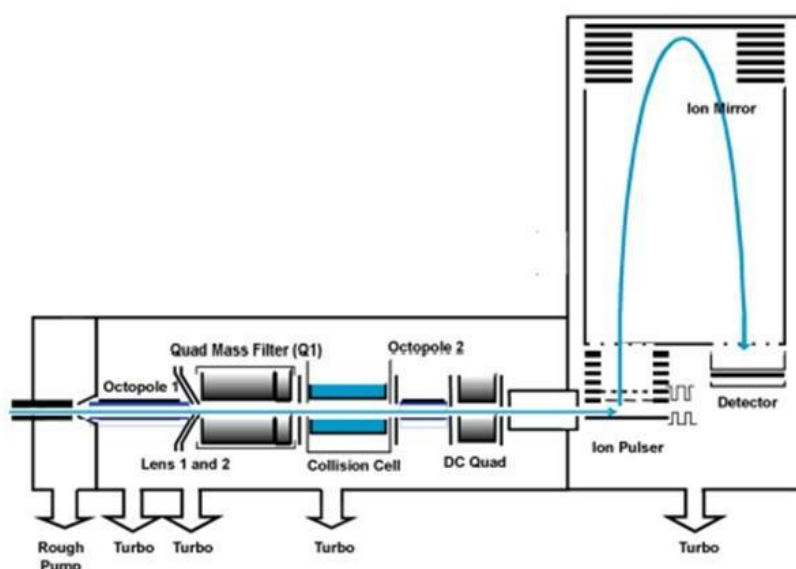
Molekule ioniziramo v ionskem izvoru. Električno polje nastale ione pospeši, s čimer omogoči, da dobimo curek pozitivnih ionov. Naloga analizatorja je ločitev curka pozitivnih ionov v posamezne komponente, ki imajo različne vrednosti m/z . Zaradi razlik v hitrosti se ioni različno odklanjajo. Rezultat je vrsta signalov, ki jih imenujemo masni spekter. S pomočjo signalov lahko sklepamo na strukturne lastnosti molekul (Downard 2007, Veber 1993).

Kot analitski instrumenti imajo velik pomen in uporabnost kombinacije masnih spektrometrov, ki omogočajo tandemsko masno spektrometrijo. Obstaja več tipov tandemske masne spektrometrije. Pri tandemski masni »spektrometriji v času« (qTOF) je masni spektrometer sočasna – trkovna (kolizijska) celica (Bertsch in sod. 1981). Pri tandemski spektrometriji (MS/MS), na primer qTOF, se molekule danega vzorca sprva

ionizirajo in detektirajo kot m/z (dobimo MS1). Ioni z določenim razmerjem m/z nato disociirajo na manjše fragmente, ki jih nato detektiramo (dobimo MS2).

3.1.2.1 Masni analizator na osnovi časa poleta (»time of flight«) ali TOF

Masna spektrometrija na osnovi časa poleta (TOF MS) je metoda masne spektrometrije, pri kateri razmerje med maso in nabojem (m/z) določimo s časom merjenja ionov, ki dosežejo detektor na znani razdalji. Ione pospešimo z električnim poljem znane jakosti. Hitrost je odvisna od razmerja m/z . Težji ioni z enakim nabojem dosegajo nižje hitrosti kot lažji ioni, torej kasneje dosežejo znano razdaljo. Na podlagi razmerja m/z in znanih eksperimentalnih parametrov lahko identificiramo ion (Stephens 1946).



Slika 7: Celotna shema Agilent 6520 Q-TOF LC/MS, vključno z ionskim izvorom ESI, optiko za prenos ionov, optiko za prenos ionoc, optiko za oblikovanje žarka, ionskim pulzorjem, cevjo za letenje in detektorjem.

3.2 Reagenti in material

3.2.1 Kemikalije

- svinčev acetat (Honeywell)
- barijev acetat (Honeywell)
- voda LC-MS čistosti (Honeywell)
- metanol HPLC čistosti (Honeywell)
- mobilna faza: metanol LC-MS čistost (Honeywell), voda LC-MS čistost (Honeywell), metanojska kislina LC-MS čistost (Honeywell), acetonitril LC-MS čistosti (Honeywell)
- sinigrin hidrat (Sigma Aldrich)
- mešanica za kalibracijo masnega spektrometra (Agilent Technologies)

3.2.2 Laboratorijski material

- merilne bučke (1 mL, 100 nmL)
- pipete, nastavki za pipete
- centrifugirke, (50 mL, 20 mL)
- 1,5 mL viala za HPLC
- lij
- filtrirni papir Whatman No.4
- 0,2 nm najlonski filtri

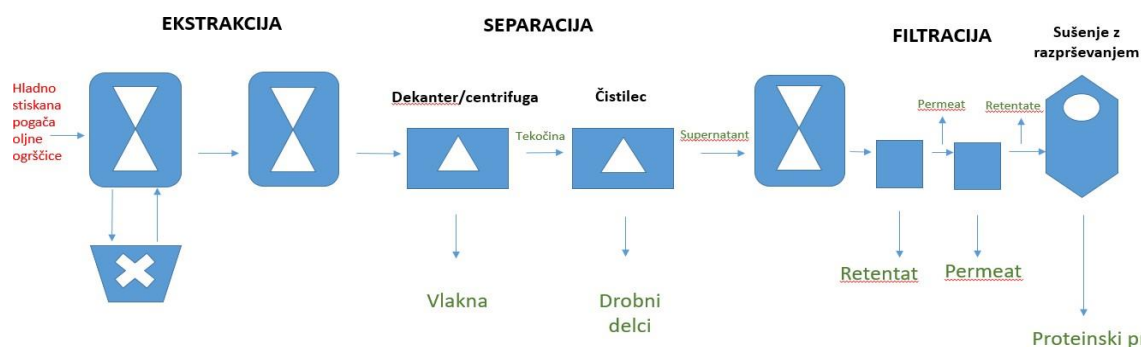
3.2.3 Laboratorijska oprema

- tehtnica (Mettler Toledo)
- rotavapor (Buchi)
- centrifuga (Universal 320 R, Hettich)
- vodna kopel s termostatom (Elmasonic S 30 H)
- visokozmogljivi tekočinski kromatograf (HPLC), model 1260 Infinity II (Agilent Technologies)
- kolona (Poroshell 120, EC-C18, 2,1 x 150 mm, 2,7 μ m, Agilent Technologies)
- masni analizator na osnovi časa poleta »time of flight« (QTOF), model 6350 (Agilent Technologies) z ionizacijo z elektrosprem (ESI)

3.3 Priprava vzorcev

Vse testirane vzorce smo pridobili iz pilotske raziskovalne biorafinerije Danskega Tehnološkega Inštituta (DTI), Taastrup Danska. Vsi vzorci so bili pripravljani po enakih postopkih, in sicer: (1) ekstrakcija, (2) ločevanje (dekantiranje, centrifugiranje in nato čiščenje), (3) filtriranje ter (4) sušenje z razprševanjem (Slika

7). S takimi postopki so v okviru projekta ProEnrich dobili beljakovinske pripravke, ki bi jih lahko uporabili v živilski in farmacevtski industriji. Med ekstrakcijo v različnih razmerjih vodne in trdne faze je bila moka oljne ogrščice podvržena različnim pogojem. Za ločevanje vlaken smo uporabili centrifugo in nato čistilnik za odstranjevanje drobnih delcev. Za pridobivanje koncentrirane raztopine, ki vsebuje beljakovine ogrščične moke, smo uporabili filter z membrano velikosti 100–10 kDa. Nato smo beljakovinee posušili z razprševanjem in nastal je fin prah.



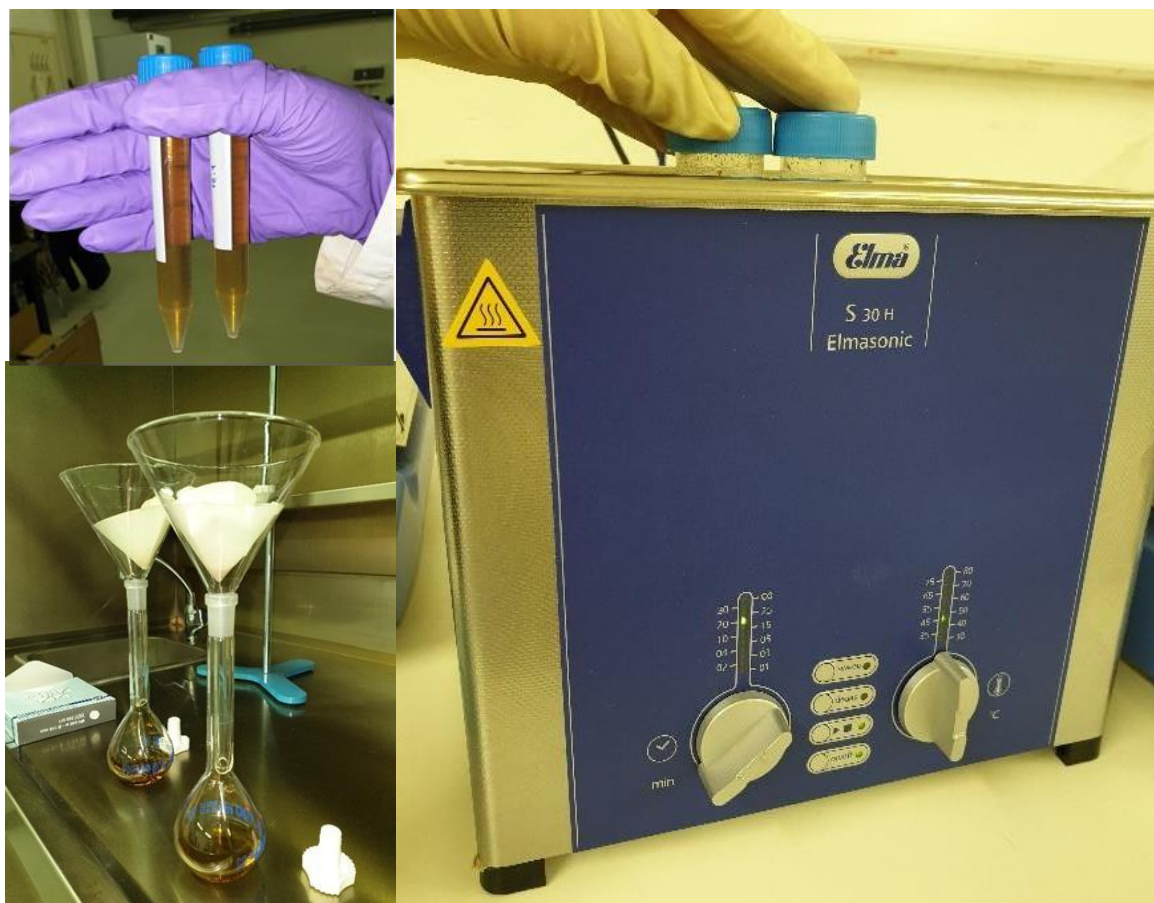
Slika 8: Diagram poteka postopka delovanja različnih enot za predelavo oljne ogrščice/pogače v projektu ProEnrich.

Vzorci hladnostiskane moke oljne ogrščice smo vzorčili: A) pred predelavo (vzorec HS1), B) med predelavo (vzorci HS2-HS9) in C) HSP po predelavi v beljakovinski fin prah. Vzorčili smo tudi končne beljakovinske produkte vročestiskane moke oljne ogrščice, ki smo jo obdelali z encimi. Vzorčenje je potekalo jeseni 2019 (HS1-HS9), spomladi 2020 (vzorci HSP1, HSP2, HSP3) in jeseni 2020 (vzorci VSP1, VSP2).

3.4 Analizni postopki

3.4.1 Ekstrakcija glukozinolatov

Ekstrakcije glukozinolatov iz testiranih vzorcev moke oljne ogrščice in končnih izdelkov smo izvedli v skladu s Tolra in sod. (2000). Glukozinolati smo ekstrahirali iz 100 mg suhega vzorca z vodno raztopino s 70 % metanola v vreli vodni kopeli 5 minut. Po hlajenju in centrifugiranju (4000 vrt/min, 5 minut) smo beljakovine supernatanta oborili z 200 μ L 0,1 M raztopine svinčevega acetata, in 200 μ L 0,1 M raztopine barijevega acetata. Po centrifugiranju (4000 vrt/min, 5 minut) smo supernatante filtrirali skozi papir. Nato smo vzorce rotavapirali pri 35 $^{\circ}$ C, s čimer smo odstranili metanol in vodo. Dobljeni usedlinin smo dodali 1 ml vode in vzorce filtrirali, preden smo jih analizirali HPLC-ESI-qTOF.



Slika 9: Vzorci (zgoraj), merilne bučke, lij in filtrirni papir (spodaj), vodna kopel s termostato (desno).

3.4.2 Določanje glukozinolatov

Pred analizo smo najprej pripravili mobilno fazo, in sicer: 1) A) voda HPLC-MS čistosti z 0,1 metanojske kisline in 2) B) acetonitril/metanol (50:50). V sistem smo namestili reverzno fazno analitsko kolono (2,1 x 150 mm, 2,7 μm). Temperaturo na koloni smo nastavili na 50 °C. Nato smo zagnali HPLC, pretok naravnali na 0,5 mL/min in preverili, ali je tlak na koloni ustrezen, torej, da v sistemu ni mehurčkov. Pred prvim injiciranjem smo kolono tri ure spirali z mobilno fazo. Pred analizo smo s standardno mešanico preverili ustreznost kalibracije QTOF.

V sistem HPLC smo namestili vzorce in zagnali program, ki je vključeval sledeči elucijski gradient: 3,0 % gradienta mobilne faze B, ki se je dvignil na 100 % B v 15 minutah, nato pa je tak gradient ostal 5 minut. Injicirali smo 1 μL vzorca.

Masni analizator smo nastavili v načinu negativne ionizacije, kot so poročali Mellon in sod. (2002), ter izvedli MS skeniranje v območju 40–1000 m/z v naslednjih pogojih, običajnih za takšno analizo: kapilarna napetost 3,5 kV; temperatura plina 250 °C; sušilni

plin 8 L/min; temperatura ovojnih plinov 375 °C; pretok ovojnega plina 11 L/min. V izbranih pogojih instrument zagotavlja podatke s točnostjo do ± 3 ppm.

Za ciljne analize smo uporabili avtomatizirano MS/MS pridobivanje podatkov, ki je dopuščalo detekcijo ionov s signali nad 2000, čas cikla 0,5 s, z maksimalno selekcijo treh perkurzijski ionov na cikel, z uporabo treh fiksnih energij trkov: 10, 20 in 40 eV.



Slika 10: HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS.

3.4.2.1 Obdelava podatkov

Podatke smo obdelali s programsko opremo Qualitative Workflow B.08.00 in Qualitative Navigator B.080.00.

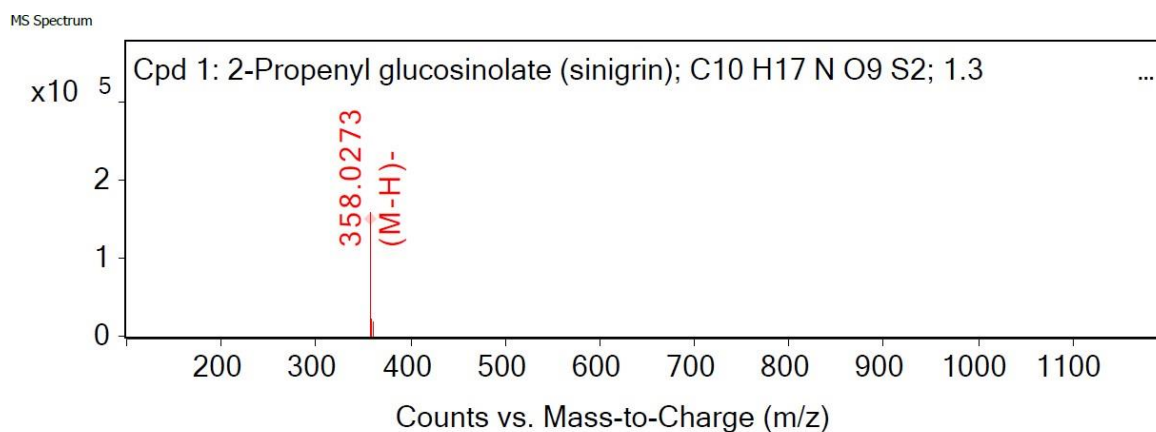
Vsi glukozinolati vsebujejo vsaj dva atoma žvepla in zato lahko pri MS/MS analizi dajejo značilne fragmente. To so $[\text{SO}_4]^-$ in $[\text{SO}_4\text{H}]^-$ ioni, torej m/z 96 in 97. Mellon in sod. (2002) so ugotovili, da razmerja signalov teh dveh ionov v preučevanih glukozinolatih nista konstantna, a se gibljejo v območjih 1:2 do 1:4. To je v veliko pomoč pri potrditvi glukozinolatov, ko jih določimo na osnovi mase oziroma razmerja m/z (Mellon in sod. 2002).

Identifikacija glukozinolatov je potekala po navedeni literaturi. Na osnovi podatkov preglednic o fragmentaciji ionov smo preverjali prisotnost značilnih fragmentiranih ionov 96 in 97 ter njihovo razmerje. Glukozinolati smo identificirali z ustreznim razmerjem (1:2 in 1:4) med obema ionoma.

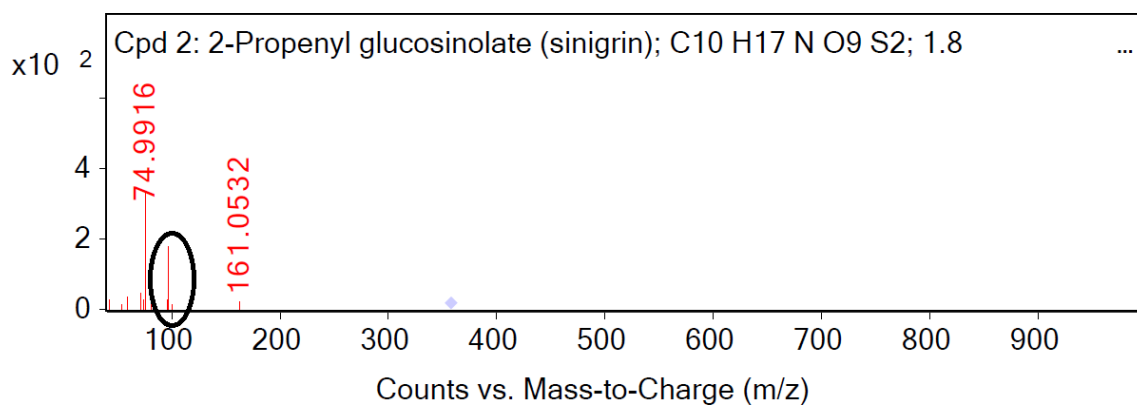
4 REZULTATI Z RAZPRAVLJANJEM

4.1 Interpretacija MS spektrov standardne raztopine sinigrin hidrata

Preden smo injicirali realne vzorce, smo se morali najprej prepričati, da sistem deluje. Zato smo injicirali 10 μL standardne metanolne raztopine sinigrina ($M = 359 \text{ g/mol}$) v koncentraciji 10 $\mu\text{g/mL}$.



MS Zoomed Spectrum
Slika 11: MS1 spekter sinigrina.



Slika 12: MS2 spekter sinigrina pri energiji trkov 40 eV. Obkrožena sta začetna iona m/z 96/97 s signali 86,67 in 29703 (torej v razmerju 1:3,4).

Na Sliki 11 prikazujemo graf standardne metanolne raztopine sinigrina, na katerem vidimo njegov značilen ion. Na Sliki 12 je fragmentacija v MS2, ki pri energiji trkov (ali kolizijski energiji) 40 eV vključuje značilna iona v pričakovanem razmerju. S pridobljenimi podatki smo potrdili spojino ter preverili metodo in sistem.

4.1.1 Identifikacija glukozinolatov v moki oljne ogrščice

Vzorec HS1 je začetni vzorec hladnostiskane moke oljne ogrščice.

Preglednica 2: Glukozinolati, identificirani v začetnem vzorcu pred obdelavo moke oljne ogrščice, m/z vrednost med fragmentoma 96 in 97.

GLUKOZINOLATI	m/z	RAZMERJE fragmentov 96/97	SIGNAL
progoitrin/epiprogoitrin	388,0388	2–3	52005
glukonapoliferin	402,0534	2–3	232252
sinalbin	424,0382	2–3	53569
glukonapin	372,0437	2	75915
glukobrasikanapin (4-pentenil glukozinolat)	386,0593	2	52496
glukonasturtin	422,0592	4	137916
3-metilpentil glukozinolat	402,0912	2–4	76160

V Preglednici 2 prikazujemo identificirane glukozinolate v tem vzorcu. Zabeležili smo sedem različnih molekul glukozinolatov: progoitrin ali epiprogoitrin (alifatski glukozinolati), glukonapoliferin (alifatski glukozinolat), sinalbin (aromatski glukozinolat), glukonapin (alifatski glukozinolat), glukobrasikanapin (alifatski glukozinolat), glukonasturtin (aromatski glukozinolat) in 3-metil glukozinolat (alifatski glukozinolat). Poleg ustreznih vrednosti m/z (Preglednica 2) so imeli ti glukozinolati tudi fragmente 96 in 97 z ustreznim razmerjem (1:2 do 1:4), kar je še dodatno potrdilo za molekule, prisotne v vzorcu.

V ekstraktu je lahko prisotno veliko molekul z enako molsko maso. Veliko selektivnost na osnovi fragmentacije omogoča tandemski masni spektrofotometer Q-TOF, ki omogoča zadovoljivo identifikacijo tudi brez uporabe standardov. Seveda pa 100-odstotno potrditev dosežemo samo s primerjavo s standardi, ki niso vedno na voljo. Tisti standardi glukozinolatov, ki se jih da kupiti, so navadno zelo dragi.

V raziskavi so Sosulski (1976) in sodelavci preučevali vsebnost glukozinolatov v moki treh sort oljne ogrščice – Tower, Midas in Torch. Avtorji so v raziskavi določili 3-butenil isotiocianat in 4-pentenil isotiocianat, ki so produkti glukozinolatov, ter 5-vinil-2-oksazolidinon glukozinolat v sorti Tower. Ti so bili prisotni tudi v ostalih dveh sortah v različnih koncentracijah.

V semenih oljne ogrščice smo v naši raziskavi identificirali izvorne spojine izoticianatov, ki jih je identificiral Sosulski (1976), torej 3-butenil glukozinolat (glukonapin) in 4-pentenil glukozinolat (glukobrasikanapin).

Velasco in sod. (2008) so v raziskavi v listih in semenih *B. napus* identificirali dvanajst glukozinolatov: sedem alifatskih (progoitrin, epiprogoitrin, sinigrin, glukonapoliferin, glucoalizin, glukonapin in glukobrasikanapin), štiri indole (glukobrasicin, 4-hidroksiglukobrasicin in 4-metoksiglukobrasicin) in en aromatski glukozinolat (glukonasturtin). Tako kot v naši raziskavi so bili v semenih oljne ogrščice med različnimi skupinami najbolj zastopani alifatski glukozinolati, in sicer v 91–94 %.

V semenih so ugotovili tudi majhno količino 4-metoksiglukobrasicina, ki ga v listih ni. Identificirali so tudi sledi neoglukobrasicina, ki jih v naši raziskavi nismo zaznali.

Tako kot Velasco in sod. (2008) smo tudi mi v semenih oljne ogrščice identificirali: progoitrin, glukonapoliferin, glukobrasikanapin, glukonapin in glukonasturtin. Razlike v identificiranih glukozinolatih med našo in raziskavo Velasca in sod. (2008) so lahko posledica genetskih in okoljskih dejavnikov ter uporabljene metode identifikacije.

V raziskavi je Soluski (1984) identificiral glukonapin, glukobrasikanapin, progoitrin, glukonapoliferin, glukobrasicin in neoglukobrasicin (Preglednica 3). Podobne glukozinolate smo identificirali tudi v naši raziskavi, razen glukobrasicina in neoglukobrasicina. Glukobrasicin in neoglukobrasicin so bili lahko tako kot pri Heaney (1970) prisotni v prenizkih koncentracijah, da bi jih detektirali v merilnem koncentracijskem območju.

Najpogosteje identificirani glukozinolati v vseh raziskavah so bili glukonapin, glukobrasikanapin, progoitrin, glukonapoliferin, glukobrasicin in glukonasturtin (Tabela – povzetek literature). Z izjemo glukobrasicina smo jih identificirali tudi v naši raziskavi. Iz preglednic (povzetek literature in naša preglednica) vidimo, da se profil glukozinolatov med istimi tipi vzorcev nekoliko razlikuje, kar je verjetno posledica genetskih in okoljskih dejavnikov.

Glukonapin, progoitrin in glukonapoliferin so trije glukozinolati, ki so se ponovno pojavili tudi v raziskavi Heaney (1980) in tudi v naših analizah. Najdenih ni bilo šest glukozinolatov, ki smo jih zabeležili v naši analizi. Ti so sinalbin, 1-pentenil, (2R)-2-hidroksi-2-(4-hidroksifenil)etil, glukonasturtin, 3-metilpentil in butenil glukozinolat. To je verjetno posledica delovanja različnih genetskih in okoljskih dejavnikov ter različnih metod identifikacije.

4.1.2 Identifikacija glukozinolatov med predelavo moke oljne ogrščice v beljakovinski pripravek

Testirane vzorce smo pridobili v okviru projekta ProEnrich z Danskega Tehnološkega Inštituta (DTI), Taastrup, Danska. V postopku predelave moke oljne ogrščice v beljakovinski pripravek po že opisani shemi (serija 7) so na različnih mestih vzorčili (vzorci HS2-HS9), da bi preverili, kdaj se glukozinolati izločijo iz obdelave.

Našteti glukozinolati (Preglednica 3) nismo zaznali v naslednjih vzorcih: vzorec HS3 (kaša po namakanju), vzorec HS4 (dekanter – trdna snov), vzorec HS5 (ročno pretakanje – zgornja faza), vzorec HS6 (emulzija – spodnja faza), vzorec HS7 (permeat) in vzorec HS8 (retentat).

Le v vzorcu HS2 (kaša pred namakanjem) smo zaznali 3-butenil glukozinolat ali glukonapin z vrednostjo masa-naboj (m/z) 372,0434 s signalom 15969 in razmerjem dobljenih fragmentov 96 in 97 (1:2). Glede na primerjavo signalov začetnega vzorca in enake razredčitve lahko sklepamo, da je v HS2 približno petkrat manj glukonapina kot v HS1.

Rezultati nakazujejo, da se večina glukozinolatov že takoj v začetni fazi predelave izloči iz postopka.



Slika 13: Vzorci oljne ogrščice.

4.1.3 Identificirani glukozinolati v beljakovinskih pripravkih po različnih postopkih

Analizirali smo pet vzorcev beljakovinskih pripravkov, ki so bili pridelani na različne načine. Vzorci so se razlikovali glede na postopek obdelave. Razlike v obdelavi in začetni surovini prikazujemo v Preglednici 3.

Preglednica 3: Vzorci in postopki hladne in toplotno-encimske obdelave biološkega materiala semen oljne ogrščice.

VZOREC	MATERIAL	SERIJA
HSP1	- sušen v pečici - zmlet - filtriran	serija 9
HSP2	- končni produkt (moka oljne ogrščice)	serija 8
HSP3	- sušenje končnega produkta z razprševanjem	serija 11
VSP1	- sušenje končnega produkta z razprševanjem	serija 13
VSP2	- sušenje končnega produkta z razprševanjem	serija 14

Postopki pridobitve beljakovinskega koncentrata iz moke oljne ogrščice so poleg hladnega stiskanja vključevali tudi predelavo pri višjih temperaturah (nad 60 °C) in encimsko obdelavo. Material v končnem produktu HSP1 smo sušili v pečici, ga razdrobili in prečistili s sitom (prefiltrirali). Drugi vzorec HSP2 je ogrščična moka, medtem ko so vzorci HSP3, VSP1 in VSP2 beljakovinski pripravki, posušeni z razprševanjem. Vzorce HSP1, HSP2 in HSP3 smo predhodno hladno stiskali, vzorca VSP1 in VSP2 pa predelali na višjih temperaturah in ju encimsko obdelali.

4.1.3.1 Glukozinolati prehodno hladno stiskanih končnih produktov beljakovinskih pripravkov

V prvih treh vzorcih beljakovinskih izolatov (HSP1, HSP2 in HSP3) ni bilo zaznati vsebnost glukozinolatov. Predhodno so bili vključeni v proces hladnega stiskanja, kjer obstaja verjetnost, da je encim mirozinaza še aktiven, torej je lahko prišlo do pretvorbe

glukozinolatov v izotiocianate. Zato bi bilo v prihodnjih raziskavah potrebno v vzorcih določiti tudi izotiocianate.

4.1.3.2 Glukozinolati v končnih produktih beljakovinskih pripravkov, predhodno obdelanih pri višjih temperaturah in encimski obdelavi

Vzorca VSP1 in VSP2 smo predhodno encimsko in toplotno obdelali. Rezultati so se razlikovali od predhodno hladnostiskanih vzorcev. Na DTI so pridobili večji izkoristek beljakovin v teh vzorcih in določili smo prisotnost glukozinolatov. To pomeni, da takšna obdelava znatno vpliva na sprostitvev glukozinolatov iz pridobljenega biološkega materiala, verjetno zaradi deaktivacije mirozinaze pri temperaturah, ki so višje od 60 °C.

V vzorcu VSP1 (serija 13) in vzorcu VSP2 (serija 14) smo uspešno identificirali tri glukozinolate, in sicer progoitrin, glukonapin in glukonapoliferin. V vzorcu VSP2 smo našli vse tri glukozinolate. Glukonapoliferina v VSP1 nismo identificirali.

Preglednica 4: Primerjava identificiranih glukozinolatov v vzorcih VSP1 in VSP2.

GLUKOZINOLATI	SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM VSP1 SERIJA 13	SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM VSP2 SERIJA 14
PROGOITRIN (2-hidroksi-3-butenil glukozinolat)	+	+
GLUKONAPIN (3-butenil glukozinolat)	+	+
GLUKONAPOLIFERIN (2-hidroksi-4-pentenil glukozinolat)		+

Preglednica 5: Glukozinolati iz toplotno stiskane moke oljne ogrščice (serija 13).

GLUKOZINOLAT	m/z	RAZMERJE fragmentov 96/97	SIGNAL
progoitrin	388,0381	2–3	168540
glukonapin	372,0431	3	193159

Preglednica 6: Glukozinolati iz toplotno stiskane moke oljne ogrščice (serija 14).

GLUKOZINOLAT	m/z	RAZMERJE fragmentov 96/97	SIGNAL
progoitrin	388,0382	2	218 113
glukonapoliferin	402,0548	2–3	194 226
glukonapin	372,0437	2	24 8969

Glede nato, da smo postopali z vsemi vzorci enako, lahko primerjamo signale identificiranih posameznih glukozinolatov v HS1, VSP1 in VSP2.

Iz preglednic je razvidno, da je v VSP2 več progoitrina in več glukonapina v primerjavi VSP1, kar je verjetno posledica različne serije vzorcev. V končni produktih je tudi v večina primerov več posameznih glukozinolatov v primerjavi s HS1 (začetnim vzorcem). To je verjetno posledica dejstva, da je prišlo do koncentracije posameznih glukozinolatov v postopku predelave.

V Preglednici 6 in Preglednici 7 so prikazani že omenjeni glukozinolati iz Preglednice 5, ki so bili vključeni v proces fragmentacije. Glukozinolati so bili pridobljeni s procesom fragmentacije v dveh serijah, tj. seriji 13 in seriji 14. Določeni glukozinolati so se pojavili večkrat. Navedeno je tudi razmerje med fragmentoma 96 in 97, ki določa da je glukozinolat prisoten.

4.2 Vpliv identificiranih glukozinolatov na zdravje

Zdravstveno tveganje in koristi za zdravje, povezane z uživanjem glukozinolatov in sestavin, pridobljenih iz glukozinolata, so opredeljene s strukturo, vključno s stereokemijo prehranskih spojin, in z njihovimi koncentracijami v prehrani. Tako sami glukozinolati kot njihovi presnovki lahko povzročajo različne biološke učinke. Struktura glukozinolatov določa njihove fizikalno-kemijske lastnosti in potencialne produkte razgradnje (Andersen in sod. 2010). Njihova razgradnja, ki je lahko encimska ali ne-encimska (kemična, termična), sprošča različne hlapne spojine, ki imajo vrsto bioloških aktivnosti: delujejo kot antioksidanti, protibakterijsko, protivirusno, protivnetno, krepijo imunski sistem in omogočajo obnovo celic (Zakić 2013).

Nove ugotovitve so pokazale, da so se glukozinolati v prehrani brez dodane mirosinaze popolnoma razgradili in/ali absorbirali iz črevesa (Ed.Sørensen 1985, Bheemreddy in Jeffery 2007, Michaelsen in sod. 1994). Prav tako je bilo dokazano, da se glukozinolati lahko absorbirajo z olajšanim prenosom skozi črevesni epitel, vendar z razlikami v hitrosti, odvisno od strukture glukozinolata (Michaelsen in sod. 1994). Prvotno so glukozinolate raziskovali zaradi potencialno škodljivih učinkov na zdravje. V prvih raziskavah glukozinolatov so se osredotočili na razgradne produkte glukozinolatov, ki so učinkovali na ščitnico pri živalih. Danes se za prehrano ljudi in živali gojijo predvsem sorte oljne ogrščice z nizko vsebnostjo glukozinolatov, kar ne bi smelo povzročati negativnih učinkov na zdravje ljudi (Tučkar Pajkin 2000).

Prav tako je dobro dokumentirano, da imajo glukozinolati in/ali njihovi metaboliti različne učinke na presnovo (Bao in Bacon 2004, Langouët in sod. 2004, Zhang 2004, Bille in sod. 1983a, Bille in sod. 1983b, Fenwick in Heaney 1983, McMillian in sod. 1986, Bjerg in sod. 1989, Holst in Williamson 2004a, Holst in Williamson 2004b, Jensen in sod. 1991, Frandsen in sod. 2009, Ed.Sørensen 1985, Bheemreddy in Jeffery 2007, Michaelsen in sod. 1994, Søndergaard in sod. 2009). Zato je težko dobiti zanesljive podatke o priporočilnih vnosih (Gevers in sod. 1998). Tako lahko podamo zgolj grobo oceno mejnih vrednosti: 0,25 $\mu\text{mol/kg}$ telesne mase/dan za Nizozemsko, 0,5–0,6 $\mu\text{mol/kg}$ TM/dan za Kanado in ZDA ter 1,6 $\mu\text{mol/kg}$ TM/dan za Združeno kraljestvo. Pri povišanem vnosu križnic z visoko vsebnostjo glukozinolatov, npr. brstičnega ohrovtja (McMillian in sod. 1986) in brokolija (Bonnesen in sod. 1999, Hansen in sod. 1995, Hansen in sod. 1997, Vang in sod. 1995, Vang in sod. 2001), lahko znašajo približno 10 $\mu\text{mol/kg}$ telesne mase na dan.

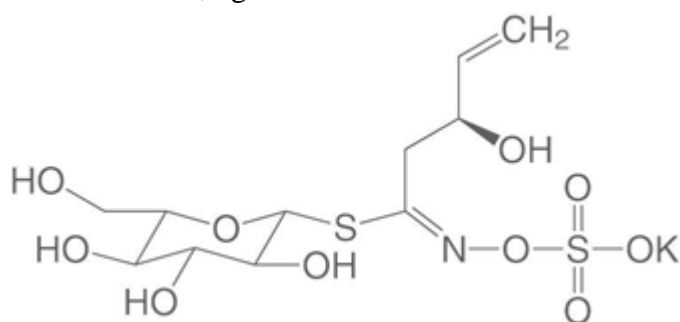
V prihodnje bi morali opraviti več raziskav na tem področju, da bi lahko ovrednotilo vpliv identificiranih glukozinolatov na zdravje ljudi v pričakovanih manjših koncentracijah.

V nadaljevanju opisujemo raziskave na nekaterih idenficiranih glukozinolatih v končnem beljakovinskem produktu vzorcev VSP1 in VSP.

4.2.1 Progoitrin

Formula: $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_{10}\text{S}_2$

Molska masa: 389,4 g/mol



Slika 14: Struktura progoitrin glukozinolata.

Najbolj škodljiv razgradnji produkt je oksazolidin-2-tion (goitrin), pridobljen iz progoitrina (Rosa in sod. 1997). Ta glukozinolat se kopiči v semenih oljne ogrščice pri živalih ter povzroča golšo in druge škodljive učinke, kot so zmanjšanje rasti, slaba proizvodnja jajc ali poškodbe jeter (Mithen 2001). Goitrin je zaviralec ščitnične peroksidaze in preprečuje oksidacijo jodida v jod za naknadno jodiranje ostankov tirozina v biosintezi tiroksina T3 in

T4. Tiocianatni anioni delujejo kot konkurenčni zaviralec jodida in s tem preprečujejo vnos jodida v ščitnico (Luthy in sod. 1984).

Trdnih dokazov o kakršnem koli vplivu na ščitnico in učinku na ljudi zaradi njegovega uživanja (Mithen 2001) ni, saj so v mednarodni raziskavi pokazali, da ni povezave med vnosom glukozinolata in pojavnostjo raka ščitnice. Poleg sprememb v velikosti, strukturi in delovanju ščitnice so dokazali, da lahko goitrin povzroči reakcije v nitrozaciji in da lahko goitrin prihaja do reakcij nitrozacije, ki lahko vplivajo na zdravje ljudi, če je raven nitratov v vodi visoka (Luthy in sod. 1984). Natančnega vzroka ne poznamo, a morda gre za prisotnost nedotaknjenih glukozinolatov ali proizvodnjo nitrilov v prebavilih.

Progoitrin ima molekularno konfiguracijo, ki se približuje sinigrinu, vendar z dodatno skupino CHOH. Ko pride do enemične hidrolize progoitrina, se sprostí aglikon. Ker ima reaktivno sekundarno alkoholno skupino, takoj ciklira in tvori goitrin. Tako goitrin (5-viniloksazolidin-2-tion) kaže škodljive in toksične učinke, kot so upočasnjena rast živali ter toksični učinek na ščitnico in jetra (Tučkar Pajkin 2000).

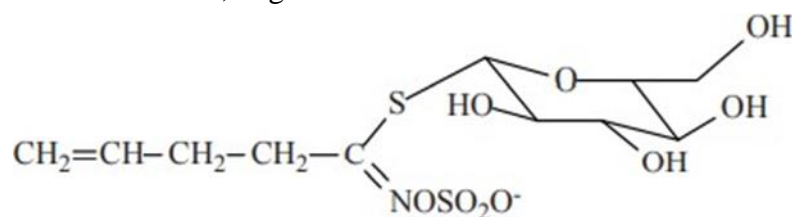
Izsledki raziskav kažejo, da so progoitrin, epiprogoitrin in njuni derivati (goitrin in epigoitrin) glavni glukozinolati pri *R. isatidis*; te kemijske sestavine naj bi izkazovale številne biološke aktivnosti, vključno s protivirusnimi, protivnetnimi in protitumorskimi učinki (He 2017, Lee 2006, Shi 2012, Xu in sod. 2020).

Radix isatidis je suha korenina trdnjave *Isatis indigotica* (Brassicaceae) in je eno tradicionalnih kitajskih zelišč, ki se pogosto uporablja za zdravljenje prehladov, vročine in gripe. V zadnjih letih se na trgu pojavlja v obliki granul, kapljic za oko, sirupa in celo funkcionalne pijače (Zhou 2013, Wei 2015, Xu in sod. 2020). Omenjajo tudi njegovo uporabo pri zdravljenju hudih akutnih dihalnih sindromov (SARS) in gripe H1N1 (Jie 2017, Lin 2005, Xu in sod. 2020).

4.2.2 Glukonapin

Formula: $C_{11}H_{19}NO_9S_2$

Molska masa: 373,39 g/mol



Slika 15: Struktura glukonapin glukozinolata.

Glukonapin, znan tudi kot 3-butenil glukozinolat, sodi v razred organskih spojin alkilglukozinolatov. To so organske spojine, ki vsebujejo glukozinolatni del, ki nosi alkilno verigo. Glukonapin je izredno šibka bazična (v bistvu nevtralna) spojina (na osnovi pKa). Glukonapin je izoliran iz oljne repice in številnih drugih vrst križnic.

V precejšnjem deležu je prisoten v brstičnem ohrovtu in brokoliju (Kushad in sod. 1999). V raziskavah so ugotovili, da je najbolj razširjen glukozinolat tudi v kitajskem ohrovtu alkenilni produkt glukorafanina. Produkt razgradnje glukonapina je povezan z okusom ostrine in grenkobe (Padilla, Cartea, Velasco, de Haro in Ordás 2007, Qian 2015).

5 ZAKLJUČEK

V zadnjih letih na področju živilstva in prehrabene industrije veliko pozornost namenjamo zdravi hrani, njeni predelavi in ponovni uporabi zavržkov v procesu pridelave. Vse več živilskih tehnologov, nutricionistov in predvsem potrošnikov se zaveda pomembne povezanosti med prehrano in zdravjem. Predvsem pa je odločilno, da poznamo sestavne snovi zaužite hrane in njihovo učinkovitost na zdravje ljudi.

V magistrski nalogi smo se osretotočili na predelavo oljne ogrščice v Sloveniji in svetu ter ponovni uporabi njenih stranskih produktov, kot je ogrščična moka, v prehranske namene. Ugotavljali smo, kako bi te produkti lahko posredno in neposredno vplivali na okolje. Opredeliti smo želeli vsebnost glukozinolatov, fitokemikalij, prisotnih v semenih oljne ogrščice ter v njihovih predelanih produktih. Ti so z značilnimi aromami prvenstveno naravna obramba rastline pred zunanji škodljivci. Kakšen vpliv imajo ti sekundarni metaboliti na zdravje ljudi, smo preučevali s tolmačenjem že opravljenih raziskav s tega področja.

Z visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC) z masno spektrometrijo (MS) smo določili prisotnost glukozinolatov v različnih vzorcih. Z masnim analizatorjem smo dobili osnovne informacije o molski masi, naboju in kemijski strukturi ter elementarne sestavine spojin. Tolmačili smo MS spektre in opredelili razmerja med fragmentoma 96 in 97 za posamezen glukozinolat. Zaradi prisotnosti dveh atomov žvepla v vsakem glukozinolatu lahko pridobimo podatke o prisotnosti navedenih fragmentov z MS/MS analizo. Ugotovili smo, da določeni glukozinolati niso vsebovali obeh fragmentov hkrati za posamezno energijo trkov (10 eV, 20 eV in 40 eV) in da razmerja signalov obeh ionov nista konstantna. Gibljejo se v območju razmerij 1:2 in 1:4.

Ustrezna razmerja smo pridobili pri sedmih glukozinolatih: progoitrinu/epiprogoitrinu, glukonapoliferinu, sinalbinu, glukonapinu, glukobrasikanapinu, glukonasturtinu in 3-metilpentil glukozinolatu, kar je bilo v skladu z rezultati ostalih raziskav.

V magistrski nalogi smo delno potrdili hipotezi, da so se med potekom kemijskih in encimskih procesov glukozinolati odstranili ali pretvorili v izpotiocianate. V toplotno in encimsko obdelanih vzorcih smo v končnih beljakovinskih pripravkih potrdili glukozinolate progoitrin, glukonapin in glukonapoliferin, ki bi lahko v previsokih koncentracijah neugodno vplivali na zdravje ljudi ali pa povzročali grenak priokus.

Na vsebnost glukozinolatov vpliva več dejavnikov, od pridelave, predelave, skladiščenja in obdelave sestavnih delov rastline oljne ogrščice do vremenskih razmer in sestave zemlje.

Zato je za vključitev rastlinskih delov v prehrano ljudi pomembno, da poznamo organske in bioaktivne snovi, ki jih vsebuje posamezna rastlina. Z ustreznimi analizami lahko pridobimo učinkovite podatke, ki v večji meri vplivajo na kakovost življenja ljudi, drugih živih organizmov in okolja.

Na osnovi pridobljenih podatkov o vsebnosti glukozinolatov v moki oljne ogrščice ter o ponovni uporabi ogrščičnih pogač in kasneje ogrščične moke za prehrano ljudi, bi lahko s takim načinom »recikliranja« stranskih proizvodov v prihodnje pripomogli k izdelavi novih, zdravih in koristnih prehranskih izdelkov ter s tem zmanjšali odpadke hrane, ki lahko neugodno vplivajo na okolje in ekosistem.

6 LITERATURA IN VIRI

Ačko Kocjan D. 2015. Poljščine – pridelava in uporaba. Ljubljana, Založba Kmečki glas:187 str.

Ačko Kocjan D., 1999, Ogrščica. V: Pozabljene poljščine, Ljubljana, Kmečki glas: 119–134.

Agerbirk N. in Olsen C. E. 2012 Glucosinolate structures in evolution. *Phytochemistry*, 77, 16–45.

Agroruše 2020 Gojenje oljne ogrščice – www.agroruse.si – (dostop: 24.2.2021).

Ambrosone C.B., McCann S.E., Freudenheim J.L., Marshall J.R., Zhang Y., Shields P.G. 2004. Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *J Nutr* 134: 1134–8.

Andersen K. E., Frandsen H.B., Jensen S.K., Bellostas N.M., Sørensen A.D., Sørensen J.C., Sørensen H. 2010. Glucosinolates in Brassica–Health risks, but also benefits. *The Norwegian Academy of Science and Letters* 2010: 104–124.

Andoljšek D. 2007. Pridelava in predelava ozimne oljne ogrščice (*Brassica napus* L. var. *napus*) za biodizel (Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta).

Anilakumar K.R., Khanum F., Bawa AS 2006 Dietary role of glucosinolate derivatives: a review. *J Food Sci Technol Mysore* 43:8–17.

Arnoldo M., Baszczyński C.L., Bellemare G., Brown G., Carlson J., Gillespie B., Huang B., MacLean N., MacRae W.D., Rayner G., Rozakis S., Westcott M. in Kemble R.J. 1992 Evaluation of transgenic canola plants under field conditions . *Genome* 35 : 58–63.

Azadmard-Damirchi S., Habibi-Nodeh, F., Hesari, J., Nemati, M., & Achachlouei, B. F. 2010. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chemistry*, 121(4), 1211–1215.

Bailey S., Requier F., Nusillard B., Roberts S. P., Potts S. G. in Bouget C. 2014. Distance from forest edge affects bee pollinators in oilseed rape fields. *Ecology and evolution*, 4(4), 370–380.

Bao Y., Bacon J.R. Phytochemicals protect against heterocyclic amine-induced DNA adduct formation. In: *Phytochemicals in health and disease*, Bao Y, Fenwick GR, eds. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2004. pp. 143–162.

Bellostas N., Kachlicki P., Sørensen J.C., Sørensen H. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. *Scientia Horticulturae* 2007; 114 (4): 234–242.

Benbrook C.M., 2004 Genetically Engineered Crops and Pesticide Use in the United States: The First Nine Years, seventh ed. BioTech InfoNet, Idaho, USA.

Bennet R.N., Mellon F.A., Kroon P.A.: *J. Agric. Food Chem.* 52 2004, 428–438.

Beretta C., Stoessel F., Baier U., Hellweg S. Quantifying food losses and potential for reduction in Switzerland. *Waste Management*. 2013, 33, 764–773.

Bergmann F. 1970. The biosynthesis of glucosinolates in the course of ontogenesis of *Sinapis alba* L. *Z.Pflanzenphysiol* 62: 362-375.

Bernesson S., Nilssonand D., Hansson P. A. 2004 A limited LCA comparing large- and small-scale production of rape methyl ester (RME) under Swedish conditions. *Biomass and Bioenergy* 26: 545–559.

Bertsch W., Jennings W.G., Kaiser R.E. *Chromatographic Methods in Inorganic Analysis*.Germany: Druckerei Krebs – Gehlen, 1981.

Bhattacharya A., Tang L., Li Y., Geng F., Paonessa J.D., Chen S.C., Wong,M.K., Zhang Y., 2010 Inhibition of bladder cancer development by allyl isothiocyanate. *Carcinogenesis* 31, 281–286.

Bheemreddy R.M., Jeffery E.H. The metabolic fate of purified glucoraphanin in F344 rats. *J Agri Food Chem* 2007; 55 (8): 2861–2866.

Bianchi F., van Wingerden W., Griffioen A.J., van der Veen M., van der Straten M., Wegman R. in sod. 2005 Landscape factors affecting the control of *Mamestra brassicae* by natural enemies in Brussels sprout. *Agric. Ecosyst. Environ.* 107:145–150.

Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemuller R., Edwards M., Peeters T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settele J., Kunin W.E. 2006 Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313(5785):351–354.

Biokemijski slovar –

http://www.sbd.si/datoteke/dokumenti/SBD_BiokemijskiSlovar2012a.pdf

(dostop:17.1.2021)

Bjerg B., Eggum B.O., Jacobsen I., Otte J., Sørensen H. Antinutritional and toxic effects in rats of individual glucosinolates (+/- myrosinases) added to a standard diet (2). *Z Tierphysiol Tierernährg u Futtermittelkde* 1989; 61 (5): 227-244. 122.

Bohan D.A., Boffey W.H., Brooks D.R., Clark S.J., Dewar A.M., Firbank L., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., May M.J., Osborne J.L., Perry J.N., Rothery P., Roy D.B., Scott R.J., Squire G.R., Woiwod I.P., Champion G.T., 2005 Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide-tolerant wintersown oilseed rape. *Proc. R. Soc. Lond. B* 272 (1562), 463–474.

Bohinc T., Ban S.G., Ban D., Trdan S. 2012 Glucosinolates in plant protection strategies: a review. *Archives of Biological Science*, 64, 3: 821–828.

Bommarco R., Biesmeijer J.C., Meyer B. , Potts S.G., Poyry J., Roberts S.P. in sod. 2010 Dispersal capacity and € diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 277:2075–2082.

Bommarco R., Marini L., Vaissie`re B. 2012 Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia* 169:1025–1032.

Bones A.M., Rossiter J.T. *Phytochemistry* 67 2006, 1053-1067 Bonnesen C, Stephensen PU, Andersen O, Sorensen H, Vang O. Modulation of cytochrome P-450 and glutathione S-transferase isoform expression in vivo by intact and degraded indolyl glucosinolates. *Nutrition and Cancer - An International Journal* 1999; 33 (2): 178–187.

Bones A.M., Rossiter J.T. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochem* 2006; 67 (11): 1053–1067.

Borek V., Elberso, L.R., McCaffrey J.P., Morra M.J., 1998 Toxicity of isothiocyanates produced by glucosinolates in Brassicaceae species to black vine weevil eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 5318–5323.

Brandle J.R., Hodges L. in Zhou X.H. 2004 Windbreaks in North American Agricultural Systems. *Agrofor. Syst.* 61:65–78.

Brittain C. in Potts S.G. 2011 The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic Appl. Ecol.* 12:321–331.

Brittain C., Williams N., Kremen C., Klein A.M. 2013 Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proc R Soc B Biol Sci* 280(1754):20122767.

Brodnjak-Vončina D. 2006 Analizna kemija II: zbrano gradivo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

Brosi B.J., Armsworth P.R. in Daily G.C. 2008 Optimal design of agricultural landscapes for pollination services. *Conserv. Lett.* 1:27–36.

Brown J., Morra M. J.: Glucosinolates Containing Seed Meal as a Soil Amendment to Control Plant Pests, National Renewable Energy Laboratory, USA, 2000-2002, p. 3–7.

Brown, P.D., Morra, M.J., 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 61, 167–231.

Canola Council of Canada 2001 An agronomic and Economic Assessment of Transgenic Canola. The Growers Manual. 26 pp. – <http://www.canola-council.org/production/gmo2.html> - (dostop: 22.2.2021).

Carvalho L.G., Seymour C.L., Nicolson S.W., Veldtman R. 2012 Creating patches of native flowers facilitates crop pollination in large agricultural fields: mango as a case study. *J Appl Ecol* 49(6):1373–1383.

Champion G.T., May M.J., Bennett S., Brooks D.R., Clark S.J., Daniels R.E., Firbank L.G., Haughton A.J., Hawes C., Heard M.S., Perry J.N., Randle Z., Rossall M.J., Rothery P., Skellern M.P., Scott R.J., Squire G.R., Thomas M.R., 2003 Crop management and agronomic context of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 358, 1801–1818.

Chevre A., Renard M., Eber F., Vallee P., Deschamps M. in M .C . Kerlan M.C. 1992 Study of spontaneous hybridization between malesterile rapeseed and weeds . In: Reproductive biology and plant breeding . Book of poster abstracts, XIIIth Eucarpia Congress, 67–68.

Chew S. C. 2020 Cold pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil. In *Cold Pressed Oils* (pp. 65–80). Academic Press.

Clark J. HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY – HPLC, 2007
<http://www.chemguide.co.uk/analysis/chromatography/hplc.html> - (dostop 3.12.2020).

Clarke D. B. 2010 Glucosinolates, structures and analysis in food. *Analytical Methods*, 2(4), 310–325.

Cohen J.H., Kristal A.R., Stanford J.L., 2000 Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 61–68.

Crawley M. J., Haus R.S., Rees M., Kolin D. in Buxton J., 1993 Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature* 363:620–623.

Cresswell J. E., Davies T. W., Patrick M. A., Russell F., Pennel C., Vicot M., & Lahoubi M. 2004 Aerodynamics of wind pollination in a zoophilous flower, *Brassica napus*. *Functional Ecology*, 18(6), 861–866.

Czapski J. 2009 Cancer preventive properties of Cruciferous Vegetables. *Vegetable Crops Research Bulletin* 70: 5–18.

Čeh B. (ur.) 2009 Oljnice: pridelava, kakovost olja ter možnost uporabe za biomaziva in biodizel. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije in Fakulteta za strojništvo Univerze v Ljubljani. Str. 159.

Darmency H., Lefol E. in Chadoeuf R. 1992 Risk assessment of the release of herbicide resistant transgenic crops : two plant models. In: ANPP annales 1992. IXth International Symposium on the Biology of Weeds, 513–523.

Devos Y., Reheul D., De Schrijver A., Cors F., Moens W., 2004 Management of herbicide-tolerant oilseed rape in Europe: a case study on minimizing vertical gene flow. *Environ. Biosafety Res.* 3, 135–148.

Diepenbrock W. 2000 Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review. *Field Crops Research* 67: 35–49.

Downard K. 2007 Mass spectrometry: a foundation course. Royal Society of Chemistry.

Ellstrand N.C. 2001 When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology* 125, 1543–1545.

Ettlinger M. G., AXD I,(-XDEEX, A. J., J. .4nl. Chem. Sot. 78, 4172 (1956).

EU 2018 Poročilo komisije svetu in evropskemu parlamentu o razvoju rastlinskih beljakovin v Evropski uniji, Bruselj, 22.11.2018.

European Commission 2010 Agricultural statistics: Main results, 2008–09. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.

EUROSTAT 2011 Statistics database: Statistical Office of the European Union. <http://ec.europa.eu/eurostat> (accessed May 1, 2011).

F.Y. Wei, Extraction, Purification and Antioxidant Enhancing Activity of Radix isatidis, 2015.

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

Fahey J.W., Haristoy X., Dolan P.M., Kensler T.W., Scholtus I. 2002 Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:7610–7615.

FAOSTAT 2011 Statistics database: Food and agriculture organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org> - (dostop: 13.1.2021).

Farag A. A., Sharaf Eldin G. M., Kassem H., Abou el Fetouh M. 2012 Metabolome classification of *Brassica napus* L. organs via UPLC-QTOF-PDA-MS and their antioxidant potential. *Phytochemical analysis*.

Fenwick G.R., Heaney R.K. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feedingstuffs. *Food Chem* 1983; 11 (4): 249–271.

Firbank L.G., Heard M.S., Woiwod I.P., Hawes C., Haughton A.J., Champion G.T., Scott R.J., Hill M.O., Dewar A.M., Squire G.R., May M.J., Brooks D.R., Bohan D.A., Daniels R.E., Osborne J.L., Roy D.B., Black H.I.J., Rothery P., Perry J.N., 2003a An introduction to the farm-scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *J. Appl. Ecol.* 40, 2–16.

Forte A., De Sanctis R., Leonetti G., Manfredelli S., Urbano V., Bezzi M., 2008 Dietary chemoprevention of colorectal cancer. *Ann. Ital. Chir.* 79, 261–267.

Fowke J.H., Chung F.L., Jin F., Qi D., Cai Q.Y., Conaway C., Cheng J.R., Shu X.O., Gao Y.T., Zheng W. 2003 Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Res.* 63, 3980–3986.

Frandsen H. B., Jeffery E. H., Møller P., Søndergaard M., Sørensen A. D., Sørensen J. C., and Sørensen H. On-line MECC determination of isothiocyanates (ITC's), ITC- derived products and their cyclocondensation with vicinal dithiols. In: Food for the future - the contribution of chemistry to improvement of food quality. Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark, 2009, 2, pp 259–263.

Gadamer J. 1897 Über die Bestandteile des schwarzen und des weissen Senfsamens. *Archiv der Pharmazie*, 235(1-3), 44–114.

Gallai N., Salles J.M., Settele J., Vaissiere B.E. 2009 Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol Econ* 68(3):810–821.

Garibaldi L.A., Steffan-Dewenter I., Kremen C., Morales J.M., Bommarco R., Cunningham S.A., Carvalheiro L.G., Chacoff N.P., Dudenhoffer J.H., Greenleaf S.S., Holzschuh A., Isaacs R., Krewenka K., Mandelik Y., Mayfield M.M., Morandin L.A., Potts S.G., Ricketts T.H., Szentgyorgyi H., Viana B.F., Westphal C., Winfree R., Klein A.M. 2011 Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecol Lett* 14(10):1062–1072.

Gevers E., Andrade I., Hallikainen A., Hedly C., Holm S., Lambien F. in sod. *Nettox* compilation of consumption data (Report no. 4). Søborg, Denmark: Danish Veterinary and Food Administration (Gry, J.) (ISBN87-90599-13-6) 1998; p. 144.

Goodwillie C. 1999 Wind pollination and reproductive assurance in *Linanthus parviflorus* (Polemoniaceae), a selfincompatible annual. *American Journal of Botany* 86, 948– 954.

Greenleaf S.S., Kremen C. 2006 Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(37):13890–13895.

Gustavsson J., Cederberg C., Sonesson U., Van Otterdijk R., Meybeck A. Global food losses and food waste: extent, causes and prevention. V: *International Congress SAVE FOOD! at Interpack 2011*, Düsseldorf, [Nemčija]. Rim: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011, 5–7.

Halkier B. A., Gershenzon J. 2006 Biology and Biochemistry of Glucosinolates. The Annual Review of Plant Biology. 57: 303–3.

Han L. D., Xia J. F., Liang Q. L., Wang Y., Wang Y. M., Hu P., Li P., Luo G. H., 2011 Plasma esterified and non-esterified fatty acids metabolic profiling using gas chromatography –mass spectrometry and its application in the study of diabetic mellitus and diabetic nephropathy, Analytica Chimica Acta 689 (1), 85–91.

Hansen M., Laustsen A.M., Olens C.E., Poll L., Sørensen H. Chemical and sensory quality of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). J Food Qual 1997; 20: 441–459.

Hansen M., Møller P., Sørensen H. Glucosinolates in broccoli stored under controlled atmosphere. J Am Hort Sci 1995; 120 (6): 1069–1074.

Hayes K.R., Gregg P.C., Gupta V.V.S.R., Jessop R., Lonsdale W.M., Sindel B., Stanley J., Williams C.K., 2004 Identifying hazards in complex ecological systems. Part 3: Hierarchical Holographic Model for herbicide tolerant oilseed rape. Environ. Biosafety Res. 3, 109–128.

Harris C.D. Quantitative Chemical Analysis. 4th ed. New York : W.H. Freeman, 1996.

Heaney R. K., Fenwick, G. R. 1980 The analysis of glucosinolates in Brassica species using gas chromatography. Direct determination of the thiocyanate ion precursors, glucobrassicin and neoglucobrassicin. Journal of the Science of Food and Agriculture, 31(6), 593–599.

Hecht S.S. 2000 Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates. Drug Metab Rev 32:395–411.

Hoehn P., Tschardt T., Tylianakis J.M., Steffan-Dewenter I. 2008 Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. Proc R Soc B Biol Sci 275(1648):2283–2291.

Holst B., Williamson G. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Nat Prod Rep 2004a; 21 (3): 425–447.

Holst B., Williamson G. Methods to study bioavailability of phytochemicals. In: Phytochemicals in health and disease, Bao Y, Fenwick GR, eds. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2004b. pp. 25–56.

Huth N.I., Robertson M.J., Poulton P.L. in Perry L. 2010 Regional differences in tree-crop competition due to soil, climate and management. *Crop Pasture Sci.* 61:763–770.

Ingram J. 2000 The separation distance required to ensure cross-pollination is below specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. *Plant Varieties and Seeds* 13, 181–199.

Inštitut Jožef Stefan; Odsek – Center za masno spektrometrijo –

<https://www.ijs.si/ijsw/Center%20za%20masno%20spektrometrijo> - (dostop: 31.1.2021).

Jauker F., Bondarenko B., Becker H.C., Steffan-Dewenter I. 2012 Pollination efficiency of wild bees and hoverflies provided to oilseed rape. *Agric For Entomol* 14(1):81–87.

Jauker F., Wolters V. 2008 Hover flies are efficient pollinators of oilseed rape. *Oecologia* 156(4):819–823.

Jensen S. K., Michaelsen S., Kachlicki P., and Sørensen H. 4- Hydroxyglucobrassicin and degradation products of glucosinolates in relation to unsolved problems with the quality of double low oilseed rape. In: *Proceedings of the 8th International Rapeseed Congress*. Saskatoon, Canada, 1991, 5, pp 1359–1364.

Jie C., Luo Z., Chen H., Wang M., Yan C., Mao Z.F., Xiao G.K., Kurihara H., Li Y.F., He R.R., Indirubin, a bisindole alkaloid from *Isatis indigotica*, reduces H1N1 susceptibility in stressed mice by regulating MAVS signaling, *Oncotarget* 8 (62) 2017, 105615–105629.

Josefsson E. 1970 Pattern, content and biosynthesis of glucosinolates in some cultivated Cruciferae. *Swedish Seed Association Publication* pp.42.

Kapteijns A.J.A.M. 1993 Risk assessment of genetically modified crops. Potential of four arable crops to hybridize with the wild flora. *Euphytica* 66: 145–149.

Kawakishi S., Kaneko T. 1985 Interaction of oxidized glutathione with allyl isothiocyanate. *Phytochemistry* 24, 715–718.

Kirsh V.A., Peters U., Mayne S.T., Subar A.F., Chatterjee N., Johnson C.C., Hayes R.B., 2007 Prospective study of fruit and vegetable intake and risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 99, 1200–1209.

KIS - Kmetijski inštitut Slovenije; POROČILO 2020 - https://www.kis.si/f/docs/Porocila_o_stanju_v_kmetijstvu_OEK/Jesensko_porocilo_17.12.2020.pdf – (dostop:17.12.2020)

Kjaer A. 1976 Naturally derived isothiocyanates (mustard oils) and their parent glucosides. In: W. Hertz, H. Griseback and G.W. Kirby eds. Progress in the Chemistry of Organic natural products. pp. 122-176. Springer Verlag, New York, N.Y. (USA).

Klein A.M., Cunningham S.A., Bos M., Steffan-Dewenter I. 2008 Advances in pollination ecology from tropical plantation crops. *Ecology* 89(4):935–943.

Klein A.M., Vaissiere B.E., Cane J.H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S.A., Kremen C., Tschardt T. 2007 Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc R Soc B Biol Sci* 274(1608):303–313.

Kmetijski zavod 2021 Rastline za zeleno gnojenje – Novice – www.kmetijskizavod-ng.si (dostop: 25.2.2021)

Kos B., Grčman H., Leštan, D. , 2003 'Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants', *Plant soil environment*, Vol. 49, No. 12, pp. 548–553.

Kremen C., Williams N.M., Thorp R.W. 2002 Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proc Natl Acad Sci USA* 99(26):16812–16816.

Kushad M.M., Brown A.F., Kurilich A.C., Juvik J.A., Klein B.P., Wallig M.A., Jeffery E.H.J. 1999 Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem* 47:1541–8.

Langouët S., Fabrice M., Guillouzo A. Effects of oltipraz on phase 1 and phase 2 xenobiotic-metabolizing enzymes. In: *Phytochemicals in health and disease*, Bao Y, Fenwick GR, eds. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2004. pp. 311–330.

Laoretani D., Fernández M., Crapiste G., & Nolasco S. 2014 Effect of drying operating conditions on canola oil tocopherol content. *Antioxidants*, 3(2), 190–199.

Lee K.C., Cheuk M.W., Chan W., Lee A.W., Zhao Z.Z., Jiang Z.H., Cai Z. Determination of glucosinolates in traditional Chinese herbs by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (7–8) 2006, 2225–2232.

Lefol E., Danielou V., Darmency H., Kerlan M.C., Vallee P., Chevre A.M., Renard M. in Reboud X. 1991 Escape of engineered genes from rapeseed to wild Brassiceae. In: Proceedings of the British Crop Protection Conference on Weeds, 1049–1056.

Leroy P.D., Verheggen F.J., Capella Q., Francis F., Haubruge E. 2010 An introduction device for the aphidophagous hoverfly *Episyrphus balteatus* (De Geer) (Diptera: Syrphidae). *Biol Control* 54(3):181–188.

London S.J., Yuan J.-M., Chung F.L., Gao Y.-T., Coetzee G.A., Ross R.K., Yu M.C., 2000 Isothiocyanates, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, and lung-cancer risk: a prospective study of men in Shanghai, China. *Lancet* 356, 724–729.

Lund E. 2003 Non-nutritive bioactive constituents of plants: dietary sources and health benefits of glucosinolates. *Int J Vitam Nutr Res* 73:135–43.

Lüthy B., Ph. Matile: *Biochem. Physiol. Pflanzen* 179 1984, 5–12.

Madsen K.H., Blacklow W.M., Jensen J.E., Streibig J.C., 1999 Simulation of herbicide use in a crop rotation with transgenic herbicide-tolerant oilseed rape. *Weed Res.* 39, 95–106.

Mariana C., De Beuckeleer M., Truettner J., Leemans J. in Goldberg R. 1990 Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene . *nature* 347 : 737–741 .

Mariani C., De Greef W., De Block M., De Beuckeleer M., Gossele V. in Leemans J., 1991 Genetic analysis of engineered sterility in oilseed rape. In: McGregor D.I. (Ed.). Proc. of the GCIRC Eighth International Rapeseed Congress, pp . 352-357. Saskatchewan.

Mariani C., Gossele V., De Beuckeleer M., De Block M., Goldberg R.B. , De Greef W. in Leemans J. 1992 A chimaeric ribonucleaseinhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature* 357: 384–387.

McCartney H.A., Lacey M.E. 1991 Wind dispersal of pollen from crops of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Aerosological Science* 22, 467–477.

McMillian M., Spinks E.A., Fenwick G.R. Preliminary observations on the effect of dietary Brussels sprouts on thyroid function. *Human Toxicol* 1986; 5 (1): 15–19.

Mellon F. A., Bennett R. N., Holst B., & Williamson G. 2002 Intact glucosinolate analysis in plant extracts by programmed cone voltage electrospray LC/MS: performance and comparison with LC/MS/MS methods. *Analytical biochemistry*, 306(1), 83-91.

Michaelsen S., Otte J., Simonsen L.O., Sørensen H. Absorption and degradation of individual intact glucosinolates in the digestive-tract of rodents. *Acta Agri Scand A -Anim Sci* 1994; 44 (1): 25–37.

Mihelič R., Čop J., Jakše M., Štampar F., Majer D., Tojnko S., Vršič S. 2010 Smernice za strokovno utemeljeno gnojenje. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 182 str.

Miki B.L., Labbe H., Hattori J., Ouellet T., Gabard J., Sunohara G. in Charest P.J. 1990 Transformation of *Brassica napus* canola cultivars with *Arabidopsis thaliana* *acetohydroxyacid* synthase genes and analysis of herbicide resistance. *Theor. Appl. Genet.* 80:449–458.

Misra S. in Gedamu L. 1989 Heavy metal tolerant transgenic *Brassica napus* L. and *Nicotiana tabacum* L. plants. *Theor. Appl. Genet.* 78 : 161–168.

Mithen R. 2001 Glucosinolates and their degradation products. *Adv Bot Res* 35:213–262
N. Agerbirk, C. E. Olsen: *Phytochemistry* 77 (2012), 16-45.

Newkirk R., 2009, Canola meal: Feed industry guide, Canadian international grains institute, Winnipeg, Manitoba.

Odpadki: Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Republika Slovenija. Dostopno na naslovu: http://www.mko.gov.si/si/delovna_podrocja/odpadki/zakaj_imajo_odlozeni_odpadki_negativen_vpliv_na_okolje/ - (dostop 23.12.2020).

Olsen O., Sørensen H. Recent advances in the analysis of glucosinolates. *J Am Oil Chem Soc* 1981; 58 (9): 857–865.

Owen M., 1999 WeedManagement Update for the NextMillenium - <http://www.weeds.iastate.edu/mgmt/qtr99-1/weedupdate.htm> - (dostop:22.2.2021).

Padilla G., Cartea M. E., Velasco P., de Haro A., & Ordás A. 2007 Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochemistry*, 68(4), 536–545.

Pajkin Tučkar D.: Primjena tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC), UV/VIS i fluorescentne spektroskopije za utvrđivanje udjela i strukture glukozinolata sjemena uljane repice (*Brassica napus* L) i njihovih produkata hidrolize, Magistarski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2000.

Perkavac J., Perpar M. K. 1969 Ljubljana: Univerza v Ljubljani. Fakulteta za naravoslovje in tehnologijo.

Perrier A., Delsart C., Boussetta N., Grimi N., Citeau M., & Vorobiev E. 2017 Effect of ultrasound and green solvents addition on the oil extraction efficiency from rapeseed flakes. *Ultrasonics sonochemistry*, 39, 58–65.

Perry J.N. 2002 Sensitive dependencies and separation distances for genetically modified herbicide-tolerant crops. *Proceedings of the Royal Society of London, B* 269, 1173–1176.

Piazza G. J., Foglia T. A. 2001 Rapeseed oil for oleochemical usage. *European Journal of Lipid Science Technology*, 103:450–454.

Pipan, B. 2013 Genetska raznolikost navadne ogrščice (*Brassica napus* L.) in njenih spolno kompatibilnih sorodnikov v slovenskem pridelovalnem prostoru: doktorska disertacija (Doctoral dissertation, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta).

Poje T., Krajnc N., Premrl T., Čebul T.; Urednica: dr. Krajnc N.; Izdaja Gozdarski inštitut Slovenije, Založba: Silva Slovenica; Lektura: Henrik Ciglič; Tehnični urednik: Robert Krajnc, Fotografije: arhiv LK-Stmk, arhiv KIS, Tone Godeša, Anton Mihevc; Publikacija je sofinancirana v okviru IEE/08/600 - AGRIFOREENERGY 2; Tisk: BIROGRAFIKA BORI d.o.o. Oktobra 2011 v 500 izvodi – http://www.s4q.si/images/mojeSlike/files/Oljarna_Berce.pdf (dostop 29.1.2021).

Potts S.G., Biesmeijer J.C., Kremen C., Neumann P., Schweiger O. in Kunin W.E. 2010 Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* 25:345–353.

Power E.F., Stout J.C. 2011 Organic dairy farming: impacts on insectflower interaction networks and pollination. *J Appl Ecol* 48(3): 561–569.

Rabalais, J. W. (2003). Principles and applications of ion scattering spectrometry: surface chemical and structural analysis (p. 336). New York: Wiley.

Rathke, G. W., T. Behrens, and W. Diepenbrock. 2006. Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 117: 80–108.

Rieger M.A., Lamond M., Preston C., Powles S.B., Roush R.T. 2002 Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science* 296, 2386–2388.

Romih N., Grabner B., Lasnik C. R. 2010 Snovna in energijska izraba oljne ogrščice. Celje, Inštitut za okolje in prostor.

Rosa E.A.S., Heaney R.K., Fenwick G.R., Portaz C.A.M. Glucosinolates in crop plants. *Hort Rev* 1997; 19: 99-215.

Rouessac F., Rouessac A. 2013 Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques. John Wiley & Sons.

Roulston T.H. in Goodell K. 2011 The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annu. Rev. Entomol.* 56:293–312.

Sabbahi R., de Oliveira D., Marceau J. 2006 Does the honeybee (Hymenoptera: Apidae) reduce the blooming period of canola? *J Agron Crop Sci* 192(3):233–237

Salunkhe D. K., Adsule R. N., Chavan J. K., Kadam S. S. 1992 World oilseeds. Springer Science & Business Media.

Sarwar M., Kirkegaard J.A., Wong P.T.W., Desmarchelier J.M., 1998 Biofumigation potential of brassicas. III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil* 201, 103–112.

Schütte G., Stachow U., Werner A., 2004 Agronomic and Environmental Aspects of the Cultivation of Transgenic Herbicide Resistant Plants. 11/04. Umweltbundesamt, Berlin.

Senior I.J., Dale P.J., 2002 Herbicide-tolerant crops in agriculture: oilseed rape as a case study. *Plant Breeding* 121, 97–101.

Seow A., Yuan J.M., Sun C.L., van den Berg D., Lee H., Yu M.C., 2002 Dietary isothiocyanates, glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer risk in the Singapore Chinese health study. *Carcinogenesis* 23, 2055– 2061.

Shao Y., Jiang J., Ran L., Lu C., Wei C., Wang Y., 2014 Analysis of flavonoids and hydroxycinnamic acid derivates in rapeseeds (*Brassica napus* L. var. *napus*) by HPCL-PDAESI(-)-MSn/HRMS. *Journal of agricultural and food chemistry*; 62: 2935–2945.

Shi Y.H. Shi, Xie Z.Y., Wang R., Huang S.J., Li Y.M., Wang Z.T., Quantitative and chemical fingerprint analysis for the quality evaluation of *Isatis indigotica* based on ultra-performance liquid chromatography with photodiode array detector combined with chemometric methods, *Int. J. Mol. Sci.* 13 (7) 2012, 9035–9050.

Singh B., Rengel Z., Bowden J.W. 2006 Carbon, nitrogen and sulphur cycling following incorporation of canola residue of different sizes into a nutrient-poor sandy soil. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 32–42.

Skoog D.A., Holler F.J., Nieman A.T. 1997 *Principles of Instrumental Analysis*. 5th ed. Philadelphia Saunders Collage Publishing, 725–765.

Skoog D.A., Holler F.J., West D.M. 1998 *Analytical Chemistry An Introduction* 6th ed. Philadelphia Saunders Collage Publishing, 517–.

Snow A.A. 2002 Transgenic crops – why gene flow matters. *Nature Biotechnology* 20, 542.

Snowdon R., Lühs W., Friedt W. 2007 *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. V: Oilseeds, Volume 2. Kole C. (ed.). Berlin, Springer-Verlag: 55–11.

Søndergaard M., Zhu N., Lai R.-H., Jeffery E. H., Sørensen J. C., Sørensen H. Comparative efficacy and safety of dietary glucoraphanin and broccoli in male F344 rats. In: *Food for the future - the contribution of chemistry to improvement of food quality*. Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark, 2009, 2, pp 1–5.

Sørensen H. (Ed.) *Advances in the production and utilization of cruciferous crops*. Dordredht/Boston/Lancaster: Mortinus Nijhoff Publishers (ISBN90-247-3196-8) 1985; p. 317.

Sosulski F., Humbert E. S., Bui, K., Jones, J. D. 1976 Functional properties of rapeseed flours, concentrates and isolate. *Journal of Food Science*, 41(6), 1349–1352.

Stanley D.A., Gunning D. in Stout J.C. 2013 Pollinators and pollination of oilseed rape crops (*Brassica napus* L.) in Ireland: ecological and economic incentives for pollinator conservation. *Journal of Insect Conservation*, 17(6), 1181–1189.

Stanley D.A., Stout J.C. 2013 Quantifying the impacts of bioenergy crops on pollinating insect abundance and diversity: a field-scale evaluation reveals taxon-specific responses. *J Appl Ecol* 50(2): 335–344.

Stephens W. E. 1946 "A Pulsed Mass Spectrometer with Time Dispersion". *Phys. Rev.* 69 (11–12): 691. Bibcode:1946PhRv...69R.674.. doi:10.1103/PhysRev.69.674.2.

Steffan-Dewenter I. in Westphal C. 2008 The interplay of pollinator diversity, pollination services and landscape change. *J. Appl. Ecol.* 45:737–741.

Steffan-Dewenter I., Munzenberg U., Burger C., Thies C. in Tschardt T. 2002 Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology* 83:1421–1432.

Stutz S., Entling M.H. in Martin H. 2011 Effects of the landscape context on aphid-ant-predator interactions on cherry trees. *Biol. Control* 57:37–43.

SURS – Statistični urad Republike Slovenije 2015
<https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/6467> - (dostop 22.1.2021).

SURS - Statistični urad Republike Slovenije 2020 -
<https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/9358> - (dostop 22.1.2021).

Tawfiq N., Heaney R.K., Plumb J.A., Fenwick G.R., Musk S.R., Williamson G. 1995 Dietary glucosinolates as blocking agents against carcinogenesis: glucosinolate breakdown products assessed by induction of quinone reductase activity in murine hepa1c1c7 cells. *Carcinogenesis* 16:1191–4.

Tian Q., Rosselot R. A., Schwartz S. J. 2005 Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, Brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 343: 93–99.

Timmons A.M., Charters Y.M., Crawford J.W. in sod. 1996 Risks from transgenic crops. *Nature* 380, 487.

Timmon, A. M., O'brien E. T., Charters Y. M., Dubbels S. J. in Wilkinson M. J. 1995 Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. In *The methodology of plant genetic manipulation: Criteria for decision making* (pp. 417–423). Springer, Dordrecht.

Tofanica B. M., Cappelletto E., Gavrilesco D., & Mueller K. 2011 Properties of rapeseed (*Brassica napus*) stalks fibers. *Journal of Natural Fibers*, 8(4), 241–262.

Treu R., Emberlin J. 2000 Pollen dispersal of the crops Maize (*Zea mays*), Oilseed rape (*Brassica napus*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugar beet (*Beta vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*). Bristol, University College, Soil Association: 54 str.

Tsonkova P., Boehm C., Quinkenstein A. in Freese D. 2012 Ecological benefits provided by alley cropping systems for production of woody biomass in the temperate region: a review. *Agrofor. Syst.* 85:133–152.

Ugrinović K. Časopis za tolmačenje znanosti, Kmetijski inštitut Slovenije, 2006 – <https://kvarkadabra.net/2006/02/rukola/> - (dostop 3.12.2020).

UNEP. Prevention and reduction of food and drink waste in businesses and households - Guidance for governments, local authorities, businesses and other organisations, Version 1.0. Reducing and preventing food and drink waste in businesses and households: A guidance document. 2014. ISBN: 978-92-807-3346-4, Job Number: DTI/1688/PA.

Van Engelsdorp D., Evans J.D., Saegerman C., Mullin C., Haubruge E., Nguyen B.K. in sod. 2009 Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS One* 4:e6481.

Van Horn L., McCoin M., Kris-Etherton P.M., Burke F., Carson J.A., Champagne C.M., Karmally W., Sikand G., 2008 The evidence for dietary prevention and treatment of cardiovascular disease. *J. Am. Diet. Assoc.* 108, 287–331.

Van Poppel G., Verhoeven D.T., Verhagen H., Goldbohm R.A., 1999 Brassica vegetables and cancer prevention. *Epidemiology and mechanisms. Adv. Exp. Med. Biol.* 472, 159–313.

Vang O., Frandsen H., Hansen K.T., Sorensen J.N., Sorensen H., Andersen O. Biochemical effects of dietary intakes of different broccoli samples. I. Differential modulation of cytochrome P-450 activities in rat liver, kidney, and colon. *Metabol - Clin Exp* 2001; 50 (10): 1123–1129.

Vang O., Rasmussen B.F., Sorensen H., Clausen J., Andersen O. Effects of dietary broccoli on antioxidant enzymes. *Clin Chem* 1995; 41 (12B): 1910–1911.

Vazquez D.P. & Aizen M.A. 2003 Null model analyses of specialization in plant–pollinator interactions. *Ecology* 84, 2493–2501.

Velasco P., Soengas P., Vilar M., Cartea M. E., Del Rio M. 2008 Comparison of glucosinolate profiles in leaf and seed tissues of different *Brassica napus* crops. *Journal of the American society for horticultural science*, 133(4), 551–558.

Verkerk R., Schreiner M., Krumbein A., Ciska E., Holst B., Rowland I., De Schrijver R., Hansen M., Gerhauser C., Mithen R., Dekker M. 2008 Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: 219–256.

Vig A.P., Rampal G., Singh T.S., Arora S. 2009 Bioprotective effects of glucosinolates- A review. *LWT Food Science and Technology* 42 1561–1572.

Villas-Bôas S., Roessner U., Hansen M., Smedsgaard J. in Nielsen J., *Metabolome analysis* (Wiley-Interscience, New Jersey, 2007).

Virgili F., Marino M., 2008 Regulation of cellular signals from nutritional molecules: a specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 1205–1216.

Vuorela S., 2005 Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Academic presentation, University of Helsinki, Department of applied chemistry and microbiology, food chemistry, Helsinki.

Waser J., Watson William H. 1963 Kristalna struktura Sinigrina. *Narava*. 198 (4887): 1297–1298. doi:10.1038/1981297b0. ISSN 0028-0836.

Waser N.M., Chittka L., Price M.V., Williams N.M. & Ollerton J. 1996 Generalisation in pollination systems and why it matters. *Ecology* 77, 1043–1060.

Westrich P. 1996 Habitat requirements of central European bees and the problems of partial habitats. Pp. 1–16 in A. Matheson, S. L. Buchmann, C. O’Toole, P. Westrich and I. H. Williams, eds. *The Conservation of Bees*. Academic Press, London, U.K.

Whitehead D.R. 1983 Wind pollination: some ecological and evolutionary perspectives. *Pollination Biology* (ed. L. Real), pp. 97–108. Academic Press, Orlando, FL, USA.

Wilkinson M.J., Elliott L.J., Allainguillaume J. in sod. 2003 Hybridization between *Brassica napus* and *B. rapa* on a national scale in the United Kingdom. *Science* 302, 457–459.

Willmer P.G., Bataw A.A.M., Hughes J.P. 1994 The superiority of bumblebee to honeybees as pollinators—insect visits to raspberry flowers. *Ecol Entomol* 19(3):271–284.

WRAP, 2011, Resource Maps (RSC-008). Dostopno na naslovu: http://www.wrap.org.uk/sites/files/wrap/Resource_Map_Fruit_and_Veg_final_6_june_2011_fc479c40.10854.pdf - (dostop - 3.1.2021)

Xu Y., Li J., Shi Y., Yang L., Wang Z., Han H., Wang R. 2020 Stereoselective pharmacokinetic study of epiprogoitrin and progoitrin in rats with UHPLC–MS/MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113356.

Zakić M., 2013. -

http://www.medicina.hr/nutricionizam/clanci/fitokemikalije_u_sluzbi_zdravlja.htm

(dostop – 28.11.2020)

Zdešar P. in sod., 2011 Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 2, Brdo pri Lukovici, Čebelarska zveza Slovenije: 512 str.

Zhang Y. Cancer chemoprevention with sulforaphane, a dietary isothiocyanate. In: *Phytochemicals in health and disease*, Bao Y, Fenwick GR, eds. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2004. pp. 121–142.

Zhang Y., Talalay P. 1994 Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: chemistry and mechanisms. *Cancer Res* 54:1976–1981.

Zhou W., Zhang X.Y., Research progress of Chinese herbal medicine *Radix isatidis* (banlangen), *Am. J. Chin. Med.* 41 (4) 2013, 743–764.

Zukalova H., Vasak, J. 2002 The role and effects of glucosinolates of *Brassica* species- a review. *Rostlinna Vyroba* 48 (4): 175–180.

Žitnik M., Vidic, T. 2016 Hrana med odpadki. Statistični urad Republike Slovenije.

Žorž, M. 1991. HPLC. Samozaložb

PRILOGE

PRILOGA A: Identificirani glukozinolati v semenih oljne ogrščice.

Vzorec	IME	SIGNAL	RETENZIJSK ČAS	M/z	FRAGMENTI	SIGNAL	RAZMERJE	
Vzorec 1 2019 (1a1)	2-hidroksi - 3- butenil glukozinolat (progoitrin)	52005	1.607	388, 0388	95.9503	486.76	3.219903	DA
					96.9593	1567.32		
					95.9516	981.91	1.6142314	NE
					96.9584	1585.03		
					95.9513	902.61	1.1312527	NE
					96.9595	1021.08		
	2- hidroksi-4- pntenil glukozinolat (glukonapolif- erin)	18610	1.784	402, 0534	95.9484	191.34	1.7580746	DA
					96.9560	336.39		
					95.9505	254.03	/	NE
					/	/	/	
					95.8874	62.86	1.3359847	NE
					95.9523	466.97	0.1798402	NE
					96.9583	83.98		
	p- hidroksibenz il	28235	2.072	424,0 382	95.9528	78.89	2.5205983	DA

	glukozinolat (sinalbin)							
					96.9591	198.85		
					95.9505	142.77	1.5887792	NE
					96.9559	226.83		
					95.9523	241.5		
					96.9574	95.72	0.3963561	NE
					96.7323	94.91	0.3930021	NE
	2-hidroksi-4- pentenil glukozinolat (glukonapolif- erin)	167188	2.265	402, 0541	95.9505	143.56	6.8338674	NE
					95.9547	165.85	5.9154055	NE
					96.959	981.07		
					95.9521	547.26	1.9685524	DA
					96.9592	1077.31		
					95.9514	723.75	1.0592608	NE
					96.9591	766.64		
	2-hidroksi-4- pentenil glukozinolat (glukonapolif- erin)	46454	2.419	402, 0543	95.9485	68.04	5.1557907	NE
					95.9539	127	2.7622047	DA
					96.9557	350.8		
					95.9511	261.67	1.8817595	NE
					96.9604	492.4		

					95.9478	89.17	0.2827184	NE
					95.9548	61.25	0.4115918	NE
					96.9535	25.21		
					96.9581	106.68	1.1963665	NE
							1.7417143	NE
	3-butenil glukozinolat (glukonapin)	75915	2.620	372, 0437	95.9512	1979.97	1.7284757	DA
					96.9591	3422.33		
					95.9516	2441.55	1.3351887	NE
					96.9592	3259.93		
					95.9513	2805.42	0.6781017	NE
					96.9595	1902.36		
	4-penteniil glukozinolat	52496	4.507	386, 0593	95.9518	882.83	1.9907797	DA
					96.9596	1757.52		
					95.9511	1545.33	1.0565963	NE
					96.9594	1632.79		
					95.9479	109.86	1.0105484	NE
					95.9523	1221.39	1.0105021	NE
					96.96	984.44		
	(2R)-2- hidroksi-2- (4- hidroksifeni l)etil glukozinolat	56552	4.515	454,0 458	95.9488	171.96	1.2344731	NE

					96.9555	212.28		
					95.9476	164.54	1.3862283	DA
					96.9562	228.09		
					95.9519	254.73	/	NE
					/	/		
	2-feniletil glukozinolat (glukonasturt- in)	137916	5.902	422, 0592	95.9484	74.37		
					96.9527	69.27	0.931424	NE
					96.9594	299.93	4.0329434	DA
					95.9483	108.29	2.9880875	NE
					96.9577	323.58		
					95.9515	411.84		
					96.9544	129.07	0.3133984	NE
					96.9620	113.78	0.2762723	NE
	3- metilpentil glukozinolat	38563	6.729	402, 0910	95.9523	126.37	1.455567	NE
					96.9628	183.94		
					95.9535	335.43	1.9382584	DA
					96.9605	650.15		
					95.9555	224.58	0.5232434	NE
					96.9559	117.51		
	3- metilpentil glukozinolat	20236	7.011	402,0 912	/	/		

					96.9619	249.43	/	NE
					95.9537	192.15	1.9277648	DA
					96.9614	370.42		
Vzorec 1 2019 (1a2)	2-hidroksi-3-butenil glukozinolat (progoitrin)	51895	1.618	388,0392	95.9512	1233.08	2.7017306	NE
					96.9588	3331.45		
					95.9512	1794.57	1.7724636	DA
					96.9589	3180.81		
					95.9511	1894.56	0.965269	NE
					96.9588	1828.76		
	2-hidroksi-4-pentenil glukozinolat (glukonapoliferin)	28756	1.798	402,0528	95.9495	208.86	1.4970315	DA
					96.9539	312.67		
					95.9449	235.79		
					96.9515	121.31	0.5144832	NE
					96.9574	164.29	0.6967641	NE
					95.9481	420.09	0.3489966	
					96.9581	146.61		
	4 p-hidroksibenil glukozinolat (sinalbin)	29954	2.065	424,0379	95.9489	157.14	1.4151075	NE

	(2R)-2-hidroksi-2-(4-hidroksifenil)etil glukozinolat	46953	4.512	454,0468	95.9516	54.44	1.0791697	NE
					96.9603	58.75		
					95.9479	64.81	5.9933652	DA
					95.9564	236.52	1.6422713	NE
					96.9589	388.43		
					95.95	219.33	0.9046642	NE
					96.9574	198.42		
	4-pentenil glukozinolat	262490	4.528	386,0599	95.9524	1110.16	1.7217698	DA
					96.9597	1911.44		
					95.9520	1486.37	1.3448267	NE
					96.9599	1998.91		
					95.9525	1240.72	0.8455252	NE
					96.9609	1049.06		
	2-feniletil glukozinolat (glukonasturtin)	118914	5.908	422,0596	95.9511	222.72		
					96.9528	71.95	0.3230514	NE
					96.96	806.59	3.6215427	DA
					95.9525	859.23	0.4832001	NE
					96.9572	415.18		
					95.9511	550.57	1.1944712	NE

(17b1)	3-butenil glukozinolat (glukonapin)	5429	2.654	372, 0434	95.9442	45.01	15.914908	NE
					96.9552	716.33		
					95.9486	116.69	2.1028366	DA
					96.9563	245.38		
(17b2)	3-butenil glukozinolat (glukonapin)	4521	2.649	372, 0448	95.9525	225.52	0.1602075	NE
					96.9735	36.13		
vzorec13 serija13 (13A1) 2020	2-hidroksi-3- butenil glukozinolat (progoitrin)	168540	1, 6100	388, 0381	95.9511	162.9	7.2965623	NE
					96.9595	1188.61		
					95.9518	506.27	2.528868	DA
					96.9593	1280.29		
					95.9512	745.37	0.8647249	NE
					96.96	644.54		
	3-butenil glukozinolat (glukonapin)	193159	2.767	372, 0431	95.9527	896.57	1.0102613	NE
					96.9613	905.77		
					95.9534	876.01	1.3030217	DA
					96.9618	1141.46		
					95.9547	1308.7	0.6564071	NE

					96.9613	859.04		
vzorec13	2-hidroksi-3-	195993	1.613	388,	95.9514	402.77	2.8000844	DA
serija 13	butenil			0378				
(13A2)	glukozinolat							
2020	(progoitrin)				96.96	1127.79		
					95.9513	883.6	1.2811566	NE
					96.9594	1132.03		
					95.9514	568.73	1.341234	NE
					96.9575	762.8		
	3-butenil	193306	2.767	372,	95.9516	487.65	2.7640111	DA
	glukozinolat			0449				
	(glukonapin)				96.9606	1347.87		
					95.9532	953.7	1.4237915	NE
					96.9605	1357.87		
					95.9518	1029.32	0.6950414	NE
					96.9589	715.42		
vzorec	2-hidroksi-3-	218113	1.61	388,	95.9520	1050.87	1.8985127	NE
13	butenil			0382				
serija	glukozinolat							
2020	(progoitrin)				96.9585	1995.09		
					95.9515	1163.55	2.1230802	DA
					96.9591	2470.31		
					95.9517	1248.36	1.085376	NE
					96.9593	1354.94		

	2-hidroksi-4-pentenil glukozinolat (glukonapoliferin)	151349	2.417	402,0548	95.9491	355.29	2.6781784	DA
					96.9581	951.53		
					95.9512	704.36	1.241865	NE
					96.9570	874.72		
					95.9502	607.96	1.2929798	NE
					96.9587	786.08		
	2-hidroksi-4-pentenil glukozinolat (glukonapoliferin)	42877	2.599	402,0562	95.9510	53.91	4.9293267	DA
					96.9615	265.74		
	3-butenil glukozinolat (glukonapin)	248969	2.793	372,0437	95.9522	2103.92	1.9741102	DA
					96.9595	4153.37		
					95.9513	2676.64	1.4173479	NE
					96.9590	3793.73		
					95.9512	3377.34	0.5306188	NE
					96.9594	1792.08		
	Butil glukozinolat	47666	4.139	374,0606	95.9534	263.25	1.6905603	DA
					96.9579	445.04		

					95.9497	175.07		
					96.0051	221.23	1.263666	NE
					96.0428	29.17	0.1666191	NE
					96.9564	264.75	1.5122522	NE
vzorec 13	2-hidroksi-3-	200939	1.606	388,	95.9511	819.57	2.0405335	DA
serija 14	butenil			0378				
(14A2)	glukozinolat							
2020	(progoitrin)							
					96.9590	1672.36		
					95.9513	1026.24	1.5072303	NE
					96.9587	1546.78		
					95.9519	863.31	1.2590842	NE
					96.9589	1086.98		
	2-hidroksi-4-	157086	2.416	402,	95.9517	498.12	0.1769855	NE
	pentenil			0550				
	glukozinolat							
	(glukonapolif-							
	erin)							
					96.9610	88.16		
					95.9524	426.74	2.2332334	DA
					96.9596	953.01		
					95.9516	832.38	0.7741176	NE
					96.9607	644.36		
	3-butenil	247053	2.795	372,	95.9522	1927.18	1.4867682	DA
	glukozinolat			0435				
	(glukonapin)							
					96.9605	2865.27		
					95.9519	2611.92	1.1469723	NE
					96.9598	2995.8		
					95.9525	2171.49	0.6736895	NE
					96.9596	1462.91		
	Butil	46226	4.134	374,	95.9491	392.84	0.6516648	NE
	glukozinolat			0601				
					96.9623	256		
					95.0653	270.09	1.2257396	DA
					95.9541	375.21	0.8823326	NE
					96.9580	331.06		

PRILOGA B: *Iskani glukozinolati.*

Ime	Formula	M
3-metilsulfinilpropil glukozinolat (glukoiberin)	C11 H20 NO10 S3	422,5 g/mol
4-metilsulfinilbutilglukozinolat (glukorafanin)	C12 H22 NO10 S3	436,5 g/mol
6-metilsulfinilheksil glukozinolat (glukoheesperalin)	C14 H26 NO10 S3	464,6 g/mol
7-metilsulfinilheptil glukozinolat	C15 H28 NO10 S3	478,6 g/mol
4-metiltiobutil glukozinolat (glukoerucin)	C6 H11 NS2	421,5 g/mol
4-hidroksibutil glukozinolat	C11 H21 NO10 S2	391,1 g/mol
2-propenil glukozinolat (sinigrin)	C10 H17 NO9 S2	359,4 g/mol
3-butenil glukozinolat (glukonapin)	C11 H19 NO9 S2	373,4 g/mol
4-pentenil glukozinolat (glukobrasikanapin)	C12 H21 NO9 S2	378,4 g/mol
2-hidroksi-3-butenil glukozinolat (epiprogoitrin)	C11 H19 NO10 S2	389,4 g/mol
2-hidroksi-4-pentenil glukozinolat (glukonapoliferin)	C12 H21 NO10 S2	403,4 g/mol
benzil glukozinolat (glukotropaeolin)	C14 H18 NO9 S2	408,4 g/mol
p-hidroksibenzil glukozinolat (sinalbin)	C14 H19 NO10 S2	425,4 g/mol
2-feniletil glukozinolat (glukonasturtin)	C15 H21 NO9 S2	423,5 g/mol
3-indolimetil glukozinolat (glukobrasicin)	C16 H20 N2 O9 S2	448,5 g/mol
(N-sulfoindol-3-il)metil glukozinolat (sulfoglukobrasicin)	C16 H20 N2 O12 S3	528,01784 g/mol
4-merkaptobutil glukozinolat	C11 H21 NO9 S3	407,03784 g/mol
2-hidroksipropil glukozinolat	C10 H19 NO10 S2	377,04504 g/mol
Butil glukozinolat	C11 H21 NO9 S2	375,06577 g/mol
6-heptenil glukozinolat	C14 H25 NO9 S2	415,09707 g/mol
heksil glukozinolat	C13 H25 NO9 S2	403,09707 g/mol
3-fenilpropil glukozinolat	C16 H23 NO9 S2	437,08142 g/mol
4-metilpentil glukozinolat	C13 H25 NO9 S2	403,09707 g/mol
2-metilbutil glukozinolat	C12 H23 NO9 S2	389,08142 g/mol
2-metilpropil glukozinolat (izobutil glukozinolat)	C11 H21 NO9 S2	375,06577 g/mol
8-metiltiooktil glukozinolat	C16 H31 NO9 S3	477,11609 g/mol
7-metiltioheptil glukozinolat	C15 H29 NO9 S3	463,10044 g/mol
4-metiltiobutil-desulfoglukozinolat	C12 H23 NO6 S2	341,09668 g/mol
3-metiltiopropil-desulfoglukozinolat	C11 H21 NO6 S2	327,08103 g/mol
p-hidroksibenzildesulfoglukozinolat (desulfosinalbin)	C14 H19 NO7 S	345,08822 g/mol
indolimetil-desulfoglukozinolat (desulfoglukobrasicin)	C16 H20 N2 O6 S	368,10421 g/mol
1-pentenil glukozinolat	C12 H21 NO9 S2	387,06577 g/mol
3-metilpentil glukozinolat	C13 H25 NO9 S2	403,09707 g/mol
(2R)-2-hidroksi-2-(4-hidroksifenil)etil glukozinolat	C15 H21 NO11 S2	455,0556 g/mol
(2R)-2-hidroksi-2-feniletil glukozinolat	C15 H21 NO10 S2	439,06069 g/mol
2-(metiltio)etil glukozinolat (glukoviorilin)	C10 H19 NO9 S3	393,02219 g/mol
6-(metiltio)heksil glukozinolat (glukoleskuerelin)	C14 H27 NO9 S3	449,08479 g/mol
6-(metilsulfonyl)heksil glukozinolat	C14 H27 NO11 S3	481,07462 g/mol
3-metilbutil glukozinolat	C12 H23 NO9 S2	389,08142 g/mol
2-hidroksipentil glukozinolat	C12 H23 NO10 S2	405,07634 g/mol
pentil glukozinolat	C12 H23 NO9 S2	389,08142 g/mol
4-fenilbutil glukozinolat	C17 H25 NO9 S2	451,09707 g/mol
5-heksenil glukozinolat	C13 H23 NO9 S2	401,08142 g/mol