

Elementna analiza raštike (*Brassica oleracea* var. *acephala*) metodom atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu

Franjković, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:788926>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Karla Franjković

**ELEMENTNA ANALIZA RAŠTIKE
(*Brassica oleracea* var. *acephala*) METODOM
ATOMSKE EMISIJSKE SPEKTROMETRIJE
UZ INDUKTIVNO SPREGNUTU PLAZMU**

Diplomski rad

predložen Kemijskom odsjeku
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
radi stjecanja akademskog zvanja
magistre kemije

Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju Kemijskog odsjeka
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc.
Ive Juranović Cindrić i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Ivana Nemeta

Zahvala

Hvala mojoj mentorici dr. sc. Ivi Juranović-Cindrić i neposrednom voditelju dr.sc. Ivanu Nemetu na ukazanom povjerenju, stručnom vodstvu i podršci tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Hvala dr. sc. Branki Salopek Sondi na uzgojenim biljkama bez kojih izrada ovog rada ne bi bila moguća.

Hvala mojoj obitelji, prijateljima i Filipu na razumijevanju, ljubavi te riječima ohrabrenja u trenucima kada je bilo teško.

Sadržaj

SAŽETAK.....	VI
ABSTRACT	VII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Kupusnjače	2
2.2. Raštika	4
2.2.1. <i>Opis biljke i stanište.....</i>	<i>4</i>
2.3. Bijeli kupus	5
2.3.1. <i>Opis biljke.....</i>	<i>5</i>
2.3.2. <i>Uporaba bijelog kupusa.....</i>	<i>5</i>
2.4. Kineski kupus	6
2.4.1. <i>Opis biljke</i>	<i>6</i>
2.4.2. <i>Uporaba kineskog kupusa.....</i>	<i>7</i>
2.5. Esencijalni i toksični elementi.....	8
2.5.1. <i>Esencijalni elementi</i>	<i>8</i>
2.5.2. <i>Toksični elementi.....</i>	<i>10</i>
2.5.3. <i>Esencijalni i potencijalno toksični elementi ishrane biljaka.....</i>	<i>11</i>
2.5.4. <i>Salinizacija tla kao izvor abiotskog stresa.....</i>	<i>13</i>
2.6. Metode atomske spektrometrije za elementnu analizu kupusnjača.....	14
2.6.1. <i>Metoda atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu.....</i>	<i>14</i>
2.6.2. <i>Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu.....</i>	<i>16</i>
2.7. Primjena metode ICP-MS za elementnu analizu kupusnjača	17
2.8. Mikrovalno potpomognuto razaranje	19
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	20
3.1. Kemikalije.....	20
3.2. Opis instrumenta.....	20
3.2.1. <i>Metoda ICP-AES.....</i>	<i>21</i>
3.2.2. <i>Metoda ICP-MS</i>	<i>22</i>
3.3. Uzorci kupusnjača	23
3.3.1. <i>Postupak uzgoja i priprave raštike, bijelog i kineskog kupusa.....</i>	<i>23</i>
3.3.2. <i>Uzgoj klijanaca kupusnjača i solni tretman.....</i>	<i>23</i>
3.3.3. <i>Uzgoj kupusnjača u hidropnom sustavu i solni tretman</i>	<i>24</i>

3.4. Postupak za mikrovalno potpomognuto razaranje raštike, bijelog i kineskog kupusa	24
3.5. Elementna analiza raštike, bijelog i kineskog kupusa	25
3.6.1. Priprava kalibracijske krivulje.....	25
3.6.2. Točnost metode	25
3.6.3. Detekcijske granice	25
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	26
4.1. Validacija metode ICP- AES za elementnu analizu kupusnjača	26
4.1.1. Određivanje detekcijskih granica metode ICP-AES	26
4.1.2. Točnost metode za elementnu analizu kupusnjača.....	28
4.1.3. Osjetljivost metode za elementnu analizu kupusnjača	30
4.1.4. Preciznost metode za elementnu analizu kupusnjača	32
4.2. Razrada elementne analize kupusnjača	32
4.2.1. Raštika.....	32
4.2.2. Usporedba rezultata elementne analize raštike, kineskog i bijelog kupusa.....	40
§ 5. ZAKLJUČAK	26
§ 6. LITERATURNI IZVORI.....	45
§ 7. ŽIVOTOPIS	VIII



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

ELEMENTNA ANALIZA RAŠTIKE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) METODOM ATOMSKE EMISIJSKE SPEKTROMETRIJE UZ INDUKTIVNO SPREGNUTU PLAZMU

Franjković Karla

Sadržaj mikro- i makroelemenata određen je metodom atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu u uzorcima kupusnjačama. Utjecaj solnog stresa na sadržaj elemenata raštike, bijelog i kineskog kupusa određen je usporedbom sadržaja kontrolnih uzoraka s uzorcima koji su pri uzgoju tretirani s NaCl. Uzorci su razoreni u uređaju za mikrovalno potpomognuto razaranje s dušičnom kiselinom i vodikovim peroksidom. Nakon optimizacije i validacije metode ICP-AES u uzorcima je određena koncentracija Al, Ca, K, Mg, Na, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V i Zn. Točnost metode određena je na temelju analitičkog povrata (93,1 - 117,4 % za list raštike, 92,3 - 112,0 % za list raštike tretiran s NaCl, 96,1 - 122 % za list kineskog kupusa i 67,5 - 90,2 % za list kineskog kupusa). Detekcijske granice su za većinu elemenata manje od $1 \mu\text{g g}^{-1}$, osim za Al i Ba za koje su određene između 1 i $2 \mu\text{g g}^{-1}$. Makroelementi (mg g^{-1}) određeni u uzorcima kupusnjača su: Al, Ca, K, Mg i Na, a mikroelemenata ($\mu\text{g g}^{-1}$) su: B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V i Zn. Maseni udio mikro- i makroelemenata razlikuje se u različitim biljnim organima (list i korijen) te u uzorcima kupusnjača uzgojenih sa i bez solnog stresa.

(47 stranica, 16 slika, 16 tablica, 51 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: kupusnjače, ICP- AES, ICP- MS, mikroelementi, makroelementi

Mentor: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Neposredni voditelj: Dr. sc. Ivan Nemet

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić.
2. prof. dr. sc. Željka Soldin.
3. prof. dr. sc. Ines Primožič

Zamjena: izv. prof. dr. sc. Sanda Rončević

Datum diplomskog ispita: 18. veljače 2020.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

ELEMENTAL ANALYSIS OF THE KALE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) BY INDUCTIVELY COUPLED PLASMA EMISSION SPECTROMETRY (ICP- AES)

Franjković Karla

In order to study, whether salinity has also an influence on metal accumulation, the contents of selected micro- and macroelements were determined by ICP-AES in white kale, cabbage, and Chinese cabbage. The samples (roots and leaves of treated and non-treated plants) were digested using nitric acid in a microwave assisted digestion system. After optimization and validation of the analytical method, the contents of Al, Ca, K, Mg, Na, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V, and Zn were determined. The trueness was determined based on recovery; 93.1 % - 117.4 % for kale leaf, 92.3 % - 112.0 % for NaCl treated kale leaf, 96.1 % - 172.1 % for Chinese cabbage leaf, and 67.5 % - 90.2 % for NaCl treated Chinese cabbage leaf. All limits of detection are less than $1 \mu\text{g g}^{-1}$, except for Al and Ba whose limits of detection were between 1 and $2 \mu\text{g g}^{-1}$. The macroelements Al, Ca, K, Mg and Na were determined to be present in mg g^{-1} range. The microelements B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V, and Zn were found in contents of $\mu\text{g g}^{-1}$. The plant part i.e. root or leaf, as well as treatment showed to significantly influence the metal content.

47 pages, 16 figures, 16 tables, 51 references, original in Croatian

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: Brassicaceae, ICP- AES, ICP- MS, minor and major elements

Mentor: Dr. sc. Iva Juranović Cindrić, Full Prof.

Assistant mentor: Dr. Ivan Nemet

Reviewers:

1. Dr. Iva Juranović Cindrić, Full Prof.
2. Dr. Željka Soldin, Full Prof.
3. Dr. Ines Primožić, Full Prof.

Substitute: Dr. Sanda Rončević, Assoc. Prof.

Date of exam: 18.02.2020.

§ 1. UVOD

Kupusnjače (Brassicaceae) čine raznoliku i iznimno veliku skupinu široko konzumiranog povrća, a uzgajaju se u cijelom svijetu.¹ Zapisi iz 3000. g. pr. Kr. pokazuju da su kultivare poput kupusa, brokule i kelja (rod *Brassica*) činile značajan dio ljudske prehrane kroz povijest. Neke su epidemiološke studije dokazale povoljan utjecaj povrća iz porodice Brassicaceae na smanjenje rizika od pojave kardiovaskularnih bolesti i različitih vrsta karcinoma.^{2,3,4,5}

Raštika (*Brassica oleracea L. var. acephala*), bijeli kupus (*B. Oleracea L. var. capitata*) i kineski kupus (*Brassica rapa ssp. pekinensis*) ubrajaju se u kupusnjače koje su važan dio zdrave prehrane, a koriste se i u tradicionalnoj medicini.⁶

Cilj ovog diplomskog rada jest elementna analiza raštike, bijelog i kineskog kupusa. Osušeni dijelovi biljaka (korijen i list) usitnjeni su i razoreni metodom mikrovalno potpomognutog razaranja s dušičnom kiselinom i vodikovim peroksidom. Elementni sastav uzoraka određen je metodama atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES) i spektrometrijom masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS).

Povišeni salinitet tla je jedan od glavnih izvora abiotskog stresa i uzrokuje smanjenje prinosa poljoprivrednih kultura, a zbog klimatskih promjena predstavlja sve veći problem. Kako bi se istražilo utječe li salinitet na sadržaj elemenata pri uzgoju raštike, bijelog i kineskog kupusa, sadržaj elemenata kupusnjača uspoređen je u uzorcima koji su pri uzgoju podvrgnuti solnom stresu (tretirani s NaCl) s uzorcima koji su uzgojeni bez dodanog NaCl.

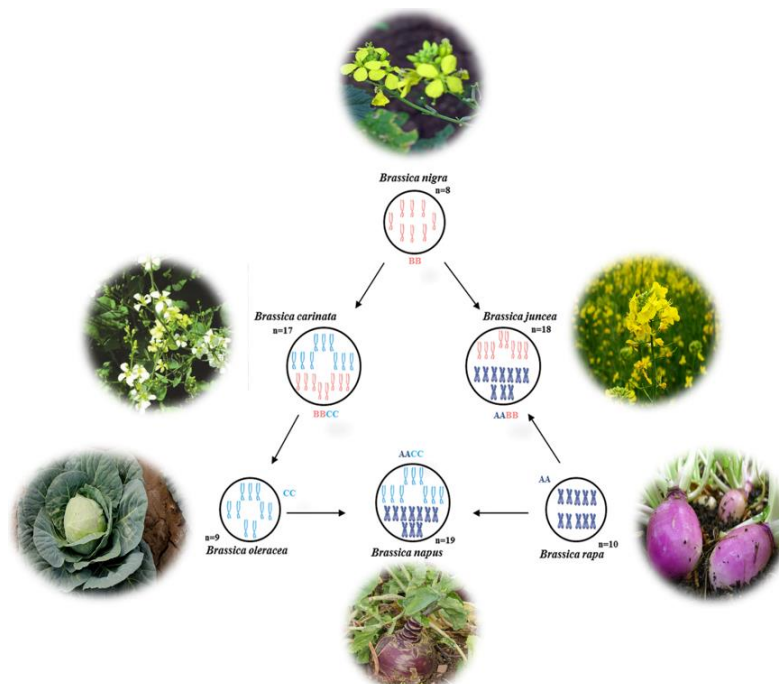
§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Kupusnjače

Kupusnjače (Brassicaceae), poznate i pod imenom krstašice (Cruciferae) velika su i ekonomski značajna porodica povrća, duboko ukorijenjena i stoljećima prisutna u ljudskoj prehrani. Neke od vrsta koje se najviše konzumiraju su kelj (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), brokula (*Brassica oleracea* var. *italica*) i bijeli kupus (*Brassica oleracea* var. *capitata*).⁷

Starost porodice kupusnjača procijenjena je na oko 37 milijuna godina, a izvorno potječe s iransko-turanskog prostora s kojega je, vremenom rasprostranjena po ostatku svijeta. Porodica je monofilgenska skupina koja broji 338 poznatih rodova te oko 3709 biljnih vrsta rasprostranjenih diljem svih naseljenih kontinenata. Biljke se odlikuju velikom raznolikošću u morfologiji vegetativnih dijelova, a područja s visokom stopom biološke raznolikosti obuhvaćaju europski mediteranski pojas, središnju i zapadnu Aziju te zapadnu i sjevernu Ameriku.⁸

Podrijetlo šest najvažnijih vrsta *Brassica* (*B. nigra*, *B. carinata*, *B. oleracea*, *B. napus*, *B. rapa* i *B. juncea*) objašnjeno je teorijom U-trokuta kako je prikazano na Slici 1.



Slika 1. Odnosi vrsta roda *Brassica* prema teoriji U-trokuta.⁹

Genomi ranije navedenih vrsta tako su podijeljeni na tri glavna genoma (A, B i C), a koji su organizirani u diploide (AA, BB i CC) te alotetraploide (AABB, AACC i BBCC). Za razliku od genoma A i C koji su slični, genom B se značajno razlikuje. Diploidni genomi A, B i C postoje zasebno, no zbog uske povezanosti podrijetlom moguće je njihovo križanje. Prirodnom hibridizacijom između takvih diploidnih vrsta, razvijene su digenomske alotetraploidne vrste (*B. carinata*, *B. napus* i *B. juncea*).¹⁰

Općenito, kupusnjače imaju osim vlakana i veliki udio vitamina i esencijalnih elemenata

Tablica 1. Sadržaj vrsta iz porodice kupusnjača³

	Brokula	Kelj pupčar	Kupus	Cvjetača	Raštika
Voda (g)	89,3	86	92,18	92,07	84,04
Energija (kkal)	34	43	25	25	49
Bjelančevine(g)	2,82	3,38	1,28	1,92	4,28
Ukupno masti (g)	0,37	0,3	0,1	0,28	0,93
Ugljikohidrati (g)	6,64	8,95	5,8	4,97	8,75
Vlakna (g)	2,6	3,8	2,5	2	3,6
Šećer (g)	1,7	2,2	3,2	1,91	2,26
Minerali					
Kalcij (mg)	47	42	40	22	150
Željezo (mg)	0,73	1,4	0,47	0,42	1,47
Manezij (mg)	21	23	12	15	47
Fosfor (mg)	66	69	26	44	92
Kalij (mg)	316	389	170	299	491
Natrij (mg)	33	25	18	30	38
Cink (mg)	0,41	0,42	0,18	0,27	0,56
Selenij (µg)	2,5	1,6	0,3	0,6	0,9
Vitamini					
C (mg)	89,2	85	36,6	48,2	120
Tiamin (mg)	0,071	0,139	0,061	0,05	0,11
Riboflavin (mg)	0,117	0,09	0,04	0,06	0,13
Niacin (mg)	0,639	0,745	0,234	0,507	1
B₆ (mg)	0,175	0,219	0,124	0,184	0,271
Folna kiselina (µg)	63	61	43	57	141
A (IU)	623	754	98	0	9990
E (mg)	0,7	0,88	0,15	0,08	1,54
K (µg)	101,6	177	76	15,5	704,8

Kupusnjače su bogate vitaminima C i E te karotenoidima koji mogu spriječiti ili pomoći pri liječenju degenerativnih i malignih bolesti, osobito onih povezanih sa sustavom organa za probavu, a zapažena je i njihova uloga pri liječenju različitih probavnih tegoba.^{11,12} Također, istraživanja su pokazala pozitivan utjecaj povrća iz roda *Brassica* pri smanjivanju rizika od kardiovaskularnih bolesti jer sadrže veliku količinu folata.¹³

Ljekovita svojstva kupusnjača uključuju antioksidativno, protuupalno i zaštitno djelovanje, a povezana su s različitim vrstama biološki aktivnih spojeva poput glukozinolata, polifenola i karotenoida, koje sadrže u velikom udjelu.^{3,14,15}

Jedna od najvažnijih bioaktivnih spojeva u kupusu je sinapinska kiselina. Ova fenolna kiselina pokazuje jako antioksidativno i protuupalno djelovanje, smanjuje odumiranje moždanih stanica pa se smatra dobrim sredstvom za zaštitu mozga. Nedavna istraživanja su potvrdila pozitivan utjecaj klica brokule pri ublaživanju boli, ali bez popratnih štetnih utjecaja često prisutnih pri terapiji bola analgeticima.¹⁶

Sadržaj fitonutrijenta većine kupusnjača je podjednak. Fitonutrijenti su skupina biološki aktivnih nehranjivih tvari iz biljaka koje nisu neophodne za funkcioniranje organizma, no pomažu u sprječavanju bolesti, djeluju preventivno i održavaju ispravno funkcioniranje našeg organizma.³

2.2. Raštika

2.2.1. Opis biljke i stanište

Raštika (*Brassica oleracea* var. *acephala*) je povrće iz porodice krstašica koje pripada skupini Acephala, a okarakterizirana je lišćem duž stabljike (Slika 2).



Slika 2. Raštika (*Brassica oleracea* var. *acephala*).

Na uzorku od 127 biljaka s područja crnomorske regije u Turskoj u razdoblju između 2001. i 2004. godine, utvrđene su morfološke karakteristike kao što su tamnozeleno boja lista duljine u rasponu od 15,9 do 21,9 cm, širine u rasponu od 10,4 do 13,2 cm te debljine u rasponu od 0,26 do 0,35 cm.¹⁷

Raštika zauzima važno mjesto u prehrani stanovništva diljem Europe, Amerike i Azije. Znanstvena istraživanja podupiru činjenicu kako prehrana krstašicama ima pozitivan utjecaj na zdravlje ljudi. Posljednjih je godina raštika prepoznata kao izvanredno hranjiva i zdrava te se ubraja u tzv. „superhranu“. Neki od razloga za pojačani interes za raštiku jesu jednostavan i jeftin uzgoj te otpornost na nepovoljne klimatske uvjete. U Hrvatskoj je uzgoj raštike uglavnom vezan za otoke i šire obalno područje istočnog Jadrana. Tradicionalno je uzgajana od strane seljaka, uglavnom za obiteljske potrebe, kao ljudska ili životinjska hrana.

S obzirom na sve veću upotrebu raštike u prehrani, provedeno je nekoliko *in vivo* bioloških studija kojima je dokazan antioksidacijski i antikancerogeni učinak. Još uvijek nije potpuno objašnjena *in vivo* biološka aktivnost biljaka iz skupine Acephala, ali je u usporedbi s ostalim kupusnjačama u njima određena veća koncentracija kalcija, fosfata, riboflavina te vitamina A, C i K.¹⁸

2.3. Bijeli kupus

2.3.1. Opis biljke

Bijeli kupus (*Brassica oleraceae* var. *capitata* f. *alba*) je zeljasta dvogodišnja biljka (Slika 3).



Slika 3. Bijeli kupus (*Brassica oleraceae* var. *capitata* f. *alba*).

Dixon je dao opis sadnice kupusa s tankim kotiledonom u obliku repa i srca. Prvi su listovi jajolikog oblika s lučnom peteljkom. Početni listovi tvore oblik rozete, nakon čega dolazi do razvijanja novih listova kupusa s kraćim peteljkaama te se listovi tako krenu savijati prema unutra stvarajući taj specifični oblik glave. Tako formirane glave kupusa variraju u težini od 0,5 do 4 kg, a boje mogu biti od bijele do blijedozelene ili zelene. Iste se uglavnom razvijaju tijekom prve godine, dok se cvatnja i proizvodnja sjemena najčešće događaju u drugoj godini životnog ciklusa biljke. Cvat bijelog kupusa doseže visinu od 50-100 cm, a cvjetovi su bijeli i žuti, dvospolni, pravilni, karakterističnoga izgleda za krstašice, s četiri latice smještene okomito (u križ). Šest je prašnika, a dva su im na kraćim prašničkim nitima.¹⁹

2.3.2. Uporaba bijelog kupusa

U kulturi i tradicionalnoj kuhinji brojnih zemalja diljem svijeta, bijeli kupus zauzima važno mjesto. Pripada među najstarije kultivirane biljke, a uzgoj kupusa seže daleko u povijest. Točnu povijest bijelog kupusa je gotovo nemoguće utvrditi, ali prema sanskrtskim zapisima usjevi roda *Brassica* korišteni su još u Indiji 3000. g. pr. Kr. Zbog pristupačne cijene i široke dostupnosti, kupus se danas ističe kao važan izvor fitonutrijenata u prehrani ljudi. Konzumira se sirov, kuhan ili kao fermentirani proizvod. Sirov se može skladištiti kroz dulje razdoblje pa je tako dostupan kroz čitavu godinu. Istraživanje fitonutrijenata bijelog kupusa usmjereno je na dobro poznate spojeve s pozitivnim učinkom na zdravlje poput glukozinolata, polifenola i raznih vitamina povezanih s antikancerogenim i antioksidativnim svojstvima.^{3,20}

2.4. Kineski kupus

2.4.1. Opis biljke

Kineski kupus (*Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*) je, kako mu samo ime kaže, podrijetlom iz Kine (Slika 4).



Slika 4. Kineski kupus (*Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*).

Pretpostavlja se kako je dobiven križanjem kineskog tipa s juga i repe sa sjevera Kine. S obzirom na sklonost stvaranju uskih, kompaktnih glava unutarnjih listova, uglavnom ih se dijeli na vrste glavice i lastavice. Vrsta glavica jest među najraširenijim i najvažnijim povrćem u istočnoj Aziji. Na sjeveru Kine čini više od četvrtine ukupne godišnje potrošnje povrća. Posljednjih se godina kineski kupus uzgaja diljem svijeta kao važna povrtna kultura i to u obliku većinom jednogodišnje ali i dvogodišnje biljke. Kineski kupus ima uspravnu glavu, bilo od čvrsto prekrivenog lišća ili ponekad labavije glave od više odvojenih listova. Oblik i veličina izrazito se razlikuju između sorti, a težina same glave je između 1,4 i 4,5 kg. Boja listova u srcu glavice je kremasto bijela, a boja vanjskih listova varira od svijetlo do tamnozeleno. Također, poznajemo različite vrste glava prema oblicima, od visokih cilindričnih oblika visine 35-45 cm i promjera 10-15 cm, do bačvastih kultivara visine 20-25 cm i promjera 15-23 cm.²¹

2.4.2. Uporaba kineskoga kupusa

Kineski kupus se stoljećima koristio u prehrani većinom azijskog stanovništva. Jede se sirov ili lagano obrađen, kuhanjem ili prženjem. Zanimljiva je činjenica kako se više od 90% kineskog kupusa uzgojenog u Koreji koristi za pripremu Kimchija, fermentiranog priloga kojeg tijekom čitave godine jede gotovo svaka obitelj. Ono što kineski kupus čini važnim u prehrani je veliki udio vitamina A, C, D i K. Sadrži znatne količine folne kiseline i vitamina B6, važnih pri smanjenju rizika od bolesti srca te u metabolizmu ugljikohidrata, masti i proteina. Također, zbog velikog udjela karotenoida, osobito betakarotena, pokazuje antioksidacijska svojstva i

smanjuje rizik od pojave mnogih vrsta karcinoma. Od elemenata, kineski kupus obiluje kalcijem i kalijem, a odličan je izvor i dijetalnih vlakana. Kao i ostalo povrće iz porodice Brassicaceae, sadrži i značajan udio glukozinolata.²¹

2.5. Esencijalni i toksični elementi

Elementi su posvuda oko nas i u organizam ulaze na različite načine, hranom i vodom, disanjem ili apsorpcijom preko kože. Elementi koji se u ljudskom organizmu nalaze u količini manjoj od 100 mg, nazivaju se mikroelementi ili elementi u tragovima, a makroelementi svi prisutni elementi s masom većom od 100 mg.

Prema učinku u ljudskom tijelu elementi se mogu podijeliti na: one koji su dokazano esencijalni, esencijalne ali pri većim koncentracijama toksične, toksične i neutralne elemente. U neutralne elemente se ubrajaju oni elementi, koji se nalaze u ljudskom tijelu ali o njihovim biološkim učincima ne postoje izravni dokazi. Esencijalni elementi su nužno potrebni ljudskom organizmu, a njihov premali unos može narušiti zdravlje ljudi i uzrokovati patološke promjene. Toksični elementi nemaju nikakvu fiziološku ulogu i opasni su u najmanjim koncentracijama. Treba napomenuti kako je prevelika količina bilo kojega elementa toksična i štetna za ljude.²²

2.5.1. Esencijalni elementi

U skupinu esencijalnih makroelemenata pripadaju: cink, željezo, bakar, mangan, fluor, krom, selen, jod i molibden.²²

Kalcij i magnezij su makroelementi potrebni za pravilan razvoj koštanog i strukturnog tkiva, a također imaju važnu ulogu u apsorpciji glukoze i proteina. Kalcij, kao najzastupljeniji element u ljudskom organizmu, važan je za održavanje ukupnog zdravlja tijela. Ljudsko tijelo sadrži oko 2 % kalcija, a od toga se 98 % nalazi u kostima. Stanične i tjelesne tekućine sadrže 10-15 mg kalcija na 100 mg. Ovaj element je potreban za održavanje jakih kosti i zuba tijekom cijeloga života, za zgrušavanje krvi i pravilno funkcioniranje živaca i mišića. Većina ljudi dovoljnu količinu kalcija unese hranom, najviše mlijekom i mliječnim proizvodima, zelenim lisnatim povrćem, orašastim plodovima te plodovima mora. Svakodnevno se mora unijeti oko 700 mg, a veće potrebe za kalcijem imaju trudnice, djeca, adolescenti te dojenčad za rast i formiranje kostiju. Povrće iz roda *Brassica* sadrži veliki udio kalcija u rasponu od 22 – 150 mg/100 g.^{3,23}

Magnezij je nakon kalcija, natrija i kalija najzastupljeniji element u ljudskom tijelu i drugi najčešći unutarstanični kation. Sudjeluje kao kofaktor u više od 300 enzimskih reakcija i potencijalno može vezati s 3571 ljudskih proteina. Kao kation, sudjeluje u reakciji ATPaze, važan je u membranskom transportu i anaerobnoj fosforilaciji, a zalihe magnezija nalaze se unutar mitohondrija. U odrasloj osobi prosječne težine 70 kg, ukupne tjelesne zalihe magnezija su 24 - 25 grama, raspoređene u kostima (53 %), mišićima (27 %), mekim tkivima (19 %) i u krvi manje od 1 %. Povrće iz roda *Brassica* sadrži veliki udio magnezija u rasponu od 11 - 47 mg/100 g.^{3,24}

Kalij je najzastupljeniji unutarstanični kation, prisutan je u mnogim namirnicama ili dostupan kao dodatak prehrani. Nalazimo ga u svim tjelesnim tkivima, potreban je za normalno funkcioniranje stanica, pravilan prijenos živaca, kontrakciju mišića i rad bubrega. Zajedno s natrijem ima važnu ulogu u održavanju volumena unutarstanične tekućine te membranskog elektrokemijskog gradijenta. Ukupna količina kalija u odraslom tijelu je oko 45 mmol/kg tjelesne težine. Većina kalija nalazi se unutar stanica, a mala količina u izvanstaničnoj tekućini. Koncentracija kalija unutar stanice je oko 30 puta veća od koncentracije izvan nje, što daje transmembranski elektrokemijski gradijent koji se održava preko natrij-kalijeve prijenosne ATPaze. Povrće iz roda *Brassica* sadrži veliki udio kalija u rasponu od 170 - 491 mg/100 g.^{3,25}

Natrij je neophodan za ravnotežu vode u tijelu, provođenju živčanih impulsa te stezanju i opuštanju mišića. Potrebno je unijeti oko 500 mg natrija dnevno, a veće količine povećavaju rizik od kardiovaskularnih bolesti, osteoporoze, kronične bolesti bubrega te karcinoma želuca.²⁶

Klor je halogeni element koji se pojavljuje u različitim oblicima i različitim tvarima. Najčešće se unosi s kuhinjskom soli čija prevelika količina može uzrokovati oštećenja. Smatra se kako bi unos NaCl od 0,5 g/kg izazvao znakove trovanja, a od 1 - 3 g po kg tjelesne težine vjerojatno bi bio smrtonosan.²⁷

Fosfor je esencijalan element čija je glavna uloga u ljudskom tijelu rast i obnova tjelesnih stanica i tkiva, sudjeluje u proizvodnji energije te ulazi u sastav deoksiribonukleinske kiseline (DNA), mnogih enzima i hormona. Sve tjelesne stanice sadrže fosfor, a 85 % ukupnog fosfora je u kostima i zubima, najčešće u obliku fosfata. Preporučeni dnevni unos fosfata jest 800 mg/dan, a preveliki unos može uzrokovati zdravstvene probleme poput oštećenja bubrega i osteoporoze. Dobri izvori fosfora su hrana poput mesa, ribe, mlijeka, jaja, orašastih plodova,

žitarica i mahunarki. Sadržaj fosfora u povrću iz roda *Brassica* je u rasponu od 26 - 92 mg/100 g.^{3,28}

Željezo je esencijalan element za svaki živi organizam jer sudjeluje u velikom broju metaboličkih procesa, uključujući transport kisika i elektrona, rast i diobu stanica te sintezu DNA. No, istodobno može biti štetan i tvoriti slobodne radikale, a koncentracija mu se u tjelesnim tkivima mora strogo regulirati jer u prekomjernim količinama može dovesti do oštećenja istih. Upravo su poremećaji metabolizma željeza neke od najčešćih bolesti čovjeka i obuhvaćaju širok spektar bolesti, u rasponu od anemije do prekomjerne količine željeza u krvi, te neurodegenerativnih bolesti. Sadržaj željeza u povrću iz roda *Brassica* je u rasponu od 0,3 – 1,64 mg/100 g, u bijelom zelju je 0,47 mg/100 g, dok ga je u raštici 1,47 mg/100 g.^{3,29}

Mangan je element u tragovima, važan za zdravlje kostiju i kao koenzim u metaboličkim procesima. Sudjeluje u nastajanju koštanog i vezivnog tkiva, apsorpciji kalcija, pravilnom radu štitnjače, regulaciji spolnih hormona i šećera u krvi, razgradnji masti i ugljikohidrata. Mangan se u organizam unosi prehranom, a ljudsko tijelo sadrži ga oko 20 mg, pohranjenog u jetri, gušterači, kostima, bubrezima i mozgu.³⁰

Bakar je esencijalni element neophodan u funkcioniranje organizma, a nalazi se u svim tjelesnim tkivima. Uključen je u procese apsorpcije željeza i u proizvodnji energije, a kao kofaktor enzima sudjeluje u metabolizmu glukoze i sintezi hemoglobina, kolagena, vezivnog tkiva i fosfolipida te održavanju živčanih stanica i imunološkog sustava. Najviše bakra u tijelu nalazi se u jetri, mozgu, srcu, bubrezima i skeletnim mišićima, a svako odstupanje od optimalne koncentracije bakra u organizmu može utjecati na rad mozga. Oštećenja mozga zbog nedostatka bakra povezuju se s Menkesovom, Wilsonovom i Alzheimerovom bolešću. Manjak je rijedak, ali može dovesti do kardiovaskularnih bolesti i drugih ozbiljnih zdravstvenih problema.³¹

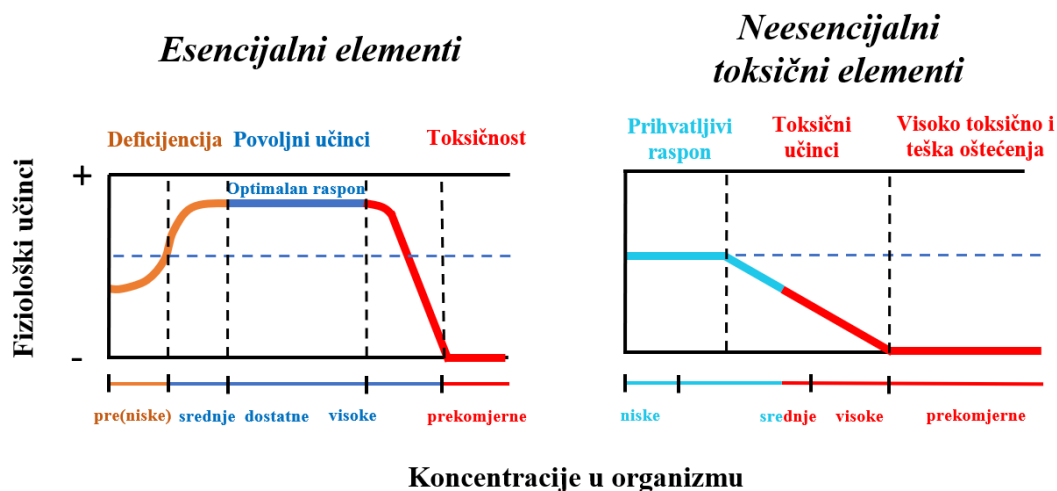
Cink je sastavni dio enzima koji sudjeluju u sintezi proteina, važan je za pravilno funkcioniranje RNA i DNA, kože, prostate, tvorbu novog tkiva, za reproduktivni i hormonski sustav, te za sintezu testosterona, T-limfocita i bijelih krvnih zrnaca. Suvišni se cink može pohraniti u kostima i slezeni odakle se otpušta kako bi se mogao nadoknaditi manjak u prehrani. Većina kupusnjača sadrži manji udio cinka (0,18-0,42 mg/100 g).

2.5.2. Toksični elementi

Za svaki esencijalni element postoji optimalan raspon koncentracija unutar kojega imaju važne fiziološke uloge. Svaki esencijalni element koji je u ljudskom tijelu prisutan u

prekomjernim količinama imat će štetan utjecaj na ljudsko zdravlje. Takvim se učinkom ističu osim već spomenutih željeza, bakra i mangana, selen, molibden, krom i nikal.³²

S druge strane, neesencijalni elementi u organizmu koji nemaju dokazanih fizioloških uloga su toksični. Za toksične elemente postoje utvrđene, vrlo niske koncentracije pri kojima imaju toksične učinke i moguća teška oštećenja organizma. Prikaz djelovanja toksičnih elemenata prikazan je na Slici 2.³²



Slika 5. Prikaz djelovanja esencijalnih i toksičnih elemenata.³²

Četiri su glavna toksična elementa: živa, kadmij, olovo i arsen. Pripadaju u mikroelemente, a poznati su i kao teški metali. Prevelika doza jednoga ili više njih može uzrokovati razne nefrotoksične, neurotoksične, kancerogene te hematotoksične učinke. Također, zapažen je i njihov negativan utjecaj na reprodukciju i razvoj.³²

2.5.3. Esencijalni i potencijalno toksični elementi ishrane biljaka

Kontinuirana opskrba hranjivim elementima osnovni je preduvjet za postizanje visokih prinosa ratarskih usjeva. Svi esencijalni elementi potrebni za razvoj biljke prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Esencijalni elementi u suhoj biljnoj tvari.³³

<i>n</i>	Element biljne ishrane	Kemijski simbol	Ionski oblik usvajanja u biljci	Udio u svježoj biljnoj tvari /%
1	Ugljik	C	CO ₂ , CO ₃ ²⁻ , HCO ₃ ⁻	45,00
2	Vodik	H	H ₂ O, H ⁺	8,00
3	Kisik	O	H ₂ O, O ₂	41,00
Makroelementi				
4	Dušik	N	NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻	2,00
5	Fosfor	P	HPO ₄ ²⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻	0,40
6	Kalij	K	K ⁺	1,10
7	Kalcij	Ca	Ca ²⁺	0,60
8	Magnezij	Mg	Mg ²⁺	0,30
9	Sumpor	S	SO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻	0,50
Mikroelementi				
10	Željezo	Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	0,02
11	Mangan	Mn	Mn ²⁺ , Mn ³⁺	0,05
12	Cink	Zn	Zn ²⁺	0,01
13	Bor	B	BO ₃ ³⁻	0,01
14	Bakar	Cu	Cu ⁺ , Cu ²⁺	0,00
15	Nikal	Ni	Ni ²⁺	0,00
16	Molibden	Mo	MoO ₄ ²⁻	0,00
17	Klor	Cl	Cl ⁻	<0,0001

Biljkama su u najvećim količinama potrebni dušik, fosfor i kalij. Najvažniji element agrokemije, odnosno ishrane biljaka je dušik. Strukturni je sastojak proteina, fotosintetskih pigmenta, nukleinskih kiselina, amina, amida i drugih spojeva koji čine osnovu biološki važnih spojeva.³³

Osnovna mjera zaštite zemljišta od onečišćenja jest zabrana prisutnosti onečišćujućih tvari. Prema Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta, u takve tvari ubrajamo teške metale: Cd, Hg, Ni, Pb, Zn, Cr i Cu. Njihov se negativan utjecaj očituje na kvaliteti tla promjenom bioloških, fizikalnih i kemijskih zanačajki zemljišta, a kao posljedica se javlja smanjena proizvodnja zbog smanjene klijavosti sjemena, inhibicije sinteze klorofila te poremećaja metabolizma stanice i kromosomskih aberacija. Međutim, najznačajniji učinak jest unos onečišćujućih tvari u organizam prehranom namirnica biljnog porijekla. U Tablici 3. prikazane su maksimalne dopuštene količine onečišćujućih elemenata u tlu.³³

Tablica 3. Maksimalni dopušteni udjeli potencijalno onečišćujućih elemenata (mg/kg) u tlu. ³³

mg / kg	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Pjeskovito tlo	0,0- 0,5	0- 40	0- 60	0- 0,5	0- 30	0- 50	0- 60
Praškasto- ilovasto tlo	0,5- 1,0	40- 80	60- 90	0,5- 1,0	30- 50	50- 100	60- 150
Glinasto tlo	1,0- 2,0	80- 120	90-120	1,0- 1,5	50- 75	100- 150	150- 200

2.5.3. Salinizacija tla kao izvor abiotskog stresa

Povišeni salinitet tla je jedan od glavnih izvora abiotskog stresa i uzrokuje smanjenje prinosa poljoprivrednih kultura, a zbog klimatskih promjena predstavlja sve veći problem. Salinizacija tla može biti primarna i sekundarna. Primarna salinizacija podrazumijeva proces otapanja minerala iz stijena, sedimenata i tla, dok je sekundarna salinizacija rezultat ljudske aktivnosti. Najčešća takva aktivnost jest navodnjavanje obradivih površina zasoljenom vodom i učestala primjena gnojiva.³⁴

Povećana koncentracija topljivih soli (prvenstveno NaCl) karakteristika je slanih tala, a povećana prisutnost iona Na⁺ iz alkalnih soli karakteristika je alkalnih tala.³⁵ Problemom povišenog saliniteta prema procjenama je pogođeno oko 6 % ukupne svjetske površine te 20 % poljoprivrednih navodnjavanih površina.³⁶

Dosadašnja istraživanja bavila su se utjecajem povećanog saliniteta na sastav fitonutritijenata, najčešće polifenolnih spojeva, ali dosad ne postoje istraživanja utjecaja saliniteta na sadržaj elemenata prisutnih u kupusnjačama koje su prilikom uzgoja podvrgnute solnom stresu.³⁷

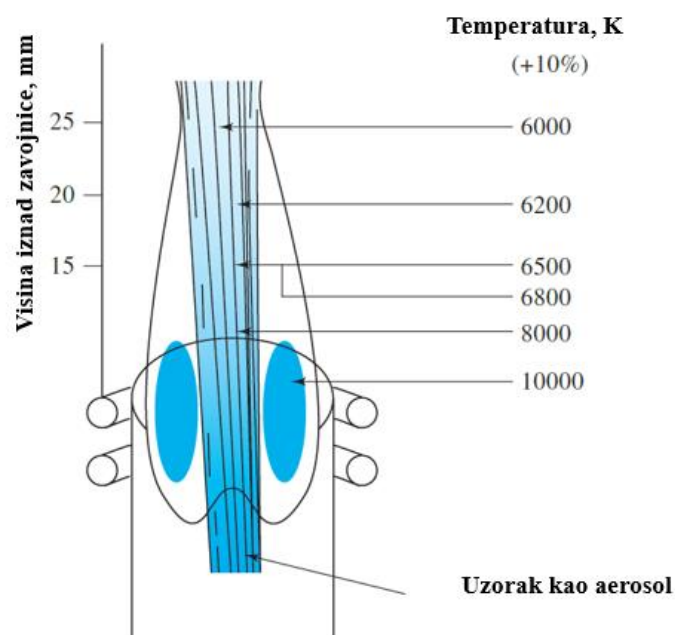
2.6. Metode atomske spektrometrije za elementnu analizu kupusnjača

U okviru ovog diplomskog rada za elementnu analizu kupusnjača korištene su: metoda atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES) i spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) te su u nastavku ukratko opisane navedene metode.

2.6.1. Metoda atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu

Atomska emisijska spektrometrija uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*, ICP-AES) je instrumentna analitička metoda koja se najčešće koristi za određivanje približno 70 elemenata u različitim realnim uzorcima. Dijelovi optičkog emisijskog spektrometra jesu: radiofrekvencijski generator i zavojnica za formiranje plazme, plamenik, optički sustav koji sadrži disperzijski element (prizmu ili refleksijsku rešetku) za razdvajanje emitiranih valnih duljina, detektor, sustav kapilara za uvođenje otopine uzorka i komora za raspršivanje aerosola uzorka.

Nastajanje samih atoma ili atoma i iona, pobuđivanje istih u visokotemperaturnom izvoru te naposljetku detekcija emitiranog zračenja, tri su temeljna procesa u metodi ICP-AES. U atomskoj spektrometriji postoje različiti izvori zračenja, a najčešći su plazma, plamen i električni izboj. Plazma je plinovito stanje tvari koje sadrže visoke koncentracije slobodnih elektrona i visoko nabijenih iona, a njene temperature mogu dosegnuti od 6000 do 10000 K.^{38,39}



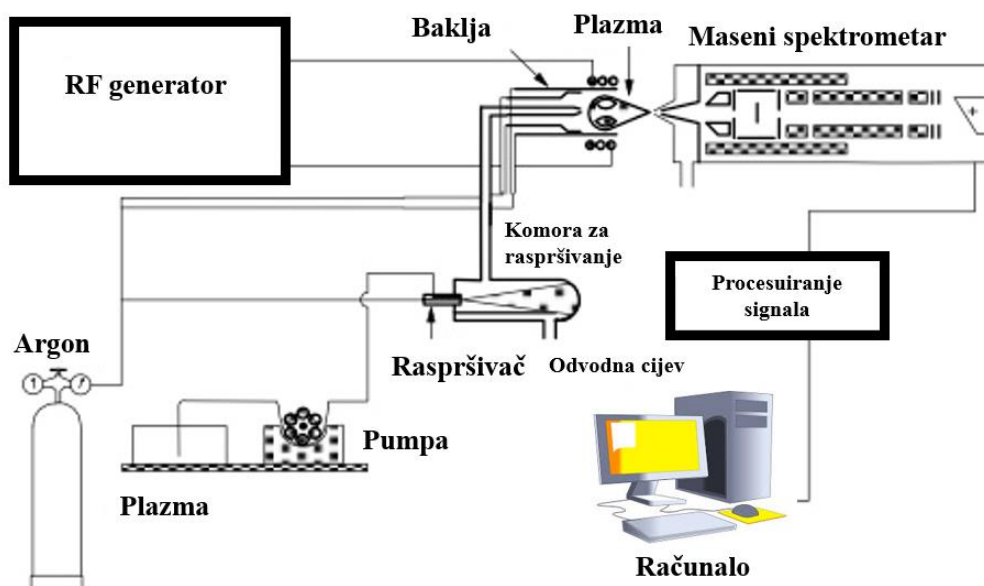
Slika 6. Temperaturna područja induktivno spregnute plazme.³⁸

U spektrometrijskim se mjerenjima uzorak danas najčešće unosi u argonovu plazma. Dio sustava za uvođenje uzorka u instrumentu ICP-AES ranije je navedeni raspršivač. Raspršivač otopinu uzorka pretvara u aerosol, a upravo je aerosol zbog utjecaja na reproducibilnost plazme u procesima isparavanja, atomizacije i ionizacije specija u uzorku, ključan u procesu pobude samog uzorka. U komorama za raspršivanje, događa se odvajanje krupnih kapi otopine od aerosola. Krupne kapi se tako odvajaju u spremnik za otpad, a aerosol u protoku plina nosioca ulazi u područje plazme. U izvoru plazme, događa se pobuđivanje atoma i iona unesenog uzorka te oni nakon povratka u stanja niže energije emitiraju zračenje koje se potom sakuplja u spektrometru. Takvo se polikromatsko emitirano zračenje u spektrometru razdvaja na zrake monokromatskog zračenja, izdvaja se valna duljina od interesa i usmjerava na detekciju. Nakon uspješnog odvajanja emisijske linije u spektrometru, intenzitet emisijske linije mjeri se detektorom i popratnim elektroničkim sklopovima za prikupljanje signala. U metodi ICP-AES se unatoč tome što svaki element emitira više valnih duljina, za svaki od njih izdvaja jedna ili tek nekoliko specifičnih valnih duljina. Kako je intenzitet energije emitirane na odabranoj valnoj duljini proporcionalan koncentraciji elementa u analiziranom uzorku, određivanjem valnih duljina koje emitira analizirani uzorak te njihovog intenziteta dobiva se kvalitativni i kvantitativni sastav uzorka.³⁸

2.6.2. Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu

Od svog uvođenja 1980-ih godina, metoda spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) se s vremenom razvila u nedvojbeno najsvestraniju tehniku analize elemenata. Unatoč mogućnosti određivanja jednakog broja elemenata kao ostale atomske spektroskopske tehnike, metoda ICP-MS se ističe vrlo niskom granicom detekcije, brzinom analize te sposobnosti mjerenja izotopa. Upravo ovo potonje je bitna prednost pred metodom ICP-AES, jer pri potpunoj karakterizaciji elemenata bitne su nam i informacije o izotopima. Također, rezultati ispitivanja se lakše analiziraju i daju jednostavniji spektar.^{40,41}

U metodi ICP-MS kao ionizacijski izvor također se koristi induktivno spregnuta, uglavnom argonova plazma. Za detekciju nastalih iona se koristi spektrometar masa. Cijeli proces započinje uvođenjem uzorka u plazmu, zatim se nastavlja stvaranjem iona prilikom prolaska ranije formiranog aerosola kroz različite temperaturne zone u baklji te njihovim konzistentnim prijenosom iz područja plazme u analizator masa kroz međusklop. Sljedi usmjeravanje iona kroz ionske leće koje se nalaze između konusa međusklopa i spektrometra masa. Funkcija je ionskih leća učinkovit prijenos iona u spektrometar masa. Također, nužno je njihovo zaustavljanje fotona i neutralnih čestica prije detektora zbog pojave pozadinskog šuma i nestabilnosti u signalu. U završnoj fazi ioni se razdvajaju na temelju omjera mase i naboja u analizatoru te naposljetku detektiraju. Maseni analizatori mogu biti različitih tipova, a najčešći je kvadrupolni maseni analizator. Najčešći detektor jest multiplikator elektrona. Pri izlasku iona iz analizatora i njegovim udarom u diodu, dolazi do stvaranja sekundarnih elektrona. Svaki takav ion koji izlazi iz analizatora mora biti detektiran od strane multiplikatora elektrona, a potom se stvara spektar masa na temelju proračuna ukupnog signala za svaki omjer mase i naboja.⁴⁰



Slika 7. Shematski prikaz instrumenta ICP- MS.

2.7. Primjena metoda atomske spektrometrije za elementnu analizu kupusnjača

Zbog velike primjene u tradicionalnoj kuhinji i pozitivnom učinku na zdravlje provedena su brojna istraživanja vezana za biljne vrste iz porodice kupusnjača. Većina istraživanja bavi se sastavom polifenolnih spojeva i njihovim antioksidacijskim kapacitetom, vitaminima^{15,16}, lipidima¹⁴ i dr. U literaturi je nešto manje istraživanja elementnog sastava kupusnjača.

Miyazawa i suradnici su u povrću roda *Brassica* odredili u značajnom udjelu kalcij i željezo.¹⁴ U kelju (*B. oleracea* var. *acephala*) je određen velik udio P, S, Cl, Ca, Fe, Sr i K.⁴²

Brokula pokazuje pojačanu akumulaciju Se u koncentracijama mnogostruko većim od onih koje se nalaze u tlu.⁴³

Zanimljivo je da svo povrće iz roda *Brassica* pokazuje izvrsnu bioraspoloživost kalcija.⁴⁴ Listovi kupusa (*B. oleracea* var. *Capitata*), osim kalcija, sadrže i značajnu količinu bakra, cinka, željeza i ostalih mikroelemenata.⁴⁵ Navedena istraživanja objedinjena su u Tablici 3.⁴⁶

Tablica 3. Sadržaj elemenata u kupusnjačama.¹¹

	Brokula	Raštika	Cvjetača	Kineski kupus	Bijeli kupus	Kelj pupčar
Ca	272 ± 20 ^a	2860 ± 430 ^b	175 ± 17 ^a	470 ± 60 ^b	440 ± 60 ^b	356 ± 13 ^a
Fe	8,7 ± 0,5 ^a	4 ± 2 ^b	5,0 ± 0,3 ^a	2 ± 0,3 ^b	1,4 ± 0,3 ^b	7,6 ± 0,2 ^a
Cu	0,94 ± 0,07 ^a	0,4 ± 0,2 ^b	0,56 ± 0,07 ^a	0,4 ± 0,2 ^b	0,5 ± 0,5 ^b	0,9 ± 0,09 ^a
Mg	181 ± 8 ^a	510 ± 40 ^b	145 ± 22 ^a	130 ± 30 ^b	140 ± 20 ^b	207 ± 12 ^a
K	2890 ± 70 ^a	7120 ± 5170 ^b	2210 ± 140 ^a	2280 ± 1120 ^b	2660 ± 870 ^b	4250 ± 250 ^a
Zn	9,5 ± 0,3 ^a	2,9 ± 0,5 ^b	6,4 ± 0,3 ^a	2,3 ± 0,4 ^b	2 ± 1 ^b	5,8 ± 0,4 ^a
Na	180 ± 6 ^a	120 ± 40 ^b	192 ± 27 ^a	50 ± 20 ^b	30 ± 10 ^b	107 ± 7 ^a
Mn	1,92 ± 0,09 ^a	3 ± 1 ^b	1,31 ± 0,07 ^a	0,5 ± 1,4 ^b	2 ± 1 ^b	2,31 ± 0,13 ^a

^aKmiecik i suradnici, 2007.

^bKawashima i Soares, 2003.

Fältmarsch i suradnici su primjenom metode ICP- MS istraživali utjecaj geokemijskog sastava tla na sadržaj elemenata u kupusu (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*).

Ukupno 11 uzoraka prikupljeno je na tri različita obradiva polja u Finskoj. Dobiveni su sljedeći rasponi udjela pojedinih elemenata: Ca 7,0-9,5 g kg⁻¹, K 39-44 g kg⁻¹, Mg 2,6-3,0 g kg⁻¹, P 5,4-5,9 g kg⁻¹, Co 0,070-0,23 mg kg⁻¹, Ni 0,30-1,5 mg kg⁻¹, Zn 25-36 mg kg⁻¹, Mn 5,0-11 mg kg⁻¹, Cu 3,2-4,3 mg kg⁻¹ i Fe 40-80 mg kg⁻¹.⁴⁷

Jurić i suradnici su istraživali povezanost ratnih aktivnosti 1990-ih godina s nepravilnom distribucijom i udjelom metala i metaloida u okolišu na istoku Hrvatske. Uzeti su uzorci kupusa s 14 različitih lokacija, tj. poprišta borbenih aktivnosti niskih i visokih intenziteta te su metodom ICP- MS izmjerene koncentracije 20 metala i metaloida. Dobivene srednje vrijednosti udjela elemenata su: Al 23,0 mg kg⁻¹, As 0,023 mg kg⁻¹, B 4,2 mg kg⁻¹, Ba 2,7 mg kg⁻¹, Cd 0,016 mg kg⁻¹, Cr 0,10 mg kg⁻¹, Cu 0,95 mg kg⁻¹, Li 0,09 mg kg⁻¹, Ni 0,135 mg kg⁻¹, Pb 0,02 mg kg⁻¹, Sb 0,00085 mg kg⁻¹, Sr 5,8 mg kg⁻¹, U 0,001 mg kg⁻¹ i Zn 4,05 mg kg⁻¹.⁴⁸

Mohamed i suradnici su u svom radu istraživali udjele pojedinih elemenata u povrću s područja Saudijske Arabije (okrug Al-Taif) te njihovo odstupanje od vrijednosti koje se smatraju sigurnim za ljudsku prehranu. U uzorcima 12 različitih vrsta povrća metodom atomske apsorpcijske spektrofotometrije određeni su maseni udjeli elemenata. Vrijednosti udjela elemenata u kupusu iznose: Ca 9194 mg kg⁻¹, Cd 0,56 mg kg⁻¹, Co 1,05 mg kg⁻¹, Cu 0,43 mg kg⁻¹

¹, Fe 76,9 mg kg⁻¹, K 2540 mg kg⁻¹, Mg 1873 mg kg⁻¹, Na 2900 mg kg⁻¹, Mn 21,71 mg kg⁻¹, Ni 0,29 mg kg⁻¹, Zn 14,9 mg kg⁻¹.⁴⁹

Stančić i suradnici bavili su se procjenom sadržaja teških metala u povrću koje se prodaje na gradskoj tržnici Varaždina. Istraživali su 28 uzoraka najčešće konzumiranog povrća, a maseni udjeli 9 teških metala dobiveni metodom atomske apsorpcijske spektrometrije za kupus iznose: As < LOD, Cd 0,10 – 0,24 mg kg⁻¹, Cr < LOD, Cu 2,1 – 3,4 mg kg⁻¹, Hg 0,0065 – 0,0115 mg kg⁻¹, Mn 8,7 – 21,9 mg kg⁻¹, Ni 1,11 – 2,95 mg kg⁻¹, Pb 0,40 – 1,53 mg kg⁻¹ i Zn 59,5 – 198,0 mg kg⁻¹.⁵⁰

2.8. Mikrovalno potpomognuto razaranje

Mikrovalno potpomognuto razaranje jest česta i brza metoda za pripremu uzorka prije elementne analize realnog uzorka. Cilj je razgradnja organske tvari uzorka kako bi se mogla provesti elementna analiza metodama atomske spektrometrije (ICP-AES, ICP-MS). Takvim razaranjem organske tvari, interferencije pri mjerenjima svedene su na minimum. Nadalje, mikrovalno potpomognuto razaranje preporuča se zbog minimalnog onečišćenja uzorka, kratkog vremena razaranja te uporabe male količine reagensa i samog uzorka. Upravo je volumen reagensa, uz temperaturu zagrijavanja uzorka i tlak u reakcijskoj posudi, presudan za učinkovitost razaranja. Kao reagensi se uglavnom koriste jaki oksidansi poput dušične kiseline, a korištene reakcijske posude napravljene su od fluoriranog polimera (politetrafluoretilena, PTFE).

Santos i suradnici su proveli multielementnu analizu mladih listova uskolisnog dvoredca (porodica Brassicaceae) uz mikrovalno potpomognuto razaranje i atomsku apsorpcijsku spektrometriju visoke rezolucije. Smrznuto, osušeno lišće podvrgnuto je mikrovalno potpomognutom razaranju. Jedan dio uzoraka podvrgnut je razaranju u dušičnoj kiselini, a jedan u smjesi dušične i klorovodične kiseline. Najbolji rezultati postignuti su s dušičnom kiselinom razrijeđenom s ultračistom vodom.⁵¹

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije

Dušična kiselina, HNO_3 , p.a., Kemika ($w = 69\%$)

Vodikov peroksid, H_2O_2 , p.a., Kemika ($w = 30\%$)

Rodij, interni standard ($1\ \mu\text{g/L}$)

Standardna multielementna otopina spektralne čistoće za ICP izvore, $1000\ \text{mg L}^{-1}$, Merck

Deionizirana voda visoke čistoće, specifičnog otpora $\geq 18\ \text{M}\Omega\ \text{cm}^{-1}$

Laboratorijsko posuđe prethodno je očišćeno dušičnom kiselinom (2%).

3.2. Opis instrumenata

Za mikrovalno potpomognuto razaranje uzoraka raštike, bijelog i kineskog kupusa korišten je uređaj MWS-2 *Microwave System Speedweve Berghof* (Slika 8) prema programu prikazanom u Tablici 5.



Slika 8. Uređaj za mikrovalno potpomognuto razaranje *Microwave System Speedweve Berghof*.

Tablica 4. Uvjeti mikrovalnog razaranja

	$T / ^\circ\text{C}$	t / min	P / W
1	120	20	50%
2	170	30	60%
3	110	30	40%

3.2.1. Metoda ICP- AES

Za elementnu analizu korišten je induktivno spregnuta plazma spektrometar (*Prodigy High Dispersive ICP*) prikazan na Slici 9.

Slika 9. Spektrometar *Prodigy High Dispersive ICP*.

Tablica 5. Optimalni uvjeti rada spektrometra ICP-AES.

Instrument	Prodigy High Dispersive ICP
Spektrometar	Ešeletnog tipa
RF-Generator	“free-running” 40 MHz
Protok plina (Argon)	vanjski: 18 L min ⁻¹
Plamenik	Fasselov tip, <i>DUAL-VIEW</i>
Raspršivač	Pneumatski
Komora za raspršivanje	Ciklonska

3.2.2. Metoda ICP- MS

Za elementnu analizu korišten je spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu (*Agilent 7500cx ICP-MS*) prikazan na Slici 10.

Slika 10. Spektrometar *Agilent 7500cx ICP-MS*.

Tablica 6. Radni uvjeti spektrometra ICP-MS.

Optimalni uvjeti rada spektrometra ICP-MS	
RF-snaga	1500 W
Protok plina nosioca (Ar)	0,90 L/min
Dodatan protok plinske faze (Ar)	0,20 L/min
Raspršivač	<i>MicroMist</i>
Pumpa raspršivača	0,10 rps
Komora za raspršenje	<i>Scott double pass</i>
Vrijeme integracije	0,10 s
Ponovljeni uzorci	dva
Kalibracija	vanjska
Kalibracijska otopina	Multielement VI (Merck)
Izotopi	⁶ Li, ⁷ Li, ²⁴ Mg, ⁸⁸ Sr
Unutarnji standard (10 µg/L)	¹⁰³ Rh
Kolizijska komora	-

3.3. Uzorci kupusnjača

Biljke kineskog kupusa, bijelog kupusa i raštike uzgojene su u Laboratoriju za kemijsku biologiju Zavoda za molekularnu biologiju Instituta Ruđer Bošković (voditeljica dr. sc. Branka Salopek Sondi).^{38,39} Osušeni uzorci kupusnjača (korijen i list) spremljeni su u papirnate vrećice i spremljene na hladno, tamno i suho mjesto.

3.3.1. Postupak uzgoja i pripreme uzoraka raštike, bijelog i kineskog kupusa

Sjeme bijelog kupusa *Brassica oleracea* var. *capitata* dobiveno je od Savjetodavne službe Varaždinske županije. Sjeme kineskog kupusa *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt cv. Cantonner Witkrop kupljeno je od proizvođača sjemena (ISP International Seed Processing GmbH, Quedlinburg, Njemačka), a sjeme raštike *Brassica oleracea* var. *acephala* je dobiveno s Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu.³⁹

3.3.2. Uzgoj klijanaca kupusnjača i solni tretmani

Sjeme bijelog kupusa, kineskog kupusa i raštike je prvo sterilizirano u 3% izosanu G (15 min). Potom je isprano nekoliko puta u sterilnoj vodi i naposljetku položeno na 1% agarske ploče te inkubirano u hladnjaku (48 sati, +4 °C). Nakon vernalizacije, sjeme je u vertikalnoj poziciji

prebačeno u komoru za uzgoj pod kontinuirano svjetlo te pri temperaturi od 22 °C. Nakon što je prokljalo, klijanci čije su duljine korijena bile oko 1 cm prebačeni su na 1% agarske ploče sadržaja 0, 50, 100 i 200 mmol dm⁻³ NaCl. Klijanci su bili izloženi solnim tretmanima u trajanju od 24 sata. Naposljetku, sakupljeni su klijanci kineskog kupusa te je dio pohranjen na -80 °C za potrebe analize biokemijskih pokazatelja utjecaja solnog stresa, a drugi je dio materijala liofiliziran za analize fenolnih kiselina i hormona te elementnu analizu provedenu u okviru ovog rada.³⁹

3.3.3. Uzgoj kupusnjača u hidroponskom sustavu i solni tretmani

Klijanci kupusnjača starosti jednoga dana postavljeni su u hidroponski sustav koji je konstruiran na Institutu Ruđer Bošković u komori za uzgoj biljaka na temperaturi 22 °C, uvjetima dugog dana (16 h dan/8 h noć). Sustav se sastojao iz posuda volumena 5,5 dm³ opremljenih s pumpama za zrak kako bi se tijekom pokusa osigurala odgovarajuća aeracija. U pokusu je pak korišteno i 8 posuda s mogućnosti uzgoja 7 biljaka po svakoj od njih. Tijekom pokusa, biljke su u vodi prihranjivane komercijalno dostupnim hranjivima Flora (GHE Hydroponics), pritom se držeći uputa proizvođača: 1,8 mL pojedinog hranjiva na dan postavljanja uzgoja; 1,8 mL pojedinog hranjiva na 7. dan uzgoja i 3,4 mL pojedinog hranjiva na 14. dan uzgoja.³⁹

3.4. Postupak za mikrovalno potpomognuto razaranje raštike, bijelog i kineskog kupusa

Prije razaranja biljke su usitnjene u tarioniku. U svim postupcima razaranja korištene su reakcijske posude od teflona (PTFE). Reakcijske posude očišćene su s HNO₃ (2 %), prije svakog postupka razaranja. Za mikrovalno potpomognuto razaranje izvagana masa bila je od 0,1 do 0,2 g biljke te je dodano 5 mL HNO₃ (50:50 v/v) + 3,0 mL H₂O₂ (1 mol dm⁻³).

Nakon mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka, bistra otopina je prebačena u odmjernu tikvicu (10 mL) te potom nadopunjena ultračistom vodom do oznake. Od svake biljke uzorak je podijeljen na tri jednaka dijela. Jedan dio je ostao netaknut, a u preostala dva dodano je 2, odnosno 5 ppm multielementne otopine standarda.

Slijepe probe su razorene i pripravljene za analizu istovremeno i na jednak način kao i uzorci kupusnjača.

3.5. Elementna analiza raštike, bijelog i kineskog kupusa

3.5.1. Priprava kalibracijske krivulje

U cilju postizanja sljedećih koncentracija u mg L⁻¹: 0; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 i 10, pripravljanje otopina radnih standarda odvijalo se razrjeđenjem osnovne standardne multielementne otopine (1000 mg L⁻¹) s HNO₃ (2 % v/v). Prema očekivanim koncentracijama ispitivanih elemenata u uzorku, izabran je raspon koncentracija. Netom prije mjerenja pripravljeni su radni standardi, a kalibracijska krivulja je rađena pri svakoj analizi uzorka. Mjerenja standarda obavljena su na početku i na kraju mjerenja, ali i periodički tokom duljih serija mjerenja, od manje prema većoj koncentraciji. Na isti način kao uzorci, pripremljen je i slijepi uzorak.

3.5.2. Točnost metode

Točnost metode prikazana je kroz udio izmjerenog analita prema stvarnoj količini istoga. Iskoristivost metode kod određivanja elemenata u uzorcima kupusnjača određena je dodatkom standarda dviju poznatih koncentracija, a koje su prije i nakon mikrovalno potpomognutog razaranja iznosile 2,0 i 5,0 ppm. Elementi su mjereni metodama ICP-MS i ICP- AES.

3.5.3. Detekcijske granice

Detekcijska je granica (engl. *Limit of Detection*, LOD) najmanja količina analita koja se može izmjeriti u ispitivanom uzorku. Prilikom određivanja istih, za standardnu otopinu koncentracije 10 µg L⁻¹ mjeren je odziv instrumenta, tri puta uobičajeno, a jedanaest puta za slijepu probu. Potom je za izračun detekcijskih granica korišteno načelo po When Kaiseru (jednadžba 1.1):

$$c_L = \frac{c_{st}}{\bar{I}_{st} - \bar{I}_{sp}} \cdot 3\sigma \quad (1.1)$$

gdje je:

c_L - detekcijska granica određenog elementa

c_{st} - množinska koncentracija standardne otopine za određivani element

\bar{I}_{st} - prosjek vrijednosti izmjerenog intenziteta standardne otopine

\bar{I}_{sp} - prosjek vrijednosti izmjerenog intenziteta slijepa probe

σ - standardno odstupanje mjerenja

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA


4.1. Validacija metode ICP-AES za elementnu analizu kupusnjača

4.1.1. Određivanje detekcijskih granica metode ICP-AES

Pojam detekcijske granice (engl. *Limit of Detection*, LOD) podrazumijeva najmanju količinu analita kvantitativno odredivu u ispitivanom uzorku. Mjerenja su provedena aksijalnom orijentacijom plazme, pri kojoj se u poredbi s radijalnom orijentacijom, postižu bolje detekcijske granice. Aksijalno provedena mjerenja pogoduju istovremenom određivanju velikog broja elemenata, iako se za pojedine elemente realnog uzorka poput kupusnjača niže detekcijske granice postižu radijalnim mjerenjem. Osjetljivost metode za rutinske analize procijenjena je na temelju određivanja detekcijskih granica prema Boumansovoj metodi za svaki pojedinačni element.

Metodom ICP-AES detekcijske su granice (LOD) određene nakon mikrovalno potpomognutog razaranja za sve elemente u uzorcima kupusnjača, uz relativno standardno odstupanje (RSO) manje od 10 % za sve elemente. Izračunata standardna odstupanja temeljena su na mjerenju tri paralelna uzorka. U Tablici 8. prikazane su vrijednosti detekcijskih granica i valne duljine određivanja elemenata za uzorke kupusnjača nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO₃ (50:50 v/v + H₂O₂).

Tablica 7. Detekcijske granice (LOD) metode ICP- AES te pripadne valne duljine elemenata određivanih u kupusnjačama nakon mikrovalno potpomognutog razaranja smjesom reagensa HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Kupusnjače		
		
Element	Valna duljina (nm)	LOD/mg g ⁻¹
		Reagensi
		HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2
Al	394,401	10,133
Ba	455,403	15,342
Ca	396,847	0,0909
Cd	214,441	0,3218
Co	228,615	0,2756
Cr	205,552	0,2837
Cu	224,700	0,2549
Fe	238,204	0,4515
K	766,491	0,2009
Mg	285,213	0,1772
Mn	257,610	0,3049
Na	589,591	0,0563
Ni	231,604	0,3115
Pb	220,353	0,4178
Sr	407,771	0,1875
Zn	213,856	0,2832

4.1.2. Točnost metode za elementnu analizu kupusnjača

Točnost metode ICP-AES za elementnu analizu kupusnjača definirana je na temelju analitičkog povrata metode. Analitički povrat određuje točnost određivanja i ujedno ukazuje na moguću sustavnu pogrešku. Točnost metode (postupak 3.6.2.) određena je dodatkom standarda poznate koncentracije te iskazana kao postotni udio izmjerenog analita prema njegovoj stvarnoj količini. U Tablici 8. dane su vrijednosti za točnost metode ICP-AES za elementnu analizu kupusnjača nakon mikrovalno potpomognutog razaranja za listove pri uzgoju solno tretirane i netretirane raštike i lišće netretiranog kineskog kupusa.

Tablica 8. Točnost metode ICP- AES iskazana kao postotni udio izmjerenog analita prema njegovoj stvarnoj količini za listove pri uzgoju solno tretirane i netretirane raštike i listove netretiranog kineskog kupusa.

Element	Točnost metode ICP- AES / %		
	Reagensi: HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂		
	Raštika list	Raštika list (solni stres)	Kineski kupus list
Al	113,25	92,25	81,79
B	93,55	100,45	103,11
Ba	101,95	101,30	96,28
Cd	117,40	112,00	106,80
Co	108,25	103,05	95,83
Cr	108,90	104,25	98,49
Cu	105,60	102,90	97,84
Fe	96,20	105,95	112,80
Mn	93,10	105,80	102,61
Ni	110,50	104,55	99,03
Pb	107,90	104,30	100,26
Sr	101,70	101,90	96,25
V	101,30	96,10	88,22
Zn	105,60	104,75	102,34
Najmanja vrijednost	93,10	92,25	81,79
Najveća vrijednost	117,40	112,00	106,15

Prema Tablici 8. dobiveni točnost metode ICP-AES za list raštike za sve elemente je u rasponu od 93,10 - 117,40 %, a za list raštike uzgojene pod solnim tretmanom od 92,25 - 112,00%. Na temelju rezultata može se zaključiti kako je točnost metode ICP- AES za elementnu analizu raštike unutar statistički prihvatljivih granica (točnost nema preveliko odstupanje od stvarne vrijednosti).

Točnost metode ICP- AES za elementnu analizu kineskog kupusa za sve elemente bila je unutar prihvatljivih granica, u rasponu od 81,79 % - 106,15 %.

Tablica 9. Točnost metode ICP- MS iskazana kao postotni udio izmjerene analita prema njegovoj stvarnoj količini za dijelove pri uzgoju solno tretirane i netretirane raštike i listove netretiranog kineskog kupusa.

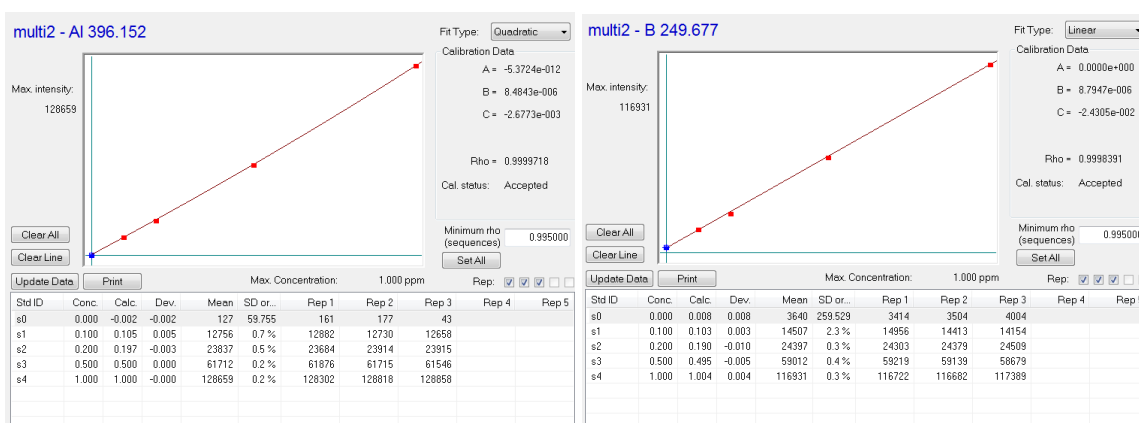
Element	Točnost metode ICP-MS / %		
	Reagensi: HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂		
	Raštika list	Raštika list (solni stres)	Kineski kupus list
⁷ Li	100	99	96
²³ Na	56	158	107
²⁴ Mg	39	73	102
²⁷ Al	117	89	72
³⁹ K	13	247	79
⁴³ Ca	97	100	207
⁵³ Cr	106	102	96
⁵⁵ Mn	107	106	99
⁵⁶ Fe	105	111	101
⁵⁹ Co	107	103	96
⁶⁰ Ni	98	96	91
⁶³ Cu	103	101	98
⁶⁶ Zn	108	105	101
⁶⁹ Ga	100	97	94
⁸⁸ Sr	103	100	94
¹¹¹ Cd	105	100	95
¹³⁷ Ba	98	100	93
²⁰⁵ Tl	90	90	88
²⁰⁸ Pb	92	93	89
²⁰⁹ Bi	44	67	70
Najmanja vrijednost	13	67	70
Najveća vrijednost	117	247	207

Kao što je prikazano u Tablici 9, za list raštike točnost metode ICP-MS za sve elemente osim K (13 %), Mg (39 %), Bi (44 %) te Na (56 %) je unutar prihvatljivih granica od 90 – 117 %, a za list raštike uzgojene pod solnim stresom iznosi od 89 - 105 %. Slabija točnost dobivena je za Mg (73 %), Bi (67 %), Na (158%) te K (247 %).

Točnost metode ICP- MS za elementnu analizu kineskog kupusa, za sve elemente osim Ca (207 %), je prihvatljiva za rutinsku analizu.

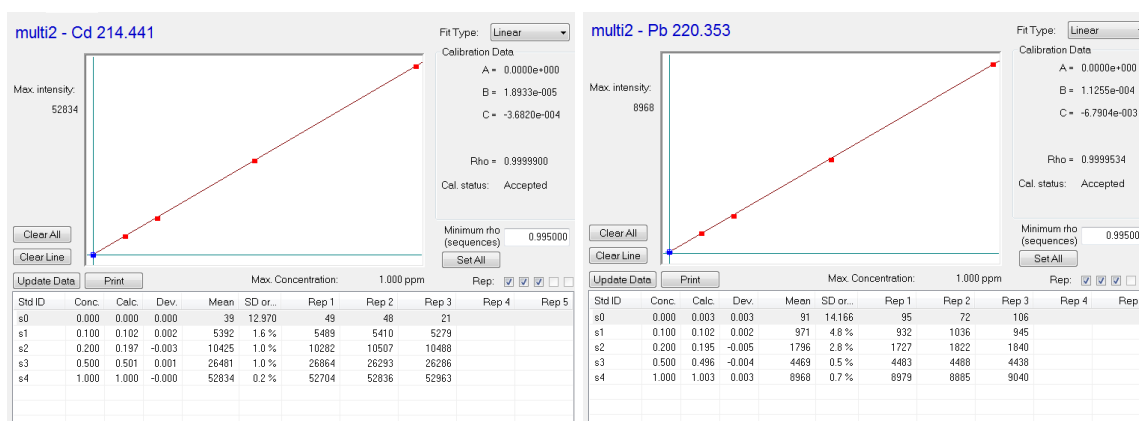
4.1.3. Osjetljivost metode za elementnu analizu kupusnjača

Osjetljivost metode ICP-AES za elementnu analizu kupusnjača određena je iz nagiba kalibracijske krivulje. Nakon mikrovalno potpomognutog razaranja svih uzoraka kupusnjača, na dobru osjetljivost metode ICP-AES ukazuje korelacijski faktor koji je za sve kalibracijske krivulje, pri svim valnim duljinama određivanja elemenata, veći od 0,9995. Na Slici 11 prikazane su kalibracijske krivulje za elemente: Al, B, Cd, Pb, Mg, K, Zn, Ni, Li, Ca, Na i Ba.



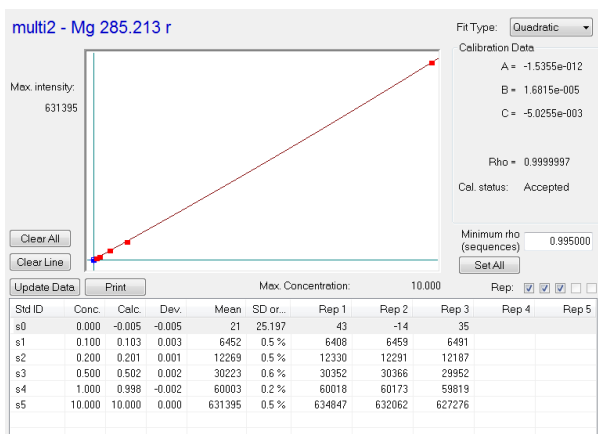
a)

b)

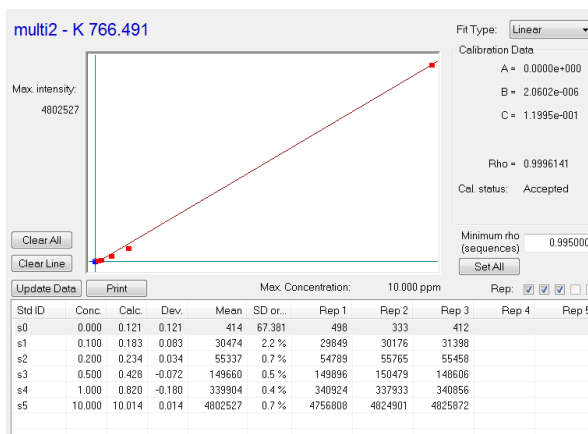


c)

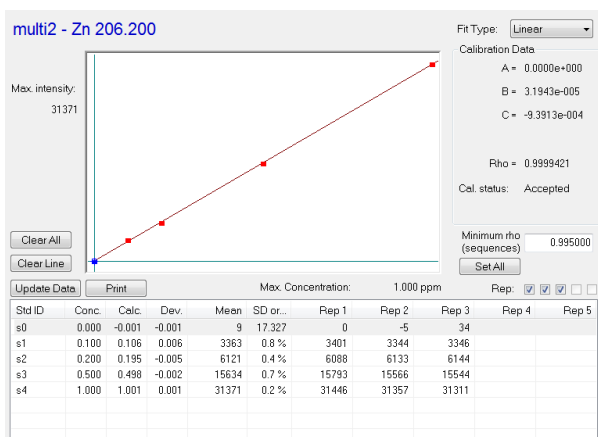
d)



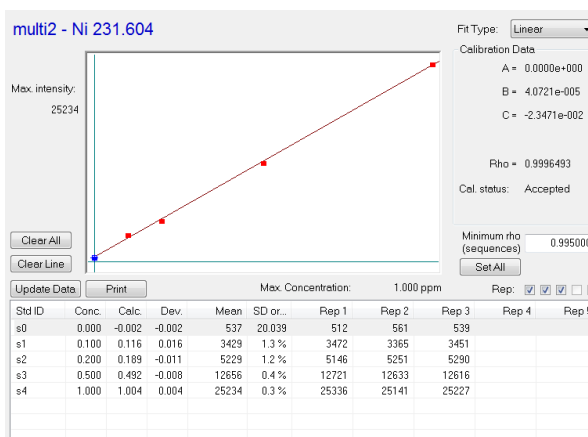
e)



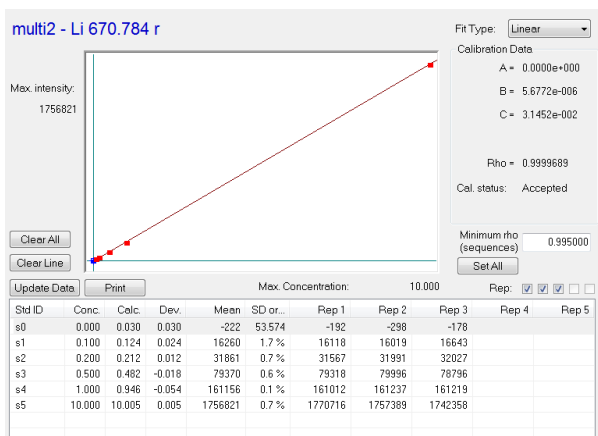
f)



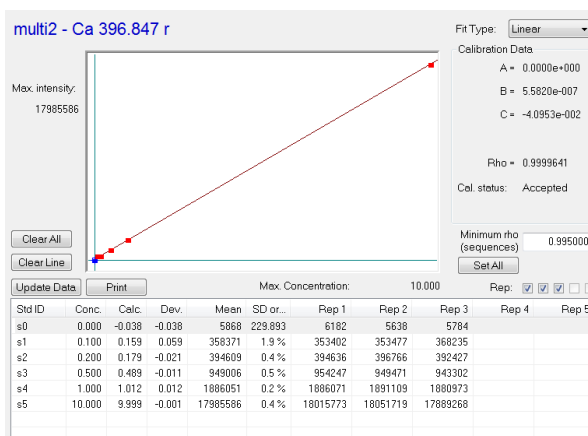
g)



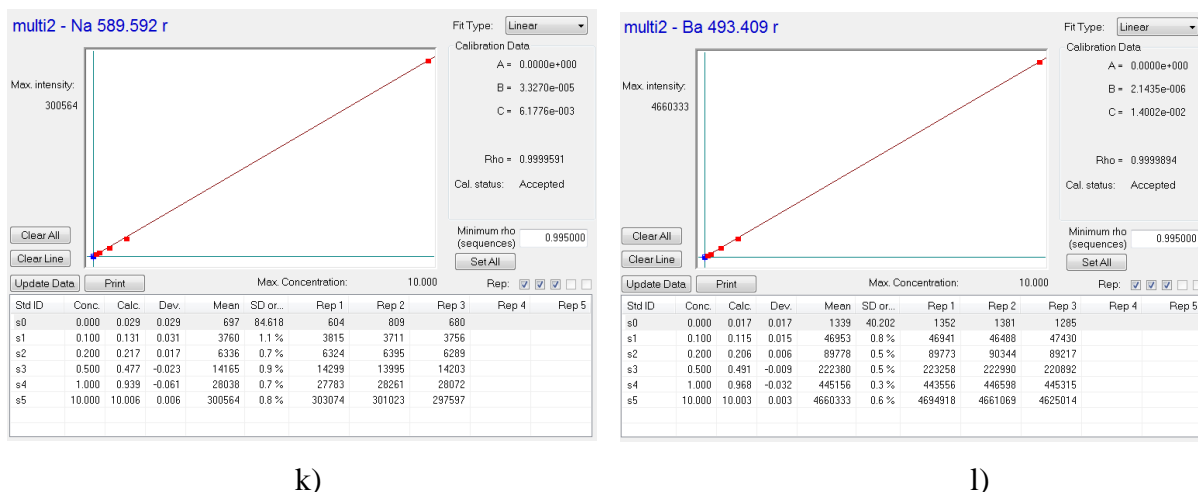
h)



i)



j)



Slika 11. Kalibracijske krivulja za elemente: a) Al, b) B, c) Cd, d) Pb, e) Mg, f) K, g) Zn, h) Ni, i) Li, j) Ca, k) Na i l) Ba.

4.1.4. Preciznost metode za elementnu analizu kupusnjača



Preciznost metode podrazumijeva podudaranje izmjernih vrijednosti, a iskazuje se relativnim standardnim odstupanjem (RSO %). S obzirom na dobiveni RSO manji od 10 % za sve elemente u uzorcima tijekom jednog dana, ustanovljeno je kako je podudaranje rezultata dobro. Nakon nekoliko tjedana, uzorci su mjereni u svrhu provjere međudnevne preciznosti metode te je ona iznosila također manje od 10 %. S obzirom na nepromijenjenost koncentracija elemenata i nakon duljeg vremenskog perioda, zaključeno je kako su parametri optimiziranja uvjeta mjerenja metode ICP-AES te mikrovalno potpomognutog razaranja za uzorke bili dobro postavljeni te da se opisani analitički postupak može koristiti za preciznu elementnu analizu kupusnjača.

4.2. Razrada elementne analize kupusnjača

4.2.1. Raštika

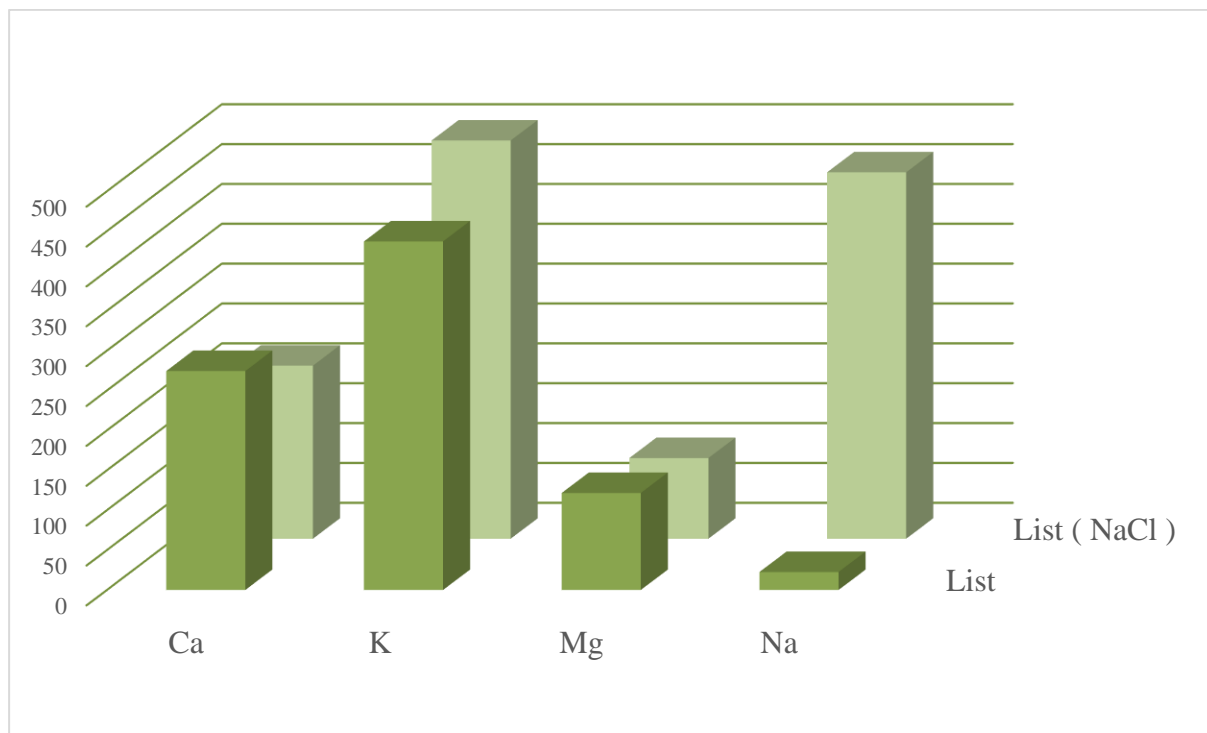
Maseni udjeli makro- i mikroelemenata u listovima i korijenima pri uzgoju solno tretirane i netretirane raštike nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 dani su u Tablicama 10 i 11.

Tablica 10. Maseni udjeli makroelemenata u listovima i korijenima pri uzgoju solno tretirane i netretirane raštike nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

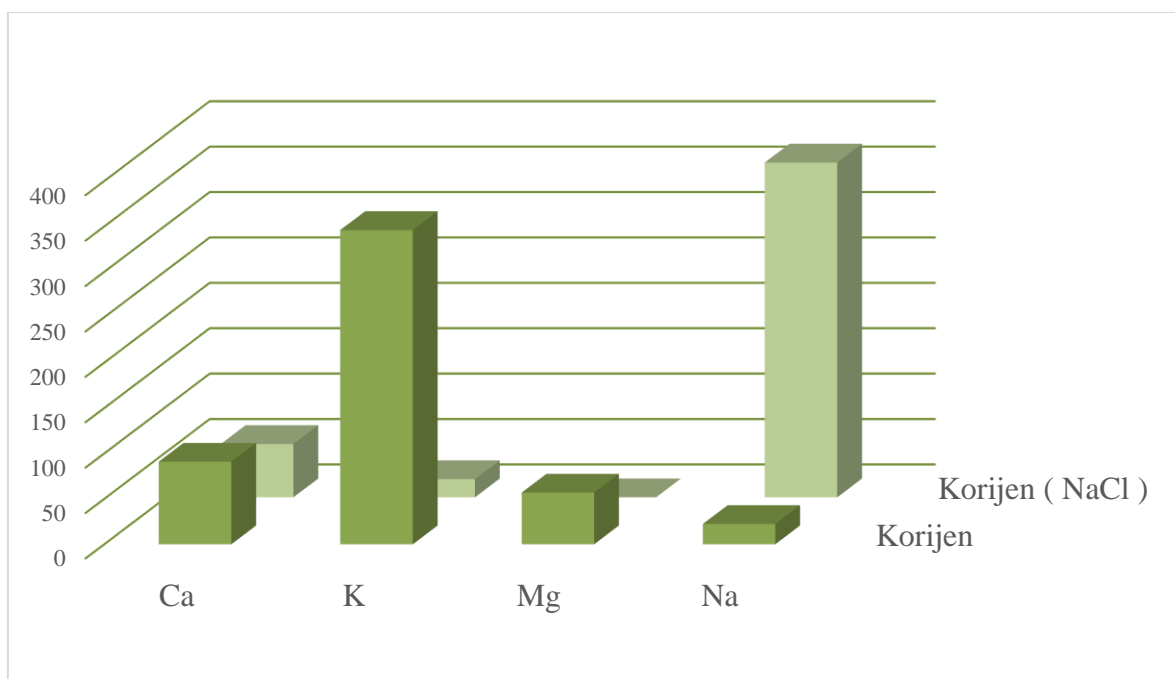
Raštika				
Element	w/g kg ⁻¹			
	Reagensi			
	HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen (NaCl)
Ca	274,43	216,92	90,92	58,70
K	437,12	499,48	346,03	20,01
Mg	121,57	101,11	56,93	0,0086
Na	22,52	459,53	22,37	368,68

U literaturnom pregledu opisane su karakteristike mikro- i makroelemenata važnih za ishranu biljaka i prehranu čovjeka. Od makroelemenata (g kg⁻¹) važnih za list i korijen biljke metodom ICP-AES određeni su Ca, K, Mg i Na. Za K i Na u listu raštike.

Prema podacima u Tablici 10. vidi se značajn porast Na u listu raštike uslijed solnog tretmana biljke za razliku od ostalih elemenata čiji je udio ostao nepromijenjen. Kod korijena raštike također je uočen značajan porast Na uslijed solnog tretmana biljke. Značajan porast udjela Na je očekivan budući da je biljka tretirana otopinom natrijevog klorida. Smanjenje masenih udjela uslijed solnog tretmana biljke izražen je za K i Mg, dok je udio Ca ostao nepromijenjen. Radi bolje preglednosti rezultati iz Tablice 10 prikazani su na Slikama 12 i 13.





Slika 12. Raspodjela makroelemenata u listu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .



Slika 13. Raspodjela makroelemenata u korijenu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Tablica 11. Maseni udjeli mikroelemenata u listu i korijenu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Raštika				
Element	$w/\mu\text{g g}^{-1}$			
	Reagensi			
	HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen (NaCl)
Al	113,99	52,00	129,26	201,35
B	414,94	49,51	15,66	5,61
Ba*	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cd	2,62	2,33	2,96	6,69
Co	5,62	8,08	9,64	16,54
Cr	8,03	6,79	14,96	19,44
Cu	3,28	6,66	16,59	11,89
Fe	121,89	237,06	188,72	332,01
Mn	210,71	168,26	221,36	22,19
Ni	144,39	270,74	225,13	411,29
Pb	2,25	4,54	11,86	11,87
Sr*	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
V	28,21	30,39	43,71	63,02
Zn	40,55	207,70	63,81	23,04

*LOD – Ba (1,5342 $\mu\text{g g}^{-1}$), Sr (0,1875 $\mu\text{g g}^{-1}$)

Mikroelementi ($\mu\text{g g}^{-1}$) određeni u listu i korijenu raštike metodom ICP-AES su: Al, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V i Zn.

Maseni udjeli izraženi u $\mu\text{g g}^{-1}$ u listu raštike za Al, B, Cd, Cr i Mn iznose: 113,99; 414,94; 2,62; 8,03 i 210,7 što je više u odnosu na masene udjele navedenih mikroelemenata u listu raštike nakon solnog tretmana su: 52,00 $\mu\text{g g}^{-1}$; 49,5 $\mu\text{g g}^{-1}$; 2,33 $\mu\text{g g}^{-1}$; 6,79 $\mu\text{g g}^{-1}$ i 168,26 $\mu\text{g g}^{-1}$. Značajan pad uslijed solnog tretmana raštike uočen je kod Al i B.

Za razliku od njih, do značajnog porasta masenih udjela u listu uslijed solnog tretmana biljke dolazi kod Fe, Ni i Zn.

Koncentracija Fe u listu raštike iznosi 121,89 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u listu raštike uzgojene pod solnim stresom je značajno veća i iznosi 237,06 $\mu\text{g g}^{-1}$. U listu raštike udio Ni iznosi

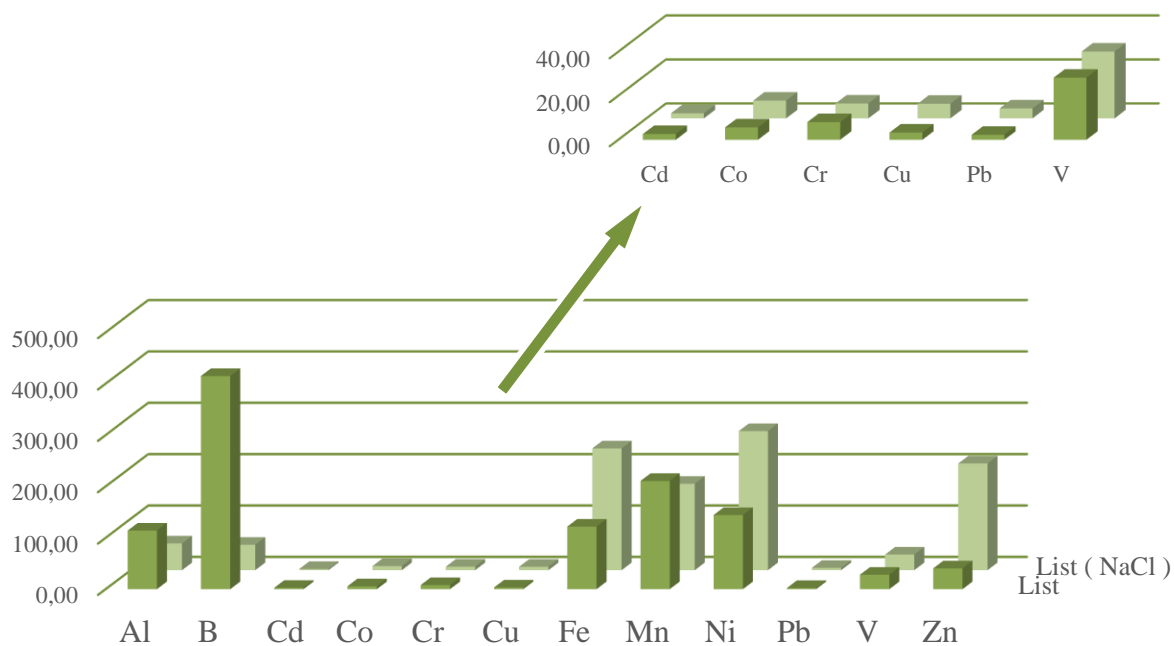
144,39 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u listu solno tretirane raštike 270,74 $\mu\text{g g}^{-1}$. Zn je u listu raštike prisutan u udjelu od 40,55 $\mu\text{g g}^{-1}$, a do značajnog povećanja koncentracije dolazi kod lista pri uzgoju solno tretirane raštike u kojem iznosi 207,70 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Mikroelementi određeni u korijenu raštike kod kojih dolazi do povećanja udjela uslijed solnog tretmana biljke su: Al, Cd, Fe i Ni. Maseni udio Al u korijenu raštike iznosi 129,26 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u korijenu raštike uzgojene pod solnim stresom je dvostruko veći i iznosi 201,35 $\mu\text{g g}^{-1}$. Sadržaj Cd u korijenu iznosi 2,96 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u korijenu raštike tretirane natrijevim kloridom tri puta je veći i iznosi 6,69 $\mu\text{g g}^{-1}$. Maseni udio Fe u korijenu iznosi 188,72 $\mu\text{g g}^{-1}$, a kod korijena raštike uzgojene pod solnim stresom je došlo do značajnog porasta i iznosi 332,01 $\mu\text{g g}^{-1}$. Udio Ni u korijenu iznosi 225,13 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u korijenu solno tretirane biljke je također došlo do velikog porasta te se vrijednost gotova udvostručila na 411,29 $\mu\text{g g}^{-1}$.

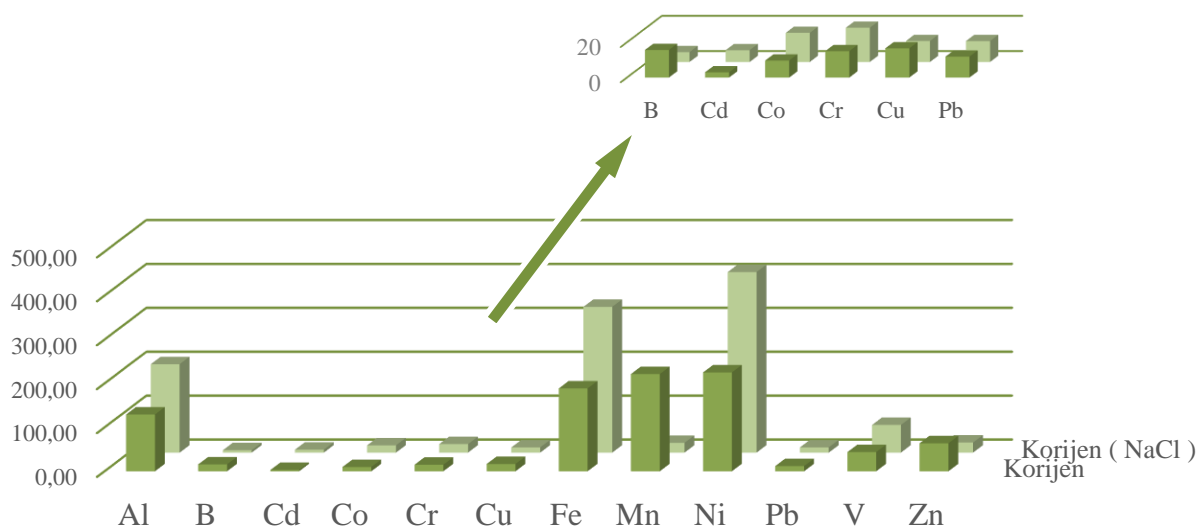
Mikroelementi čiji se udio izrazito smanjuje u korijenu raštike tretirane natrijevim kloridom su: Mn (u korijenu 221,36 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u korijenu solno tretirane raštike 22,19 $\mu\text{g g}^{-1}$) te Zn (u korijenu je 63,81 $\mu\text{g g}^{-1}$, a u korijenu solno tretirane raštike gotovo tri puta manje, 23,04 $\mu\text{g g}^{-1}$).

Za Ba i Sr vrijednosti udjela u svim dijelovima biljke, korijenu i listovima, solno tretiranim i netretiranim uzorcima raštike su ispod detekcijskih granica.

Raspodjela mikroelemenata u listu i korijenu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 , prikazana je na Slikama 14 i 15.



Slika 14. Raspodjela mikroelemenata u listu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO₃ (50:50 v/v) + H₂O₂.



Slika 15. Raspodjela mikroelemenata u korijenu raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO₃ (50:50 v/v) + H₂O₂.

Uzorci raštike su izmjereni metodom ICP-MS, a pripremljeni su na isti način kao i prije mjerenja metodom ICP-AES.

Tablica 12. Maseni udjeli elemenata u listovima raštike i raštike uzgojene pod solnim stresom nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO₃ (50:50 v/v) + H₂O₂, izmjereni metodom ICP-MS.

Raštika			
Element	w /μg g⁻¹		
	Raštika list	Raštika list (solni tretman)	Usporedba listova (kontrolni uzorak i solni tretman)
Ag	< LOD	< LOD	
Al	20,76	52,82	+
As	< LOD	< LOD	
B	79,302	52,78	-
Ba	LOD < x < LOQ	LOD < x < LOQ	
Be	< LOD	< LOD	
Bi	LOD < x < LOQ	LOD < x < LOQ	
Ca	8111,037	8144,02	nema značajne promjene
Cd	0,09	0,04	-
Co	0,09	0,11	nema značajne promjene
Cr	2,09	1,03	-
Cu	5,97	5,78	nema značajne promjene
Fe	100,59	100,92	nema značajne promjene
Ga	< LOD	< LOD	
K	41571,66	44850,41	nema značajne promjene
Li	0,23	0,08	-
Mg	11124,44	10057,48	nema značajne promjene
Mn	205,24	185,37	-
Mo	25,22	16,09	-
Na	1665,48	65752,16	+
Ni	2,28	0,77	-
Pb	8,34	0,67	-
Rb	7,97	8,81	+
Se	< LOD	< LOD	
Sr	42,529	41,91	nema značajne promjene
Te	< LOD	< LOD	
Tl	< LOD	< LOD	
U	< LOD	< LOD	
V	0,04	0,04	nema značajne promjene
Zn	27,24	21,55	nema značajne promjene

Na temelju navedenih podataka za pojedine elemente u uzorcima raštike uočene su značajne promjene u sadržaju elemenata u korijenu i listovima solno tretiranih i netretiranih biljaka.

U Tablici 12 prikazani su maseni udjeli elemenata u listu raštike dobiveni metodom ICP- MS te razlike prije i nakon tretmana natrijevim kloridom. Određeno je 30 elemenata, pri čemu su udjeli njih 10 ispod detekcijskih granica, 3 elementa pokazuju porast uslijed solnog stresa, 8 ih pokazuje pad, a preostalih 9 ne pokazuje značajne promjene. Elementi čiji sadržaj je ispod detekcijskih granica su: Ag, As, Ba, Be, Bi, Ga, Se, Te, Tl i U. Veoma značajan porast prisutan je kod Na gdje se udio povećao s 1665,48 na 65752,16 $\mu\text{g g}^{-1}$, gotovo 40 puta. Navedeni porast Na je očekivan budući da su se uzorci tretirali otopinom natrijevog klorida. Maseni udio Al se povećao s 20,76 na 52,82 $\mu\text{g g}^{-1}$, više nego dva puta, dok je rast Rb sa 7,971 na 8,808 $\mu\text{g g}^{-1}$ manji. Veće smanjenje udjela zabilježeno je kod B (79,30 na 52,78 $\mu\text{g g}^{-1}$), Cd (0,09 na 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$), Cr (2,09 na 1,03 $\mu\text{g g}^{-1}$), Li (0,23 na 0,08 $\mu\text{g g}^{-1}$), Mg (11124,44 na 10057,48 $\mu\text{g g}^{-1}$), Mo (25,22 na 16,09 $\mu\text{g g}^{-1}$), Ni (2,28 na 0,77 $\mu\text{g g}^{-1}$) te Pb (8,34 na 0,67 $\mu\text{g g}^{-1}$). U korijenu i listu raštike dolazi do pada udjela Mn što uzrokuje žutilo lista te pojavu smeđih mrlja. Udio B i Pb ne pokazuje značajne promjene u korijenu dok u listu dolazi do smanjenja udjela s obzirom na solni tretman biljke. Nedostatak B uzrokuje pojavu žutih i narančastih nijansi starijih listova kod biljaka, dok se kod korijena javlja odumiranje dlačica. Udio Ni, Cr i Cd se povećava u korijenu, a u listu se smanjuje. Do povećanja udjela V, Fe, Cu i Ba dolazi u korijenu, a u listu raštike za navedene elemente nema značajnih promjena. Preostali elementi, poput Ca, Co, Cu, Fe, K, Mn, Sr, V i Zn, ne pokazuju značajne promjene u udjelu niti u listu niti korijenu bez obzira jesu ili ne biljke podvrgnute solnom tretmanu za vrijeme uzgoja.





Slika 16. Prikaz utjecaja nedostatka pojedinih elemenata na biljku.

4.2.2. Usporedba rezultata elementne analize raštike, kineskog i bijelog kupusa



Metoda elementne analize za raštiku validirana u okviru ovog rada primjenjena je osim na raštiku i na kineski i bijeli kupus. Rezultati za udio mikroelemenata u listovima i korijenu kineskog kupusa (solno tretiranom i netretiranom) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 su prikazani u Tablici 13.

Tablica 13. Udio mikroelemenata u listovima i korijenu kineskog kupusa (solno tretiranom i netretiranom) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Kineski kupus				
Element	w/g kg ⁻¹			
	Reagensi			
	HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen (NaCl)
Ca	0,29	0,19	0,018	0,025
K	0,36	0,37	0,10	0,015
Mg	0,13	0,092	0,024	0,0011
Na	0,025	0,52	0,0039	0,59

Za Na je uočen značajan porast vrijednosti masenog udjela u listu uslijed solnog tretmana pri uzgoju kineskog kupusa. Kod Mg dolazi do smanjenja vrijednosti uslijed solnog tretmana biljke. Vrijednosti udjela Mg u listu kineskog kupusa iznose: 0,13 g kg⁻¹ dok u listu kineskog kupusa tretiranog otopinom natrijevog klorida iznosi 0,092 g kg⁻¹. Za Ca nisu uočene značajne promjene vrijednosti masenih udjela u listu biljke uzgojene sa i bez solnog stresa. Kod korijena kineskog kupusa uočen je porast vrijednosti Na uslijed solnog tretmana kineskog kupusa. Vrijednost Na u korijenu iznosi: 0,0039 g kg⁻¹, a u korijenu solno tretirane biljke 0,59 g kg⁻¹. Izraziti pad uočen je kod K i Mg u korijenu solno tretiranog kineskog kupusa dok za Ca nisu uočene značajne promjene.

Tablica 14. Maseni udjeli mikroelemenata u listu i korijenu kineskog kupusa (solno tretiranom i netretiranom) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .



Kineski kupus				
Element	w/$\mu\text{g g}^{-1}$			
	Reagensi			
	HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen (NaCl)
Al	66,87	53,63	80,04	57,28
B	44,61	11,99	< LOD	< LOD
Ba	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cd	10,62	9,15	10,99	29,20
Co	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cr	7,22	7,62	9,23	27,47
Cu	19,62	18,39	22,73	79,31
Fe	170,29	147,34	53,86	374,07
Mn	247,58	195,50	97,56	101,03
Ni	182,42	158,90	65,03	404,94
Pb	12,84	10,53	13,96	53,72
Sr	<LOD	< LOD	< LOD	< LOD
V	36,39	37,58	34,17	101,45
Zn	111,36	81,02	65,30	182,37

Maseni udjeli mikroelemenata Sr, Ba i Co u listu i korijenu te B samo u korijenu kineskog kupusa tretiranog i netretiranog otopinom soli su ispod detekcijskih granica metode ICP-AES.

Maseni udjeli mikroelemenata u listu kineskog kupusa iznosili su: 44,61 g kg^{-1} za B, 247,58 g kg^{-1} za Mn i 111,36 g kg^{-1} za Zn, a u listu kineskog kupusa tretiranog otopinom natrijevog klorida dobivene su sljedeće vrijednosti: 11,99 g kg^{-1} za B, 195,50 g kg^{-1} za Mn i 81,02 g kg^{-1} za Zn. Za navedne elemente uočeno je značajan pad vrijednosti udjela u listu uslijed solnog tretmana biljke. Za ostale elemente u listu nisu uočene značajne promjene vrijednosti masenih udjela. Smanjenje udjela elemenata u korijenu kineskog kupusa tretiranog otopinom

solu za vrijeme uzgoja uočeno je kod Al, a do porasta vrijednosti masenih udjela dolazi kod Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, V i Zn.



Tablica 15. Maseni udjeli makroelemenata u listu i korijenu bijelog kupusa (solno tretiranom i netretiranom) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Bijeli kupus				
Element	w/ g kg⁻¹			
	Reagensi			
	HNO₃ (50:50 v/v) + H₂O₂			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen
Ca	0,43	0,28	0,0026	0,69
K	0,28	0,48	0,067	0,0086
Mg	0,16	0,19	0,018	0,0068
Na	0,029	0,68	0,060	0,26

Makroelemenati određeni u listu i korijenu bijelog kupusa (solno tretiranom i netretiranom) su Na, Ca, K i Mg. Vrijednost udjela Na u listu bijelog kupusa iznosi 0,029 g kg⁻¹, a u listu bijelog kupusa tretiranog otopinom soli 0,68 g kg⁻¹. Povećanje Na je očekivano budući da je biljka tretirana otopinom natrijevog klorida. Uočen je pad vrijednosti Ca u listu solno tretirane biljke. Za ostale makroelemente nisu uočene značajne promjene. U korijenu je pri solnom tretmanu biljke došlo do smanjenja udjela K i Mg, a porasta kod Ca i Na.

Fältmarsch i suradnici primjenom metode ICP- MS u kupusu su dobili sljedeće udjele za Ca 7,0-9,5 g kg⁻¹ i K 39-44 g kg⁻¹. U okviru ovoga rada dobiveni su manji maseni udjeli za bijeli kupus: Ca 0,28- 0,43 g kg⁻¹ i K 0,28 – 0,48 g kg⁻¹.

Tablica 16. Maseni udjeli mikroelemenata u listu i korijenu bijelog kupusa (solno tretiranim i netretiranim) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2 .

Bijeli kupus				
Element	w/$\mu\text{g g}^{-1}$			
	Reagensi			
	HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2			
				
	List	List (NaCl)	Korijen	Korijen (NaCl)
Al	46,91	60,92	< LOD	400,33
B	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ba	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cd	7,77	9,16	5,04	23,65
Co	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cr	7,49	6,97	5,71	27,22
Cu	20,63	22,05	15,03	94,51
Fe	68,74	196,22	34,90	147,91
Mn	237,77	315,31	45,89	42,17
Ni	352,40	465,16	40,82	161,69
Pb	20,41	17,61	12,08	27,12
Sr	37,39	61,65	< LOD	< LOD
V	41,08	39,56	21,45	44,08
Zn	65,92	82,62	36,06	209,28

Vrijednosti masenih elemenata B, Ba i Co u listu i korijenu netretiranog i solno tretiranog bijelog kupusa bile su ispod detekcijskih granica.

Mikroelementi čiji udio u listu raste uslijed solnog tretmana bijelog kupusa su: Fe, Mn i Ni. U listu bijelog kupusa vrijednosti mikroelemenata su: 68,74 g kg^{-1} za Fe, 237,77 g kg^{-1} za Mn i 352,40 g kg^{-1} za Ni, a u listu solno tretiranog bijelog kupusa iznose: 196,22 g kg^{-1} za Fe, 314,31 g kg^{-1} za Mn i 465,16 g kg^{-1} za Ni. U korijenu do porasta koncentracije uslijed solnog tretmana bijelog kupusa došlo je za elemente: Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb i Zn.

§ 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog diplomskog rada provedena je elementna analiza kupusnjača metodom ICP-AES i metodom ICP-MS nakon mikrovalno potpomognutog razaranja s dušičnom kiselinom (50:50 v/v) i vodikovim peroksidom.

Metoda ICP-AES je validirana i na temelju rezultata odabrani su optimalni uvjeti za elementnu analizu. Određene su detekcijske granice, točnost, osjetljivost i preciznost metode. Točnost metode ICP-AES za određivanje mikro- i makroelemenata kupusnjača određena je na temelju analitičkog povrata metode. Detekcijske granice su za sve elemente manje od $1 \mu\text{g g}^{-1}$, osim za Al i Ba za koje su između 1 i $2 \mu\text{g g}^{-1}$. Točnost metode ICP-AES za elementnu analizu lista raštike iznosi 93,10 do 117,40 %, lista raštike tretirane s NaCl od 92,25 do 112,00 %, lista kineskog kupusa 96,10 do 172,10 %, te za list kineskog kupusa uzgojenog pod solnim stresom je od 67,48 do 90,20 %. Osjetljivost metode ICP-AES za kupusnjače određena je iz nagiba kalibracijske krivulje i pri svim valnim duljinama određivanja elemenata je zadovoljavajuća za rutinsku analizu. Točnost metode ICP-MS lista raštike i lista raštike tretirane s NaCl je 89,50 do 105,20 %.

Za kupusnjače uzgojene pod solnim stresom uočen je značajan porast koncentracije Na u listu raštike i kineskog kupusa te Na, Fe, Mn i Ni u listu bijelog kupusa. U listu raštike uzgojene pod solnim stresom udio Al i B je manji, dok je za Fe, Ni i Zn uočen značajan porast u usporedbi s listom raštike uzgojene bez solnog stresa. Značajan porast Na uočen je u korijenu sve tri biljke uzgojene pod povećanim salinitetom. U korijenu sve tri kupusnjače uzgojene pod solnim stresom dolazi do smanjenja K i Mg u usporedbi s biljkama uzgojenim bez solnog stresa. Osim smanjenja udjela navedenih elemenata, u korijenu raštike uzgojene pod solnim stresom dolazi do smanjenja udjela i Mn i Zn, a udjeli Al, Ni, Cd i Fe su značajno veći. Vrijednosti Ba i Sr u svim dijelovima biljke, i korijenu i listu, tretirane i netretirane raštike su ispod detekcijskih granica. U listu kineskog kupusa uzgojenog pod solnim stresom dolazi do smanjenja udjela Mg, B, Mn i Zn. U korijenu kineskog kupusa uzgojenog pod solnim stresom dolazi do smanjenja K, Mg i Al, a povećanja Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, V i Zn. U svim djelovima biljke kineskog kupusa ispod detekcijskih granica su udjeli Ba, Sr i Co. U korijenu solno tretiranog bijelog kupusa dolazi do značajnog smanjenja udjela K i Mg, povećanja udjela Ca, Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb i Zn, a ispod detekcijskih granica su udjeli B, Ba i Co.

§ 6. LITERATURNI IZVORI

1. J. W. Fahey, *Encyclopedia of Food and Health*, Academic Press., Waltham, (2015), str. 469–477.
2. D. Šamec, I. Pavlović, I. Radojčić Redovniković, B. Salopek-Sondi, *Food Chem.* **269** (2018) 96–102.
3. N. Sanlier, M. Guler Saban, *J. Human. Health. Res.* **104** (2018) 1-13.
4. J. V. Higdon, B. Delage, D. E. Williams, R. H. Dashwood, *Pharmacol. Res.* **55** (2007) 224–236.
5. A. R. Kristal, J. W. Lampe, *Nutr. Cancer* **42** (2002) 1-9.
6. D. Šamec, J. Piljac-Žegarac, M. Bogović, K. Habjanič, J. Grúz, *Sci. Hortic.* **128** (2011) 78–83.
7. I. A. Al-Shehbaz, M. A. Beilstein, E. A. Kellogg, *Plant Syst. Evol.* **259** (2006) 89–120.
8. A. Franzke, M. A. Lysak, I. A. Al-Shehbaz, M. A. Koch, K. Mummenhoff, *Trends Plant Sci.* **16** (2011) 108–116.
9. S. Weerakoon, *J. Sci. Univ. Kelaniya* **6** (2011) 13-34.
10. S. Liu, Y. Liu, X. Xinhua Yang, C. Tong, A. H. Paterson, *Nat. Commun.* **5** (2014.)1-11.
11. M. Jahangir, H. K. Kim, Y. H. Choi, R. Verpoorte Health-Affecting Compounds in Brassicaceae, *Comprv. Rev. Food. Sci. F.* **8** (2009) 31-43.
12. M. K. Kim, J. H. Y. Park, Cruciferous vegetable intake and the risk of human cancer: epidemiological evidence, *P. Nutr. Soc.* **68** (2009) 103-10.
13. M. Czarnowska, E. Gujska, *Plant. Food. Hum. Nutr.* **67** (2012) 401-406.
14. M. Miyazawa, T. Nishiguchi, C. Yamafuji, *Flav. Fragr. J.* **20** (2005) 158–60.
15. A. C. Kurilich, G. J. Tsau, A. Brown, L. Howard, B. P. Klein, E. H. Jeffery, M. Kushad, M. A. Wallig, J. A. Juvik, *J. Agric. Food. Chem.* **47** (1999) 1576–1581.
16. A. C. Kurilich, E. H. Jeffery, J. A. Juvk, M. A. Wallig, B. P. Klein, *J. Agric. Food. Chem.* **50** (2002) 5053–5057.
17. A. Balkaya, R. Yanmaz, *New Zeal. J. Crop Hort. Sci.* **33** (2005) 1-7.
18. <https://www.healthline.com/nutrition/10-proven-benefits-of-kale#section11>(preuzeto 1.2.2020.)
19. G. Dixon, *Vegetable Brassicas and Related Crucifers. Vegetable Brassicas and Related Crucifers*, (2006) 1-327.

20. J. Linditsch, *Kiseli kupus za zdravlje i vitalnost*, Mozaik knjiga, Zagreb, (2002).
21. B. Caballero, L. C. Trugo, P. M. Finglas, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Academic Press, London, (2003), str. 5932-5936.
22. M. Özcan, *Food Chem.* **84** (2004) 437–440.
23. P. Piste, S. Didwagh, A. Mokashi, *Int. J. Res. Pharm. Sci.* **4** (2013) 659-668.
24. G. K. Schwalfenberg, S. J. M. Genuis, *Scientifica* **2017** (2017) 4179326.
25. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Potassium-HealthProfessional/> (preuzeto 1.2.2020.)
26. <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/salt-and-sodium/> (preuzeto 1.2.2020.)
27. F. Plavšić, I. Žuntar, *Uvod u analitičku toksikologiju*, Školska knjiga, Zagreb, 2006, str. 83.
28. <https://www.lenntech.com/periodic/elements/p.htm> preuzeto 1.2.2020.)
29. N. Abbaspour, R. Hurrell, R. Kelishadi, *J. Res. Med. Sci.* **19** (2014) 164-74.
30. S. Jenkitkasemwong, A. Akinyode, E. Paulus, R. Weiskirchen, S. Hojyo, T. Fukada, M. D. Knutson, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **115** (2018) 1-10.
31. M. Rai, A. Ingle, S. Medici, *Biomedical Applications of Metals*, Springer, (2018), str. 95-112.
32. https://bib.irb.hr/datoteka/978534.Priroda_7_8_2017_MPiasek_str_42_47.pdf(preuzeto 1.2.2020.)
33. http://ishranabilja.com.hr/literatura/osnove_agroekologije/Biljna%20hraniva%20i%20
(preuzeto 1.2.2020.)
34. M. Diacono, F. Montemurro, *Agriculture* **5** (2015) 221-230.
35. FAO 2017. FAO Soils Portal <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-properties/en/>
(preuzeto 1.2.2020.)
36. R. Munns, M. Gilliam, *New Phytol.* **208** (2015) 668–673.
37. I. Pavlović, *Uloga auksina i hormona stresa u odgovoru kupusnjača (Brassicaceae) na povišeni salinitet*, Doktorski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2017.
38. C. B. Boss, K. J. Freedeen, *Concepts, Instrumentation and Tehniques in Inductievly Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Perkin Elmer Corporation, Shelton CT, 3 (2004) str.
39. D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, Thomson Brooks/Cole, Belmont, (2007).
40. R. Thomas, *Practical Guide to ICP-MS*, (2004) str. 1-100.
41. A. Bazilio, J. Weinrich, *The Easy Guide to: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*, (2012).

42. D. E. Kopsell, W. M. Randle, T. W. Coolong, C. E. Sams, J. Curran-Celentano, *J. Agric. Food. Chem.* **51** (2003) 5319–5325.
43. J. W. Finley, *J. Med. Food.* **6** (2003) 19–26.
44. R. P. Heaney, C. M. Weaver, S. M. Hinders, B. Martin, P. T. Packard, *J. Food. Sci.* **58** (1993) 1378–80.
45. R. S. Glew, D. J. VanderJagt, R. Bosse, Y. S. Huang, L. T. Chuang, R. H. Glew, *J. Food Compos. Anal.* **18** (2005) 15–27.
46. M. Jahangir, H. K. Kim, Y. H. Choi, R. Verpoorte, *Compr. Rev. Food. Sci. Food. S.* **8** (2009) 31–43.
47. R. Fältmarsch, P. Österholm, G. Jacks, *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **173** (2010) 423–433
48. D. Jurić, D. Puntarić, V. Gvozdić, D. Vidosavljević, Z. Lončarić, A. Puntarić, E. Puntarić, I. Puntarić, M. Vidosavljević, L. Begović, S. Šijanović, *Acta. Agr. Scand. B-S P.* **67** (2016) 270–277.
49. E. Mohamed, M. N. Rashed, A. Mofty, *Ecotox. Environ. Safe.* **55** (2003) 251–260.
50. Z. Stančić, D. Vujević, A. Gomaz, S. Bogdan, D. Vincek, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **67** (2016) 340–350.
51. J. Santos, M. T. Oliva-Teles, C. Delerue-Matos, M. B. P. P. Oliveira, *Food Chem.* **151** (2014) 311–316.

§ 7. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Karla Franjković

Datum rođenja: 20. srpnja 1993.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

2000.–2008. Osnovna škola Žuti brijeg, Zagreb

2008.–2012. Srednja škola VII. gimnazija

2012.–2020. Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet,
Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Nagrade i priznanja

2013. Posebna rektorova nagrada u području prirodnih znanosti

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2012.-2015. Otvoreni dan Kemijskog odsjeka

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

K. Franjković, I. Nemet, I. Juranović Cindrić, M. Zeiner, B. Salopek Sondi, *Influence of salinity on biometal content in collard greens*, 20th Euroanalysis Conference, Istanbul, Turska, 1-5.9. 2019.